

CagA 검출을 위한 종합효소 연쇄반응법과 혈청학적 방법들의 비교

Comparison of PCR and Serological Tests for the Assessment of CagA Status in Dyspeptic Patients

Chul Sik Kim, M.D., Hyo Jin Park, M.D., Sang Won Ji, M.D., Dok Yong Lee, M.D. and Sang In Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background/Aims: Infection with CagA-positive *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) may be diagnosed by detecting *cagA* gene by PCR or serum antibodies against CagA by western blotting or ELISA. The aim of this study was to evaluate whether results of PCR and serologic tests were in agreement in CagA status assessment. **Methods:** Sera and specimens of the gastric antral mucosa were obtained from 37 patients with functional dyspepsia. The diagnosis of *H. pylori* infection was made by histologic examination and rapid urease test. CagA status was assessed by PCR from antral biopsy specimens and by western blotting and ELISA of serum. The degree of gastric inflammation was evaluated by use of Sydney system. **Results:** Twenty-three patients (69.7%) were found to be *H. pylori* positive. The percent agreements of each tests for the assessment of CagA status were 65.2% (PCR vs western blotting), 60.9% (PCR vs ELISA), and 78.3% (western blotting vs ELISA) in the *H. pylori* infected patients. The results of all three tests agreed in only 12 patients (52.2%). CagA status assessed by any tests had no relationship with histologic parameters. **Conclusions:** Our results indicate that there is a considerable discrepancy between the results of three tests for the assessment of CagA status. Further studies are needed to find out the more exact methods for the detection of CagA. (Korean J *Helicobacter Res Prac* 2003;3:13-18)

Key Words: CagA, PCR, western blotting, ELISA

연세대학교 의과대학 내과학교실

김철식 · 박효진 · 지상원 · 이덕용
이상인

연락처 : 박효진

서울특별시 강남구 도곡동 146-92

우편번호: 135-270

영동세브란스병원 내과

Tel: 02-3497-3310

Fax: 02-3463-3882

E-mail: hjpark21@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

Helicobacter pylori (*H. pylori*)는 1983년 위전정부 점막 조직 생검에서 나선형 간균으로 분리 동정되어 만성 활동성 위염, 소화성 궤양의 중요한 유발인자로 추정 보고¹된 이후 *H. pylori* 감염과 만성 위염,² 소화성 궤양,³ 그리고 위암⁴과의 관련성 등에 관해 많은 주목을 받고 있다. 하지만 상기의 질병은 *H. pylori* 감염환자의 일부에서만 발생하기 때문에 환경인자,⁵ 숙주의 유전적 감수성,⁶ *H. pylori* 개개의 특성^{7,8} 등이 이러한 임상결과와 다양성을 유발하는 것으로 받아들여지고 있다.

*H. pylori*의 대표적인 병원성 인자의 하나로 알려진 CagA

(cytotoxin associated gene A, 110~128 kDa protein)는 일부 균주에서만 발현되며, *cagA* 양성인 경우 위 조직에서 보다 심한 염증반응을 유발한다는 보고가 있다.^{9,10} 또한 최근의 연구에서 CagA가 4형 분비(type IV secretion)에 의해 위 상피세포내로 이동하여 tyrosine phosphorylation되며,^{11,12} tyrosine phosphorylation된 CagA가 숙주에서 생성되는 Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase (HSP-2)와 복합체를 형성하고,¹³ SHP-2는 mitogenic signal transduction, 세포의 이동(migration) 등을 유도하는 단백질로 알려진 바, CagA에 의한 SHP-2의 활성화의 변화는 위 상피세포의 증식과 세포의 변형(transformation)을 유도할 것이라는 가설이 제기되었다. 따라서 *cagA*의 존재 유무에 따라서 임상경과는 달라질 것으로 예상할 수 있으며, 실제로 서구에서 시행된 다수

