

## 소아 *Helicobacter pylori* 감염에서 균의 유전형, 위 상피세포의 증식과 세포사

한림대학교 의과대학 소아과학교실, 이화여자대학교 의과대학  
\*진단검사의학과학교실, † 소아과학교실

정 지 아 · 이 미 애\* · 서 정 완†

### The Genotypes of *Helicobacter pylori*, Gastric Epithelial Cell Proliferation and Apoptosis in Children

Ji Ah Jung, M.D., Mi Ae Lee, M.D.\* and Jeong Wan Seo, M.D.†

Department of Pediatrics, Hallym University College of Medicine,  
Departments of \*Laboratory Medicine and † Pediatrics,  
Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose:** To investigate the relation of the gastric epithelial cell proliferation, apoptosis and genotypes of *H. pylori* in children.

**Methods:** Histologic grading by updated Sydney system, PCNA immunostaining, TUNEL method and the genotypes (*cagA*, *picB* and *iceA*) by PCR were performed in *H. pylori* positive (N=20) and negative (N=20) gastric biopsy specimens.

**Results:** PCNA index was significantly different between *H. pylori* positive children ( $77.4 \pm 13.12$ ) and *H. pylori* negative children ( $52.3 \pm 12.20$ ) ( $p=0.000$ ). There were positive correlations between PCNA index and *H. pylori* density ( $r=0.624$ ,  $p=0.000$ ), polymorphonuclear neutrophil activity ( $r=0.460$ ,  $p=0.005$ ) and chronic inflammation ( $r=0.433$ ,  $p=0.009$ ). Apoptosis index of *H. pylori* positive children ( $0.70 \pm 0.411$ ) was significantly higher than of *H. pylori* negative children ( $0.14 \pm 0.201$ ) ( $p=0.000$ ). Positive correlations between apoptosis index and *H. pylori* density ( $r=0.691$ ,  $p=0.000$ ), polymorphonuclear neutrophil activity ( $r=0.585$ ,  $p=0.000$ ) and chronic inflammation ( $r=0.535$ ,  $p=0.001$ ) were noted. As PCNA index increased, apoptosis index significantly increased ( $r=0.527$ ,  $p=0.001$ ). The positive rates of genotypes were *cagA* 90%, *picB* 75%, *iceA1* 60% and *iceA2* 15%, respectively. There were no significant correlations between the status of the genotypes

접수 : 2003년 3월 2일, 승인 : 2003년 3월 14일

책임저자 : 서정완, 158-710 서울시 양천구 목동 911-1, 이화여자대학교 의과대학 소아과학교실

Tel: 02-2650-5573, 5141, Fax: 02-2653-3718, E-mail: jwseo@ewha.ac.kr

본 논문의 요지는 2002년도 대한소아과학회 추계학술대회에서 발표되었음.

and PCNA index, apoptosis index, the endoscopic findings and the histologic findings.

**Conclusion:** PCNA index and apoptosis index in *H. pylori* positive children were higher than in *H. pylori* negative children but were not related to *H. pylori* genotypes. This study suggested that correlatively increased gastric epithelial cell proliferation and apoptosis are important to pathogenesis of *H. pylori* infection in children. (**Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003; 6: 1~9**)

**Key Words:** *Helicobacter pylori*, Gastric epithelial cell, Proliferation, Apoptosis, *cagA*, *picB*, *iceA*

## 서 론

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 감염의 병인으로 균의 병독 인자, 숙주 요인 및 환경 등이 연구되고 있다. 균의 병독 인자로는 urease, 편모, adhesin 등과 *cagA*, *pic B*, *iceA* 등의 유전자가 있으며, 숙주 요인으로는 위점막 방어벽과 위산도의 항상성, cytokines, mucin, gastrin, somatostatin, ABO 혈액형과 HLA형 등이다. 최근에는 위 상피세포 증식(proliferation)과 세포사(apoptosis)의 변화가 *H. pylori*의 병인으로 중요시되고 있으며<sup>1,2)</sup> 이러한 변화와 *H. pylori* 유전형과의 관련성에 대한 연구들이 보고되었다<sup>3~6)</sup>.

위 상피세포는 정상적으로 세포 증식과 세포사의 과정을 거쳐 약 5일만에 새로운 세포로 대체되는데<sup>7)</sup>, *H. pylori*균에 감염되면 세포 증식과 세포사의 변화가 유발된다. *H. pylori*에 의해 세포사가 증가하면서 보상적으로 세포 증식이 증가하고<sup>1~3)</sup>, 박멸치료 후에는 세포사와 세포 증식이 동시에 감소하므로 이는 가역적인 반응으로 생각된다<sup>1,2)</sup>. 그러나 *H. pylori* 감염 초기에는 세포사의 증가에도 불구하고 세포 증식이 없으면 위축, 궤양 등의 점막 손상이 생기며<sup>8,9)</sup>, *H. pylori* 감염이 장기간 지속되어 세포사보다 세포 증식이 더 증가하거나<sup>8,9)</sup>, 세포사의 조절불능, 세포사의 저하로 암이 발생한다고 추정되고 있다<sup>4,5,10)</sup>.

