



## 저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

# 석사학위논문

제주 지역에서 23S rRNA Point Mutations 과  
관련된 Clarithromycin 내성 *Helicobacter pylori*

제주대학교 대학원

의 학 과

김 태 윤

2013 년 2 월

Clarithromycin-Resistant *Helicobacter pylori*  
Associated with 23S rRNA Point Mutations  
in Jeju Island

Taeyun Kim, M.D.  
(Supervised by professor Hyun Joo Song)

February, 2013

Department of Internal Medicine

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

제주 지역에서 23S rRNA Point Mutations 과  
관련된 Clarithromycin 내성 *Helicobacter pylori*

지도교수 송 현 주

김 태 윤

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함

2013 년 2 월

심사 위원장 \_\_\_\_\_ (印)

부 위 원 장 \_\_\_\_\_ (印)

위 원 \_\_\_\_\_ (印)

제주대학교 대학원

2013 년 2 월

Clarithromycin-Resistant *Helicobacter pylori*  
Associated with 23S rRNA Point Mutations  
in Jeju Island

Taeyun Kim, M.D.  
(Supervised by professor Hyun Joo Song)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for  
the degree of Master in medicine  
(Department of Internal medicine)

February, 2013

This thesis has been examined and approved.

Doctoral Committee:

Professor \_\_\_\_\_ Chairman  
Professor \_\_\_\_\_ Vice chairman  
Professor \_\_\_\_\_

Department of Internal Medicine  
GRADUATE SCHOOL  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

# ABSTRACT

**Backgrounds/Aim:** Most of the clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) occur through the point mutations in 23S rRNA gene. There has been no study about clarithromycin-resistance of *H. pylori* in Jeju Island, because it is isolated place in Korea. This study was conducted to investigate the association between the clarithromycin-resistance of *H. pylori* and the failure of primary *H. pylori* eradication therapy in Jeju Island. **Methods:** Between April 2011 and October 2012, a total of 127 patients underwent upper gastrointestinal endoscopy and were diagnosed with *H. pylori* infection through rapid urease tests and Giemsa staining. Among them, 110 patients were treated with proton pump inhibitor (PPI)-based triple therapy. One month after the first *H. pylori* eradication therapy, we analyzed the PCR results in terms of the success or failure. **Results:** The mean age of the 127 patients was  $52 \pm 14$  years (range, 15-82 years), and the ratio of males to females was 79:48 (62.2%:37.8%). The total mutations were 33 patients (26.0%) and A2142G and A2143G mutations were observed in 10 patients (7.9%) and 23 patients (18.1%), respectively. The age of patients with A2143G mutation was significantly higher than those with wild-type ( $59 \pm 11$  vs.  $50 \pm 14$  years,  $p = 0.028$ ). A2143G mutation was more frequently observed in females than in males (35.4% vs. 7.6%,  $p < 0.005$ ). Among 110 patient treated with PPI-based triple therapy, the success rate of the first eradication therapy was 52.7 % (58/110) and 70.7 % (58/82) by intention-to-treat and per-protocol analysis, respectively. Fifteen of the 24 patients who failed the first eradication therapy showed point mutations; 9 patients (37.5%) showed wild type, 1 patient (4.2%) showed A2142G mutation and 14 patients (58.3%) showed A2143G mutation. In particular, A2143G mutation was significantly higher in failure group of the first *H. pylori* eradication therapy compared with success group (58.3% vs. 3.4%;  $p <$

0.001). **Conclusions:** In Jeju Island, the frequency of 23S rRNA point mutations is similar (26.0%) with any other regions of Korea (15.8~31.3%). A2143G mutation could be associated with the clarithromycin-resistance of *H. pylori* and with the failure of first *H. pylori* eradication therapy.

