

Pathogenesis of Inflammation in *H. pylori* Infection

서울대학교 의과대학 내과학교실

정 현 채

*H. pylori*에 대하여 일부의 예외적인 관찰도 있으나 *H. pylori*는 위점막을 파괴하지 않는 비침습성(non-invasive) 세균이라는 사실에 대부분의 학자들이 동의하고 있으므로 위점막 표면에 머물러 있으면서 어떠한 기전으로 위점막에 고도의 염증반응을 일으키는가에 대하여서는 많은 부분이 의문점으로 남아 있다. 따라서 이를 설명하기 위한 수많은 가설들이 제시되고 있어 이들을 모두 소개한다는 것은 불가능한 일이라고 판단된다. 또한 생명과학의 발달에 따라 apoptosis, COX-2, NOS와 같은 새로운 이론에 대한 연구가 활발해짐에 따라 이러한 연구 방법이 *H. pylori*의 병태생리 연구에도 응용되고 있는 실정이다. 다음에 소개해 드릴 발병 기전 중의 어느 하나만이 작용하기보다는 여러 기전이 복합적으로 작용할 가능성이 많다고 생각된다.

1) *H. pylori*에 감염된 위상피세포주에서의 cytokine

실험 동물의 구강을 통하여 *Salmonella*와 *Listeria*와 같은 세균을 감염시킬 경우 혈액 속의 호중구는 세균 감염 수 시간 이내에 세균이 대장상피세포층을 투과하여 그 밑의 고유층에 이르기 전에도, 이미 대장상피세포층 바로 아래 조직으로 침습한다는 보고가 있다. 또한 병원성 세균이 인체 대장상피세포에 감염되었을 때, 상피세포 자체로부터 각종 친염증성 cytokine 유전자가 발현됨을 관찰하고 이를 정량적으로 측정하는 연구보고도 있다. 이는 사람의 위장관 상피 세포가 세균이나 독소와 같은 외부 침입원에 대한 물리적 장벽으로서의 역할이나 영양소, 전해질의 흡수 및 분비와 같은 전통적인 역할뿐만 아니라 세균 감염에 대하여 여러 cytokine들을 발현함으로써 위장관 점막에서의 염증반응을 촉발하고 지속시킴으로써 세균 감염에 대한 사람의 면역 반응에 관여함을 시사하는 관찰이다. 이같은 사실을 토대로 추정컨대, 상피 세포로부터 분비되는 cytokine이 *H. pylori* 감염의 병태생리에 중요한 역할을 하리라고 판단된다. 이런 추정을 뒷받침하는 것으로 *H. pylori*로 인체 위암 세포주를 감염시킨 후 세포 배양액의 부유물에서 interleu-

kin-8 (IL-8)을 증명한 연구가 있다. IL-8은 호중구들을 끌어 모으는 대표적인 cytokine이므로 *H. pylori*가 위점막 내로 파괴되지 않더라도 위상피세포 위에 부착된 뒤 이를 자극하여 위점막에 염증반응을 유발시킬 것으로 추정하고 있다. 그러나 cytokine은 그 작용이 서로 중복되는 경우가 많고 단일 세포에서 여러 종류의 cytokine이 발현되어 서로가 하나의 network를 이루고 있다. 인체 위상피세포주인 SNU-5를 *H. pylori*로 감염시킬 경우 세포주로부터 IL-8 뿐만 아니라 IL-1 α , IL-1 β 와 같은 cytokine의 mRNA도 감염 초기부터 발현되기 시작하여 수시간 지속되는 것을 관찰할 수 있다. 또한 염증반응을 더욱 증폭시키는 역할을 하는 GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), 그리고 호중구와 단핵구의 활성화를 통해 염증반응을 증강시키는 TNF (tumor necrosis factor) α 및 단핵구 또는 대식 세포들을 끌어 모아 활성화시키는 역할을 담당하는 MCP (monocyte chemoattractant protein)-1 등의 친염증성 cytokine들은 감염 후반부에 발현된다.

이처럼 cytokine이 염증반응에 깊이 관여하는 반면, 토끼로부터 분리한 위상피세포를 배양하면서 만든 케양의 실험적 모델을 이용한 연구 결과 epidermal growth factor, TGF (transforming growth factor) α 및 PDGF (platelet-derived growth factor) 등의 cytokine은 케양의 치유를 촉진함이 알려져 있다. 상술한 cytokine 이외에도 염증반응에 관여하는 cytokine들은 매우 많으며 새로운 cytokine들이 하루가 멀다 하게 밝혀지고 있으므로 이 방면에도 향후 심도 있는 연구가 진행되리라 생각된다.

2) *H. pylori*에 감염된 인체 위점막에서의 cytokine

또한 실험실에서 배양된 위상피세포가 아닌 *H. pylori*에 감염된 실제 환자의 위점막을 대상으로 cytokine을 조사한 연구들도 다수 발표된 바 있다.