*H. pylori*균의 유전형은 매우 다양하다. *cagA* (cytotoxin-associated gene A)와 *picB* (permits the induction of cytokines) 유전자는 *cag* pathogenicity island (PAI)의 일부로서 interleukin-8 (IL-8)의 분비를 유도하여 점막 손상을 일으키는데 관여한다<sup>11,12)</sup>. *iceA* (induced by contact with epithelium) 유전자는 *iceA1*과 *iceA2*의 대립 유전자가 있는데, *iceA1*이 *H. pylori*가 위 상피세포에 접촉 시에 상향조정(upregulation)되어 염증반응을 유도하여 소화성 궤양의 표지자라고 한다<sup>13,14)</sup>.

위 상피세포 증식과 세포사 및 *H. pylori* 유전형과의 관련성에 대한 연구는 주로 성인을 대상으로 한 것이었다<sup>3~6)</sup>. 위 상피세포 증식과 세포사는 *cagA*와는 관련이 없다고 하였으며<sup>15,16)</sup>, Moss 등<sup>3)</sup>은 세포사의 증가는 *cagA*, *cag* PAI와 관련성이 있으나, 세포 증식은 *cagA*와는 관련이 없다고 하였으며, Rokkas 등<sup>4)</sup>은 *cagA* 양성에서 세포 증식이 증가하였으나 세포사와의 균형을 이루지 못하여 위암의 위험요소가 된다고 하였다. 소아에서는 Jones 등<sup>15)</sup>이 소아기에 *H. pylori*에 감염되면 세포 증식과 세포사가 유의하게 증가하며, 이는 *cagA* 유전자와는 관련이 없다고 하였다.

저자들은 *H. pylori* 감염 소아에서 위 상피세포 증식과 세포사가 증가함을 보고한 바 있다<sup>17)</sup>. *H. pylori* 감염 소아에서 위 상피세포 증식과 세포사의 정도를 보고, 병독 인자인 *cagA*, *picB* 및 *iceA* 유전형과의 관련성을 보고자 본 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

## 1. 대상

1999년 8월부터 2001년 6월까지 이화여자대학교 목동병원 소아과에서 심와부 동통, 토혈, 만성 복부 불쾌감, 구토 등의 증상으로 상부위장관 내시경을 시행하여 *H. pylori* 감염으로 진단된 20예와 무작위로 추출한 감염 음성 20예를 대상으로 하였다. *H. pylori* 감염 양성은 조직학적으로 *H. pylori* 균이 관찰되고, CLO 검사와 *ureC* PCR<sup>18)</sup>이 전부 양성인 경우로 하였다. 대상 환자의 연령과 성별은 감염 양성은 연령 5~15세(정중값 10세), 남아 6예, 여아 14예이었으며, 감염 음성은 연령 5~15세(정중값 10세), 남아 11예, 여아 9예이었다.

## 2. 방법

위생검 조직에서 개정된 시드니 체계를 이용하여 조직 소견을 분석하고, 2002년 논문<sup>17)</sup>에서 기술한 방법으로 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 발현으로 위 상피세포 증식의 정도를, *in situ* terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) 방법으로 세포사의 정도를 조사하였다.

1) *H. pylori* 유전자 중합효소연쇄반응: 영하 70°C

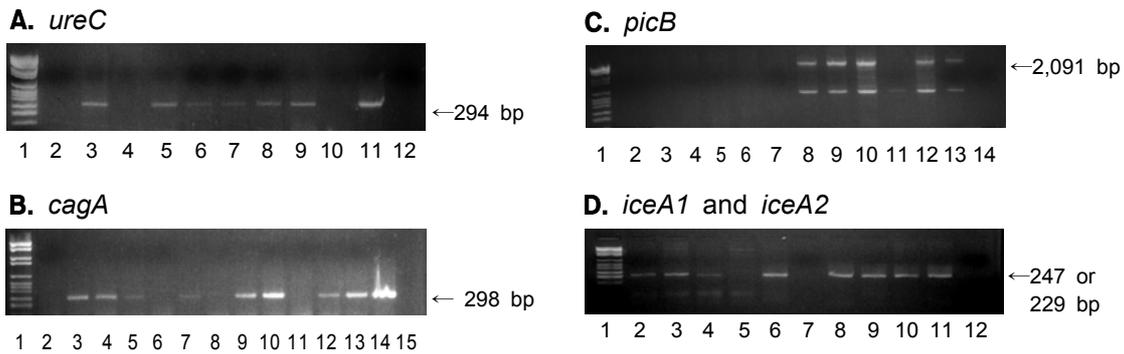
에 냉동 보관해 둔 위생검조직에서 QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen Inc., CA, USA)를 이용하여 설명서에 따라 DNA를 분리하였다. 추출한 DNA는 Beckman DU spectrophotometer (Beckman Coulter Inc., California, USA)로 각 검체마다 추출된 DNA의 양을 측정하였다.