Key words: 23S rRNA point mutation, Clarithromycin resistance, *Helicobacter pylori*, Jeju

# 서론

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*)는 만성 위염, 소화성 궤양, 점막연관림프조직 림프종, 위암과 관련이 있는 그람음성 막대균이다.<sup>1,2</sup> 감염률은 전 세계 인구의 50%이상 *H. pylori* 에 감염되어 있으며<sup>3</sup>, 국가별 감염률은 선진국인 서유럽이나 미국에서는 25~50%, 개발도상국가에서는 70~80%, 한국은 전 세계평균보다 높은 60%로 알려져 있다.<sup>4,5</sup> 감염률은 나이에 비례하여 급격히 증가하는 경향을 보이며 한 번 감염되면 제균 치료를 하지 않는 한 대부분의 경우 평생 감염이 지속된다.<sup>1</sup> 이런 이유로 *H. pylori* 의 제균치료는 중요하며 국내에서는 1998 년 이후에 프로톤 펌프 억제제(proton-pump inhibitor, PPI)와 amoxicillin, clarithromycin 을 1-2 주간 경구 투여하는 3 제 요법이 일차제균치료로 정립되었다. 2001 년 한국에서 *H. pylori* 의 clarithromycin 약제내성률은 10%이하로 보고된 바 있으나<sup>7</sup> 2008 년 23s rRNA 점돌연변이를 이용한 clarithromycin 내성에 대한 연구가 서울의 5 개 대학 병원을 중심으로 된 이루어졌으며 내성의 빈도는 21.6%였고, 총 변이 빈도는 15.8%~31.3%로 병원에 따라 다양하였으며, 유형도 다양하였다.<sup>8</sup> 이는 국내에서 macrolide 와 같은 항생제를 10 년 이상 광범위하게 사용하면서 clarithromycin 항생제 내성을 보이는 *H. pylori* 가 점차 증가하고 있으며, 이로 인한 제균률이 감소하여 심각한 문제가 되고 있음을 시사하고 있다.<sup>9</sup> *H. pylori* 균주에 대한 3 제 요법의 제균성공률은 clarithromycin 감수성 균주는 81~95%, clarithromycin 내성 균주는 0~48%로 보고되어 있어 clarithromycin 내성이 치료 실패에 중요한 원인이 되므로 이를 확인하는 것이 중요하다.<sup>9</sup>



최근 한국에서 지역에 따른 *H. pylori* 균주 내성에 대한 연구도 서울, 경기, 강원, 부산 지역에 국한되어 있으며<sup>10</sup> 제주 지역에서 clarithromycin 내성에 대한 연구는 현재까지 전무한 상황이다. 이에 본 연구의 목적은 제주지역에서 *H. pylori* 제균 치료 실패와 clarithromycin 내성과 연관된 것으로 알려진 23 rRNA 점돌연변이 사이의 관련성을 확인하고 *H. Pylori* 제균 치료 시작 전에 PCR assay(Seeplex<sup>®</sup> ClarR-*H. pylori* ACE detection)를 통한 clarithromycin 내성 선별 검사의 임상성 유용성을 알아보고자 한다.

# 대상 및 방법

## 대상

2011년 4월부터 2012년 10월까지 제주대학병원에서 소화기내과 외래에 내원한 환자 중 소화성궤양, 점막절제 후 궤양 등 *H. pylori* 감염시 치료의 적응증이 되는 환자를 대상으로 상부위장관 내시경 중 시행한 신속요소분해효소검사, Giemsa stain 검사를 통해 *H. pylori* 감염이 확인되어 1차 삼제 요법(lansprazole 60 mg, amoxicillin 2.0 g, clarithromycin 1,000 mg)으로 제균 치료의 대상이 되는 환자 127 명을 대상으로 하였다. 연구대상에는 해당 기간 내에 *H. pylori* 제균 치료를 처방받은 모든 환자 중 본인 (보호자)이 연구에 대한 설명을 듣고 정보활용동의서를 작성한 환자를 포함하였으며, 연구에 동의하지 않는 환자와 위암, 및 *H. pylori* 제균치료에 사용하는 약제에 대한 금기증을 가진 환자는 제외하였다. 연구대상에 포함된 127명에 대해 연령과 성별, 체질량지수, *H. pylori* 제균치료 적응증, 당뇨, 고혈압, 고지혈증 등의 기저질환, 흡연력, 음주력, 약제 복용정도에 따른 순응도 등의 변수들을 전향적으로 분석하였다. 그리고 일차 3제 *H. pylori* 제균치료 1달 뒤 요소호기검사 또는 신속요소분해효소검사 및 조직의 Giemsa stain을 시행하여, 이중 하나라도 양성인 경우 *H. pylori* 제균치료 실패군으로 정의하였고, 시행한 검사에서 음성인 경우 성공군으로 정의하였다. 1차 치료 성공 여부에 따라서 성공군과 실패군 두 그룹으로 나누고, 각 환자에서의 23 rRNA 점 돌연변이 중 내성 여부와 관련성이 많이 알려진 A2142G, A2143G 돌연변이 여부를 clarithromycin PCR 결과에 따라 분석하였다.

