



위암과 미생물총

김유진

한림대학교 의과대학 강남성심병원 소화기내과

Gastric Cancer and Non-*Helicobacter pylori* Microbiota

Yu Jin Kim

Department of Gastroenterology, Kangnam Sacred Heart Hospital, Hallym University College of Medicine, Seoul, Korea

Received April 8, 2024
Revised April 15, 2024
Accepted April 15, 2024

Corresponding author:

Yu Jin Kim

E-mail: kimyj@hallym.or.kr

https://orcid.org/0000-0003-4581-8589

Gastric cancer is the 4th leading cause of death worldwide. The primary cause of gastric cancer is known to be *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). The advancement of molecular biology has enabled the identification of microbiomes that could not be confirmed through cultivation, and it has been revealed that the microbial communities vary among normal mucosa, atrophic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer. It has also been confirmed that the composition of the microbial community differs depending on the presence or absence of *H. pylori*. Whether changes in the microbiome are causative factors in the carcinogenesis process is not yet clear. Experiments using animal models and *in vitro* studies on the role of microbes other than *H. pylori* in the carcinogenic process are underway, but the data is still insufficient.

Key Words: Stomach neoplasms; Microbiota; *Helicobacter pylori*

INTRODUCTION

위암은 한국에서 2020년 기준 암 발생 순위 4위 (10.8%)이며 세계에서 발병률이 가장 높은 암이다. 위암의 주원인은 헬리코박터 파이로리(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)로 알려져 있다. 세계보건기구(world health organization, WHO)는 헬리코박터 파이로리를 1994년 1급 발암물질로 규정하였다. 최근 헬리코박터 파이로리 감염률 감소가 위암 발생의 감소가 동시에 일어나는 현상을 보였으나, 미국 등 일부 지역에서는 헬리코박터 파이로리 감염률 감소에도 불구하고 위암 발생률이 증가하였고[1,2], 제균 치료가 위암 발생을 완전히 막지 못하였다[3]. 자가면역위염, 분문부 위암 등은 헬리코박터 파이로리와 연관성이 낮으나, 비분문부 위암에서도 이를 완전히 설명하지 못하고 있어 헬리코박터 파이로리 외에 다른 원인을 찾고자 하는 노력을 촉진시켰다.

지난 20년 동안 배양 외에 DNA sequencing을 이용한 미생물 군집의 검출 방법의 도입과 2007년 시작된 Human Microbiome Project로 인간 마이크로바이옴과 암 발생에 관한 연구가 활발히 이루어져 왔다. 위는 위산, 담즙 역류 등의 영향으로 가장 세균이 존재하기 힘든 장기로 생각되어 왔으나 2006년 상부위장관 내시경 조직 생검으로 채취한 조직에서 DNA sequencing을 시행한 연구에서 128개의 phylotype이 발견되어[4] 생각보다 위 내 다양한 미생물이 존재한다는 것이 확인되었고, 이후 위 마이크로바이옴에 대한 많은 연구들이 발표되어 왔다. 여기에서 최근까지 발표된 위 마이크로바이옴의 발견, 연구 방법, 위암의 발암 기전에서의 역할에 대한 연구 결과를 정리해 보고자 한다.



MAIN SUBJECTS

헬리코박터 파이로리와 위암: 역학 증거

1991년 헬리코박터 파이로리 감염이 위암 발생의 오즈비를 증가시켰다는 3개의 역학연구 발표된 이래로[5-7] 최근까지 여러 역학 연구에서 헬리코박터 파이로리가 확실한 위암 원인임이 확인되었다[8,9]. 1994년 헬리코박터 파이로리는 세계보건기구(WHO)의 하위 기관인 국제암연구기구(International Agency for Research on Cancer, IARC)에 의해 1급 발암물질로 분류되었다[10]. 역학연구뿐 아니라 동물 모델과[11] *in vitro* 실험으로도 헬리코박터 파이로리가 위암의 원인임을 확인하였다.

그러나 헬리코박터 파이로리에 감염된 환자의 1-3%에서만 위암이 발생하고[12,13], 헬리코박터 파이로리는 비분문부 위암(non-cardiac gastric adenocarcinoma) 원인의 89%를 차지하지만[14] 비분문부 위암에서 헬리코박터 파이로리 감염률은 38.5-45.9%로 절반이 되지 않는다. 따라서, 위암 발생에 헬리코박터 파이로리 외에 다른 원인이 있을 것으로 추정할 수 있다[15].

