

인후두역류 관련 연구의 현황 및 전망

울산대학교 의과대학 서울아산병원 이비인후과학교실
최 승 호

= Abstract =

Present Status and Prospect of Researches on Laryngopharyngeal Reflux

Seung-Ho Choi, MD, PhD

Department of Otolaryngology, Asan Medicine Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

Although the prevalence of laryngopharyngeal reflux (LPR) is presumed to be very high, basic researches on LPR have not been active so far. This is a review of present status and prospect of researches on LPR to help readers' understanding of current trend on LPR research. *In vitro* and *in vivo* researches on acid/pepsin, intercellular junctions, bile juice, carbonic anhydrase, cytokines, and *Helicobacter pylori* were discussed. Considering that quality of life is getting more important in accordance with longer life span and that a fair proportion of LPR patients do not respond to conventional therapy, researches on pathogenesis and pathophysiology of treatment measures are necessary and it is anticipated for more and more researchers to concern themselves in basic research on LPR in the future.

KEY WORDS : Laryngopharyngeal reflux · Research · Animal experimentation.

서 론

인후두역류에 관한 연구는 대략 7가지 분야에서 이루어지고 있다고 할 수 있다. 1) 후두암, 천식, 후두연축(laryngospasm), 영아급사증후군(sudden infant death syndrome) 등 다른 질환과의 관련성에 대한 연구, 2) 인후두역류의 증상 및 소견에 대한 연구, 3) 발병기전에 대한 연구, 4) 인후두역류로 인한 신경생리적 반사에 대한 연구, 5) 인후두역류의 진단적 검사에 대한 연구, 6) 치료 효과에 대한 연구, 7) 세포생물학적인 연구가 그것인데, 그 중에서도 기초 연구라고 한다면 발병기전, 신경생리적 반사에 대한 *in vitro* 및 *in vivo* 연구와 세포생물학적 연구 정도가 될 것이다. Kaufman group을 제외하면 인후두역류에 대한 기초연구를 지속적으로 수행하여 논문을 발표하는 연구자가 거의 없다시피 한데, 비록 인후두역류의 유병률이 정확히 알려지지는 않았으나 이비인후과에 내원하는 환자

중 역류와 관련된 증상을 가지는 비율이 10%에 이르며¹⁾ 미국 성인의 15~44%가 위식도역류질환 증상을 가지고 있다는 보고²⁾를 고려하면 유병률이 매우 높을 것으로 짐작되는데 이에 비해 인후두역류에 대한 기초연구가 부족하다고 하지 않을 수 없다. 본 논문에서는 인후두역류의 병태생리에 관한 기존의 연구를 살펴봄으로써 인후두역류 연구의 현황을 파악하고 향후 연구의 방향을 설정하는데 도움이 되고자 하였다.

산과 펩신

인후두역류는 1980년대 후반 위식도역류질환의 연장선 상에서 이해되기 시작하였다. 위산의 산성 성분에 의해 증상과 소견이 발병한다고 생각되나, 그 병태생리와 분자생물학적 기전은 아직 완전히 밝혀지지 않고 있다. 한때는 인후두역류의 증상이 실제로 위산이 인두나 후두를 손상시키는 대신 미주신경에 의한 신경반사에 의해 나타난 증상이라고 믿기도 하였지만, 인두 및 식도 이중 탐침 pH 검사에 의해 인두에 존재하는 위산이 증명됨으로써³⁾ 인후두역류의 증상은 역류된 위산 자체에 의한다는 주장이 설득력을 갖게 되었다. 위로부터 역류되는 주 내용물은 산과 펩신으로 구성되며⁴⁾ 이들이 식도와 후두의 상피세포를 손상시킨다는 사실은

논문접수일 : 2007년 11월 14일
심사완료일 : 2007년 11월 17일
책임저자 : 최승호, 138-878 서울 송파구 풍납동 388-1
울산대학교 의과대학 서울아산병원 이비인후과학교실
전화 : (02) 3010-3750 · 전송 : (02) 489-2773
E-mail : shchoi@amc.seoul.kr

