

# Νεότεροι μοριακοί/κυτταρικοί μηχανισμοί γαστρικής καρκινογένεσης. Τι νεότερο.

Σουγλέρη Ιωάννα

Μεταπτυχιακή υπότροφος, Εργαστήριο Ιατρικής Μικροβιολογίας, Ελληνικό Ινστιτούτο Παστέρ

## Γαστρικός Καρκίνος

Σχεδόν ένα εκατομμύριο περιπτώσεων γαστρικού καρκίνου (ΓΚ) διαγιγνώσκονται κάθε χρόνο, καθιστώντας τον την τέταρτη πιο κοινή μορφή καρκίνου παγκοσμίως. Αποτελεί δε, τη δεύτερη κύρια αιτία θανάτου που σχετίζεται με καρκίνο, καθώς περίπου 700.000 άνθρωποι ετησίως υποκύπτουν από γαστρικό αδενοκαρκίνωμα.<sup>1</sup> Σε ορισμένες περιοχές του κόσμου, το γαστρικό αδενοκαρκίνωμα είναι η πιο συχνή κακοήθεια, συγκεκριμένα δε, στην Ιαπωνία η συχνότητα εμφάνισης του είναι σχεδόν δεκαπλάσια αυτής των Ηνωμένων Πολιτειών.<sup>2</sup> Συνήθως, η διάγνωση του ΓΚ καθυστερεί λόγω της έλλειψης πρόωρων συμπτωμάτων και οι περισσότεροι ασθενείς διαγιγνώσκονται μετά την καρκινική διήθηση στο μυϊκό χιτώνα, που εξηγεί το γεγονός ότι η πενταετής επιβίωση ασθενών με γαστρικό καρκίνο στις Ηνωμένες Πολιτείες, κυμαίνεται σε ποσοστά χαμηλότερα από 15%.<sup>2</sup>

## Τύποι γαστρικού καρκίνου

Ιστολογικά, έχουν ταυτοποιηθεί δύο διακριτές παραλλαγές ΓΚ, αφενός του διάχυτου τύπου, ο οποίος συνίσταται από μεμονωμένα διηθητικά νεοπλασματικά κύτταρα που δεν σχηματίζουν αδενικές δομές και αφετέρου, του εντερικού τύπου, ο οποίος αναπτύσσεται μέσα από μια σειρά καλά καθορισμένων ιστοπαθολογικών σταδίων και περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1975.<sup>3</sup> Το εντερικού τύπου αδενοκαρκίνωμα, αρχίζει με τη μετάπτωση του κανονικού βλεννογόνου σε κατάσταση χρόνιας επιφανειακής γαστρίτιδας, η οποία μεταπίπτει σε ατροφία των οξυντικών κυττάρων του γαστρικού βλεννογόνου και αντικατάσταση τους από επιθηλιακά κύτταρα εντερικού τύπου (εντερική μεταπλασία). Τα ως άνω στάδια θεωρούνται πρώιμες αλλοιώσεις που μπορεί να οδηγήσουν σε καρκινογένεση. Αυτή η μορφή ΓΚ επηρεάζει τους άνδρες, με μέσο όρο ηλικίας τα 50,4 χρόνια, συνήθως σε διπλάσια συχνότητα από τις γυναίκες με μέσο όρο ηλικίας 47,7 χρόνια.<sup>4,5</sup> Τα άτομα που πάσχουν από πανγαστρίτιδα του σώματος έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης γαστρικού καρκίνου, πράγμα που συνδέεται εν μέρει, με μειωμένη έκκριση υδροχλωρικού οξέος. Αντιθέτως, τα άτομα τα οποία πάσχουν από λοίμωξη στο άντρο, όπως το δωδεκαδακτυλικό έλκος όπου παρατηρείται αυξημένη παραγωγή οξέος, φαίνεται να εμφανίζουν χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ΓΚ.<sup>6</sup>

## Παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης γαστρικού καρκίνου

### I. Γενετικοί Παράγοντες του ξενιστή

Με βάση τη γονιδιακή υπογραφή τους, έχουν προταθεί τρεις διακριτοί υπότυποι για την ταξινόμηση γαστρικών καρκινωμάτων, οι *πολλαπλασιαστικοί*, οι *μεσεγγυματικοί* και οι *μεταβολικοί*.<sup>7</sup> Ο *πολλαπλασιαστικός* υπότυπος, έχει συσχετιστεί με το ΓΚ εντερικού τύπου και χαρακτηρίζεται από ενεργοποίηση γονιδίων που ενέχονται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, όπως τα γονίδια που συμμετέχουν στο κυτταρικό κύκλο, στην αντιγραφή του DNA και στα σηματοδοτικά μονοπάτια των ογκογονιδίων *E2F* (transcription factor), *MYC* (myelocytomatosis viral oncogene) και *RAS* (Rat sarcoma) και παρουσιάζουν μεταλλάξεις στα γονίδια *CCNE1*, *MYC*, *ERBB2* και *KRAS*. Οι όγκοι με *μεσεγγυματικό* υπότυπο, έχουν συσχετισθεί με το ΓΚ διάχυτου τύπου και χαρακτηρίζονται από έκφραση γονιδίων που εμπλέκονται σε καρκινικά σηματοδοτικά μονοπάτια της επιθηλιακής-προς-μεσεγγυματική μετατροπής (EMT, Epithelial-to-Mesenchymal-Transition) περιέχουν δε, τα χαρακτηριστικά καρκινικών βλαστοκυττάρων (cancer stem cells, CSCs). Περιληπτικά, αυτά είναι τα σηματοδοτικά μονοπάτια των παραγόντων TGF-β (Transforming Growth Factor beta), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), NF-κβ (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells),

mTOR (mammalian Target of Rapamycin) και SHH (Sonic hedgehog). Τα CSCs, έχουν ταυτοποιηθεί σε πολλούς συμπαγείς όγκους και είναι πολλά υποσχόμενο αντικείμενο μελέτης για την ανάπτυξη αντικαρκινικών φαρμάκων με δυνατότητα στόχευσης σε όλα τα υποσύνολα CSC μέσα σε έναν όγκο, για την πρόληψη υποτροπής. Οι όγκοι με *μεσεγγυματικό* υπότυπο, παρουσιάζουν ασυνήθιστα υψηλό ποσοστό υπέρ-μεθυλιωμένων νησίδων CpG και οι καρκινικές κυτταρικές σειρές αυτού του υποτύπου, απεδείχθησαν αρκετά ευαίσθητες σε αναστολές του μονοπατιού PI3K-AKT/mTOR. Τέλος, οι όγκοι με *μεταβολικό* υπότυπο, χαρακτηρίζονται από γονίδια που εκφράζονται σε μεταβολικά μονοπάτια, με αυξημένη δραστηριότητα παραγόντων που ενέχονται στην ανάπτυξη μεταπλασίας SPEM (spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia)<sup>7</sup> και είναι ευαίσθητοι σε θεραπεία με 5-fluorouracil.

