

# *Helicobacter pylori* 감염 소아에서 위점막 면역반응

이화여자대학교 의과대학 소아과학교실

염혜원\* · 서정완

= Abstract =

## Gastric mucosal immune response of *Helicobacter pylori*-infected children

Hye Won Yom, M.D.\* and Jeong Wan Seo, M.D.

Department of Pediatrics, Ewha Womans University School of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose :** *Helicobacter pylori* infection is one of the most common gastrointestinal infections worldwide; it almost invariably causes chronic gastritis. Pediatric studies may provide important insights into the mucosal immune response of *H. pylori*-infection, as children are not submitted to environmental factors such as alcohol, tobacco and anti-inflammatory medication. The aim of the present study was to investigate the mucosal immune response against *H. pylori* in clinically well-defined groups: *H. pylori*-positive (divided into peptic ulcer disease and gastritis) and *H. pylori*-negative control.

**Methods :** Antral biopsies were obtained from 45 children undergoing an upper GI endoscopy for dyspeptic symptoms. T cells (CD3+, CD4+, CD8+) and B cells (CD20+) were analyzed by quantitative immunohistochemistry. The correlation of lymphocyte subsets of gastric mucosa with histology was evaluated.

**Results :** T cells (CD3+, CD4+, CD8+) and B cells (CD20+) were significantly increased in the lamina propria of *H. pylori*-positive group ( $P<0.01$ ). CD8+ T cells were significantly increased in the lamina propria of the *H. pylori*-positive peptic ulcer disease ( $P<0.01$ ). Within the epithelium, only CD4+ T cells were significantly increased in the *H. pylori*-positive group ( $P<0.01$ ). Gastric histological parameters had a closer correlation with lymphocytes in the lamina propria than intraepithelial lymphocytes.

**Conclusion :** This study suggests that both T cells and B cells in the lamina propria play important roles in the local immune response of *H. pylori*-infected children. Furthermore, it remains to be elucidated whether CD8+ T cells in the lamina propria may contribute to peptic ulcer formation in *H. pylori*-infected children. (Korean J Pediatr 2008;51:492-499)

**Key Words :** *Helicobacter pylori*, Children, Gastric mucosa, Lymphocyte subsets

## 서론

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)는 그람 음성, 미호기성, 운동성 세균으로 세계 인구의 약 절반이 감염되어 있다. *H. pylori*는 주로 소아기에 감염되어 15-20%에서 소화궤양질환, 1% 미만에서 MALT 림프종이나 위선암으로 진행된다<sup>1)</sup>. 그러나 소아에서는 *H. pylori*에 의한 소화궤양질환이나 위선암과 같은 심한 질환이 성인에 비하여 발생이 적으며<sup>2)</sup> 조직학적으로도 소아의 위점막에는 호중구 침윤이 적고 주로 림프구와 형질세포가 침윤되

며 림프세포가 흔히 관찰되는 반면, 장상피화생이나 위선위축은 훨씬 적다<sup>3)</sup>.

소아와 성인에서 임상적으로나 조직학적으로 관찰되는 이러한 차이는 숙주의 면역반응, 균의 병독 인자 및 환경 인자 등이 관여할 것이다. 균의 병독 인자로는 *cag* PAI (pathogenicity island) 산물, VacA (vacuolating cytotoxin A), adhesin (BabA, SabA) 등이 있다. 성인에서 균의 병독 유전자에 관하여 많은 연구가 보고 되었으나 특정 질환과의 연관성은 뚜렷하지 않으며<sup>4)</sup> 소아를 대상으로 한 연구에서도 임상 질환과의 관련성이 미약하였다<sup>5)</sup>. 최근 *H. pylori* 감염에서 숙주의 면역반응이 중요하게 연구되고 있으며, 환경 인자에 의한 영향이 적은 소아가 면역반응의 자연 경과를 가장 잘 반영할 것으로 기대할 수 있다.

*H. pylori* 균은 위점막에 체액과 세포매개 국소면역반응을 일으키지만 이는 균을 제거하는데 효과적이지도 못하면서 오히려 위점막의 염증과 손상에 기여한다<sup>1)</sup>. *H. pylori*에 감염되면 위점막 상피세포에서 NF- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B) 활성을 통

Received : 20 February 2008, Accepted : 18 March 2008

Address for correspondence : Jeong Wan Seo, M.D.

Department of Pediatrics, Ewha Womans University School of Medicine, 911-1 Mok-dong, Yangcheon-gu, Seoul 158-710, Korea

Tel : +82.2.2650-5573, Fax : +82.2.2653-3718

E-mail : jwseo@ewha.ac.kr

\*Current affiliation : Department of Pediatrics, Seoul Metropolitan Dong-bu Hospital

해<sup>6)</sup> 케모카인과 친염증성 사이토카인을 분비하고<sup>7)</sup> 대식세포, 호중구, 비만세포, T세포, B세포를 위점막으로 유인하여 염증반응을 일으킨다<sup>1)</sup>.

성인에서 *H. pylori*에 감염된 위점막의 림프구 면역표현형에 관한 연구는 다양한 연구방법에 따라 상반된 결과를 보고하고 있는데<sup>8-11)</sup> 대부분 위점막에 T세포 침윤이 두드러지고 특히, 점막 고유층에는 CD4 T세포가 상피세포 내에는 CD8 T세포가 주로 침윤된다고 하였다. 또, 이 때 침윤된 CD4 T세포는 IFN- $\gamma$  (gamma interferon)를 분비하는 Th1세포라 하였다<sup>12-14)</sup>. 그러나 소아에서는 *H. pylori*로 인한 국소 면역반응에 관한 연구가 거의 없는 실정이며 보고된 일부 결과도 서로 일치하는 것이 없어 아직 불확실한 상태이다<sup>15-17)</sup>.