실험적으로도 증명이 된 바 있다.^{5,6)} 펩신은 산에 의해 활성화되는 단백질분해효소로서 위 점막의 주세포(chief cell)에 의해 펩시노겐의 형태로 분비된다. 펩시노겐은 벽세포(parietal cell)에서 분비된 염산의 작용에 의해 unfolding되고 자가촉매작용(autocatalysis)에 의해 잘라져 펩신을 형성하며 펩신은 pH 3 이하의 산성 조건에서 높은 활성을 가진다. 인후두역류 환자의 후두 점막에는 펩신이 존재하지만 정상인의 후두에서는 발견되지 않는다는 보고⁷⁾가 있어 펩신이 인후두역류에서도 병인으로 작용할 가능성을 보여주었다. 또한 펩신은 receptor-mediated endocytosis에 의해 후두 상피 세포질 내로 들어와 Sep70, Sep50, Hsp70 등의 스트레스 관련 단백질 발현을 유도하고 이어서 세포의 손상을 초래한다고 보고된 바 있다.⁸⁾ 동물실험으로 토끼의 식도 점막을 pH 2 이하의 염산에 1시간 동안 노출시키면 상피 기저세포의 손상이 초래되며, 여기에 펩신을 더하면 손상의 정도가 더욱 심해진다.^{9,10)} 상피의 기저층에는 소수의 줄기세포가 존재하며 이들은 긴 주기로 분열하여 자식 줄기세포를 만드는 동시에 높은 분열 능력을 가진 transient amplifying cell을 생산함으로써 상피를 유지하는 역할을 하고 있다.¹¹⁾ 따라서 줄기세포가 손상되면 상피층의 손상을 복구하지 못하므로 위산 등 유해물질에 의한 상피의 손상 효과가 가중되게 된다. 산과 펩신을 우선적으로 접촉하는 상피의 표면 뿐만 아니라 기저층의 세포가 손상된다는 사실은 유해물질의 침투를 막는 상피 세포사이이음(epithelial intercellular junction)에 이상이 생겼다는 사실을 의미하며 펩신이 분해하는 표적 단백질이 세포간 결합을 구성하는 단백질일 가능성에 주목하여 이에 대한 연구가 이루어지고 있다.

세포사이이음

위산과 펩신의 지속적이고 반복적인 자극은 식도와 후두 상피의 보호기전 특히 세포사이이음을 변화시켜 상피층의 손상을 초래한다고 생각되고 있다. 상피층은 후두의 표면을 덮어 후두강 내의 위해 요소로부터 신체를 보호하며, 여기에는 상피층의 극성(polarity)과 상피 세포사이이음이 결정적인 역할을 하고 있다. 상피 이음부복합체(epithelial junctional complex)는 치밀이음부(tight junction 또는 zonula occludens), adherens 이음부, 세포질내연결소체(desmosome)로 구성되며, 조직에 따라서 틈새이음(gap junction)이 있어 치밀이음부와 교차 위치하기도 한다.^{12,13)} 치밀이음부는 zonula occludens-1(ZO-1), occludin과 같은 세포질 및 세포막 단백질로 구성되며 상피세포의 침투 및 기저층부 세포막에 위치하여 외부의 물질이 세포주위 공간(para-

