

Western Blot Kit (Helicoblot 2.0™)을 이용한 *Helicobacter pylori* 감염의 혈청학적 진단: *Helicobacter* phenotype에 따른 질환양상의 비교

연세대학교 의과대학 내과학교실, 소화기병 연구소

이용찬 · 김범수 · 박효진 · 정재복 · 문영명 · 강진경 · 박인서

= Abstract =

Prevalence of Seropositivity to CagA and VacA in *Helicobacter pylori* Infected Korean Patients Using Commercial Western Blot Kit (Helicoblot 2.0™)

Yong Chan Lee, M.D., Pum Soo Kim, M.D., Hyo Jin Park, M.D.,
Jae Bock Chung, M.D., Young Myung Moon, M.D.,
Jin Kyung Kang, M.D. and In Suh Park, M.D.

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

Background/Aims: Seropositivity to CagA and/or VacA has been implicated in the pathogenesis of peptic ulcers. Korea is well known with high incidence of gastric cancer and *Helicobacter pylori* infection. However, most studies to evaluate CagA and VacA phenotype in Korea have been performed in limited cases and have showed inconsistent results. Some of these differences may be explained by variation in methods, geographic factors and socioeconomic factors. We evaluated the prevalence of seropositivity to CagA and VacA in different disease entities by using a commercial Western blot kit (Helicoblot 2.0™, Genelabs Diagnostics, Singapore). This kit allows rapid visualization of full serologic profiles of various antigens which belong to *H. pylori* and standardization for international comparisons. **Methods:** For 117 consecutive patients (72 nonulcer dyspepsia, 23 gastric ulcers and 22 duodenal ulcers), histology, rapid urease test (CLO™, Delta- West, Western Australia) and ELISA test (GAP™ test, BIORAD, Millan, Italy) were performed. From each patient, serum was collected and western blot assay was performed. Patients are considered as *H. pylori* positive if two of above tests were positive. **Results:** CagA and VacA were positive in 88.5% and 50.0% of *H. pylori* infected patients. All the VacA positive patients expressed CagA positivity while only 56.5% of CagA positive patients showed VacA positivity. Reactivities to CagA and VacA were not significantly different according to different types of disease. Comparison of western blot assay with ELISA test showed decrease in specificity of both tests after the age of 50 (76.0% vs 42.9%, 80.0% vs 42.9% respectively, $p < 0.05$). **Conclusions:** Reactivity of the *H. pylori* positive sera to western blot assay differs according to disease entities. Serologic profiles to CagA and VacA show no significant association with peptic ulceration in Korean patients with *H. pylori* infection. In addition, the western blot assay shows poor and limited specificity in old patients. (Korean J Gastroenterol 1998;31:432 - 440)

Key Words: *Helicobacter pylori*, Helicoblot™, CagA, VacA

접수: 1997년 2월 28일, 승인: 1997년 12월 19일

연락처: 이용찬, 서울시 서대문구 신촌동 134, 연세의료원 내과학교실 Tel: 361-6070, Fax: 361-2125

* 본 논문은 1995년도 연세대학교 의과대학 과별 project 연구비 보조로 시행하였음

서 론

대상 및 방법

헬리코박터 파이로리(*Helicobacter pylori*(이하 *H. pylori*))는 만성 B형 위염의 원인균이며, 비궤양성 소화불량증(non ulcer dyspepsia, NUD)과 소화성궤양에 있어서도 일차적인 발병 원인으로 거론되고 있으며 위암과도 연관성이 있는 것으로 주목되고 있다.¹⁻³ 따라서 *H. pylori*에 의한 위장질환의 발병기전과 역학 및 치료예방 등에 대한 많은 연구가 집중되고 있다.

이중 *H. pylori*의 strain에 따라서는 독성이 매우 다양하고 병을 일으키는 데 차이가 있을 것이라고 추측하여 분자생물학 및 면역학적으로 두 유형으로 분류하여 세포손상을 일으키는 단백질인 공포화 세포독소(vacuolating cytotoxin A, VacA)과 CagA(cytotoxin associated gene A) 단백질을 갖고 있는지에 따라서 제 I형과 제 II형으로 나누어 상부위장관질환의 병인을 찾으려는 시도가 있어왔다.^{4,5}