이에 저자는 위점막에 침윤된 림프구를 분석하여 *H. pylori*에 감염된 소아에서 위점막 면역반응을 관찰하고 소화궤양군과 위염군의 차이를 비교하였으며 조직학적 지표와의 연관성을 관찰하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2002년 6월에서 2006년 5월까지 이화여자대학교 목동병원 소아과에서 상부위장관 증상을 호소하여 위내시경을 시행한 환자 중 후향적으로 45명을 대상으로 하였다. 남아가 23명, 여아가 22명이었으며 환자의 연령은 2세에서 15세까지 분포하였고, 평균 연령은 9.8세이었다. 대상 환아는 위내시경 시행 전 4주 이내에 제산제, 항생제, 항염증 약물을 복용하지 않았고 음식 알레르기, 다른 위장관 질환이나 동반된 만성질환이 없었다. 위내시경 (Olympus Optical Co. Ltd., Tokyo, Japan)은 EVIS GIF-XQ200 (외경 9.2 mm)과 EVIS GIF-P230 (외경 8.7 mm)을 사용하여 경맥 진정(midazolam 0.07-0.1 mg/kg IV) 하에 시행하였으며, 유문 2 cm 이내에서 3개의 조직을 채취하였다. 하나는 급속요소분해효소검사(ASAN Helicobacter Test, Asan Pharm. Co. Ltd., Seoul, Korea)를 시행하였고 다른 하나는 hematoxylin-eosin 염색과 modified Giemsa 염색, 면역조직화학염색에 사용하였다. 나머지 하나는 중합효소 연쇄반응(Polymerase chain reaction: PCR) 검사를 위해 무균튜브에 넣어 영하 70°C에 급속 냉동 보관하였다.

*H. pylori* 양성균은 조직학적으로 *H. pylori* 균이 관찰되고, 급속요소분해효소검사와 위생검 조직에서 시행한 *ureC* PCR<sup>18)</sup>이 모두 양성인 25명이었다. 이 중 내시경에서 육안적으로 소화궤양이 있었던 환자 10명(위궤양 5명, 십이지장궤양 5명)을 *H. pylori* 양성 소화궤양군으로, 위염이 있었던 환자 15명을 *H. pylori* 양성 위염군으로 분류하였다. *H. pylori* 음성 대조군은 같은 시기에 상부 위장관 증상으로 위내시경을 시행하여 조직학적으로 *H. pylori* 균이 관찰되지 않았고, 급속요소분해효소검사

와 *ureC* PCR이 모두 음성이면서 내시경 검사에서 정상을 보였던 환자 20명을 무작위로 추출하였다.

*H. pylori* 양성 소화궤양군의 평균 연령은 8.4세(2-14세)이었고, 남아가 5명, 여아가 5명이었다. *H. pylori* 양성 위염군의 평균 연령은 11.3세(3-14세)이었고 남아가 9명, 여아가 6명이었다. 대조군의 평균 연령은 9.5세(3-15세)이었고 남아가 9명, 여아가 11명이었다. 세 군 간의 연령과 남녀 비에서 유의한 차이는 없었다. 위내시경을 시행하기 전에 검사와 생검에 대해 설명하고 보호자의 동의를 받았다.

## 2. 방법

### 1) 조직학적 소견

위생검 조직으로 hematoxylin-eosin 염색과 modified Giemsa 염색을 시행하여 한 명의 병리과 전문의가 광학현미경으로 판독하였다. 위점막 조직의 판독은 개정된 시드니 체계<sup>19)</sup>에 따라 *H. pylori* 밀도, 다핵형 중성구의 활동성, 만성 염증, 장상피화생 및 위선위축의 정도를 정상, 경증, 중등증, 중증으로 분류하여 0에서 3등급까지 점수화하였고 상피손상과 림프여포의 유무를 관찰하였다.

### 2) 면역조직화학검사

파라핀 블록을 4  $\mu$ m 두께로 박절하고 poly L-lysine이 부착된 슬라이드에 조직을 붙이고 xylene과 알코올을 사용하여 탈라핀 작업을 시행하였다. 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 3% 과산화수소로 8분 동안 처리한 후 증류수로 세척하였다. 항원을 제거하기 위해 pH 6.0의 citrate buffer에 슬라이드를 넣고, 전자레인지에서 25분간 가열하였다. 비특이단백의 결합을 차단시키기 위해 5% 정상 말 혈청(Novostatin universal detection kit, Novocastra, Newcastle, UK)과 15분 동안 반응시킨 후 일차항체를 반응시켰다. 일차항체(Novocastra, Newcastle, UK)로는 CD3 (1:200, T cell), CD4 (1:100, helper/inducer T cell), CD8 (1:200, cytotoxic/suppressor T cell), CD20 (1:200, B cell)을 사용하였다. 이차항체로는 biotin이 결합된 pan-specific universal antibody (Novostatin universal detection kit, Novocastra, Newcastle, UK)를 20분 동안 실온에서 작용시킨 후 PBS 용액(pH 7.4)으로 2회 세척하고 이후에 다시 streptavidin peroxidase complex (Novostatin universal detection kit, Novocastra, Newcastle, UK)를 반응시켰다. PBS 용액으로 2회 세척 후 diaminobezidine tetrachloride를 5분 도포하여 발색한 후 10% Mayer's hematoxylin으로 대조 염색을 시행하였으며 수용성 봉입체로 봉입하였다. 염색된 슬라이드는 맵검 상태에서 한 명의 병리과 의사가 판독하였는데 핵막이 갈색으로 염색된 경우를 양성으로 하였다. 점막 고유층에서는 400배 고배율 현미경 하에서 집안렌즈 눈금자를 이용해 0.0625 m<sup>2</sup> 당 양성 세포 수를 기록하였고 상피세포 내에서는 최소 500개 이상의 상피세포를 세어서 100개 상피세포 당 양성 세포 수를 기록하였다.

### 3. 통계

자료의 분석은 Windows용 SPSS 11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) 통계프로그램을 사용하여 Fisher's exact 검정, Mann-Whitney U 검정, Kruskal-Wallis 검정, Spearman 순위 상관 분석으로 *P* 값이 0.05 미만인 경우에 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결 과

#### 1. 조직 소견

*H. pylori* 양성 소화궤양군과 위염군에서 *H. pylori* 밀도, 다핵형 중성구 활동성, 만성 염증은 대조군에 비해 유의하게 높았으나(*P*<0.01) 장상피화생과 위선위축은 유의하지 않았다(Table 1). 상피손상은 *H. pylori* 양성군 전체와 소화궤양군에서 대조군

보다 유의하게 많았고 림프여포는 *H. pylori* 양성 소화궤양군과 위염군 모두 대조군에 비해 유의하게 많았다(*P*<0.01)(Table 2). *H. pylori* 밀도가 증가할수록 다핵형 중성구 활동성( $r=0.81$ , *P*<0.01)과 만성 염증( $r=0.80$ , *P*<0.01)의 정도가 심하였으며 다핵형 중성구 활동성이 증가할수록 만성염증의 정도도 심해졌다( $r=0.71$ , *P*<0.01).

