

Helicobacter pylori feoB 유전자의 다형성과 철 결핍성 빈혈과의 관계

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 소아과학교실

민기운 · 전병하 · 오유정 · 최연호

Polymorphism of the *Helicobacter pylori feoB* Gene and Clinical Correlation with Iron-deficiency Anemia in Korea

Kee Woon Min, M.D., Byung Ha Jeon, Yoo Joung Oh, and Yon Ho Choe, M.D.

Department of Pediatrics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University
School of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: *Helicobacter pylori* infection is thought to be correlated with iron-deficiency anemia (IDA) at puberty. The *H. pylori feoB* gene, a high-affinity ferrous iron transporter, plays a central role in iron acquisition. This study aims to analyze the *H. pylori feoB* status according to the presence of antral gastritis with or without IDA.

Methods: Fourteen *H. pylori*-positive patients aged from 10~18 years were categorized into subgroups based on the presence or absence of IDA. Eight patients had IDA, and the other six showed normal hematological findings. Genomic DNA was isolated from cultured *H. pylori*. Five sets of primers were used for PCR amplification of the *feoB* gene. The *feoB* region, 1.93 kb, was generated by linking of the PCR products and sequenced. The *feoB* gene sequences of *H. pylori* J99 and 26695 were used to compare with the clinical strains. Sequence comparisons of the *feoB* regions between the IDA (+) and (-) groups were performed.

Results: Sequence analysis of the complete coding region of the *feoB* revealed 16 sites of polymorphism. Among these, 3 polymorphisms-Glu/Thr254Ala, Ile263Val, and Lys511Gln - were indigenous to Korean strains. Although statistically significant differences appear in 4 sites between IDA (+) and (-), the number of specimens are too low to assess the real differences.

Conclusion: The 4 polymorphisms in the *feoB* gene seem to be related with IDA, but it is unclear yet because of small number of study strains. Further studies are required to prove the correlation of IDA and *H. pylori* infection. (Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003; 6: 112~119)

Key Words: *Helicobacter pylori*, Iron-deficiency anemia, *feoB*, Polymorphism

접수 : 2003년 9월 1일, 승인 : 2003년 9월 13일

책임저자 : 최연호, 135-710 서울시 강남구 일원동 50, 삼성서울병원 소아과

Tel: 02-3410-3527, Fax: 02-3410-0043, E-mail: cyh@smc.samsung.co.kr

본 연구는 보건 의료 기술 연구 개발 사업 HPEB Fund (02-PJ1-PG10-20201-0001)의 지원을 받았음.

서 론

Helicobacter pylori 위염은 철 결핍성 빈혈을 유발할 수 있다고 알려져 있다. 그 동안의 증례 보고¹⁻³⁾와 대규모의 연구⁴⁻⁷⁾에서 *H. pylori*와 철 결핍성 빈혈과의 연관성이 입증되었는데 저자들은 과거 연구^{6,7)}에서 철 결핍에 민감한 청소년기에 *H. pylori*와 관련된 철 결핍성 빈혈이 발생하기 쉽다는 것을 증명해 바 있다. *H. pylori* 감염은 위의 철 흡수 대사에 영향을 끼쳐, 철의 소모가 많고 철 공급이 충분하지 않은 사춘기에 철 결핍을 악화시킴으로써 빈혈을 조장한다고 생각된다. 이에 대해 3가지의 가설이 있다. 첫째, *H. pylori* 만성 감염 시 위의 산성도가 떨어져 철 흡수를 저해할 수 있다⁸⁾. 둘째, *H. pylori*가 증식을 위해 철을 필요로 하기 때문에 *H. pylori* 감염으로 철의 소모가 증가할 수 있다⁹⁾. 셋째, *H. pylori* 위염 조직이 철을 격리하는 역할을 할 수도 있다¹⁾. *H. pylori*가 철 결핍성 빈혈을 일으키는 기전은 여전히 명확하지 않지만 다양한 원인에 의한 것으로 추정할 수 있다.