의 연구에서 *cagA* 양성 *H. pylori*는 보다 심한 위염을 일으킬 뿐만 아니라, 소화성 궤양과 위암의 발생에도 관여하여 이들 질병에서는 *cagA* 양성률이 의미있게 높다고 알려져 있다.¹⁴⁻¹⁷ 하지만 우리나라를 비롯한 동양의 여러 나라에서는 무증상 감염자에서도 *cagA* 양성률이 높아 소화성 궤양이나 위암의 경우에 *cagA* 양성률이 유의하게 높지 않은 것으로 보고되고 있다.¹⁸⁻²⁵

CagA를 검출하는 검사하는 방법에는 CagA가 고분자량의 단백질로 높은 면역성을 가진다는 점을 이용한 혈청학적인 방법¹⁴과 중합효소 연쇄반응법(PCR) 또는 역전사 중합효소 연쇄반응법(RT-PCR)과 같은 분자생물학적인 방법으로 직접 *cagA*를 검출하는 방법^{9,26}이 있다. 혈청검사는 검체를 얻기가 간편하다는 장점이 있다. 또한 *cagA* 양성 균주와 음성 균주가 개인에게 동시에 감염될 수 있다고 알려져 있는데,^{27,28} 이와 같은 경우에도 검출이 가능하다. 반면에 교차반응에 의한 위양성이 나타날 수 있고, 과거의 감염과 현재의 감염을 구별할 수 없다는 단점이 있다. PCR 검사는 *cagA*를 검출하는 데 있어서 가장 널리 사용되는 방법의 하나로써, 직접 유전자를 검출한다는 점에서 민감도가 높다는 장점이 있으나,²⁶ 오염에 의한 위양성²⁹과 *cagA* 양성 균주와 음성 균주의 중복감염 시의 위음성¹⁴이 단점으로 지적되고 있다.

CagA와 관련된 국내의 대부분의 연구에서는 PCR 방법을 통해서 이루어지고 있으며,^{22-24,29} 일부에서는 혈청학적 방법이 이용되었다.^{21,30} 대부분의 연구결과는 검사방법에 관계없이 CagA와 위염의 정도나 소화성 궤양 혹은 위암과 같은 특정 상부위장관 질환의 발생과는 연관성이 없는 것으로 보고되고 있으나,^{21-25,29,30} 같은 종류의 상부위장관질환을 가진 환자들, 예를 들면 위암을 가진 환자를 대상으로 한 연구들을 비교해 보면 CagA의 양성률은 50~100%로 연구자에 따라 그 결과에 많은 차이를 보여 혼란을 주고 있다.²³⁻²⁵ 이에 저자들은 기능성 소화불량증 환자를 대상으로 CagA 유무를 평가함에 있어서 PCR, western blotting, 그리고 ELISA 방법간의 일치의 정도를 알아보고, 그 진단적 가치를 비교해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

소화불량, 복통 및 구토 등의 상부위장관 증상에 의해 진단 목적으로 상부소화관 내시경검사를 시행받은 환자 중 기능성 소화불량증으로 진단을 받은 37예를 대상으로 하였다. 과거에 위수술을 시행받은 환자, 최근 1개월 이내에 H₂ 수용체 차단제, 항생제 및 bismuth 약제를 복용한 환자는 대

상에서 제외시켰다. 대상 환자는 남성이 10예, 여성이 27예였고, 평균연령은 45세(22~69세)였다.

2. 방 법

1) **병리조직검사:** 내시경 검사 시 유문륜에서 4 cm 이내의 전정부에서 2점의 조직을 생검하였다. 생검조직을 10% 중성 포르말린에 고정한 후 Hematoxylin-Eosin (H-E) 염색을 시행하였고, H-E 염색 음성인 경우 Warthin-Starry 은염색을 추가하였으며, 두 가지 모두 음성인 경우 조직검사 음성으로 판정하였다.