H. pylori 감염에 의한 위점막 염증반응은 호중구와 만성 염증세포들의 침윤을 유발하며, 이러한 변화에는 chemokine이 중요한 역할을 담당한다. CXC chemokine인 IL-8, GRO α , ENA-78이 *H. pylori*에 감염된 위점막 조직에서 증가되는 것이 보고되었으나 mRNA의 발현을 정량적으로 측정하는 연구는 없다. 또한 *H. pylori*에 의해 유발되는 염증반응에 CC chemokine의 역할은 확실치 않다. 따라서 *H. pylori*에

책임저자 : 정현채, 서울시 중로구 연건동 28
서울대학교 의과대학 내과학교실, 110-744
Tel: 02-740-8112, Fax: 02-743-6701
E-mail: hyunchae@plaza.snu.ac.kr

감염된 위점막 조직에서 CXC chemokine (GRO α , ENA-78) 과 CC chemokine (MIP-1 α , MIP-1 β)의 mRNA 발현을 정량적으로 측정하여 chemokine 유전자 발현이 위점막 염증반응에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 내시경 소견상 정상군 6명과 위염 16명으로 구성된 비궤양성 대조군 22명, 위궤양 8명, 십이지장궤양 17명 등 47명을 대상하였다. *H. pylori* 감염 여부는 CLO 검사와 병리조직검사로 판정하였고 updated Sydney system에 의해서 *H. pylori* density와 호중구의 침윤 정도를 판정하였다. 위전정부 점막에서 RNA를 추출한 후 표준 합성 RNA를 이용한 정량적 역전사 PCR로 chemokine mRNA 분자수를 측정하였다. *H. pylori*에 감염된 위점막에서 발현되는 GRO α 와 ENA-78 mRNA 분자수는 감염되지 않은 위점막에 비해 각각 14배와 15배 증가되었다($P < 0.01$). 위점막의 호중구 침윤 정도가 증가함에 따라 GRO α 및 ENA-78 mRNA 발현은 증가하였다. *H. pylori*에 감염된 비궤양성 대조군, 위궤양, 십이지장궤양 환자에서 GRO α mRNA는 각 군 사이에 유의한 차이가 없었으나 위궤양 환자에서 ENA-78 mRNA는 대조군에 비하여 증가되었다($P < 0.05$). CC chemokine인 MIP-1 α 와 MIP-1 β 는 *H. pylori* 감염여부, *H. pylori* density, 호중구 침윤 정도 및 질환군 사이에 유의한 차이가 없었다. *H. pylori* 감염에 대한 박멸 치료 후에 CXC와 CC chemokine mRNA 발현은 모두 유의하게 감소하였다. CXC chemokine인 GRO α 및 ENA-78 유전자 상향 조절은 *H. pylori*에 의해 유발되는 위점막 염증반응에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.

3) 위점막이 위상피세포로부터의 cytokine 발현에 미치는 역할

점액층은 단백질, 당단백 및 지질로 이루어진 복합체로서 생체에서 위점막을 위시한 장관 점막을 덮고 있으며 장내 병원균 및 독성 물질로부터 인체를 방어해 준다고 알려져 있다. *H. pylori*에 감염될 경우 위점막을 덮고 있는 점액층을 파괴함으로써 위산의 역류와 독성 물질의 유입을 조장하는 것이 *H. pylori*에 의한 위염 발생 기전의 하나로 최근까지도 여겨져 왔다. 그러나 *H. pylori*에 감염된 환자의 점액의 점도는 감염이 치유된 환자에서보다 오히려 높다는 연구 보고가 발표되기도 하였는데 이는 *H. pylori*와 점액층과의 관계에 대한 기존의 학설과 상치된다.

뿐만 아니라 항생제로써 *H. pylori* 감염을 치유하고자 할 때 점액분해제를 동시에 투여하면 *H. pylori*의 박멸률이 훨씬 더 높아진다는 연구 결과가 발표된 바 있다. 이러한 두 편의 연구 논문이 암시하는 바는 위점막을 덮고 있는 점액층이 적어도 사람의 *H. pylori* 감염에 있어서 반드시 숙주에 도움을 주는 방향으로만 작용하지 않고 오히려 *H. pylori* 감염 자체를 장기화시키는 데 일조를 할 가능성을 암시한다고 생각된다.

