

## *Helicobacter pylori* 감염 소아에서 유전형과 위점막 림프구

서울특별시 동부병원 소아청소년과, 이화여자대학교 의학전문대학원 \*병리학교실,  
†진단검사의학교실, †소아과학교실

염혜원 · 조민선\* · 이미애<sup>†</sup> · 서정완<sup>†</sup>

### Association between Genotypes and Gastric Mucosal Lymphocytes in *Helicobacter pylori*-infected Children

Hye Won Yom, M.D., Min Sun Cho, M.D.\*, Mi Ae Lee, M.D.<sup>†</sup> and Jeong Wan Seo, M.D.<sup>†</sup>

Department of Pediatrics, Seoul Metropolitan Dong-bu Hospital, Departments of \*Pathology,  
†Laboratory Medicine, †Pediatrics, Ewha Womans University School of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose:** *Helicobacter pylori* infection is probably acquired in childhood and persists as an asymptomatic infection for decades in most individuals. It is unclear why only a minority of those infected develop a clinical manifestation, even in childhood, such as peptic ulcer disease. *H. pylori* infection activates local immune responses and causes lymphocyte infiltration in the gastric mucosa. We have previously reported that both T and B cells in the lamina propria play important roles in the local immune response of *H. pylori*-infected children. The aim of this study was to investigate the association between *H. pylori* genotypes and gastric mucosal lymphocytes.

**Methods:** Twenty-five *H. pylori*-infected children (10 with peptic ulcer disease and 15 with gastritis) were enrolled in this study. We investigated the genotypes (*cagA*, *cagE*, *vacA*, and *babA2*) and evaluated the association with clinical manifestations, histopathology, and gastric mucosal lymphocytes.

**Results:** The prevalence of *cagA*, *cagE*, *vacA* s1m1, and *babA2* was 80%, 60%, 84%, and 88%, respectively. The most prevalent (68%) combination of *cagA*, *vacA*, and *babA2* genotypes was *cagA*+/*vacA* s1m1+/*babA2*+. *H. pylori* genotypes were not associated with clinical manifestations, histopathology, or gastric mucosal lymphocytes.

**Conclusion:** There was no association between the *cagA*, *cagE*, *vacA*, or *babA2* status and gastric mucosal lymphocytes. The role of the host immune response in relation to *H. pylori* genotypes and disease potential in children needs further studies. (**Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr 2009; 12: 140~149**)

**Key Words:** *Helicobacter pylori*, Children, Gastric mucosal lymphocytes, *cagA*, *cagE*, *vacA*, *babA2*

접수 : 2009년 7월 31일, 승인 : 2009년 8월 26일

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

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

서 론

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)는 소아기에 감염되어 대부분 무증상으로 지내나 소수에서 소화궤양이나 위선암과 같은 위장질환을 일으킨다<sup>1)</sup>. 그러나 다양한 임상질환으로 발현하는 기전은 밝혀지지 않았으며, *H. pylori*의 병독성 인자, 숙주 인자, 환경 인자가 복합적으로 작용할 것으로 추측된다. 병독성 인자는 대표적으로 *cagA*, *vacA*, *babA* 등이 있으며, 이러한 유전형과 임상질환과의 연관성은 논란이 많다<sup>2)</sup>. 성인과 마찬가지로 소아에서도 유전형과 임상질환의 연관성은 상반된 결과를 보고하고 있으나 국내 소아를 대상으로 한 연구에서는 유전형과 임상질환과의 연관성이 없었다<sup>3)</sup>. 숙주 인자로는 유전자 다형성이나 면역반응이 제시되었고 임상질환과의 연관성 역시 상반된 보고가 있다<sup>4)</sup>. 이는 지역, 인종, 연령에 따라 감염되는 *H. pylori* 유전형이 다양하고 숙주의 반응도 다르기 때문으로 생각한다.

*H. pylori*는 위점막에 붙어서 상피세포에 침투하지 않으면서도 체액성 및 세포매개성 면역반응을 포함하여 위점막에 폭발적인 국소 면역반응을 일으킨다<sup>4)</sup>. *H. pylori*는 이러한 방식으로 숙주가 균을 효과적으로 제거하지 못하게 하면서, 오히려 위점막의 염증과 손상을 일으키고, 숙주의 면역반응을 피해 지속적으로 살아남는다<sup>4)</sup>. 세포매개성 면역반응은 내재면역(*innate immunity*)과 적응면역(*adaptive immunity*)이 중요한 두 축이다. 내재면역은 대식세포와 호중구가 관여하며 병원체

로부터 숙주를 방어하는 제1선이고, 적응면역은 림프구가 관여하는 진보된 방어 수단으로 병원체에 다시 감염되지 않도록 보호하는 역할을 한다<sup>5)</sup>. 현재 *H. pylori* 관련 위점막 면역반응은 적응면역이 중점적으로 연구되고 있으며, 성인에서는 대부분 위점막에 *interferon-γ* (*IFN-γ*)를 분비하는 CD4 T세포가 주도적으로 침윤된다고 알려져 있다<sup>6)</sup>. 그러나 소아에서는 *H. pylori*의 위점막 면역반응에 관해 일치된 보고가 없다. 저자들의 이전 논문에서는 *H. pylori*에 감염된 소아에서, 소화궤양균은 점막 고유층의 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포가 증가하였고 위염균에서 CD3, CD4 T세포와 CD20 B세포가 증가하여 T세포와 B세포가 모두 점막 면역반응에 중요하다고 보고하였다<sup>4)</sup>. 이에 저자들은 *H. pylori*에 감염된 소아에서 병독성 인자인 유전형을 분석하여 유전형과 위점막 림프구의 상관성, 유전형에 따른 임상질환 및 조직 소견의 차이를 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

*H. pylori*에 감염된 소아 25명(소화궤양균 10명, 위염균 15명)을 대상으로 하였으며 저자들이 이전 논문에서 발표한 연구 대상과 같다<sup>4)</sup>. 남아가 14명, 여아가 11명이었으며, 연령은 2세에서 14세까지 분포하였고 평균 연령은 10.1세였다.