저자들은 그 동안 숙주와 균주의 두 가지 측면에 중점을 두고 연구를 진행하여 왔다 특히 후자에 대한 연구에서 이미 *H. pylori pfr* 유전자를 분석하였고, *pfr* 유전자의 다형성(polymorphism)이 철 결핍성 빈혈과 관련되지 않는다고 결론 내렸다¹⁰⁾. 19 kD ferritin 단백질 Pfr은 eukaryote와 prokaryote의 ferritin과 상동성이 있다¹¹⁾. *pfr* 유전자는 ferritin 철의 저장 단백질의 기능을 가진다. *pfr* 유전자의 과잉 발현은 세포 내 철의 축적과 paracrystalline inclusion의 형성을 유도한다. 철의 획득과 관련된 많은 *H. pylori* 유전자 중에서, *pfr*은 철이 충분한 조건에서 작용하는 대표적인 유전자이다. 한편으로, *feoB*는 철이 제한된 상황에서 세포질 막의 Fe²⁺ 운반자로서 작용하는 중요한 유전자이다¹²⁾. 이 *feoB* 연구에서, 야생형에서의 Fe²⁺ 운반의 양면적인 동역학은 high- 혹은 low-affinity 철 획득 체계가 존재함을 시사한다. *feoB* 돌연변이에서는 high-affinity 체계가 존재하지 않았다. 그들은 *feoB*-매개 Fe²⁺ 획득이 *H. pylori*가 철을 획득하는 주 경로라고 결론지었다.

feoB 유전자가 철 결핍 상태에 있어서의 철 흡수에

있어서 중심적인 역할을 하기 때문에 본 연구에서 저자들은 철 결핍성 빈혈 유무에 따른 *H. pylori feoB* 유전자의 비교 연구를 수행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

10~18세 사이, 14명의 *H. pylori* 양성인 환자들을 철 결핍성 빈혈 유무에 따라 두 군으로 분류하였다. 철 결핍성 빈혈은 ferritin level <12 ng/mL, transferrin saturation <15%, hemoglobin <12 g/dL를 모두 만족할 때로 정의하였는데¹³⁾, 8명이 철 결핍성 빈혈에 해당되었다. 모든 환자에서 위십이지장 내시경 검사를 시행하였으며, 위십이지장의 점막에서 출혈 또는 궤양은 없었다. 대변에 대한 잠혈 검사(monoclonal antibody to human hemoglobin, Kit OC Haemodia; Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan)는 모두 음성이었다. *H. pylori* 양성인 CLO test (Delta West, Perth, Australia)와 Giemsa 염색에서 양성 소견이 나올 때로 정의하였다. 내시경으로 채취한 생검 조직들에 대한 CLO test와 Giemsa 염색의 결과 모든 환자들이 *H. pylori*에 양성인 것으로 나타났다. *H. pylori*는 위 전정부 생검 조직을 배양해서 직접 분리하였다.

2. *H. pylori* 배양 및 genomic DNA 정제

생검 조직을 10% Horse serum이 함유된 Brucella agar (BBL, USA)에 접종하고 10% CO₂, 37°C의 환경에서 48~72시간을 배양하였다. Genomic DNA는 Wizard genomic DNA purification kit (Promega, USA)을 사용하여 추출하였다.

3. *feoB* 유전자의 PCR 증폭

feoB 유전자는 *feoB* region의 sequencing을 위해 genomic DNA로부터 증폭되었다. *H. pylori* J99와 26695 *feoB* 유전자에 근거한 4개의 primer를 준비하고(Table 1) 먼저 FeoB-R/F primer로 총 *feoB* 유전자를 증폭하였다. 효율적인 sequencing을 위하여 FeoB-A~D primer로 전체 유전자를 작은 크기의 DNA 조각으로 나누었다. 상동성이 낮은 A 부분은 증폭되지 않아서 FeoB-A1과

Table 1. PCR Primers Used for Sequencing and Amplifying the *H. pylori* *feoB* Gene