위염은 Sydney system³¹에 따라 염증(inflammation), 활성화도(activity), 그리고 위축(atrophy)의 정도에 따라 각 항목별로 0에서 3까지 4등급으로 나누었다. 염증은 점막 고유관 내에 림프구와 형질세포의 침윤 정도에 따라, 활성화도는 점막 고유층, 위소와, 그리고 표면상피의 호중구 침윤의 밀도에 따라, 그리고 위축은 위선의 소실에 따라 등급을 나누었다.

2) **Rapid urease 검사:** *H. pylori*의 urease 검출시약인 Western Australia의 Delta West사의 CLO[®] 검사키트를 이용하였다. 검사 전 30분간 30~40°C로 유지한 후 전정부에서 얻은 생검 조직을 즉시 넣어 밀봉하였다. 이를 3시간 동안 30°C에 보관한 후 실온에서 관찰하여 24시간 이내 시약이 원래의 노란색에서 자홍색으로 변한 경우를 양성으로 판정하였다.

3) **PCR 검사:** 내시경 검사 조직으로 위 유문부에서 얻어 바로 -70°C에서 냉동 보관하였던 조직 검체는 Chelex mediated boiling method를 이용하여 DNA를 추출하였다. *cagA* 검출을 위해 사용한 시발체(primer)의 염기서열은 5'-GATAACAGGCAAGCTTTTGGAGG-3', 5'-CTGCAAAAGATTGTTTGCAGAGA-3'이었으며, *cagA*의 1228번에서 1576번의 349 bp를 증폭시키도록 하였다 (Bio synthesis, USA). 10 mM의 dATP, dGTP, dCTP, dUTP와 시발체 및 750 mM Tis-HCl pH 9.0, 0.1% Tween 20의 PCR 완충액에 증폭시킬 2.5µl DNA를 첨가한 뒤 반응액의 부피를 50µl로 조정하고 Thermal cycler (capillary FTC 3000, Daehan Medical Systems Co. Ltd. Korea) 내에서 PCR을 진행시켰다. 반응이 끝난 후 PCR product는 목적 DNA 크기인 *cagA*의 349 bp specific band를 UV transilluminator에서 확인하였다.

4) **혈청학적 검사:** 모든 환자에서 내시경 검사 당일 채혈하여 혈청을 분리한 후 -70°C에서 냉동보관을 하였고, 혈청 내에 존재하는 CagA에 대한 항체를 검출하기 위해 western blotting과 ELISA 방법을 이용하였다. Western blotting (Helicoblot 2.0 kit, Genelabs Diagnostics, Singapore) 방법은 kit 설명서에 의거하여 시행하였고, 매회 마다 양성 및 음성 대조균을 kit의 견본을 이용하여 시행하였다. 116 kDa의 항원띠

(antigen band)가 양성인 경우 CagA 양성으로 판정하였다. 또한 CagA의 recombinant fragment (50 kDa)를 이용한 방사선 면역 측정법으로 CagA IgG 항체에 대한 ELISA 검사 (GAP™; Bio Rad, Millian, Italy)를 시행하여 비반응성 혈청의 평균치의 2배수 표준편차를 상회할 경우 ELISA 양성으로 판정하였다.

5) 통계 방법: 통계적인 분석은 통계처리 프로그램인 SPSS 10.0 for Window를 이용하여 Student t-test를 시행하였으며, P값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. H. pylori 감염률 및 CagA 양성률

H. pylori 감염여부는 내시경하 생검조직 및 CLO 검사에 의해 판정하였다. 조직검사에서 H. pylori가 검출된 경우에는 CLO® 검사 결과에 관계없이 감염 양성, 조직검사와 CLO® 검사가 모두 음성인 경우에는 감염 음성으로 판정하

였다. 조직검사는 음성이고 CLO® 검사는 양성인 4예는 감염 미정으로 해석하여 대상에서 제외하였다.