Table 1. PCR Primers and Conditions for Amplification of *ureC*, *cagA*, *cagE*, *vacA*, *babA2* Sequences

Region	Primer	Primer sequence (5'→3')	Size of product (bp)	Condition
<i>ureC</i>	ureC1	AAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGGTTT	294	55°C 2 min 35 cycle
	ureC2	AAGCCTTACTTTCTAACACTAACGC		
<i>cagA</i>	D008	TAATGCTAAATTAGACAACCTTGAGCGA	298	54°C 50 sec 25 cycle
	R008	TAGAATAATCAACAAACATCACGCCAT		
<i>cagE</i> ( <i>picB</i> )	picf	GAGCTTTTGCTTGCTCTTTGC	2,091	54°C 50 sec 30 cycle
	picr	CAAACAACGCTGCTTTCTAT		
<i>vacA</i> s	VA1-F	ATGGAAATACAACAACACAC	259 or	59°C 2 min 30 cycle
	VA1-R	CTGCTTGAATGCGCCAAC	286	
<i>vacA</i> m	VAG-F	CAATCTGTCCAATCAAGCGAG	570 or	52°C 30 sec 30 cycle
	VAG-R	GCGTCTAAATAATTCCAAGG	645	
<i>babA2</i>	Bab7-F	CCAAACGAAACAAAAGCGT	271	45°C 1 min 30 cycle
	Bab7-R	GCTTGTGTAAAAGCCGTCGT		

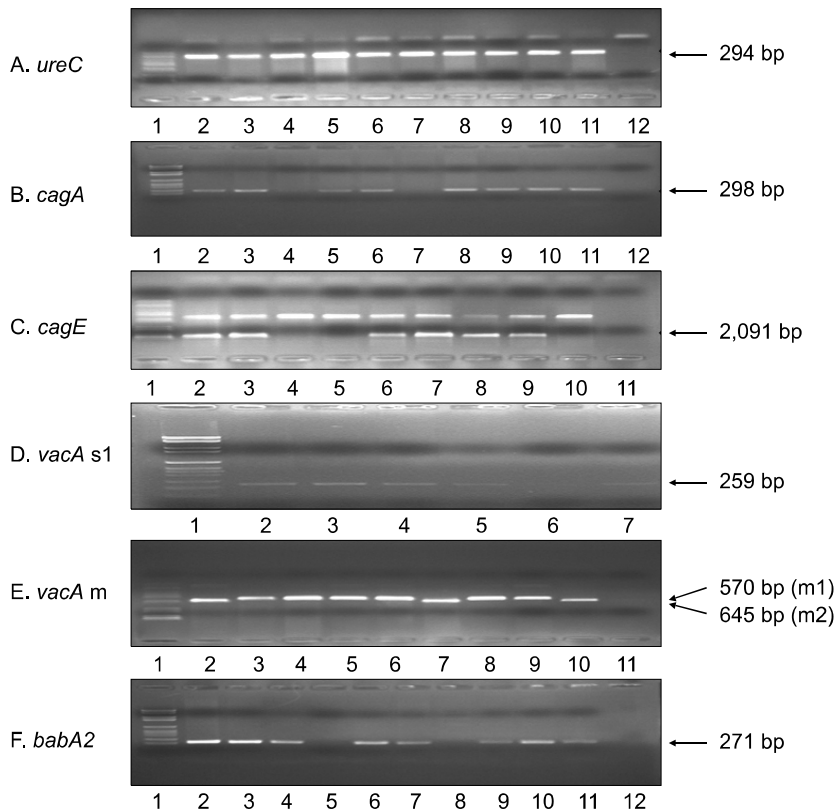
2. 방법

*H. pylori*의 유전형을 분석하여 임상질환과 이전 논문에서 보고한 조직 소견 및 위점막 림프구(CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포)와 비교하였다<sup>4)</sup>.

1) *H. pylori* 유전형 중합효소연쇄반응: 영하 70°C에 냉동 보관해 둔 위진정부 생검 조직을 lysis buffer와 protein kinase K 용액에 넣은 후 55°C의 항온기에 12시간 이상 항온 상태를 유지하였으며 용액이 투명하게 보일 때까지 조직을 분해하였다. QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen Inc., CA, USA)을 이용하여 DNA를 분리하였다. 추출한 DNA는 Beckman DU spectrometer (Beckman Coulter Inc., CA, USA)로 각 검체마다 추출된 DNA의 양을 측정하였다.

중합효소연쇄반응은 50 µL 부피의 반응 혼합물을 만들어 시행하였다. 혼합물은 주형 DNA 5 µL, 10 × PCR reaction buffer (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM씩의 dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP, Roche Diagnostics, Mannheim,

Germany), 0.6 µL씩의 각 시발제, Tag DNA polymerase 2.5 U (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), 증류수로 구성되었다. 증폭은 자동온도변환장치(GeneAmp PCR machine 9600, Perkin-Elmer, CT, USA)를 이용하였다. *ureC*<sup>3)</sup>, *cagA*<sup>3)</sup>, *cagE*<sup>3)</sup>, *vacA*<sup>7)</sup>, *babA2*<sup>8)</sup> PCR 시발제의 염기서열과 조건은 Table 1과 같이 시행하였다. *H. pylori* DNA 양성대조는 ATCC 700392 균주 및 임상 균주에서 분리한 DNA를 이용하였고, 1 × TE 완충액을 음성대조로 사용하였다. PCR을 실시한 후 반응산물 10 µL를 취하여 전기영동 완충액 1 µL와 섞은 다음 ethidium bromide가 함유된 2% agarose gel (Sigma-Aldrich Co., MO, USA)에 10 µL씩 가하여 100 V의 직류로 20분간 전기영동한 후 Gel Doc 2000 system (Bio-Rad Laboratory Inc., CA, USA)을 이용하여 촬영하였다. 이때 증폭된 DNA는 DNA molecular marker VI (Boehringer-Mannheim, Germany)와 비교하여 *ureC*는 294 bp, *cagA*는 298 bp, *cagE*는 2,091 bp, *babA2*는 271 bp에서 각각 띠가 확인되면 양성으로 하였으며, *vacA* s 지역은 271 bp가 나오면 s1, 298 bp가 나오면 s2로 하였고,