Methylcellulose 용액으로 사람의 위점액층과 유사한 환경

을 조성한 뒤 *H. pylori*의 운동성을 관찰한 결과 *H. pylori*는 그 나선형 구조와 편모에 의해서 점도가 높은 용액 속에서도 운동성이 크게 증가됨이 보고된 바 있다. 반면 같은 정도의 점도를 나타내는 methylcellulose 용액 내에서 대장균은 전혀 움직이지 않았다. Methylcellulose를 배양된 인체 위상피세포주에 도포하고 *H. pylori*를 감염시킨 결과 methylcellulose를 도포하지 않은 경우보다 위상피세포로부터 IL-8 mRNA의 발현이 유의하게 증가할 뿐만 아니라 IL-8 cytokine 단백질의 분비도 크게 증가함을 확인할 수 있다. 이는 위점막을 덮고 있는 점액층에 의한 *H. pylori*의 운동성의 증가가 위상피세포로부터의 cytokine 유전자의 발현을 상향 조절한다는 것을 뜻한다.

4) *H. pylori*의 병독인자에 따른 cytokine 발현의 차이

Cytotoxin-associated gene (*cagA*)와 공포성 세포독소(vacuolating cytotoxin: VacA)는 *H. pylori*의 주요 병독 인자로 알려져 있으나 이들 병독 인자와 임상 질환 사이의 연관성에 대하여는 상반된 보고들이 있다. 우리나라 환자들에서 분리된 *H. pylori*를 이용하여 병독인자 유무를 조사하고 위상피세포주에 감염시켜 cytokine 분비 능력에 차이가 있는지를 알아보았다. *cagA* 유전자의 유무는 PCR법으로, 세포 독소 생성 유무는 세포 배양 상층액을 HeLa 세포에 작용시켜 관찰하였다. 실험 결과 병독 인자 유무와 소화성 궤양 및 위암과 같은 특정 질환 사이에는 연관성이 없었다. 또한 *H. pylori*가 위상피세포로부터 IL-1 α , IL-8, GM-CSF 및 MCP-1 등의 cytokine을 분비하는 정도와 병독 인자 사이에는 차이가 없음을 알 수 있었다. *cagA* 또는 세포독소와 같은 병독 인자의 유무와 위상피세포의 apoptosis 사이에는 별다른 차이를 관찰할 수 없었다. 이러한 연구 결과는 우리나라 성인에서 분리된 *H. pylori* 균주의 병독 인자 보유와 위장관 질환 사이에 관계가 없는 이유가 *H. pylori* 균주간의 친염증성 cytokine 발현 능력과 apoptosis 유도 능력이 동일한 것에 기인할 것임을 시사한다.

5) 호중구의 역할 및 호중구로부터의 cytokine의 발현

*H. pylori*의 감염 시 위점막에는 주로 림프구와 형질 세포로 이루어진 단핵세포 외에도 호중구들의 심한 침윤이 상피 세포층 바로 아래의 고유층(lamina propria)에서 광범위하게 관찰된다. 뿐만 아니라 일부 조직에서는 위상피세포층 내로 호중구의 침윤이 관찰되기도 한다. 학자에 따라서는 이러한 위상피세포층 내에서 발견되는 호중구의 존재로 *H. pylori*의 존재를 예측하기도 한다. 장관상피세포층에서 호중구가 관찰되는 현상은 위장에서의 *H. pylori*의 감염 이외에도 궤양성 대장염 같은 대장의 염증성 장질환이나 감염성 장염에서도 보고된 바 있다. 특히 궤양성 대장염에서는 호중구가 대장상피세포층을 관통하여 대장의 내강쪽에서 미세한 농양(microabscess)의 형태로 관찰되기도 하며 장

염의 활성도를 결정하는 요소이기도 하다. 이러한 미세농양은 *H. pylori*에 감염된 위점막조직에서도 발견된다.

생체내의 여러 곳에서 염증반응의 촉발 및 지속에 있어서 가장 중요한 역할을 하는 세포 중의 하나인 호중구(neutrophil)는 90년대 초반까지만 해도 최종적으로 분화된 세포로서 전사(transcription) 능력이 결여되어 있을 뿐 아니라 단백질 합성 능력도 거의 없는 것으로 알려져 있었다. 그러나 90년대 초반 이후 현재에 이르기까지 이러한 개념은 도전을 받게 되었고 여러 학자들의 연구 결과 호중구도 각종 단백질에 대한 mRNA를 발현할 수 있음이 알려지게 되었다. TNF α , TGF β 1 및 IL-8 등을 발현할 수 있음이 최근 수년간에 걸쳐 밝혀지고 있다. 한 개의 호중구로부터 발현되는 이러한 cytokine 단백질의 양은 단핵세포에 비하여는 10분의 1 내지 100분의 1 정도로 적다. 그러나 전체 혈액세포 내에서 호중구가 차지하는 비율을 고려할 때 염증 부위에서 분비되는 친염증성 cytokine 단백질의 양은 상당한 수준에 이를 것임을 쉽게 짐작할 수 있다.