헬리코박터 파이로리 이전 시대 위 미생물총 연구

헬리코박터 파이로리는 암 발생 위험과 연관성이 밝혀진 최초의 세균이다[16]. 그러나, 1980년대 헬리코박터 파이로리가 발견되기 이전에도 위암과 미생물의 연관성에 대한 연구는 100년 이상 진행되고 있었다. 19세기 후반 파스퇴르와 코흐의 병원균설(germ theory of disease)이 알려지면서 미생물에 대한 관심이 증가했다. 1879년 von den Velden은 무산증(achlorhydria)과 위암의 관련성을 제안하였고, 위염, 위산분비, 위암의 조기 발견에 대한 관심을 일으켰다[17]. 1895년 Boas와 Opller [18]는 위암이 lactic acid와 위 내 다량의 세균과 관련이 있다고 보고하였다.

1916년 Heinemann와 Ecker 등[19]은 Boas와 Opller가 발견한 균은 *Lactobacillus*였으며, *Lactobacillus*의 일부는 저산증 혹은 무산증(hypochlorhydria or achlorhydria) 상태에서 많이 증식할 수 있다는 것을 발견하였으며 위암의 발생과는 연관이 없다고 하였다. 19세기 후반에는 염산은 살균 역할을 하지만 특정 균들은 생존할 수 있으며, 펩신과 염산이 같이 있을 때보다 염산 단

독으로 있을 때 효과가 크다는 것을 발견했다. 즉, 위내 살균 효과는 염산의 존재에 의해 결정된다고 하였다[20].

1950년대에는 위암과 위염/위점막 위축의 관련성을 확인한 뒤 그의 원인을 규명하려는 연구가 이루어졌다. 가장 유력한 가설이 니트로사민 가설(nitrosamine hypothesis)이었으며, 음식의 질산염이 아질산염으로 환원되어 음식물의 아민(amine)이 발암물질인 N-nitroso 화합물로 변환된다는 것이다. 이 가설은 쥐를 이용한 동물 실험에서 입증되었고[21], 가공육이나 훈제 생선의 섭취가 암발생과 연관이 있다는 역학 연구도 보고된 바 있다[22,23]. 니트로사민 가설은 1975년 발표된 Correa 가설 설립에 영향을 주었다.

1980년대 Sjöstedt 등[24,25]은 인두, 식도, 위, 십이지장의 흡인물과 위암/위 정상점막의 조직에서 세균을 조사하였다. 위암 환자의 흡인물에서 위/십이지관양 환자에서 보다 더 많은 종류의 미생물이 확인되었다[25]. 위암 조직에서는 인두에서 확인되지 않았던 혐기성 균이 확인되었다.

1980년대 기도삽관 상태 중환자실 환자를 대상으로 antacid, H2 receptor antagonist, proton pump inhibitor가 상부위장관 미생물에 미치는 영향에 대한 연구가 이루어지기도 하였다[26-33].

위 미생물총 연구 방법

Gut microbiota 연구 시료는 분변16S rRNA sequencing에서 내시경 조직생검/수술 조직으로 바뀌고 있으며, 위액을 이용한 연구도 있으나[34], 많지 않다.

분자생물학의 발전으로 헬리코박터 파이로리 외 다른 미생물 발견이 폭발적으로 증가하였다. 1970년대 Sanger sequencing, 1980년대 polymerase chain reaction (PCR), 미생물 DNA sequencing이 가능해지면서 배양으로 얻을 수 없는 미생물을 확인할 수 있게 되었다.

시간적 온도 구배 겔 전기영동(temporal temperature gradient gel-electrophoresis, TTGE) 및 말단 제한 단편 길이 다형성(terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)과 같은 동일한 크기의 16S rDNA PCR 증폭 단편의 서열 특이적 분리에 의존하는 방법이 2000년에 도입되었다[35]. 그러나 TTGE, T-RFLP 등 fingerprint method를 이용한 분석은 종 수준에서