**Fig. 1.** Positive PCR results of *ureC*, *cagA*, *cagE*, *vacA*, *babA2* genes were shown. Amplicons with the size of 294 bp (A) representing *ureC* (lane 2 ~ 11), 298 bp (B) representing *cagA* (lane 2, 3, 5, 6, 8 ~ 11), 2,091 bp (C) representing *cagE* (lane 2, 3, 6 ~ 9), 259 bp (D) representing *vacA* s1 (lane 2 ~ 5, 7), 570 bp (E) representing *vacA* m1 (lane 3 ~ 6, 8, 9), 645 bp (E) representing *vacA* m2 (lane 2, 7, 10), 271 bp (F) representing *babA2* (lane 2 ~ 4, 6, 7, 9 ~ 11) were identified.

*vacA* m 지역은 570 bp가 나오면 m1, 645 bp가 나오면 m2로 하였다(Fig. 1).

2) 통계: 자료의 분석은 Windows용 SPSS 11.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) 통계프로그램을 사용하여 Fisher's exact test, Mann-Whitney U test로 *p*값의 유의수준은 0.05 미만인 경우에 유의성이 있다고 판정하였다.

**Table 2.** *cagA*, *cagE*, *vacA*, *babA2* Status of *H. pylori* in Gastric Mucosa

	Peptic ulcer disease* (n=10) n (%)	Gastritis (n=15) n (%)	Total (n=25) n (%)
<i>cagA</i>			
<i>cagA</i> (+)	9 (90)	11 (73.2)	20 (80)
<i>cagA</i> (-)	1 (10)	4 (26.7)	5 (20)
<i>cagE</i>			
<i>cagE</i> (+)	7 (70)	8 (53.3)	15 (60)
<i>cagE</i> (-)	3 (30)	7 (46.7)	10 (40)
<i>vacA</i>			
s1m1	10 (100)	11 (73.3)	21 (84)
s1m2	0 (0)	4 (26.7)	4 (16)
<i>babA2</i>			
<i>babA2</i> (+)	9 (90)	13 (86.7)	22 (88)
<i>babA2</i> (-)	1 (10)	2 (13.3)	3 (12)

\**p*>0.05 compared with gastritis.

## 결 과

### 1. 유전형과 임상질환

소화궤양군에서 유전형의 양성률은 *cagA* 90%, *cagE* 70%, *vacA* s1m1 100%, *babA2* 90%이었고 위염군에서는 *cagA* 73.2%, *cagE* 53.3%, *vacA* s1m1 73.3%, *babA2* 86.7%로 두 군 간에 유의한 차이는 없었다(*p*>0.05) (Table 2).

**Table 3.** Relationship between Combinations of *cagA*, *vacA* and *babA2* Genotypes and Clinical Manifestations

	Peptic ulcer disease* (n=10) n (%)	Gastritis (n=15) n (%)	Total (n=25) n (%)
<i>cagA</i> +/ <i>vacA</i> s1m1+/ <i>babA2</i> +	8 (80)	9 (60)	17 (68)
<i>cagA</i> +/ <i>vacA</i> s1m1+/ <i>babA2</i> -	1 (10)	0 (0)	1 (4)
<i>cagA</i> +/ <i>vacA</i> s1m2+/ <i>babA2</i> +	0 (0)	2 (13.3)	2 (8)
<i>cagA</i> +/ <i>vacA</i> s1m2+/ <i>babA2</i> -	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>cagA</i> -/ <i>vacA</i> s1m1+/ <i>babA2</i> +	1 (10)	0 (0)	1 (4)
<i>cagA</i> -/ <i>vacA</i> s1m1+/ <i>babA2</i> -	0 (0)	2 (13.3)	2 (8)
<i>cagA</i> -/ <i>vacA</i> s1m2+/ <i>babA2</i> +	0 (0)	2 (13.3)	2 (8)
<i>cagA</i> -/ <i>vacA</i> s1m2+/ <i>babA2</i> -	0 (0)	0 (0)	0 (0)

\**p*>0.05 compared with gastritis.

**Table 4.** Histopathology (Updated Sydney Scores) according to Genotypes

	Bacterial density	Neutrophil activity	Chronic inflammation	Intestinal metaplasia	Glandular atrophy
<i>cagA</i>					
<i>cagA</i> (+)	2 (1~3)	2 (0~3)	1.9 (1~3)	0.1 (0~1)	0.6 (0~2)
<i>cagA</i> (-)	1.6 (1~2)	1.6 (1~3)	1.8 (1~2)	0.2 (0~1)	0.4 (0~1)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS	NS
<i>cagE</i>					
<i>cagE</i> (+)	2.1 (2~3)	2.3 (1~3)	1.7 (1~3)	0.1 (0~1)	0.6 (0~2)
<i>cagE</i> (-)	1.6 (1~3)	1.4 (0~3)	2 (1~3)	0.1 (0~1)	0.4 (0~1)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS	NS
<i>vacA</i>					
s1m1	2 (1~3)	2.1 (0~3)	1.8 (1~3)	0.1 (0~1)	0.6 (0~2)
s1m2	1.8 (1~2)	0.8 (0~1)	2 (2~2)	0 (0~0)	0 (0~0)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS	NS
<i>babA2</i>					
<i>babA2</i> (+)	2 (1~3)	1.9 (0~3)	1.8 (1~3)	0.1 (0~1)	0.5 (0~2)
<i>babA2</i> (-)	1 (1~1)	2 (1~3)	2.3 (2~3)	0.3 (0~1)	0.7 (0~1)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS	NS

Values are given as mean (range). NS: not significant.