(1) *H. pylori*와의 직접적인 접촉에 의한 호중구로부터의 cytokine의 발현: *H. pylori*에 감염된 위점막 조직을 현미경으로 관찰할 경우 위상피세포층을 통과하고 있는 호중구가 관찰되며 병리학자에 따라서는 이러한 현상이 관찰될 경우 *H. pylori* 감염을 쉽게 진단할 수 있다는 주장도 있다. 상피세포층을 통과한 호중구들이 음외농양(crypt abscess)의 형태로 발견되기도 하는 사실에 미루어 위상피세포층을 통과한 호중구들이 궁극적으로는 위점막에 부착되어 있는 *H. pylori*와 접촉하게 되고 이것이 *H. pylori*에 의한 위점막에서의 염증반응의 발생 기전에 역할을 할 가능성이 있다. 말초혈액으로부터 분리된 호중구에 *H. pylori*를 감염시킬 경우 1시간 후부터 chemokine mRNA의 발현이, 감염되지 않은 대조군에 비하여 현저히 상향 조절됨을 알 수 있다. mRNA의 상향 조절은 chemokine 단백질의 분비로 연결됨을 ELISA법으로 확인할 수 있다. 위상피세포층을 관통하는 호중구와 *H. pylori* 사이의 접촉에 의하여 호중구로부터 chemokine이 발현되고 이것은 위점막에서의 염증반응을 지속 및 증폭시키는 역할을 하리라 추정된다. 이는 *H. pylori* 감염에 의한 초기 염증반응이 위상피세포로부터 발현되는 일련의 chemokine에 의하여 촉발될 수 있다는 가설을 보완하는 것이라고 할 수 있다.

(2) *H. pylori*로부터 분비되는 물질에 의한 호중구로부터의 cytokine의 발현: 상술한 바와 같이 *H. pylori*와의 직접적인 접촉에 의하여 호중구로부터 cytokine이 발현될 가능성도 있으나 *H. pylori*로부터 분비되는 여러 가지 물질이 위상피세포층을 통과하여 고유층에 있는 호중구에 작용하여 호중구로부터 cytokine의 발현을 유도할 가능성도 있다. 호중구를 *H. pylori* 수용성 추출물로 자극해보면 호중구내 칼슘이온의 형광강도가 증가하며 활성화된 호중구에서 IL-8 및 GRO (growth related oncogene)s mRNA의 발현이 증가됨을

관찰할 수 있다. *H. pylori*에 감염된 위점막조직을 전자현미경으로 관찰하였을 때 여러 단계의 활성화된 호중구가 관찰된다. 혈관내피세포에 호중구가 부착된 후 transendothelial migration이 관찰되며 고유층 내의 호중구가 점막 선(gland)에 침윤하는 transepithelial migration도 관찰된다. 반면 *H. pylori*에 감염되지 않은 조직 내에서는 이러한 소견이 관찰되지 않는다. 호중구가 세균을 살상하는 데 필수적인 myeloperoxidase 양을 조사할 경우 실제 위점막에서의 myeloperoxidase 양은 *H. pylori* 밀도와 호중구 침윤 정도와 의미 있는 상관관계가 있음을 관찰할 수 있다. 이는 *H. pylori* 표면의 수용성 단백질에 의하여 호중구가 활성화되고 활성화된 호중구에서 neutrophil-activating chemokine 유전자가 상향 조절되어 호중구 유입이 증가됨으로써 *H. pylori* 감염에 의한 호중구의 위점막 침윤이 증폭될 수 있다고 생각된다. 이는 비침습성 세균인 *H. pylori*에 의한 위점막에서의 염증반응을 설명하는 한 기전이 될 수 있다.

6) *H. pylori* 감염과 위상피세포의 apoptosis

수많은 세포로 이루어진 생물체가 건강한 상태를 유지하려면 개체 안에서 새로운 세포가 만들어지는 일과 세포의 파괴가 균형을 이루어야 한다. 특히 세포의 자진 소멸(self destruction)으로써 세포의 숫자가 과다하지 않도록 하고 병든 세포들을 제거하는 기전인 세포고사(apoptosis 또는 programmed cell death)는 개체에 해로운 것이 될 수도 있으나 오히려 필수적인 것이기도 하다. 세포 죽음의 한 형태인 괴사(necrosis)는 세포가 심한 물리적 손상을 받거나 산소의 결핍 등에 봉착할 때 일어난다. 세포의 괴사가 일어날 때는 세포의 종창(swelling)과 더불어 염증반응을 수반한다. 그러나 apoptosis 때는 이러한 세포의 종창이나 염증반응이 일어나지 않는다. Apoptosis가 제대로 일어나지 않으면 암이나 전신성 홍반 낭창과 같은 자가면역질환 등이 발생하고 이와는 반대로 apoptosis가 과다하게 일어나면 AIDS나 Alzheimer병 등이 호발한다고 추정되고 있다. *H. pylori*에 감염된 위점막 조직에서 위상피세포의 apoptosis가 증가된 사실이 보고된 바 있으며 쥐의 위장에 *H. pylori*의 lipopolysaccharide를 투여한 결과 위상피세포의 apoptosis를 유발한다는 연구 결과가 발표된 바 있다. 또한 *H. pylori*에 감염된 사람의 위점막조직에서의 8-OH-dG (8-hydroxydeoxyguanosine), iNOS (inducible nitric oxide synthase) 그리고 apoptosis의 정도를 조사해 본 결과 감염된 사람에서 이와 같은 지표들이 대조군에 비하여 상승되어 있으며 *H. pylori*를 박멸함에 따라 감소함을 보고한 연구도 있다. 그러나 이러한 관찰들은 "apoptosis가 제대로 일어나지 않으면 암이 발생한다"는 일반적인 믿음에 상충되는 것이라고 할 수 있다. 이러한 상충되는 점을 설명하기 위하여 *H. pylori*가 위상피세포의 apoptosis를 촉진하나 이에 대한 보상기전으로 세포의 증식이 가속화되어 암으로의 진행을 유도할 것이라는 주장도 있다.