Region	Primer	Primer sequence (5'→3')	Expected size
<i>feoB</i>	FEOB-F	AACCCAATGAAAGAAATCATTG	1.93 kb
	FEOB-R	AGGCTTTTTAAACCAAAATTTG	
<i>feoB-A</i>	FEOPA-F	GCGGAGCATTCAAACCCAATGAAAG	598 bp
	FEOPA-R	GGCGCTCTGGCTGTATTTTAAAGAC	
<i>feoB-B</i>	FEOB-B-F	GACGAAATTGTCAGGCTTTATTCTC	552 bp
	FEOB-B-R	ACCGGTGATTAAGGGATAAAACTC	
<i>feoB-C</i>	FEOB-C-F	TAGAGACGACAGGCTATATGAGTAG	533 bp
	FEOB-C-R	AGGGTATTGGGACATAAACCCAGATC	
<i>feoB-D</i>	FEOB-D-F	AAAGCCGGGACTTATATTTTAGTCC	596 bp
	FEOB-D-R	CCCTTTATGGCTAGCCTTTTTAAAC	
<i>feoB-A1</i>	FEOPA1-F	GGAATGGTTTCTATATCAAACACGC	471 bp
	FEOPA1-R	GGCTAAATTACGCTCTAAATTGGTG	
<i>feoB-A2</i>	FEOPA2-F	ACTTACGCGCTCAATGACTTCACC	420 bp
	FEOPA2-R	TTGAGCGATTCTTTGAGCGCTCTG	

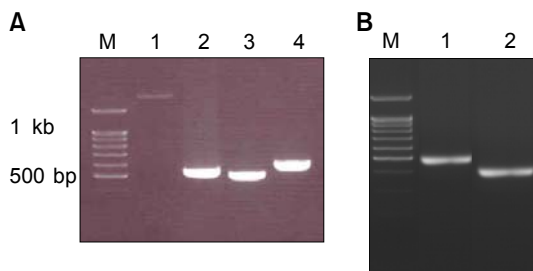


Fig. 1. Agarose gel electrophoresis of the *feoB* gene. M is 100 bp molecular weight marker. A. Lane 1 is *feoB* of full size (1.93 kb), Lane 2 is *feoB-B* (552 bp), Lane 3 is *feoB-C* (533 bp) and Lane 4 is *feoB-D* (596 bp). B. Lane 1 is *feoB-A1* (471 bp), Lane 2 is *feoB-A2* (420 bp).

FeoB-A2라는 새로운 primer를 사용하였는데, FeoB-A1는 표준 균주를 기본으로 제작하였고 FeoB-A2는 이 A1 PCR 산물의 sequence 분석을 이용하여 만들었다. 증폭된 산물을 전기영동 하였다(Fig. 1). 반응은 template, *Taq* DNA polymerase 2.5 unit, primer 20 pmole, 10 PCR buffer, 25 mM dNTP mix를 첨가한 뒤, 3차 증류수로 최종 부피를 50 L로 맞추었다. PCR 반응은 먼저

95°C에서 초기변성을 5분 동안 시키고, 94°C 1분, 62°C 1분, 72°C 1분의 반응을 30번 반복하였으며, 마지막 단계에서 72°C 10분 간 신장 과정을 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 ethidium bromide를 첨가하여 전기영동으로 크기를 확인하였다. 크기를 확인한 산물은 다음 단계의 sequencing에 사용하기 위하여 PCR clean-up kit (Genemed, USA)을 이용하여 순수한 DNA만을 분리하였다.

4. DNA sequence 분석

Sequencing을 위해서 DNA sequencing kit (ABI Prism, USA)을 사용하였다. 다른 두 개의 tube에 primer F, R을 각각 20 pmol이 되도록 첨가하고, 순수 분리한 PCR 산물을 각각 5μL, Big dye 4μL를 첨가하여 96°C에서 10초, 50°C에서 5초, 60°C에서 4분씩의 과정을 25회 반복하는 Big dye reaction을 수행하였다. 반응이 일어난 산물만을 순수 분리하기 위해 100% ethanol로 DNA를 침전시킨 뒤, 70% ethanol로 washing하여 완전히 말린 후 Big dye용 loading buffer 4μL로 녹여 얼음에 보관하였다. Sequencing용 젤은 6% acrylamide solution 50μL,

