

한국인에서 획득한 *Helicobacter pylori*의 CagA에 존재하는 SHP-2 binding site의 분석

조지윤 · 정진용¹ · 강호영² · 김군도³ · 변정식 · 명승재 · 정훈용 · 양석균 · 홍원선 · 김진호 · 이진혁*

울산대학교 의과대학 서울아산병원 소화기내과, ¹울산대학교 의과대학 아산생명과학연구소, ²부산대학교 자연과학대학 미생물학과, ³부경대학교 자연과학대학 미생물학과

Received October 31, 2005 / Accepted November 28, 2005

Analysis of the SHP-2 Binding Site of *Helicobacter pylori* CagA Protein in Korean. Ji-Yun Jo, Jin-Yong Jeong¹, Ho Young Kang², Gun-Do Kim³, Jeong-Sik Byeon, Seung-Jae Myung, Hwoon-Yong Jung, Suk-Kyun Yang, Weon-Seon Hong, Jin-Ho Kim and Gin Hyug Lee*. Department of Internal Medicine, Asan Medical Center, and ¹Asan Institute for Life Sciences, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, ²Department of Microbiology, Pusan National University, Pusan, ³Department of Microbiology, Pukyong National University, Pusan, Korea – Recently the pathological actions of CagA of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) on gastric epithelial cells have been reported. CagA is directly injected into the host cytoplasm and undergoes tyrosine phosphorylation in the cells. In addition, translocated CagA forms a physical complex with SHP-2. There are two major CagA subtypes according to the amino acid sequence in the 3' region of CagA; i) the East Asian type (A-B-D of EPIYA motifs) and ii) the Western type (A-B-C of EPIYA motifs). Repeated EPIYA motifs in the 3' region of CagA are involved in the interaction with SHP-2. The East Asian type conferred stronger SHP-2 binding activity than the Western type of CagA. Here we analyzed the amino acid sequences of the SHP-2 binding site of *cagA* gene in *H. pylori*, and investigated whether there is any relationship between the diversities of *cagA* and the disease outcome in Korea. Most of Korean *H. pylori* strains showed A-B-D motifs (the East Asian type), and only one strain showed A-B-B-D motifs. In Korea, the incidence of atrophic gastritis and gastric cancer is significantly high compared with Western countries. The high frequency of the East Asian type CagA among Korean *H. pylori* strains would be involved in increasing the risk of gastric cancer in Korean populations.

Key words – CagA, *Helicobacter pylori*, SHP-2 binding site

WHO가 *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)를 제1군의 인체 발암 세균으로 분류 하였듯이 *H. pylori*의 감염은 위암 발생에 관여 하는 중요한 요소의 하나이다[7,8,13,17]. 최근 *H. pylori* 감염과 만성 위염 및 위암의 관련성에 관한 연구에서 *H. pylori* 감염이 위점막에 염증을 일으키고 이것이 수십 년 지속되면 만성 위축성위염, 장상피화생으로 진행되어 위암의 전구 병소가 될 수 있으므로 *H. pylori* 감염이 위암화의 초기 단계에 중요한 역할을 할 가능성을 보고하고 있다[15]. 역학적 연구에서 *H. pylori* 감염과 위암 발생의 위험은 밝혀졌으며, 또한 최근 동물 실험에서 *H. pylori* 단독 감염이 위암을 일으킨다는 사실을 확인하였다. 그러나 *H. pylori*가 위암의 발생에 관여하는 기전은 많은 연구에도 불구하고 아직 완전히 밝혀지지 않고 있다. *H. pylori*에 감염된 사람의 1~2% 에서만 위암이 발생한다는 것은, 위암의 발생에는 *H. pylori*의 감염뿐 아니라 *H. pylori*의 병독 인자, 숙주의 유전적 감수성, 그리고 식이 및 환경 인자의 영향 등도 관련되어 있음을 보여준다. *cagA*는 잘 알려진 병독 인자로서 *cag* pathogenic island (PAI)에 존재하는 유전자이며, 이 *cagA* 양성인 *H. pylori*에 감염된 환자에서 위암의 전암