식별과 정량화에 한계가 있어 2000년대 중반에 high-throughput DNA sequencing technique (예: 454 pyrosequencing)으로 대체되었다. 2006년 Bik 등[4]은 23개의 위 내시경 생검 조직의 PCR, 16S rRNA sequencing을 이용한 연구를 발표하였다. 128개의 phyla로 구성된 군집이 위장에서 확인되었으며, 계통형의 10%는 이전에 확인되지 않은 것이었다. 헬리코박터 파이로리 양성 19개 생검 중 12개만 배양, 혈청학적 검사 혹은 요소 호흡 검사법 등 기존 검사법에서 헬리코박터 파이로리 양성이 확인되었다. High-throughput DNA sequencing technique으로 많은 시료의 세균 구성을 빠르게 분석할 수 있게 되었다. 차세대 시퀀싱 플랫폼에서 얻은 대량의 시퀀스 데이터 분석을 위해 생물정보학 도구(bioinformatics tool) 개발이 필요하게 되었고, 오픈 액세스로 공개되어 있다[36,37]. 2008년에는 인간 위 점막의 미생물총을 대규모 병렬 시퀀싱 기법을 사용하여 분석한 최초의 연구가 발표되었다[38]. 16S rRNA 유전자의 고변이 영역과 시료별 바코드 서열의 결합으로, 제한된 시료 처리만으로도 수백 개의 시료에 대한 깊이 있는 분석을 동시에 수행할 수 있게 되었다.

Sequencing 방법으로는 16S rRNA sequencing과 전체 게놈 sequencing (whole genome sequencing)이 있다. 전체 게놈 sequencing은 시료 내의 모든 미생물을 sequencing 할 수 있는 반면, 16S rRNA sequencing은 특정 박테리아를 대상으로 sequencing 한다. 전체 게놈 시퀀싱은 비용이 많이 들고 생물정보학 분석에 전문적인 지식이 필요한 단점이 있다. 반면, 16S rRNA sequencing은 비용이 덜 들지만, 박테리아와 고세균(Archaea)만 분석할 수 있는 한계가 있다.

미생물총 연구에 DNA sequencing 도입으로 위장관 세균 군락(bacterial flora) profile에 대해 많은 정보를 얻게 되었다. 그러나 항생제나 잠재적 독소에 대한 내성, 병원성(virulence)에 대한 정보는 알 수 없으며 숙주의 기능적 결과나 미세환경에 대해서도 알 수 없다는 제한점이 있다.

미생물 군집 불균형(dysbiosis)과 발암기전(carcinogenesis)

위 미생물군집에서 우세한 문(dominant phyla)은 Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroides, Fusobacteria로 알려져 있다[4,39]. 저산증

(hypochlorhydria) 환자에서는 *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Neisseria*, *E. coli*, *Campylobacter jejuni*가 확인되었다[40]. 분문부 위암 조직에서는 Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria가 확인되었다[41].

건강한 사람과 위암 환자의 위점막의 세균총을 비교 분석한 연구에서는 두 군이 유의하게 다름을 확인하였다[41,42]. 위암 조직의 미생물은 주로 phyla level의 Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria였다[41].

비위축성 위염 조직과 위암 조직의 미생물총 조성도 유의한 차이가 있었다. 비위축성 위염(non-atrophic gastritis), 장상피 화생, 위암으로 갈수록 세균 다양성과 헬리코박터 파이로리는 감소하였고 장내 공생 미생물(intestinal commensals)은 증가하였다[43,44].

위암 환자에서 미생물총의 변화는 지역, level of flora, 기타 다른 요인이 작용할 것으로 생각된다. 그러나 고려해야 할 또 다른 중요한 점은, 위암 발생에서 헬리코박터 파이로리가 단독으로 역할을 하는지, 아니면 미생물군과 함께 작용하는지 여부이다. 위암 조직에서 헬리코박터 파이로리의 풍부도(abundance)가 감소한 것은, 헬리코박터 파이로리 외 다른 세균이 암 발생의 시작보다는 진행에 영향을 미친다고 추정할 수 있지만, 이 가설을 증명하기 위해서는 추가적인 연구가 필요하다[45].

여러 연구에서 정상 위점막, 위축성 위염, 장상피화생, 위암을 포함한 암화 과정 단계에 따른 장내 미생물 다양성의 차이를 특정하고자 하였다[35,46-48].

한 연구에서는, 만성 위염 조직에 비해 위암 조직에서 DNA 1 microgram당 16S rRNA gene copy 수와 세균 양이 증가된 것이 확인되었다. 이는 저산증(hypochlorhydria)에 의한 세균 양의 증가가 위암 발생에 중요한 역할을 할 것이라는 가설을 지지한다고 할 수 있다[49].

이 연구는 작은 표본 크기에도 불구하고 위 미생물총의 구성을 조사하기 위해 메타게놈 서열 분석을 사용한 유일한 연구였으며, 생검을 통해 얻은 조직이 아닌 위 세척 시료를 분석에 활용한 연구였다[50].

