

## 어린이 위 점액층 내의 *Helicobacter pylori* 검출

김유경 · 이종실 · 김활웅 · 이정희  
윤희상<sup>1</sup> · 고경혁

경상대학교 의과대학 병리학교실  
<sup>1</sup>소아과학교실

접 수 : 2002년 6월 17일  
게재승인 : 2002년 9월 30일

책임저자 : 고 경 혁  
우 660-751 경남 진주시 칠암동 92  
경상대학교 의과대학 병리학교실  
전화: 055-751-8735  
Fax: 055-759-7952  
E-mail: gyunghko@gaechuk.gsnu.ac.kr

\*저자 중 김유경과 이종실은 교육부 두뇌  
한국21 사업의 핵심 분야에서 지원 받음.

### Detection of *Helicobacter pylori* in the Gastric Mucous Layer in Pediatric Patients

You Kyung Kim, Jong Sil Lee, Hwal Woong Kim, Jeong Hee Lee, Hee Shang Youn<sup>1</sup>, and Gyung Hyuck Ko

Departments of Pathology and <sup>1</sup>Pediatrics, Gyeongsang National University College of Medicine, Jinju, Korea

**Background :** *Helicobacter pylori* is present mainly in the gastric mucous layer. However, the mucous layer, along with the bacteria, is lost during conventional tissue processing in which formalin is used for fixation. The purpose of this study is to ascertain - if the mucous layer is preserved by using Carnoy solution as a fixative - whether the detection rate of *H. pylori* is increased in pediatric patients. **Methods :** Five pieces of gastric mucosal tissue were obtained from the gastric antrum and the body of one hundred pediatric patients. One of the specimens was fixed with formalin. Another specimen was fixed with Carnoy solution. The tissue sections were stained with hematoxylin-eosin and immunohistochemically stained for *H. pylori*. For reference, a rapid urease test was performed on the remaining three specimens. **Results :** In the formalin-fixed tissue, the detection rate of *H. pylori* was 13% in the gastric antrum and 12% in the body (overall 16%). In the Carnoy solution-fixed tissue, the mucous layer was preserved and the detection rate of *H. pylori* was 23% in the antrum and 27% in the body (overall 28%). The positive rate of the rapid urease test was 26% in the antrum and 28% in the body (overall 29%). **Conclusions :** When the number of *H. pylori* is small in the gastric mucosa, the bacteria may not be detected by conventional histologic methods. In that case, the detection rate of *H. pylori* may be increased by using Carnoy solution, rather than formalin, as a tissue fixative.

**Key Words :** *Helicobacter pylori*-Gastric Mucosa-Fixatives

*Helicobacter pylori*는 주로 위점막의 점액층 내에서 산다.<sup>1</sup> 그러나 통상의 조직 처리 과정 중 대부분의 점액층이 포르말린 고정액에 용해되어 소실된다.<sup>2</sup> 따라서 소량의 세균이 위 점액층 내에만 존재하는 경우에는 조직학적으로 이 세균이 검출되지 않을 가능성이 있다. 본 저자들의 이전 연구<sup>3</sup>와 다른 보고<sup>4</sup>에 의하면, *H. pylori* 감염 시 어린이는 성인에 비해 상대적으로 세균의 수가 적었다. 한편 포르말린 대신 Carnoy 고정액을 사용하면 점액층이 잘 보존되므로 *H. pylori*의 검출률을 높일 수 있다는 보고가 있다.<sup>5</sup> 본 연구에서는 Carnoy 용액을 사용함으로써, 성인에 비해 상대적으로 세균의 수가 적을 것으로 생각되는 어린이 환자의 위점막에서 *H. pylori* 검출률이 얼마나 높아지는지 알아보하고자 하였다.

### 재료와 방법

상복부 통증을 호소하는 어린이 환자 100명에 대해 내시경검사를 시행하였다. 보호자의 동의를 얻어 각각의 환자로부터 위 방(antrum) 및 몸통(body)에서 각각 5개의 위점막 조직을 채취하였다. 환자의 나이는 1세부터 15세까지였으며 평균 연령은 7.6세였다. 남아가 59명, 여아가 41명이었다.

다섯개의 조직 중 한 개는 포르말린에 고정된 후 통상의 조직 처리 과정을 거쳐 HE 염색과 *H. pylori*에 대한 면역조직화학 염색을 시행하였다. 일차 항체로는 *H. pylori*에 대한 다클론성 항체(희석 비율 1:10, DAKO, Glostrup, Denmark)를 사용하였으며 이차 항체로는 anti-rabbit IgG (DAKO)를, 그리고 발색제로는 3-amino-9-ethylcarbazole (DAKO)를 사용하였다. 대

조염색을 위한 일차 항체로는 정상 토끼 면역글로불린(DAKO)을 사용하였다.