2. *cagA*, *vacA*, *babA2* 유전형 조합과 임상질환

가장 흔한 유전형 조합은 *cagA*+/*vacA* s1m1+/*babA2*+ 조합으로 전체 25명 중 17명(68%)에서 관찰되었으나 소화궤양군에서 8명(80%)과 위염군에서 9명(60%)으로 두 군 간에 유의한 차이는 없었다( $p>0.05$ ) (Table 3).

3. 유전형과 조직 소견

*cagA*, *cagE*, *vacA*, *babA2* 유전형에 따른 *H. pylori* 밀도, 다핵형 중성구의 활동성, 만성 염증, 장상피화생과 위선위축은 유의한 차이가 없었다( $p>0.05$ ) (Table 4).

Table 5. Cellular Subsets in the Lamina Propria of Gastric Mucosa according to Genotypes

	CD3	CD4	CD8	CD20
<i>cagA</i>				
<i>cagA</i> (+)	41.9 (16~75)	17.4 (1~55)	6.4 (0~21)	22.4 (3~88)
<i>cagA</i> (-)	31.4 (15~38)	14.2 (4~28)	7.4 (3~25)	13.8 (3~23)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS
<i>cagE</i>				
<i>cagE</i> (+)	40.3 (16~72)	14.5 (1~55)	5.9 (0~21)	18.7 (3~85)
<i>cagE</i> (-)	39 (15~75)	20 (5~42)	7.7 (0~25)	23.7 (6~88)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS
<i>vacA</i>				
s1m1	41.3 (15~75)	16.9 (1~55)	6.4 (0~21)	22.6 (3~88)
s1m2	31.5 (22~38)	16 (4~28)	7.5 (0~25)	10.5 (6~21)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS
<i>babA2</i>				
<i>babA2</i> (+)	40.1 (16~75)	15.6 (1~55)	7.1 (0~25)	21.2 (3~88)
<i>babA2</i> (-)	37.3 (15~60)	25 (5~42)	2.7 (2~3)	17 (14~23)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS

Values are given as mean (range). NS: not significant.

Table 6. Intraepithelial Subsets of Gastric Mucosa according to Genotypes

	CD3	CD4	CD8	CD20
<i>cagA</i>				
<i>cagA</i> (+)	3.8 (1~10)	1.4 (0~6)	0.2 (0~1)	1.1 (0~8)
<i>cagA</i> (-)	3.2 (2~5)	1.2 (0~3)	1.2 (0~4)	0 (0~0)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS
<i>cagE</i>				
<i>cagE</i> (+)	4.2 (2~10)	1.6 (0~6)	0.3 (0~2)	0.4 (0~4)
<i>cagE</i> (-)	2.9 (1~5)	1 (0~3)	0.4 (0~4)	1.6 (0~8)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS
<i>vacA</i>				
s1m1	3.8 (1~10)	2 (0~6)	0.1 (0~1)	1 (0~8)
s1m2	3.3 (2~5)	1.1 (0~3)	1.5 (0~4)	0.3 (0~1)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS
<i>babA2</i>				
<i>babA2</i> (+)	3.7 (1~10)	1.3 (0~6)	0.4 (0~4)	1 (0~8)
<i>babA2</i> (-)	3.3 (2~5)	0.7 (0~2)	0 (0~0)	0 (0~0)
<i>p</i> value	NS	NS	NS	NS

Values are given as mean (range). NS: not significant.

#### 4. 유전형과 위점막 림프구

점막 고유층과 상피세포 내 모두에서 *cagA*, *cagE*, *vacA*, *babA2* 유전형에 따른 CD3, CD4, CD8 T세포 수와 CD20 B세포 수는 유의한 차이가 없었다( $p > 0.05$ ) (Table 5, 6).

### 고 찰

*H. pylori* 감염이 무증상에서 소화궤양질환이나 위선암과 같은 다양한 위장질환으로 진행되는 기전을 규명하기 위하여 수많은 연구가 보고되고 있다. 연구 초기에는 *H. pylori*의 병독성 인자에 초점을 맞추었으나 최근에는 숙주의 면역반응에 관한 연구가 많다<sup>4)</sup>. *H. pylori*의 병독성 인자와 함께 *H. pylori*가 숙주의 면역반응을 심화시키기도 하고 면역반응을 회피하여 살아남으면서 결국 위장질환을 일으킨다고 생각된다.

성인에서 *H. pylori* 감염에 대한 면역반응은 지역과 인종에 따라 차이가 있다. *H. pylori*에 감염된 개발도상국(방글라데시)과 선진국(스웨덴) 성인을 비교했더니, 위점막 CD19 B세포 수와 CD4 T세포 수는 비슷했으나 개발도상국 성인에서 혈액 내 *H. pylori* 특이 IgA와 IgG 항체 역가가 2배 낮았다고 하면서 국소 위점막 면역반응은 비슷하나 전신 면역반응은 *H. pylori* 감염률이 낮은 선진국에서 심하다고 하였다<sup>9)</sup>. 아프리카는 *H. pylori* 감염률이 높아도 기생충 감염으로 Th2 면역반응이 유발되어 소화궤양, 위선암 발생률이 낮다고 하였다<sup>10)</sup>. *H. pylori*에 감염된 멕시코 소아에서 비감염군보다 위점막 CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포가 증가하나 활성화된 비만세포는 감소하였다. T세포와 B세포의 동반 증가와 약한 염증반응 때문에 멕시코는 소아의 *H. pylori* 감염률이 높지만 위암 유병률은 낮다고 하였다<sup>11)</sup>. 저자들의 국내 소아를 대상으로 한 이전 논문에서는 *H. pylori*에 감염된 소아에서 소화궤양군은 점막 고유층의 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포가 증가하였고, 위염군에서 CD3, CD4 T세포와 CD20 B세포가 증가하였으며, 위점막 림프구 수는 *H. pylori*의 밀도, 다핵형 중성구 활동성, 만성 염증 정도와 양의 상관관계를 보였다<sup>4)</sup>. 아직까지 소아에서 *H. pylori* 감염에 대한 점막 면역반응의 림프구 아형에 대한 일치된 보고가 없으며,

성인과 마찬가지로 지역과 인종에 따라 차이가 있는 것으로 생각된다.