VacA와 CagA를 찾기 위해서는 일반적으로 분자생물학적인 방법을 이용하는 것이 직접적인 방법이지만 혈청학적으로도 강한 항체반응을 보일 수 있기에 혈청학적 방법이 임상에 적용하기가 용이하다. 최근 개발된 Helicoblot 2.0™은 상업화된 Western blot 키트로서 비침습적이며 CagA 뿐만 아니라 VacA, urease subunits 등에 대한 혈청학적 윤곽(serologic profile)을 동시에 한 환자에서 볼 수 있으며 비교적 손쉽게 할 수 있고 높은 감수성과 예민도를 가지는 검사로 소개되고 있다.⁶ 저자들은 내시경을 시행 받은 환자에서 Helicoblot 2.0™ 검사를 이용하여 위십이지장 질환별로 CagA와 VacA 양성률을 조사하고 각 질환별로 양성률의 의미를 비교하며 특히 우리 나라에서 위십이지장궤양에서 CagA 또는 VacA 양성률이 갖는 의미를 조사하고자 하며 *H. pylori*를 진단하는 기존의 다른 진단방법과의 감도와 특이도를 비교하였다.

1. 대 상

1995년 9월부터 1995년 11월까지 소화기증상으로 연세대학교 의과대학 신촌 세브란스병원 및 영동 세브란스병원에 내원하여 내시경검사를 시행받은 환자 117명을 대상으로 하였다. 총 117명 중 남자 72명, 여자 45명이었으며 평균연령은 45세였으며 연령분포는 17세에서 74세까지였다. 제외대상환자의 기준은 위수술을 과거에 시행받은 환자, 임신중이거나 수유중인 환자, 실험참가 6개월 이내에 항생제나 비스무스제제를 복용한 환자, 위암환자이었다.

2. 방 법

위전정부와 체부에서 각각 2개이상의 조직을 취하여 조직학적 염색(H&E, Warthin-Starry 은염색)과 Rapid Urease Test (CLO™, Delta-West, Western Australia)를 시행하였다. *H. pylori* 감염양성은 조직검사와 CLO™ 검사 모두 다 양성인 것을 대상으로 하였으며 두 검사 모두 음성인 것을 *H. pylori* 감염음성으로 취급하였다. 내시경검사와 동시에 혈액을 채혈하여 혈청 항 *H. pylori* 항체를 ELISA 검사(GAP™, Bio Rad, Millan, Italy)를 이용하여 조사하였으며 혈청을 영하 70℃에 냉동 보관하였다가 일괄하여 Western blot (Helicoblot 2.0™, Genelabs diagnostics, Singapore) 검사를 시행하였다. Western blot의 시행방법은 kit 설명서에 의거해서 시행하며 매회 마다 양성 및 음성 대조균을 kit의 견본을 이용하여 시행하였다. Western blot 검사를 하면 일반적으로 6가지 항원띠(antigen band)를 관찰하게 되며 이중 116 kDa은 CagA 항원띠, 89 kDa은 VacA 항원띠, 35 kDa과 30 kDa과 26.5 kDa, 16.5 kDa은 urease의 subunits에 대한 항원띠로 나타난다. 이 각각의 항원띠에 대한 양성반응을 기준으로 116 kDa, 89 kDa, 35 kDa 중의 한 항원띠가 양성이거나 30 kDa, 26.5 kDa, 19.5 kDa 중 두 개이상의 항원띠가 양성이면 감염양성으로 판정하였다. 또한 환자를 비궤양성 소화불량증, 위궤양(gastric ulcer, GU), 십이지장궤양(duodenal ulcer, DU)으로 나누어 각질환 군별로 CagA,

VacA 항원띠의 양성률을 비교하였으며, CagA 또는 VacA 양성률이 질환에 미치는 영향을 분석하였다. 한편 검사의 감도와 특이도를 조직학적 염색검사, CLO™ 검사와 비교하였다. 혈청학적 검사로 사용한 ELISA 검사와 Helicoblot 2.0™의 감도와 특이도를 비교 분석하였다.

결 과

1. 성별 및 연령분포

남자 72명, 여자 45명으로 남녀비는 1.6:1이었다. 연령별로는 남녀 모두 40대에서 각각 21명과 13명으로 가장 많은 비율을 차지하였다. *H. pylori* 양성률은 NUD환자 72명 중 39명으로 54.2%, GU 23명 중 17명으로 73.9%와 DU 22명 중 22명 전 예가 양성률을 보였다(Table 1, 2).