cellular space)으로 들어오는 것을 일차적으로 차단한다. 또한 adherens 이음부는 E-cadherin을 비롯한 transmembrane glycoprotein으로 구성되며 세포질 내 α - 및 β -catenin과 actin 등의 cytoskeleton에 연결되어 세포의 이동과 손상 복구에 관여한다.¹⁴⁾ 인후두역류 환자의 후두 점막에서는 E-cadherin의 발현이 정상인에 비해 감소되어 있으며, 특히 성대보다는 후교련(posterior commissure)이나 후두실(laryngeal ventricle) 점막에서의 발현이 적어 후두 내에서도 부위에 따라 발현 양상이 다른 것으로 보고된 바 있다.¹⁵⁾ 같은 연구에서 펩신 또한 정상 후두에서는 관찰되지 않은 반면 인후두역류 환자의 후두에서는 관찰되었고 상피층 상부보다는 기저층에서 더욱 강하게 검출되어 세포사이이음의 방어 기전이 손상되었음을 보여주었다. 세포사이이음이 인후두역류의 주 표적일 것이라는 추정 하에 인후두역류를 연구하기에 적합한 동물 모델을 찾는데 세포사이이음 상태가 활용되기도 한다. Gill 등의 연구에 따르면 돼지, 토끼, 쥐, 생쥐, 기니피그의 후두 점막의 조직학적 형태와 세포사이이음을 구성하는 단백질의 발현 양상을 사람의 것과 비교한 결과, 돼지와 토끼의 후두는 사람과 같이 중층편평상피와 섬모원주상피를 모두 가지고 있지만 쥐, 생쥐, 기니피그의 후두는 각질중층상피로 구성되어 있고, E-cadherin과 β -catenin의 발현양상 역시 돼지와 토끼의 후두가 다른 동물에 비해 사람의 후두와 유사하다고 하여 후두의 크기까지 감안하면 돼지가 인후두역류를 연구하기에 가장 적합하다고 하였다. 이 연구에서 ZO-1과 occludin의 발현은 관찰한 동물 간에 차이가 없었는데 후두에서 치밀이음부 구성 단백질의 발현을 관찰한 최초의 연구라는 점을 강조하고 있다.¹⁶⁾

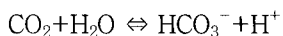
담즙

Proton pump inhibitor를 포함한 치료에 저항하는 경우가 드물지 않으며,¹⁷⁾ 후두 내 pH 저하와 증상 혹은 소견과의 상관성이 낮은^{18,19)} 사실은 단순한 위산 역류 이외의 병태생리학적 기전이 존재함을 시사한다. 실제로 위산과 펩신 뿐만 아니라 담즙과 음식물 등의 비산성 역류 역시 중요한 역할을 함이 실험적으로 증명되고 있다. 토끼의 식도를 담즙의 성분인 taurodeoxycholate로 자극하면 식도 점막의 장벽기능이 크게 저하되며,²⁰⁾ 담즙이 식도염과 식도 선암종을 유발한다는 보고도 있다.²¹⁾ 바렛식 화생(Barrett's metaplasia)-형성이상(dysplasia)-선암종으로 단계적으로 변화함에 따라 cyclooxygenase-2(COX-2)의 발현이 점차 증가함이 알려져 있고,²²⁾ 담즙 또는 gastrin의 역류가 식도

점막의 COX-2 발현을 증가시키는 것도 실험적으로 증명되어 역류성 식도염의 병태생리에 있어 담즙의 역할이 COX-2 발현 기전을 통합이 밝혀졌다.²³⁾²⁴⁾ 담즙과 COX-2와의 관계는 인두에서도 증명되었는데, Sung 등은 배양한 인두 상피세포를 chenodeoxycholate로 처리하면 COX-2 발현이 증가하여 인후두역류가 인두암 또는 후두암을 일으키는 한 기전이 될 수 있음을 보여주었다.²⁵⁾ 토끼를 이용한 성문하협착 모델에서 담즙과 펩신은 산성 상태에서 성문하협착을 악화시키며 담즙, 펩신 단독보다는 함께 작용하였을 때 더욱 영향이 크다고 보고된 바 있어 역류에 의한 기도협착의 한 기전으로 설명하고 있다.²⁶⁾

Carbonic Anhydrase

알려진 바 대로 위식도역류질환과 인후두역류는 병태생리나 임상양상에서 차이를 보인다. 인후두역류에서의 역류는 주로 주간의 기립위에서 발생하며 위식도역류질환의 역류는 야간의 앙와위에서 발생하는 등 역류의 양상이 다르기도 하지만,²⁷⁾ 후두 점막 자체가 식도 점막과 달리 역류에 의한 손상에 취약한 것도 중요한 원인이다. 앞에서 언급한 상피 세포사이이음에 더하여 carbonic anhydrase 역시 역류 차단 기전으로 주목을 받고 있는데 후두 점막이 산에 약한 특성을 carbonic anhydrase 차이로 해석하려는 노력이 있어 왔다. Carbonic anhydrase는 생물체 내에 매우 광범위하게 존재하는 아연 함유 효소로서 아래의 반응을 촉매하여 CO₂, HCO₃⁻, H⁺, Cl⁻ 이온의 운송을 매개하며, 생산된 HCO₃⁻는 음이온 교환에 의해 세포 밖으로 배출되어 세포외공간(extracellular space)에서 H⁺이온을 중화한다.



