

Helicobacter pylori에 의한 위세포독성 및 interleukin-8 생성에 미치는 무의 억제효과손윤희 · 서정일¹ · 박인경 · 황철원² · 김철호³ · 남경수*동국대학교 의과대학 약리학교실 및 난치병한양방치료연구소, ¹동국대학교 의과대학 내과학교실, ²한동대학교 생명공학부, ³동국대학교 한의과대학 생화학분자생물학교실

Received May 27, 2005 / Accepted July 29, 2005

Inhibitory Effect of Radish on Gastric Cell Toxicity and Interleukin-8 Production Induced by *Helicobacter pylori*. Yun Hee Shon, Jeong Ill Suh¹, In Kyung Park, Cher Won Hwang², Cheorl Ho Kim³ and Kyung Soo Nam*. Department of Pharmacology, College of Medicine and Intractable Disease Research Center, ¹Department of Internal Medicine, College of Medicine, ²Department of Environmental Microbiology, Handong University, Pohang 791-780, Korea. ³Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Oriental Medicine Dongguk University, Kyongju 780-714, Korea – The effects of Korean and Japanese radishes on the viability and interleukin (IL)-8 production by *Helicobacter pylori* were investigated in human gastric epithelial cell. Cell viability was significantly decreased when they were incubated with *H. pylori* toxin ($p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.005$). Co-incubation with Korean or Japanese radish increased *H. pylori* toxin-inhibited cell growth in a concentration-dependent manner. The production of IL-8 was greatly increased in *H. pylori*-infected gastric epithelial cell in concentration- and time-dependent manners. The increased production of IL-8 was significantly inhibited by Korean ($p < 0.05$ and $p < 0.01$) or Japanese ($p < 0.05$) radishes (5~10 mg/ml). These results indicate that Korean and Japanese radishes have protective effects on *H. pylori*-inhibited cell growth and *H. pylori*-induced gastric mucosal cell inflammation by suppressing the production of inflammatory cytokine (IL-8) from gastric epithelial cell.

Key words – Radish, *Helicobacter pylori*, gastric epithelial cell, IL-8

Helicobacter pylori 감염은 만성위염, 소화성 궤양 및 위 림프종과 같은 소화기계 질환의 주요 발병요인이며 이 균에 의한 장기간의 감염은 위선암의 발병원인으로도 알려져 있다 [2,16]. 이러한 감염에는 지역적 또는 인종간에도 큰 차이를 보여주며 경제수준이나 위생 및 환경상태도 감염율과 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 감염환자의 위점막은 위세포 점액의 손실, 세포괴사나 탈락 등으로 인한 급성, 만성적 염증과 상피세포의 변성현상이 나타나는데, 상피세포의 손상은 직접적으로 균의 분비물질에 의해 일어나거나, *H. pylori*에 의한 염증반응의 결과로 알려져 있다 [13]. 균의 독성요인이 위점막의 염증과 상피세포의 손상에 관여함이 확인되었으며, 특히 cytotoxin-associated protein (Cag A, 120~145 kD) 과 vacuolating cytotoxin (Vac A, 87 kD)이 *H. pylori* 감염환자의 상피세포에 독성효과가 있으며, 소화성 궤양에도 관여하는 것으로 증명되었다 [4].

한편 *in vivo*에서 *H. pylori*에 의한 위 감염은 점막에서의 interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8과 tumor necrosis factor (TNF)- α 등의 염증성사이토카인 생성을 유도하며 [8,15], 이들 중 IL-8은 단핵구, 섬유아세포, 내피세포와 상피세포에서 분비되며 주작용은 polymorphonuclear leukocytes나 중성구를 활성화시키는 염증 유발인자로서 *H. pylori* cytotoxin 양성 균주는

배양한 위세포에서 cytotoxin 음성 균주보다 더 많은 IL-8을 분비한다고 보고되었다 [6]. 따라서 *H. pylori* 감염에 의한 위 상피세포의 IL-8 생성으로 감염된 조직으로 중성구와 림프세포의 지속적인 유입이 일어나며, 이는 감염에 의한 면역병리에 중요한 역할을 한다.