최근에는 조절 T세포(regulatory T cell)가 *H. pylori*로 인한 면역반응을 억제하는 면역회피 기전의 핵심으로 알려졌다. *H. pylori*에 감염된 소아에서 성인보다 조절 T세포가 위점막에 많이 침윤되어 있기 때문에 조직의 염증이 성인보다 약하다고 하였다<sup>12)</sup>. *H. pylori* 감염에서 조절 T세포와 CD4 T세포에 비해 상대적으로 CD8 T세포는 중요하게 여겨지지 않았다. 그러나 일부 연구에서 CD4 T세포가 결핍된 경우에 CD8 T세포는 심한 위염과 연관 있다고 하였으며<sup>13)</sup> 저자들의 이전 논문에서 위점막 CD8 T세포가 소화궤양군에서만 증가했던<sup>4)</sup> 결과와 연관 있을 수 있다.

*H. pylori* 감염으로 인한 숙주의 점막 면역반응에 군의 병독성이 어떻게 영향을 주는지 알아보려 본 연구에서는 대표적 병독성 유전형으로 알려진 *cagA*, *cagE*, *vacA*, *babA2*에 대해 PCR을 시행하였다. *cagA* 유전형은 *cag* pathogenicity island (PAI)의 표식체로 인식된다. *cag* PAI는 30여 개의 유전자로 구성된 병원성 관련 유전자 집합체로 4형 분비구조(type IV secretion system)를 코딩하여 CagA 단백 같은 효과물질을 숙주세포로 주입하고 CagA 단백질은 interleukin (IL)-8 분비를 유도하며 nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B)를 활성화 시킨다<sup>14)</sup>. *cag* PAI는 소화궤양 및 위선암과 연관 있다는 보고도 있으나<sup>15)</sup> 일부에서는 대부분 임상질환과 상관없다고 하였다<sup>16)</sup>. 브라질 소아에서 *cagA* 양성인 경우 십이지장 궤양이 4.1배 많다고 하였으나<sup>17)</sup> 터키 소아의 연구에서는 *cagA*가 궤양과 상관없다고 하였다<sup>18)</sup>. 일부에서 *cagA*가 중성구 활동성 및 만성염증과 상관있으며<sup>19)</sup> *cag* PAI를 가진 *H. pylori*가 전정부의 위선위축, 장상피화생과 관련 있다고 하였으나<sup>15)</sup> 국내 소아에서 *cag* PAI는 위염의 심한 정도와 상관없었다<sup>20)</sup>. 본 연구에서는 소화궤양군과 위염군 간의 *cagA* 양성률 및 *cagA* 양성 유무에 따른 조직 소견에 유의한 차이가 없었다.

*cagE* 유전형은 *cagA*와 근접해 위치하며 염증반응을 매개하는 IL-8의 유도를 촉진하고 NF- $\kappa$ B를 활성화 시킨다고 알려져 있다<sup>21)</sup>. 터키 성인을 대상으로 한 연구에서 *cagE*가 십이지장 궤양과 위궤양의 독립된 예측인자라 하였다<sup>22)</sup>. 소아에서도 *cagE*가 IL-8의 증가 및 십이지장 궤양과 관련 있다고 하였으나<sup>23)</sup> 본 연구에서는

소화궤양균과 위염균 간의 *cagE* 양성률 및 *cagE* 양성 유무에 따른 조직 소견에 유의한 차이가 없었다.

*vacA* 유전형은 VacA 독소를 생산하여 세포의 공포화, 세포막 통로 형성, 시트크롬 C의 분비를 통한 세포자멸사, 면역 조절 등 다양한 반응을 유발한다<sup>24</sup>. *cag* PAI와 달리 *vacA* 유전형은 모든 *H. pylori* 균주에 존재하나 신호서열부(signal sequence)와 중간부(mid region) 대립유전자의 다형성으로 인해 세포 독성능은 매우 다양하다. 서구에서는 대부분 m1이 m2보다 독성이 강하고, s1a가 다른 s1 유전형보다 독성이 더 강한 것으로 보고되었으나<sup>25</sup> 한국인에서는 이와 같은 관련성을 찾을 수 없었다<sup>2</sup>. 브라질 소아에서 *vacA*의 s1과 m1 유전형이 십이지장 궤양과 연관 있었으나<sup>26</sup> 위암 고위험 지역의 소아에서는 *vacA* 유전형에 따른 임상적 차이가 없었다<sup>27</sup>. 성인에서 *vacA* s1은 중성구 활동성 및 만성염증과 상관있었고<sup>19</sup> 소아에서는 *vacA* s1a가 *vacA* s2보다 만성 염증과 높은 상관성을 보였다<sup>28</sup>. 본 연구에서는 모두 *vacA* s1이었으며 소화궤양균과 위염균 간의 m1, m2 양성률 및 *vacA* 아형에 따른 조직 소견에 유의한 차이가 없었다.

*babA2* 유전형은 BabA를 생산하며 상피세포 막의 fucosylated Lewis B blood group antigen에 결합하여 상피세포에 단단히 부착한다. *babA2* 양성률은 지역마다 차이가 커서 태국에서는 100%, 독일에서는 위염인 경우 38%, 십이지장 궤양인 경우 100%, 중국에서는 79.8%, 미국과 이탈리아 등에서는 36% 정도의 양성률을 보고했다<sup>10</sup>. 서구에서는 *babA2* 유전자가 십이지장 궤양 및 위선암과 매우 밀접한 연관성이 있었으나<sup>29</sup> 한국인에서는 *babA2* 유전형의 빈도가 낮았을 뿐 아니라 십이지장 궤양과의 연관성도 없는 것으로 보고되었다<sup>2</sup>. 성인에서 *babA2*는 중성구 활동성과 상관있다고 하였으나<sup>19</sup> 독일 소아에서는 *babA2*가 임상질환, 조직 소견과 상관없고 위상피세포의 Lewis<sup>b</sup> 항원발현이 성인보다 적다고 하였으며<sup>30</sup> 일본 소아에서도 *babA2*와 임상질환은 상관없었다<sup>31</sup>. 본 연구에서 *babA2* 유전형의 빈도는 25명 중 22명(88%)이었고 소화궤양균과 위염균 간의 *babA2* 양성률 및 *babA2* 양성 유무에 따른 조직 소견에 유의한 차이가 없었다.