위암 환자에서는 미생물총의 종다양성(richness)의 증가를 보여 준 연구들이 있었고[51,52], 한 환자에서도 종양 내/종양 주변 미생물총과 정상 점막의 미생물총이 다르다는 연구 결과가 있었다[53].

현재, 여러 연구에서 유사한 데이터 수집 방법, 제외 기

준, 분석을 위한 분자 방법 및 다양성에 대한 유사한 측정 방법(Shannon의 다양성 지수 또는 Chao1 풍부도 추정기를 통해)을 사용했음에도 위 미생물총의 다양성 변화와 건강한 위점막에서 위암으로의 진행과 상관관계가 있는가 확실한 결론은 없다[54]. 단, 미생물총의 다양성의 증가 혹은 감소가 위암 발생과 연관이 있는 것은 여러 연구에서 보여주었다[54]. 헬리코박터 파이로리의 소실과 위점막의 산 분비 장애는 다른 박테리아의 집락 형성을 촉진할 수 있다.

헬리코박터 양성/음성 위암에서 위 마이크로바이옴

High-throughput sequencing 기술의 도입으로 위 내 다양한 미생물 군집에 대한 정보를 얻게 되었다. 위 내 미생물 군집은 구강 미생물 군집과 약간 다르고 하부 위장관 미생물 군집과는 현저히 다르다. 현재 데이터는 주로 세균 microbiome에 국한되어 있고, 주로 Proteobacteria와 Firmicutes가 많다. 하부 위장관에서는 Proteobacteria와 Firmicutes의 양, 다양성(diversity), 풍부도가 위와 비교하여 더 높다[55].

헬리코박터 파이로리가 존재할 때는 헬리코박터 파이로리가 위의 생태적 틈새(gastric niche)를 지배한다. 헬리코박터 파이로리 음성 환자에서는 위 미생물총이 다양하다[43,56]. *H. pylori* 제균 후 위 미생물총의 변화는 여러 연구에서 밝혀진 바 있다[28,53]. 135명의 위암 환자를 대상으로 16S rRNA gene의 대규모 병렬 sequencing을 시행하여 위암 환자에서는 헬리코박터 파이로리의 풍부도가 유의하게 감소하였고 *Achromobacter*, *Lactobacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium* and *Rhodococcus*와 같은 intestinal commensal의 풍부도가 유의하게 증가하는 것을 보여 주었다[44].

Coker 등[47]은 위암과 장상피화생 점막에서 미생물 불균형(microbial dysbiosis)이 현저하다고 하였다. 표재성 위염과 비교하여 위암 환자의 위에서 21종의 세균이 증가하였고 10종의 세균이 감소한 것을 관찰하였다. 그들은 알고리즘 도구를 사용하여 위암 발생의 각 단계에서 박테리아 상호작용과 메타게노믹 기능의 차이를 추적했으며, 구강 박테리아가 암 조직에서 풍부해진 것으로 보고하였다. 이는 이전의 배양 및 sequencing 기반 연구와 상반되는 결과로, 이전 연구들에서는 장내 공생균 박테리아 속(genus)이 풍부하였다.

위암과 위 미생물총의 상관성을 동물 모델로 확인하였다. Transgenic insulin-gastrin mouse (INS-GAS mouse)를 이용한 연구에서 헬리코박터 파이로리만 군집한 INS-GAS mouse와 헬리코박터 파이로리와 위 미생물총이 같이 감염된 INS-GAS mouse에서 위암 발생 시기를 비교하였다. 위암 발생은 헬리코박터 파이로리 단독 감염 mouse에서 더 늦게 나타났다[57]. 이 연구에서는 위 미생물총은 헬리코박터 파이로리의 효과를 증대하는 역할이 있으나, 직접적인 역할은 아닌 것으로 볼 수 있다.

염증 반응에 의한 발암기전

위암 발생은 염증과 관련이 있으며 점막 면역 반응이 위암 발생에 중요한 역할을 한다[58].

위암은 염증 관련 암으로서 지속적인 헬리코박터 파이로리 관련 급성/만성 염증과 헬리코박터 파이로리에 의한 직접적인 유전자 손상은 감염된 환자의 염증 반응 및 음식과 같은 환경 요인과 상호 작용에 영향을 받는다[59,60]. 헬리코박터 파이로리의 병원성은 헬리코박터 파이로리의 염증 생성 능력과 관련이 있다[60]. 또한 헬리코박터 파이로리는 후생학적 조절 혹은 dsDNA 손상과 같은 직접적인 방법을 통해 유전적 불안정성을 유발한다[61,62].