TEMED 35μL, 10% ammonium persulfate 250μL를 첨가하여 기포가 생기지 않도록 잘 섞은 뒤, 젤 판에 부어 한 시간 정도 굳힌 다음 사용하였으며, 시료는 끓는 물에서 3분 동안 변성시킨 뒤 젤에 올려 ABI prism 377 Genetic analyzer (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA)를 사용하여 sequencing하였다. Sequencing한 결과는 NCBI의 Blast 프로그램을 사용하여 표준 균주와 비교되었다. DNA 번역 소프트웨어로 염기 서열을 아미노산 서열로 바꾸었으며 표준 균주와 상동성이 비교되었다. 염기 서열은 철 결핍성 빈혈 유무에 따른 두 군 간에 비교되었다.

5. 통계적 분석

Fisher's exact test로 철 결핍성 빈혈 유무를 기준으로 나누는 군 간의 *feoB* 유전자와 임상적 표현형 간의 관계를 확인하였다. 0.05 이하의 *P*값이 통계적으로 의미 있는 것으로 하였다. 모든 통계 분석은 SAS 통계 소프트웨어(version 6.12)를 사용하였다.

결 과

5개의 PCR 산물을 연결함으로써 1.93 kb의 *feoB*

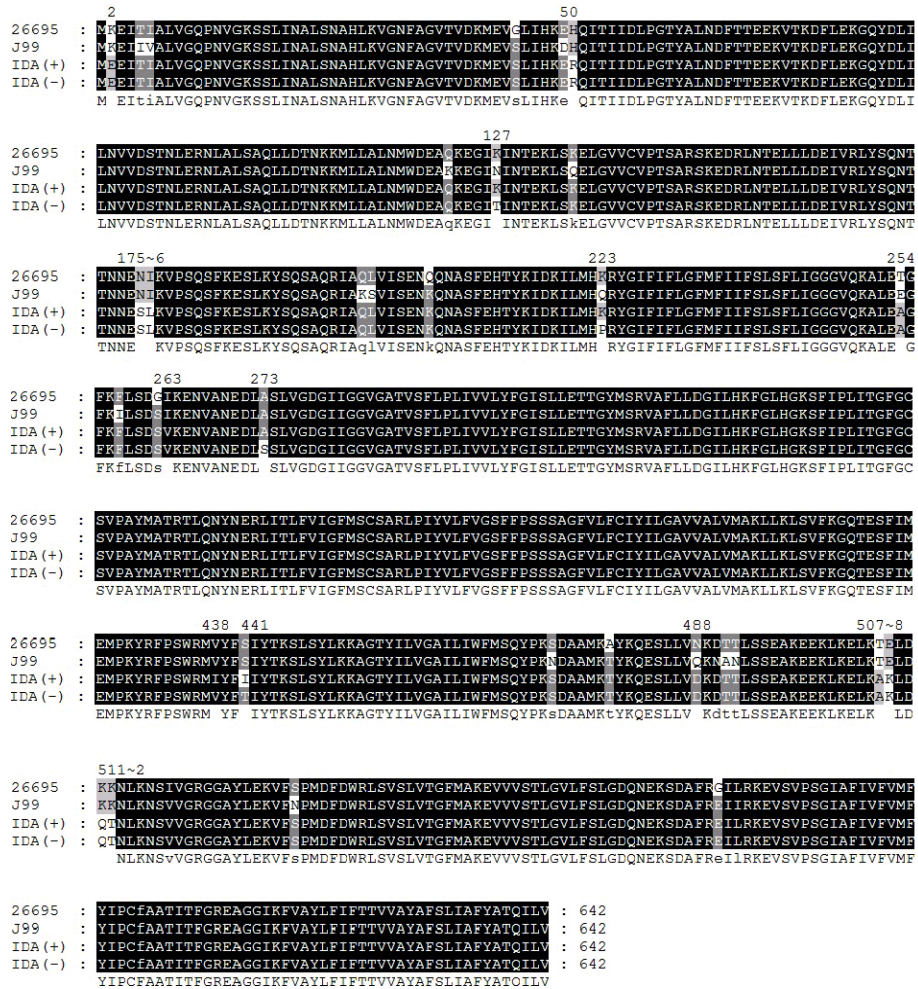


Fig. 2. Divergence of the sequences in the *feoB* amino acid sequence, showing comparisons of *H. pylori* 26695, J99 and Korean strains (IDA-positive and negative). IDA: iron-deficiency anemia.