Επιπλέον, έχει δειχθεί ότι η μεθυλίωση του DNA στα νησίδα κυτοσίνης - γουανίνης (CpG), επηρεάζει σημαντικά τη εξέλιξη για γαστρική καρκινογένεση.<sup>8</sup> Διευκρινίζεται, ότι η υπέρ-μεθυλίωση σε νησίδα CpG των υποκινητών γονιδίων αποτελεί έναν από τους επιγενετικούς μηχανισμούς αναστολής της γονιδιακής τους δραστηριότητας. Στη πλειονότητα των καρκινικών βιοψιών, παρατηρείται υπέρ-μεθυλίωση σε νησίδα CpG, ενώ, στη μειονότητα των περιπτώσεων παρατηρήθηκαν χαμηλότερα επίπεδα μεθυλίωσης σε σύγκριση με τα φυσιολογικά, τα οποία δεν εντοπίζονται σε νησίδα CpG. Ανάλυση των περιοχών με υπέρ-μεθυλιωμένες CpG θέσεις ανέδειξε την ύπαρξη γονιδίων που σχετίζονται με την δραστηριότητα βλαστικών κυττάρων.<sup>8</sup> Επιπλέον, εκτός των παραδοσιακών γονιδίων ένας αριθμός miRNAs<sup>1</sup>, έχουν δειχθεί ότι απορρυθμίζονται σημαντικά σε περιπτώσεις ΓΚ, μετά από μεθυλίωση στα νησίδα CpG των υποκινητών τους, συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη και εξέλιξη του ΓΚ.<sup>9</sup> Θεραπεία με παράγοντες απομεθυλίωσης μπορεί να αποκαταστήσει σημαντικά την έκφραση των μεθυλιωμένων miRNAs, αναστέλλοντας έτσι τον πολλαπλασιασμό, την κυτταρική διήθηση και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.<sup>9</sup>

## **Ογκο-κατασταλτικά γονίδια γαστρικού καρκίνου**

### **Runx3 (Runt-related transcription factor-3)**

Απώλεια του γονιδίου *RUNX3* έχει δειχθεί ότι επάγει το σηματοδοτικό μονοπάτι στο οποίο εμπλέκεται ο παράγοντας Akt1 με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η λειτουργία του, επιφέροντας με αυτό το τρόπο αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.<sup>10</sup> Επιπλέον, έχει δειχθεί ότι η απώλεια των γονιδίων *RUNX3* και *p53*, οδηγεί στην επαγωγή του αυξητικού παράγοντα TGF-β, ο οποίος συμβάλλει στην επαγωγή EMT σε μια ομάδα κυττάρων, καταδεικνύοντας ότι ο παράγοντας *RUNX3* διαδραματίζει ένα προστατευτικό ρόλο στα γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα.<sup>11</sup> Αυξανόμενη μεθυλίωση στον υποκινητή του γονιδίου *RUNX3* κατά τη διαδικασία γαστρικής καρκινογένεσης, έχει ήδη διαπιστωθεί και είναι, σε ποσοστό 16% στη χρόνια ατροφική γαστρίτιδα, 37% στην εντερική μεταπλασία, 42% στο γαστρικό αδένωμα, 55% στη δυσπλασία και 75% στους καρκινικούς ιστούς.<sup>12</sup> Η αύξηση αυτή, παρατηρείται καλύτερα στους ασθενείς με λοίμωξη *H. pylori* καθόσον σε ασθενείς χωρίς λοίμωξη, μεθυλίωση του γονιδίου *RUNX3* παρατηρείται μόνο στις περιπτώσεις σοβαρής δυσπλασίας και καρκίνου. Επιπλέον, αναστολή της δράσης του γονιδίου *RUNX3*, μειώνει σημαντικά τη σταθερότητα του παράγοντα HIF-1α (Hypoxia-inducible factor 1-alpha), ο οποίος μεσολαβεί στην αγγειογένεση των γαστρικών καρκινικών κυττάρων, όταν αυτά βρίσκονται σε συνθήκες υποξίας.<sup>13</sup>

### **E-cadherin**

Το γονίδιο *CDH1* (Cadherin-1), που κωδικοποιεί την διακυτταρική πρωτεΐνη E-cadherin, έχει πλέον αναγνωριστεί για την ογκο-κατασταλτική του δράση στο ΓΚ.<sup>14</sup> Δυσλειτουργία της E-cadherin μπορεί να είναι αποτέλεσμα πολλών αιτιών, όπως μεταλλάξεων στο γονίδιο *CDH1*, αναστολής της έκφρασης της πρωτεΐνης λόγω επιγενετικής υπέρ-μεθυλίωσης του υποκινητή του γονιδίου *CDH1* και απώλειας της ετεροζυγωτίας. Επιπλέον, όμως σε αναστολή της E-cadherin καταλήγουν και μηχανισμοί μεταγραφικής σίγασης από τη δράση microRNAs αλλά και άλλων ποικίλων μεταγραφικών καταστολέων που στοχεύουν τον υποκινητή του *CDH1*.<sup>14</sup> Σε μελέτες περιπτώσεων ΓΚ

---

<sup>1</sup> Τα microRNAs (miRNAs), είναι μικρά μη κωδικοποιούμενα RNAs, με μήκος 18-25 νουκλεοτιδίων και αποτελούν σημαντικούς μετά-μεταγραφικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Η ρυθμιστική τους λειτουργία εξαρτάται από τη συμπληρωματικότητα μεταξύ μιας περιοχής τους και του συγκεκριμένου mRNA στόχου το οποίο απενεργοποιούν.

διάχυτου και εντερικού τύπου, παρατηρήθηκε ότι περίπου το 30% των όγκων περιείχαν 20% επιγενετικές και 10% δομικές μετατροπές στο γονίδιο *CDH1* που ήταν παρούσες σε όλες τις κλινικές εκφάνσεις και σε όλους τους ιστοτύπους που εξετάστηκαν.<sup>15</sup> Επιπλέον, μια νέα ισομορφή της E-cadherin δείχθηκε ότι επάγει αύξηση έκφρασης των γονιδίων *IFITM1* (Interferon-induced transmembrane protein 1) και *IFI27* (Interferon alpha-inducible protein 27), με αποτέλεσμα την αύξηση κυτταρικής διήθησης και αγγειογένεσης.<sup>16</sup> Τέλος, έχει δειχθεί ότι η πρωτεΐνη Smad, ρυθμίζει την E-cadherin, μέσω μεταγραφικής ρύθμισης των μελών της οικογένειας των miR-200, τα οποία στοχεύουν το μεταγραφικό καταστολέα της E-cadherin, ZEB2 (Zinc finger E-box-binding homeobox 2).<sup>17</sup>

