헬리코박터 파일로리 제균 치료 전/후 위 내 미생물군집의 변화

박찬혁^{1,2}

한양대학교 의과대학 내과학교실¹, 한양대학교 구리병원 소화기내과²

Changes in Gastric Microbial Composition before and after *Helicobacter pylori* Eradication Therapy

Chan Hyuk Park^{1,2}

Department of Internal Medicine, Hanyang University College of Medicine¹, Seoul, Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Hanyang University Guri Hospital², Guri, Korea

Owing to advancements in next-generation sequencing and non-culture-based microbial research techniques, we have recognized that many bacterial taxa other than *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) are present in the human stomach. Gastric microbial composition depends on gastric diseases, including gastritis, atrophic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer. Although *H. pylori* is a major factor associated with gastric cancer development, other bacterial taxa may affect gastric carcinogenesis. Because the risk of gastric cancer development can be reduced through *H. pylori* eradication, many investigators have studied the changes in the microbial composition in the stomach after *H. pylori* eradication. The gastric microbiome in patients with *H. pylori* infection typically shows abundance of *H. pylori* and a low microbial diversity index. If we treat *H. pylori*-infected patients with antibiotics, microbial diversity increases, and the relative abundance also increases in many bacterial taxa. Several studies suggested that the microbial composition in patients with *H. pylori* infection could be restored by *H. pylori* eradication therapy; however, there have been inconsistent findings of the abundant bacterial taxa after *H. pylori* eradication in patients with atrophic gastritis and intestinal metaplasia. More studies are required to reach a definitive conclusion on restoration of the microbial composition after *H. pylori* eradication according to the severity of gastric inflammation. (**Korean J Helicobacter Up Gastrointest Res 2020;20:177-186**)

Key Words: *Helicobacter pylori*; Metagenome; Microbiota

서론

1980년대 초, Marshall과 Warren¹이 헬리코박터 파일로리가 위염의 원인임을 밝힌 이후, 현재까지 위궤양, 십이지장궤양, 위 점막관련림프조직(mucosa-associated lymphoid tissue) 림프종 등 다양한 위, 십이지장 질환과 헬리코박터 파일로리의 연관성이 알려졌다.² 특히 여러 역학 연구에서, 헬리코박터 파일로리와 위암과의 뚜렷한 연관성이 밝혀지면서 1994년에 세계보건기구 산하 International Agency for Research on Cancer에서 헬리코박터 파일로리를 제1군 발암물질로 규정하였다.³ 그러나 위암 발생에는 헬리코박터 파일로리 외에 연령, 성별, 흡연, 위암 가족력, 훈제 혹은 절인 음식, 낮은 사회경제적 수준 등 여러 인자가 관여하며,⁴ 헬리코박터 파일로리 자체는 위암을

일으키는 직접적인 원인이 아닐지도 모른다는 의견도 제시되고 있다.^{5,6}

이에 따라 많은 연구자들이 위암의 또 다른 원인을 규명하려고 시도하고 있으며, 이 중 가장 대표적인 것이 위 내 미생물군집(microbiota)이다.⁷ 미생물에 대한 연구는 전통적으로 100년 넘게 배양법을 통해 이루어졌으나, 2000년대 초반 차세대 염기서열분석법(next-generation sequencing)이 도입되면서 현재는 미생물의 DNA 서열 분석을 기반으로 한 비배양법이 미생물 연구 방법으로 널리 활용되고 있다.^{7,8} 현재는, 위 내에도 헬리코박터 파일로리 외에 여러 미생물이 상재하고 있음을 알고 있으며, 헬리코박터 파일로리 외에 위암과 연관된 박테리아를 규명하고자 하는 노력이 있었다.^{8,9} 특히, 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 변화하는 위 내 미생물군집의 특성을 파악하려는 연구가 다수 진행되었다.^{6,10-16} 이에 본고에서는 헬리코박터 파일로리 제균 치료 전/후 위 내 미생물군집을 특성을 비교해보고 위축성 위염 및 장상피화생, 혹은 위암의 발병과 연관되는 박테리아에 대해 살펴보고자 한다.

Received: April 30, 2020 Revised: June 23, 2020 Accepted: June 26, 2020

Corresponding author: Chan Hyuk Park

Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Hanyang University Guri Hospital, 153 Gyeongchun-ro, Guri 11923, Korea
Tel: +82-31-560-2230, Fax: +82-31-553-7369, E-mail: yesable7@gmail.com

Copyright © 2020 Korean College of *Helicobacter* and Upper Gastrointestinal Research

© The Korean Journal of *Helicobacter* and Upper Gastrointestinal Research is an Open-Access Journal. All articles are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

본 론

1. 헬리코박터 파일로리 감염으로 인한 위 내 미생물군집의 다양성 변화

미생물군집이 질병에 미치는 영향을 이해할 때 가장 중요한 것 중 하나는 특정 환경에 존재하는 미생물의 다양성이다.¹⁷ 장 내 미생물군집의 다양성은 건강인보다 염증성 장질환 환자나 *Clostridioides difficile* 연관 장염 환자에서 더 낮으며, 일반적으로 질병이 발생할 경우 미생물군집의 다양성이 낮아지는 것으로 알려져 있다.^{17,18} 그러나 세균성 장염 환자의 질 내 미생물군집은 건강인의 질 내 미생물군집에 비해 오히려 다양성이 높기 때문에 다양성의 증가가 반드시 건강한 상태를 의미하는 것은 아니다.¹⁹

