

췌담도 질환에서 *Helicobacter Pylori*의 역할에 관한 연구

이화여자대학교 의과대학 내과학교실

이 선 영

= Abstract =

The Role of *Helicobacter Pylori* in Pancreatico-Biliary Disease

Sun Young Yi

Department of Internal Medicine, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea

Objectives : The role of *Helicobacter pylori* (Hp) in benign and malignant pancreatico-biliary tract disease is concerned in recent papers. The urease gene of Hp were found in human bile, and bacteria morphologically resembling Hp were found in resected gallbladder mucosa from patients with gallbladder disease. It was hypothesized that there is an association between the presence of Hp in bile and pancreatico-biliary disease. The aims of this study are to examine if Hp exist in the bile juice and to investigate whether Hp plays a role in the pancreatico-biliary disease.

Methods : Thirty-eight patients (18 males and 20 females, mean age 71 ± 27 yr ; range 45–92 yr) with gallstone and malignant pancreatico-biliary disease were enrolled in this study ; 23 cases were gallstone diseases, 10 cases were cholangiocarcinomas, and 5 cases were pancreatic cancers. Thirty-eight controls were age- and sex- matched and enrolled from subject attending routine medical check-up. The presence of Hp in stomach was confirmed by ^{14}C -breath test. The polymerase chain reaction (PCR) assay was used to detect the Hp in bile.

Results : The Hp-positive rate in stomach was much higher in control (26/38, 68.4%) than the patients with pancreatico-biliary disease (11/38, 28.9%) ($p < 0.01$). The Hp-positive rate in bile of pancreatico-biliary disease was 18.4% but, there is no relation between of the presence of Hp in the stomach and in the bile ($p = 0.33$). Also there was no significant difference of the presence of Hp in bile ($p > 0.05$) and stomach ($p = 0.28$) between benign and malignant disease.

Conclusion : The Hp-positive rate in bile was similar in benign and malignant pancreatico-biliary disease. But Hp may not be important risk factor in pancreatico-biliary disease in Hp-prevalent country like south Korea.

KEY WORDS : *Helicobacter pylori* · Bile · Pancreatic cancer · Biliary tract carcinoma · Gallstone.

서 론

위궤양과 위염, 또한 위암의 원인으로 여겨지는 *Helicobacter pylori* (이하 Hp)는 소화기 질환에서 뿐만 아니라 심혈관 질환과 뇌혈관 질환에서도 발병의 원인으로

여겨지며 활발히 연구되고 있다. 비교적 궤양성 질환이나 위염 등의 위장 질환에서 발병 기전은 여러 가지 확실한 이론적 근거가 밝혀져 있으나 담도 혹은 췌장 질환에서의 Hp 존재 및 역할은 아직도 논란의 여지를 가지고 있다.

담즙에서 Hp 존재 가능성을 밝혀낸 여러 보고¹⁻⁵⁾ 이후 Hp는 세균으로서 염증을 일으킬 수 있음과 동시에 상피 세포의 증식을 유도할 수 있는 균임을 감안할 때 특발성 담도염, 무증상 담도염, 또는 원발성 경화성 담도염의 원인일 수 있다고 생각되었다. 또한 대표적인 담도 질환인 담도 및 간내 담석은 담도의 어떤 균이든 염증성 변화에 의해 생성될 수 있으므로 병인으로서의 가능성을 시사했고 담도의 악성 신생물이나 췌장염과 췌장암에서도 Hp 역할에 관한 연구가 몇몇 보고되기도 하였다⁶⁻⁹⁾.

이에 관하여 우리나라를 포함한 동부 아시아에 비교적 많은 담도 및 담도 결석의 발생과 또한 성인에 있어서 Hp의 감염율이 매우 높은 지역이므로 담도계의 질환과 Hp의 연관성을 가정할 수 있겠다. 또한 반복적인 담도염과 무관하지 않은 담도암과의 Hp 관련성도 가능할 것으로 생각한다. 담도 질환 뿐만 아니라 췌장염의 경우도 Hp에서 분비하는 독소 및 췌장호르몬의 분비를 변화시키는 등으로 인해 췌장의 염증을 일으킨다는 보고가 있었다⁷⁾.