성 병변으로 알려진 위축성 위염과 위암의 위험도가 높은 것으로 알려져 주목을 받아 왔다[7,9,12,21]. 최근의 연구 결과에 의하면 CagA protein은 *H. pylori*가 위 상피세포에 부착되면 type IV secretory apparatus에 의해 세포 내로 주입된다 [6,14,19]. 주입된 CagA는 tyrosine phosphatase에 의해 phosphorylation을 거친 후 Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase (SHP-2)와 결합한다. 이 결합은 SHP-2의 활성을 증가시켜, 감염된 위점막 배양 세포에서 보여지는 'hummingbird phenotype'이라는 독특한 형태 변화를 유도한다[19]. 또한 SHP-2는 세포 증식에 관련된 신호전달체계에 도 작용하는 효소이므로 tyrosine phosphorylated CagA에 의한 SHP-2 활성의 증가는 위 상피세포의 비정상적인 증식을 초래할 가능성이 있다. CagA는 C-말단 부위에 다양한 수의 EPIYA (glutamic acid-proline-isoleucine-tyrosine-alanine) motif를 갖는데, 상피세포 내에서 인산은 바로 이 EPIYA motif의 tyrosine기에 결합한다. 또한 EPIYA motif의 반복 횟수와 주변 아미노산 배열의 조합이 위암에 의한 사망률과 통계적으로 유의한 연관성이 있다는 것이 최근에 일부 연구자들에 의해 보고되었다[1,3,4,10,16]. 그러나 한국인을 대상으로 이러한 CagA 내에 존재하는 SHP-2 binding site 아미노산 서열의 특성을 밝힌 연구는 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 한국

***Corresponding author**

Tel : +82-2-3010-3986, Fax : +82-2-485-5782

E-mail : jhlee409@amc.seoul.kr

인에서 획득한 *H. pylori*에 대해서 CagA의 C-말단 부위에 존재하는 SHP-2 binding site에 대해 아미노산 서열을 분석하여 그 특성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

대상 및 위내시경 검사

2003년 10월부터 2004년 5월까지 소화 불량, 복통 및 속 쓰림 등의 상부 위장관 증상에 기인하여 서울아산병원을 방문한 환자들 중에서 위 내시경 검사를 시행하여 조직 검사로 비분문부 위선암이 확진된 환자 14예와 만성 위염 소견만을 보인 환자 48예를 대상으로 본 연구를 시행하였다. 위 내시경 검사 시 정상 점막 소견을 보인 위 전정부로부터 생검 검자를 이용하여 조직 절편을 취하여 *H. pylori* 배양을 시행하였고, PCR로 *cagA* gene을 확인 하였으며, SHP-2 binding site의 서열을 보기 위하여 nucleotide sequence analysis를 시행하였다.

***Helicobacter pylori*의 배양.**

생검 조직을 0.5% NaCl에 침지하여 1시간 내에 연구소로 옮긴 후 무균 페트리 접시에 넣고 수술용 칼을 이용하여 잘게 부순 뒤 Brucellar agar에 horse serum (10%)과 amphotericin B (8 µg/ml), trimethoprim (5 µg/ml), vancomycin (6 µg/ml)을 첨가한 선택배지를 이용하여 각각 접종하였다. 배양 조건은 10% CO₂, 5% O₂, 37°C에서 3~5일간 배양하였다. 초기 배양에서 얻은 집락은 재배양한 뒤 그람 염색과 생화학적 방법 (catalase, urease, oxidase test)을 이용하여 *H. pylori*임을 확인하였다. 균주들은 20% 글리세롤이 포함된 Brucella액체 배지에 넣어 -70°C에 보관하였다.

***H. pylori* DNA의 분리 및 CagA의 3' variable region의 SHP-2 binding site 및 *vacA* 유전형의 확인**

배양하여 얻은 균주의 집락에서 PUREGENE kit (Gentra

System, Minneapolis, MN)를 이용하여 DNA를 분리하였다. DNA농도와 순도는 분광광도법(spectrophotometry)을 이용하여 측정하였다. PCR을 위한 oligonucleotides는 Table 1에 표시하였다. PCR시 표준균주는 *H. pylori* ATCC 43504 (cytotoxin/*cagA*+ *vacA* genotype s1/m1)를 이용하였다. *cagA* 유전자의 3' region을 증폭하기 위한 PCR 조건은 20 ng의 DNA, 10 mM Tris (pH 8.3), 50 mM KCl, 1.25 mM MgCl₂, dATP, dCTP, dGTP 및 dTTP 각각 200 M, 400 nM씩의 forward primer(5'-ACCCTAGTCGGTAATGGGTTA-3')와 reverse primer (5'-TAGCGTAATTGTCTAGTTTCGC-3') 그리고 1 unit Taq DNA polymerase (Promega)가 포함된 50 ul의 buffer에서 시행하였다. 반응 조건은 94°C에서 30초간 denaturation후, 55°C에서 30초간 annealing하고 72°C에서 1분간 extension이 일어나도록 하여 총 시행 횟수는 총 30회로 하였다. PCR산물은 1.5% agarose gel에 전기영동하여 확인한 후, *cagA* 양성인 것들은 DNA band를 순수 분리하여 BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit를 이용하여 DNA염기서열을 결정하였다. DNA sequence의 분석은 GENTYX-Mac software (version 10.0; Software Development)를 이용하였다. *vacA*의 유전형을 확인하기 위해 사용된 primer들은 Table 1에 나타내었다.