그 결과 연구 대상 33예 중에서 23예(69.7%)에서 H. pylori 양성으로 확인되었다. H. pylori 양성인 23예 중에서 CagA 양성률은 PCR 방법에 의하면 16예(69.6%), western blotting 방법에 의하면 18예(78.3%), 그리고 ELISA 방법에 의하면 19예(82.6%)로 나타났다. 한편 H. pylori 음성인 10예 중에서 PCR, western blotting, 그리고 ELISA 방법에 의해 CagA 양성으로 나타나 위양성으로 확인된 경우가 각각 4예, 5예, 그리고 2예가 있었다(Table 1).

2. CagA 검출을 위한 검사방법 간의 결과 비교

H. pylori 양성인 23예를 대상으로 PCR, western blotting, 그리고 ELISA 방법에 의한 CagA 상태를 비교하였다. PCR과 western blotting의 일치율은 65.2%, PCR과 ELISA의 일치율은 60.9%, 그리고 western blotting과 ELISA의 일치율은 78.3%로 전반적으로 높지 않은 일치율을 보였다(Table 2). 3가지 검사방법의 결과가 모두 일치한 경우는 23예 중 12예

Table 1. Positive Rates of H. pylori and CagA

		H. pylori		
		+	-	Total
cagA by PCR	+	16	4	20
	-	7	6	13
CagA by Western	+	18	5	23
	-	5	5	10
CagA by ELISA	+	19	2	21
	-	4	8	12
Total		23	10	33

Table 3. Histologic Features according to H. pylori and CagA Status

		Inflammation	Activity	Atrophy
H. pylori	+	1.7±0.5*	1.9±1.0*	1.2±0.7*
	-	1.1±0.3	0.4±1.0	0.1±0.3
PCR	+	1.7±0.5	1.9±1.0	1.4±0.7
	-	1.7±0.5	1.9±1.1	0.9±0.3
Western [†]	+	1.6±0.5	1.7±0.8	1.1±0.7
	-	2.0±0.0	2.1±1.3	1.8±0.5
ELISA	+	1.6±0.5	1.7±1.0	1.2±0.8
	-	2.0±0.0	2.2±0.5	1.2±0.5

*P<0.05 by student t-test, [†] The histologic features were compared in H. pylori infected patients.

Table 2. Consistency of Various Diagnostic Tools for CagA Detection in H. pylori Infected Patients

a) PCR vs. Western				b) PCR vs. ELISA				c) Western vs. ELISA			
		PCR				PCR				Western	
		+	-			+	-			+	-
Western	+	13	5	ELISA	+	13	6	ELISA	+	16	3
	-	3	2		-	3	1		-	2	2
% agreement = 65.2%				% agreement = 60.9%				% agreement = 78.3%			

(52.2%)에 불과하였다.

3. *H. pylori* 감염 및 CagA 상태에 따른 조직학적 소견

H. pylori 양성인 23예와 음성인 10예에서 위전정부의 위염의 정도를 Sydney system에 따라 비교한 결과 염증, 활성화, 그리고 위축의 정도 모두에서 *H. pylori* 양성인 예에서 유의하게 높은 것으로 나타났다(inflammation, activity, and atrophy; $P < 0.05$ respectively). 하지만 *H. pylori* 양성인 23예에서 PCR, western blotting, 그리고 ELISA 방법에 의해 확인된 CagA 상태에 따른 위염의 정도는 3가지 방법 모두에서 차이를 보이지 않았다(Table 3).

고 찰

국내의 대다수의 연구에서는 CagA와 소화성 궤양이나 위암과 같은 상부위장관질환의 발생과 연관성이 없다는 결과를 보고하고 있으나, 같은 종류의 상부위장관 질환을 가진 환자를 대상으로 한 연구들을 비교해 보면 연구자마다 CagA의 양성률을 다양하게 보고하고 있음을 알 수 있다.^{21-25,29,30} 따라서 CagA와 여러 상부위장관 질환의 관련성 여부를 논하기 이전에 CagA를 검출하기 위한 검사방법들의 정확성 여부를 평가하고, 검사방법에 따라 결과가 달라질 수 있는지 먼저 검토하는 것이 필요할 것으로 판단되어 본 연구를 진행하였다.