따라서 우리나라의 감염이 높은 Hp와 악성 질환을 포함한 담도 및 췌장질환 환자에서 Hp의 관련성을 가정하여 우리나라의 환자에서 담즙과 위의 Hp 존재를 확인함으로써 이의 연관성과 병인임을 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

이화여자대학교 목동병원을 방문하여 치료한 췌담도 질환 환자 38명을 대상으로 하였다(남자 18명, 여자 20명, 평균 연령 71±27세, 범위 45~92세). 환자 38명 모두에서 얻은 담즙은 내시경적 경비담도 배액관이나 경피적 담즙 배액관을 통해 얻었고 Hp 존재 유무를 소량의 담즙으로 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; 이하 PCR)을 이용하여 검사하였다. 위의 Hp의 존재 유무는 C14-breath test로 확인하였다. 대조군은 본원의 검진센터에 건강검진을 위해 내원한 환자에서 성별과 연령을 보정하여 선정하였고 위의 Hp의 검사는 환자 군과 같은 방법으로 시행하였다.

담즙의 Hp에 대한 PCR 검사

1. DNA 분리

PCR을 시행하기 위해 담즙 배액관에서 담즙을 2cc

채취하여 -70℃에 보관하였다가 DNA를 추출하였다. Genomic DNA는 QIA amp kit(QUIAGEN Inc., USA)을 사용하여 추출하였다.

2. PCR 조건

Hp의 특이 *ureC* 유전자형의 Hp-S primer는 5'-AAG CTT TTA GGG GTG TTA GG-3'과 Hp-AS primer는 5'-AAG CCT TAC TTT CTA ACA CTA ACG-3'을 사용하였다¹⁰⁾. 0.1 µg genomic DNA를 0.2 µg의 primer, 0.2mmol/l dNTP, 0.3U Taq polymerase, 10mmol/l Tris-HCL(pH 8.0), 50mmol/l KCL과 2.5 mmol/l MgCl₂를 포함하는 15 µg의 PCR 혼합액에 첨가하여 GeneAmp PCR system 9600(Applied Biosystem, Foster City, CA)에서 94℃에서 5분, 94℃에서 1분, 55℃에서 1분, 72℃에서 1분을 35회 반복한 후 72℃에서 7분간 반응하였다. PCR산물을 ethium bromide(0.1 µg/ml)을 포함한 2% agarose gel에서 전기 영동하여 UV하에서 분석하였다.

3. 통계분석

자료는 SPSS version 10.0통계패키지를 사용하여 Hp의 양성률 분석은 χ^2 test를 시행하였고 각 질환에 따른 Hp의 유병률의 연관성은 상관 분석을 이용하였다. p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 췌담도 질환 환자의 위의 Hp 유병률

전체 38명 환자에서 담석질환이 23명(남자 8명, 여자 15명, 평균연령 58±18세)이었고 담관암 환자 10명(남자 4명, 여자 6명, 평균연령 72±34세), 췌장암 환자 5명(남자 4명, 여자 1명, 평균연령 78±18세)였다. 모든 환자는 위의 Hp 감염을 확인하기 위해 C¹⁴-breath test를 시행하였고 이 중 Hp 양성인 11예(11/38)로 28.9%의 양성률을 보였다. 췌담도의 질환에 따른 위의 Hp 유병률은 담석환자에서 Hp양성을 보인 환자는 5예(5/23)로 27.7%였고 췌담도 암 환자에서는 6예(6/15)로 40%로(담도암환자와 췌장암 환자 모두에서 각각 40%의 양성률) 담석 질환보다는 췌담도의 악성 질환이 Hp유병률이 높았으나 통계적 의미는 없었다(p=0.28). 대조군의 위의 Hp양성은 26예(26/38, 68.4%)로 췌담도 질환군의 Hp 양성률 28.9%에 비하여 대조군이 통계적으로 의미있게

Table 1. *Helicobacter pylori* positivity in the patients with pancreatobiliary disease and control

Subjects	N	Hp in stomach	Hp in bile
Gallstone disease	23	5/23 (27.7%)	4/23 (17.4%)
Malignant	15	6/15 (40%)	3/15 (20%)
Cholangiocarcinoma	5	2	1
Pancreatic cancer	10	4	2
Control	38	26/38 (68.4%)*	

* : p<0.01

Hp 양성률이 높았다(p<0.01) (Table 1).