### **Νέοι πιθανοί καταστολείς όγκων**

Μια ποικιλία όγκο-κατασταλτικών γονιδίων του ΓΚ προσδιορίστηκαν πολύ πρόσφατα.<sup>18-29</sup> Η πρωτεΐνη πρόσδεσης CPEB1 (Cytoplasmic Polyadenylation Element Binding Protein 1) αρχικά ταυτοποιήθηκε σαν ένα νέο γονίδιο σημαντικό στην πρόληψη του γαστρικού καρκίνου και μετά δείχθηκε ότι πράγματι παρουσίαζε υψηλά επίπεδα υπέρ-μεθυλίωσης σε γαστρικές καρκινικές σειρές και σε πρωτογενείς όγκους, ειδικότερα του διάχυτου τύπου. Λειτουργικά, η CPEB1, φαίνεται ότι αναστέλλει την κυτταρική διεισδυτικότητα καθώς και την αγγειογένεση μέσω μείωσης της έκφρασης παραγόντων όπως η ιστική μεταλλοπρωτεϊνάση *MMP14* (Matrix Metalloproteinase 14) και ο *VEGFA*.<sup>18</sup>

Η ADAMTS9 (disintegrin-like metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 9) έχει δειχθεί ότι μπορεί να ασκήσει όγκο-κατασταλτικό ρόλο, αναστέλλοντας το κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την αγγειογένεση και την ανάπτυξη όγκων σε άνοσο-κατασταλμένα ποντίκια και αυξάνοντας την απόπτωση. Η αναστολή των όγκων από τη ADAMTS9 είναι συμβατή με ταυτόχρονη καταστολή της όγκο-γεννητικής οδού μεταγωγής σήματος AKT/mTOR.<sup>20</sup>

Άλλοι ρυθμιστικοί ή μεταγραφικοί παράγοντες, οι οποίοι εικάζεται ότι μπορούν να δρουν όγκο-κατασταλτικά στο ΓΚ, είναι οι *PAX5* (paired box gene 5), *ZNF545* (zinc-finger protein 545) και *BCL6B* (B-cell CLL/lymphoma 6 member B), διότι παρατηρήθηκε αναστολή ή μειωμένη έκφραση τους μέσω υπέρ-μεθυλίωσης του υποκινητή τους σε γαστρικές καρκινικές σειρές, καθώς και σε πρωτογενείς γαστρικούς καρκίνους.<sup>28</sup>

## **II. Λοίμωξη από Ελικοβακτήριο του πυλωρού (*H. pylori*)**

Επί τη βάση μελετών επιδημιολογικού αλλά και επεμβατικού χαρακτήρα, καθώς και ευρημάτων από πειραματική πρόκληση προ-νεοπλασματικών αλλοιώσεων σε ζωικά μοντέλα, καταδεικνύεται η σχέση μεταξύ της *H. pylori* λοίμωξης και του αυξημένου κινδύνου για την δημιουργία non-Hodgkin's γαστρικού λεμφώματος και γαστρικού αδενοκαρκινώματος.<sup>30</sup> Το *H. pylori* έχει δειχθεί ότι σχετίζεται με την ανάπτυξη γαστρικού αδενοκαρκινώματος εντερικού τύπου αλλά όχι διάχυτου. Επιπλέον, στο γαστρικό αδενοκαρκίνωμα εντερικού τύπου δεν έχει παρατηρηθεί συστηματική προοδευτική συσσώρευση γενετικών μεταλλάξεων όπως στην περίπτωση του καρκίνου του παχέος εντέρου. Είναι όμως σαφές από τα μέχρι τώρα ευρήματα, ότι λοιμοτοξικοί παράγοντες του βακτηρίου σε συνάρτηση με την ανοσολογική προδιάθεση του ξενιστή, συντελούν στα πρώιμα στάδια της πρόκλησης επιφανειακής γαστρίτιδας, με βάση το μοντέλο εξέλιξης του Correa και συν.<sup>4</sup> Στη συνέχεια, στοιχεία που ενέχονται στην ανοσολογική φλεγμονώδη απόκριση του ξενιστή έναντι του βακτηρίου, αλλά και παράγοντες του περιβάλλοντος όπως η διατροφή υψηλής περιεκτικότητας σε αλάτι, το κάπνισμα κ.λπ., μπορούν να αποβούν καθοριστικά γεγονότα στην εξέλιξη της χρόνιας φλεγμονής σε ατροφία, εντερική μεταπλασία, δυσπλασία και γαστρική νεοπλασία.<sup>31</sup> Οι κυριότεροι λοιμοτοξικοί παράγοντες του βακτηρίου που έχουν μέχρι τώρα ενοχοποιηθεί και συνδεθεί με υψηλότερο κίνδυνο για την ανάπτυξη ΓΚ συνοψίζονται στον πίνακα 1.

**Πίνακας 1** Παράγοντες Παθογένειας *H. pylori*

Υποδοχέας / μόριο αλληλεπίδρασης		Κυτταρικές αποκρίσεις / προτεινόμενος ρόλος
<b>Συγκολλητίνες</b>		
<b>BabA</b>	Lewis B, Lewis A, Globo H Hexaglycosylceramide	Κυτταρική προσκόλληση <sup>32, 33</sup>
<b>SabA</b>	Sialyl Lewis X, sialyl Lewis A	Προσκόλληση στα κύτταρα του ξενιστή, αύξηση στην προσκόλληση μέσω β3GnT5 <sup>33</sup>
<b>AlpA/B</b>	Collagen IV, laminin	Προσκόλληση στα στοιχεία εξωκυττάριου χώρου, <sup>34</sup> επαγωγή NF-κβ και MAPK σηματοδοτικών οδών <sup>35</sup>
<b>OipA</b>	Άγνωστο	Προσκόλληση στα κύτταρα του ξενιστή, επαγωγή φλεγμονής <sup>36</sup>
<b>HopZ</b>	Άγνωστο	προσκόλληση?
<b>HorB</b>	Άγνωστο	προσκόλληση?
<b>Εκκρινόμενοι Παράγοντες</b>		
<b>Ουρεάση</b>	Άγνωστο	Επιβίωση στο όξινο pH, <sup>37</sup> καταστροφή στενοσυνδέσμων <sup>3</sup>
<b>VacA</b>	EGFR, RPTPα, RPTPβ, sphingomyelin, LRP1	Σχηματισμός κενοτοπίων, απόπτωση, καταστροφή στενοσυνδέσμων <sup>31</sup>
<b>HtrA</b>	E-cadherin	καταστροφή διακυτταρικών συνδέσμων <sup>38</sup>
<b>GGT</b>	Άγνωστο	Απόπτωση, αναστολή κυτταρικού κύκλου <sup>39</sup>
<b>Συστατικά του Συστήματος Μεταφοράς τύπου IV</b>		
<b>CagL</b>	β1-Integrin, (β3) β5-Integrin	Ενδοκυττάρια μεταφορά CagA, ενεργοποίηση κινασών ξενιστή <sup>40</sup>
<b>CagI</b>	β1-Integrin	Άγνωστος, απαραίτητη για μεταφορά της CagA και την έκκριση IL-8 <sup>41</sup>
<b>CagY</b>	β1-Integrin	Άγνωστος, απαραίτητη για μεταφορά της CagA και την έκκριση IL-8 <sup>41</sup>
<b>CagA</b>	β1-Integrin	Άγνωστος (for intracellular actions see below)
<b>Εγγεόμενοι βακτηριακοί παράγοντες</b>		
<b>CagA</b>	c-Met, p120, E-cadherin, Grb-2, Par proteins, PLC-γ, TAK, ZO-1, etc. [	Καταστροφή διακυτταρικών συνδέσμων και πολικότητας, επαγωγή φλεγμονής πολλαπλασιασμού <sup>42</sup>
<b>Φωσφορυλιωμένη-CagA</b>	Src; SHP-2, Csk; c-Abl; Crk proteins, Grb2, Grb7, PI3K, Ras-GAP, SHP-1, etc.	Κυτταρική επιμήκυνση και διασπορά, καρκινογόνο <sup>42</sup>
<b>Πεπτιδογλυκάνες</b>	Nod1	Επαγωγή NF-κβ <sup>43</sup> AP-1 και MAPK <sup>44</sup>