또 하나의 조직은 Carnoy 고정액에 1시간 동안 고정하였다. Carnoy 용액은 60 mL의 무수 알코올, 30 mL의 클로로포름, 그리고 10 mL의 빙초산을 혼합하여 만들었다. 고정 후 조직을 무수 알콜과 크실렌으로 처리한 후 파라핀으로 포매하였다. 포

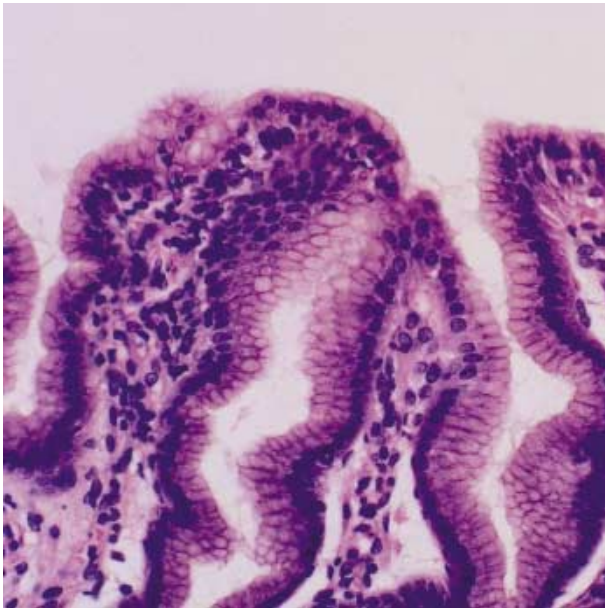


Fig. 1. A formalin-fixed gastric mucosa shows near total loss of the mucous layer and absence of *Helicobacter pylori*, despite of moderate inflammation in the lamina propria.

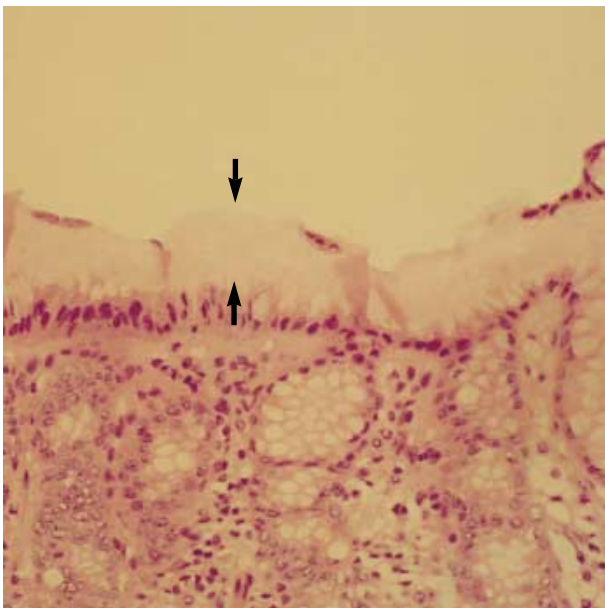


Fig. 2. A thick mucous layer (arrows) is observed in the gastric mucosa fixed with Carnoy solution and stained with HE. The specimen is from the same patient shown in Fig. 1.

매된 조직을 박절하여 HE 염색과 *H. pylori*에 대한 면역조직화학 염색을 시행하였다. 슬라이드를 광학현미경으로 검색한 후 두 가지 고정 방법에 의한 *H. pylori* 검출률을 비교하였다. 통계 분석은 t-test로 하였다.

나머지 세개의 조직에 대해서는 rapid urease test를 시행하였다. 세개의 조직을 한꺼번에 2% urea 배지에 접종한 후 6시간 후에 검사하였다. 배지의 색이 노란색에서 붉은 색으로 변한 것을 양성으로 판단하였다.

## 결 과

포르말린으로 고정하고 HE로 염색한 표본에서, 위 방에서는 100예 중 13예(13%)에서 *H. pylori*가 검출되었으며, 위 몸통에서는 12예(12%)에서 *H. pylori*가 검출되었다(전체 16%). *H. pylori*에 대한 면역조직화학 염색은 검출률을 높이지 못하였다.