#### 2. 위점막 고유층의 림프구

*H. pylori* 양성군 전체와 소화궤양군의 위점막 고유층에서 대조군보다 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포가 유의하게 증가하였다(*P*<0.01)(Table 3, Fig. 1-4). *H. pylori* 양성 위염군에서는 CD3, CD4 T세포와 CD20 B세포가 유의하게 증가하였다(*P*<0.01)(Table 3, Fig. 1, 2, 4).

위점막 고유층의 CD3, CD4, CD8, CD20 림프구 수는 *H. pylori* 밀도, 다핵형 중성구의 활동성, 만성 염증과 대부분 높은 양의 상관성을 보였다(*P*<0.01)(Table 4).

**Table 1.** Histological Scores of Gastric Mucosa (Updated Sydney System)

	<i>H. pylori</i> (+)			<i>H. pylori</i> (-) control (n=20)
	Peptic ulcer disease (n=10)	Gastritis (n=15)	Total (n=25)	
Bacterial density	2.1 (1-3)*	1.8 (1-3)*	1.9 (1-3)*	0 (0-0)
Neutrophil activity	2.7 (2-3)*	1.4 (0-3)*	1.9 (1-3)*	0.1 (0-1)
Chronic inflammation	2 (1-3)*	1.6 (1-3)*	1.8 (1-3)*	0.1 (0-1)
Intestinal metaplasia	0 (0-0)	0.1 (0-1)	0.1 (0-1)	0 (0-0)
Glandular atrophy	0.6 (0-2)	0.5 (0-1)	0.5 (0-2)	0.2 (0-1)

\**P*<0.01 vs. *H. pylori* (-) control  
Values are given as mean (range)

**Table 2.** Epithelial Damage and Lymphoid Follicle

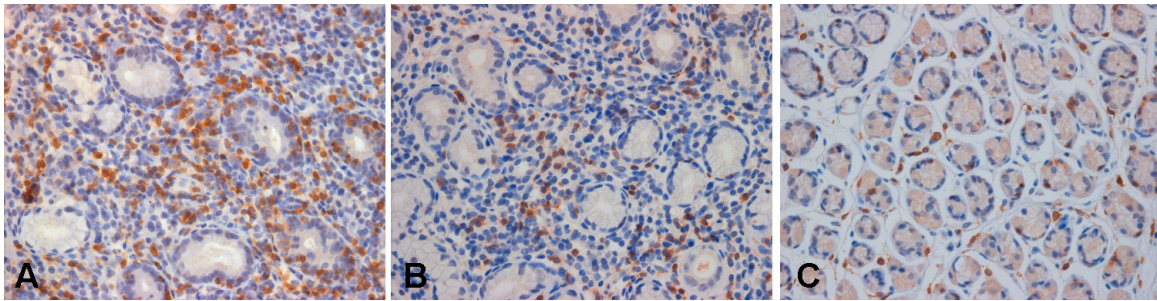
	<i>H. pylori</i> (+)			<i>H. pylori</i> (-) control n (%)
	Peptic ulcer disease n (%)	Gastritis n (%)	Total n (%)	
Epithelial damage	6 (60)*	2 (13.3)	8 (32)*	0 (0)
Lymphoid follicle	4 (40)*	10 (66.7)*	14 (56)*	0 (0)
Total	10	15	25	20

\**P*<0.01 vs. *H. pylori* (-) control

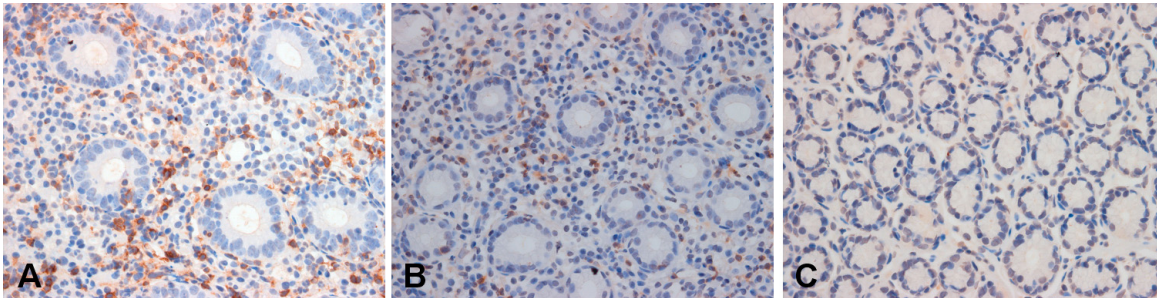
**Table 3.** Lymphocyte Subsets in the Lamina Propria of Gastric Mucosa

	<i>H. pylori</i> (+)			<i>H. pylori</i> (-) control (n=20)
	Peptic ulcer disease (n=10)	Gastritis (n=15)	Total (n=25)	
CD3	46.3 (22-75)*	35.4 (15-72)*	39.8 (15-75)*	11.3 (4-29)
CD4	17.1 (5-55)*	16.2 (1-42)*	16.7 (1-55)*	2.2 (0-5)
CD8	9.9 (1-21)*	4.4 (0-25)	6.7 (0-25)*	1.6 (0-7)
CD20	24.9 (3-88)*	17.9 (5-85)*	20.7 (3-88)*	1 (0-10)