Ειδικότερα, όσον αφορά την πρωτεΐνη CagA, τον κυριότερο παράγοντα παθογένειας του *H. pylori*, CagA-θετικά στελέχη έχουν συνδεθεί με μεγαλύτερης βαρύτητας γαστρικές αλλοιώσεις και καρκινογένεση.<sup>45</sup> Ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί στο ρόλο των επαναλαμβανόμενων θέσεων φωσφορυλίωσης τυροσίνης της μορφής EPIYA της πρωτεΐνης CagA, των οποίων ο αριθμός έχει δείξει ότι μεταβάλλεται στα κλινικά στελέχη και οι οποίες φωσφορυλιώνονται ιεραρχικά από τις Src και Abl κινάσες μετά την είσοδο της CagA εντός των γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων.<sup>45</sup> Ο πολύπλοκος ρόλος της πρωτεΐνης CagA, μετά την είσοδο της στα επιθηλιακά κύτταρα, φαίνεται να συνοψίζεται στη καταστροφή των διακυτταρικών συνδέσμων μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων, στην απώλεια της κυτταρικής πολικότητας και στην επαγωγή μηχανισμών πρόκλησης φλεγμονής (έκκριση IL-8) και κυτταρικού πολλαπλασιασμού μέσω αναστολής του όγκο-κατασταλτικού γονιδίου p53 και RUNX3. Όλες οι παραπάνω διαδικασίες, είναι δυνατόν να εμπλέκονται στο κακοήγη μετασχηματισμό και την ανάπτυξη εντερικής μεταπλασίας.

### **Αλληλεπίδραση του *H. pylori* με τα βλαστικά ή προγονικά κύτταρα**

Η υπόθεση για το σχηματισμό καρκίνου υποστηρίζει ότι βλαστικά ή προγονικά κύτταρα συσσωρεύουν ικανό αριθμό μοριακών βλαβών με αποτέλεσμα την αδυναμία ρυθμιστικής επέμβασης του μηχανισμού κυτταρικής ομοιόστασης και επακόλουθο τη δημιουργία καρκίνου.<sup>46</sup> Οι γενετικές ή και επιγενετικές βλάβες που σταδιακά έχουν συσσωρευτεί κατά τη διάρκεια της γήρανσης συμβάλλουν άμεσα στο μετασχηματισμό των κυττάρων. Στη πραγματικότητα, λίγες είναι οι διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με τις επιπτώσεις που επιφέρει η μόλυνση από το *H. pylori* στα βλαστικά κύτταρα, αν και έχει παρατηρηθεί ότι είναι ικανό να εισβάλει και στα επιθηλιακά αλλά και στα προγονικά κύτταρα. Κατά τη διάρκεια της χρόνιας λοίμωξης, το *H. pylori* ενδέχεται να αλληλεπιδρά, άμεσα ή έμμεσα, με τα γαστρικά βλαστικά/προγονικά κύτταρα διαταράσσοντας τη διαφοροποίησή τους, εισάγοντας τους μοριακές βλάβες.<sup>47</sup>

Πρώιμες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε μολυσμένα με *H. pylori*, αξενικά μοντέλα ποντικού με χρόνια ατροφική γαστρίτιδα, κατέδειξαν απώλεια των τοιχωματικών κυττάρων, με ταυτόχρονο πολλαπλασιασμό των πολυδύναμων και ολιγοδύναμων γαστρικών βλαστικών κυττάρων.<sup>47</sup> Τα κύτταρα αυτά εξέφραζαν σιαλυλιωμένους υποδοχείς γλυκάνης, οι οποίοι αναγνωρίζονταν από συγκολλητίνες γειτονικών *H. pylori* βακτηρίων, που ζούσαν και αλληλεπιδρούσαν στο υποσύνολο αυτών των προγονικών κυττάρων. Συγκρίσεις βασιζόμενες σε μεταγραφήματα γαστρικών προγονικών κυττάρων (GEP) ποντικού, μολυσμένων με *H. pylori*, αποκαλύπτουν ότι τα στελέχη του *H. pylori* που έχουν συσχετιστεί με κίνδυνο για δημιουργία καρκίνου, είναι ικανά να ρυθμίζουν την έκφραση των GEP και συσχετίζονται με σηματοδοτικές και μεταβολικές οδούς, καθώς και με όγκο-κατασταλτικά γονίδια που ενέχονται στην ανάπτυξη γαστρικού καρκίνου στον άνθρωπο.<sup>47</sup> Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν πιθανή αλληλεπίδραση του *H. pylori* με τα γαστρικά προγονικά κύτταρα, αν και παραμένει ασαφές αν η αλληλεπίδραση μπορεί να οδηγήσει σε καρκινογένεση.<sup>47</sup>

### **Μόλυνση με *H. pylori* και αλλαγές στο μικροπεριβάλλον των βλαστικών κυττάρων**

Το μικροπεριβάλλον των βλαστικών κυττάρων αποτελείται από διαφορετικούς πληθυσμούς κυττάρων, διαλυτούς παράγοντες, καθώς και μόρια του εξωκυττάρου χώρου, τα οποία είναι κρίσιμα για την τελική τύχη και διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων. Επιπλέον, σημαντικά μονοπάτια σηματοδότησης όπως τα Wnt, Notch, Hedgehog, PI3K (Phosphoinositide 3-kinase), NF-κβ, EGF (Epidermal growth factor), TOP-β και STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3),<sup>47</sup> φαίνεται ότι ρυθμίζουν την ανανέωση και τη συντήρηση των βλαστικών κυττάρων, οι επιδράσεις των οποίων, συμπίπτουν τόσο στα κανονικά όσο και στα βλαστικά καρκινικά κύτταρα.