본 연구는 제주 대학교 병원의 임상시험심사위원회 (IRB)로부터 연구 프로토콜 (IRB 번호 2011-32)을 승인과 모든 환자의 정보는 임상시험 전 서면 동의를 받았으며, 인체자원단위은행에서

제공한 인체자원을 이용하여 수행되었다.

## 방법

### 1) DNA 추출

우선 clarithromycin 내성유전자 검사는 위 생검조직에서 QIAamp DNA mini Kit (Qiagen inc., Valencia, CA, USA)를 사용하여 제조사의 키트설명서에 따라 DNA 를 분리한 후 시행하였다.<sup>11</sup> 위 생검조직을 microcentrifuge tube 에 담고, 단백질을 제거하기 위해 위 생검조직에 액체질소를 넣으면서 잘게 부숴준 후 ATL buffer 180  $\mu$ L 와 proteinase K 20 $\mu$ L 를 넣어준 후 56°C 에서 완전히 용해될 때까지 방치한 후 AL buffer 를 넣은 후 70°C 에서 10 분간 반응시켰다. 100% 에탄올 200  $\mu$ L 를 첨가하여 15 분간 섞어준 후 QIA amp spin column 에 넣어 8,000 rpm 에서 1 분간 원심분리하였다. 이 후 세척을 위하여 column 에 AW1 buffer 500  $\mu$ L 를 넣고 8,000 rpm 에서 1 분간 원심분리하고, 2 차로 AW2 buffer 500  $\mu$ L 를 넣어 14,000 rpm 에서 3 분간 원심분리 하였다. Column 에 붙어 있는 DNA 를 분리하기 위해 AE buffer (Elution Buffer) 50 $\mu$ L 를 넣어 1 분간 방치한 후 8,000 rpm 에서 1 분간 원심 분리하였다. 분리된 DNA 는 자외선 분광광도계(Beckman, CA, USA)를 이용하여 정량하고 사용하기 전까지 -80°C 에서 보관하였다.

### 2) 내성유전자변이검사

Dual priming oligonucleotide system (DPO) 기법을 도입하여 개발된 Seeplex *ClaR-H. pylori* PCR 키트(Seegene Inc., Seoul, Korea)의 Seeplex Home-brew primer mix 를 이용하여

유전자를 증폭하였다. DNA의 증폭은 GeneAmp PCR system 9600 (Perkin-Elmer Branchburg, NJ, USA)을 이용하였고, 94°C에서 15분 동안 변성시킨 후 94°C에서 30초, 65°C에서 30초, 72°C에서 1분으로 40회 증폭하였다. 마지막으로 72°C에서 5분간 연장반응을 시켰다(Fig. 1).

### 3) 실험결과의 판정

증폭된 DNA 산물 5 µL를 2% 아가로스겔을 이용하여 100 volt에서 30분간 전기 영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 자외선 투과조명기에서 밴드를 확인하였다. 621 bp 산물이 관찰되면 *H. pylori* 양성으로 해석하였다. *H. pylori* 양성검체에서 194 bp와 475 bp의 변이형 밴드가 관찰되지 않으면 야생형(wild type)으로, 194 bp 산물이 확인되면 A2142G 변이형으로, 475 bp 산물이 보이면 A2143G 변이형으로 해석하였다(Fig. 2).