region이 생성되었다. 14개의 *H. pylori* 균주로부터 얻어진 *feoB* region의 염기 및 아미노산 서열을 Genbank에서 얻은 *H. pylori* J99, 26695와 비교하였다. 염기서열의

비교는 철 결핍성 빈혈 유무군 간에도 이루어졌다. *feoB* 유전자의 완전한 염기 분석으로 16개의 다형성 돌연변이가 확인되었다(Fig. 2). Genbank의 표준 균주와

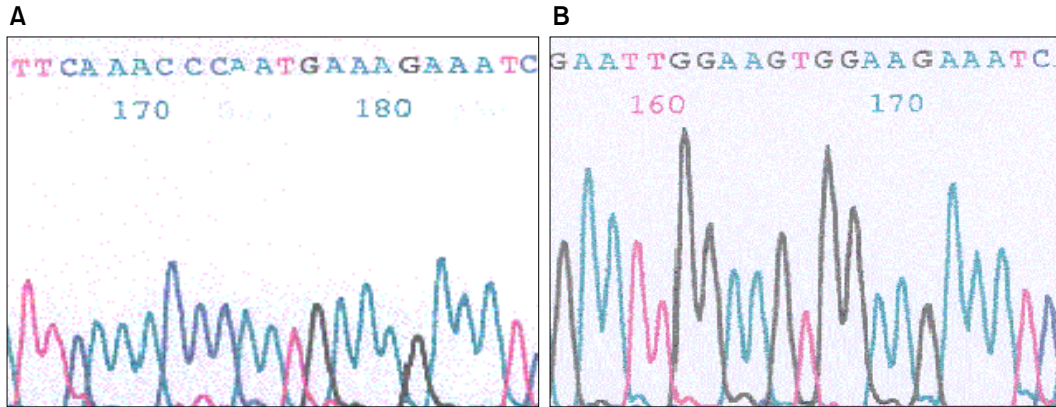


Fig. 3. The comparison of sequencing result of initial codon between *feoB* genes. A is the sequence of *H. pylori* 26695, and B is the sequence of Korean clinical *H. pylori* strain. HP26695 gene started with ATG, but all genes of clinical strains started with GTG.

Table 2. Amino Acid Sequence Differences for *feoB* Gene Among Strains

Number of a.a.	Standard strains (J99/26695)	Korean strains			Number of a.a.	Standard strains (J99/26695)	Korean strains		
		IDA (+)	IDA (-)	p-value			IDA (+)	IDA (-)	p-value
2	K	E (87.5%) K (12.5%)	E (100%)	1.0000	273	A	S (25%) A (75%)	S (50%) P (50%)	0.0067
50	H	R (75%) H (12.5%) C (12.5%)	R (83%) H (17%)	1.0000	438	V	I (62.5%) V (37.5%)	V (100%)	0.0310
127	N/K	K (100%)	T (67%) K (33%)	0.0150	441	S	I (62.5%) V (37.5%)	T (67%) S (33%)	0.0003
175	N	S (100%)	S (83%) N (17%)	0.4286	488	Q/N	D (62.5%) N (37.5%)	D (100%)	0.2088
176	I	L (50%) I (50%)	L (50%) I (50%)	1.0000	507	T	A (87.5%) T (12.5%)	A (100%)	1.0000
223	O/K	P (37.5%) K (62.5%)	P (50%) K (50%)	1.0000	508	E	K (87.5) E (12.5%)	A (100%)	1.0000
254	E/T	A (100%)	A (100%)	N.S	511	K	Q (100%)	Q (100%)	N.S
263	I	V (100%)	V (100%)	N.S	512	K	T (50%) K (50%)	T (67%) K (33%)	0.6270