헬리코박터 파일로리에 감염되지 않은 건강인의 위 내 미생물군집에는 Firmicutes, Proteobacteria, Cyanobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria 등 다양한 phylum이 관찰되며, 다양성 역시 높은 수준이다.^{11,13} 반면, 헬리코박터 파일로리에 감염된 환자의 경우 위 내 미생물군집 중 헬리코박터 파일로리의 상대 풍부도(relative abundance)는 90% 이상이며,¹³ 헬리코박터 파일로리의 생태적 지위가 올라감에 따라 잠재적으로 헬리코박터 파일로리와 경쟁할 수 있는 다른 미생물의 서식 가능성이 줄어들고, 결과적으로 위 내 미생물군집의 다양성은 매우 낮아진다.^{11,15} 그러나 헬리코박터 파일로리 감염이 지속됨에 따라 위축성 위염 및 장상피화생이 진행되면 위산 분비가 줄어들며 위 내 미생물군집의 조성이 변화한다. 헬리코박터 파일로리의 상대 풍부도는 줄어들고, non-*Helicobacter* Proteobacteria를 비롯하여 여러 박테리아 분류군(taxa)이 늘어나며, 미생물군집의 다양성이 높아진다.^{11,13,15} 즉, 위 내 미생물군집은 헬리코박터 파일로리 미감염 상태에서, 헬리코박터 파일로리 감염, 위축성 위염, 장상피화생이 진행됨에 따라 다양성이 줄어들었다가 다시 늘어나는 동적 변화를 겪게 된다.

2. 헬리코박터 파일로리 제균 치료에 따른 위 내 미생물군집의 다양성 복원과 조성 변화

헬리코박터 파일로리 제균 치료 시 위 내 미생물군집의 다양성이 복원된다는 것은 여러 연구에서 밝혀져 있다(Table 1). 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 위 내 미생물의 변화를 비배양법으로 처음 확인한 것은 2016년 발표된 Li 등¹⁰의 연구로, 헬리코박터 파일로리 감염이 동반된 십이지장궤양 환자 21명에 대해 제균 치료 전/후, 16S rRNA 유전자에 대해 정량 실시간 중합효소 연쇄반응법(quantitative real-time polymerase chain

reaction)을 시행하여 위 내 주요 미생물의 양을 측정하였다. 제균 치료 후, 위 전정부에서 *Lactobacillus*, *Clostridium leptum*, *Enterobacteria*의 풍부도가 증가하였고, *Clostridium coccoides*의 풍부도는 감소하였다. 위 체부에서도 *Lactobacillus*의 풍부도는 증가한 반면 *Clostridium coccoides*의 풍부도는 감소하였다. 다만, 이 연구는 중합효소 연쇄반응법을 이용하여 목표로 삼은 일곱 가지 박테리아 군에 대해서만 연구를 진행하였기 때문에, 연구 대상이 아닌 다른 박테리아의 풍부도나 미생물군집의 다양성을 확인할 수는 없었다. 또한, 십이지장궤양 환자를 대상으로 하였기 때문에 헬리코박터 파일로리 제균 치료 이후 양성자펌프억제제를 2주간 추가로 투약하였고, 따라서 양성자펌프억제제로 인한 위 내 미생물군집 조성 변화 가능성을 완전히 배제할 수 없었다는 한계가 있다.

2017년 Li 등¹¹은 헬리코박터 파일로리 제균 치료 전/후 위 내 미생물군집의 조성 변화를 최초로 16S rRNA 유전자 시퀀싱을 통해 분석하였다. 위염 환자 7명, 장상피화생 환자 4명에 대해 헬리코박터 파일로리 제균 치료를 시행한 결과 미생물군집의 다양성이 증가하였다. 풍부도가 늘어난 박테리아 분류군은 대부분 non-*Helicobacter* Proteobacteria였는데, *Neisseria*, *Serratia*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Rhizobium* 등이 있었고, 이 외에 *Flavobacterium*, *Fusobacterium* 등도 제균 치료 후 풍부도가 증가하였다. 이 연구는 헬리코박터 파일로리 감염으로 인해 감소된 다양성이 제균 치료 후 복원될 수 있음을 보여준 첫 번째 연구이기는 하나, 제균 치료 대상군에 단순 위염 환자와 장상피화생 환자가 섞여 있어 제균 치료의 효과를 온전히 이해하기에는 제약이 있을 수 있다.