무는 십자과 (*Raphanus sativus* L.)에 속하는 작물로서 그 씨는 예로부터 건위, 소화불량 및 거담약으로 응용되어 왔다. 그러나 무 자체에 관해서는 생육조건과 생산성 향상 연구에 치중해왔으며, 그 생리 및 약리활성에 관한 연구는 거의 보고되지 않고 있다. 이전의 실험에서 무가 *H. pylori*에 의한 HeLa세포 공포형성을 효과적으로 억제함을 확인하였으며 [19] 본 연구에서는 무(한국 품종 및 일본 품종)를 대상으로 *H. pylori*에 의한 위암세포주 KATO III 및 AGS의 세포독성과 IL-8생성에 미치는 영향을 연구하였다.

재료 및 방법**시약**

RPMI 1640 medium, carbol fuchsin, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT), proteinase K, bovine serum albumin (BSA), penicillin G, streptomycin, vancomycin, colistin과 amphotericin B는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서, human IL-8 immuno assay kit는 R&D (Minneapolis, MN, USA)에서 구입하였고, bacto agar, brucella

***Corresponding author**

Tel : +82-54-770-2412, Fax : +82-54-770-2477

E-mail : namks@dongguk.ac.kr

broth는 Difco (Detroit, MI, USA)에서, fetal bovine serum (FBS)은 Jeil Biotechnology Institute (Daegu, Korea)의 제품을 사용하였다.

실험재료

본 실험에 사용한 한국 품종의 무(이하 한국 무)는 국내에서 가장 많이 김장용 무로 시판되는 *Raphanus sativus* L. Chongwoun을 재배지인 포항시 신광면 농가에서 수확기인 2003년 11월 중순 구입하여 사용하였으며, 일본 품종의 무(이하 일본 무)는 *Raphanus sativus* L. Makino를 같은 시기에 경주시내 시장에서 구입 사용하였다.

시료 조제

무를 채판에 갈아 무즙을 만들고 이를 4°C에서 4,000 rpm 10분으로 원심분리하여 상층액을 얻는다. 이를 여과지(Watman No.1)를 사용하여 흡입여과하고 여액을 다시 8,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 동결건조한 뒤 실험에 사용하였다. 모든 조작은 4°C에서 행하였으며, 실험에 사용할 때에는 membrane filter (0.22 µm, Whatman, Germany)를 사용하여 여과 멸균하였다.

세포배양

한국세포주은행(KCLB, 서울)에서 분양받은 사람 위암세포주인 KATO III 및 AGS 세포를 10% FBS와 penicillin G (25 unit/ml), streptomycin (0.25 µg/ml)이 포함된 RPMI 1640을 배양액으로 하여 CO₂ 배양기(5% CO₂, 37°C)에서 배양하였다. 이 세포는 액체질소의 기체상태(-150°C)에 보존해 두었다가 같은 passage 번호를 가진 세포를 실험에 사용하였다.

H. pylori 배양

H. pylori 60190 (ATCC 49503)은 ATCC에서 구입하였다. *H. pylori*를 10% FBS와 vancomycin (10 µg/ml), colistin (300 unit/ml)과 amphotericin B (2.5 µg/ml)가 첨가된 brucella broth 한천배지에 접종하여 37°C와 10% CO₂ 조건에서 배양하여 멸균된 면봉으로 균체를 모아 실험에 이용하였다. 고체배지에서 얻은 *H. pylori*를 10% FBS가 첨가된 brucella broth 배지에 접종하고, 혼합가스(10% CO₂, 5% O₂, 85% N₂)로 충전된 jar (microaerobic environment, Difco, USA)를 사용하여 37°C, 120 rpm 조건에서 배양하여 실험에 이용하였다. 본 실험에 사용한 균은 그람염색법으로 그람음성 간균의 형태를 관찰하고 매번 oxidase, catalase 및 urease 양성임을 확인하고 실험을 진행하였다.

H. pylori toxin 제조

H. pylori toxin 제조는 Cover 등의 방법[5]을 수정하여 실

시하였다. 즉, 액체배지에서 72시간 배양하여 얻은 *H. pylori* 배양액을 16,000×g에서 20분 동안 원심분리하여 상층액을 취하고 상층액의 단백질 성분은 100% 포화 ammonium sulfate를 이용하여 침전시켰다. 16,000×g에서 15분 동안 원심분리하여 얻은 침전물은 phosphate-buffered saline (PBS)으로 부유시켜 dialysis membrane (m.w. cutoff 12,000~14,000)으로 투석하고 0.2 µm로 여과(Gelman, USA)하여 -70°C에 보관하여 사용하였다.