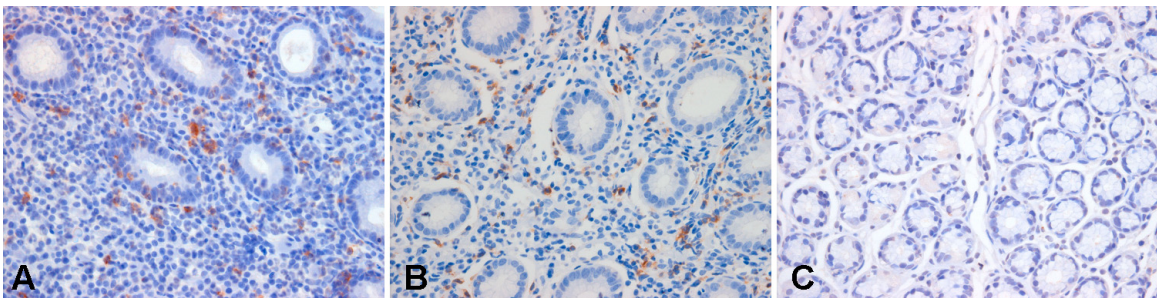
\**P*<0.01 vs. *H. pylori* (-) control  
Values are given as mean (range)



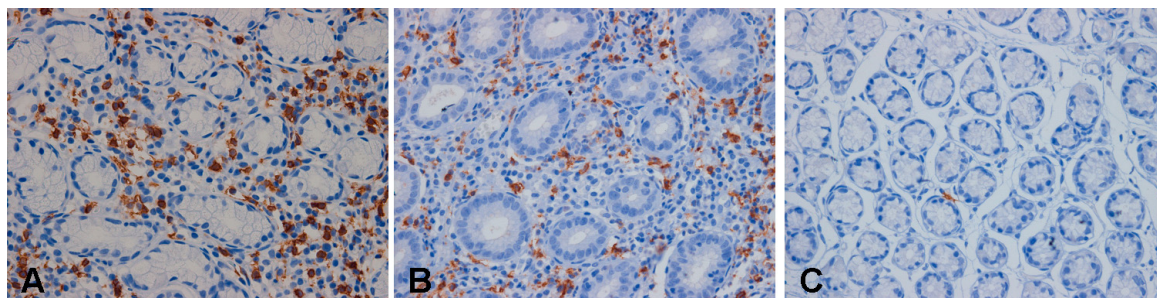
**Fig. 1.** Immunohistochemical staining of CD3<sup>+</sup> T cells in antral tissue sections from *H. pylori*-positive peptic ulcer disease (A) ( $\times 400$ ), *H. pylori*-positive gastritis (B) ( $\times 400$ ) and *H. pylori*-negative control (C) ( $\times 200$ ).



**Fig. 2.** Immunohistochemical staining of CD4<sup>+</sup> T cells in antral tissue sections from *H. pylori*-positive peptic ulcer disease (A) ( $\times 400$ ), *H. pylori*-positive gastritis (B) ( $\times 400$ ) and *H. pylori*-negative control (C) ( $\times 200$ ).



**Fig. 3.** Immunohistochemical staining of CD8<sup>+</sup> T cells in antral tissue sections from *H. pylori*-positive peptic ulcer disease (A) ( $\times 400$ ), *H. pylori*-positive gastritis (B) ( $\times 400$ ) and *H. pylori*-negative control (C) ( $\times 200$ ).



**Fig. 4.** Immunohistochemical staining of CD20<sup>+</sup> B cells in antral tissue sections from *H. pylori*-positive peptic ulcer disease (A) ( $\times 400$ ), *H. pylori*-positive gastritis (B) ( $\times 400$ ) and *H. pylori*-negative control (C) ( $\times 200$ ).



**Table 4.** Correlation Coefficients of Lymphocyte Subsets in the Lamina Propria of Gastric Mucosa with Histological Parameters

	Bacterial density	Neutrophil activity	Chronic inflammation
CD3	0.80*	0.71*	0.74*
CD4	0.67*	0.57*	0.71*
CD8	0.47*	0.45*	0.27
CD20	0.77*	0.68*	0.79*

\* $P < 0.01$

**Table 5.** Intraepithelial Lymphocyte Subsets of Gastric Mucosa

	<i>H. pylori</i> (+)			<i>H. pylori</i> (-) control (n=20)
	Peptic ulcer disease (n=10)	Gastritis (n=15)	Total (n=25)	
CD3	4.1 (2-10)	3.4 (1-10)	3.7 (1-10)	3 (0-24)
CD4	1.4 (0-3)*	1.1 (0-6)*	1.2 (0-6)*	0 (0-0)
CD8	0.5 (0-4)	0.3 (0-3)	0.4 (0-4)	0.2 (0-1)
CD20	0.9 (0-8)	0.8 (0-5)	0.9 (0-8)	0 (0-0)

\* $P < 0.01$  vs. *H. pylori* (-) control

Values are given as mean (range)

**Table 6.** Correlation Coefficients of Intraepithelial Lymphocyte Subsets of Gastric Mucosa with Histological Parameters

	Bacterial density	Neutrophil activity	Chronic inflammation
CD3	0.45*	0.39*	0.28
CD4	0.60*	0.49*	0.55*
CD8	0.12	0.09	0.10
CD20	0.41*	0.13	0.43*

\* $P < 0.01$

### 3. 위점막 상피세포 내의 림프구

위점막 상피세포 내에서는 *H. pylori* 양성 소화기양균과 위염군에서 모두 대조군보다 CD4 T세포가 유의하게 증가하였다 ( $P < 0.01$ ) (Table 5, Fig. 2). 위점막 상피세포 내의 CD3, CD4, CD8, CD20 림프구 수는 *H. pylori* 밀도, 다핵형 중성구의 활동성, 만성 염증과 일부에서 낮은 양의 상관성을 보였다 ( $P < 0.01$ ) (Table 6).

## 고 찰

*H. pylori*의 병인으로 세균의 병독 인자에 대한 연구가 활발히 이루어져 왔으나 아직까지 특정 질환과의 연관성은 명확히 밝혀지지 않았다<sup>4)</sup>. 최근 숙주 위점막에서 면역반응의 차이로 *H. pylori* 감염에 따른 다양한 질환의 발생을 설명하려는 시도가 있다<sup>20)</sup>. 점막 면역반응에 대한 연구는 *H. pylori* 감염으로 야기되

는 점막 손상과 숙주의 면역 회피 기전을 이해하기 위해 필수적이다.