2. 담즙에서의 Hp 유병률

췌담도계 환자의 담즙에서 존재하는 Hp는 소량의 담즙에서 Hp PCR을 통하여 얻었고 환자 전체에서 Hp 양성률은 7예 환자(7/38) 양성률은 18.4%였다. 분류하여보면 담석 환자에서는 양성률이 17.4%(4/23)이고 악성 질환 환자에서는 20%(3/15)로 유사한 양성률을 보였으며 양성 질환과 악성 질환의 Hp 유병률은 통계적 유의한 차이가 없었다(p>0.05) (Table 1).

3. 위와 담즙의 Hp 존재의 연관성

췌담도 질환 환자에서 위에 Hp가 존재할 때 담즙에 Hp가 존재하는 연관성은 통계적인 연관성이 적었다(p=0.33).

고 안

최근 발표된 연구에서 세균과 췌장암 또는 담도암의 연관성에 관하여 주장하면서 췌장암 환자 65%에서 혈청학적 검사의 Hp 양성률을 보였고 이에 반해 대조군은 45%의 양성률을 보임으로 췌장 및 담도 암에서의 Hp 양성을 암의 발현에서 의미 있는 위험 인자임을 시사하였다⁹⁾¹¹⁾¹²⁾. 또한 대부분의 연구에서 위의 Hp 존재와 담즙의 Hp 존재는 상당히 밀접한 관계가 있다고 하였고 이는 유두부 입구의 괄약근을 통하여 담도로 역류하거나 문맥 순환에 의해 담즙으로 세균 유입이 되는 것으로 설명하고 있다⁴⁾¹³⁾¹⁴⁾. 본 연구에서는 Hp 유병률이 높은 우리나라와 같은 지역은 이로 인해 담즙의 Hp 유병률이 높아지고 그에 따라 담석이나 담도염의 유병률이 높을 수 있다고 가정해 보았다. 따라서 췌담도 질환 중에 담석과 같은 양성 질환과 담도암이나 췌장염 또한 나아가서는 췌장암에 이르기까지 Hp의 존재가 이러한 여러 병들의 발생에 밀접한 관련성을 가정할 수 있다고 하겠다.

위의 Hp의 존재는 대조군의 Hp 양성률이 68.4%로 나타나 우리나라의 높은 Hp 감염률이 그대로 반영되어 높은 양성률을 보였던 반면, 췌담도 질환 군에서는 28.9%로 적어 통계적으로 유의한 양성률 차이를 보였다(p<0.01). 양성 및 악성 질환의 Hp 유병률에서는 양성 질환의 양성률이 낮았으나 통계적인 차이는 없었다(27.7% vs. 40%; p=0.28). 그렇다면 성별과 연령을 보정한 대조군의 Hp 감염률에 비하여 췌담도 질환군의 Hp 감염률은 왜 낮을 걸까? 추정되는 이유는 췌담관 질환의 환자에서는 이미 항생제의 사용이 되었던 경우가 많았으며 특히 담도의 양성 질환은 담석을 동반한 담낭염 또는 담도염의 경우였기 때문이었다. 또한 악성 질환에서도 췌담관의 염증뿐만 아니라 폐렴 등 다른 이유에서 항생제의 사용이 많았기 때문이다.