2. Western blot 검사와 ELISA 검사의 감도와 특이도 비교

*H. pylori*의 진단에 있어서 Western blot 검사의 감도와 특이도는 각각 98.7%와 64.1%로 특이도가 낮았다. ELISA 검사의 감도와 특이도는 각각 88.5%와 66.7%로 두 가지 검사를 서로 비교하여 보았을

때 Western blot 검사의 감도가 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.01$). 질환의 종류나 성별에 따라서는 각 검사의 감도와 특이도의 통계적 차이가 없었으나 50세를 기준으로 연령을 나누어서 비교하여 보았을 때 ELISA와 Helicoblot 2.0™ 검사 모두 연령 50세를 기준으로 나이가 많은 경우 각각 검사의 특이도가 76.0%에서 42.9%, 80.0%에서 42.9%로 현저히 낮아졌다($p < 0.05$)(Table 3, 4).

3. *H. pylori* 양성률에 따른 Western blot 검사의 결과

H. pylori 양성 환자 78명 중 CagA 항원은 69명에서 양성반응을 보여 88.5%의 양성률을 나타내었다. 한편 VacA 항원은 39명으로 50.0%의 양성률을 나타내었다. 그러나 *H. pylori* 음성 환자 중에서도 CagA와 VacA 양성률은 각각 25.6%와 7.7%를 보였다. 116 kDa, 89 kDa, 35 kDa 중의 한 band가 양성이거나 30 kDa, 26.5 kDa, 19.5 kDa 중 두 개이상의 band가 양성이면 감염양성으로 판정하였을 때 감도는 98.8%로 특이도는 64.1%이었다. 연령 분포와 성별에 따른 항원띠의 양성률에 통계학적으로 유의한 차이는 없었다(Table 5).

4. 각 질환에 따른 Western blot 검사 결과 비교

H. pylori 양성환자를 각각 NUD, GU, DU의 3군으로 나누어서 각 군에 따른 항원띠의 발현률의 차이를 비교하여 보았다. Urease subunits 에 대한 각 띠의 발현률에는 질환에 따른 유의한 차이는 발견할 수 없었다. NUD환자 28예의 CagA 양성률은 87.2%로 GU군과 DU군은 각각 94.1%, 86.4%로 통계학적 차이는 없었다. VacA 양성률 역시 각질환군에 따른 통계학적 차이는 발견할 수 없었으나 DU환자에서

Table 1. Age and Sex Distribution

Age	Male	Female	Total
10-19	2		2
20-29	13	7	20
30-39	17	10	27
40-49	21	13	34
50-59	7	7	14
60-	12	8	20

Table 2. Types of Diseases according to *H. pylori* Positivity

	Total	<i>H. pylori</i> +	<i>H. pylori</i> -
Nonulcer dyspepsia (NUD)	72	39 (54.2%)	33 (45.8%)
Gastric ulcer (GU)	23	39 (54.2%)	33 (45.8%)
Duodenal ulcer (DU)	22	22 (100.0%)	0 (0.0%)

보다 양성률이 높은 경향을 보였다(NUD 46.2%, GU 47.1%, DU 59.1%). 전체적으로는 대부분의 *H. pylori* 양성환자의 혈청 중에는 항 CagA 항체가 있는 것으로 확인되었으며 이에 반해 전체적으로 VacA 양성률이 낮았다. 또한 GU과 DU사이에 urease subunits에 대한 혈청 항체의 양성률에는 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(Table 6).

고 찰

*H. pylori*에 의한 위염 및 소화성궤양의 병인기전은 잘 알려져 있지 않다. 이에 대한 가능한 가설로는 첫째, *H. pylori*가 점액을 변형시키고 상피세포의 손상을 일으키는 물질을 분비하여 위산에 대한 위벽 점막의 저항력을 감소시킨다는 것과 둘째, *H. pylori*가 중성구 및 다른 염증세포를 끌어들이고 활성화

Table 3. Sensitivity of the Two Serologic Tests according to Clinical Parameters

	WB (%)	EILISA (%)
Gender		
Male	100.0	84.0
Female	96.4	96.4
Disease		
Ulcer	97.4	84.6
NUD	100.0	92.3
Age		
<50	100.0	88.7
≥50	96.0	88.0
Total	98.8	88.5

WB, Western blot; NUD, nonulcer dyspepsia.

Table 4. Specificity of the Two Serologic Tests according to Clinical Parameters

	WB (%)	EILISA (%)
Gender		
Male	59.1	59.1
Female	70.6	76.5
Disease		
Ulcer	66.7	66.7
NUD	63.6	66.7
Age*		
<50	76.0	80.0
≥50	42.9	42.9
Total	64.1	66.7

WB, Western blot; NUD, nonulcer dyspepsia; *, p<0.05.