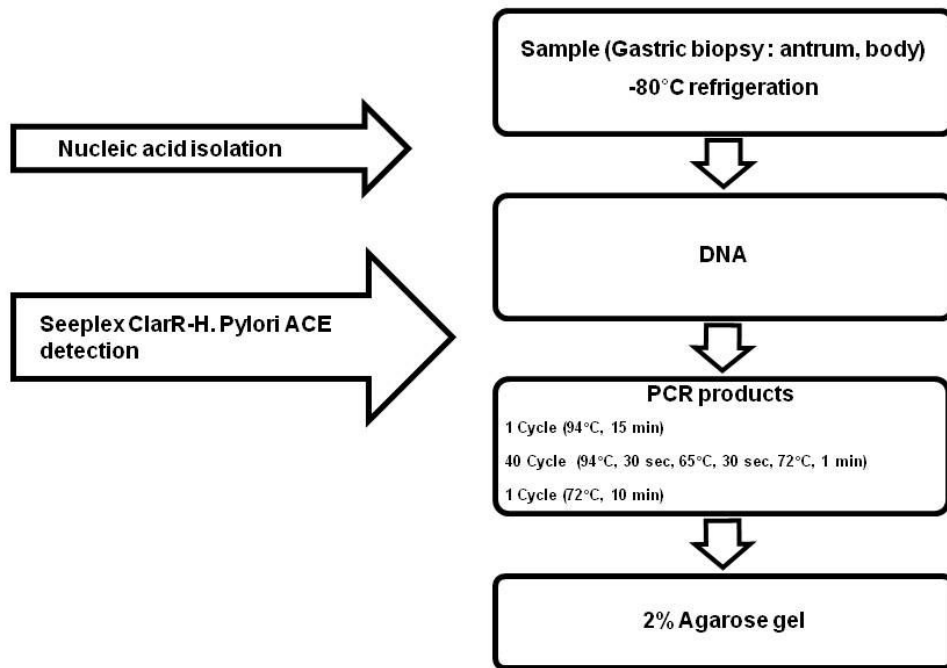


Fig. 1. DNA isolation and PCR method

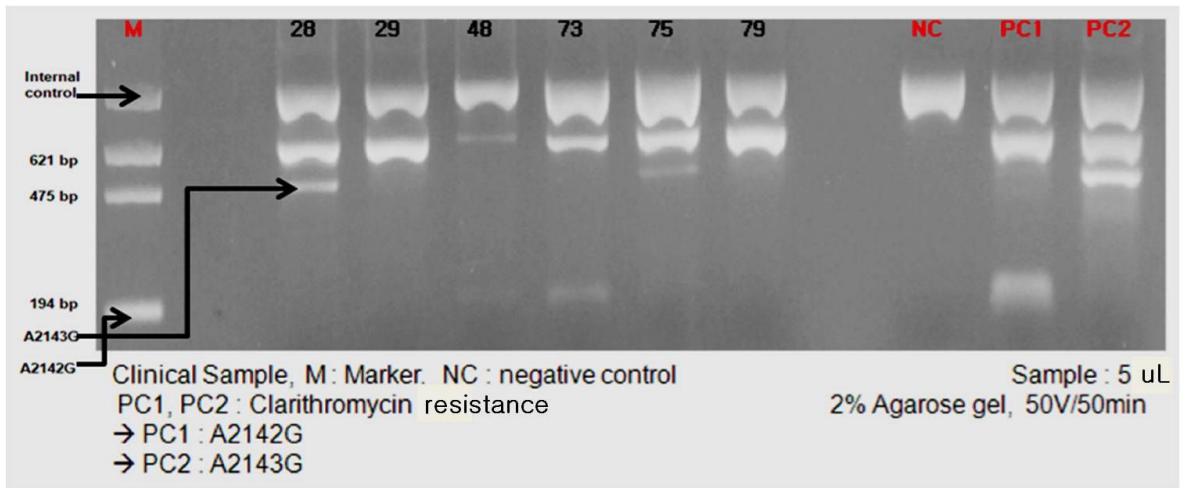


Fig. 2. Detection of point mutation at A2143G and A2142G in 23S rRNA gene by polymerase chain reaction products. Lane M, DNA ladder; lane 28; A2143G mutation, lane 29; wild type, lane 73; A2142G mutation.

## 통계 분석

통계 분석은 SPSS 18.0 프로그램(Statistical package for the Social Science, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 사용하여 분석하였고 결과는 평균과 비율로 표시하였으며, 연속 변수는 평균과 표준편차로 기술하였다. 두 그룹간의 연속 변수에 대한 비교는 student's t-test 를 사용하였고, 비연속 변수는 chi-square test 을 사용하여 분석하였다. 경향 분석은 선형 대 선형 결합(linear by linear association)을 사용하였다. 3 그룹의 비교는 one-way ANOVA test 를 사용하였고, 사후 검정은 Scheffe test 로 분석하였다.  $P$  값이 0.05 미만을 통계적으로 유의한 것으로 정의하였다.