본 연구의 결과에서 위의 Hp 존재와 담즙의 Hp 존재는 완벽히 일치하지는 않았지만(p=0.33) 담도 및 췌장 질환 환자의 담즙에서 Hp의 존재가 20%정도로 나타나 담즙의 Hp 존재는 확실히 확인을 할 수 있었다. 그러나 괄약근을 통과하여 발생하는 역류나 문맥으로의 세균 유입으로 담즙에서의 Hp 존재를 설명하려고 한다면 담즙의 Hp 양성일 경우 위의 Hp가 양성인 경우가 모두 일치하여야 하지만 결과는 그렇지 않은 것으로 나타났다. 이는 Hp의 담즙으로의 존재 또는 감염은 위의 언급한 경로 이외의 다른 경로가 있거나 또는 담즙산 등의 담즙의 어떤 성분에 의해 Hp 생존에 필요한 적정 환경이 이루어지지 않아서 일 수 있겠다. 또한 담즙의 Hp검사에 사용한 Ure C gene의 발현성 차이로 인해 양성률에 차이가 생긴 것일 수도 있겠다. 이는 더 많은 수를 대상으로 하거나 Hp 존재의 검사를 다양한 Hp gene을 이용하여 위와 담즙의 Hp 존재여부의 관련성과 유입 또는 감염의 가능성을 확인하여야 할 것으로 생각한다. 담즙의 Hp 양성률은 전체 췌담도 질환 환자의 양성률이 18.4%였고 악성 질환이 양성 질환보다 조금 높았으나 통계적 차이는 없었다(17.4% vs. 20%; p>0.05). PCR로 담즙의 Hp 검출이 가능해지면서 담석 환자나 담낭 또는 담도의 악성 질환 발생에도 감염 균으로서 질병의 원인으로 그 역할이 유추되었다. 위 점막과 담즙의 Hp 검출로 담도암과의 연관성을 연구한 보고에서 담석 질환에서는 3.5배, 담도암에서는 9.9배의 높은 유병률을 보고하였다¹⁾. 담즙의 세균 존재는 유전자 검사에 의해 Hp는 urease genes(Ure A, Ure B, Ure C 등)을 이용하여 분리가 되었고¹⁵⁾ 이외의

Helicobacter 여러 종들은 *H. bilis*, *H. Rappini*, 그리고 *H. pullorum* 등으로 담석질환 환자에서 역시 유전자 증폭 검사를 이용하여 검출되어 흔히 발생하는 무증상 담도염의 원인일 수 있음을 시사하였다⁴⁾¹⁶⁾¹⁷⁾. 본 연구의 담즙 Hp 존재가 20% 정도인 것은 우리나라의 높은 Hp 유병률을 감안할 때 다른 논문들에서 주장하는 Hp가 담도염 또는 담도암이나 췌장암의 원인이라고 주장하기에는 그 양성률이 너무 낮았다. 또한 Hp의 담도질환의 원인에 대한 의견은 아직은 확실치 않은 것이 사실이다. 명등³⁾의 보고에 의하면 간내 결석 및 담도암 환자에서의 Hp의 병인이 될 만한 근거는 없는 것으로 설명하였고 이외에도 담석 환자와 대조군의 혈청학적 검사에서 거의 유사한 유병률을 나타낸 보고가 있었다¹²⁾. 또한 담도염이나 담석과 같은 양성 질환에서는 담즙의 Hp는 발견되지 않았다는 보고들이 있다¹⁵⁾¹⁸⁾. 본 연구에서는 오히려 대조군의 Hp 양성률이 높았을 뿐만 아니라 담도질환의 경우 양성 및 악성 질환의 Hp 양성률이 유사하여 Hp로 인한 염증과 더 나아가 악성 질환의 원인임을 주장하기에는 부족하였다.