Η μόλυνση με *H. pylori*, επάγει χρόνια φλεγμονή, η οποία συνοδεύεται με αυξημένη διήθηση των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως των T και B λεμφοκυττάρων, των μακροφάγων και των ουδετερόφιλων στο γαστρικό βλεννογόνο, υπέρ-έκφραση των φλεγμονωδών διαμεσολαβητών όπως TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, COX2,<sup>47</sup> καθώς και ενεργοποίηση ογκογόνων μονοπατιών στα γαστρικά επιθηλιακά κύτταρα. Αυτοί οι φλεγμονώδεις διαμεσολαβητές και τα ογκογόνα μονοπάτια άμεσα ή

έμμεσα, ρυθμίζουν επίσης τη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων, τα οποία συχνά απορυθμίζονται στους όγκους. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι τα γαστρικά βλαστικά κύτταρα είναι ένας σπάνιος πληθυσμός κυττάρων, τα οποία μπορούν να επηρεαστούν από πολλούς ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, είναι προφανώς πολύ δύσκολο να προσδιοριστεί ο συγκεκριμένος ρόλος που παίζει ένας σηματοδοτικός παράγοντας στη ρύθμιση της διαφοροποίησης και της μετανάστευσης τους.<sup>46</sup> Έχει δειχθεί ότι ο NF-κβ, η IL-6, ο VEGF, ο HIF-1α, η αγγειογένεση, τα ROS και οι ιστικοί παράγοντες, εμπλέκονται στη διατήρηση των βλαστικών κυττάρων και των CSC.<sup>47</sup> Η μόλυνση με *H. pylori*, έχει δειχθεί ότι επηρεάζει την έκφραση όλων των παραπάνω παραγόντων, πράγμα το οποίο υποδηλώνει τις μεταβολές που επιφέρει η μόλυνση στο μικροπεριβάλλον, στη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων, καθώς και τη πρόκληση γενετικών ή επιγενετικών βλαβών σε αυτά τα κύτταρα που οδηγούν σε καρκινογένεση.<sup>47</sup>

Η δημιουργία χρόνιας φλεγμονής δημιουργεί το περιβάλλον για μεταφορά κυττάρων του μυελού των οστών (BMDCs) προς την περιοχή της φλεγμονής. Τα κύτταρα αυτά, είναι ένας ετερογενής πληθυσμός, που περιλαμβάνει αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα και μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (MSCs), τα οποία επιδεικνύουν υψηλή πλαστικότητα και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε διαφορετικές κυτταρικές σειρές, όπως σε στρωματικούς μυοϊνοβλάστες και επιθηλιακά κύτταρα. Τα MSCs, φαίνεται ότι επάγουν μυοϊνοβλάστες ή ινοβλάστες, που σχετίζονται με καρκίνο, προωθώντας με τον τρόπο αυτό, την ανάπτυξη του όγκου. Πρόσφατα, έχει δειχθεί ότι πειραματική μόλυνση με διαφορετικά στελέχη του *H. pylori*, επάγει τη μετανάστευση των MSCs μέσω της οδού TNF/NF-κβ στα επιθηλιακά κύτταρα *in vitro*, συμβάλλοντας σημαντικά στη παθογένεια.<sup>47</sup>

Οι συνθήκες που ευνοούν τη δημιουργία φλεγμονής καθώς και η χρόνια φλεγμονή φαίνεται να είναι απαραίτητες προϋποθέσεις για την έναρξη του κακοήθους μετασχηματισμού και την εξέλιξη του όγκου σε φλεγμονώδεις ασθένειες, όπως, η ηπατίτιδα, η κολίτιδα, η παγκρεατίτιδα και η γαστρική φλεγμονή. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση των καρκινικών κυττάρων, των στρωματικών κυττάρων, των αιμοφόρων αγγείων και των διηθητικών φλεγμονωδών κυττάρων, βοηθά στην εξέλιξη του όγκου, στην ανάπτυξη και στην επέκταση του. Το φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον παίζει κύριο ρόλο στη διαδικασία αυτή με τη συνεχή ενεργοποίηση όγκο-γεννητικών σηματοδοτικών οδών, όπως MAPK, Wnt, STAT3, HIF και NF-κβ, καθώς και επιγενετικών μεταβολών που είναι σήματα που αποτελούν απαραίτητες προϋποθέσεις στην επαγόμενη καρκινική πρόκληση που οφείλεται σε φλεγμονή.<sup>47</sup>

Επιπλέον άλλες μελέτες έδειξαν, ότι παράγοντες παθογένειας του *H. pylori* όπως η CagA έχουν τη δυνατότητα να επάγουν σε *in vitro* πειραματικά μοντέλα μόλυνσης γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων ένα χαρακτηριστικό φαινότυπο διασποράς και επιμήκυνσης, ο οποίος προσομοιάζει στην επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή (Epithelial to Mesenchymal Transition, EMT).<sup>48</sup> Αυτό συνοδεύεται με παραγωγή CD44-θετικών κυττάρων, τα οποία εμφανίζουν τις ιδιότητες των CSCs.<sup>48</sup> Επιπλέον μάρτυρες των γαστρικών βλαστικών κυττάρων καθώς και των γαστρικών καρκινικών βλαστικών κυττάρων παρατίθενται στον Πίνακα 2 και 3.

**Πίνακας 2** Δείκτες γαστρικών βλαστικών και προγονικών κυττάρων<sup>47</sup>

Όνομα	Περιοχή	Λειτουργία
<b>Lgr5</b>	Άντρο, βασικός αδένας	Δημιουργούν γαστρικές μονάδες και από τα 4 είδη κυττάρων
<b>Villin-promoter</b>	Άντρο, βασικός αδένας	Δημιουργούν γαστρικές μονάδες και από τα 4 είδη κυττάρων
<b>Tff2 mRNA</b>	Σώμα, βασικός αδένας	Δημιουργούν μόνο αυχενικά και κορυφαία κύτταρα
<b>Mist1 (BHLHA15)</b>	Σώμα, βασικός αδένας	Επικρατούσα κυτταρική μορφή στη SPEM