세포독성 측정

세포독성실험은 MTT assay로 실시하였다. 실험에 사용한 KATO III의 세포수는 세포 농도에 따른 지수 곡선에서 흡광도가 0.6~0.7인 부분의 세포농도를 적정세포의 수로 하여 본 실험에 사용하였다. KATO III 세포(9×10⁴ cells/well)를 96-well plate에서 24시간 배양한(37°C, 5% CO₂) 후, 각 농도의 무, *H. pylori* 또는 *H. pylori* toxin을 세포에 처리하여 24시간 동안 반응시켰다. 20 µl MTT 용액(5 mg/ml PBS)과 180 µl의 RPMI 1640 배양액을 각각의 well에 첨가한 후 4시간 동안 MTT 환원반응을 유도하였다. 배양액을 원심분리(450×g, 10 min)한 후, 상층액을 버리고 DMSO와 ethanol 혼합액으로 formazan 결정을 용해한 후 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료에 의한 세포의 생존율은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{세포의 생존율(\%)} = (\text{시료 처리한 세포의 흡광도} / \text{대조군 세포의 흡광도}) \times 100$$

Interleukin-8 생성 측정

Huang 등의 방법[12]으로 실시하였으며, 요약하면 KATO III(2×10⁵ cells/well)을 24-well tissue culture plate에서 48시간 배양한 후 *H. pylori*와 KATO III의 비가 1 : 1, 10 : 1 그리고 100 : 1이 되게 하여 각 시간별로 반응시키고 원심분리하여 얻은 상층액으로 quantitative sandwich enzyme immunoassay technique으로 IL-8을 정량하였다. 즉, 상층액 50 µl를 IL-8에 특이적인 monoclonal antibody로 coating된 well에 100 µl의 assay diluent와 100 µl의 시료와 혼합하여 2시간 반 동안 실온에서 반응시켰다. 그리고 각 well당 400 µl의 washing buffer로 6번 세척하고 200 µl의 기질과 30분 동안 실온의 차광된 상태에서 반응시킨 후, 50 µl의 반응정지액을 가하여 반응을 중단시켰다. 450 nm에서 흡광도를 읽어 IL-8 표준정량곡선을 참조하여 IL-8 함량을 환산하였다.

통계학적 처리

실험결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 실험에 대한 통계적 유의성 검정은 Student's *t*-test를 수행하여 결정하였다.

결 과

KATO III 세포독성에 미치는 무의 영향

H. pylori toxin이 위암세포주 KATO III의 세포생존율에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 toxin을 세포에 처리한 결과, toxin의 농도에 비례하여 세포의 생존율이 감소하였다(Fig. 1). 이 결과에 따라서 toxin 원액 처리에 의하여 세포생존율이 감소된 위세포주에 무가 미치는 효과를 측정할 결과, 무는 농도의존적으로 생존율 증가효과를 나타내었다. 즉, 2 mg/ml 처리에 의하여 19%($p < 0.05$), 5 mg/ml에서 31%($p < 0.01$), 10 mg/ml에 의하여 43%($p < 0.005$) 증가하여 유의성 있는 생존율 증가효과가 나타났다(Fig. 2). 일본 무도 5와 10 mg/ml ($p < 0.05$)에서 통계적으로 유의성있는 효과가 있었다(Fig. 2).

AGS 세포의 독성에 미치는 무의 영향

H. pylori toxin이 위상피세포주 AGS의 세포독성에 미치

는 영향을 살펴본 결과, toxin의 농도에 비례하여 세포의 생존율이 감소하였다(Fig. 3). 이에 toxin 원액 처리에 의하여 세포생존율이 감소된 위세포주에 무가 미치는 효과를 측정할 결과 농도의존적으로 생존율 증가효과가 있어서 5와 10 mg/ml 처리에 의하여 19%($p < 0.05$) 증가하여 유의성 있는 생존율 증가효과를 측정할 수 있었다. 일본 무는 10 mg/ml ($p < 0.05$)에서 통계적으로 유의성있는 효과가 있었다(Fig. 4).