본 연구를 통해서 *H. pylori*에 감염된 기능성 소화불량증 환자에서 CagA 검출 여부는 검사방법에 따라 많은 차이를 보일 수 있음을 알 수 있었다. 본 연구결과에 따르면 *H. pylori* 양성인 환자에서 PCR과 western blotting의 일치율은 65.2%, PCR과 ELISA의 일치율은 60.9%, 그리고 western blotting과 ELISA의 일치율은 78.3%로 전반적으로 높지 않은 일치율을 보였고, 3가지 검사방법의 결과가 모두 일치한 경우는 52.2%에 불과하였다. CagA 유무를 확인하는 데 있어서 여러 검사방법 간의 성적을 비교한 다른 연구들에서도 본 연구결과와 마찬가지로 그 일치 정도가 높지 않은 것으로 보고되고 있다.^{32,33} Paoluzi 등³²은 CagA를 검출하는데 있어서 PCR과 western blotting의 성적을 비교하였는데, 일치율은 67%로 본 연구결과와 유사하게 낮았고, 조직학적 소견은 PCR이 보다 정확한 검사방법임을 시사한다고 하였다. Krausse 등³³의 연구에서도 PCR을 gold standard로 간주했을 경우 western blotting의 예민도는 100%이나 특이도가 35%로 낮으며, western blotting 결과와 상부위장관질환의 증등도와 연관성이 관찰되지 않아 CagA의 검출에 있어서 western blotting은 정확도가 떨어진다고 주장하였다. 한편 Cover 등¹⁴은 PCR을 통한 *cagA* 검출결과와 ELISA를 이

용한 CagA 검출결과가 비교적 잘 일치하나, *cagA* 음성 *H. pylori*에 감염된 환자의 경우에는 26.7%에서 검사결과가 일치하지 않았으며, 이는 ELISA 결과가 위양성이라기보다는 *cagA* 양성 균주와 음성 균주가 혼합감염되어 PCR 결과의 위음성을 초래했을 가능성이 크다고 하였다. 상기의 연구들에서는 CagA를 확인함에 있어서 각 검사방법의 정확도를 주로 조직학적 소견을 바탕으로 평가하였으나, 본 연구에서는 세 가지 검사방법 모두에서 CagA 유무에 따른 위염의 정도가 차이를 보이지 않았기 때문에 검사방법 간에 우월성 여부를 평가할 만한 기준이 없어서, 본 연구결과만으로는 어느 검사방법이 우월하다고 판단하기는 어려울 것으로 생각된다. 다만 *H. pylori* 음성인 10예 중에서 PCR, western blotting, 그리고 ELISA 방법에 의해 CagA가 양성으로 나타난 경우가 각각 4예, 5예, 그리고 2예가 있었는데, 이는 분명한 위양성으로 판단된다. PCR 검사에서 위양성을 나타내는 경우는 대부분 오염에 의한 것으로, 이는 다른 연구에서도 문제점으로 지적되고 있는 바,²⁹ 검사의 정확도를 높이기 위해서는 내시경 검사를 시행할 때나 생검 시에 내시경과 생검기기의 철저한 세척과 오염에 대한 각별한 주의가 필요할 것으로 생각된다. 혈청학적 검사에서 위양성을 나타내는 경우는 대부분 과거의 감염에 의한 것으로, 과거에 *H. pylori* 감염이 있었던 경우에 다른 감염을 이유로 항생제를 사용하였거나, 면역기전에 의해 저절로 *H. pylori*가 박멸된 경우이다. ELISA 방법에 의한 항체 측정 시보다 western blotting에 의한 항체 측정 시에 CagA에 대한 항체가 오랜 동안 검출된다는 보고가 있는데,³⁴ 이는 본 연구에서 western blotting 방법이 ELISA 방법에 비해 높은 위양성률을 나타낸 이유를 일부 설명해 줄 수 있으리라 생각된다. 한편 본 연구에서 혈청학적 검사를 위해 사용한 CagA 항원은 모두 외국에서 얻어진 것이지만, 단일 균주에 의한 항 CagA 혈청이 세계 여러 지역에서 얻어진 CagA 단백질에 의해 검출된다는 연구 결과³⁵를 감안하면, 본 연구의 혈청학적 검사에서 사용한 외국의 CagA 항원이 연구결과에 좋지 않은 영향을 끼치지 않는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 *H. pylori* 감염이 있는 환자군에서 위염의 정도가 심한 것으로 나타났으나, CagA 상태는 위염의 정도에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 물론 본 연구의 대상환자수가 적었고 단일기관에서 시행된 연구이므로, 본 연구결과를 그대로 받아들이기에는 다소 무리가 있지만, 다른 국내보고들도 본 연구와 유사한 결과를 보이고 있다.^{24,29} 그러나 국내의 연구결과들과는 달리 서양의 연구에서는 *cagA* 양성인 경우에 위염의 정도가 더 심하다는 보고들이 있다.^{9,10} Husson 등⁹은 *cagA*가 양성인 *H. pylori*에 의한 위염의 경우 *cagA*가 음성인 경우에 비해 조직학적 위염의