결 과

대상 환자의 일반적 특징

대상 환자의 나이는 만성 위염 환자군이 22세부터 70세까지 분포하였으며(평균 나이 46.3세) 위암 환자군은 34세부터 84세까지(평균 나이 61.0세)로 위암 환자군의 나이가 만성 위염 환자군의 나이보다 많았다. 그 이외 성별 분포를 포함한 흡연력, 음주력, 위선암에 대한 과거력과 가족력을 비교한 결과 음주력에서 위암환자군에서 29%이고, 만성 위염 환자군에서는 42%로 약간의 차이는 보였으나 두 군 사이에 통계적으로

Table 1. PCR primers for amplification of *cagA* and *vacA* sequences

Region amplified	Primer designation	Primer sequences
<i>cagA</i>	cagA-F1	5'-ACCCTAGTCGGTAATGGGTTA-3'
	cagA-R1	5'-TAGCGTAATTGTCTAGTTTCGC-3'
<i>vacA</i> s1a	s1a-F	5'-GTCAGCATCACACCGCAAC-3'
	VA-R	5'-CTGCTTGAATGCCGCCCAAC-3'
<i>vacA</i> s1b	slb-F	5'-AGCGCCATACCGCAAGAG-3'
	VA-R	5'-CTGCTTGAATGCCGCCCAAC-3'
<i>vacA</i> slc	s1c-F	5'-CTCTCGCTTTAGTGGGGYT-3'
	VA-R	5'-CTGCTTGAATGCCGCCCAAC-3'
<i>vacA</i> s2	s2-F	5'-ATGAAAATACAACAAACACAC-3'
	VA-R	5'-CTGCTTGAATGCGCCAAAC-3'
<i>vacA</i> m1a	m1a-F	5'-GGTCAAAATGCCGTTCATGG-3'
	m1a-R	5'-CCATTGGTACCTGTAGAAAC-3'
<i>vacA</i> m1b	m1b-F	5'-GGCCCCAATGCAGTCATGGAT-3'
	m1b-R	5'-GCTGTTAGTGCCTAAAGAAGCAT-3'
<i>vacA</i> m2	m2-F	5'-GGAGCCCCAGGAAACATTG-3'
	m2-R	5'-CATAACTAGCGCCTTGCAC-3'

유의한 차이는 보여주지 않았다(Table 2).

CagA SHP-2 binding site의 아미노산 서열 분석.

CagA는 C-말단 부위에 다양한 수의 반복적인 아미노산 서열을 갖는데, 이 부위에 존재하는 EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) motif가 tyrosine phosphorylation 부위이며 이 motif의 종류와 수에 따라 i) SHP-2에 대한 결합력이 더 강한 동아시아형(East Asian type; A-B-D of EPIYA motifs)과, ii) 상대적으로 결합력이 약한 서구형(Western type; A-B-C of EPIYA motifs)으로 크게 두 종류가 존재한다(Fig. 1). 본 연구에서 사용된 62개의 *H. pylori* 균주에서는 모두 *cagA* gene이 확인되었다. 그리고 62개의 *H. pylori* 균주에서 CagA SHP-2 binding site의 아미노산 서열을 분석한 결과 거의 모든 균주들이 A-B-D motifs (the East Asian type)을 보여 주었으며, 오직 한 균주(strain H55)에서는 A-B-B-D motifs를 보여주었다(Fig. 1). 그러나 이 역시 변형된 East Asian type이다. 따라서 본 연구

에 사용된 62 *H. pylori* 균주 모두에서 East Asian type 만을 보여주었다.

CagA의 3' 영역과 *vacA* 유전형과의 연관성.