급성 및 만성 췌장염에서 Hp 감염에 의한 병인론적 접근은 첫째, Hp에 의해 생성된 암모니아(NH₄OH)로 가스트린(gastrin)의 생성을 자극하여 자극과 암모니아 자체의 자극으로 인한 췌장의 알칼리화가 췌장암의 원인이 될 수 있고 둘째, Hp의 vacuolating toxin에 의한 자극, 셋째, Hp의 somatostatin생성과 분비의 저해로 아밀라제, 리파아제, 그리고 카이모트립신 등의 분비가 높아지기 때문으로 여겨진다⁷⁾. 또한 췌장암의 발병에 있어서는 ATBC(Alpha-tocopherol, Beta-Cartene Cancer Prevention study) 연구에서 Hp의 Cag A antigen의 혈청학적 검사를 이용한 결과 췌장암 환자에서 OR 비가 1.87로 Hp의 췌장암 원인으로서의 역할을 알렸고, 그 기전은 균의 직접적인 영향으로 Hp의 Cag A 독소가 췌장의 자극에 의하거나 가스트린의 상승과 소마토스타틴 저하 등의 호르몬 변화로 췌장의 성장 자극 및 이미 존재하는 췌장암의 지속적 성장을 가능하게 할 수 있다는 설명이었다⁸⁾. 또한 다른 연구는 췌장암 환자의 혈청학적 검사에서 65%에서 대조군에 비해 높다는 이유로 췌장암의 유병 인자임을 주장하기도 하였다⁹⁾. 그러나 췌장염 환자의 Hp 유병률에 의한 검사는 본 연구에서 시행하지 않았으나 췌장암 환자에서 Hp 감염률이 40%이고 담즙의 Hp 존재는 20%로 확실히 병인임을 주장할 수는 없

지만 향후 양성 질환인 췌장염 환자와 비교하여 검토해 볼 수 있겠다.

결론적으로 Hp의 양성률은 췌담도 질환 환자에서 양성 질환과 악성 질환에서 유사하였고, 우리나라와 같은 Hp 감염 호발지역에서는 췌담도 질환의 중요 유병인자는 아닌 것으로 생각한다.

요 약

목 적 :

Helicobacter pylori(Hp)의 양성 및 악성 췌담도 질환에 대한 최근 연구에 의하면 밀접한 관련이 있음을 시사하였다. 담즙에서 Hp의 urease 유전자의 검출이 가능함에 따라 담낭의 질환이 있는 환자의 담즙에서 Hp와 형태적으로 유사한 세균을 발견하게 되었다. 이에 담즙에 존재하는 Hp와 췌담도계의 질환의 연관성을 가정해 보았다. 이 연구의 목적은 췌담도계 질환의 Hp의 존재 유무를 확인하여 그 역할을 알아보고자 하였다.

방 법 :

담석 및 악성의 췌담도계 환자 38명을 선정하였고(18명의 남자, 20명의 여자, 평균 연령 71±27세, 범위 45~92세) 이들 환자는 담석환자가 23명, 담도암 환자 10명, 그리고 췌장암 환자가 5명이었다. 대조군은 건강 검진자에서 연령과 성별을 보정하여 38명을 선정하였다. 위의 Hp 존재 여부는 C¹⁴-breath test를 시행하였다. 담즙의 Hp의 검출은 소량의 담즙으로 증합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여 검사하였다.

결 과 :

위의 Hp 양성률은 대조군(26/38, 68.4%)이 췌담도계 환자 군(11/38, 28.9%)에 비해 통계적으로 유의하게 높았다(p<0.01). 환자군의 담즙 Hp 양성률은 18.4%로 담즙의 Hp 존재는 확인하였으나, 위와 담즙의 Hp 존재의 연관성은 의미가 없었다(p=0.33). 또한 담즙과 위 모두에서 Hp 존재 여부는 양성 질환과 악성 질환군 사이에 큰 차이가 없이 유사하였다.

결 론 :

Hp의 양성률은 췌담도 질환 환자에서 양성 질환과 악성 질환에서 유사하였고, 우리나라와 같은 Hp 감염 호발 지역에서는 췌담도 질환의 중요 유병인자는 아닌 것으로 생각한다.