## 결 과

전체 연구 대상에 포함된 127 명의 환자의 기본 정보는 다음과 같다(Table 1). 연령은 15 세에서 82 세였고 남자가 79 명(62.2%), 여자 48 명(37.8%)였다. 환자의 평균연령은  $52 \pm 14$  세였고, 평균 체질량지수는  $23.8 \pm 3.0 \text{ kg/m}^2$  이었다. *H. pylori* 제균 치료의 적응질환으로는 십이지장 궤양흔적 74 명(58.3.7%), 위선종의 점막절제 후 궤양 18 명(14.2%), 활동성 위궤양 11 명(8.7%), 위 궤양흔적 6 명(4.7%), 활동성 십이지장 궤양 6 명(4.7%), 위 증식용종의 점막절제 후 궤양 6 명 (4.7%), 조기위암의 점막절제 후 궤양 4 명(3.1%), 기능성 소화불량 1 명 (0.8%)이었다. 기저질환은 고혈압 26 명(20.5%), 고지혈증 19 명(15%), 당뇨병 12 명(9.4%)이었다. 음주력이 있는 경우는 71 명(55.9%), 흡연력이 있는 경우는 54 명(42.5%)을 보였다(Table 1).



Table 1. Demographic Characteristics of Patients

	<b>Total Patients (n=127)</b>
<b>Age (years)</b>	52 ± 14 years (15 - 82)
<b>Sex</b>	Male : Female = 79 (62.2%) : 48 (37.8%)
<b>Body Mass Index (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	23.8 ± 3.0
<b>Indication of <i>H. pylori</i> eradication</b>	
Active or healing gastric ulcer	11 (8.7%)
Gastric ulcer scar	6 (4.7%)
Active or healing duodenal ulcers	6 (4.7%)
Duodenal ulcer scar	74 (58.3%)
Endoscopic therapy of early gastric cancer	4 (3.1%)
Endoscopic therapy of gastric adenoma	18 (14.2%)
Peptic ulcer bleeding	1 (0.8%)
Endoscopic therapy of gastric hyperplastic polyps	6 (4.7%)
Functional dyspepsia	1 (0.8%)
<b>Underlying disease</b>	
Diabetes mellitus	12 (9.4%)
Hypertension	26 (20.5%)
Hyperlipidemia	19 (15.0%)
<b>Social history</b>	
Smoking	54 (42.5%)
Alcohol	71 (55.9%)

연구에 포함된 127 명의 환자 중 소화기내과 외래에서 일차 *H. pylori* 제균 치료를 받지 않거나 거절한 17 명의 환자를 제외하고 이차 제균치료를 시행받은 110 명의 환자 중 외래에서 추적관찰된 환자는 82 명(74.5%)이었다. 82 명의 환자 중 58 명이 일차 3제 제균치료에 성공하였고, 24 명의 환자는 제균치료에 실패하였다. 성공한 58 명의 환자를 intention-to-treat 로 분석하면 52.7% (58/110 명)의 제균 성공률을 보였으며, per-protocol 로 분석하면 70.7%(58/82 명)의 제균 성공률을 보였다(Fig. 3).