한편 현재까지 알려진 apoptosis의 경로로는 TNF 수용체를 통한 것과 Fas 수용체를 통한 것을 들 수 있다. 이 수용체에 TNF α 또는 Fas ligand가 결합될 경우 caspase 경로를 통해 apoptosis가 유도된다. 이 과정에서 caspase-3가 중심적인 역할을 담당한다고 알려져 있다. *H. pylori*에 감염된 인체 위상피세포의 apoptosis를 측정 한 뒤 이같은 apoptosis가 caspase-3의 활성을 통하여 유도되는지를 알아본 결과 *H. pylori*에 감염된 위상피세포에서는 감염 12시간 후에 caspase-3가 활성화되고 감염 18시간이 지나서야 apoptosis가 유도됨을 알 수 있다. 환자로부터 분리된 *H. pylori*의 *cagA* 또는 세포독소와 같은 병독 인자의 유무와 위상피세포의 apoptosis 사이에는 별 다른 차이를 관찰하지 못할 뿐만 아니라 내시경 소견과도 유의한 상관관계가 없음을 알 수 있다. 또한 apoptosis 정도와 caspase-3의 활성도도 *H. pylori*의 독성 인자의 유무에 따른 차이를 찾아 볼 수 없다. 이러한 연구 결과는 우리나라 성인에서 분리한 *H. pylori* 균주의 병독 인자 보유와 위장관 질환 사이에 관계가 없는 이유가 *H. pylori* 균주 간의 친염증성 cytokine 발현 능력과 apoptosis 유도 능력이 동일한 것에 기인할 것임을 시사한다.

7) *H. pylori*에 의한 위상피세포와 호중구에서의 cyclooxygenase-2 발현

염증반응에서 중요한 역할을 담당하는 것이 cyclooxygenase (COX)-2 및 prostaglandin (PG)이다. 위상피세포를 *H. pylori*로 감염시키면 위상피세포로부터 COX-2의 발현 증가와 이에 의한 PG E₂의 생성이 증가하는 것을 관찰할 수 있다. 그러나 COX-1의 발현에는 변화가 없다. COX-2 특이 억제제인 NS-398을 사용하여 COX-2의 발현을 억제하면 위상피세포의 apoptosis가 증가하는 것으로 보아 과발현된 COX-2가 위상피세포의 apoptosis를 억제하고 있음을 알 수 있다. 이는 *H. pylori* 감염에 의한 위암 발생 기전의 일부를 설명해 줄 수 있는 현상으로 생각된다. 또한 *H. pylori*로부터 추출한 수용성 단백질을 호중구에 투여한 후 COX-2 유전자 및 단백질 발현을 정량적 RT-PCR과 Western blot으로 확인해 보면 호중구에서 COX-2 유전자 및 단백질의 발현이 증가하였으며 PG E₂ 생성이 증가하는 것을 관찰할 수 있다.