2019년 He 등¹²과 Park 등¹³은 위축성 위염 및 장상피화생이 발생하지 않은 헬리코박터 파일로리 연관 위염 환자에 대해서 제균 치료 전/후 위 내 미생물군집의 변화를 분석하였다. He 등¹²의 연구에서는 헬리코박터 파일로리 제균 치료 전에 비해 제균 치료 후 위 내 미생물군집의 다양성이 증가함을 보였고, 제균 치료 후 26주 경과 시 제균 치료 전에 비해 *Prevotella*, *Ralstonia*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*의 풍부도가 증가함을 보였다. 제균 치료 후 4주와 24주 경과한 뒤 각각 위 내 미생물군집을 분석하였는데, *Ralstonia*는 24주째에 비해 4주째에 풍부도가 높았고, *Pseudomonas*는 4주째와 24주째에 풍부도 차이가 없었고, *Prevotella*, *Lactobacillus*는 4주째에 비해 24주째에 풍부도가 더 높아, 제균 치료 후 늘어나는 박테리아 분류군도 시기에 따라 달라질 수 있음을 보고하였다. Park 등¹³은 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 Rhizobiales, Neisseriaceae 등의 풍부도가 증가함을 보였다. 다른 연구와 마찬가지로 제균 치료 전에 비해 제균 치료 후 미생물군집의 조성이 크게 변화하였으나, 제균 치료 후 미생물군집의 조성이 Firmicutes 및

Table 1. Summary of Studies on the Gastric Microbiome after *Helicobacter pylori* Eradication Therapy

Study	Country	Number of patients	Background disease			HP eradication regimen	Location	Sample collection	Evaluation timing after HP eradication therapy	Microbiome analysis	Metagenomic function analysis	Main results
			Population	and number of patients successfully treated with HP eradication therapy	Duodenal ulcer: 21							
Li et al. ¹⁰ (2016)	China	68	Adult		Duodenal ulcer: 21	Rabeprazole 40 mg, bismuth citrate, amoxicillin 2,000 mg, clarithromycin 1,000 mg, 10 days	Antrum and corpus	Biopsy	At least 4 weeks later	Quantitative real-time PCR for 16S rRNA gene	None	Antrum after HP eradication: <i>Lactobacillus</i> ↑, <i>Clostridium leptum</i> ↑, <i>Enterobacteria</i> ↑, <i>Clostridium coccoides</i> ↓ Corpus after HP eradication: <i>Lactobacillus</i> ↑, <i>Clostridium coccoides</i> ↑ Feces after HP eradication: <i>Lactobacillus</i> ↑
Li et al. ¹¹ (2017)	China	33	Adult		Gastritis: 7 Intestinal metaplasia: 4	Esomeprazole 40 mg, amoxicillin 2,000 mg, clarithromycin 1,000 mg, 7 days	Antrum and corpus	Biopsy	8 weeks later	16S rRNA gene sequencing	None	Bacterial diversity after HP eradication ↑ OTUs after HP eradication: <i>Neisseria</i> ↑, <i>Serratia</i> ↑, <i>Haemophilus parainfluenzae</i> ↑, <i>Rhizobium</i> ↑, <i>Flavobacterium</i> ↑, <i>Fusobacterium</i> ↑
He et al. ¹² (2019)	China	17	Adult		Chronic superficial gastritis: 10	Esomeprazole 40 mg, bismuth subcitrate 440 mg, amoxicillin 2,000 mg, furazolidone 200 mg, 14 days	Antrum	Biopsy	4 and 24 weeks later	16S rRNA gene sequencing	PICRUSt	Bacterial diversity after HP eradication ↑ At 24 weeks after HP eradication: <i>Prevotella</i> ↑, <i>Ralstonia</i> ↑, <i>Pseudomonas</i> ↑, <i>Lactobacillus</i> ↑ At 24 weeks vs. 4 weeks after HP eradication: <i>Prevotella</i> ↑, <i>Lactobacillus</i> ↓ Changes in metagenomic function after HP eradication: lipopolysaccharide biosynthesis ↓, lipopolysaccharide biosynthesis proteins ↓, bacterial motility proteins ↓, bacterial chemotaxis ↓, glycolysis/gluconeogenesis ↑, glycine, serine, and threonine metabolism ↑, pentose phosphate pathways ↑