*H. pylori*로 인한 국소 면역반응에는 점막 고유층과 상피세포에 산재하는 림프구가 관여하며 이는 장간막 림프절이나 Peyer's patches와 같은 조직화된 림프기관과 더불어 장 연관 림프조직 (gut-associated lymphoid tissue)에 포함된다<sup>21)</sup>. 혈액과 말초 림프기관 사이를 지속적으로 재순환하는 미경험 림프구는 숙주가 *H. pylori*에 감염되면 림프기관에서 효과 림프구로 활성화되고 면역학적 기억을 만들며 이후 혈관을 통해 다시 위점막으로 돌아간다<sup>22, 23)</sup>. 그러나 *H. pylori*가 숙주의 상피세포를 직접 침범하지 않으면서도 위의 점막층에 림프구를 유인하는 기전은 아직까지 완전히 규명되지 않았다.

소아의 위점막 면역반응을 연구하기 위하여 위점막 림프구를 면역조직화학법으로 염색하여 확인하고 정량하였다. 유세포 측정법이나 enzyme-linked immunospot (ELISPOT) 측정법 등의 다른 방법은 생검 조직이 커서 림프구를 많이 얻을 수 있을 경우에 유용하다. 소아는 염증반응이 성인보다 약하여 침윤된 림프구 수가 적고, 성인용 내시경에 비해 직경이 작은 소아용 내시경으로는 생검 조직의 크기가 작으며 여러 번 생검 하기는 어려우므로 본 연구에서는 면역조직화학법을 선택하였다.

*H. pylori* 감염으로 인한 숙주의 면역반응에서 T세포의 기능이 중요하게 부각되었으나 B세포는 큰 비중을 차지하지 못하고 있었다. B세포만 결핍된 쥐를 *H. pylori*에 감염시키면 심한 위축과 장상피화생이 발생하나 T세포만 결핍된 쥐에서는 위염이 발생하지 않았다<sup>24)</sup>. CD4 T세포 수가 저하되어 있는 AIDS 환자에서 *H. pylori* 감염 및 소화기양의 빈도가 낮아, CD4 T세포가 *H. pylori* 감염으로 인한 면역반응에 중요한 역할을 한다고 하였다<sup>25)</sup>. CD8 T세포가 결핍된 쥐에서 백신에 의한 보호효과가 나타나지만 CD4 T세포가 결핍된 쥐에서는 보호효과가 없어 CD4 T세포가 숙주의 방어에도 중요한 역할을 담당한다고 하였다<sup>26)</sup>. 최근에는 조절 T세포가 *H. pylori* 감염에 대한 T세포 반응을 억제하여 *H. pylori*가 지속적으로 살아남도록 한다고 하였는데<sup>27)</sup> 이는 T세포가 균의 생존에 중요함을 시사한다.

성인에서 *H. pylori*에 감염된 위점막에 CD8 T세포가 증가한다는 보고도 있었으나<sup>8, 9)</sup>, 대부분의 연구에서는 점막 고유층에 CD4 T세포가, 상피세포 내에는 CD8 T세포가 주로 침윤된다고 보고하였다<sup>10, 11)</sup>. *H. pylori* 감염의 초기 면역반응을 관찰하기 위해 18명의 성인 자원자에게 *H. pylori*를 인위적으로 감염시켜 감염 전과 감염 후 4주에 위내시경을 시행하여 위점막의 T세포를 분석한 결과 CD3, CD4, CD8 T세포가 모두 유의하게 증가하였으며 이는 내시경을 시행한 감염 후 4주가 감염의 급성 혹은 아 급성 단계로써 감염의 만성 단계에서 관찰되는 T세포의 편중화가 아직 일어나지 않았기 때문이라고 설명하였다<sup>28)</sup>. 성인을 대상으로 한 연구이지만 감염 기간이 짧은 점에서 *H. pylori*에 감염된 소아의 위점막 면역반응과 유사할 것으로 추측할 수 있다.

반면, 소아를 대상으로 한 연구에서 Lopes 등<sup>15)</sup>에 의하면 *H.*

*pylori* 감염 소아의 점막 고유층에서 비감염 소아보다 CD3 T세포는 유의하게 증가하였으나 CD4, CD8 T세포, CD20 B세포의 유의한 차이가 없었으며, 점막 고유층과 상피세포 내 모두에서 CD8 T세포가 CD4 T세포보다 많은 경향을 보였다고 하였다. Krauss-Etschmann 등<sup>16)</sup>은 *H. pylori* 감염 소아의 점막 고유층에서 CD4, CD8 T세포와 Th1 면역 반응과 관련 있는 CCR5 (chemokine receptor 5) 양성 세포가 유의하게 증가하였고 상피세포 내에서는 이들 세포의 유의한 차이가 없었다고 하였다. 이후 연구에서는 *H. pylori* 감염 소아의 점막 고유층에서 CD4, CD8 T세포, B세포가 모두 유의하게 증가하였고 상피세포 내에서는 CD4, CD8 T세포가 유의하게 증가했다고 하였다<sup>17)</sup>. 또, *H. pylori*에 감염된 성인과 소아의 위점막에 침윤된 림프구를 각각의 비감염 대조군과 비교해 보니 점막 고유층의 CD3 T세포가 성인 감염군에서 유의하게 증가했으며 소아 감염군에서 유의하게 증가한 림프구는 없었다고 하였다<sup>29)</sup>.