*babA2*가 양성이면 *cagA*나 *vacA* s1이 양성일 확률이 더 높다 하였고<sup>30</sup> *cagA*+/*vacA* s1+/*babA2*+ 조합이

궤양 및 위선암에서 높게 발견된다 하였으나<sup>29</sup> 일본, 한국, 미국, 콜롬비아, 4개국에서 시행한 *cagA*, *vacA*, *babA2* 유전형 조합과 임상질환은 상관이 없었다<sup>7,32</sup>. 본 연구에서도 가장 흔한 유전형 조합은 소화궤양균이나 위염균 모두에서 *cagA*+/*vacA* s1m1+/*babA2*+ 조합이었으며 두 군 간에 유전형 조합의 양성률 또한 유의한 차이가 없었다. 위염이 있는 포르투갈 소아와 성인에서 *H. pylori* 유전형을 비교했더니 성인에서 *cagA*, *vacA* s1, *cagA*+/*vacA* s1+ 조합, *cagA*+/*vacA* s1+/*babA2*+ 조합이 유의하게 많았다<sup>33</sup>. 소아보다 성인에서 병독성 유전형과 유전형 조합이 더 흔히 관찰되는 이유는 성인과 소아의 위점막 환경이 달라 감염되기 쉬운 유전형이 다르기 때문이거나 소아기에 감염된 균이 장기 생존하기 위해 병독성 인자를 적응, 변화시켰기 때문일 것이라고 하였다<sup>33</sup>. 성인과 다른 균의 유전형 및 숙주의 면역반응이 복합적으로 기여하여 소아가 성인보다 임상양상과 조직학적 염증이 덜 심한 것으로 생각된다.

*H. pylori*는 숙주의 면역반응을 회피하려는 여러 전략 중 세균의 독성인자를 숙주의 면역을 억제하는 수단으로 사용한다. CagA는 Jak-Stat signaling pathway를 억제함으로써 B세포 증식을 억제하는 동시에 p53 축적을 방해함으로써 B세포 세포자멸사를 억제하여 MALT 림프종으로 발전시킨다<sup>34</sup>. CagA는 인산화 여부에 상관없이 세포질 내 조절단백인 nuclear factor of activated T cell (NFAT)을 활성화 시키는 반면, VacA는 NFAT의 활성화를 차단하여 T세포 생존과 증식에 필요한 IL-2 생산을 억제하고 IL-2 수용체 표현을 하향 조절하여 G1/S 세포 주기를 정지시켜 T세포 활성화와 증식을 억제한다고 했으며 부분적으로 면역억제제인 FK506의 작용과 비슷하다고 하였다<sup>35,36</sup>. 그러나, 일부에서는 VacA가 NFAT와 무관하게 T세포의 증식을 억제한다고도 보고하였다<sup>37</sup>. 최근 연구에 의하면 VacA가 CD4, CD8 T세포 외에 B세포의 증식도 억제한다고 하였는데 VacA는 CD4 T세포의 미토콘드리아 막전압을 감소시키거나 B세포의 미토콘드리아 막전압에는 영향을 주지 않아 T세포와 B세포에 대한 VacA의 표적 장소는 서로 다를 것이라고 하였다<sup>38</sup>. *cagA*+/*vacA* s1+/*babA2*+ 조합에서 *cagA*+/*vacA* s1+/*babA2*- 조합보다 다핵형 중성구 활동성, *H. pylori* 밀도, IL-8가 유의하게 높았으나 tumor-necrosis factor alpha, IFN- $\gamma$ , IL-12R  $\beta$ 2는 유전

형에 따른 차이가 없었다고 하면서 BabA는 비특이적 면역반응을 증가시키며 *H. pylori* 감염은 babA2 유전형에 상관없이 Th1 면역반응을 유발한다고 하였다<sup>39)</sup>. CagA, VacA가 여러 기전으로 T세포와 B세포의 활성화와 증식을 억제하여 *H. pylori*가 숙주의 적응면역을 회피하고 장기 생존하도록 돕고 BabA는 숙주의 면역에 대한 영향이 비특이적이다. 일부 연구에서는 *H. pylori*의 병독성 인자와 숙주 면역반응의 관계를 규명하기 위해 위전정부 생검 조직으로 유전형과 사이토카인을 분석하여 다음의 모델을 제시하였고, 임상질환 =  $0.867491 (cagA) + 0.0131847 (IL-12/IL-10) + 0.0103503 (IFN-\gamma/IL-4)$ 의 모델로 임상질환의 90% 이상을 설명할 수 있다고 하였으며, 십이지장 궤양은 주로 cagA와 Th1/Th2 사이토카인 비율과 관련 있다고 하였다<sup>1)</sup>. 그러나 아직까지 *H. pylori* 유전형에 따른 위점막 림프구를 직접 비교분석한 연구는 거의 없는 실정이며 본 연구에서는 위점막 고유층과 상피세포 내 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포 수에서 유전형에 따른 유의한 차이가 없었다. 결론적으로 *H. pylori*의 대표적 병독성 인자가 숙주의 위점막 림프구 아형에 특이한 영향을 주지 못했고, 임상 질환 및 조직 소견과도 유의한 연관성이 없었다.