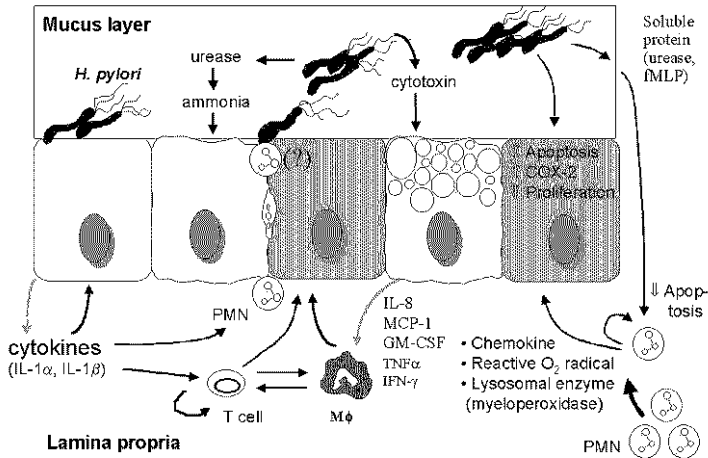
8) *H. pylori*의 호중구 apoptosis에 대한 영향

염증조직에 침윤한 호중구는 시간이 경과함에 따라 apoptosis가 진행되며 대식구에 의하여 탐식되어 분해됨으로써 염증반응이 소실된다. 어떠한 원인에 의하여 호중구 apoptosis가 지연될 경우 조직에서의 염증반응도 장기화됨으로써 개체에 크게 손상을 줄 수 있다. 그러므로 호중구 apoptosis는 염증성 조직 손상의 조절에 중요한 인자로서 인정되고 있다. *H. pylori*에 감염된 위점막에서는 침윤된 호중구의 apoptosis가 억제되어 염증반응이 지속될 가능성이 있다. 이 같은 가능성을 알아보기 위하여 *H. pylori* 수용성 추출물을

호중구에 투여한 후 호중구 apoptosis 정도를 확인한 결과 호중구 apoptosis가 대조군에 비하여 억제되고 세포생존율도 높게 나타남을 확인할 수 있다. 이러한 현상은 호중구에서의 FasL 발현 억제 및 Fas, TNF-R1의 세포표면에서의 발현억제에 기인하는 것으로 생각된다. 특히하게도 *H. pylori*는 위상피세포에 대하여는 apoptosis를 유발하지만 염증세포인 호중구에 대하여는 그 apoptosis를 억제함으로써 위점막에서의 염증반응을 지속시켜 나간다고 결론지을 수 있다. *H. pylori* 수용성 추출물을 호중구에 투여한 후 Bcl-2 유전자 중 apoptosis 억제 유전자인 Bcl-2, Bcl-X_L, Mcl-1과 apoptosis 촉진 유전자인 Bax, Bak, Bcl-X_s의 발현을 RT-PCR과 Western blot으로 측정해 본 결과 호중구에서 Bcl-X_L mRNA와 단백질의 발현이 증가하였으며 caspase-8와 caspase-3가 활성화되는 것이 억제되었다. 이러한 관찰은 *H. pylori*가 호중구의 apoptosis를 억제하는 기전의 일부를 설명해 주는 것이라고 할 수 있다.

9) *H. pylori*에 감염된 위상피세포에서의 NF- κ B 활성화와 신호전달 경로

*H. pylori*에 의하여 유도되는 염증반응과 apoptosis에는 *H. pylori*에 의해서 유발되는 세포 내 신호전달 경로의 활성화가 중요할 것으로 제시되었으나 아직 정확한 기전은 밝혀지지 않은 부분이 많다. *H. pylori*는 NF- κ B를 활성화시키고 친염증성 유전자의 발현을 상향 조절하는 것으로 알려져 있다. 최근 세포의 성장, 분화, 염증반응 및 사멸에 영향을 미치는 MAP (mitogen-activated protein) kinase 신호전달경로가 *H. pylori*에 의해 활성화된다는 보고가 있다. 그러나 *H. pylori*에 의해 활성화된 MAP kinase 신호전달 경로가 NF- κ B 활성화와 apoptosis에 미치는 영향에 대하여 알려진 바가 없었다. 이를 위하여 *H. pylori*에 의하여 MAP kinase 경로 중에서 ERK1/2가 활성화되는지 확인하고 ERK1/2 경로를 차단할 경우 NF- κ B 활성화와 apoptosis에 어떠한 영향을 미치는지 알아보았다. AGS 위상피세포주를 *H. pylori*로 감염시키고 ERK1/2 경로의 활성화를 Western blot법으로 확인하였다. *H. pylori* 자극 후에 I κ B 분해는 세포질 추출물로 Western blot법을 시행하고 NF- κ B의 핵내로의 이동은 면역세포화학염색(immunocytochemical stain)법으로 확인하였다. NF- κ B의 DNA 결합능은 핵추출물로 electrophoretic mobility shift assay (EMSA)를 시행하여 조사하였다. MEK1/2 차단제로 알려진 PD98059로 위상피세포주를 전처리한 후 *H. pylori*를 감염시켜 NF- κ B의 활성화에 미치는 영향을 평가하였다. 배양상층액에 포함된 interleukin-8의 농도는 ELISA를 이용하여 측정하였고 IL-8 mRNA의 발현은 표준 RNA를 이용한 정량적 역전사 PCR법으로 분석하였다. *H. pylori*에 의한 위상피세포의 apoptosis는 annexin V로 염색하여 flowcytometry를 이용한 분석법과 oligonucleosome-bound DNA ELISA법을 이용하여 측정하였다. *bcl-2* 연관 유전자