KATO III 세포에 의한 Interleukin-8 생성에 미치는 무의 효과

KATO III 세포는 0.33 ng/ml의 IL-8을 분비하였으며 *H. pylori* 처리에 의하여 IL-8의 분비가 증가하고 균의 수가 증가할수록 사이토카인의 생성량이 증가하였다(Fig. 5). 즉, 균과 세포수의 비 10:1과 100:1에서는 각각 무처리군에 비해 약 8배와 13배 증가하였다. 그리고 *H. pylori*에 의한 KATO III 세포의 시간별 IL-8 분비를 살펴본 결과, 균처리 3시간에서 IL-8 분비가 시작되어 12시간과 24시간에 각각 3.49와 3.91

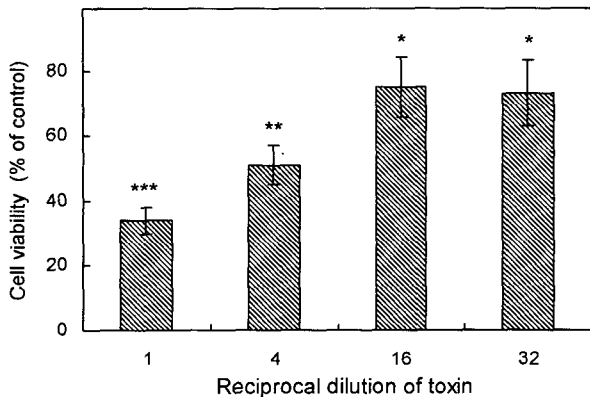


Fig. 1. Effect of *H. pylori* toxin on viability of human gastric epithelial KATO III cells. The values are mean±SD (n=3). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$ as compared to control.

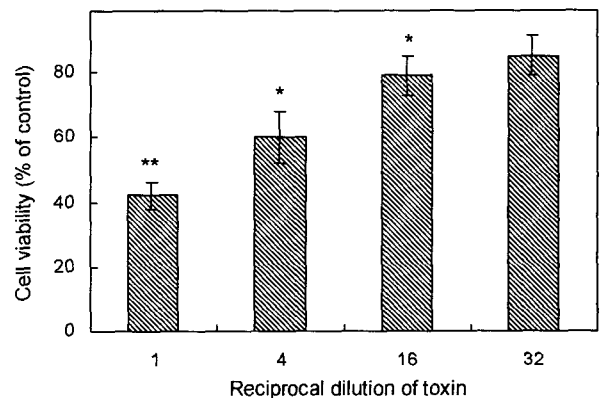


Fig. 3. Effect of *H. pylori* toxin on viability of human gastric epithelial AGS cells. The values are mean±SD (n=3). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared to control.

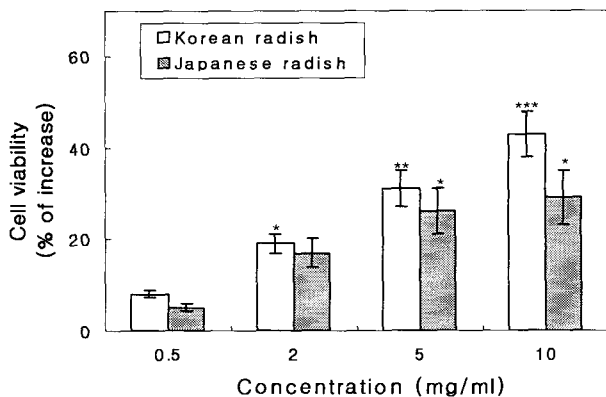


Fig. 2. Effect of Korean and Japanese radishes on viability of *H. pylori* toxin-treated KATO III cells. The values are mean±SD (n=3). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$ as compared to control.

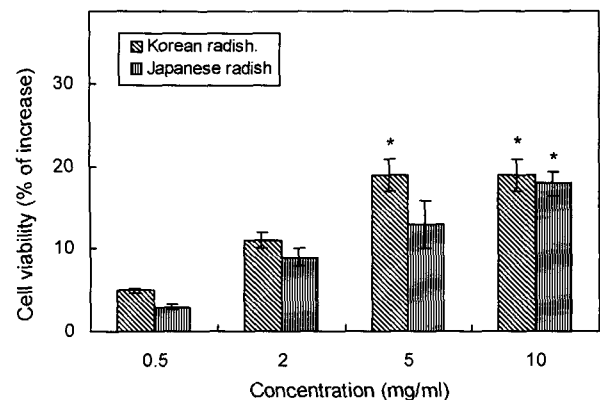


Fig. 4. Effect of Korean and Japanese radishes on viability of *H. pylori* toxin-treated AGS cells. The values are mean±SD (n=3). * $p < 0.05$ as compared to control.