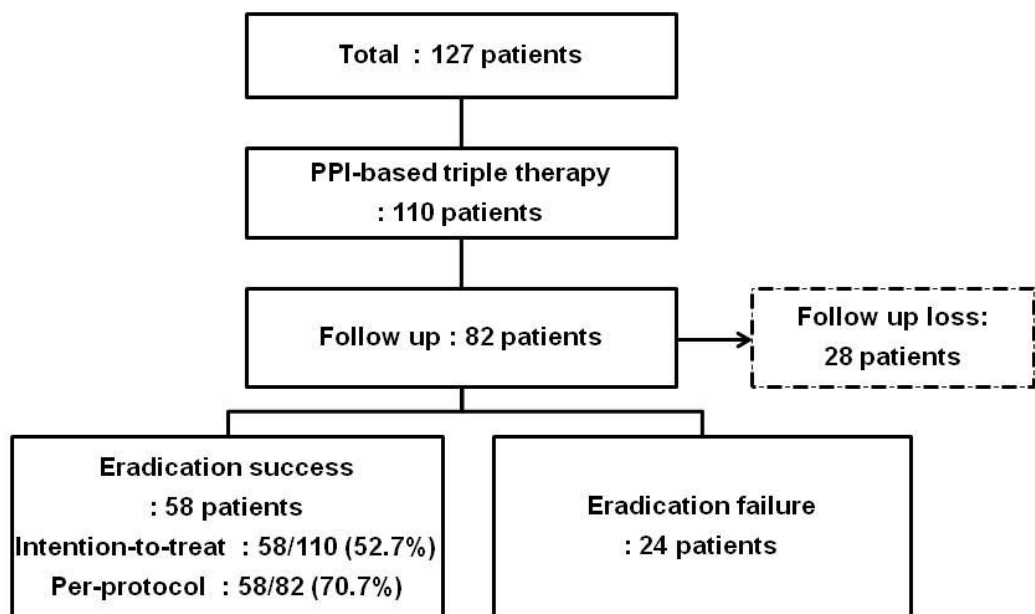


Fig. 3. Primary triple *H. pylori* eradication results

*H. pylori* 감염양성을 보인 127 명의 환자 중 33 명 (26%) 검체에서 23S rRNA 유전자의 변이를 보였다. 이 중 A2143G 변이는 23 명(18.1%)이었고, A2142G 변이는 10 명(7.9%)이었다(Fig. 4).

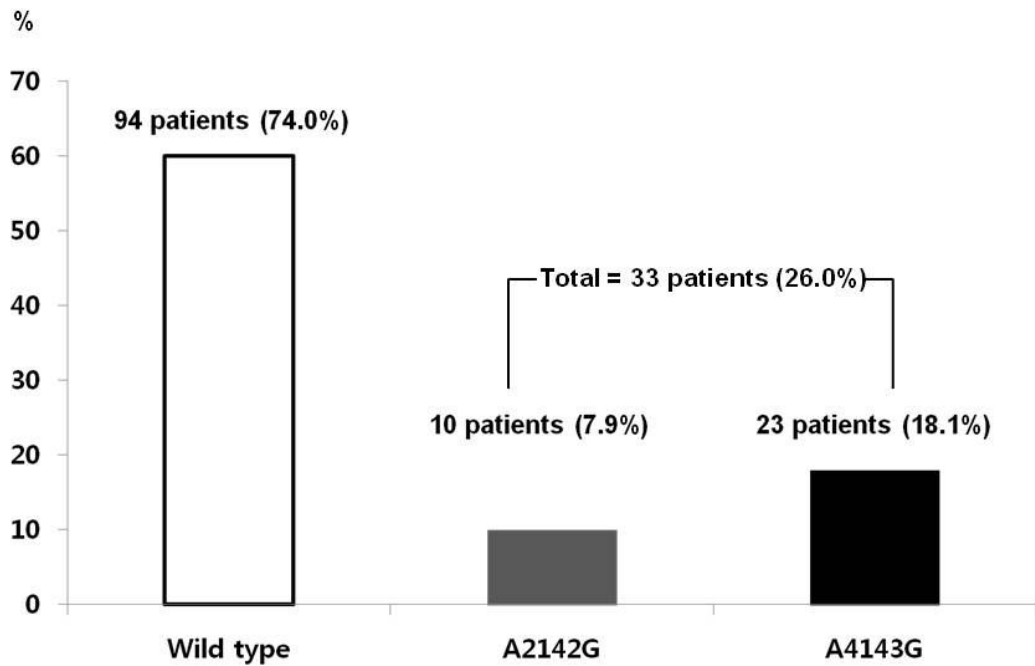


Fig. 4. Frequency of 23S rRNA point mutations associated with clarithromycin resistance in *H. pylori*

23S rRNA 유전자 변이에 따른 임상적 특징을 비교 분석하였을 때(Table 2), 환자의 연령은 A2143G 변이군에서  $59 \pm 11$  세, wild type 군에서  $50 \pm 14$  세, A2142G 변이군에서  $53 \pm 19$  세로 A2143G 변이군의 평균 연령이 통계적으로 유의하게 높았다( $P=0.028$ ). 성별에서는 A2143G 변이군에서 여성의 비율이 통계적으로 의미 있게 다른 군에 비해 높았다( $P<0.005$ ). 체질량지수 및 기저질환에 따른 23S rRNA 유전자 변이의 통계학적인 차이는 보이지 않았다.