Carbonic anhydrase는 α -, β -, γ -, δ -carbonic anhydrase의 서로 진화적으로 무관한 네 종류의 유전자로부터 만들어지며 척추동물에는 α -carbonic anhydrase가 존재한다. 현재까지 밝혀진 α -carbonic anhydrase는 세포질에 존재하는 CA I-III, CA VII, 세포막에 존재하는 CA IV, CA IX, CA XII, CA XIV, CA XV, 미토콘드리아에 존재하는 CA V 등 16종의 동종효소가 있다.²⁹⁾ 식도 상피에는 CA I, II, III, IV가 존재함이 보고되었는데 CA I과 CA III는 기저층에 주로 존재하는 반면 CA II와 CA IV는 상기저층에 주로 존재하고 상피의 상부로 갈수록 발현의 정도가 감소하며 부식성 위산에 대항하여 식도 점막을 보호하는 기능을 한다고 하였다.³⁰⁾ 정상 후두 점막에서도 역시 CA I, II, III의 발현되지만 인후두역류 환자의 후두에서는 CA I과 II의 발현은 정상인과 차이가 없는 반면, CA III의 발현

은 정상인에 비해 감소하여 CA III에 의한 방어기체의 부재가 인후두역류의 병인에 중요하다고 하였다.³¹⁾ CA III 발현의 감소는 pH가 낮거나 특히 펩신 노출이 동반되었을 때 현저하여 carbonic anhydrase, pH, 펩신이 인후두역류에 있어 복합적인 병인으로 작용한다고 하였다.

Cytokines

Interleukin 8(IL-8), Monocyte Chemoattractant Protein 1(MCP-1), Regulated on Activation, Normal T-Cell Expressed and Secreted(RANTES) 등의 염증 관련 cytokine은 *Helicobacter pylori* 감염과 관련된 위염과 위식도역류질환 점막 조직에서 분비가 증가되어 있음이 보고된 바 있으며,³²⁾³³⁾ IL-8과 RANTES는 각각 호중구와 호산구를 동원하는 역할을 하여 염증 반응을 매개한다.³⁴⁾ 위식도역류질환 환자를 8주간 lansoprazole(30mg/day)로 치료한 후 식도 점막을 채취한 결과 IL-8, MCP-1, RANTES의 발현이 치료 전에 비해 감소하여 상기 cytokine이 위식도역류질환의 병태생리에서 중요하다는 사실이 입증되었다.³³⁾ Thibeault 등은 비슷한 방법으로 인후두역류 환자에서 10주간 rabeprazole(40mg/day)치료 전후 TGF- β , VEGF, IL-1a, IL-1b, TNF- α , FGF2, IL-6, IL-8의 발현 정도를 real time PCR을 이용하여 보았는데 위식도역류질환에서와는 달리 치료 전후에 유의한 차이를 보이지 않았으며 증상의 호전과도 상관관계가 없다고 하였다. 예비연구로서 보고하면서 저자들은 후두는 식도와 달리 약물 치료에 대한 반응이 약하거나 치료 기간이 충분히 길지 않았을 가능성을 제시하였다.³⁵⁾ pH 5의 산과 펩신에 노출된 후두 섬유아세포는 TGF β -1, VEGF, FGF-2, EGR-1, ATF-3, CTGF, MMP-1, MMP-2, decorin 발현이 변화하며 60초 이내의 짧은 자극에 더욱 큰 변화를 보여 인후두역류의 증상, 소견 발생에 있어 역류의 duration이 길지 않아도 된다는 임상적 관찰이 실험적으로도 증명되었다.³⁶⁾

Helicobacter Pylori

1984년 Marshall 등이 소개한 이래 *Helicobacter pylori*는 많은 기초 및 임상 연구에서 논란의 초점에 있어왔다.³⁷⁾ *H. pylori*가 만성 위염, 위궤양 및 위암의 발생에서 중요한 역할을 함은 이미 널리 알려져 있으나, 위식도역류질환이나 인후두역류에서의 역할에 대해서는 아직 일관된 결과가 나오지 않아 더 많은 연구가 필요한 상태이다. *H. pylori*는 나선형의 그람음성 세균으로서 강한 산성 환경에서도 살