Table 5. Reactivity to Western Blot Test in the *H. pylori* Positive and Negative Group (%)

	Positive	Molecular weight of antigen bands (kDa)					
		116	89	35	30	26.5	19.5
Positive (n=78)	77 (98.8)	69 (88.5)	39 (50.0)	63 (80.8)	61 (78.2)	54 (69.2)	28 (35.9)
Negative (n=39)	14 (17.9)	10 (35.9)	3 (25.6)	8 (7.7)	10 (20.5)	15 (25.6)	7 (38.5)

Table 6. Reactivity to Western Blot Test according to the Types of Diseases

	CagA (116 kDa)	VacA (89 kDa)	35 kDa	30 kDa	26.5 kDa	19.5 kDa
NUD (n=39)	87.2%	46.2%	61.1%	77.8%	72.2%	50.0%
PUD (n=39)	89.7%	53.5%	87.2%	79.5%	64.1%	30.8%
GU (n=17)	94.1%	47.1%	92.3%	61.5%	53.8%	15.4%
DU (n=22)	86.4%	59.1%	81.3%	87.5%	68.8%	31.3%

NUD, nonulcer dyspepsia; PUD, peptic ulcer disease; GU, gastric ulcer; DU, duodenal ulcer.

하는 세포주성물질을 위점막으로부터 생산하게 하여 활성화된 염증세포에 의해 위십이지장조직의 손상이 일어난다는 것이다.^{7,9}

H. pylori 감염은 조직학적으로 위상피 및 점막층에 중성구 및 단핵구의 침윤을 특징으로 하고 있으며 이런 염증세포의 침윤이 조직 손상과 궤양형성에 중요한 인자로 작용하리라 생각되고 있다.¹⁰ 한편 *H. pylori*에 감염된 위조직에서 tumor necrosis factor alpha, interleukin-6, interleukin-8 등 여러 사이토카인이 *in vivo* 또는 *in vitro* 양쪽에서 발견되어 사이토카인의 역할에 대한 관심이 증가되고 있다.^{11,12}

Leunk 등¹³과 Cover 등¹⁴은 *Helicobacter pylori*의 배양 여과액 내에서 HeLa 세포주, CHO 세포주 등 여러 세포주에 공포화를 유발하는 물질을 발견하고 공포화 세포독소라 하였으며 그 분자량이 약 87 kDa 이라고 하였다. *Helicobacter pylori* 분리주 모두가 이 세포독소를 생산하는 것은 아니며 약 60% 정도가 세포독소를 생산한다고 알려져 있다. 십이지장 궤양환자에서 분리한 세균에서는 60% 이상이 세포독소 생산균주인데 비해 증상이 없는 위염환자에서 분리한 균주인 경우에는 30% 정도가 세포독소를 생산하여 이 세포독소가 세균의 발병결정인자로 작용한다는 주장이 대두되었다. 그러나 DNA hybridization으로 확인한 바에 의하면 대부분의 *H. pylori* 분리균주가 *vacA* 유전자를 가지고 있으며 다만 세포독소 생산균주와 비생산균주 사이에는 *vacA* 유전자 염기서열에 차이가 있을 뿐이라고 하였다.¹⁵ *vacA* 유전자에 대한 분석에 의하면 유전학적 mosaicism 이 존재한다 하면서 특정 조합의 유전자형이 세포독소 및 CagA 단백질의 표현과 관련이 있다는 보고가 있다.¹⁶

곧 이어 공포화 세포독소와 관련이 있는 *cagA* 라는 유전자가 클로닝 되었으며 *Helicobacter pylori*가 이 유전자 산물인 CagA 단백을 생산한다는 것이 확인되었다.^{17,18} 이 단백질은 분자량이 120 kDa에서 128 kDa 정도의 크기이고 *H. pylori* 균주의 약 60%에서 발현된다고 한다. CagA를 발현하지 않는 균주는 *ccgA* 유전자를 보유하지 않고 있다고 밝혀졌다. 세포독소 생산균주가 있는 경우나 혈중 항 CagA 항체를 보유하고 있는 환자의 경우 그렇지 않은 환자에