우리나라는 *H. pylori*의 감염률이 높고 위암으로 인한 사망률이 높은 수위를 차지하며 항생제를 사용하는 제균 치료는 비용, 항생제 내성과 항생제 부작용 등으로 한계가 있으므로 감염의 예방을 위한 백신 개발이 효율적일 것이다. 자연 감염으로 획득된 면역은 재감염 예방에 불충분하나 백신은 예방 뿐 아니라 치료보조제로써 제균율을 높이고 내성균의 발생 및 재감염을 낮추는 효과가 있다<sup>40)</sup>. 그러나 위점막 면역반응에 대한 연구는 위암 발생률이 높지 않은 서구권 성인을 대상으로 주로 이루어졌기 때문에 백신의 주요 대상이 될 위암 고위험 지역의 위점막 면역반응을 반영한다고 보기 어려우며 소화궤양이 동반된 소아를 대상으로 한 연구는 거의 없었다. 따라서 본 연구가 위암 고위험 지역인 국내 소아를 대상으로 하였으며 소화궤양군을 포함하여 *H. pylori* 유전형과 위점막 림프구의 상관성을 비교분석했다는 점은 의의가 있으나 대상수가 적은 제한점이 있다. 향후 국내 소아를 대상으로 한 소아의 위점막 면역반응에 대해 더 많은 대단위 연구가 이루어져 위점막

림프구의 역할과 병독성 인자와의 상호 관계를 밝히며 나아가 *H. pylori* 병인을 완전히 규명해야 할 것이다.

## 요 약

**목적:** *H. pylori*는 소아기에 감염되어 대부분 무증상으로 지나나 소수에서 위장질환을 일으킨다. 정확한 기전은 아직 밝혀지지 않았으나 세균의 병독성 인자, 숙주 인자, 환경 인자가 복합적으로 작용한다. 소아에서 *H. pylori* 유전형과 임상질환의 연관성은 지역과 인종에 따라 다양하고 위점막 림프구에 관한 연구도 일치된 보고가 없다. 이에 *H. pylori* 감염 소아에서 *H. pylori* 유전형과 위점막 림프구의 상관성을 알아보려고 하였다.

**방법:** *H. pylori* 감염 소화궤양군 10명과 *H. pylori* 감염 위염군 15명에서 채취된 후 냉동보관 되었던 위전정부 생검 조직에서 DNA를 분리하고 cagA, cagE, vacA, babA2의 특이적인 시발체로 중합효소연쇄반응을 시행하여 *H. pylori* 유전형을 분석하였다. 유전형과 임상질환, 조직 소견 및 위점막 림프구의 상관성을 비교하였다.

**결과:** *H. pylori* 유전형 중 cagA 양성률은 80%, cagE 양성률은 60%였다. vacA는 s1m1이 84%, s1m2가 16%였으며 babA2 양성률은 88%였다. 가장 흔한 유전형 조합은 cagA+/vacA s1m1+/babA2+ 조합으로 68%에서 관찰되었다. cagA, cagE, vacA, babA2의 유전형에 따른 임상질환과 조직 소견 및 CD3, CD4, CD8 T세포 수와 CD20 B세포 수는 점막 고유층과 상피세포 내 모두에서 유의한 차이가 없었다.

**결론:** 소아 *H. pylori* 감염에서 cagA, cagE, vacA 및 babA2 유전형과 위점막 림프구는 유의한 상관성이 없었다. 향후, *H. pylori*가 숙주의 면역을 회피하고 지속적으로 살아남아 다양한 위장질환을 일으키는 병인을 규명하기 위해 *H. pylori* 감염 소아를 대상으로 위점막 면역반응에 대한 대단위 연구가 필요하다.

## 참 고 문 헌

- 1) Serrano C, Diaz MI, Valdivia A, Godoy A, Peña A, Rollan A, et al. Relationship between *Helicobacter pylori* virulence factors and regulatory cytokines as predictors of clinical outcome. *Microbes Infect* 2007;9:428-34.
- 2) 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.
- 3) Jung JA, Lee MA, Seo JW. The genotypes of *Helicobacter pylori*, gastric epithelial cell proliferation and apoptosis in children. *Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003;6:1-9.
  - 4) Yom HW, Seo JW. Gastric mucosal immune response of *Helicobacter pylori*-infected children. *Korean J Pediatr* 2008;51:457-64.
  - 5) Janeway CA, Traverse P, Walport M, Schlomchik M. Immunobiology. 6th ed. New York: Garland Science, 2005;319-66.
  - 6) Bamford KB, Fan X, Crowe SE, Leary JF, Gourley WK, Luthra GK, et al. Lymphocytes in the human gastric mucosa during *Helicobacter pylori* have a T helper cell 1 phenotype. *Gastroenterology* 1998;114:482-92.
  - 7) 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.
  - 8) Sheu BS, Sheu SM, Yang HB, Huang AH, Wu JJ. Host gastric Lewis expression determines the bacterial density of *Helicobacter pylori* in *babA2* genopositive infection. *Gut* 2003;52:927-32.
  - 9) Bhuiyan TR, Qadri F, Bardhan PK, Ahmad MM, Kindlund B, Svennerholm AM, et al. Comparison of mucosal B- and T-cell responses in *Helicobacter pylori*-infected subjects in a developing and a developed country. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008;54:70-9.
  - 10) Mattar R, dos Santos AF, Eisig JN, Rodrigues TN, Silva FM, Lupinacci RM, et al. No correlation of *babA2* with *vacA* and *cagA* genotypes of *Helicobacter pylori* and grading of gastritis from peptic ulcer disease patients in Brazil. *Helicobacter* 2005;10:601-8.
  - 11) Muñoz L, Camorlinga M, Hernández R, Giono S, Ramón G, Muñoz O, et al. Immune and proliferative cellular responses to *Helicobacter pylori* infection in the gastric mucosa of Mexican children. *Helicobacter* 2007;12:224-30.
  - 12) Harris PR, Wright SW, Serrano C, Riera F, Duarte I, Torres J, et al. *Helicobacter pylori* gastritis in children is associated with a regulatory T-cell response. *Gastroenterology* 2008;134:491-9.
  - 13) Fukui T, Nishio A, Okazaki K, Kasahara K, Saga K, Tanaka J, et al. Cross-primed CD8<sup>+</sup> cytotoxic T cells induce severe *Helicobacter*-associated gastritis in the absence of CD4<sup>+</sup> T cells. *Helicobacter* 2007;12:486-97.
  - 14) Brandt S, Kwok T, Hartig R, König W, Backert S. NF-kappa B activation and potentiation of proinflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:9300-5.
  - 15) Nilsson C, Sillen A, Eriksson L, Strand ML, Enroth H, Normark S, et al. Correlation between *cag* pathogenicity island composition and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal disease. *Infect Immun* 2003;71:6573-81.
  - 16) Hsu PI, Hwang IR, Cittelly D, Lai KH, El-Zimaity HM, Gutierrez O, et al. Clinical presentation in relation to diversity within the *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2231-8.
  - 17) Queiroz DM, Bittencourt P, Guerra JB, Rocha AM, Rocha GA, Carvalho AS. *IL1RN* polymorphism and *cagA*-positive *Helicobacter pylori* strains increase the risk of duodenal ulcer in children. *Pediatr Res* 2005;58:892-6.
  - 18) Sökücü S, Ozden AT, Süoğlu OD, Elkabes B, Demir F, Cevikbaş U, et al. CagA positivity and its association with gastroduodenal disease in Turkish children undergoing endoscopic investigation. *J Gastroenterol* 2006;41:533-9.
  - 19) Prinz C, Schöniger M, Rad R, Becker I, Keiditsch E, Wagenpfeil S, et al. Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during chronic gastric inflammation. *Cancer Res* 2001;61:1903-9.
  - 20) Ko JS, Seo JK. *cag* pathogenicity island of *Helicobacter pylori* in Korean children. *Helicobacter* 2002;7:232-6.
  - 21) Ogura K, Maeda S, Nakao M, Watanabe T, Tada M, Kyutoku T, et al. Virulence factors of *Helicobacter pylori* responsible for gastric diseases in Mongolian gerbil. *J Exp Med* 2000;192:1601-10.
  - 22) Erzin Y, Koksall V, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, *babA2* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter* 2006;11:574-80.
  - 23) 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.
  - 24) D'Elis MM, Montecucco C, de Bernard M. VacA and HP-NAP, *Ying and Yang* of *Helicobacter pylori*-associated gastric inflammation. *Clin Chim Acta* 2007;381:32-8.
  - 25) Atherton JC, Sharp PM, Cover TL, Gonzalez-Valencia G, Peek RM Jr, Thompson SA, et al. Vacuolating cytotoxin (*vacA*) alleles of *Helicobacter pylori* comprise two geo-