**Πίνακας 3** Δείκτες γαστρικών βλαστικών κυττάρων και καρκινικών βλαστικών κυττάρων<sup>47</sup>

Όνομα	Περιοχή	Αύτο-ανανέωση	Αλλομόσχευμα
<b>CD44</b>	βασικός αδένας	Σχηματισμός σφαιρών	Ογκογόνο
<b>CD90</b>	n/t	Σχηματισμός σφαιρών	Ογκογόνο
<b>CD133</b>	βασικός αδένας	Ναι	Ογκογόνο
<b>Musashi-1</b>	άντρο, ισθμός/λαιμός	n/t	n/t
<b>pSmad2/3L-Thr</b>	Περιοχή ισθμού	n/t	n/t

### Η συμβολή του *H. pylori* στο ΓΚ μέσω απορρύθμισης της δράσης των microRNAs

Τα microRNAs (miRNAs), είναι μικρά μη κωδικοποιούμενα RNAs, με μήκος 18-25 νουκλεοτιδίων και αποτελούν σημαντικούς μετά-μεταγραφικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Η ρυθμιστική τους λειτουργία εξαρτάται από τη συμπληρωματικότητα μεταξύ μιας περιοχής τους και του συγκεκριμένου αγγελιοφόρου-RNA (mRNA) στόχου το οποίο απενεργοποιούν. Ένα και μόνο miRNA μπορεί να απορρυθμίσει πολλαπλούς mRNA στόχους, οι οποίοι συχνά ανήκουν στο ίδιο μεταβολικό ή σηματοδοτικό μονοπάτι και με τον τρόπο αυτό, λειτουργεί ως κεντρικός διακόπτης στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης.<sup>49</sup> Εκτιμάται ότι το 30% του ανθρώπινου γονιδιώματος ρυθμίζεται από miRNAs και μέχρι σήμερα, περισσότερα από 900 miRNAs έχουν εντοπιστεί στον άνθρωπο.<sup>49</sup>

Πρόσφατα, τα miRNAs έχουν ενοχοποιηθεί για τη συμβολή τους στην επαγόμενη γαστρική καρκινογένεση από το *H. pylori*. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχουν συνεισφέρει στην αναγνώριση τέτοιων miRNAs, των οποίων η έκφραση και δραστηριότητα αυξάνεται ή μειώνεται στο γαστρικό βλεννογόνο μετά από μόλυνση με *H. pylori* και στα περιστατικά γαστρικού καρκίνου (Πίνακες 4 και 5). Σε διάφορους τύπους καρκίνων, έχει δείχθει ότι τα miRNAs εμπλέκονται σε σηματοδοτικές οδούς που ενέχονται αφενός, στην αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, που αποτελεί κλασικό χαρακτηριστικό αναμενόμενης κακοήθειας, και αφετέρου στην αναστολή μηχανισμών απόπτωσης στο γαστρικό επιθήλιο, που επίσης αποτελεί ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα του κυτταρικού μετασχηματισμού. Επιπλέον, τα miRNAs έχουν δείχθει να συμβάλλουν στους μεταστατικούς μηχανισμούς των καρκινικών κυττάρων. Από την άποψη του μοριακού μηχανισμού στο ΓΚ, θεωρείται ότι, η μειωμένη έκφραση των miRNAs μπορεί να ρυθμίζει τη διαδικασία της μεταγραφής, μέσω μεταβολής της αρχιτεκτονικής της χρωματίνης. Επιπλέον, αλλοίωση της έκφρασης των miRNAs φαίνεται να επηρεάζει τη μεταγραφική δραστηριότητα διαφόρων ογκογόνων/όγκο-κατασταλτικών μεταγραφικών παραγόντων.<sup>49</sup>

Τα παραπάνω στοιχεία καταδεικνύουν, όχι μόνο ένα νέο μηχανισμό μέσω του οποίου ένα παθογόνο όπως το *H. pylori*, μπορεί να επάγει καρκινογένεση, αλλά επίσης αναδεικνύουν τη χρήση των miRNAs σαν δυνητικών δεικτών για τον προσδιορισμό της προδιάθεσης κάποιων ασθενειών, καθώς ένας από τους κύριους σκοπούς της εξατομικευμένης ιατρικής είναι να αξιολογήσει τον κίνδυνο της νόσου με βάση τους πολυμορφισμούς στο γονιδίωμα του κάθε ατόμου (π.χ. *CDH1*, *TNF-A*). Επίσης, τα miRNAs μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διαγνωστικοί δείκτες, καθώς η έγκαιρη ανίχνευση του καρκίνου επιτρέπει τη χορήγηση κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής πριν την εξέλιξή του σε προχωρημένο στάδιο. Τέλος, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί δείκτες με καλές προοπτικές, μια και η ως τώρα πρόγνωση των ασθενών με γαστρικό καρκίνο είναι ανεπαρκής, με 5-ετές ποσοστό επιβίωσης που ανέρχεται στο 20% των περιπτώσεων των ασθενών.<sup>49</sup>

Τέλος, στην ανάπτυξη γαστρικής καρκινογένεσης, όπως προαναφέρθηκε, έχει δειχθεί ότι συμβάλλουν και τα CSCs αλλά και τα miRNAs και ως εκ τούτου, οι αμοιβαίες σχέσεις μεταξύ αυτών των δύο καρκινικών παραγόντων φαίνεται να είναι ενδιαφέρουσες και σημαντικές.<sup>50</sup>

**Πίνακας 4** miRNAs που μειώνεται η έκφραση τους μετά από *H. pylori* λοίμωξη<sup>51</sup>

miRNAs	mRNAs στόχοι	Βιολογικές Διαδικασίες	miRNAs	mRNAs στόχοι	Βιολογικές Διαδικασίες
<b>let-7a+</b>	<b>RAB40C</b>	<b>Κυτταρικό κύκλο / Πολλαπλασιασμό</b>	miR-210	<b>ND</b>	<b>ND</b>
let-7b*	HMGA2	Διήθηση	<b>miR-214</b>	ND	ND
let-7d	HMGA2	Διήθηση	miR-218	<b>ECOP</b>	<b>Πολλαπλασιασμό / Απόπτωση</b>
let-7e	HMGA2	Διήθηση		<b>ROBO1</b>	<b>Διήθηση και μετάσταση</b>
let-7f	HMGA2	Διήθηση	<b>miR-320+</b>	ND	ND
miR-1	ND	Πολλαπλασιασμό	<b>miR-372</b>	LATS2	<b>Κυτταρικό κύκλο</b>
miR-31+	ND	ND	<b>miR-373</b>	LATS2	<b>Κυτταρικό κύκλο</b>
miR-32	ND	ND	miR-375+	<b>PDK1, JAK2</b>	<b>Απόπτωση/ Πολλαπλασιασμό</b>
miR-34b	ND	ND	<b>miR-377</b>	ND	ND
miR-34c	ND	ND	<b>miR-379</b>	ND	ND
<b>miR-101</b>	<b>COX-2, FOS /MCL1</b>	<b>Πολλαπλασιασμό / Απόπτωση</b>	<b>miR-429+</b>	BCL2, XIAP	Απόπτωση
	<b>EZH2</b>	<b>Μετάσταση</b>		MYC	Πολλαπλασιασμό
miR-103#	ND	ND	miR-449	<b>GMNN, CCNE2</b>	<b>Κυτταρικό Κύκλο</b>
miR-106b	p21	Κυτταρικό κύκλο		<b>MET ,SIRT1</b>	Πολλαπλασιασμό
		Πολλαπλασιασμό	<b>miR-455</b>	ND	ND
	BIM	Απόπτωση	<b>miR-491-5p</b>	ND	ND
miR-125a	ERBB2	Πολλαπλασιασμό	<b>miR-500</b>	ND	ND
miR-130a	ND	ND	<b>miR-532#</b>	ND	ND
miR-133	ND	Πολλαπλασιασμό	<b>miR-652#</b>	ND	ND
<b>miR-141#</b>	<b>FGFR2</b>	<b>Πολλαπλασιασμό</b>			
miR-200a+	ZEB1, ZEB2	EMT			
miR-200b+	BCL2, XIAP	Απόπτωση			
	ZEB1, ZEB2	EMT			
miR-200c+	BCL2, XIAP	Απόπτωση / EMT			
<b>miR-203</b>	<b>ABL1</b>	<b>Πολλαπλασιασμό / Διήθηση</b>			
miR-204	EZR	Πολλαπλασιασμό			