약 250명의 위암 환자와 대조군을 대상으로 한 코호트 연구에서 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)와 *Prevotella copri*의 풍부도가 위암 발생과 유의한 상관관계가 있었다[63]. 이전 연구에서도 *P. acnes*의 높은 풍부도와 림프구성 위염(lymphocytic gastritis)의 발생과 관계가 있으며, *P. acnes*-관련 림프구성 위염이 Interleukin-15와 같은 염증성 사이토카인을 분비해서 위암을 일으킨다고 알려진 바 있다[64].

최근 연구에서는 위 미생물총과 면역 세포 사이의 상관 관계를 발견했다. BDCA2+ 형질세포양 수지상 세포(plasmacytoid dendritic cell, pDC)의 수는 *Stenotrophomonas*와 양의 상관 관계가 있었고 Foxp3+ 조절 T 세포의 수는 위암 미세 환경에서 *Selenomonas*와 양의 상관 관계가 있었다. 연구 저자들은 면역 세포가 면역 억제 미세 환경의 형성에 참여하는 변화된 미생물군에 의해 조절될 수 있다고 하였다[65]. 이 연구에서 메커니즘을 확인하기 위한 실험을 수행하지는 않았으나, 이전 연구에서

형질세포양 수지상 세포(pDC)와 조절 T 세포(Treg)는 효과기 세포의 기능을 억제하여 위암 및 기타 암의 종양 세포가 면역 감시에서 탈출하는 것을 촉진하는 것으로 밝혀진 바 있다[66,67].

CONCLUSION

분자생물학의 발전으로 배양으로 확인되지 않는 미생물총을 확인하게 되었으며, 정상 점막, 위축성위염, 장상피화생, 위암에서 미생물총 군집이 다르다는 것이 알려져 있다. 또한 헬리코박터 파이로리 유무에 따라 미생물총 군집의 구성이 다른 것도 확인되었다. 미생물총의 변화가 암화과정에서 원인 인자인지 아직 확실하지 않다. 헬리코박터 파이로리 외 다른 미생물의 위암화 과정에서의 역할에 대한 동물모델 실험, *in vitro* 연구가 이루어지고 있으나 아직 데이터가 충분하지 않다.

메타볼로믹스(metabolomics)와 트랜스크립톰 분석(transcriptomics)을 활용하여 미생물총 연구는 단순히 미생물의 종류와 풍부도를 넘어 미생물총의 기능과 호스트와의 상호작용을 밝힐 수 있는 연구가 진행 중이다. 위 미생물총의 기능 분석은 위암의 예방, 진단, 치료에 있어서 새로운 전략을 세우는 방법 중 하나가 될 것으로 기대된다.

FUNDING

None.

CONFLICTS OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

- Anderson WF, Camargo MC, Fraumeni JF Jr, Correa P, Rosenberg PS, Rabkin CS. Age-specific trends in incidence of noncardia gastric cancer in US adults. *JAMA* 2010;303:1723-1728. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.496>
- Zhou F, Shi J, Fang C, Zou X, Huang Q. Gastric carcinoma in young (younger than 40 years) Chinese patients: clinicopathology, family history, and postresection survival. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e2873. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002873>
- Wong BC, Lam SK, Wong WM, et al. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:187-194. <https://doi.org/10.1001/jama.291.2.187>
- Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:732-737. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506655103>
- Forman D, Newell DG, Fullerton F, et al. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidence from a prospective investigation. *BMJ* 1991;302:1302-1305. <https://doi.org/10.1136/bmj.302.6788.1302>
- Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 1991;325:1132-1136. <https://doi.org/10.1056/NEJM199110173251604>
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991;325:1127-1131. <https://doi.org/10.1056/NEJM199110173251603>
- Huang JQ, Hunt RH. The evolving epidemiology of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Can J Gastroenterol* 2003;17 Suppl B:18B-20B. <https://doi.org/10.1155/2003/692808>
- Kawai S, Wang C, Lin Y, Sasakabe T, Okuda M, Kikuchi S. Lifetime incidence risk for gastric cancer in the *Helicobacter pylori*-infected and uninfected population in Japan: a Monte Carlo simulation study. *Int J Cancer* 2022; 150:18-27. <https://doi.org/10.1002/ijc.33773>
- Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994;61:1-241.
- Poh AR, O'Donoghue RJ, Ernst M, Putoczki TL. Mouse models for gastric cancer: matching models to biological questions. *J Gastroenterol Hepatol* 2016;31:1257-1272. <https://doi.org/10.1111/jgh.13297>