*ureC*<sup>18)</sup>, *cagA*<sup>19)</sup>, *picB*<sup>19,20)</sup> 및 *iceA*<sup>13)</sup> PCR의 시발체의 염기서열은 표에 기술하였다(Table 1). 주형 DNA 10 $\mu$ L, 증류수, 10 $\times$ PCR buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 0.6 $\mu$ L의 각 시발체, Taq polymerase 2.5 U의 총 50 $\mu$ L로 하였다. PCR은 GeneAmp PCR System 9600 (Perkin-Elmer Cetus, CA, USA)를 사용하였고, PCR의 조건은 Table 1과 같다. *H. pylori* DNA 양성대조는 ATCC 700392 균주에서 분리한 DNA를 이용하였고, 1 $\times$ TE 완충액을 음성대조로 사용하였다. PCR을 실시한 후 반응산물 10 $\mu$ L를 취하여 전기영동 완충액 1 $\mu$ L와 섞은 다음 ethidium bromide가 함유된 2% NuSieve 3 : 1 agarose gel (FMC BioProducts, USA)에 10 $\mu$ L씩 가하여 100 V의 직류로 20분간 전기영동시킨 후 UV transilluminator (Spectroline TVC-312A, Spectronics Co, NY, USA)와 폴라로이드 사진기로 촬영하였다. 이때 증폭된 DNA는 DNA molecular marker VI (Boehringer-Mannheim, Germany)와 비교하여 *ureC*는 294 bp band, *cagA*는

Table 1. Methods of PCR Assay for *ureC*, *cagA*, *picB* and *iceA* Genotypes

Region	Primer	Primer Sequence (5'→3')	Size of PCR product (bp)	Condition
<i>ureC</i>	<i>ureC</i> 1	AAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGGTTT	294	55°C 2 min, 35 cycle
	<i>ureC</i> 2	AAGCCTTACTTTCTAACACTAACGC		
<i>cagA</i>	D008	TAATGCTAAATTAGACAACCTTGAGCGA	298	55°C 2 min, 35 cycle
	R008	TAGAATAATCAACAAACATCAGCCAT		
<i>picB</i> ( <i>cagE</i> )	<i>picF</i>	GAGCTTTTGCTTGCTTTTGC	2,091	55°C 1 min, 30 cycle
	<i>picR</i>	CAAACAACGCTGCTTTTCTAT		
<i>iceA1</i>	<i>iceA1F</i>	GTGTTTTTAACCAAAGTATC	247	55°C 2 min, 40 cycle
	<i>iceA1R</i>	CTATAGCCAS*TY <sup>†</sup> TCTTTGCA		
<i>iceA2</i>	<i>iceA2F</i>	GTTGGGTATATCACAATTTAT	229 or 334	55°C 2 min, 40 cycle
	<i>iceA2R</i>	TTR <sup>‡</sup> CCCTATTTTCTAGTAGGT		

\*S is C or G, <sup>†</sup> Y is C or T, <sup>‡</sup> R is A or G.



**Fig. 1.** PCR results of the *ureC*, *cagA*, *picB*, *iceA1* and *iceA2* genes. (A) Lane 1; DNA molecular-weight marker VI, 3, 5-9; positive results, 2, 4, 10; negative results, 11; positive control, 12; negative control. (B) Lane 1; DNA molecular-weight marker VI, 3-5, 7, 9, 10, 12, 13; positive results, 2, 6, 8, 11; negative results, 14; positive control, 15; negative control. (C) Lane 1; DNA molecular-weight marker VI, 8-10, 12; positive results, 2-7, 11; negative results, 13; positive control, 14; negative control. (D) Lane 1; DNA molecular-weight marker VI, 2-4; positive results of *iceA1*, 5; negative results of *iceA1*, 6; positive control of *iceA1*, 7; negative control of *iceA1*, 8-10; positive results of *iceA2*, 11; positive control of *iceA2*, 12; negative control of *iceA2*.

298 bp band, *picB*는 2,091 bp band, *iceA1*은 247 bp band 및 *iceA2*는 229 혹은 334 bp band가 확인되면 양성으로 하였다(Fig. 1).