비해 위점막에 호중구의 침윤정도 및 상피세포의 손상정도가 심하다고 보고되고 있다.¹⁵ 세포독소 생산균주가 세포독소 비생산균주에 비해 시험관내에서 위점막 상피세포의 IL-8생산을 더 잘 자극한다는 실험결과도 있어 CagA와 VacA는 임상적으로 보다 더 중요한 *H. pylori* 균주의 표지자로 간주되고 있다.^{14,19}

cagA 유전자를 가지는 모든 *H. pylori* 균주는 CagA 단백을 발현하며 *vacA* 유전자는 모든 박테리아에 존재하나 표현은 strain에 따라서 다르며 표현 여부에 따라서 VacA 양성 또는 음성이라고 분류된다. *H. pylori*를 병원성에 따라 분류함으로써 치료 및 예후에 도움이 되게 하려는 많은 시도 중의 하나로 CagA와 VacA를 분비 또는 표현하는지의 유무에 따라서 I형 및 II형의 두가지 유형으로 분류하는 시도도 있었다. 일반적으로는 세포독소 또는 CagA 단백을 표현하는 경우 소화성궤양과 높은 연관을 가진다고 알려져 있다. 원래는 VacA를 표현하는 모든 *H. pylori*는 CagA 단백을 표현하는 것으로 생각하였으나 최근에는 자연상태에서도 VacA 음성이면서 CagA 양성인 균주가 발견되었으며 이들이 서로 연관성이 없다는 다른 상반된 보고도 나오고 있다. 아직도 이런 상반된 결과로 인해 보고자에 따라서 CagA와 세포독소발현은 *H. pylori*의 병원성과는 아무 연관이 없다는 보고도 있다.^{20,21}

CagA 단백을 임상에 응용하기 위해서 유전자 재조합법을 이용하여 128 kDa의 CagA 단백을 *E. coli*에서 생산하고 효소면역법(ELISA)에 응용한 결과 높은 감도와 특이도를 얻을 수 있었다는 보고가 있다.^{22,23} CagA 양성을 검사하는 기존의 실험실 검사는 고가이며 시간이 많이 걸리고 그 결과가 여러 다양한 실험조건으로 인해 비교하기 어렵다는 단점이 있다. 혈청 IgG 항 CagA 항체검사인 ELISA 검사도 아직 상업화되지 않았으며 유전자 재조합형 CagA 단백을 생산해서 사용해야 하므로 여러 현실적인 제약이 따른다. 최근 개발된 Helicoblot 2.0™은 상업화된 Western blot 키트로서 비침습적이며 CagA뿐만 아니라 VacA, urease subunits 등에 대한 혈청학적인 접근을 동시에 볼 수 있으며 비교적 손쉽게 할 수 있고 높은 감수성과 예민도를 가지는 검사로²¹ 알려져 있다.

저자들은 소화성궤양과 비궤양성 소화불량증환자에서의 혈청을 이용하여 Helicoblot™ 검사를 시행 각 환자의 항원띠의 유형을 조사하여 임상적 유용성을 알아보고 기존의 혈청학적 검사와의 감도와 특이도를 분석하였다. 결과에서도 나타난 바와 같이 Helicoblot™ 검사는 ELISA 검사에 비해 감도는 높았으나 특이도가 좋지 않아서 혈청을 이용한 일반적 항체진사와 유사한 결과를 보였다. 특이할 점은 환자의 연령이 50대 이하인 경우에는 감도와 특이도 모두 80%에 가까운 양호한 결과를 보였으나 50대 이상인 경우에는 감도에는 큰 차이가 없었으나 특이도가 현저히 감소함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 환자의 연령이 증가할수록 면역학적으로 비특이적인 항체가 많이 생성되거나 과거에 *H. pylori*에 감염되었다가 자연치유 또는 항생제 치유된 환자의 혈청에 아직 존재하는 항 *H. pylori* 항체가 남아있을 가능성이 높다고 생각된다.

CagA 단백질은 위염과 위궤양 뿐 아니라 위암과도 연관이 있을 것이라는 가설하에 여러 연구가 진행되고 있으나 여러 다양한 결과를 보이고 있다. 아직 대다수의 연구가 역학적 자료에 근거를 두고 발표되어 왔으나 최근 CagA 단백질 또는 공포화 세포독소의 역할에 대한 보고가 많이 나오고 있다.²⁴⁻²⁶ *H. pylori* 균주에서 CagA 양성 균주가 차지하는 비율도 지역, 나라, 인종에 따라서 다른 결과를 보이며 이는 적은 수의 검사균주, 검사방법의 차이에 기인할 수도 있으나 인종, 지역에 따른 차이점이 있을 가능성도 시사한다.