12. Yakirevich E, Resnick MB. Pathology of gastric cancer and its precursor lesions. *Gastroenterol Clin North Am* 2013;42:261-284. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2013.01.004>
13. Hsieh YY, Tung SY, Pan HY, et al. Increased abundance of *Clostridium* and *Fusobacterium* in gastric microbiota of patients with gastric cancer in Taiwan. *Sci Rep* 2018;8:158. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18596-0>
14. Plummer M, Franceschi S, Vignat J, Forman D, de Martel C. Global burden of gastric cancer attributable to *Helicobacter pylori*. *Int J Cancer* 2015;136:487-490. <https://doi.org/10.1002/ijc.28999>
15. Nguyen TH, Mallepally N, Hammad T, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* positive non-cardia gastric adenocarcinoma is low and decreasing in a US population. *Dig Dis Sci* 2020;65:2403-2411. <https://doi.org/10.1007/s10620-019-05955-2>
16. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Ingested nitrate and nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 2010;94:v-vii, 1-412.
17. von den Velden R. Ueber vorkommen und mandgel der freien salzsaure in magensaft bei gastrektasie. *Dtsch Arch Klin Med* 1879;23:369-399.
18. Oppler B. Zur Kenntniss des Mageninhalt beim Carcinoma ventriculi. *Dtsch Med Wochenschr* 1895;21:73-75. German. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1199648>
19. Heinemann PG, Ecker EE. A study of the Boas-Oppler bacillus. *J Bacteriol* 1916;1:435-444. <https://doi.org/10.1128/jb.1.4.435-444.1916>
20. Giannella RA, Broitman SA, Zamcheck N. Gastric acid barrier to ingested microorganisms in man: studies *in vivo* and *in vitro*. *Gut* 1972;13:251-256. <https://doi.org/10.1136/gut.13.4.251>
21. Relevance of N-nitroso compounds to human cancer: exposures and mechanisms. Proceedings of the IXth International Symposium on N-Nitroso Compounds. Baden, Austria, 1-5 September 1986. *IARC Sci Publ* 1987;(84):1-663.
22. Jakszyn P, Bingham S, Pera G, et al. Endogenous versus exogenous exposure to N-nitroso compounds and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-EURGAST) study. *Carcinogenesis* 2006;27:1497-1501. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgl019>
23. Xu L, Qu YH, Chu XD, et al. Urinary levels of N-nitroso compounds in relation to risk of gastric cancer: findings from the Shanghai cohort study. *PLoS One* 2015;10:e0117326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117326>
24. Sjöstedt S, Kager L, Heimdahl A, Nord CE. Microbial colonization of tumors in relation to the upper gastrointestinal tract in patients with gastric carcinoma. *Ann Surg* 1988;207:341-346. <https://doi.org/10.1097/00000658-198803000-00020>
25. Sjöstedt S, Heimdahl A, Kager L, Nord CE. Microbial colonization of the oropharynx, esophagus and stomach in patients with gastric diseases. *Eur J Clin Microbiol* 1985;4:49-51. <https://doi.org/10.1007/BF02148660>
26. Tsuda A, Suda W, Morita H, et al. Influence of proton-pump inhibitors on the luminal microbiota in the gastrointestinal tract. *Clin Transl Gastroenterol* 2015;6:e89. <https://doi.org/10.1038/ctg.2015.20>
27. Minalyan A, Gabrielyan L, Scott D, Jacobs J, Pisegna JR. The gastric and intestinal microbiome: role of proton pump inhibitors. *Curr Gastroenterol Rep* 2017;19:42. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0577-6>
28. Li TH, Qin Y, Sham PC, Lau KS, Chu KM, Leung WK. Alterations in gastric microbiota after *H. pylori* eradication and in different histological stages of gastric carcinogenesis. *Sci Rep* 2017;7:44935. <https://doi.org/10.1038/srep44935>
29. Massarrat S, Saniee P, Siavoshi F, Mokhtari R, Mansour-Ghanaei F, Khalili-Samani S. The effect of *Helicobacter pylori* infection, aging, and consumption of proton pump inhibitor on fungal colonization in the stomach of dyspeptic patients. *Front Microbiol* 2016;7:801. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00801>
30. Azab M, Doo L, Doo DH, et al. Comparison of the hospital-acquired *Clostridium difficile* infection risk of using proton pump inhibitors versus histamine-2 receptor an-