*vacA*는 *H. pylori* 균에서 분리되어 위상피세포에 공포(vacuolation)를 일으키는 단백질을 생성하는 유전자로 모든 균주에 존재하며, 유전학적으로 모자이크형(mosaicism)이 존재한다 [2]. 신호서열(signal sequence)과 중간지역(mid region)을 발현하는 대립유전자(allele)의 다양성(polymorphism)을 보이는데, 신호서열은 다시 s1a, s1b, s1c 그리고 s2의 4가지 유형을, 중간지역은 m1 및 m2의 2가지 유형을 보인다. 이러한 *vacA* 대립유전자의 모자이크 조합이 독소의 생성을 결정하며, 균주의 발병원인과 관련이 있다. 따라서 본 연구에서는 한국인을 대상으로 CagA 3' region이 East Asian type으로 분류된 62 균주를 대상으로 *vacA*의 유전형과의 연관성을 조사하여 보았다.

Table 2. Clinical Characteristics of the Studied Patients

	Total (n=62)	Gastric cancer (n=14)	Chronic gastritis (n=48)
Age (years)	48.514.0	61.015.9	46.311.6
Sex ratio (M: F) (Male proportion, %)	43:19 (69%)	10:4 (71%)	33:15 (69%)
Alcohol Hx	24/62 (38%)	4/14 (29%)	20/48 (42%)
Smoking Hx	27/62 (43%)	5/14 (36%)	22/48 (46%)
Family Hx for gastric cancer	5/62 (8%)	0/14 (0%)	5/48 (10%)
Past Hx for gastric cancer	0/62 (0%)	0/14 (0%)	0/48 (0%)

M; male, F; female, Hx; history

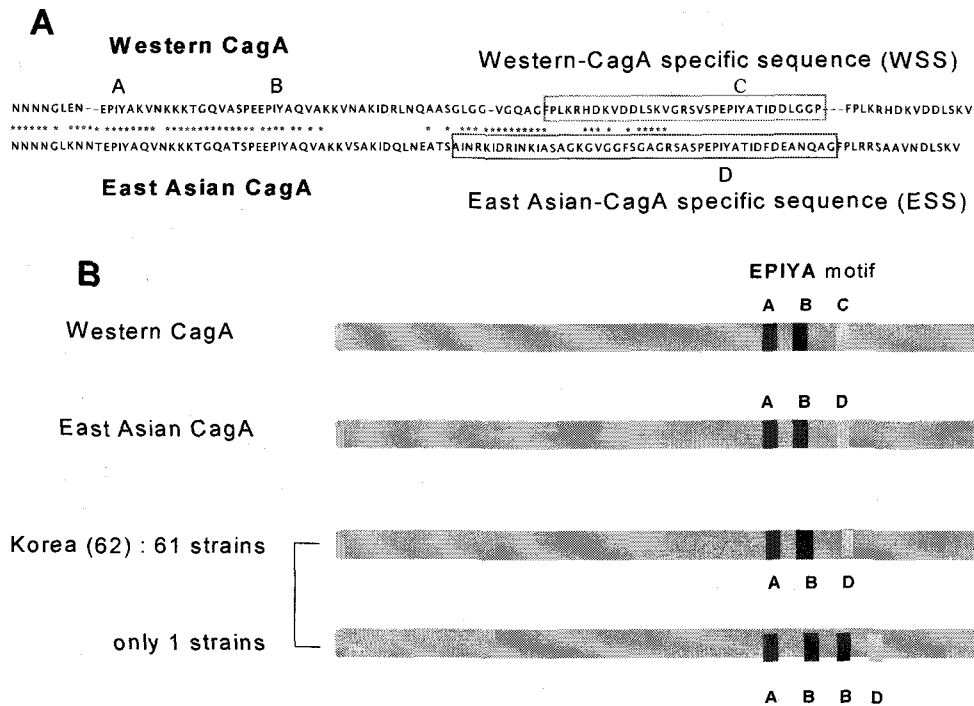


Fig. 1. EPIYA motifs in the 3' region of the *cagA* gene in Korean strains. A) Alignment of the deduced amino acid sequence in the 3' region of the *cagA* gene, B) EPIYA motifs.

Table 3. The relationship between *cagA* and *vacA* allele types

<i>vacA</i> type	East Asian Type	
	Fukui ^a	Korea
s1a/m1a	1	0
s1a/m1b	8	16
s1b/m1a	1	0
s1b/m1b	0	0
s1c/m1a	0	0
s1c/m1b	55	43
s1a/m2	0	2
s1b/m2	0	0
s1c/m2	0	1
s2/m2	0	0

^aData from reference 20.