본 연구에서는 *H. pylori* 양성 소화궤양군이 대조군보다 점막 고유층에서 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포가 유의하게 증가하였고, 상피세포 내에서 CD4 T세포가 증가하였다. *H. pylori* 양성 위염군은 대조군보다 점막 고유층에서 CD3, CD4 T세포와 CD20 B세포가 유의하게 증가하였고 상피세포 내에서 CD4 T세포가 유의하게 증가하였다. *H. pylori* 양성 소아군으로 Lopes 등<sup>15)</sup>은 소화궤양을 포함하지 않았고 Krauss-Etschmann 등<sup>16, 17)</sup>은 소화궤양과 위염을 나누지 않았으므로 본 연구와 정확히 비교할 수는 없으나 *H. pylori* 양성군의 점막 고유층에서 CD3 T세포가 증가한 것은 Lopes 등<sup>15)</sup>과 일치하며 CD4 T세포와 B세포가 증가한 것은 Krauss-Etschmann 등<sup>17)</sup>의 연구와 일치한다. 점막 고유층의 CD8 T세포가 증가한 것은 Krauss-Etschmann 등<sup>16, 17)</sup>의 연구와 일치하지만 본 연구에서는 소화궤양군에서 유의하게 증가하였고 위염군에서는 증가하지 않았다. 한편, *H. pylori* 양성군에서 상피세포 내의 CD4 T세포가 증가한 것은 Krauss-Etschmann 등<sup>17)</sup>의 연구와 일치한다. *H. pylori*에 감염된 소아는 점막 고유층에서 T세포와 B세포가, 상피세포 내에서 CD4 T세포가 점막 면역반응에 중요한 역할을 할 것이다.

소화궤양군에서 점막 고유층의 CD8 T세포가 유의하게 증가하였으므로 CD8 T세포는 *H. pylori*에 감염된 소아에서 소화궤양과 연관 있을 것으로 추정할 수 있다. 활성화된 CD8 T세포는 Fas ligand를 발현하거나 CD8 T세포의 과립에 함유된 perforin이나 granzyme 같은 세포독성 효과 단백질로 세포자멸사를 유도한다<sup>23)</sup>. 세포자멸사는 *H. pylori* 감염에서 상피세포에 손상을 야기할 수 있으며, 소아의 위점막에서도 상피손상과 세포자멸사가 증가하였다<sup>5)</sup>. 본 연구의 소화궤양군에서도 상피손상이 증가하고 점막 고유층의 CD8 T세포가 유의하게 증가하였는데, 이는 CD8 T세포에서 유도된 세포자멸사와 연관하여 상피손상 역시 증가한 것으로 추정할 수 있겠다. *H. pylori* 감염에 대한 반응으로 CD8 T세포가 CD4 T세포보다 더 많은 IFN- $\gamma$ 를 분비한다

는 보고도<sup>30)</sup> CD8 T세포와 케양형성의 연관성을 뒷받침 한다. CD8 T세포가 *H. pylori* 감염 여부에 상관없이 perforin과 granzyme을 분비하여 세포자멸사를 유도하여 소화궤양을 형성한다는 보고도 있으나<sup>31)</sup> *H. pylori* 양성 성인 소화궤양군에서는 CD3, CD4 T세포가 유의하게 증가하고 CD8 T세포의 증가는 유의하지 않다고 하였다<sup>20)</sup>.

위점막 면역반응에 관한 연구는 성인과 소아가 다르며 소아에서도 다양한 결과가 보고되고 있다. 이는 인종과 지역학적인 차이, 연구 방법의 차이와 더불어 소아가 성인보다 감염 기간이 짧으므로 면역반응 역시 성인보다 훨씬 이른 감염 시기를 반영하기 때문이며, 결국 이런 면역반응의 차이로 인해 소아가 성인에 비해 소화궤양, MALT 림프종 등의 심한 위장관 질환에 덜 이환된다고 추정할 수 있다. 위암 고위험 지역과 저위험 지역에서 *H. pylori* 감염 소아의 위점막에 침윤된 림프구를 비교하였을 때 고위험 지역에서는 CD8 T세포가, 저위험 지역에서는 B세포가 유의하게 증가하였다고 보고하여 지역에 따른 위점막 면역반응의 차이를 보여주었다<sup>32)</sup>. 우리나라 역시 *H. pylori*의 감염률이 높고 위암으로 인한 사망률이 높으므로 기존의 점막면역에 관한 연구가 거의 유럽지역에서 이루어진 점을 고려하여 본 연구의 결과를 해석해야 할 것이다. 연구 방법에서도 사용된 조직이 파파린 블록인지 동결절편인지에 따라, 분석은 유세포 측정법인지 면역조직화학염색법인지에 따라 결과에 영향을 미칠 것이다. 유세포 측정법은 주로 성인에서 사용되었으나 소아에서도 말초혈액 림프구를 가지고 분석한 결과 *H. pylori*에 감염된 소아는 대조군에 비해 CD4 T세포가 유의하게 증가하나 CD8 T세포는 유의한 차이가 없다고 하였다<sup>33)</sup>. *H. pylori*에 감염된 소아와 성인의 말초혈액 림프구를 비교했더니 10세 이상 소아가 성인과 비슷한 면역반응을 보였으며 연령에 따른 면역반응의 차이가 있다고 하였다<sup>34)</sup>. 장점막의 면역계도 노화에 따라 저하된다고 하였으나<sup>35)</sup> 본 연구에서 각 군별로 나이에 따른 점막 고유층과 상피세포 내의 림프구 수를 각각 비교한 결과 나이에 따른 점막 림프구 수는 유의한 차이가 없었으며 이는 Krauss-Etschmann 등<sup>17)</sup>의 결과와도 일치했다.

*H. pylori*에 감염된 성인에서 위점막의 림프구 수와 조직학적 지표를 비교하여 CD4, CD19 세포 수가 *H. pylori*의 밀도와 유의한 양의 상관성을 보였다고 하였다<sup>36)</sup>. 본 연구에서도 림프구 수와 조직학적 지표 간에 유의한 상관성을 보였으며 점막 고유층의 림프구가 상피세포 내 림프구보다 더욱 높은 상관성을 나타냈다. 이는 점막 고유층의 림프구가 조직학적 염증 반응과 더 밀접한 관계임을 시사한다. *H. pylori*에 감염된 소아의 위점막에서 *H. pylori*의 밀도는 다핵형 중성구의 활동성과 상관관계를 보였다고 하였는데<sup>37)</sup> 본 연구에서도 *H. pylori*의 밀도가 증가할수록 다핵형 중성구의 활동성, 만성 염증의 정도가 심해졌다.