Table 1. Continued

Study	Country	Number of patients	Background disease and number of patients successfully treated with HP eradication therapy	HP eradication regimen	Location	Sample collection	Evaluation timing after HP eradication therapy	Microbiome analysis	Metagenomic function analysis	Main results
Park et al. ¹³ (2019)	Korea	138	Adult Chronic superficial gastritis: 9	Rabeprazole 40 mg, amoxicillin 2,000 mg, clarithromycin 1,000 mg, 14 days	Antrum	Biopsy	1 month later	16S rRNA gene sequencing	PICRUST	Before the HP eradication therapy, the relative abundance of <i>Helicobacter</i> was 93.3%, while that of non-HP-Proteobacteria was 2.9%. After the eradication, the relative abundance of non-HP-Proteobacteria increased (46.8%). Changes in microbial taxa and metagenomic function after HP eradication: Rhizobiales ↑, T4SS genes ↑
Serrano et al. ¹⁴ (2019)	Chile	16	Child Children with nausea and abdominal discomfort: 7	Omeprazole, amoxicillin, clarithromycin, 14 days	Stomach	Biopsy	2 months later	16S rRNA gene sequencing	None	Shannon and Simpson indexes after HP eradication ↑, <i>Pseudomonadaceae</i> ↑, <i>Delftia</i> ↑, <i>Kocuria</i> ↑, <i>Stenotrophomonas</i> ↑
Guo et al. ¹⁵ (2020)	China	164	Adult Normal or superficial gastritis: 5 Atrophic gastritis: 25 Intestinal metaplasia/dysplasia: 28	Omeprazole 40 mg, bismuth citrate 600 mg, metronidazole 1,200 mg, tetracycline 2,250 mg, 10 days	Antrum	Biopsy	6 months later	16S rRNA gene sequencing	Tax4Fun	Richness and Shannon indexes after HP eradication ↑, <i>Staphylococcus</i> ↑, <i>Corynebacterium</i> ↑, <i>Fusobacterium</i> ↑, <i>Bacteroides</i> ↑, <i>Streptophyta</i> ↑, <i>Prevotella</i> ↑, <i>Gemella</i> ↑, <i>Porphyromonas</i> ↑, <i>Alloprevotella</i> ↑, <i>Veillonella</i> ↑, <i>Neisseria</i> ↑, <i>Streptococcus</i> ↑, <i>Rothia</i> ↑, <i>Haemophilus</i> ↑ Protein digestion and absorption ↑, glycosaminoglycan and other glycan degradation ↑, gastric acid secretion ↑, carbohydrate digestion and absorption ↑, bacterial flagellar assembly ↓, bacterial chemotaxis and bacterial secretion system pathways ↓

Table 1. Continued

Study	Country	Number of patients	Background disease and number of patients successfully treated with HP eradication therapy	HP eradication regimen	Location	Sample collection	Evaluation timing after HP eradication therapy	Microbiome analysis	Metagenomic function analysis	Main results
Miao et al. ¹⁶ (2020)	China	55	Child Gastritis or duodenitis: 2 Gastric or duodenal erosion: 2 Duodenal ulcer: 7	PPI, amoxicillin, clarithromycin, 14 days, for 5 children PPI, bismuth, amoxicillin, clarithromycin, 14 days, for 3 children PPI, amoxicillin, 5 days, thereafter PPI, clarithromycin, 5 days (sequential therapy), for 2 children Amoxicillin, clarithromycin, bismuth, 14 days, for 1 child	Antrum	Biopsy	Within 4 weeks later	16S rRNA gene sequencing	PICRUSt	Microbial diversity after HP eradication ↑ <i>Neisseria</i> , <i>Curvibacter</i> , and <i>Haemophilus</i> were common in HP-negative children and patients with successful HP eradication
Sung et al. ⁶ (2020)	China	202	Adult Gastritis, atrophy, or intestinal metaplasia: 102 ^a	Omeprazole 40 mg, amoxicillin 2,000 mg, clarithromycin 1,000 mg, 7 days	Antrum and corpus	Biopsy	1 year later	16S rRNA gene sequencing	PICRUSt	Microbial diversity after HP eradication ↑ Patients with persistent inflammation 1 year after HP eradication: <i>Acinetobacter lwoffii</i> ↑, <i>Streptococcus anginosus</i> ↑, <i>Ralstonia</i> ↑ Patients with emerged atrophy 1 year after HP eradication: <i>Granulicatella</i> ↑, <i>Streptococcus</i> ↑, <i>Rothia</i> ↑, <i>Leptotrichia</i> ↑ Patients with emerged intestinal metaplasia after HP eradication: <i>Mesorhizobium</i> ↑, <i>Cupriavidus</i> ↑ Changes in metagenomic function in patients with emerged intestinal metaplasia after HP eradication: amino acid metabolism ↑, inositol phosphate metabolism ↑, several genes encoding virulence bacterial T4SS ↑

HP, *Helicobacter pylori*; PCR, polymerase chain reaction; OTU, operational taxonomic unit; PICRUSt, phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states; T4SS, type IV secretion system; PPI, proton pump inhibitor.

^aThe number of patients who failed HP eradication therapy included.

Cyanobacteria의 풍부도가 상대적으로 높은 건강인의 미생물 군집보다는 Proteobacteria 및 Bacteroidetes의 풍부도가 상대적으로 높은 장상피화생 환자의 미생물군집에 가깝게 변화함을 확인하였다.¹³ 이는 헬리코박터 파일로리 감염을 치료하더라도 위 내 미생물군집의 조성이 헬리코박터 파일로리 감염 전 상태로 완전히 복원되지는 않을 수도 있음을 시사하며, 헬리코박터 파일로리 제균 치료만으로 위암을 100% 예방할 수 없는 이유가 될 수도 있다.