의 발현은 역전사 PCR법을 이용하여 분석하였다. 연구 결과 *H. pylori* 자극 후 활성화된 형태인 phosphorylated-ERK1/2의 양이 증가되었다. *H. pylori* 자극 후 세포질 내의 IκB가 감소하였고 NF-κB가 핵 내로 이동하여 DNA 결합능이 증가되었다. PD98059로 전처리하여 ERK1/2 경로가 차단되는 경우 *H. pylori*에 의한 NF-κB의 활성화가 감소하였고 *H. pylori* 자극 2시간째의 IL-8 mRNA 발현양이 1/10로 감소하였으며 배양상층액에 포함된 IL-8 단백질의 농도가 60% 정도로 유의하게 감소하였다. PD98059로 전처리하는 경우에 *H. pylori*에 의한 위상피세포의 apoptosis는 더욱 증가하였고 apoptosis를 억제하는 역할을 하는 *bcl-2* 유전자의 mRNA 발현은 감소되었다. 이상의 결과는 *H. pylori* 감염에 의하여 활성화되는 ERK1/2 신호전달경로는 위상피세포에서 NF-κB 활성화를 통하여 염증성 반응을 증가시키고 *bcl-2* 유전자의 발현을 증가시켜 apoptosis를 억제하는 역할을 함을 알 수 있었다.

요 약

위의 parietal cell 혹은 대식세포와 유사한 세포 내부에서 *H. pylori*가 발견된다는 보고가 있기는 하나 일반적으로 *H. pylori*는 *Shigella*와 같은 침습성 세균은 아닌 것으로 알려져 있다. 그럼에도 불구하고 *H. pylori*에 감염된 위점막에는 많은 수의 호중구를 위시한 염증세포의 침윤이 관찰되는데 *H. pylori*가 위상피세포에 부착할 경우 위상피세포를 자극하여 interleukin-8을 위시한 cytokine을 발현케하고 이에 의하여 호중구 등의 염증세포가 몰려들게 된다. 한편 고유층에 몰려든 호중구에서는 다시 interleukin-8을 위시한 일련의

호중구 활성화와 chemokine을 분비하여 염증반응을 증폭해 나갈 것이다. 호중구에서 발견되는 myeloperoxidase나 활성 산소 등도 위점막의 조직 손상에 기여할 것이다. 위상피세포를 덮고 있는 점액층은 위상피세포를 보호한다고 알려져 있으나 *H. pylori* 감염의 경우 점액층에 의하여 *H. pylori*의 운동성이 증가하고 이것이 위상피세포로부터의 cytokine 발현을 자극하여 염증반응을 증폭하는 데 관여할 가능성도 있다. *H. pylori*는 위상피세포에 대하여 apoptosis를 유도함과 동시에 고유층에 몰려든 호중구에 대하여는 apoptosis를 억제하여 궁극적으로 염증반응을 증폭 및 지속시켜 나가는 쪽으로 작용한다. 한편 *H. pylori*는 위상피세포로부터 COX-2의 발현을 증가시키는데 이는 위상피세포의 apoptosis를 억제하는 방향으로 작용한다. 이외에 *H. pylori*의 urease에 의하여 발생한 암모니아나 *H. pylori* 자신이 분비하는 세포독소가 세포 손상을 유발할 가능성도 있다. 상술한 여러 독성 인자들 중 어느 하나가 단독으로 작용하기보다는 여러 인자가 같이 동시에 또는 시차를 두고 작용할 가능성이 많다고 생각된다.

REFERENCES

- Kim JM, Kim JS, Jung HC, Song IS, Kim CY. Up-regulation of inducible nitric oxide synthase and nitric oxide in *Helicobacter pylori*-infected human gastric epithelial cells: possible role of interferon-γ in polarized nitric oxide secretion. *Helicobacter* 2002;7:(in press).
- Kim JS, Kim SG, Choi II, Park MJ, Kim BG, Jung HC, Song IS. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on duodenal ulcer scar in patients with no clinical history of duodenal ulcer.