수 있는 특성으로 인해 위와 십이지장에 주로 기생한다. 4~6개의 편모(flagella)를 가지고 있어 위 점막의 mucus gel layer를 뚫고 들어갈 수 있으며, 점막 상피 표면의 당지질에 집착한 후 CagA, VacA, IceA 등의 작용으로 점막을 파괴하고 IL-1, -2, -6, -8, -12, IFN- γ , TNF- α , - β , 림프구 및 탐식세포에 의한 염증반응을 유발한다.³⁸⁾ 위식도역류질환의 발생에 *H. pylori*가 역할을 할 것이라는 기대와 달리 *H. pylori* 감염은 식도염 또는 Barrett씨 식도를 억제한다거나,³⁹⁾ *H. pylori*를 치료한 후 오히려 위식도역류질환이 증가된다는 보고도 있으며,⁴⁰⁾ 24시간 식도 pH 감시 또는 내시경적 소견과 *H. pylori* 감염과의 관련성이 없다고 보고되는 등,⁴¹⁾ 부정적인 결과로 인해 미국 위장관학회의 지침에서 위식도역류질환에 대한 *H. pylori* 치료는 “Controversial”의 범주에 속하고 있다.⁴²⁾ 후두암 조직에서 *H. pylori* 감염이 빈번함은 다수의 보고가 있으나⁴³⁾⁴⁴⁾ 정상 또는 인후두역류 환자의 후두 조직에서 *H. pylori* 존재를 관찰한 연구는 아직 없는 듯 하다. 다만 혈청학적으로 혹은 위 조직에서 *H. pylori* 감염과 인후두역류와의 관계를 살펴본 연구는 다수가 있는데 위식도역류질환과 마찬가지로 결과가 일관되지 않아 병인으로서의 역할을 단정하기 어렵다.⁴⁵⁻⁴⁷⁾

기 타

많은 연구자들은 인후두역류와 후두 기도 과민성(Laryngeal airway hyperreactivity)에 관심을 가지고 천식이나 후두 연축과의 관련성을 연구하고 있다. 산에 의한 후두 연축은 실험적으로 증명되며 영아급사중후군의 한 기전으로 제시되었다.⁴⁸⁻⁵⁰⁾ 쥐의 후두를 산과 펩신으로 자극한 후 압모니아 증기를 흡입하도록 하여 후두 기도 과민성을 유발하는 동물모델로 연구한 결과, 강한 산(pH 2)보다는 오히려 pH 5의 약한 산과 펩신을 가했을 때 후두 기도 과민성이 강하게 유도되며 여기에는 capsaicin 민감성 후두 구심성 섬유와 수산화기(-OH)를 통한 기전이 작용한다고 한다.⁵¹⁾

후두의 seromucous gland에는 proton pump(H^+/K^+ -ATPase)가 존재함이 증명되고 있는데 위산 역류가 아닌 후두 자체에서 생산되는 산에 의해 인후두역류 증상이 발생할 수 있으며 동시에 proton pump 억제제의 작용 기관이 될 수 있다는 사실을 보여준다.⁵²⁾⁵³⁾

결 론

인후두역류에 대한 연구는 주로 임상 연구에 치중되고 기초 연구는 Kaufmann group을 비롯한 소수에 의해서만 보

고되어 타 분야에 비해 매우 미흡하다고 할 수 있다. 그것은 환자나 정상인의 후두 조직을 얻기 어렵기도 하지만, 인후두역류의 증상이 경미하고 심각한 후유증을 초래하는 경우가 드물어 임상학들이 경험적 치료에 의존하여 기초 연구에 관심을 덜 기울였기 때문이기도 할 것이다. 그러나 유병률이 매우 높고 경험적 치료에 반응하지 않는 환자의 수가 적지 않으며, 수명 연장과 함께 삶의 질을 중요시하는 현재의 경향을 고려할 때 발병과 치료의 병태생리에 대한 이해를 높이기 위한 기초연구가 필요하며 향후 활발한 연구가 이루어질 것으로 전망된다.

중심 단어 : 인후두역류 · 기초연구 · 동물실험.