2019년 Serrano 등¹⁴의 연구와 2020년 Miao 등¹⁶의 연구는 소아 환자에서의 제균 치료 후 위 내 미생물군집 조성 변화를 분석하였다. 소아에서의 연구는 헬리코박터 파일로리 만성 감염의 유병 기간이 길지 않을 경우 헬리코박터 파일로리 제균 치료에 따른 위암 발생 예방 효과가 클 수 있다는 가정하에, 위암 예방에 도움이 되는 위 내 미생물군집의 특성을 파악하는데 도움을 줄 수 있다. Serrano 등¹⁴은 오심과 복부불편감을 호소하는 7명의 13세 이하 소아 환자를 대상으로 제균 치료를 시행하여, 제균 치료 전에 비해 제균 치료 후 위 내 미생물군집의 다양성이 증가하고, 헬리코박터 파일로리 감염이 없는 소아와 제균 치료를 받은 소아 간에 미생물군집의 다양성에 차이가 없음을 보였다. 제균 치료 후의 미생물군집에는 *Pseudomonadaceae*, *Delftia*, *Kocuria*, *Stenotrophomonas* 등의 풍부도가 증가하였다. Miao 등¹⁶의 연구에서는 평균 11세의 소아 환자 11명에 대해 헬리코박터 파일로리 제균 치료를 시행하였고, 제균 치료 전에 비해 제균 치료 후 미생물군집의 다양성이 증가하였으며 *Neisseria*, *Curvibacter*, *Haemophilus*의 풍부도가 증가하였다. 또한, 헬리코박터 파일로리 감염이 없는 소아와 헬리코박터 파일로리 제균 치료를 받은 소아에서 다양성 지표인 Shannon index와 Simpson index가 유사함을 보였다. 다만, richness를 나타내는 Chao1과 abundance-based coverage estimator는 제균 치료 전에 비해 제균 치료 후 상승하기는 하였으나, 건강한 소아에 비해서는 유의하게 낮아 헬리코박터 파일로리 감염 전의 richness에 도달하지는 못하였다. 다만, 이 연구에서 헬리코박터 파일로리 제균 치료를 받은 환자의 다수는 십이지장궤양이 있었는데, 십이지장궤양 환자에서 위암 위험이 감소한다는 점을 감안할 때, 본 연구 결과를 토대로 위암 발생과 연관 있는 박테리아를 추론하기에는 한계가 있다.²⁰

2020년 Guo 등¹⁵은 총 58명의 헬리코박터 파일로리 감염 환자에 대해 제균 치료를 시행하였으며, 제균 치료 성공 환자의 미생물군집을 제균 치료 실패 환자와 헬리코박터 파일로리 미감염자의 미생물군집과 비교하였다. 이전의 다른 연구와 마찬가지로, 헬리코박터 파일로리 감염 환자에서 낮아져 있는 미생물군집의 다양성이, 제균 치료 성공 시 증가하는 것을 확인하였다. 제균 치료 성공 시 다양성은 헬리코박터 파일로리 미감염자의 위 내 미생물군집과

비슷한 수준으로 복원되었으며, 제균 치료 실패 시에는 제균 치료를 시행받기 전과 비슷한 정도의 다양성을 보였다. 제균 치료 성공 시 위 내 미생물군집에는 *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Streptophyta*, *Prevotella*, *Gemella*, *Porphyromonas*, *Alloprevotella*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Streptococcus*, *Rothia*, *Haemophilus*의 풍부도가 증가하였다. 그러나 주성분 분석(principle component analysis)을 통해 전체적인 미생물군집 조성을 비교하였을 때는 제균 치료 성공 환자의 미생물군집이 제균 치료 전 미생물군집과 차이가 있었지만, 헬리코박터 파일로리 미감염자의 미생물군집과 비교해도 차이가 있었다. 저자들은 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 위 내 미생물군집이 복원될 수 있음을 주로 강조하기는 하였으나, 제균 치료만으로 위 내 미생물군집이 헬리코박터 파일로리 감염 전과 같이 완전히 정상화 되는가에 대해서는 의문이 남는다.

Guo 등¹⁵의 연구에서 보여준 헬리코박터 파일로리 제균 치료에 따른 미생물군집 다양성의 복원은 비교군인 헬리코박터 파일로리 미감염자군에 헬리코박터 파일로리 감염이 없었던 건강인과 위축성 위염 및 장상피화생이 진행되어 헬리코박터 파일로리 감염이 소실된 과거 감염자가 함께 포함되었기 때문일 가능성이 있다. 이에, 헬리코박터 파일로리 미감염자를 건강인과 헬리코박터 파일로리 과거 감염자로 분리하여 헬리코박터 파일로리 제균 치료 환자와 비교하기 위해, Guo 등¹⁵이 시행한 분석을 Park 등¹³의 연구 데이터를 이용해 재현해 보았다 (Fig. 1, 2). Guo 등¹⁵의 연구 결과와 마찬가지로 제균 치료 실패 시 richness index와 Shannon index가 제균 치료 전의 수치와 비슷한 수준에 머물러 있는 것에 비해, 제균 치료 성공 시에는 수치가 상승함을 확인하였다(Fig. 1A, B). 그러나 상승한 richness index와 Shannon index는 헬리코박터 파일로리 과거 감염자와 비슷한 수준까지만 상승하였고, 건강인의 수준에는 도달하지 못하였다. Guo 등¹⁵은 헬리코박터 파일로리 제균 치료 성공 시 풍부도가 증가하는 17개의 genera와 헬리코박터의 풍부도를 이용하여 미생물 불균형 지표(microbial dysbiosis index)를 제시하였는데, 이 지표 역시 제균 치료 성공 시 건강인보다는 헬리코박터 파일로리 과거 감염자와 유사하게 변화하였다(Fig. 1C). 또한, 주성분 분석 결과에서도 헬리코박터 파일로리 제균 치료 성공 시 위 내 미생물군집의 조성은 건강인보다는 헬리코박터 파일로리 과거 감염자와 비슷하였다(Fig. 2).

헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 위 내 미생물군집의 변화를 분석한 현재까지의 모든 연구가 일관되게 보여주는 소견은 제균 치료 성공 시 헬리코박터 파일로리 외 다른 여러 박테리아의 풍부도가 증가하고 미생물군집의 다양성이 증가한다는 점이다(Fig. 3). 그러나 제균 치료 후 어떤 박테리아 분류군이 상대적으로 높은 비율로 증가하는지는 연구마다 차이가 있고, 제

균 치료 후 미생물군집의 구성과 다양성이 헬리코박터 파일로리 감염 이전과 같이 완전히 복원되는가에 대해서는 연구마다

차이가 있다. 이는 위 내 미생물군집의 구성에 여러 지역적, 환경적 인자가 관여함은 물론이고, 연구 대상자의 위 내 질병 상

Fig. 1. Microbial diversity and dysbiosis indices in gastric mucosal samples based on the data of the study by Park et al.¹⁵ (A) Richness index, (B) Shannon index, and (C) microbial dysbiosis index. The healthy control indicates individuals with chronic superficial gastritis without *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection. Disease control indicates individuals with severe atrophic gastritis and intestinal metaplasia without *H. pylori* infection. The microbial dysbiosis index has been calculated using the same formula reported by Guo et al.¹⁵ It is depicted as follows: $\log (\text{total abundance of genera decreased after successful eradication [i.e., } \textit{Helicobacter}] / \text{total abundance of genera increased after successful eradication [17 genera demonstrated in the study by Guo et al.}^{15}])$. To prevent the logarithm from becoming negative infinity, 0% of abundance in *H. pylori* is replaced by 0.1%. P-values are calculated using the Mann-Whitney U test.

태(위염, 위축성 위염, 장상피화생)가 연구마다 차이가 있기 때문으로 생각된다.^{8,21} 가장 최근에 발표된 2020년 Sung 등⁶의 연구는 102명의 헬리코박터 파일로리 감염자에게 제균 치료를 시행하고 1년 후 위염이 지속되거나, 위축성 위염 혹은 장상피화생이 새로 발생한 환자의 미생물군집의 특성을 분석하였다. 흥미롭게도, 헬리코박터 파일로리 제균 치료가 성공하였더라도 미생물군집의 조성은 환자 간에 차이가 있었는데, 1년 후 위염이 지속되었던 환자에서는 그렇지 않은 환자보다 *Acinetobacter lwoffii*, *Streptococcus anginosus*, *Ralstonia*의 풍부도가 증가

하였고, 위축성 위염이 새로 발생한 환자에서는 그렇지 않은 환자보다 *Granulicatella*, *Streptococcus*, *Rothia*, *Leptotrichia*의 풍부도가 증가하였으며, 장상피화생이 새로 발생한 환자에서는 그렇지 않은 환자보다 *Mesorhizobium*, *Cupriavidus*의 풍부도가 증가하였다. Sung 등⁶은 이들 미생물 분류군이 잠재적으로 위암 발병에 기여하는 위 내 미생물이고 위암 예방의 타겟이 될 수도 있음을 강조하였다. 물론, 헬리코박터 파일로리 제균 치료 1년 후 장상피화생이 새로이 발생한 환자에서 보다 많이 발견되는 *Mesorhizobium* 혹은 *Cupriavidus*와 같은 박테

Fig. 2. Principle component analysis for the gastric microbiome based on the data of the study by Park et al.¹³ (A) Before vs. after successful *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) eradication and (B) after successful *H. pylori* eradication vs. healthy control group vs. disease control group. Healthy control indicates individuals with chronic superficial gastritis without *H. pylori* infection. Disease control indicates individuals with severe atrophic gastritis and intestinal metaplasia without *H. pylori* infection. The chi-square transformed data in the relative abundance at the family level has been subjected to the weighted linear regression analysis. ANOSIM, analysis of similarities.

Fig. 3. Schematic diagram of differences in the gastric microbiome according to the *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and eradication. ^aRestored bacterial taxa vary across the studies.

리아가 실제로 장상피화생을 유발한 미생물인지, 아니면 장상피화생이 발생하였기 때문에 이차적으로 증식된 미생물인지 판단하기는 아직 이르나, 헬리코박터 파일로리 제균 치료를 받은 모든 환자에서 위 내 미생물군집이 건강인과 같은 수준으로 복원되는 것은 아닌 것으로 생각된다.