- tagonists for prophylaxis and treatment of stress ulcers: a systematic review and meta-analysis. *Gut Liver* 2017;11:781-788. <https://doi.org/10.5009/gnl16568>
31. Rosen R, Hu L, Amirault J, Khatwa U, Ward DV, Onderdonk A. 16S community profiling identifies proton pump inhibitor related differences in gastric, lung, and oropharyngeal microflora. *J Pediatr* 2015;166:917-923. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.12.067>
 32. Wang K, Lin HJ, Perng CL, et al. The effect of H2-receptor antagonist and proton pump inhibitor on microbial proliferation in the stomach. *Hepatogastroenterology* 2004;51:1540-1543.
 33. Peterson WL, Mackowiak PA, Barnett CC, Marling-Cason M, Haley ML. The human gastric bactericidal barrier: mechanisms of action, relative antibacterial activity, and dietary influences. *J Infect Dis* 1989;159:979-983. <https://doi.org/10.1093/infdis/159.5.979>
 34. Choi HI, Choi JP, Seo J, et al. *Helicobacter pylori*-derived extracellular vesicles increased in the gastric juices of gastric adenocarcinoma patients and induced inflammation mainly via specific targeting of gastric epithelial cells. *Exp Mol Med* 2017;49:e330. <https://doi.org/10.1038/emm.2017.47>
 35. Monstein HJ, Tiveljung A, Kraft CH, Borch K, Jonasson J. Profiling of bacterial flora in gastric biopsies from patients with *Helicobacter pylori*-associated gastritis and histologically normal control individuals by temperature gradient gel electrophoresis and 16S rDNA sequence analysis. *J Med Microbiol* 2000;49:817-822. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-49-9-817>
 36. DeLong EF. Microbial metagenomics, metatranscriptomics, and metaproteomics. Amsterdam: Academic Press, 2013.
 37. Zhu Z, Ren J, Michail S, Sun F. MicroPro: using metagenomic unmapped reads to provide insights into human microbiota and disease associations. *Genome Biol* 2019;20:154. Erratum in: *Genome Biol* 2019;20:214. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1773-5>
 38. Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS One* 2008;3:e2836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002836>
 39. Sohn SH, Kim N, Jo HJ, et al. Analysis of gastric body microbiota by pyrosequencing: possible role of bacteria other than *Helicobacter pylori* in the gastric carcinogenesis. *J Cancer Prev* 2017;22:115-125. Erratum in: *J Cancer Prev* 2017;22:267. <https://doi.org/10.15430/JCP.2017.22.2.115>
 40. Williams C, McColl KE. Review article: proton pump inhibitors and bacterial overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:3-10. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.02707.x>
 41. Shao D, Vogtmann E, Liu A, et al. Microbial characterization of esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardia adenocarcinoma from a high-risk region of China. *Cancer* 2019;125:3993-4002. <https://doi.org/10.1002/ncr.32403>
 42. Meng C, Bai C, Brown TD, Hood LE, Tian Q. Human gut microbiota and gastrointestinal cancer. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2018;16:33-49. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2017.06.002>
 43. Aviles-Jimenez F, Vazquez-Jimenez F, Medrano-Guzman R, Mantilla A, Torres J. Stomach microbiota composition varies between patients with non-atrophic gastritis and patients with intestinal type of gastric cancer. *Sci Rep* 2014;4:4202. <https://doi.org/10.1038/srep04202>
 44. Ferreira RM, Pereira-Marques J, Pinto-Ribeiro I, et al. Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. *Gut* 2018;67:226-236. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314205>
 45. Li Q, Yu H. The role of non-*H. pylori* bacteria in the development of gastric cancer. *Am J Cancer Res* 2020;10:2271-2281.
 46. Dicksved J, Lindberg M, Rosenquist M, Enroth H, Jansson JK, Engstrand L. Molecular characterization of the stomach microbiota in patients with gastric cancer and in controls. *J Med Microbiol* 2009;58:509-516. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.007302-0>
 47. Coker OO, Dai Z, Nie Y, et al. Mucosal microbiome dysbiosis in gastric carcinogenesis. *Gut* 2018;67:1024-1032.