**Πίνακας 5** miRNAs που μειώνεται η έκφραση τους μετά από *H. pylori* λοίμωξη<sup>51</sup>

miRNAs	mRNAs στόχοι	Βιολογικές Διαδικασίες
miR-17λ	p21	Κυτταρικός Κύκλος
miR-20aλ	p21	Κυτταρικός Κύκλος
miR-21	PDCD4	Πολλαπλασιασμός
	RECK	Απόπτωση
	PTEN	Διήθηση
miR-146a	IRAK1 / TRAF6	Ανοσολογική Απόκριση/ Πολλαπλασιασμός
	SMAD4	Απόπτωση
miR-155	IKK-ε, SMAD2	Ανοσολογική Απόκριση
miR-223*	EPB41L3	Διήθηση και Μετάσταση
FADD	FADD, PKIα	Απόπτωση

### Συμπεράσματα

Δεδομένα σχετικά με τα γενετικά και επιγενετικά πρότυπα αλλοίωσης, τα οποία είναι χαρακτηριστικά της γαστρικής καρκινογένεσης, γίνονται ευρέως διαθέσιμα και θα αποτελέσουν σίγουρα μια ευκαιρία για να βελτιωθεί η κλινική διαχείριση των ασθενών με γαστρικό καρκίνο. Τα δεδομένα αυτά, συμβάλουν τόσο στη καλύτερη κατανόηση της νόσου, όσο και στη ταυτοποίηση κλινικά σχετικών βιοδεικτών και νέων θεραπευτικών στόχων. Μια σειρά από νέους βιοδείκτες, αναμένεται να επηρεάσουν τη διαχείριση αυτής της νόσου, οι οποίοι μπορεί να παρέχουν πληροφορίες για έγκαιρη διάγνωση, πρόγνωση, θεραπευτική επιλογή και για τη ταυτοποίηση των μηχανισμών απόκτησης αντοχής στη θεραπεία.

Παρά την εντατική έρευνα, οι μηχανισμοί, μέσω των οποίων το *H. pylori* επάγει γαστρική καρκινογένεση, παραμένουν ελάχιστα κατανοητοί, η υπόθεση, όμως, των βλαστικών κυττάρων υπόσχεται να διευκρινίσει την προέλευση/έναρξη του γαστρικού καρκίνου. Η μελέτη των αλληλεπιδράσεων του *H. pylori* ή των λοιμογόνων παραγόντων του με τα βλαστικά / προγονικά κύτταρα ή τα BMDCs είναι κρίσιμα βήματα που οδηγούν προς το σκοπό αυτό. Επιπλέον, τα ερωτήματα που τίθενται αναφορικά με (α) τις επιπτώσεις της νόσου σε διαφορετικούς πληθυσμούς, (β) την εξέλιξη του γαστρικού καρκίνου σε σχέση με τους πολυμορφισμούς των παραγόντων παθογένειας του *H. pylori* και (γ) τη συσχέτιση των βλαστικών κυττάρων με τους διαφορετικούς τύπους του γαστρικού καρκίνου, αναμένεται να διευκρινιστούν περαιτέρω σε μελλοντικές μελέτες.

### Βιβλιογραφία

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005;55:74-108.
2. Correa P. Is gastric cancer preventable? Gut 2004;53:1217-9.
3. Wroblewski LE, Peek RM, Jr., Wilson KT. Helicobacter pylori and gastric cancer: factors that modulate disease risk. Clin Microbiol Rev 2010;23:713-39.
4. Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of Helicobacter pylori. Gastroenterology 2007;133:659-72.
5. Hatakeyama M. Oncogenic mechanisms of the Helicobacter pylori CagA protein. Nat Rev Cancer 2004;4:688-94.
6. Atherton JC. The pathogenesis of Helicobacter pylori-induced gastro-duodenal diseases. Annu Rev Pathol 2006;1:63-96.