정도가 더 심하다고 보고하였다. 또한 Yamaoka 등¹⁰은 *cagA*가 양성인 *H. pylori*에 의한 위염이 *cagA* 음성에 비해 위점막에 다형백혈구 및 단핵구의 침윤 정도가 더 심하고, IL-8과 같은 cytokine mRNA의 발현이 더 증가한다고 보고하였다. 뿐만 아니라 소화성 궤양과 위암 환자에서 CagA 양성률이 높다는 보고들도 있다.^{14,17} 최근에 Azuma 등³⁶은 역사, 음식문화, 그리고 위암 발생에 의한 사망률에 있어서 차이를 보이는 일본의 두 지역 주민을 대상으로 *cag* pathogenicity island에 대한 염기서열분석을 시행하였다. 그 결과 3' 지역의 R1 sequences의 반복 숫자에 있어서 다양성이 관찰되었으며, 반복 횟수가 4회를 초과하는 경우 위축성 위염과 위암의 발생과 연관이 있음을 시사한다고 결론을 내렸다. 따라서 우리나라와 같이 *cagA*와 상부위장관질환과의 관계가 불명확하거나, *cagA* 양성률이 높은 나라에서는 이와 같은 염기서열분석이 *cagA*와 상부위장관 질환과의 연관성을 확인하는 데 도움이 될 것으로 생각된다.

결론적으로 본 연구를 통해서 CagA 검출 여부는 검사방법에 따라 많은 차이를 보일 수 있음을 알 수 있었다. 따라서 CagA와 상부위장관질환의 관계를 명확히 하기 위해서는 CagA 검출을 위한 보다 정확한 진단법을 찾아내고, 새로운 방법을 개발하려는 노력이 필요할 것으로 생각된다.

요 약

목적: CagA 검출을 위한 방법에는 혈청학적인 방법으로 western blotting과 ELISA가 있으며, 분자생물학적인 방법으로는 주로 중합효소 연쇄반응법(PCR)이 사용되고 있다. 본 연구에서는 CagA 유무를 평가함에 있어서 PCR, western blotting, 그리고 ELISA 방법 간의 일치 정도의 정도를 알아보고, 그 진단적 가치를 비교해 보고자 하였다. **대상 및 방법:** 상부위장관 증상에 의해 진단목적으로 내시경 검사를 시행받은 환자 중 기능성 소화불량증으로 판정받은 37예를 대상으로 환자의 혈청과 내시경하 생검조직을 취하였다. 생검조직을 통해서 Sydney system에 따라 위염의 정도를 나누었으며, *H. pylori* 감염여부는 병리조직검사와 rapid urase 검사를 통하여 판정하였다. *cagA*의 존재여부는 PCR 방법으로 확인하였다. 혈청학적 검사로는 western blotting과 ELISA 검사를 시행하였다. **결과:** 감염 미정으로 판단된 4예를 제외한 33예 중에서 23예(69.7%)에서 *H. pylori* 양성으로 확인되었다. *H. pylori* 양성인 23예를 대상으로 CagA 검출을 위한 검사방법간의 일치율을 조사한 결과, PCR과 western blotting의 일치율은 65.2%, PCR과 ELISA의 일치율은 60.9%, 그리고 western blotting과 ELISA의 일치율은 78.3%로 전반적으로 높지 않은 일치율을 보였다. 3가지 검사방법의 결과