85 kDa에 해당하는 공포화 세포독소과 120 kDa 인 CagA 단백질은 특히 젊은 연령의 위암환자에서 고연령군에 비해 많이 발생한다는 보고도 나오고 있다.²⁷ 위암이 호발하며 *H. pylori*의 감염률이 높은 지역으로 알려지고 있는 한국, 일본, 중국 등에서는 만성위염환자에서 분리된 균주와 위십이지장궤양 환자에서 분리되는 균주간에 CagA 단백질 생산균주의 빈도나 이에 대한 항체 보유율의 차이가 서구 선진국에서 관측된 차이와는 다르게 유의하는 차이가 없다.^{20,21} 그러나 홍콩등지의 보고를 보면 소화성궤양과 비궤양성 소화불량군이 무증상군에 비해 유의하게 항 CagA 항체를 가질 확률이 높다하여 서구의

보고와 유사한 경향을 보인다는 상반된 보고도 있으며²¹ 중국인과 호주를 대상으로 한 연구 보고에서도 Helicoblot 2.0™ 검사를 이용하여 조사한 결과 호주에서는 십이지장궤양과 항 CagA 항체와 높은 상관관계가 있었으나 중국인의 경우에는 유의 있는 차이를 발견할 수 없어서 역시 지역에 따라서 다른 의미를 가질 수 있다고 생각된다.²¹ 이와같이 같은 아시아지역이라 하더라도 CagA 또는 VacA 양성률이 다른 결과를 보이기에 *H. pylori*에 대한 이 지역의 활발한 연구가 필요하다. 최근에는 한국인 십이지장궤양과 위암환자 60명을 대상으로 *cagA* 유전자에 대한 PCR 검사를 한 결과 한국인의 *cagA* 유전자는 allelic variation이 있었다는 보고²⁰가 나와서 적어도 한국에서는 *cagA* 유전자가 매우 높은 빈도로 검출되며 특정질환의 표지자로는 적당치 않을 수 있으며 또한 지역에 따라서 다른 strain의 *H. pylori*가 존재할 수 있다는 설명이 제시되고 있다. 만약 이와 같이 서구 선진국에서의 위십이지장궤양 환자에서 분리된 균주는 CagA 단백질 생산균주의 빈도가 무증상군이나 비궤양성 소화불량군에 비해 높으나 한국등지에서는 왜 그런 차이가 없는가 하는 문제도 앞으로 중요하게 다루어져야 할 문제이다.

본 연구에서도 *H. pylori* 양성환자를 비궤양성 소화불량증, 위궤양, 십이지장궤양으로 나누어 각 환자군에서의 Western blotting을 시행하여 본 결과 항 CagA 항체와 항 VacA 항체 양성율이 각 질환군에 따른 차이를 발견할 수 없었다. 외국의 보고와는 달리 NUD환자에서도 높은 양성률을 보였으며 이는 한국인의 조직과 혈청을 이용한 Miehle 등²⁰의 보고나 중국인을 대상으로 한 Mitchell 등⁶의 보고와 일치한다고 생각된다. 여기서 가능한 두 가지 가설을 제시할 수 있다고 본다. 즉 하나는 *H. pylori*는 지역에 따라 다른 특성을 가진 균주가 분포하는 것으로 유럽이나 미국지역에서의 높은 CagA 양성률과 소화성궤양간의 상관관계가 설명되지만 한국, 일본, 중국 등지에서는 다른 *H. pylori*의 세균학적 또는 숙주, 환경특성이 소화성궤양 나아가서는 위암과의 연관성을 가질 수 있으리라는 가설이다. 두번째로는 Miehle 등²⁰의 PCR 실험에서도 나타나듯이 *cagA* 유전자의 변이 또는 *vacA* 유전자의 변이가 소화기질

환의 병인과 관계가 있으리라는 가설이다. 연구자에 따라서는 환경적 요인 또는 다른 공동인자들이 상호 작용 함으로써 이러한 *H. pylori*의 병원성에 영향을 주리라는 생각 역시도 많은 설득력을 가지고 있다고 본다.

한편 *H. pylori*가 분비하며 생존에 절대적으로 필요한 urease 단백질이 *H. pylori*에 의한 세포독소 분비와 관계가 있다는 것은 잘 알려진 사실이다.²⁶ 또한 urease에 의한 *H. pylori*의 병원성에 대한 연구와 백신개발에의 응용이 매우 활발하게 이루어지고 있다.²⁷⁻²⁹ 그러나 본 실험에서는 여러 urease subunits에 대한 항원체의 양성률이 소화성궤양과는 상관관계가 없어서 적어도 혈청학적인 면에서는 각 질환에 따른 의미는 없을 것으로 생각되었다.