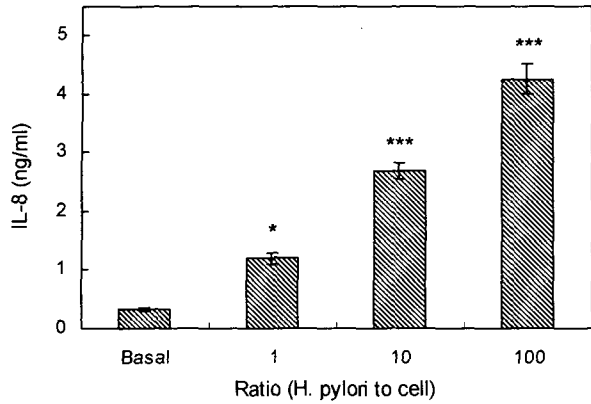


Fig. 5. Production of IL-8 from KATO III cells in response to *H. pylori*. The values are mean±SD (n=3). *p<0.05, ***p<0.005 as compared to control.

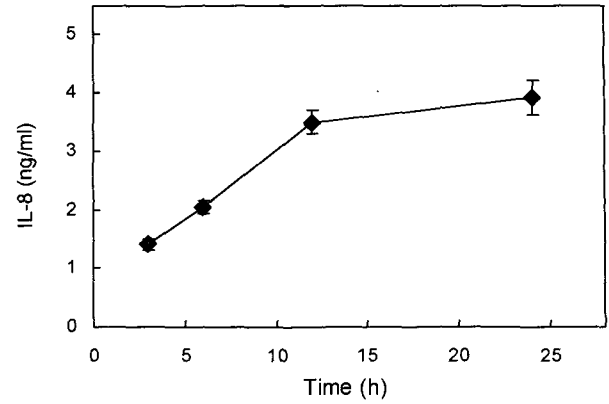


Fig. 6. Time course effect of *H. pylori* stimulation on the production of IL-8 from KATO III cells. The values are mean±SD (n=3).

ng/ml 이 분비되어 거의 plateau에 이르렀다(Fig. 6). 그러므로 본 논문의 실험에서는 *H. pylori* 처리시간을 24시간으로 하여 실험을 진행하였다. 다음으로 *H. pylori* 처리에 의해 증가한 IL-8의 분비에 무가 미치는 영향을 살펴본 결과, 농도의 존적으로 IL-8의 분비 억제효과를 측정할 수 있었으며, 특히 5와 10 mg/ml에서는 유의성 있는 억제효과가 있었다(Fig. 7). IL-8의 분비 억제효과도 한국 무가 일본 무보다 억제효과가 더 높았다(Fig. 7).

고 찰

*H. pylori*는 flagella를 가진 그람음성 간균으로 위점막 상피세포의 표면과 점액층사이나 위점막을 덮는 점액층내에 기생하며 주로 세포외에서 관찰되지만 세포내 침투도 보고 되어진다[21]. *H. pylori*는 *in vitro*에서 위 상피세포의 증식을 억제한다는 보고가 있으며[14,20] 근래에는 *H. pylori* 단백질 성분(Cag A, Vac A)의 독성은 세포의 공포형성을 유도하며 암모니아는 세포사멸을 유발하는 것으로 알려져 있다. 특히 Cag A는 위축성 위염과 위암발생을 증가시키나[3], 기존약제의 효과 및 부작용, 환자의 순응도, 고가약제에 대한 경제적 부담감과 더불어 재감염과 재발이 문제점으로 되어 왔다. 본 연구결과에서 무의 위 상피세포 생존율 증가효과는 이전의 연구결과와 관련해서 무가 *H. pylori*에 의해 억제된 위세포 증식의 회복에 직접적으로 영향을 미치거나 urease나 공포형성 독소의 활성억제에 의해 세포생존율을 증가시킨 것으로 보인다[19].