REFERENCES

- 1) Richter JE. Typical and atypical presentations of gastroesophageal reflux disease. The role of esophageal testing in diagnosis and management. *Gastroenterol Clin North Am* 1996;25 (1):75-102.
- 2) Howard PJ, Heading RC. Epidemiology of gastro-esophageal reflux disease. *World J Surg* 1992;16 (2):288-93.
- 3) Wiener GJ, Koufman JA, Wu WC, Cooper JB, Richter JE, Castell DO. Chronic hoarseness secondary to gastroesophageal reflux disease: documentation with 24-h ambulatory pH monitoring. *Am J Gastroenterol* 1989;84 (12):1503-8.
- 4) Gotley DC, Morgan AP, Ball D, Owen RW, Cooper MJ. Composition of gastro-oesophageal refluxate. *Gut* 1991;32 (10):1093-9.
- 5) Goldberg HL, Dodds WJ, Gee S, Montgomery C, Zboralske FF. Role of acid and pepsin in acute experimental esophagitis. *Gastroenterology* 1969;56 (2):223-30.
- 6) Sant'Ambrogio FB, Sant'Ambrogio G, Chung K. Effects of HCl-pepsin laryngeal instillations on upper airway patency-maintaining mechanisms. *J Appl Physiol* 1998;84 (4):1299-304.
- 7) Johnston N, Knight J, Dettmar PW, Lively MO, Koufman J. Pepsin and carbonic anhydrase isoenzyme III as diagnostic markers for laryngopharyngeal reflux disease. *Laryngoscope* 2004;114 (12):2129-34.
- 8) Johnston N, Dettmar PW, Lively MO, Postma GN, Belafsky PC, Birchall M, et al. Effect of pepsin on laryngeal stress protein (Sep70, Sep53, and Hsp70) response: role in laryngopharyngeal reflux disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006;115 (1):47-58.
- 9) Tobey NA, Koves G, Orlando RC. HCl-induced cell edema in primary cultured rabbit esophageal epithelium. *Gastroenterology* 1997;112 (3):847-54.
- 10) Tobey NA, Hosseini SS, Caymaz-Bor C, Wyatt HR, Orlando GS, Orlando RC. The role of pepsin in acid injury to esophageal epithelium. *Am J Gastroenterol* 2001;96 (11):3062-70.
- 11) Alonso L, Fuchs E. Stem cells of the skin epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100 (Suppl 1):11830-5.
- 12) Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2 (4):285-93.
- 13) Matter K, Balda MS. Epithelial tight junctions, gene expression and nucleo-junctional interplay. *J Cell Sci* 2007;120 (Pt 9):1505-11.
- 14) Pecina-Slaus N. Tumor suppressor gene E-cadherin and its role in normal and malignant cells. *Cancer Cell Int* 2003;3 (1):17.
- 15) Gill GA, Johnston N, Buda A, Pignatelli M, Pearson J, Dettmar PW, et al. Laryngeal epithelial defenses against laryngopharyngeal reflux: investigations of E-cadherin, car-bonic anhydrase isoenzyme III, and pepsin. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2005;114 (12):913-21.
- 16) Gill GA, Buda A, Moorghen M, Dettmar PW, Pignatelli M. Characterisation of adherens and tight junctional molecules in normal animal