상기의 고찰을 종합해 보면 새로이 개발된 Western blot 검사법인 Helicoblot 2.0™은 *H. pylori* 감염의 비침습적인 혈청학적 검사법으로 민감도가 높고 다른 비침습적인 방법으로는 알 수 없는 CagA, VacA의 존재 유무를 알 수 있으면서 한번에 여러 항원에 대한 혈청 항체의 존재를 관찰할 수 있어 매우 유용한 검사법임을 알 수 있었다. 한편 CagA, VacA 항체의 존재 유무를 조사해본 결과 CagA의 경우 *H. pylori* 감염환자의 88.5%에서 양성, VacA의 경우 50%에서 양성소견을 보였으나 소화성궤양군과 비궤양성 소화불량군 사이에서 CagA 및 VacA의 양성률에는 차이가 없었다. 따라서 한국에서의 *Helicobacter pylori*의 병원성을 규명하기 위해서는 분자생물학적 기초에서의 유전학적 변이에 관한 연구와 함께 *cagA*, *vacA* 유전자 이외에도 병원성에 관여할 수 있는 다른 인자에 대한 연구가 필요하리라 생각한다.

요 약

목적: 최근 *H. pylori* strain 중 CagA와 VacA 단백을 생성하는 균주와 여러 소화기질환과의 연관성에 대한 연구방법의 하나로 혈청을 이용하여 CagA, VacA 항체를 측정할 수 있는 검사법인 Western Blot Kit (Helicoblot 2.0™, Genelabs diagnostics, Singapore)가 개발되었다. 저자들은 소화성궤양 및 비궤

양성 소화불량환자에서 Helicoblot 2.0™ 검사의 진단적 유용성과 여러 항원체를 조사하여 *H. pylori* 감염과 위십이지장질환과의 연관성을 알아보려고 하였다. **대상 및 방법:** 연세대학교 의과대학 세브란스 병원에서 1995년 7월부터 9월까지 상부위장관 내시경검사를 시행한 환자 중 위궤양 23예, 십이지장궤양 22예, 비궤양성 소화불량 72예 등 총 117예에서 조직화학염색법, CLO™ 검사, 혈청 항 *H. pylori* 항체 ELISA 검사, HelicoBlot 2.0™를 시행하여 혈청 중 존재하는 항 CagA 항체, 항 VacA 항체와 urease subunits에 대한 항체를 검사하였다. **결과:** 조직검사와 CLO™ 검사상 *H. pylori* 감염양성은 78명, 감염음성은 39명이었는데 이에 대한 Western blot 검사의 감도는 98.7%, 특이도는 64.1%로서 GAP 검사에 비해 민감도(88.5%)가 높았으나 특이도는 차이가 없었다($p < 0.05$). CagA는 88.5%의 양성률을 보였으며 소화성궤양군($n=39$)과 비궤양성 소화불량군($n=39$) 사이에 통계적 차이는 없었다. VacA 양성률은 50.0%로서 CagA에 비해 낮은 양성률을 보였으며($p < 0.05$) 각질환 별로 차이는 없었다. Urease subunits인 35 kDa, 30 kDa, 26.5 kDa, 19.5 kDa에 대한 항원체는 소화성궤양군과 비궤양성 소화불량군 사이에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. **결론:** Helicoblot 2.0™ 검사법은 *H. pylori* 감염의 비침습적인 검사법으로 민감도와 특이도가 높을 뿐만 아니라 CagA, VacA의 존재 유무를 알 수 있는 유용한 검사법이었으며, CagA가 *H. pylori* 감염환자의 88.5%의 높은 양성률을 보였으나 소화성궤양군과 비궤양성 소화불량군사이에 CagA 및 VacA의 양성률에는 차이가 없었다. 따라서 한국에서의 *Helicobacter pylori*의 병원성을 규명하기 위해서는 *cagA*, *vacA* 유전자 이외에 다른 인자에 대한 연구가 필요하리라 생각한다.