- <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2017-314281>
48. Park CH, Lee AR, Lee YR, Eun CS, Lee SK, Han DS. Evaluation of gastric microbiome and metagenomic function in patients with intestinal metaplasia using 16S rRNA gene sequencing. *Helicobacter* 2019;24:e12547. <https://doi.org/10.1111/hel.12547>
 49. Wang L, Zhou J, Xin Y, et al. Bacterial overgrowth and diversification of microbiota in gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2016;28:261-266. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000000542>
 50. Hu YL, Pang W, Huang Y, Zhang Y, Zhang CJ. The gastric microbiome is perturbed in advanced gastric adenocarcinoma identified through shotgun metagenomics. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8:433. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00433>
 51. Eun CS, Kim BK, Han DS, et al. Differences in gastric mucosal microbiota profiling in patients with chronic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer using pyrosequencing methods. *Helicobacter* 2014;19:407-416. <https://doi.org/10.1111/hel.12145>
 52. Castaño-Rodríguez N, Goh KL, Fock KM, Mitchell HM, Kaakoush NO. Dysbiosis of the microbiome in gastric carcinogenesis. *Sci Rep* 2017;7:15957. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16289-2>
 53. Liu X, Shao L, Liu X, et al. Alterations of gastric mucosal microbiota across different stomach microhabitats in a cohort of 276 patients with gastric cancer. *EBioMedicine* 2019;40:336-348. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.12.034>
 54. Stewart OA, Wu F, Chen Y. The role of gastric microbiota in gastric cancer. *Gut Microbes* 2020;11:1220-1230. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1762520>
 55. Vuik F, Dicksved J, Lam SY, et al. Composition of the mucosa-associated microbiota along the entire gastrointestinal tract of human individuals. *United European Gastroenterol J* 2019;7:897-907. <https://doi.org/10.1177/2050640619852255>
 56. Maldonado-Contreras A, Goldfarb KC, Godoy-Vitorino F, et al. Structure of the human gastric bacterial community in relation to *Helicobacter pylori* status. *ISME J* 2011;5:574-579. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.149>
 57. Lofgren JL, Whary MT, Ge Z, et al. Lack of commensal flora in *Helicobacter pylori*-infected INS-GAS mice reduces gastritis and delays intraepithelial neoplasia. *Gastroenterology* 2011;140:210-220. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.09.048>
 58. Allison CC, Ferrero RL. Role of virulence factors and host cell signaling in the recognition of *Helicobacter pylori* and the generation of immune responses. *Future Microbiol* 2010;5:1233-1255. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.84>
 59. Graham DY. *Helicobacter pylori* update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits. *Gastroenterology* 2015;148:719-731.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.01.040>
 60. Miftahussurur M, Yamaoka Y, Graham DY. *Helicobacter pylori* as an oncogenic pathogen, revisited. *Expert Rev Mol Med* 2017;19:e4. <https://doi.org/10.1017/erm.2017.4>
 61. Hanada K, Graham DY. *Helicobacter pylori* and the molecular pathogenesis of intestinal-type gastric carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2014;14:947-954. <https://doi.org/10.1586/14737140.2014.911092>
 62. Kidane D. Molecular mechanisms of *H. pylori*-induced DNA double-strand breaks. *Int J Mol Sci* 2018;19:2891. <https://doi.org/10.3390/ijms19102891>
 63. Gunathilake MN, Lee J, Choi IJ, et al. Association between the relative abundance of gastric microbiota and the risk of gastric cancer: a case-control study. *Sci Rep* 2019;9:13589. Erratum in: *Sci Rep* 2021;11:21669. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50054-x>
 64. Montalban-Arques A, Wurm P, Trajanoski S, et al. *Propionibacterium acnes* overabundance and natural killer group 2 member D system activation in corpus-dominant lymphocytic gastritis. *J Pathol* 2016;240:425-436. <https://doi.org/10.1002/path.4782>
 65. Ling Z, Shao L, Liu X, et al. Regulatory T cells and plasmacytoid dendritic cells within the tumor microenvironment in gastric cancer are correlated with gastric microbiota dysbiosis: a preliminary study. *Front Immunol* 2019;10:533. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00533>
 66. Huang XM, Liu XS, Lin XK, et al. Role of plasmacytoid

dendritic cells and inducible costimulator-positive regulatory T cells in the immunosuppression microenvironment of gastric cancer. *Cancer Sci* 2014;105:150-158. <https://doi.org/10.1111/cas.12327>

67. Ahmetlić F, Riedel T, Hömberg N, et al. Regulatory T

cells in an endogenous mouse lymphoma recognize specific antigen peptides and contribute to immune escape. *Cancer Immunol Res* 2019;7:600-608. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0419>