H. pylori with iron-deficiency anemia (IDA) are 8 strains, and *H. pylori* without IDA, 6 strains. a.a., amino acid.

비교해본 결과 이들 중에 3개의 다형성(Glu/Thr254Ala, Ile263Val, 그리고 Lys511Gln)은 외국 보고에서는 발견되지 않아 한국에만 있는 고유한 것이라고 판단되었다. Start codon에도 차이가 있었는데, 표준 균주의 start codon은 ATG였으나 한국의 임상 균주에서는 GTG였다(Fig. 3). 철 결핍성 빈혈 유무에 따른 군들 간에서 127, 273, 438과 441 위치에서 통계학적으로 의미있는 차이를 보였으나, 실제적인 차이라고 보기에는 표본의 수가 너무 적었다(Table 2).

고 찰

H. pylori J99와 26695의 DNA 염기 서열을 비교해 보면 잠재적인 철 흡수 시스템이 존재함을 알 수 있다¹⁴⁻¹⁶. 첫째, *H. pylori*는 *Escherichia coli*의 Fe³⁺-dicitrate 운반체인 *fec* 유전자와 염기서열의 상동성이 있다. 이들은 *fecA1*, *fecA2*와 *fecA3*으로서 알려져 있고 세포 외막의 운반체로 간주된다. 이 단백질들은 세포질막 단백질인 Tonb, ExbB 그리고 ExbD와 함께 철 수송에 관여할 것으로 여겨진다¹⁷. 둘째, *H. pylori*는 *E. coli*의 membrane permease와 ATPbinding protein인 *fecD*와 *fecE* 유전자와 유사한 유전자를 갖고 있다. 셋째, *H. pylori*는 *feoB* 유전자와 상동성을 보임으로써 이것이 혐기성 조건 하에서의 철 획득에 관여하는 *E. coli* FeoAB system과 닮았음을 보여준다. 그러나 *feoA* homolog는 *H. pylori*에서 발견되지 않고 있다¹⁸. *feoB* 유전자는 pH와 O₂가 낮은 위장 환경에서 *H. pylori*의 Fe 획득에 중요한 역할을 한다¹². 외막 단백질 FeoB는 박테리아의 Fe²⁺ 획득에 있어 반드시 필요하며 Gprotein에 의해 매개되는데, guanine 염기에 특이적인 결합 부위가 있고 FeoB-dependent system에서의 효율적인 Fe²⁺ 획득을 위해 GTP의 결합이 필요하다고 한다¹⁹. 그래서 저자들은 철의 흡수에 있어서 중심적인 역할을 한다고 생각되는 *feoB* 유전자에 초점을 맞추었다.

한국의 임상 균주와 표준 균주 26695, J99간의 *H. pylori feoB* region의 서열 분석을 통해 한국의 *H. pylori feoB* 유전자에서 16개의 다형성을 발견할 수 있었다. 임상 균주의 아미노산 서열은 표준 균주와 상당한 유사성을 보였으나 몇몇에서는 차이를 보였다. Fig. 2에

나타난 바와 같이 임상 균주와 표준 균주의 아미노산 배열이 다른 부위는 127 (N, K, T), 223 (Q, K, P), 254 (E, T, A) 그리고 488 (Q, N, D)이다. 표준 균주의 아미노산 서열은 같았으나, 임상 균주는 K2E, H50R, N175S, I176L, I263V, A273S, V438I, S441T, T507A, E508K, K511Q 그리고 K512T에서 차이를 보였다. 이 부위는 심지어 임상 균주 간에도 차이를 보였고 그 다른 정도를 퍼센트로 표시하였다. E/T254A, I263V와 K511Q는 한국 임상 균주의 고유한 다형성이었다. 철 결핍성 빈혈 유무에 따른 군 간에 127 ($p=0.0150$), 273 ($p=0.0067$), 438 ($p=0.0310$)과 441 ($p=0.0003$) 위치에서 유의한 통계적인 차이가 발견되었는데 실험 대상 수가 적어 이에 대해서는 더 많은 임상 균주들의 분석이 필요할 것으로 보인다. 또한, DNA 서열의 변이가 전체 단백질 기능에 영향을 미치는 돌연변이인지 아니면 염기 배열상의 단순한 다형성인지를 감별하기 위해서도 FeoB 단백질의 기능에 대한 다양한 연구가 필요할 것으로 보인다.