2) 통계분석: PC-SAS Release 6.12<sup>®</sup> (SAS Institute Inc. Cary, NC)를 이용하여 Fisher's exact 검정, Wilcoxon rank sum 검정, Spearman 상관 분석으로 *p* 값이 0.01 미만인 경우에 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결 과

### 1. 내시경 소견

상부 위장관 내시경 소견은 *H. pylori* 감염 양성 소아에서 결절성 위염이 13예(65%)로 가장 많았고, 위궤양 3예, 십이지장 궤양 2예, 발적성 위염 1예, 정상 1예이었다. *H. pylori* 감염 음성 소아에서는 정상 소견이 6예(30%)로 가장 많았고, 미란성 위염 5예, 발적성 위염 4예, 십이지장염 2예, 식도염 1예, 십이지장 궤양 1예, 결절성 위염 1예 순이었다( $p=0.000$ ).

### 2. 세포 증식 지표와 세포사 지표

세포 증식 지표는 *H. pylori* 감염 양성에서 77.4

**Table 2.** PCNA Index and Apoptosis Index of *H. Pylori* Positive and Neagtive Children

	<i>H. pylori</i> (+)	<i>H. pylori</i> (-)	<i>p</i> value
PCNA index	77.4±13.12	52.3±12.20	0.000
Apoptosis index	0.70±0.411	0.14±0.201	0.000

Data are presented mean±SD.

±13.12, 음성에서 52.3±12.20로 감염 양성에서 음성보다 유의하게 높았다( $p=0.000$ , Table 2). 세포 증식 지표는 *H. pylori* 밀도가 증가할수록( $r=0.624$ ,  $p=0.000$ ), 다핵형 중성구의 활동성이 증가할수록( $r=0.460$ ,  $p=0.005$ ), 만성염증이 증가할수록( $r=0.433$ ,  $p=0.009$ ) 증가하였다(Table 3). 세포사 지표는 *H. pylori* 감염 양성에서 0.70±0.411, 음성에서 0.14±0.201로 감염 양성에서 음성보다 유의하게 높았다( $p=0.000$ , Table 2). 세포사 지표는 *H. pylori* 밀도가 증가할수록( $r=0.691$ ,  $p=0.000$ ), 다핵형중성구의 활동성이 증가할수록( $r=0.585$ ,  $p=0.000$ ), 만성염증이 증가할수록( $r=0.535$ ,  $p=0.001$ ) 증가하였다(Table 3).

세포 증식 지표가 증가할수록 세포사 지표는 증가하여 유의한 상관관계가 있었다( $r=0.527$ ,  $p=0.001$ ).

### 3. *H. pylori* 유전형의 양성률

*H. pylori* 감염 양성에서 유전형의 양성률은 *cagA* 90%, *picB* 75%, *iceA1* 60% 및 *iceA2* 15%이었다 (Table 4).

### 4. *H. pylori* 유전형에 따른 세포 증식 지표와 세포사 지표

세포 증식 지표와 세포사 지표는 *cagA*, *picB*, *iceA* 유전형에 따른 유의한 차이가 없었다(Table 5). 또한, *H. pylori* 유전형에 따른 내시경 소견, 조직 소견에는 유의한 차이가 없었다.

**Table 3.** Correlation between Histologic Findings and PCNA Index and Apoptosis Index

Histologic parameters	PCNA Index	Apoptosis Index
<i>H. pylori</i> density	0.624 (0.000)	0.691 (0.000)
PMN* neutrophil activity	0.460 (0.005)	0.585 (0.000)
Chronic inflammation	0.433 (0.009)	0.535 (0.001)

\*PMN: polymorphonuclear, Data are presented as r value ( $p$  value).

## 고찰

*H. pylori*의 유전형은 매우 다양하다. *cagA*는 중성구의 이동에 관여하는 interleukin-8의 분비를 유도하고, 점막의 손상을 일으킨다. 서구에서는 *cagA* 유전자와 소화성 궤양이나 위암과의 관련성이 있다고 보고하였고<sup>13,21,22</sup>, 우리나라를 비롯한 동북아시아 등지에서는 질병과는 관련이 없어, 지역적인 분포의 차이로 추정되고 있다<sup>23</sup>. *cagA*는 *cag* pathogenicity island (PAI)의 일부이다. *cag* PAI는 적어도 16개의 유전자로 이루어진 오른쪽 분절인 *cagI* 과 적어도 14개의 유전자로 이루어진 왼쪽 분절인 *cagII*와 그 사이를 잇는 insertion sequence (IS605) 등으로 이루어져 있으며, 이러한 *cag* PAI가 부분적 결실이 없이 완전할 때 가장 병독성이 있다고 하였다<sup>12,24,25</sup>. *cag* PAI는 *cagA*에 상관없이 상피세포