한편 *H. pylori* 감염은 조직의 손상과 함께 점막의 염증성 사이토카인들 IL-6, IL-8과 TNF-α의 생성을 증가시킨다는 보고가 있다[7,8,11]. 본 연구 결과에서도 *H. pylori*와 위상피세포의 상호작용에 의해 IL-8의 생성이 유도되었으며 이는 RT-PCR 분석에 의하여 KATO III 세포가 *H. pylori*에 반응하여 IL-8 mRNA의 생성이 증가됨을 발표한 연구결과[12]와 일치

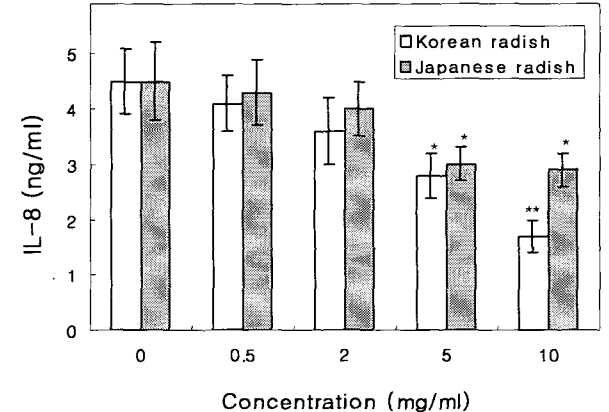


Fig. 7. Effect of Korean and Japanese radishes on *H. pylori*-stimulated IL-8 production from KATO III cells. Data shown are mean values with bars indicating the SD of the mean (n=3). *p<0.05, **p<0.01 as compared to control.

하였다. IL-8은 단핵구, 내피세포, 위상피세포에서 분비되며 [1], 중성구와 T세포를 활성화시킴으로서 병원균의 제거를 위한 세포의 방어기전에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[17]. 위 상피세포의 IL-8 분비가 점막표면의 세균침입에 대한 급성 염증현상의 초기반응이란 보고가 있었으며[10], 면역형광분석법에 의하면 사이토카인은 *H. pylori* 감염 후 위점막의 상피와 점막고유층(lamina propria)에 위치해 있는 것으로 관찰되었다[9]. 그러므로 IL-8은 *H. pylori* 감염에 의한 위점막손상의 원인이 되는 중요한 염증반응의 매개자이다.

위 상피세포는 사이토카인 반응체계에 관여하며 *H. pylori*에 감염된 환자의 위 상피세포는 HLA class II를 발현한다 [18]는 것이 보고 되었으므로, 상피세포가 *H. pylori* 감염에 대한 점막의 방어기능이 있음을 시사한다. 점막의 사이토카인은 점막의 대식세포 같은 염증세포와 상피세포 사이의 조절작용에 의해 염증의 정도와 상피세포의 퇴화를 조절할 것이다. 그래서 활성화된 점막 대식세포에 의해 분비된 IL-1β

나 TNF- α 는 위세포의 IL-8 분비를 증가시키고 IL-4나 transforming growth factor- β 는 IL-8 분비를 감소시킬 것이다. 즉, *H. pylori* 균은 위점막의 항상성을 변화시켜 proinflammatory와 anti-inflammatory 사이토카인의 불균형을 유도하여 염증이나 질병상태를 유도한다. 그러므로 본 실험의 결과에서 무는 위상피세포의 *H. pylori*에 의한 IL-8의 생성을 억제하였으며, 나아가 위점막세포의 IL-8 생성억제로 *H. pylori* 감염에 의한 위점막세포의 손상도 방지할 수 있을 것이다.