3. 헬리코박터 파일로리 제균 치료에 따른 위 내 메타유전체(metagenome)의 기능 변화

지금까지 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 위 내 미생물군집의 변화를 본 연구는 대부분 16S rRNA 유전자 시퀀싱을 이용하여 진행되었다. 16S rRNA 유전자 시퀀싱을 이용한 미생물군집 연구는 박테리아의 16S rRNA 유전자 염기 서열만을 분석하여 어떤 분류군의 박테리아가 어느 정도 존재하는지를 알아내는 것이며 메타유전체의 모든 유전자 염기 서열을 직접 분석하는 것이 아니기 때문에, 메타유전체의 기능을 직접적으로 파악할 수는 없다. 그러나 토양이나 식물 등에 존재하는 메타유전체와는 달리 사람의 장 내에 존재하는 메타유전체는 대부분 그 기능이 알려져 있기 때문에, 사람에 대한 미생물군집 연구의 경우에는 16S rRNA 시퀀싱을 통해 알아낸 operational taxonomic unit에 대한 정보만을 갖고 메타유전체의 기능을 비교적 정확히 추론할 수 있다.^{22,23}

Table 1에 제시된 8건의 연구 중 5건의 연구에서 메타유전체 기능을 분석하였고, 헬리코박터 파일로리 제균 치료에 따른 메타유전체의 기능 변화는 4건의 연구에서 보고되었다.^{6,12,13,15} He 등¹²은 헬리코박터 파일로리 제균 치료 전에 비해 제균 치료 후 lipopolysaccharide biosynthesis, lipopolysaccharide biosynthesis proteins, bacterial motility proteins, bacterial chemotaxis 관련 기능이 감소하고, glycolysis/gluconeogenesis, glycine, serine, threonine metabolism, pentose phosphate pathway 관련 기능은 증가함을 보고하였다. Park 등¹³의 연구에서는 건강인에 비해 장상피화생 환자에서 증가한 다양한 메타유전체 유전자를 보고하였는데 이 중 type IV secretion system (T4SS) 단백질 코딩 유전자가 증가해 있었고, 헬리코박터 파일로리 감염 위염 환자에서 제균 치료를 시행한 후에도 메타유전체에 T4SS 단백질 코딩 유전자가 증가하였음을 보고하였다. T4SS 단백질은 헬리코박터 파일로리의 CagA 단백질이 사람의 위 상피세포로 전달되는데 필수적인 단백질로, 장상피화생 환자의 메타유전체에서 증가하는 T4SS 단백질 코딩 유전자는 위암의 발병 위험 증가와 관련이 있을 가능성이 제시되었다.¹³ 또한, 헬리코박터 파일로리 제균 치료를 시행할 경우 메타유전체에 T4SS 단백질 코딩 유전자가 증가함에도 불구하고 위암의 발병 위험이 감소한다는 점은 위암의 발생에 헬리코박터

파일로리 외 박테리아의 존재도 중요할 수 있지만 헬리코박터 파일로리 자체가 보다 중요한 인자임을 시사한다.¹³

Guo 등¹⁵은 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 메타유전체에 단백질의 소화와 흡수, glucosaminoglycan과 기타 glycan의 분해, 위산 분비 및 탄수화물의 소화와 흡수 관련 기능이 증가하고, 편모 부착장치(flagellar assembly), 세균의 화학주성(chemotaxis) 및 세균분비체계 관련 기능이 줄어들음을 보여주었다. Sung 등⁶의 연구에서는 헬리코박터 파일로리 제균 치료 1년 경과 후, 장상피화생이 발생하지 않은 환자의 메타유전체에 비해 장상피화생 이 새로 발생한 환자의 메타유전체에서 아미노산 및 inositol phosphate 대사 관련 기능 유전자와 T4SS 단백질 코딩 유전자가 증가함을 확인하였다.

헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 다양한 박테리아 분류군의 풍부도가 증가하고, 그에 따라 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 메타유전체의 기능 역시 많은 변화를 보임이 여러 연구에서 확인되었다. 그러나 앞서 살펴본 바와 같이 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 증가하는 박테리아 분류군은 연구마다 차이를 보이며, 메타유전체의 기능 변화 역시 연구에 따라 차이가 있다. 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 변화하는 메타유전체의 기능을 탐색하는 것은 위암의 발병 기전 규명에 도움을 줄 수는 있으나, 아직까지 메타유전체의 기능이 위암 발병에 직접적으로 미치는 영향이 확실히 밝혀지지는 않았다. 한 가지 중요하게 기억할 것은 장상피화생 환자에서 증가하는 메타유전체 기능이나, 혹은 헬리코박터 파일로리 제균 치료 후 감소하는 메타유전체 기능이 모두 위암의 발병에 영향을 미치는 것은 아니라는 점이다. 박테리아의 유전체 대부분은 박테리아 자신의 생존과 증식에 필요한 것이지, 숙주의 위암 발병을 위한 목적으로 존재하는 것은 아니기 때문이다. 따라서, 위암의 발병 기전을 규명하고자 할 때, 단순히 헬리코박터 파일로리 제균 치료 전/후 변화량이 큰 메타유전체 기능에만 초점을 맞추어 현상을 이해하기보다는, 제균 치료 전/후 변화량이 크지 않더라도 위암 발병과 연관성이 있을 수 있는 유전자 기능을 선별하여 분석하려는 노력이 필요하다.