가 모두 일치하는 소견을 보인 경우는 23예 중 12예(52.2%)였다. *H. pylori* 양성인 23예과 음성인 10예에서 위염의 정도를 비교한 결과 염증, 활성화도, 그리고 위축의 정도가 모두 *H. pylori* 양성인 예에서 음성인 예에 비해 높은 것으로 나타났다(P<0.05), *H. pylori* 양성인 예에서 PCR, western blotting, 그리고 ELISA 방법에 의해 확인된 CagA 상태에 따른 위염의 정도는 3가지 방법 모두에서 차이를 보이지 않았다. **결론:** CagA 검출 여부는 검사방법에 따라 많은 차이를 보일 수 있으며, *cagA*와 상부위장관질환의 관계를 명확히 하기 위해서는 보다 정확한 진단법을 찾아내고, 새로운 방법을 개발하려는 노력이 필요할 것으로 생각한다.

색인 단어: CagA, PCR, western blotting, ELISA

참 고 문 헌

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;1:131-135.
2. Blaser MJ. Hypothesis on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology* 1992;102:720-727.
3. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA* 1994;272:65-69.
4. 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.
5. Malaty HM, Engstrand L, Pedersen NL, Graham DY. *Helicobacter pylori* infection: Genetic and environmental influences. A study of twins. *Ann Int Med* 1994;120:982-986.
6. EI-Omar EM, Carrington M, Chow WH, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature* 2000;404:398-402.
7. Eaton KA, Krakowka S. Effect of gastric pH on urease-dependent colonization of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 1994;62:3604-3607.
8. Lingwood CA, Wasfy G, Han H, Huesca M. Receptor affinity purification of a lipid-binding adhesion from *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 1993;61:2474-2478.
9. Husson MO, Gottrand F, Vachee A, et al. Importance in diagnosis of gastritis of detection by PCR of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* strains isolated from children. *J Clin Microbiol* 1995;33:3300-3303.
10. Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Imanishi J. *Helicobacter pylori cagA* gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa. *Gastroenterology* 1996;110:1744-1752.
11. Odenbreit S, Puls J, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas

- R. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science* 2000;287:1497-1500.
12. Asahi M, Azuma T, Ito S, et al. *Helicobacter pylori* CagA protein can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells. *J Exp Med* 2000;191:593-602.
 13. Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science* 2002;295:683-686.
 14. Cover TL, Glupczynski Y, Lage AP, et al. Serologic Detection of infection with *cagA*⁺ *Helicobacter pylori* strains. *J Clin Microbiol* 1995;33:1496-1500.
 15. Covacci A, Censini S, Bugnoli M, et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:5791-5795.
 16. Figueroa G, Troncoso M, Toledo MS, Faundez G, Acuna R. Prevalence of serum antibodies to *Helicobacter pylori* VacA and CagA and gastric diseases in Chile. *J Med Microbiol* 2002;51:300-304.
 17. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelmann H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997;40:297-301.
 18. Pan SM, van der Hulst RW, Feller M, et al. Equally high prevalences of infection with *cagA*-positive *Helicobacter pylori* in Chinese patients with peptic ulcer disease and those with chronic gastritis-associated dyspepsia. *J Clin Microbiol* 1997;35:1344-1347.
 19. Hua J, Zheng PY, Keoh KG, et al. The status of the *cagA* gene does not predict *Helicobacter pylori*-associated peptic ulcer disease in Singapore. *Microbios* 2000;102:113-120.
 20. Maeda S, Ogura K, Yoshida H, et al. Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in *Helicobacter pylori* isolates in Japan. *Gut* 1998;42:338-343.
 21. 김경철, 박효진, 이홍우 등. *Helicobacter pylori* 감염 환자에서 CagA 및 VacA의 혈청학적 인식과 gastrin 및 pepsinogen 농도와의 관계. *대한소화기학회지* 1997;29:25-34.
 22. 양웅석, 송근암, 강대환, 박승근, 송철수, 조몽. 소화성 궤양 환자에서 *cagA* 양성 *Helicobacter pylori*의 유병률. *대한소화기학회지* 1998;31:184-191.
 23. 김진일, 김성수, 박수현 등. 만성 위염, 십이지장 궤양, 위암에서 *Helicobacter pylori*의 *cagA*와 *vacA* 아형의 차이. *대한소화기내시경학회지* 2002;25:7-12.
 24. 김도영. 위염, 위궤양, 십이지장궤양 및 위암 환자의 위 생검 조직에서 *Helicobacter pylori cagA* 유전자의 양성률과 위염 정도의 비교에 관한 연구. *대한소화기학회지* 1998;32:24-31.
 25. 송은정, 정숙향, 김유철 등. 위선암 발생에 있어 *Helicobacter pylori* 감염 및 *cagA* 유전자 발현의 역할. *대한소화기학회지* 1999;33:321-330.
 26. Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: Comparison with other invasive techniques and detection of *cagA* gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 1995;33:2752-2756.
 27. Figura N, Vindigni C, Covacci A, et al. *cagA* positive and negative *Helicobacter pylori* strains are simultaneously present in the stomach of most patients with non-ulcer dyspepsia: relevance to histological damage. *Gut* 1998;42:772-778.
 28. van der Ende A, Rauws EAJ, Feller M, Mulder CJJ, Tytgat GNJ, Dankert J. Heterogenous *Helicobacter pylori* isolates from members of a family with a history of peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 1996;111:638-647.
 29. 박형석, 박효진, 윤상애 등. 중합효소 연쇄반응법을 이용한 *Helicobacter pylori* 감염 진단과 *cagA*와 위염 중증도간의 상관 관계. *대한소화기학회지* 1998;31:281-289.
 30. 이용찬, 김범수, 박효진 등. Western blot kit (*Helicoblot* 2.0TM)을 이용한 *Helicobacter pylori* 감염의 혈청학적 진단: *Helicobacter* phenotype에 따른 질환양상의 비교. *대한소화기학회지* 1998;31:432-440.
 31. Price AB. The sydney system. *Histological decision. J Gastroenterol Hepatol* 1991;6:209-214.
 32. Paoluzi OA, Rossi P, Montesano C, et al. Discrepancy between polymerase chain reaction assay and Western blot analysis in the assessment of CagA status in dyspeptic patients. *Helicobacter* 2001;6:130-135.
 33. Krausse R, Garten L, Harder T, et al. Clinical relevance of CagA-specific antibodies related to CagA status of *Helicobacter pylori* isolates using immunofluorescence test and PCR. *Infection* 2001;29:154-158.
 34. Sorberg M, Engstrand L, Strom M, Jonsson KA, Jorbeck H, Granstrom M. The diagnostic value of enzyme immunoassay and immunoblot in monitoring eradication of *Helicobacter pylori*. *Scand J Infect Dis* 1997;29:147-151.
 35. Hook-Nikanne J, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Antigenic characterization of *Helicobacter pylori* strains from different parts of the world. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997;4:592-597.
 36. Azuma T, Yamakawa A, Yamazaki S, et al. Correlation between variation of the 3' region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* and disease outcome in Japan. *J Infect Dis* 2002;186:1621-1630.