62균주 중에 43균주(69%)는 s1c/m1b *vacA* type을 보여주었으며 다음으로 16균주(26%)가 s1a/m1b를 보여주었다 이 결과는 한국과 더불어 위암발병률이 높은 일본의 Fukui지역에서 조사된 결과[20]와 유사함을 보여주었다(Table 3). 본 결과는 한국인에서 분리된 *H. pylori* 균주는 CagA 뿐만아니라 *vacA*에서도 독성이 높은 유전형을 가지고 있음을 보여 준다.

고 찰

한국인의 CagA SHP-2 binding site의 염기 서열에 대해 알려진 자료가 없으므로, 본 연구에서는 서울 아산 병원에 내원한 환자를 대상으로 *H. pylori* CagA protein의 염기서열을 알아보았다. 그 결과 위선암 환자 14명과 위염 환자 48명 모두에서 East Asian type을 보여 주었다. 여러 연구자들에 의하면 만성 위염이 수십년 후 위암의 전구 병소인 위축성 위염과 장상피화생으로 진행하므로 만성 위염을 일으키는 *H. pylori* 감염은 위의 발암과정의 초기 단계와 밀접한 관계가 있다고 하였다. 그러나 *H. pylori*가 발암에 관여하는 기전에 대해서는 대부분 밝혀지지 않았다. 상피세포의 증식은 상피세포의 소실과 균형을 이루어 위 점막의 항상성(mucosal integrity) 유지에 중요한 역할을 한다. 위 점막에서 이런 상피세포의 여러 원인에 의한 증식은 위선암 발생의 위험 증가와 관계되며 암 발생의 초기 점막변화 중 하나이다[15-17]. 한편 위점막 손상 발생 시 회복을 위한 상피세포의 증식이 수반되므로 *H. pylori* 감염에 의한 점막 손상에서 상피세포증식을 보고하고 있어 *H. pylori* 감염에 의한 세포의 과증식은 종양 발생을 촉진할 수 있을 것으로 생각된다. *H. pylori* 감염시 병리조직학적 위염은 거의 모든 경우 일어나지만 대부분의 환자에서는 증상이 없고 소수에서만 위궤양, 십이지장궤양 또는 위암 등의 질환이 발생한다. 이런 감염에 따른 임상결과의 다양성의 원인 중 *H. pylori* 개개의 특성에 대한 연구에 의해 매우 다양한 독성 인자(virulence factor)가 밝혀졌고, CagA는 가장 대표적인 *H. pylori*의 독성인자이다[11,18]. 본 연구에서도 *H. pylori* *cagA* 유전자 검출을 위해 PCR을 시행 하였다. 그 결과 위암 환자 14

명과 만성 위염 환자 48명에 모두에서 *cagA* 유전자가 확인되었다. 따라서 앞 선 많은 연구에서처럼, 많은 수의 위암이 없는 대조군(만성위염 환자)에서도 *cagA* 유전자가 양성인 점으로 보아 비록 CagA가 *H. pylori*의 독성 결정에 있어서 중요하지만, CagA 유무만으로는 위암발생의 임상적 결과를 예측할 수는 없을 것으로 생각된다. 최근 CagA가 위상피 세포에 직접적으로 어떤 영향을 끼치는지와 독성을 나타내는 정도가 CagA아형에 따라 어떻게 다른지에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있고, 특히, 위암 발생률이 높은 일본의 여러 연구에서 많은 가능성들을 제시하였다.