References

- 1) Bulajic M, Maisonneuve P, Schneider-Brachert W, Muller P, Reischl U, Stimec B, et al : *Helicobacter pylori and the risk of benign and malignant biliary tract disease. Cancer* 2002 ; 95 : 1946-1953
- 2) Lohr M, Bulajic M, Maisonneuve P, Lowenfels AB : *Helicobacter pylori and the risk of benign and malignant biliary tract disease. Cancer* 2003 ; 98 : 656-658
- 3) Myung SJ, Kim MH, Shim KN, Kim YS, Kim EO, Kim HJ, et al : *Detection of Helicobacter pylori DNA in human biliary tree and its association with hepatolithiasis. Dig Dis Sci* 2000 ; 45 : 1405-1412
- 4) Lin TT, Yeh CT, Wu CS, Liaw YF : *Detection and partial sequence analysis of Helicobacter pylori DNA in the bile samples. Dig Dis Sci* 1995 ; 40 : 2214-2219
- 5) Kawaguchi M, Saito T, Ohno H, Modorikawa S, Sanji T, Handa Y, et al : *Bacteria closely resembling Helicobacter pylori detected immunohistologically and genetically in resected gallbladder mucosa. J Gastroenterol* 1996 ; 31 : 294-298
- 6) Wohrer S, Hejna M, Raderer M : *Helicobacter pylori and pancreatic cancer. A working hypothesis from epidemiological studies. JOP. J Pancreas (Online)* 2003 ; 4 : 163-164
- 7) Manes G, Balzano A, Vaira D : *Helicobacter pylori and pancreatic disease. JOP. J Pancreas (Online)* 2003 ; 4 : 111-116
- 8) Stolsenberg-Solomon RZ, Blaser MJ, Limberg PJ, Perez-Perez G, Taylor PR, Virtamo J, et al : *Helicobacter pylori seropositivity as a risk factor for pancreatic cancer. J Natl Cancer Inst* 2001 ; 12 : 937-941
- 9) Raderer M, Wrba F, Kornek G, Maca T, Weinlaender G, Hejna M, et al : *Scheithauer W. Association between Helicobacter pylori infection and pancreatic cancer. Oncology* 1998 ; 55 : 16-19
- 10) Labigne A, Cussac V, Courcoux P : *Shuttle cloning and nucleotide sequences of Helicobacter pylori genes responsible for urease activity. J Bacteriol* 1991 ; 173 : 1920-1931
- 11) Nilsson HO, Mulchandani R, Tranberg KG, Stenram U, Wadstrom T : *Helicobacter species identified in liver from patients with cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma. Gastroenterology* 2001 ; 120 : 323-324
- 12) Figura N, Cetta F, Angelico M, Montalto G, Cetta D, Pacenti L, et al : *Most Helicobacter pylori-infected patients have specific antibodies and some also have H. pylori antigens and genomic material in bile. Dig Dis Sci* 1998 ; 43 : 854-862
- 13) Fox JG, Dewhirst FE, Shen Z, Feng Y, Taylor NS, Paster BJ, et al : *Hepatic Helicobacter species identified in bile and tissue from Chileans with chronic Cholecystitis. Gastroenterology* 1998 ; 114 : 755-763
- 14) Fox JG, Shen Z, Feng F, Dufover J, Kaplan MM, Dewhirst FE : *Hepatobiliary Helicobacter spp. identified from patients with primary sclerosing cholangitis. Gastroenterology* 1998 ; 104 : A978
- 15) Roe IH, Kim JT, Lee HS, Lee JH : *Detection of Helicobacter DNA in bile from bile duct diseases. J Korean Med Sci* 1999 ; 14 : 182-186
- 16) Fukuda K, Kuroki T, Tajima Y, Tsuneoka N, Kitajima T, Matsuzaki S, et al : *Comparative analysis of Helicobacter DNAs and biliary pathology in patients with and without hepatobiliary cancer. Carcinogenesis* 2002 ; 23 : 1927-1931
- 17) Matsukura N, Yokomura S, Yamada S, Tajiri T, Sundo T, Hadama T, et al : *Association between Helicobacter bilis in bile and biliary tract malignancies : H. bilis in bile from Japanese and Thai patients with benign and malignant disease in the biliary tract. Jpn J Cancer Res* 2002 ; 93 : 842-847
- 18) Avenaud P, Marais A, Monteiro L, Le Bail B, Sage PB, Balabaud C, et al : *Megraud F. Detection of Helicobacter species in the liver of patients with and without primary liver carcinoma. Cancer* 2000 ; 89 : 1431-1439