요 약

무(한국 품종 및 일본 품종)를 사용하여 *H. pylori*에 의한 위세포독성 및 IL-8생성에 미치는 영향을 살펴 보았다. 그 결과 무는 *H. pylori*에 의한 위세포독성을 농도의존적으로(2~10 mg/ml) 억제하였으며 또한 위암세포인 KATO III에서 분비되는 IL-8의 생성을 억제시킴(5~10 mg/ml)을 알았다. 이러한 사실은 무가 *H. pylori*감염에 의한 위점막세포의 손상을 방지할 수 있음을 나타낸다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발연구(202068-03-2-HD110)에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Baggiolini, M., A. Walz and S. L. Kunkel. 1989. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8: a novel cytokine that activates neutrophils. *J. Clin. Invest.* **84**, 1045-1049.
2. Blaser, M. J. 1992. Hypothesis on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology* **102**, 720-727.
3. Blaser, M. J., G. I. Perez-Perez, H. Kleanthous, T. L. Cover, R. M. Peek, P. H. Chyou, G. N. Stemmermann and A. Nomura. 1995. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing Cag A associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res.* **55**, 2111-2115.
4. Covacci, A., S. Censini, M. Bugnoli, R. Petracca, D. Burroni, G. Macchia, A. Massone, E. Papini, Z. Xiang and N. Figura. 1993. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 5791-5795.
5. Cover, T. L. and Blaser, M. J. 1992. Purification and characterization of the vacuolation toxin from *Helicobacter pylori*. *J. Biol. Chem.* **267**, 10570-10575.
6. Crabtree, J. E., S. M. Farmery, I. J. Lindley, N. Figura, P. Peichl and D. S. Tompkins. 1994. CagA/cytotoxic strains of *Helicobacter pylori* and interleukin-8 in gastric epithelial cell lines. *J. Clin. Pathol.* **47**, 945-950.
7. Crabtree, J. E., P. Peichl, J. I. Wyatt, U. Stachl and I. J. Lindly. 1993. Gastric interleukin-8 and IgA 1L-8 autoantibodies in *Helicobacter pylori* infection. *Scand. J. Immunol.* **37**, 65-70.
8. Crabtree, J. E., T. M. Shallcross, R. V. Heatley and J. I. Wyatt. 1991. Mucosal tumour necrosis factor alpha and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Gut* **32**, 1473-1477.
9. Crabtree, J. E., J. I. Wyatt, L. K. Trejdosiewicz, P. Peichl, P. H. Nichols, N. Ramsay, J. N. Primrose and I. J. Lindly. 1994. Interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori* infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa. *J. Clin. Pathol.* **47**, 61-66.
10. Eckmann, L., M. F. Kagnoff and J. Fierer. 1993. Epithelial cells secrete the chemokine interleukin-8 in response to bacterial entry. *Infect. Immun.* **61**, 4569-4574.
11. Gionchetti, P., D. Vaira, M. Campieri, J. Holton, M. Menegatti, A. Belluzzi, E. Bertinelli, M. Ferretti, C. Brignolac and M. Miglioli. 1994. Enhanced mucosal interleukin-6 and -8 in *Helicobacter pylori*-positive dyspeptic patients. *Am. J. Gastroenterol.* **89**, 883-887.
12. Huang, J., P. W. O'toole, P. Doig, and T. J. Trust. 1995. Simultaneous Interleukin-8 Production in Epithelial Cell Lines by *Helicobacter pylori*. *Infect. Immun.* **63**, 1732-1738.
13. Lee, A., J. Fox and S. Hazell. 1993. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a perspective. *Infect. Immun.* **61**, 1601-1610.
14. Nakajima, N., H. Kuwayama, N. Tanaka, M. Nakajima and G. L. Eastwood. 1990. *Campylobacter pylori* filtrate inhibits human epithelial growth factor-stimulated gastric epithelial proliferation *in vitro*. *Gastroenterology* **98**, A94.
15. Noach, L. A., N. B. Bosma, J. Jansen, F. J. Hoek, S. J. H. van Deventer and G. N. J. Tytgat. 1994. Mucosal tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interleukin-8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Scand. J. Gastroenterol.* **29**, 425-429.
16. Nomura, A., G. N. Stemmermann, P. H. Chyou, I. Kato, G. I. Perez-Perez and M. J. Blaser. 1991. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma in a population of Japanese-Americans in Hawaii. *N. Engl. J. Med.* **325**, 1132-1136.
17. Oppenheim, J. J., C. O. C. Zachariae, N. Mukaiyada and K. Matsushima. 1991. Properties of the novel proinflammatory supergene intercrine cytokine family. *Annu. Rev. Immunol.* **9**, 617-648.
18. Scheynius, A. and L. Engstrand. 1991. Gastric epithelial cells in *Helicobacter pylori*-associated gastritis expressed HLA-DR but not ICAM-1. *Scand. J. Immunol.* **33**, 237-241.
19. Shon, Y. H., J. I. Surh, Y. J. Chung, I. K. Park, H. C. Kim, C. W. Hwang, C. H. Kim and K. S. Nam. 2004. Effect of radish on HeLa cell vacuolation induced by *Helicobacter pylori* cytotoxin. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 250-254.
20. Wagner, S., W. Beil, U. E. H. Mai, M. Lohmuller and M. Manns. 1994. Cocultivation of human gastric epithelial cells and *H. pylori*: an *in vitro* model for the initial step in *H. pylori* infection. *Gastroenterology* **106**, A791.
21. Wyle, F. A., A. Tarnawski, D. Schulman and W. Dabros. 1990. Evidence for gastric mucosal cell invasion by *Campylobacter pylori*: an ultrastructural study. *J. Clin. Gastroenterol.* **12**, S92-98.