결론적으로 점막 고유층에서 상피세포 내보다 림프구 침윤이 확연히 많았다. 점막 고유층에서 *H. pylori* 양성군은 대조군에 비해 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포가 유의하게 증가하

었다. CD8 T세포는 *H. pylori* 양성 소화궤양군에서만 대조군에 비해 유의하게 증가하였다. 한편 상피세포 내에서는 *H. pylori* 양성군은 대조군에 비해 CD4 T세포가 유의하게 증가하였다. *H. pylori*에 감염된 소아의 위점막 면역반응은 주로 점막 고유층에서 일어나고 T세포와 B세포가 같이 중요한 역할을 담당할 것이다. 소화궤양군에서 점막 고유층의 CD8 T세포가 증가하여 점막 면역반응과 임상질환과의 연관성을 시사하고 있다. 향후 *H. pylori*에 감염된 위점막에서 림프구 면역표현형의 역할과 상호작용, 사이토카인, 연령과 인종에 따른 차이, 임상 질환과의 연관성 등에 대하여 더 많이 연구하여야 할 것이다.

**요 약**

**목적 :** *H. pylori*의 감염은 세균의 병독 인자, 숙주 인자, 환경 인자가 복합적으로 작용하여 다양한 위장관 병변을 일으킨다. *H. pylori*의 병리 기전으로 지금까지는 주로 세균의 병독성에 초점을 맞추었으나 최근에는 숙주의 위점막 면역반응이 주목을 받고 있다. 소아는 술, 담배, 약물과 같은 환경 인자의 영향이 적어 연구에 적합한 대상이며 감염 초기를 반영한다는 측면에서 중요한 의의가 있음에도 불구하고 소아에서 위점막 면역반응에 관한 연구가 거의 없다. 이에 *H. pylori* 감염 소아에서 위점막 림프구를 분석하여 소아에서 *H. pylori* 감염으로 인한 국소 면역반응의 특징을 알아보려고 하였다.

**방법 :** *H. pylori* 양성 소화궤양군 10명, *H. pylori* 양성 위염군 15명, *H. pylori* 음성 대조군 20명에서 얻은 위전정부 생검 조직에서 hematoxylin-eosin 염색과 modified Giemsa 염색을 시행하여 개정된 시드니 체계에 따라 위염의 정도를 점수화하였다. 위점막에서 림프구 면역표현형을 알기 위해 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포에 대한 면역조직화학염색을 시행하였으며 점막 고유층에서는 40배 고배율 현미경 하에서 0.0625 m<sup>2</sup> 당 양성 림프구 수를 기록하였고, 상피세포 내에서는 100개 상피세포 당 양성 림프구 수를 기록하였다.

**결과 :** 림프구 침윤은 점막 고유층에서 상피세포 내보다 확연히 많았다. 점막 고유층에서 *H. pylori* 양성군에서 대조군에 비해 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포가 유의하게 증가하였고( $P<0.01$ ) *H. pylori* 양성 소화궤양군은 위염군과 달리 대조군에 비해 CD8 T세포가 유의하게 증가하였다( $P<0.01$ ). 한편, 상피세포 내에서는 *H. pylori* 양성 소화궤양군과 위염군 모두 대조군에 비해 CD4 T세포가 유의하게 증가하였다( $P<0.01$ ). *H. pylori*의 밀도, 다핵형 중성구의 활동성, 만성 염증 정도와 림프구 수는 점막 고유층에서 상피세포 내보다 더 밀접한 상관관계가 있었다.

**결론 :** *H. pylori*에 감염된 소아의 국소 면역반응은 주로 위점막 고유층에서 일어나며 T세포와 B세포가 함께 관여하였다. *H. pylori* 양성 소화궤양군에서 점막 고유층의 CD8 T세포가 유의하게 증가하여 임상질환과 점막면역의 연관성을 추정할 수 있

었다. 향후 *H. pylori* 감염에서 국소 면역반응으로 야기되는 점막 손상, 연령과 인종에 따른 차이, 임상질환과의 연관성 등에 대하여 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

**References**

- 1) Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of Helicobacter pylori: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. Annu Rev Microbiol 2000;54:615-40.
- 2) Drumm B, Day AS, Gold B, Gottrand F, Kato S, Kawakami E, et al. Helicobacter pylori and peptic ulcer: Working Group Report of the second World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2004;39 Suppl 2:S626-31.
- 3) Seo JW, Han WS. Histologic study of Helicobacter pylori-associated gastritis in children. J Korean Pediatrics Soc 1996;39:811-20.
- 4) Graham DY, Yamaoka Y. Disease-specific Helicobacter pylori virulence factors: the unfulfilled promise. Helicobacter 2000;5 Suppl 1:S3-9.
- 5) Jung JA, Lee MA, Seo JW. The genotypes of Helicobacter pylori, gastric epithelial cell proliferation and apoptosis in children. Korean J Pediatr Gastroenterol Nutr 2003;6:1-9.
- 6) Munzenmaier A, Lange C, Glocker E, Covacci A, Moran A, Bereswill S, et al. A secreted/shed product of Helicobacter pylori activates transcription factor nuclear factor-kappa B. J Immunol 1997;159:6140-7.
- 7) Bodger K, Crabtree JE. Helicobacter pylori and gastric inflammation. Br Med Bull 1998;54:139-50.
- 8) Fan XJ, Chua A, Shahi CN, McDevitt J, Keeling PW, Kelleher D. Gastric T lymphocyte responses to Helicobacter pylori in patients with H. pylori colonization. Gut 1994; 35:1379-84.
- 9) Agnihotri N, Bhasin DK, Vohra H, Ray P, Singh K, Ganguly NK. Characterization of lymphocytic subsets and cytokine production in gastric biopsy samples from Helicobacter pylori patients. Scand J Gastroenterol 1998;33:704-9.
- 10) Hatz RA, Meimarakis G, Bayerdorffer E, Stolte M, Kirchner T, Enders G. Characterization of lymphocytic infiltrates in Helicobacter pylori-associated gastritis. Scand J Gastroenterol 1996;31:222-8.
- 11) Sommer F, Faller G, Konturek P, Kirchner T, Hahn EG, Zeus J, et al. Antrum- and corpus mucosa-infiltrating CD4(+) lymphocytes in Helicobacter pylori gastritis display a Th1 phenotype. Infect Immun 1998;66:5543-6.
- 12) Bamford KB, Fan X, Crowe SE, Leary JF, Gourley WK, Luthra GK, et al. Lymphocytes in the human gastric mucosa during Helicobacter pylori have a T helper cell 1 phenotype. Gastroenterology 1998;114:482-92.
- 13) Stromberg E, Lundgren A, Edebo A, Lundin S, Svennerholm AM, Lindholm C. Increased frequency of activated T-cells in the Helicobacter pylori-infected antrum and duodenum. FEMS Immunol Med Microbiol 2003;36:159-68.
- 14) Lindholm C, Quiding-Jarbrink M, Lonroth H, Hamlet A, Svennerholm AM. Local cytokine response in Helicobacter pylori-infected subjects. Infect Immun 1998;66:5964-71.