- larynx: determining a suitable model for studying molecular abnormalities in human laryngopharyngeal reflux. J Clin Pathol* 2005; 58 (12):1265-70.
- 17) Amin MR, Postma GN, Johnson P, Digges N, Koufman JA. Proton pump inhibitor resistance in the treatment of laryngopharyngeal reflux. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 125 (4):374-8.
 - 18) Noordzij JP, Khidr A, Desper E, Meek RB, Reibel JF, Levine PA. Correlation of pH Probe-Measured Laryngopharyngeal Reflux With Symptoms and Signs of Reflux Laryngitis. *Laryngoscope* 2002; 112 (12):2192-5.
 - 19) Hicks DM, Ours TM, Abelson TI, Vaezi MF, Richter JE. The prevalence of hypopharynx findings associated with gastroesophageal reflux in normal volunteers. *J Voice* 2002; 16 (4):564-79.
 - 20) Lillemoe KD, Johnson LF, Harmon JW. Alkaline esophagitis: a comparison of the ability of components of gastroduodenal contents to injure the rabbit esophagus. *Gastroenterology* 1983; 85 (3):621-8.
 - 21) Shirvani VN, Ouatu-Lascar R, Kaur BS, Omary MB, Triadafilopoulos G. Cyclooxygenase 2 expression in Barrett's esophagus and adenocarcinoma: Ex vivo induction by bile salts and acid exposure. *Gastroenterology* 2000; 118 (3):487-96.
 - 22) Morris CD, Armstrong GR, Bigley G, Green H, Attwood SE. Cyclooxygenase-2 expression in the Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence. *Am J Gastroenterol* 2001; 96 (4):990-6.
 - 23) Zhang F, Altorki NK, Wu YC, Soslow RA, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Duodenal reflux induces cyclooxygenase-2 in the esophageal mucosa of rats: evidence for involvement of bile acids. *Gastroenterology* 2001; 121 (6):1391-9.
 - 24) Abdalla SI, Lao-Sirieix P, Novelli MR, Lovat LB, Sanderson IR, Fitzgerald RC. Gastrin-induced cyclooxygenase-2 expression in Barrett's carcinogenesis. *Clin Cancer Res* 2004; 10 (14):4784-92.
 - 25) Sung MW, Roh JL, Park BJ, Park SW, Kwon TK, Lee SJ, et al. Bile acid induces cyclo-oxygenase-2 expression in cultured human pharyngeal cells: a possible mechanism of carcinogenesis in the upper aerodigestive tract by laryngo-pharyngeal reflux. *Laryngoscope* 2003; 113 (6):1059-63.
 - 26) Roh JL, Lee YW, Park HT. Effect of acid, pepsin, and bile acid on the stenotic progression of traumatized subglottis. *Am J Gastroenterol* 2006; 101 (6):1186-92.
 - 27) Koufman JA. The otolaryngologic manifestations of gastroesophageal reflux disease (GERD): a clinical investigation of 225 patients using ambulatory 24-hour pH monitoring and an experimental investigation of the role of acid and pepsin in the development of laryngeal. *Laryngoscope* 1991; 101 (4 Pt 2 Suppl 53):1-78.
 - 28) Tashian RE. The carbonic anhydrases: widening perspectives on their evolution, expression and function. *Bioessays* 1989; 10 (6):186-92.
 - 29) Supuran CT, Scozzafava A. Carbonic anhydrases as targets for medicinal chemistry. *Bioorg Med Chem* 2007; 15 (13):4336-50.
 - 30) Christie KN, Thomson C, Xue L, Lucocq JM, Hopwood D. Carbonic anhydrase isoenzymes I, II, III, and IV are present in human esophageal epithelium. *J Histochem Cytochem* 1997; 45 (1):35-40.
 - 31) Johnston N, Bulmer D, Gill GA, Panetti M, Ross PE, Pearson JP, et al. Cell biology of laryngeal epithelial defenses in health and disease: further studies. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003; 112 (6):481-91.
 - 32) Isomoto H, Miyazaki M, Mizuta Y, Takeshima F, Murase K, Inoue K, et al. Expression of nuclear factor-kappaB in Helicobacter pylori-infected gastric mucosa detected with southwestern histochemistry. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35 (3):247-54.
 - 33) Isomoto H, Wang A, Mizuta Y, Akazawa Y, Ohba K, Omagari K, et al. Elevated levels of chemokines in esophageal mucosa of patients with reflux esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98 (3):551-6.
 - 34) Mukaida N, Harada A, Matsushima K. Interleukin-8 (IL-8) and monocyte chemoattractant and activating factor (MCAF/MCP-1), chemokines essentially involved in inflammatory and immune reactions. *Cytokine Growth Factor Rev* 1998; 9 (1):9-23.