**Table 4.** Positive Rate of *cagA*, *picB* and *iceA* Genotypes

Genotype	No. of positive patients (%)
<i>cagA</i>	18/20 (90%)
<i>picB</i>	15/20 (75%)
<i>iceA1</i>	12/20 (60%)
<i>iceA2</i>	3/20 (15%)
<i>iceA1/iceA2</i> (-/-)	5/20 (25%)

**Table 5.** PCNA Index and Apoptosis Index according to Genotypes of *H. pylori*

Genotypes	N	PCNA index	$p$ value	Apoptosis index	$p$ value
<i>cagA</i> (+)	18	76.0±13.16	0.127	0.67±0.405	0.171
<i>cagA</i> (-)	2	89.5±1.27		1.00±0.467	
<i>picB</i> (+)	15	75.8±13.88	0.342	0.62±0.412	0.062
<i>picB</i> (-)	5	83.7±8.19		1.00±0.269	
<i>iceA1</i>	12	78.2±10.51	0.290	0.77±0.590	0.423
<i>iceA2</i>	3	84.8±10.92		1.00±0.692	
<i>iceA1/iceA2</i> (-/-)	5	69.7±20.30		0.50±0.196	

에서 interleukin-8 (IL-8)의 분비를 유도하는 NF- $\kappa$ B를 활성화시킨다고 하였다<sup>26</sup>. 성인에서 위염보다 십이지장 궤양에서 전체 *cag* PAI가 더 많이 검출되나, 임상질환과의 뚜렷한 연관성은 밝히지 못하였다<sup>25,27</sup>. *cag* PAI의 대부분이 결손되어도 *cagA*가 존재할 수 있어 *cagA*가 *cag* PAI를 완전히 대체하지는 못하는 것으로 되어 있다<sup>25</sup>. 적어도 40개의 *cag* PAI의 유전자 중 *picB* (permits the induction of cytokines), *cagT*, *virD4* 등은 interleukin-8의 분비에 필수적인 것으로 알려져 있으며<sup>28</sup>, 이중 *picB* (*cagE*)는 *cagA*처럼 *cag* PAI의 *cagI*에 위치한 유전자로 소아에서 십이지장 궤양과 관련이 있다는 보고가 있다<sup>12,29</sup>. 본 연구에서는 *cagA*와 *picB*에 따른 내시경 소견과 조직 소견의 차이를 발견할 수 없었으며, 이는 우리나라 성인과 소아에서의 기존의 연구와 일치한다<sup>30-32</sup>. 또한 세포 증식 지표와 세포사 지표는 *cagA*와 *picB* 양성과 음성 환아에서 차이가 없었다.

*iceA* (induced by contact with epithelium) 유전자는 *iceA1*과 *iceA2*의 두 가지 대립 유전자가 있으며 기능은 잘 알려져 있지 않다. *iceA1*은 type II restriction endonuclease와 비슷하며, *H. pylori*가 위 상피세포에 접촉 시 상향조정(upregulation)되어 염증 반응을 유도하므로 소화성 궤양의 표지자라고 하며, *iceA2*는 비궤양성 소화불량과 관련이 있다고 한다<sup>13,14</sup>. van Doorn 등<sup>13</sup>은 소화성 궤양과 *iceA1*과의 연관성을 주장하였고, Yamaoka 등<sup>23</sup>은 질병과는 관련이 없고, 지역적인 분포의 차이가 있다고도 하였다. 본 연구에서는 *iceA* 유전형에 따른 질환의 차이가 없었다. *iceA* 유전형과 세포 증식 및 세포사와의 관계에 관한 보고는 없었는데, 본 연구에서는 *iceA* 유전형에 따른 세포 증식 및 세포사에는 차이가 없었다.

위 상피세포 증식과 세포사에 관한 성인에서의 보고는 대부분이 *H. pylori* 감염 시에 세포사에 대한 보상 작용의 결과로 세포 증식이 증가한다고 하였다<sup>3,5,8,28,33,34-37</sup>. 국내 성인을 대상으로 한 연구에서는 이 등<sup>38</sup>은 *H. pylori* 감염 유무에 따라 PCNA 발현의 차이가 없었다고 하였고, 정 등<sup>37</sup>은

세포사만 유의하게 증가하고 세포 증식에서는 차이를 볼 수 없었다고 하였다. 방 등<sup>40</sup>은 *H. pylori* 감염 양성에서 세포사와 세포 증식이 유의하게 증가함을 보고하였다. 소아에서 *H. pylori*에 의한 위 상피세포 증식과 세포사에 대한 연구는 거의 없다. Jones 등<sup>15</sup>이 소아에서 세포 증식과 세포사가 *H. pylori* 감염 시에 유의하게 증가한다고 하였다.