포르말린에 고정한 조직(Fig. 1)에 비해 Carnoy 용액으로 고정한 조직에서는 점액층이 비교적 잘 보존되었다(Fig. 2). Carnoy 용액으로 고정한 조직을 HE로 염색한 경우에는 *H. pylori*를 형태학적으로 확인하기 어려웠으나, *H. pylori*에 대한 면역조직화학 염색을 시행한 경우에는 *H. pylori*를 쉽게 확인할 수 있었다(Fig. 3, 4). Carnoy 용액으로 고정하고 *H. pylori*에 대한 면역조직화학 염색을 시행한 경우, 방에서는 100예 중 23예(23%)에서 *H. pylori*가 검출되었으며 몸통에서는 27예(27%)에서 *H. pylori*가 검출되었다(전체 28%). 따라서 Carnoy 용액으로 고정한 경우가 포르말린으로 고정한 경우보다 *H. pylori* 검출률이 높

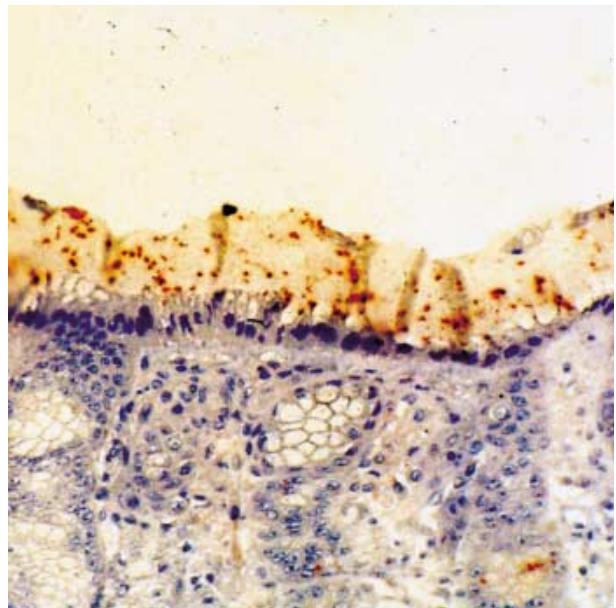


Fig. 3. An immunohistochemical stain shows many *Helicobacter pylori* in the gastric mucous layer.

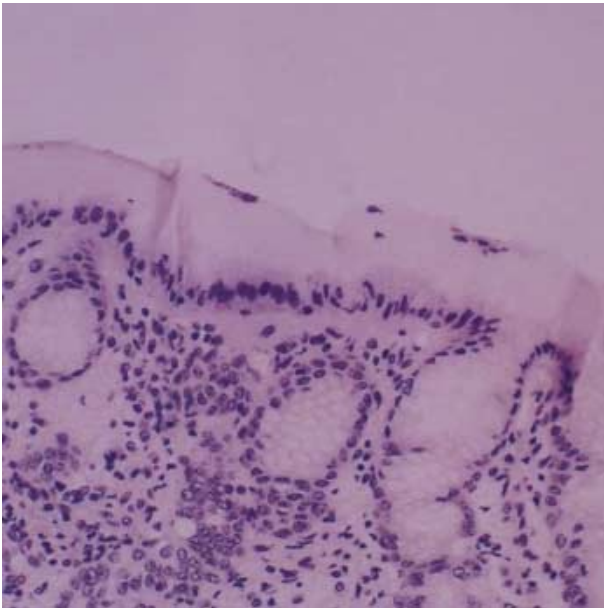


Fig. 4. A negative control slide, immunohistochemically stained with normal rabbit immunoglobulin fraction as a primary antibody, fails to show *Helicobacter pylori*.

았다(전체 표본  $p=0.004$ ; 몸통 표본  $p=0.006$ ; 방 표본은 통계적 의의 없음). 포르말린에 고정한 조직에서 *H. pylori*가 관찰된 경우는 모두 Carnoy 용액에 고정한 조직에서도 *H. pylori*가 관찰되었다.

방 표본에서는 100예 중 26예(26%)에서 rapid urease test가 양성이었으며, 몸통 표본에서는 28예(28%)에서 rapid urease test가 양성이었다(전체 29%). 조직에서 *H. pylori*가 관찰된 경우는 모두 rapid urease test도 양성이었다.