 - 35) Thibeault SL, Smith ME, Peterson K, Ylitalo-Moller R. Gene Expression Changes of Inflammatory Mediators in Posterior Laryngitis Due to Laryngopharyngeal Reflux and Evolution With PPI Treatment: A Preliminary Study. *Laryngoscope* 2007; 117 (11):2050-6.
 - 36) Ylitalo R, Thibeault SL. Relationship between time of exposure of laryngopharyngeal reflux and gene expression in laryngeal fibroblasts. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2006; 115 (10):775-83.
 - 37) Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1 (8390):1311-5.
 - 38) Maeda S, Mentis AF. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2007; 12 Suppl 1:10-4.
 - 39) Vaezi MF, Falk GW, Peek RM, Vicari JJ, Goldblum JR, Perez-Perez GI, et al. CagA-positive strains of Helicobacter pylori may protect against Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2000; 95 (9):2206-11.
 - 40) Labenz J, Blum AL, Bayerdorffer E, Meining A, Stolte M, Borsch G. Curing Helicobacter pylori infection in patients with duodenal ulcer may provoke reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1997; 112 (5):1442-7.
 - 41) Gisbert JP, de Pedro A, Losa C, Barreiro A, Pajares JM. Helicobacter pylori and gastroesophageal reflux disease: lack of influence of infection on twenty-four-hour esophageal pH monitoring and endoscopic findings. *J Clin Gastroenterol* 2001; 32 (3):210-4.
 - 42) Chey WD, Wong BC. American College of Gastroenterology guideline on the management of Helicobacter pylori infection. *Am J Gastroenterol* 2007; 102 (8):1808-25.
 - 43) Aygenç E, Selçuk A, Celikkanat S, Ozbek C, Özdem C. The role of Helicobacter pylori infection in the cause of squamous cell carcinoma of the larynx. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2001; 125 (5):520-1.
 - 44) Kizilay A, Saydam L, Aydın A, Kalcioğlu MT, Özturan O, Aydın NE. Histopathologic examination for Helicobacter pylori as a possible etiopathogenic factor in laryngeal carcinoma. *Chemotherapy* 2006; 52 (2):80-2.
 - 45) Ercan I, Cakir BO, Uzel TS, Sakiz D, Karaca C, Turgut S. The role of gastric Helicobacter pylori infection in laryngopharyngeal reflux disease. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 135 (1):52-5.
 - 46) Tezer MS, Kockar MC, Kockar O, Celik A. Laryngopharyngeal reflux finding scores correlate with gastroesophageal reflux disease and Helicobacter pylori expression. *Acta Otolaryngol* 2006; 126 (9):958-61.
 - 47) Oridate N, Takeda H, Yamamoto J, Asaka M, Mesuda Y, Nishizawa N, et al. Helicobacter pylori seropositivity predicts outcomes of acid suppression therapy for laryngopharyngeal reflux symptoms. *Laryngoscope* 2006; 116 (4):547-53.
 - 48) Loughlin CJ, Koufman JA, Averill DB, Cummins MM, Kim YJ, Little JP, et al. Acid-induced laryngospasm in a canine model. *Laryngoscope* 1996; 106 (12 Pt 1):1506-9.
 - 49) Ishikawa T, Sekizawa SI, Sant'Ambrogio FB, Sant'Ambrogio G. Larynx vs. esophagus as reflexogenic sites for acid-induced bronchoconstriction in dogs. *J Appl Physiol* 1999; 86 (4):1226-30.
 - 50) Duke SG, Postma GN, McGuirt WF Jr, Ririe D, Averill DB, Koufman JA. Laryngospasm and diaphragmatic arrest in immature dogs after laryngeal acid exposure: a possible model for sudden infant death syndrome. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001; 110 (8):729-33.
 - 51) Tsai TL, Chang SY, Ho CY, Kou YR. Neural and hydroxyl radical mechanisms underlying laryngeal airway hyperreactivity induced by laryngeal acid-pepsin insult in anesthetized rats. *J Appl Physiol* 2006; 101(1):328-38.
 - 52) Altman KW, Haines GK 3rd, Hammer ND, Radosevich JA. The H⁺/K⁺-ATPase (proton) pump is expressed in human laryngeal submucosal glands. *Laryngoscope* 2003; 113 (11):1927-30.
 - 53) Altman KW, Waltonen JD, Hammer ND, Radosevich JA, Haines GK 3rd. Proton pump (H⁺/K⁺-ATPase) expression in human laryngeal seromucinous glands. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 133 (5):718-24.