본 연구에서는 저자들의 이전 연구<sup>17</sup>와 동일하게 소아 *H. pylori* 감염 양성에서 세포 증식 지표와 세포사 지표가 유의하게 증가함을 관찰하여, *H. pylori* 감염 소아에서 위 상피세포 증식과 세포사가 증가함을 알 수 있었다. 또한, 세포 증식 지표와 세포사 지표는 유의한 상관성을 보여 위 상피세포 증식과 세포사는 균형을 이루면서 증가함을 알 수 있었다. 세포 증식과 세포사는 내시경 소견(위염, 궤양성 질환, 정상 소견)에 따른 차이가 없었다. 이는 소아에서 궤양성 질환의 유병률이 적어서일 것으로 생각되며, 더 많은 수의 환아를 대상으로 연구되어야 할 것이다.

위 상피세포 증식, 세포사와 조직 소견과의 관계에 대해서는 Lynch 등<sup>28</sup>은 위 상피세포의 증식이 증가할수록 *H. pylori* 밀도, 다핵형중성구의 활동성, 만성염증이 증가하여, 세포 증식을 *H. pylori*에 의한 염증 반응의 결과로 보았다. Moss 등<sup>1</sup>은 세포사 지표와 조직 소견과는 상관성이 없었다고 하였다. 본 연구에서는 저자들의 이전 연구<sup>17</sup>와 동일하게 세포 증식 지표와 세포사 지표 모두 *H. pylori* 밀도와 다핵형중성구의 활동성, 만성염증이 증가할수록 증가하여, 소아에서 증가된 세포 증식과 세포사는 *H. pylori*에 의한 염증 반응의 결과로 생각된다.

본 저자들은 *H. pylori* 감염 소아에서 세포 증식 지표와 세포사 지표가 균형을 이루면서 증가함을 확인하고, 위 상피세포 증식과 세포사가 균형을 이루면서 증가하므로 성인에 비해 질병의 정도가 약하지 않나 추정해 보았다. 또한 위 상피세포 증식과 세포사에 *cagA*, *picB* 및 *iceA* 유전형에 따른 유의한 차이가 없음을 알 수 있었다. 이는 소아에서 위 상피세포 증식과 세포사가 *H. pylori*의 병인에

중요함을 시사하며, 앞으로 더 많은 환아를 대상으로 성인과 비교 연구 등이 필요하리라 생각된다.

## 요 약

**목적:** *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)에 의한 질병 발생의 병독 인자로 *cagA*, *picB* 및 *iceA* 등의 유전형이 연구되고 있으며, 최근에는 위 상피세포의 증식(proliferation)과 세포사(apoptosis)의 불균형이 중요시되고 있다. 이에 *H. pylori* 감염 소아에서 위 상피세포 증식과 세포사 및 *cagA*, *picB* 및 *iceA* 유전형의 관련성을 알아보려고 하였다.

**방법:** 1999년 8월부터 2001년 6월까지 이화여자대학교 목동병원 소아과에서 소화기 증상으로 내시경을 시행하여 *H. pylori* 감염으로 진단된 20예와 감염 음성 20예를 대상으로 하였다. *H. pylori* 감염 양성은 조직학적으로 *H. pylori* 균이 관찰되고, CLO 검사와 *ureC* PCR이 전부 양성인 경우로 하였다. 위생검 조직에서 개정된 시드니 체계를 이용하여 조직 소견을 분석하고, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 발현으로 위 상피세포 증식의 정도를, in situ terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) 방법으로 세포사의 정도를 조사하였다. *cagA*, *picB* 및 *iceA* 유전자에 대해 중합효소연쇄반응을 시행하였다.

### 결과:

1) 세포 증식 지표는 *H. pylori* 감염 양성에서  $77.4 \pm 13.12$ 로, 음성  $52.3 \pm 12.20$ 에 비하여 유의하게 높았다( $p=0.000$ ). 세포 증식 지표는 *H. pylori* 밀도가 증가할수록( $r=0.624$ ,  $p=0.000$ , 다핵형 중성구의 활동성이 증가할수록( $r=0.460$ ,  $p=0.005$ ), 만성 염증이 증가할수록( $r=0.433$ ,  $p=0.009$ ) 증가하였다.

2) 세포사 지표는 *H. pylori* 감염 양성에서  $0.70 \pm 0.411$ , 음성에서  $0.14 \pm 0.201$ 로 감염 양성에서 음정보다 유의하게 높았다( $p=0.000$ ). 세포사 지표는 *H. pylori* 밀도가 증가할수록( $r=0.691$ ,  $p=0.000$ ), 다핵형 중성구의 활동성이 증가할수록( $r=0.585$ ,  $p=0.000$ ), 만성 염증이 증가할수록( $r=0.535$ ,  $p=0.001$ ) 증가하였다.