CagA 단백질의 분자량은 120에서 145 kDa으로 다양하며, 단백질의 C말단 부위에 있는 34개의 아미노산 서열의 다양한 횡수의 반복에 의해 그 분자량이 결정된다[10]. 최근 분자생물학적인 분석으로 CagA가 위상피세포에 어떻게 독성을 나타내는지를 증명하였다. CagA는 type IV secretion system에 의해 위상피 세포에 주사된 후 tyrosine phosphorylation을 거쳐 SHP-2와 결합하고 SHP-2를 활성화시켜 위상피세포의 비정상적인 증식을 유도한다[6,14,19] 앞 서 말했던 것처럼, CagA는 C-말단 부위에 다양한 수의 반복적인 서열을 갖는데, 상피세포 내에서 인산은 바로 이 반복서열 부위의 특정 tyrosine기에 결합한다. 이 연구의 저자들은, CagA 반복서열 부위에 존재하는 EPIYA (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) motif가 tyrosine phosphorylation 부위이고, 획득한 균주 사이에는 CagA 반복서열 부위에 존재하는 EPIYA motif의 종류와 수가 서로 다르며, 이를 각각 SHP-2에 대한 결합력이 더 강한 동아시아형(East Asian type; A-B-D of EPIYA motifs)과 상대적으로 결합력이 약한 서구형(Western type; A-B-C of EPIYA motifs)으로 명명하였다[5]. 그리고, 역학적 조사를 통하여 위암 사망률이 높은 일본, 중국등의 동아시아 여러 나라에서는 동아시아형 CagA가 우세하게 분포했고, 위암 사망률이 낮은 호주, 영국, 미국등 서구 여러 나라에서는 서구형 CagA가 우세하게 분포함을 보여주었다[5,19]. 또한, 일본 내에서도 위암에 의한 사망률이 상당한 차이를 보일 뿐 아니라 지리적 및 환경적으로 차이를 가진 두 지역에서의 *H. Pylori* CagA아형 조사에서도 위암에 의한 사망률이 높은 지역에서 위암에 의한 사망률이 상대적으로 낮았던 지역에서 보다 동아시아형 CagA가 더 많이 분포함을 밝혀내어 CagA아형에 따라 위암 발생률에 차이를 보일 수 있음을 주장하였다[5] 그러므로, 다양한 국가와 지역에서 이러한 유전형을 조사하는 것은 *H. pylori*의 병리 기전을 이해하는데 중요한 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

최근에 발표된 연구 결과에 의하면 *H. pylori* CagA 내에 존재하는 SHP-2 binding site의 아미노산 서열을 분석한 후, 특정 서열이 위선암의 발병과 연관되어 있다고 보고하였다. 그러나 한국인을 대상으로 CagA 내에 존재하는 SHP-2 binding

site 아미노산 서열의 특성을 밝힌 연구는 없다. 따라서 본 연구는 한국인에서 획득한 *H. pylori*의 CagA SHP-2 binding site에 대해 아미노산 서열을 분석하여 그 특성을 알아보고자 하였다. 총 62 균주의 *H. pylori*를 분석한 결과 환자의 질환과 관계없이 모든 *H. pylori* 균주에서 East Asian type (A-B-D 혹은 A-B-B-D)을 보여주었다. 일본과 더불어 한국은 위선암 유병률이 높은 나라이므로, 연구 대상의 모든 한국인에서 East Asian type CagA를 가진 *H. pylori*가 발견된 것이 위선암 유병률과 연관될 가능성이 높아 보인다. 그러나 *H. pylori*의 발병 기전을 보다 더 명확히 이해하기 위해서는 보다 많은 국가와 지역을 대상으로 이러한 유전형 조사가 필요할 것 같다.

감사의 글

본 연구는 아산생명과학연구소의 연구비 지원(2004-362)에 의하여 이루어졌음.