feoB coding region의 translation에 있어서도 차이가 발견되었는데, 표준 균주들은 ATG로 시작했으나 모든 한국의 임상 균주들은 GTG로 시작했다. *E. coli*에서는 start codon으로 AUG, GUG, UUG가 보고된 바 있다. 그리고 *E. coli lacI* operon의 경우 methionine으로 해독되고 N-formylmethionine (fMet)-tRNA^{fMet}으로 인식되는 GUG로 시작한다. *Streptomyces ansochromogenes*같은 진균들은 translation 시작 시에 GUG가 start codon이라는 보고가 있다²⁰.

결론적으로, 저자들은 한국의 임상 균주에서 표준 균주와는 다른 16개의 다형성 위치들을 발견하였다. 철 결핍성 빈혈유무에 따른 군간 비교에서 유의한 통계적인 차이는 발견되나, 실제적 차이라고 보기에는 표본의 수가 너무 적다. 철 결핍성 빈혈과 *H. pylori* 감염의 연관성을 증명하기 위해, 더 많은 다원적 연구가 필요할 것이다.

요 약

목적: *Helicobacter pylori*는 위염의 원인균으로 사춘기의 철 결핍성 빈혈 빈혈과 관계가 있다고 생각된

다. *H. pylori feoB* 유전자는 철 결핍 상태에서 철의 획득에 있어 중심적인 역할을 한다. 본 연구는 철 결핍성 빈혈이 있거나 또는 없는 *H. pylori* 위염 환자들에 있어서 *H. pylori feoB*의 염기 구조 차이를 분석하려고 하였다.

방 법: 10~18세의 *H. pylori*가 양성인 14명을 철 결핍성 빈혈 유무에 따라 두 군으로 분류하였다. 8명의 환자들은 철 결핍성 빈혈로 진단 받았고 나머지 6명은 정상 혈액학적 소견들을 나타내었다. 위장의 생검 조직에서 배양된 *H. pylori*에서 genomic DNA를 분리하였다. *feoB* 유전자의 PCR 증폭을 위해 5개의 primer를 사용하였다. PCR의 결과로 1.93 kb의 *feoB* region이 생성되었다. *H. pylori* J99와 26695의 *feoB* 유전자 염기 배열과 임상 균주를 비교하였다. 또한 철 결핍성 빈혈 동반 유무에 따른 두 군 사이에 *feoB* 유전자를 비교하였다.

결 과: *feoB* 유전자의 분석으로 16개의 다형성 위치를 밝혀내었다. 이중에서 3개의 다형성 (Glu/Thr254Ala, Ile263Val과 Lys511Gln)은 한국에 고유한 것이었다.

비록 철 결핍성 빈혈 유무에 따른 비교에서 4곳에 통계학적인 차이가 나타나기는 했으나 이것이 실제적인 차이라고 보기에는 검체의 수가 적었다.

결 론: 철 결핍성 빈혈 유무에 따른 군 간 비교에서 4곳의 *feoB* 다형성 차이를 보였으나 대상 균주 수가 적어 의미를 두기에는 아직 불명확하다. 더 많은 다원적 연구가 필요할 것으로 보인다.