## 고찰

Shimizu 등<sup>5</sup>은 성인의 경우 포르말린에 고정한 위점막 조직에서 *H. pylori* 검출률이 70%인데 비해, Carnoy 용액으로 고정하여 *H. pylori*에 대한 면역조직화학 염색을 시행한 경우에는 85%로 증가한다고 하였다. 즉 Carnoy 용액으로 고정한 경우 검출률이 약 1.2배 증가하였다. 본 연구에서는 Carnoy 용액을 사용함으로써 *H. pylori* 검출률이 방에서는 약 1.8배, 몸통에서는 약 2.2배 증가하였다. 즉, Shimizu 등<sup>5</sup>의 경우보다 증가율이 높았다. 그 이유는 똑같이 *H. pylori*에 감염되었다 하더라도 성인보다 어린이의 *H. pylori* 수가 적기 때문으로 생각된다. 사실 본 연구자들의 이전 연구에서 성인보다 어린이의 경우 *H. pylori*의 수가 적었다.<sup>3</sup> 즉, 16세에서 40세까지 *H. pylori*에 감염된 어른의 약 50%가 중등도 이상의 감염을 보인 데 비해, 15세 이하의 *H. pylori*에 감염된 어린이는 약 30%가 중등도 이상의 감염

을 보였다. 40세 이후에는 창자화생의 영향으로 세균의 수가 다시 감소하는 경향이 있었다.

Carnoy 고정액을 사용한 경우 방보다 몸통에서 *H. pylori* 검출률이 더욱 증가했다. 그 이유도 방보다 몸통에서 *H. pylori*의 수가 적기 때문으로 생각된다.<sup>6</sup> 본 연구에서 통계학적 의의는 없지만 포르말린에 고정한 경우에는 *H. pylori* 검출률이 몸통보다 방에서 높았고, Carnoy 용액으로 고정한 경우에는 방보다 몸통에서 높았다. 따라서 *H. pylori*의 수는 방이 많지만 감염률은 몸통이 높을 가능성이 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서 참조를 위해 rapid urease test를 시행하였다. 민감도를 최대한 높이기 위하여 방과 몸통의 여러 부위에서 채취한 각각 3개의 조직을 한꺼번에 사용하였다. 그 결과 rapid urease test 양성률은 Carnoy 용액에 고정한 조직에서의 *H. pylori* 검출률과 비슷하였다.

위점막 세포의 표면이나 세포간 접합부가 아니라, 점액층 내에서만 세균이 관찰되는 경우도 *H. pylori*에 감염된 것으로 보아야 하는지는 아직 확실치 않다. 그러나 세균이 생산하는 urease가 만성 위염의 발병 기전에 기여한다고 생각되는 만큼<sup>7</sup>, 점액층 내에서만 세균이 관찰되는 경우도 *H. pylori*에 감염된 것으로 보는 것이 좋을 것으로 생각된다.

*H. pylori*를 검출하기 위해 위 생검 표본을 Carnoy 용액에 고정하는 것은 통상적인 조직 처리 과정과는 다른 조직 처리 과정을 거쳐야 하기 때문에 실제적인 어려움이 따른다. Carnoy 용액의 또 다른 단점은 일반적인 HE 염색에 의해서는 점액층 내에 있는 *H. pylori*를 확인하기 어렵다는 점이다. 따라서 Carnoy 고정액을 사용하는 경우에는 면역조직화학 염색 등 특수 염색이 필요하다. 본 연구에서는 면역조직화학 염색 이외에 Giemsa 염색도 시행한 결과, *H. pylori*가 비교적 잘 염색되었으나 면역조직화학 염색보다 검출률이 낮았다(자료는 제시하지 않음).

결론적으로 *H. pylori*의 수가 적은 경우, 특히 어린이의 위 몸통 표본의 경우에, 실제로는 *H. pylori*에 감염이 되어 있어도 통상적인 조직학적 관찰에 의해서는 이 세균이 검출되지 않을 가능성이 있다고 생각되며, 이런 경우 포르말린 대신 Carnoy 용액을 고정액으로 사용하면 *H. pylori* 검출률을 높일 수 있을 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis* 1986; 153: 658-63.
2. Ota H, Katsuyama T. Alternating laminated array of two types of mucin in the human gastric surface mucous layer. *Histochem J* 1992; 24: 86-92.
3. Ko GH, Park CK, Choi CS, et al. *Helicobacter pylori* infection and

- histopathological features of gastric mucosa. Korean J Pathol 1996; 30: 199-209.
4. Ashorn M. What are the specific features of *Helicobacter pylori* gastritis in children? Ann Med 1995; 27: 617-20.
  5. Shimizu T, Akamatsu T, Ota H, Katsuyama T. Immunohistochemical detection of *Helicobacter pylori* in the surface mucous gel layer and its clinicopathological significance. Helicobacter 1996; 1: 197-206.
  6. Bayerdorffer E, Lehn N, Hatz R, et al. Difference in expression of *Helicobacter pylori* gastritis in antrum and body. Gastroenterology 1992; 102: 1575-82.
  7. Mobley HL. The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. Aliment Pharmacol Ther 1996; 10 Suppl 1: 57-64.