3) 세포 증식 지표가 증가할수록 세포사 지표는

유의하게 증가하였다( $r=0.527$ ,  $p=0.001$ ).

4) *H. pylori* 감염 양성에서 유전형의 양성률은 *cagA* 90%, *picB* 75%, *iceA1* 60% 및 *iceA2* 15%였으며, *cagA*, *picB*, 및 *iceA* 유전형에 따른 세포 증식 지표, 세포사 지표, 내시경 소견 및 조직 소견에는 유의한 차이가 없었다.

**결론:** *H. pylori* 감염 소아에서 위 상피세포 증식 지표와 세포사 지표가 균형을 이루면서 증가하였으며, *cagA*, *picB* 및 *iceA* 유전형에 따른 유의한 차이는 없었다. 이는 위 상피세포 증식과 세포사가 *H. pylori*의 병인에 중요함을 시사하며, 앞으로 세포 증식과 세포사의 기전과 유발 요인, 여러 유전형과의 관계, 성인과 비교 연구 등이 필요하리라 생각된다.

## 참 고 문 헌

- 1) Moss SF, Calam J, Agarwal B, Wang S, Holt PR. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*. Gut 1996;38:498-501.
- 2) Jang TJ, Lee JI, Kim JR, Kim DH, Bae SH. Decreased gastric proliferation of foveolar epithelial cells after the eradication of *Helicobacter pylori*. J Korean Med Sci 1997;12:421-6.
- 3) Moss SF, Sordillo EM, Abdalla AM, Makarov V, Hanzely Z, Perez-Perez GI, et al. Increased gastric epithelial cell apoptosis associated with colonization with *cagA*<sup>+</sup> *Helicobacter pylori* strains. Cancer Res 2001;61:1406-11.
- 4) Rokkas T, Ladas S, Liatsos C, Petridou E, Papatheodorou G, Theocharis S, et al. Relationship of *Helicobacter pylori* CagA status to gastric cell proliferation and apoptosis. Dig Dis Sci 1999;44:487-93.
- 5) Peek RM Jr, Moss SF, Tham KT, Perez-Perez GI, Wang S, Miller GG, et al. *Helicobacter pylori* *cagA*<sup>+</sup> strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis. J Natl Cancer Inst 1997; 89:863-8.
- 6) Takagi A, Watanabe S, Igarashi M, Koike J, Hasumi K, Deguchi R, et al. The effect of *Helicobacter pylori* on cell proliferation and apoptosis in gastric epithelial cell lines. Aliment Pharmacol Ther 2000;14:188-92.
- 7) Crawford JM. The gastrointestinal tract: Stomach. In:

- Cotrans RS, Kumar V, Robbins SL, eds. Pathologic basis of disease. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994;767-83.
- 8) Jang TJ, Kim JR. Proliferation and apoptosis in gastric antral epithelial cells of patients infected with *Helicobacter pylori*. J Gastroenterol 2000;35:265-71.
  - 9) Suzuki H, Ishii H. Role of apoptosis in *Helicobacter pylori*-associated gastric mucosal injury. J Gastroenterol Hepatol 2000;15(Suppl):D46-54.
  - 10) Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995;267:1456-62.
  - 11) Akopyants NS, Clifton SW, Kersulyte D, Crabtree JE, Youree BE, Reece CA, et al. Analyses of the *cag* pathogenicity island of *Helicobacter pylori*. Mol Microbiol 1998;28:37-53.
  - 12) Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. *cag*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:14648-53.
  - 13) van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W, et al. Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 1998;115:58-66.
  - 14) van Doorn LJ, Henskens Y, Nouhan N, Verschuuren A, Vreede R, Herbink P, et al. The efficacy of laboratory diagnosis of *Helicobacter pylori* infections in gastric biopsy specimens is related to bacterial density and *vacA*, *cagA*, and *iceA* genotypes. J Clin Microbiol 2000;38:13-7.
  - 15) Jones NL, Shannon PT, Cutz E, Yeger H, Sherman PM. Increase in proliferation and apoptosis of gastric epithelial cells early in the natural history of *Helicobacter pylori* infection. Am J Pathol 1997;151:1695-703.
  - 16) 김정목, 김주성, 정현채, 고은주, 송인성, 김정룡. *Helicobacter pylori* 병독인자에 의한 인체 위상피세포의 친염증성 Cytokine 발현과 Apoptosis 유도 및 임상 질환과의 관계. 대한소화기학회지 2000;36:583-96.
  - 17) 정지아, 김 철, 한운섭, 서정완. 소아 *Helicobacter pylori* 감염에서 위 상피세포의 증식과 세포사. 대한소아소화기영양학회지 2002;1:1-10.
  - 18) Labigne A, Cussac V, Courcoux P. Shuttle cloning and nucleotide sequences of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. J Bacteriol 1991;173:1920-31.
  - 19) Slater E, Owen RJ, Williams M, Pounder RE. Conservation of the *cag* pathogenicity island of *Helicobacter pylori*: associations with vacuolating cytotoxin allele and IS605 diversity. Gastroenterology 1999;117:1308-15.
  - 20) Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Nature 1997;388:539-47.
  - 21) Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer Res 1995;55:2111-5.
  - 22) Holtmann G, Talley NJ, Mitchell H, Hazell S. Antibody response to specific *H. pylori* antigens in functional dyspepsia, duodenal ulcer disease, and health. Am J Gastroenterol 1998;93:1222-7.
  - 23) Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY. Relationship between *Helicobacter pylori iceA*, *cagA*, and *vacA* status and clinical outcome: studies in four different countries. J Clin Microbiol 1999;37:2274-9.
  - 24) Israel DA, Salama N, Arnold CN, Moss SF, Ando T, Wirth HP, et al. *Helicobacter pylori* strain-specific differences in genetic content, identified by microarray, influence host inflammatory responses. J Clin Invest 2001;107:611-20.
  - 25) Maeda S, Yoshida H, Ikenoue T, Ogura K, Kanai F, Kato N, et al. Structure of *cag* pathogenicity island in Japanese *Helicobacter pylori* isolates. Gut 1999;44:336-41.
  - 26) Keates S, Hitti YS, Upton M, Kelly CP. *Helicobacter pylori* infection activates NF-kappa B in gastric epithelial cells. Gastroenterology 1997;113:1099-109.
  - 27) Jenks PJ, Megraud F, Labigne A. Clinical outcome after infection with *Helicobacter pylori* does not appear to be reliably predicted by the presence of any of the genes of the *cag* pathogenicity island. Gut;43:752-8.
  - 28) Lynch DA, Mapstone NP, Clarke AM, Jackson P, Moayyedi P, Dixon MF, et al. Correlation between epithelial cell proliferation and histological grading in gastric mucosa. J Clin Pathol 1999;52:367-71.
  - 29) Day AS, Jones NL, Lynett JT, Jennings HA, Fallone CA, Beech R, et al. *cagE* is a virulence factor associated with *Helicobacter pylori*-induced duodenal ulceration in children. J Infect Dis 2000;181:1370-5.

- 30) Kim SY, Woo CW, Lee YM, Son BR, Kim JW, Chae HB, et al. Genotyping *cagA*, *vacA* subtype, *iceA1*, and *babA* of *Helicobacter pylori* isolates from Korean patients, and their association with gastroduodenal diseases. *J Korean Med Sci* 2001;16:579-84.
- 31) Kim JM, Kim JS, Jung HC, Song IS, Kim CY. Virulence factors of *Helicobacter pylori* in Korean isolates do not influence proinflammatory cytokine gene expression and apoptosis in human gastric epithelial cells, nor do these factors influence the clinical outcome. *J Gastroenterol* 2000;35:898-906.
- 32) 고재성, 정주영, 배선환, 김의중, 서정기. 소아에서 반복성 복통증과 *Helicobacter pylori* 감염의 관계와 *Helicobacter pylori* 감염에서 CagA와 VacA의 역할. *대한소화기학회지* 2001;37:167-72.
- 33) Yamaguchi T, Nakajima N, Kuwayama H, Ito Y, Iwasaki A, Arakawa Y. Gastric epithelial cell proliferation and apoptosis in *Helicobacter pylori*-infected mice. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:68-73.
- 34) Piotrowski J, Piotrowski E, Skrodzka D, Slomiany A, Slomiany BL. Induction of acute gastritis and epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:203-11.
- 35) von Herbay A, Rudi J. Role of apoptosis in gastric epithelial turnover. *Microsc Res Tech* 2000;48:303-11.
- 36) Carson DA, Ribeiro JM. Apoptosis and disease. *Lancet* 1993;341:1251-4.
- 37) Cover TL, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection, a paradigm for chronic mucosal inflammation: pathogenesis and implications for eradication and prevention. *Adv Intern Med* 1996;41:85-117.
- 38) 이옥재, 최종상, 이대일. 위점막 조직에서 *Helicobacter pylori* 감염과 PCNA 발현 및 림프세포의 형성과의 관계. *대한소화기학회지* 1997;29:17-24.
- 39) 정상수, 박효진, 정병천, 채보원, 이관식, 이상인 등. *Helicobacter pylori* 감염과 세포증식 및 세포사멸간의 관계. *대한소화기학회지* 1998;32:427-34.
- 40) 방춘상, 최명규, 김진일, 한석원, 정인식, 박두호 등. *Helicobacter pylori* 감염이 아포토시스, Bcl-2 및 세포증식에 미치는 영향. *대한소화기학회지* 1999;34:10-20.