참 고 문 헌

- 1) Barabino A, Dufour C, Marino CE, Claudiani F, Alessandri AD. Unexplained refractory iron-deficiency anemia associated with *Helicobacter pylori* gastric infection in children: further clinical evidence. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:116-9.
- 2) Dufour C, Brisigotti M, Fabretti G, Luxardo P, Mori PG, Barabino A. *Helicobacter pylori* gastric infection and sideropenic refractory anemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993;17:225-7.
- 3) Marignani M, Angeletti S, Bordi C, Malagnino F, Mancino C, Delle Fave G, et al. Reversal of long-standing iron deficiency anaemia after eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:617-22.
- 4) Annibale B, Marignani M, Monarca B, Antonelli G, Marcheggiano A, Martino G, et al. Reversal of iron deficiency anemia after *Helicobacter pylori* eradication in patients with asymptomatic gastritis. *Ann Intern Med* 1999;131:668-72.
- 5) Choe YH, Kim SK, Hong YC. *Helicobacter pylori* infection with iron deficiency anemia and subnormal growth at puberty. *Arch Dis Child* 2000;82:136-40.
- 6) Choe YH, Kim SK, Son BK, Lee DH, Hong YC, Pai SH. Randomized placebo-controlled trial of *Helicobacter pylori* eradication for iron-deficiency anemia in preadolescent children and adolescents. *Helicobacter* 1999;4:135-9.
- 7) Choe YH, Lee JE, Kim SK. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on sideropenic refractory anaemia in adolescent girls with *Helicobacter pylori* infection. *Acta Paediatr* 2000;89:154-7.
- 8) Gutierrez O, Melo M, Segura AM, Angel A, Genta RM, Graham DY. Cure of *Helicobacter pylori* infection improves gastric acid secretion in patients with corpus gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:664-8.
- 9) Husson MO, Legrand D, Spik G, Leclerc H. Iron acquisition by *Helicobacter pylori*: Importance of human lactoferrin. *Infect Immun* 1993;61:2694-7.
- 10) Choe YH, Hwang TS, Kim HJ, Shin SH, Song SW, Choi MS. A possible relation of the *Helicobacter pylori pfr* gene to iron deficiency anemia? *Helicobacter* 2001;6:55-9.
- 11) Frazier BA, Peifer JD, Russell DG, Falk P, Olsen AN, Hammar M, et al. Paracrystalline inclusions of a novel ferritin containing nonheme iron, produced by the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*: evidence for a third class of ferritins. *J Bacteriol* 1993;175:966-72.
- 12) Velayudhan J, Hughes NJ, McColm AA, Bagshaw J, Clayton CL, Andrews SC, et al. Iron acquisition and virulence in *Helicobacter pylori*: a major role for FeoB, a high-affinity ferrous iron transporter. *Molecular Microbiology* 2000;37:274-86.
- 13) Looker AC, Dallman PR, Carrol MD, Gunter EW, Johnson CL. Prevalence of iron deficiency in the United States. *JAMA* 1997;277:973-6.
- 14) Kelly DJ. The physiology and metabolism of the hu-

- man gastric pathogen *Helicobacter pylori*. Adv Microbial Physiol 1998;40:137-89.
- 15) Doig P, de Jonge BL, Alm RA, Brown ED, Uria-Nickelsen M, Noonan B, et al. *Helicobacter pylori* physiology predicted from genomic comparison of two strains. Microbiol Mol Biol Rev 1999;63:675-707.
 - 16) Marais A, Mendz GL, Hazell SL, Megraud F. Metabolism and genetics of *Helicobacter pylori*: the genome era. Microbiol Mol Biol Rev 1999;63:642-74.
 - 17) Postle K, TonB protein and energy transduction between membranes. J Bioenerg Biomembr 1993;25: 591-601.
 - 18) Kammler M, Schon C, Hantke K. Characterization of the ferrous iron uptake system of *Escherichia coli*. J Bacteriol 1993;175:6212-9.
 - 19) Marlovits TC, Haase W, Herrmann C, Aller SG, Unger VM. The membrane protein FeoB contains an intramolecular G protein essential for Fe(II) uptake in bacteria. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:16243-8.
 - 20) Dubid LN, Michuel MC. Lehninger Principles of Biochemistry, 3rd ed, New York, USA: Worth Publishers 2000.
-