- Aliment Pharmacol Ther 2002;16:275-280.
3. Choi JJ, Jung HC, Choi KW, Kim JH, Ahn DS, Yang US, Rew JS, Lee SI, Rhee JC, Chung IS, Chung JM, Hong WS. Efficacy of low-dose clarithromycin triple therapy and tinidazole-containing triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. Aliment Pharmacol Ther 2002;16:145-151.
 4. Kim YS, Kim JS, Jung HC, Lee CH, Kim CW, Song IS, Kim CY. Regression of low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma after eradication of *Helicobacter pylori*: possible association with p16 hypermethylation. J Gastroenterol 2002;37:17-22.
 5. Kim JS, Kim JM, Jung HC, Song IS. Expression of cyclooxygenase-2 in human neutrophils activated by *Helicobacter pylori* water-soluble proteins: possible involvement of NF- κ B and MAP kinase signaling pathway. Dig Dis Sci 2001;46:2277-2284.
 6. Kim JS, Kim JM, Jung HC, Song IS. Inhibition of apoptosis in human neutrophils by *Helicobacter pylori* water soluble proteins. Scand J Gastroenterol 2001;36:589-600.
 7. Kim JS, Kim JM, Jung HC, Song IS. Caspase-3 activity and expression of Bcl-2 family in human neutrophils by *Helicobacter pylori* water-soluble proteins. Helicobacter 2001;6:207-215.
 8. Kim JM, Kim JS, Jung HC, Song IS, Kim CY. Upregulated cyclooxygenase-2 inhibits apoptosis of human gastric epithelial cells infected with *Helicobacter pylori*. Dig Dis Sci 2000;45:2436-2443.
 9. Kim JM, Kim JS, Jung HC, Song IS, Kim CY. Apoptosis of human gastric epithelial cells via caspase-3 activation in response to *Helicobacter pylori* infection: Possible involvement of neutrophils through tumor necrosis factor-alpha and soluble Fas ligands. Scand J Gastroenterol 2000;35:40-48.
 10. Kim JS, Jung HC, Kim JM, Song IS, Kim CY. *Helicobacter pylori* water-soluble surface proteins activate human neutrophils and upregulate the expression of CXC chemokines. Dig Dis Sci 2000;45:83-92.
 11. Kim JM, Kim JS, Jung HC, Song IS, Kim CY. Virulence factors of *Helicobacter pylori* in Korean isolates do not influence proinflammatory cytokine gene expression and apoptosis in human gastric epithelial cells, nor do these factors influence the clinical outcome. J Gastroenterol 2000;35:898-906.
 12. Kim JS, Jung HC, Kim JM, Song IS, Kim CY. Interleukin-8 expression by human neutrophils activated by *H. pylori* soluble proteins. Scand J Gastroenterol 1998;33:1249-1255.
 13. Jung HC, Kim JM, Song IS, Kim CY. Increased motility of *Helicobacter pylori* by methylcellulose could upregulate the expression of proinflammatory cytokines in human gastric epithelial cells. Scand J Clin Lab Invest 1997;57:263-270.
 14. Jung HC, Kim JM, Song IS, Kim CY. *Helicobacter pylori* induces an array of proinflammatory cytokines in human gastric epithelial cells: quantification of mRNA for interleukin-8, -1 α / β , granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, monocyte chemoattractant protein-1 and tumour necrosis factor- α . J Gastroenterol Hepatol 1997;12:473-480.
 15. Jung HC, Eckmann L, Yang SK, Panja A, Fierer J, Morzycka-Wroblewska E, Kagnoff MF. A distinct array of proinflammatory cytokines is expressed in human colon epithelial cells in response to bacterial invasion. J Clin Invest 1995;95:55-65.
 16. 김정목, 김주성, 정현채, 고은주, 송인성, 김정룡. *Helicobacter pylori* 병독인자에 의한 인체 위상피세포의 친염증성 cytokine 발현과 apoptosis 유도 및 임상 질환과의 관계. 대한소화기학회지 2000;36:583-596.
 17. 최일주, 김주성, 정현채, 김정목, 이국래, 송인성, 김정룡. *Helicobacter pylori*에 감염된 위점막에서 CXC 및 CC Chemokine 유전자의 정량적 분석. 대한소화기학회지 2000;36:163-174.
 18. Crabtree JE, Peichl P, Wyatt JJ, Stachl U, Lindley JJ. Gastric interleukin-8 and IgA IL-8 autoantibodies in *Helicobacter pylori* infection. Scand J Immunol 1993;37:65-70.
 19. Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Tanahashi T, Kashima K, Imanishi J. Chemokines in the gastric mucosa in *Helicobacter pylori* infection. Gut 1998;42:609-617.
 20. Watanabe S, Wang XE, Hirose M, Oide H, Kitamura T, Miwa H, Miyazaki A, Sato N. Platelet-derived growth factor accelerates gastric epithelial restoration in a rabbit cultured cell model. Gastroenterology 1996;110:775-779.
 21. Sarosiek J, Slomiany A, Slomiany BL. Evidence of weakening of gastric mucus integrity by *Campylobacter pylori*. Scand J Gastroenterol 1988;23:585-590.
 22. Markesich DC, Anand BS, Lew GM, Graham DY. *Helicobacter pylori* infection dose not reduce the viscosity of human gastric mucus gel. Gut 1995;36:327-329.
 23. 김주성, 김정목, 김병관, 김상균, 김지원, 김찬규, 정현채, 송인성. *Helicobacter pylori* 수용성 단백질로 활성화된 호중구에 대한 Rebamipide의 효과. 대한소화기학회지 2002;39:13-21.