7. Lei Z, Tan IB, Das K, et al. Identification of molecular subtypes of gastric cancer with different responses to PI3-kinase inhibitors and 5-fluorouracil. *Gastroenterology* 2013;145:554-65.
8. Zouridis H, Deng N, Ivanova T, et al. Methylation subtypes and large-scale epigenetic alterations in gastric cancer. *Sci Transl Med* 2012;4:156ra140.
9. Ma J, Hong L, Chen Z, et al. Epigenetic Regulation of microRNAs in Gastric Cancer. *Dig Dis Sci* 2013.
10. Lin FC, Liu YP, Lai CH, et al. RUNX3-mediated transcriptional inhibition of Akt suppresses tumorigenesis of human gastric cancer cells. *Oncogene* 2012;31:4302-16.
11. Lee SH, Kim J, Kim WH, et al. Hypoxic silencing of tumor suppressor RUNX3 by histone modification in gastric cancer cells. *Oncogene* 2009;28:184-94.
12. Lu XX, Yu JL, Ying LS, et al. Stepwise cumulation of RUNX3 methylation mediated by *Helicobacter pylori* infection contributes to gastric carcinoma progression. *Cancer* 2012;118:5507-17.
13. Lee SH, Bae SC, Kim KW, et al. RUNX3 inhibits hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  protein stability by interacting with prolyl hydroxylases in gastric cancer cells. *Oncogene* 2013.
14. Carneiro P, Fernandes MS, Figueiredo J, et al. E-cadherin dysfunction in gastric cancer--cellular consequences, clinical applications and open questions. *FEBS Lett* 2012;586:2981-9.
15. Corso G, Carvalho J, Marrelli D, et al. Somatic mutations and deletions of the E-cadherin gene predict poor survival of patients with gastric cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:868-75.
16. Pinheiro H, Carvalho J, Oliveira P, et al. Transcription initiation arising from E-cadherin/CDH1 intron2: a novel protein isoform that increases gastric cancer cell invasion and angiogenesis. *Hum Mol Genet* 2012;21:4253-69.
17. Kurashige J, Kamohara H, Watanabe M, et al. MicroRNA-200b regulates cell proliferation, invasion, and migration by directly targeting ZEB2 in gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2012;19 Suppl 3:S656-64.
18. Caldeira J, Simoes-Correia J, Paredes J, et al. CPEB1, a novel gene silenced in gastric cancer: a *Drosophila* approach. *Gut* 2012;61:1115-23.
19. Cheng Y, Jin Z, Agarwal R, et al. LARP7 is a potential tumor suppressor gene in gastric cancer. *Lab Invest* 2012;92:1013-9.
20. Du W, Wang S, Zhou Q, et al. ADAMTS9 is a functional tumor suppressor through inhibiting AKT/mTOR pathway and associated with poor survival in gastric cancer. *Oncogene* 2013;32:3319-28.
21. Li X, Cheung KF, Ma X, et al. Epigenetic inactivation of paired box gene 5, a novel tumor suppressor gene, through direct upregulation of p53 is associated with prognosis in gastric cancer patients. *Oncogene* 2012;31:3419-30.
22. Park SJ, Jang HR, Kim M, et al. Epigenetic alteration of CCDC67 and its tumor suppressor function in gastric cancer. *Carcinogenesis* 2012;33:1494-501.
23. Shin SH, Park SY, Kang GH. Down-regulation of dual-specificity phosphatase 5 in gastric cancer by promoter CpG island hypermethylation and its potential role in carcinogenesis. *Am J Pathol* 2013;182:1275-85.
24. Takamaru H, Yamamoto E, Suzuki H, et al. Aberrant methylation of RASGRF1 is associated with an epigenetic field defect and increased risk of gastric cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 2012;5:1203-12.
25. Wang S, Cheng Y, Du W, et al. Zinc-finger protein 545 is a novel tumour suppressor that acts by inhibiting ribosomal RNA transcription in gastric cancer. *Gut* 2013;62:833-41.
26. Wang S, Kang W, Go MY, et al. Dapper homolog 1 is a novel tumor suppressor in gastric cancer through inhibiting the nuclear factor-kappaB signaling pathway. *Mol Med* 2012;18:1402-11.
27. Wei Z, Chen X, Chen J, et al. RASSF10 is epigenetically silenced and functions as a tumor suppressor in gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;432:632-7.
28. Xu L, Li X, Chu ES, et al. Epigenetic inactivation of BCL6B, a novel functional tumour suppressor for gastric cancer, is associated with poor survival. *Gut* 2012;61:977-85.
29. Yu J, Liang QY, Wang J, et al. Zinc-finger protein 331, a novel putative tumor suppressor, suppresses growth and invasiveness of gastric cancer. *Oncogene* 2013;32:307-17.
30. Humans IWGotEoCRt. A review of human carcinogens. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 2012;Volume 100 B. :100(Pt B):1-441.

31. Cover TL, Peek RM, Jr. Diet, microbial virulence and *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer. *Gut Microbes* 2013;4.
32. Yamaoka Y. Roles of *Helicobacter pylori* BabA in gastroduodenal pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2008;14:4265-72.
33. Marcos NT, Magalhaes A, Ferreira B, et al. *Helicobacter pylori* induces beta3GnT5 in human gastric cell lines, modulating expression of the SabA ligand sialyl-Lewis x. *J Clin Invest* 2008;118:2325-36.
34. Senkovich OA, Yin J, Ekshyyan V, et al. *Helicobacter pylori* AlpA and AlpB bind host laminin and influence gastric inflammation in gerbils. *Infect Immun* 2011;79:3106-16.
35. Lu H, Wu JY, Beswick EJ, et al. Functional and intracellular signaling differences associated with the *Helicobacter pylori* AlpAB adhesin from Western and East Asian strains. *J Biol Chem* 2007;282:6242-54.
36. Yamaoka Y, Kudo T, Lu H, et al. Role of interferon-stimulated responsive element-like element in interleukin-8 promoter in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 2004;126:1030-43.
37. Zanotti G, Cendron L. Functional and structural aspects of *Helicobacter pylori* acidic stress response factors. *IUBMB Life* 2010;62:715-23.
38. Hoy B, Brandstetter H, Wessler S. The stability and activity of recombinant *Helicobacter pylori* HtrA under stress conditions. *J Basic Microbiol* 2013;53:402-9.
39. Rimbara E, Mori S, Kim H, et al. Role of gamma-glutamyltranspeptidase in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Microbiol Immunol* 2013;57:665-73.
40. Kwok T, Zabler D, Urman S, et al. *Helicobacter* exploits integrin for type IV secretion and kinase activation. *Nature* 2007;449:862-6.
41. Fischer W, Puls J, Buhrdorf R, et al. Systematic mutagenesis of the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island: essential genes for CagA translocation in host cells and induction of interleukin-8. *Mol Microbiol* 2001;42:1337-48.
42. Backert S, Tegtmeyer N, Selbach M. The versatility of *Helicobacter pylori* CagA effector protein functions: The master key hypothesis. *Helicobacter* 2010;15:163-76.
43. Viala J, Chaput C, Boneca IG, et al. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. *Nat Immunol* 2004;5:1166-74.
44. Allison CC, Kufer TA, Kremmer E, et al. *Helicobacter pylori* induces MAPK phosphorylation and AP-1 activation via a NOD1-dependent mechanism. *J Immunol* 2009;183:8099-109.
45. Wang F, Meng W, Wang B, et al. *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett* 2013.
46. Mills JC, Shivdasani RA. Gastric epithelial stem cells. *Gastroenterology* 2011;140:412-24.
47. Ding SZ, Zheng PY. *Helicobacter pylori* infection induced gastric cancer; advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. *Gut Pathog* 2012;4:18.
48. Bessede E, Staedel C, Acuna Amador LA, et al. *Helicobacter pylori* generates cells with cancer stem cell properties via epithelial-mesenchymal transition-like changes. *Oncogene* 2013.
49. Wu WK, Lee CW, Cho CH, et al. MicroRNA dysregulation in gastric cancer: a new player enters the game. *Oncogene* 2010;29:5761-71.
50. Sun X, Jiao X, Pestell TG, et al. MicroRNAs and cancer stem cells: the sword and the shield. *Oncogene* 2013.
51. Noto JM, Peek RM. The role of microRNAs in *Helicobacter pylori* pathogenesis and gastric carcinogenesis. *Front Cell Infect Microbiol* 2011;1:21.