- 15) Lopes AI, Victorino RM, Palha AM, Ruivo J, Fernandes A. Mucosal lymphocyte subsets and HLA-DR antigen expression in paediatric *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Clin Exp Immunol* 2006;145:13-20.
- 16) Krauss-Etschmann S, Sammler E, Koletzko S, Konstantopoulos N, Aust D, Gebert B, et al. Chemokine receptor 5 expression in gastric mucosa of *Helicobacter pylori*-infected and noninfected children. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:22-9.
- 17) Krauss-Etschmann S, Gruber R, Plikat K, Antoni I, Demelmair H, Reinhardt D, et al. Increase of antigen-presenting cells in the gastric mucosa of *Helicobacter pylori*-infected children. *Helicobacter* 2005;10:214-22.
- 18) Labigne A, Cussac V, Courcoux P. Shuttle cloning and nucleotide sequences of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. *J Bacteriol* 1991;173:1920-31.
- 19) Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. *Am J Surg Pathol* 1996;20:1161-81.
- 20) Goll R, Husebekk A, Isaksen V, Kauric G, Hansen T, Florholmen J. Increased frequency of antral CD4<sup>+</sup> T and CD19 B cells in patients with *Helicobacter pylori*-related peptic ulcer disease. *Scand J Immunol* 2005;61:92-7.
- 21) Shi HN, Nagler-Anderson C. Mucosal T-cell responses to enteric infection. *Curr Opin Gastroenterol* 1999;15:529-33.
- 22) Lundgren A, Trollmo C, Edebo A, Svennerholm AM, Lundin BS. *Helicobacter pylori*-specific CD4<sup>+</sup> T cells home to and accumulate in the human *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Infect Immun* 2005;73:5612-9.
- 23) Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. Immunobiology. 6th ed. New York: Garland Science, 2005:416-46.
- 24) Eaton KA, Mefford M, Thevenot T. The role of T cell subsets and cytokines in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* gastritis in mice. *J Immunol* 2001;166:7456-61.
- 25) Cacciarelli AG, Marano BJ Jr, Gualtieri NM, Zuretti AR, Torres RA, Starpoli AA, et al. Lower *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease prevalence in patients with AIDS and suppressed CD4 counts. *Am J Gastroenterol* 1996;91:1783-4.
- 26) Pappo J, Torrey D, Castriotta L, Savinainen A, Kabok Z, Ibraghimov A. *Helicobacter pylori* infection in immunized mice lacking major histocompatibility complex class I and class II functions. *Infect Immun* 1999;67:337-41.
- 27) Lundgren A, Suri-Payer E, Enarsson K, Svennerholm AM, Lundin BS. *Helicobacter pylori*-specific CD4<sup>+</sup> CD25<sup>high</sup> regulatory T cells suppress memory T-cell responses to *H. pylori* in infected individuals. *Infect Immun* 2003;71:1755-62.
- 28) Nurgalieva ZZ, Conner ME, Opekun AR, Zheng CQ, Elliott SN, Ernst PB, et al. B-cell and T-cell immune responses to experimental *Helicobacter pylori* infection in humans. *Infect Immun* 2005;73:2999-3006.
- 29) Bontems P, Robert F, Van Gossum A, Cadranet S, Mascart F. *Helicobacter pylori* modulation of gastric and duodenal mucosal T cell cytokine secretions in children compared with adults. *Helicobacter* 2003;8:216-26.
- 30) Quiding-Jarbrink M, Lundin BS, Lonroth H, Svennerholm AM. CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell responses in *Helicobacter pylori*-infected individuals. *Clin Exp Immunol* 2001;123:81-7.
- 31) Ohara T, Morishita T, Suzuki H, Masaoka T, Ishii H. Perforin and granzyme B of cytotoxic T lymphocyte mediate apoptosis irrespective of *Helicobacter pylori* infection: possible act as a trigger of peptic ulcer formation. *Hepatogastroenterology* 2003;50:1774-9.
- 32) Bedoya A, Garay J, Sanzon F, Bravo LE, Bravo JC, Correa H, et al. Histopathology of gastritis in *Helicobacter pylori*-infected children from populations at high and low gastric cancer risk. *Hum Pathol* 2003;34:206-13.
- 33) Wang LL, Shan QW, Jiang HX, Tran DB, Qin X, Xie XZ, et al. Detection of T lymphocyte subsets of children with *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2005;11:2827-9.
- 34) Soares TF, Rocha GA, Rocha AM, Correa-Oliveira R, Martins-Filho OA, Carvalho AS, et al. Phenotypic study of peripheral blood lymphocytes and humoral immune response in *Helicobacter pylori* infection according to age. *Scand J Immunol* 2005;62:63-70.
- 35) Schmucker DL, Owen RL, Outenreath R, Thoreux K. Basis for the age-related decline in intestinal mucosal immunity. *Clin Dev Immunol* 2003;10:167-72.
- 36) Andersen LP, Holck S, Janulaityte-Gunther D, Kupcinskis L, Kiudelis G, Jonaitis L, et al. Gastric inflammatory markers and interleukins in patients with functional dyspepsia, with and without *Helicobacter pylori* infection. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005;44:233-8.
- 37) Camorlinga-Ponce M, Aviles-Jimenez F, Cabrera L, Hernandez-Pando R, Munoz O, Soza J, et al. Intensity of inflammation, density of colonization and interleukin-8 response in the gastric mucosa of children infected with *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2003;8:554-60.