- graphically widespread types, m1 and m2, and have evolved through limited recombination. *Curr Microbiol* 1999;39:211-8.
- 26) De Gusmão VR, Nogueira Mendes E, De Magalhães Queiroz DM, Aguiar Rocha G, Camargos Rocha AM, Ramadan Ashour AA, et al. *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from children with and without duodenal ulcer in Brazil. *J Clin Microbiol* 2000; 38:2853-7.
  - 27) Costa Lopes AI, Palha A, Monteiro L, Olcastro M, Pelerito A, Fernandes A. *Helicobacter pylori* genotypes in children from a population at high gastric cancer risk: no association with gastroduodenal histopathology. *Am J Gastroenterol* 2006;101:2113-22.
  - 28) Singh M, Prasad KN, Krishnani N, Saxena A, Yachha SK. *Helicobacter pylori* infection, histopathological gastritis and gastric epithelial cell apoptosis in children. *Acta Paediatr* 2006;95:732-7.
  - 29) Thoreson AC, Hamlet A, Celik J, Bystrom M, Nystrom S, Olbe L, et al. Differences in surface-exposed antigen expression between *Helicobacter pylori* strains isolated from duodenal ulcer patients and from asymptomatic subjects. *J Clin Microbiol* 2000;38:3436-41.
  - 30) Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Borén T, Rad R, Schepp W, et al. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:12778-83.
  - 31) Mizushima T, Sugiyama T, Komatsu Y, Ishizuka J, Kato M, Asaka M. Clinical relevance of the *babA2* genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2001;39:2463-5.
  - 32) Yamaoka Y, Arnquist A, Boren T, Gutierrez O, Kim JG, Graham DY. *Helicobacter pylori* blood group antigen binding adhesin, BabA, and clinical outcome: studies in four different countries. *Gut* 1999;45 Suppl 3:A25.
  - 33) Oleastro M, Gerhard M, Lopes AI, Ramalho P, Cabral J, Sousa Guerreiro A, et al. *Helicobacter pylori* virulence genotypes in Portuguese children and adults with gastroduodenal pathology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:85-91.
  - 34) Umehara S, Higashi H, Ohnishi N, Asaka M, Hatakeyama M. Effects of *Helicobacter pylori* CagA protein on the growth and survival of B lymphocytes, the origin of MALT lymphoma. *Oncogene* 2003;22:8337-42.
  - 35) Yokoyama K, Higashi H, Ishikawa S, Fujii Y, Kondo S, Kato H, et al. Functional antagonism between *Helicobacter pylori* CagA and vacuolating toxin VacA in control of the NFAT signaling pathway in gastric epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:9661-6.
  - 36) Gebert B, Fischer W, Weiss E, Hoffmann R, Haas R. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. *Science* 2003;301:1099-102.
  - 37) Sundrud MS, Torres VJ, Unutmaz D, Cover TL. Inhibition of primary human T cell proliferation by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin (VacA) is independent of VacA effects on IL-2 secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:7727-32.
  - 38) Torres VJ, VanCompernelle SE, Sundrud MS, Unutmaz D, Cover TL. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits activation-induced proliferation of human T and B lymphocyte subsets. *J Immunol* 2007;179:5433-40.
  - 39) Rad R, Gerhard M, Lang R, Schöniger M, Rösch T, Schepp W. The *Helicobacter pylori* blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *J Immunol* 2002;168:3033-41.
  - 40) Del Giudice G, Covacci A, Telford JL, Montecucco C, Rappuoli R. The design of vaccines against *Helicobacter pylori* and their development. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:523-63.