색인단어: *Helicobacter pylori*, Helicoblot 2.0™, CagA, VacA

참 고 문 헌

1. Freedberg AS, Barron LE. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. Am J Dig Dis

- 1920;7:443-445.
2. Warren JR, Marshal BJ. Unidentified curved bacilli or gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;1:1273-1275.
 3. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, et al. *Campylobacter pyloris* and *Campylobacter mustele* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustele* com. nov. respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989;39:397-405.
 4. Crabtree JE, Taylor JD, Wyatt JJ, et al. Mucosal IgA recognition of *Helicobacter pylori* 120 kDa protein, peptic ulceration and gastric pathology. *Lancet* 1991; 338:332-335.
 5. Crabtree JE, Covacci A, Farmery SM, et al. *H. pylori* induced interleukin-8 expression in gastric epithelial cells is associated with CagA positive phenotype. *J Clin Pathol* 1995;48:41-45.
 6. Mitchell HM, Hazell SL, Li YY, Hu PJ. Serologic response to specific *Helicobacter pylori* antigens: antibody against CagA antigen is not predictive of gastric cancer in a developing country. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1785-1788.
 7. Tytgat GN, Rauws EA. *Campylobacter pylori* and its role in peptic ulcer disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1990;19:183-188.
 8. Goodwin CS. Duodenal ulcer, *Campylobacter pylori*, and the "leaking roof concept". *Lancet* 1988;2:1467-1469.
 9. Blaser MJ. Hypothesis in the pathogenesis and natural history of *H. pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology*. 1992;102:720-727.
 10. Valle J, Seppala K, Sipponen P, et al. Disappearance of gastritis after eradication of *Helicobacter pylori*. A morphometric study. *Scand J Gastroenterol* 1991; 26:1057-1065.
 11. Crabtree JE, Shallcross TM, Heatley RV, Wyatt JJ. Mucosa tumor necrosis factor and interleukin-6 in patients with *H. pylori* associated gastritis. *Gut* 1991;32:1473-1477.
 12. Gionchetti P, Vaira D, Campieri M, et al. Enhanced mucosal interleukin-6 and -8 in *H. pylori* positive dyspeptic patients. *Am J Gastroenterol* 1994;89:883-887.
 13. Leunk RD. Production of a cytotoxin by *Helicobacter pylori*. *Rev Infect Dis* 1990;13:S686-S689.
 14. Cover TL, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*: a bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease and gastric cancer. *ASM News* 1995;61:21-26.
 15. Figura N, Guglielmetti P, Rossolini A, et al. Cytotoxin production by *Campylobacter pylori* strains isolated from patients with peptic ulcers and from patients with chronic gastritis only. *J Clin Microbiol* 1991;27:225-226.
 16. Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995;270:17771-17777.
 17. Covacci A, Cinsini S, Bugnoli M, et al. Molecular characterization of the 128 kDa immunodominant antigen of *H. pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90: 5791-5795.
 18. Tummuru MK, Cover TL, Blaser MJ. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect Immun* 1993;61:1799-1809.
 19. Blaser MJ. Role of *vacA* and the *cagA* locus of *Helicobacter pylori* in human disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10:73-77.
 20. Miehle S, Kibler K, Kim JG, et al. Allelic variation in the *cagA* gene of *Helicobacter pylori* obtained from Korea compared to the United States. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1322-1325.
 21. Ching CK, Wong BC, Kwok E, Ong L, Covacci A, Lam SK. Prevalence of CagA-bearing *Helicobacter pylori* strains detected by the anti-CagA assay in patients with peptic ulcer disease and in controls. *Am J Gastroenterol* 1996;91:949-953.
 22. Xiang Z, Bugnoli M, Ponzetto A, et al. Detection in an enzyme immunoassay of an immune response to a recombinant fragment of the 128 kilodalton protein

- (CagA) of *Helicobacter pylori*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993;12:739-745.
23. Cover TL, Glupczynski Y, Lage AP, et al. Serologic detection of infection with *cagA+* *Helicobacter pylori* strains. J Clin Micro 1995;33:1496-1500.
24. Kuipers EJ, Perez-Perez GI, Meuwissen SG, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the *cagA* status. J Natl Cancer Inst 1995; 87:1777-1780.
25. Klaamas K, Held M, Wadstrom T, Lipping A, Kurtenkov O. IgG immune response to *Helicobacter pylori* antigens in patients with gastric cancer as defined by ELISA. Int J Cancer 1996;67:1-5.
26. Puryear W, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Effect of urease of HeLa cell vacuolation induced by *Helicobacter pylori* cytotoxin. Infect Immun 1991;59:1264-1270.
27. Harris PR, Mobley HL, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Smith PD. *H. pylori* urease induces monocyte/macrophage activation and cytokine production. Gastroenterology 1991;108:A109.
28. Hazell SL, Lee A. *Campylobacter pyloridis*, urease, hydrogen ion back-diffusion and gastric ulcers. Lancet 1986;2:15-17.
29. Smoot DT, Mobley HLT, Chippendale GR, Lewison JF, Resau JH. *Helicobacter pylori* urease activity is toxic to human gastric epithelial cells. Infect Immun 1990;58:1992-1994.
-