결론

지금까지 헬리코박터 파일로리 제균 치료 전/후 미생물군집의 변화 양상에 대해 살펴보았다. 헬리코박터 파일로리 감염 환자의 위 내 미생물군집에는 헬리코박터 파일로리가 매우 높은 비중을 차지하고 있고 미생물군집의 다양성은 낮아져 있으며, 제균 치료 후 미생물군집의 다양성은 증가한다. 그러나 위 내 미생물군집이 헬리코박터 파일로리 제균 치료를 통해 헬리코박터 파일로리 감염 전으로 완전히 복원될 수 있는가에 대해서는

논란이 있으며, 제균 치료를 시행하였더라도 위축성 위염이나 장상피화생이 발생한 환자의 미생물군집은 그렇지 않은 환자의 미생물군집과 차이가 있다.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

ORCID

Chan Hyuk Park <https://orcid.org/0000-0003-3824-3481>

REFERENCES

- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;1:1311-1315.
- McCull KE. Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2010;362:1597-1604.
- Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Working Group on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, 7-14 June 1994. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1994;61:1-241.
- Karimi P, Islami F, Anandasabapathy S, Freedman ND, Kaman-gar F. Gastric cancer: descriptive epidemiology, risk factors, screening, and prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014;23:700-713.
- de Assumpção PP, Araújo TMT, de Assumpção PB, et al. Suicide journey of *H. pylori* through gastric carcinogenesis: the role of non-*H. pylori* microbiome and potential consequences for clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2019;38:1591-1597.
- Sung JY, Coker OO, Chu E, et al. Gastric microbes associated with gastric inflammation, atrophy and intestinal metaplasia 1 year after *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 2020;69:1572-1580.
- Engstrand L, Graham DY. Microbiome and gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2020;65:865-873.
- Eun CS, Kim BK, Han DS, et al. Differences in gastric mucosal microbiota profiling in patients with chronic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer using pyrosequencing methods. *Helicobacter* 2014;19:407-416.
- Jo HJ, Kim J, Kim N, et al. Analysis of gastric microbiota by pyrosequencing: minor role of bacteria other than *Helicobacter pylori* in the gastric carcinogenesis. *Helicobacter* 2016;21:364-374.
- Li L, Zhou X, Xiao S, Ye F, Zhang G. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on the gastrointestinal microbiota in patients with duodenal ulcer. *J Gastrointest Liver Dis* 2016;25:139-146.
- Li TH, Qin Y, Sham PC, Lau KS, Chu KM, Leung WK. Alterations in gastric microbiota after *H. pylori* eradication and in different histological stages of gastric carcinogenesis. *Sci Rep* 2017;7:44935.
- He C, Peng C, Wang H, et al. The eradication of *Helicobacter pylori* restores rather than disturbs the gastrointestinal microbiota in asymptomatic young adults. *Helicobacter* 2019;24:e12590.
- Park CH, Lee AR, Lee YR, Eun CS, Lee SK, Han DS. Evaluation of gastric microbiome and metagenomic function in patients with intestinal metaplasia using 16S rRNA gene sequencing. *Helicobacter* 2019;24:e12547.
- Serrano CA, Pierre R, Van Der Pol WJ, Morrow CD, Smith PD, Harris PR. Eradication of *Helicobacter pylori* in children restores the structure of the gastric bacterial community to that of noninfected children. *Gastroenterology* 2019;157:1673-1675.
- Guo Y, Zhang Y, Gerhard M, et al. Effect of *Helicobacter pylori* on gastrointestinal microbiota: a population-based study in Linqu, a high-risk area of gastric cancer. *Gut* 2020;69:1598-1607.
- Miao R, Wan C, Wang Z. The relationship of gastric microbiota and *Helicobacter pylori* infection in pediatrics population. *Helicobacter* 2020;25:e12676.
- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005;308:1635-1638.
- Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, et al. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut* 2004;53:685-693.
- Pflughoeft KJ, Versalovic J. Human microbiome in health and disease. *Annu Rev Pathol* 2012;7:99-122.
- Hansson LE, Nyrén O, Hsing AW, et al. The risk of stomach cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease. *N Engl J Med* 1996;335:242-249.
- Chua EG, Loke MF, Gunaletchumy SP, et al. The influence of modernization and disease on the gastric microbiome of orang asli, myanmars and modern malaysians. *Microorganisms* 2019;7:174.
- Langille MG, Zaneveld J, Caporaso JG, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol* 2013;31:814-821.
- Aßhauer KP, Wemheuer B, Daniel R, Meinicke P. Tax4Fun: predicting functional profiles from metagenomic 16S rRNA data. *Bioinformatics* 2015;31:2882-2884.