참 고 문 헌

- Argent, R. H., M. Kidd, R. J. Owen, R. J. Thomas, M. C. Limb and J. C. Atherton. 2004. Determinants and consequences of different levels of CagA phosphorylation for clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* **127**, 514-523.
- Atherton, J. C., P. Cao, R. M. Peek Jr, Tumuru R, M. J. Blaser and T. L. Cover. 1995. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J. Biol. Chem.* **270**, 17771-17777.
- Azuma, T. 2004. *Helicobacter pylori* CagA protein variation associated with gastric cancer in Asia. *J. Gastroenterol.* **39**, 97-103.
- Azuma, T., A. Yamakawa, S. Yamazaki, K. Fukuta, M. Ohtani, Y. Ito, M. Doju, Y. Yamazaki and M. Kuriyama. 2002. Correlation between variation of the 3' region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* and disease outcome in Japan. *Journal Infect. Dis.* **186**, 1621-1630.
- Azuma, T., S. Yamazaki, A. Yamakawa, M. Ohtani, A. Muramatsu, H. Suto, Y. Ito, M. Doju, Y. Yamazaki, M. Kuriyama, Y. Keida, H. Higashi and M. Hatakeyama. 2004. Association between diversity in the Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase binding site of *Helicobacter pylori* CagA protein and gastric atrophy and cancer. *J. Infect. Dis.* **189**, 820-827.
- Backert, S, E. Ziska, V. Brinkmann, U. Zimny-Arndt, A. Fauconnier, P. R. Jungblut, M. Naumann and T. F. Meyer. 2000. Translocation of the *Helicobacter pylori* CagA protein in gastric epithelial cells by a type IV secretion apparatus. *Cell Microbiol.* **2**, 155-164.
- Clemens, J., M. J. Albert, M. Rao, F. Qadri, S. Huda, B. Kay, F. P. van Loon, D. Sack, B. A. Pradhan and R. B. Sack. 1995. Impact of infection by *Helicobacter pylori* on the risk and severity of endemic cholera. *J. Infect. Dis.* **171**, 1653-1656.
- Dale, A., J. E. Thomas, M. K. Darboe, W. A. Coward, M. Harding and L. T. Weaver. 1998. *Helicobacter pylori* infection, gastric acid secretion, and infant growth. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **26**, 393-397.
- Gerhard, M., R. Rad, C. Prinz and M. Naumann. 2002. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* **7**, 17-23.
- Hatakeyama, M. 2003. *Helicobacter pylori* CagA-a potential bacterial oncoprotein that functionally mimics the mammalian Gab family of adaptor proteins. *Microbes Infect.* **5**, 143-150.
- Hsu P. I., I. R. Hwang, D. Citty, K. H. Lai, H. M. EL-Zimaity, O. Gutierrez, J. G. Kim, M. S. Osato, D. Y. Graham and Y. Yamaoka. 2002. Clinical presentation in relation to diversity within the *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island. *Am. J. Gastroenterol.* **97**, 2231-2238.
- Lai, Y. P., J. C. Yang, T. Z. Lin, J. T. Wang and J. T. Lin. 2003. CagA tyrosine phosphorylation in gastric epithelial cells caused by *Helicobacter pylori* in patients with gastric adenocarcinoma. *Helicobacter* **8**, 235-243.
- Lipkin, M. 1988. Biomarkers of increased susceptibility to gastrointestinal cancer: new application to studies of cancer prevention in human subjects. *Cancer Res.* **48**, 235-245.
- Odenbreit, S., J. Puls, B. Sedlmaier, E. Gerland, W. Fischer and R. Haas. 2000. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science* **287**, 1497-1500.
- Parsonnet, J. 1999. *Helicobacter* and gastric adenocarcinoma. p. 372-408. In J. Parsonnet (ed.), *Microbes and Malignancy: Infection as a cause of human cancers*. Oxford Univ Press., NY.
- Peek, R. M. Jr, G. G. Miller, K. T. Tham, G. L. Perez, T. L. Cover, J. C. Atherton, G. D. Dunn and M. J. Blaser. 1995. Detection of *Helicobacter pylori* gene expression in human gastric mucosa. *J. Clin. Microbiol.* **33**, 28-32.
- Shahinian, M. L., D. J. Passaro, D. L. Swerdlow, E. D. Mintz, M. Rodriguez, and J. Parsonnel. 2000. *Helicobacter pylori* and epidemic *Vibrio cholerae* O1 infection in Peru. *Lancet* **355**, 377-378.
- Yamaoka, Y., M. Kita, T. Kodama, N. Sawai, K. Kashima and J. Imanishi. 1997. Induction of various cytokines and development of severe mucosal inflammation by *cagA* gene positive *Helicobacter pylori* strains. *Gut* **41**, 442-451.
- Yamazaki, S., A. Yamakawa, Y. Ito, M. Ohtani, H. Higashi, M. Hatakeyama and T. Azuma. 2003. The CagA protein of *Helicobacter pylori* is translocated into epithelial cells and binds to SHP-2 in human gastric mucosa. *J. Infect. Dis.* **187**, 334-337.
- Zhou, W., S. Yamazaki, A. Yamakawa, M. Ohtani, Y. Ito, Y. Keida, H. Higashi, M. Hatakeyama, J. Si and T. Azuma. 2004. The diversity of *vacA* and *cagA* genes of *Helicobacter pylori* in East Asia. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **40**, 81-87.
- Westblom, T. U., S. J. Czinn, and J. G. Nedrud. 1999. (eds) *Gastrointestinal disease and Helicobacter pylori: pathophysiology, diagnosis and treatment*. Curr. Top. Microbiol. Immunol. vol. 241. Springer Press (Berlin).