23S rRNA 유전자 변이에 따른 일차 3 제 요법의 성공 및 실패율을 비교 분석하였다(Table 3). 제균 치료 성공 군에서 연령이  $52 \pm 12$  세, 실패 군이  $59 \pm 15$  세로 제균 치료 성공 군에서 통계적으로 유의하게 연령이 낮았다( $P = 0.027$ ). 그리고 Wild type 에서는 총 59 명의 환자 중 50 명이(86.2%) 1 차 제균 치료 성공을 하였고, A2142G 변이가 있는 총 7 명의 환자 중 6 명의 환자에서, A2143G 변이가 있는 총 16 명의 환자 중 2 명의 환자에서 제균 치료 성공을 하였다. A2142G 변이의 경우는 1 명만이 제균 치료 실패하였고, A2143G 변이 경우 14 명이 제균 치료 실패하였다. 제균 치료 실패 군에서는 통계적으로 유의하게 A2143G 돌연변이 군이 다른 군에 비해 치료 실패율이 높았다( $P < 0.001$ ). 전체 환자 중 여자에서 돌연변이 발생율이 통계적으로 높게 나왔지만 그 밖에 치료결과에 따른 분류에서는 성별, 흡연력, 음주력 및 약물순응도에서는 성공군과 실패군의 통계학적인 차이는 없었다.

Table 2. Comparison of Clinical Characteristics of Patients According to *H. pylori* Point

Mutation

	Wild type (n=94)	A2142G (n=10)	A2143G (n=23)	<i>P</i> -value
Age (year)	50 ± 14	53 ± 19	59 ± 11	0.028
Sex (%)				<0.005
Male (n=79)	64 (81.0%)	9 (11.4%)	6 (7.6%)	
Female (n=48)	30 (62.5%)	1 (2.1%)	17 (35.4%)	
Body mass Index (Kg/m <sup>2</sup> )	23.7 ± 2.8	24.5 ± 2.6	23.8 ± 3.6	0.752
Diabetes mellitus (n=12)	8 (66.7%)	1 (8.3%)	3 (25.0%)	0.799
Hypertension (n=26)	16 (61.5%)	3 (11.5%)	7 (26.9%)	0.266
Hyperlipidemia (n=19)	13 (68.4%)	1 (5.3%)	5 (26.3%)	0.572

Table 3. Comparison of First *H. pylori* Eradication Results according to Point mutation

Total (n=82)	Success group (n=58)	Failure group (n=24)	p-value
Age (years)	52 ± 12	59 ± 15	0.027
Sex			
Male (n=53)	39 (67.2%)	14 (58.3%)	0.443
Female (n=29)	19 (32.8%)	10 (41.7%)	
Body mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	24.2 ± 2.7	22.5 ± 3.5	0.020
Social history			
Smoking (n=35)	23 (39.7%)	12 (50.0%)	0.389
Alcohol (n=47)	35 (60.3%)	12 (50.0%)	0.389
Compliance			0.743
100 % (n=78)	55 (94.8%)	23 (95.8%)	
80-100 % (n=2)	2 (3.4%)	0 (0.0%)	
50-80 % (n=0)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
< 50% (n=2)	1 (1.7%)	1 (4.2%)	
Point mutation			<0.001
Wild type (n=59)	50 (86.2%)	9 (37.5%)	
A2142G (n=7)	6 (10.3%)	1 (4.2%)	
A2143G (n=16)	2 (3.4%)	14 (58.3%)	

## 고 찰

본 연구에서는 *H. pylori* 의 clarithromycin 내성과 연관된 23S rRNA 점 돌연변이 발생률은 26.0%로 국내 타 지역의 clarithromycin 23S rRNA 점 돌연변이 발생률과 비슷한 수치(15.8~31.3%)를 보였다.<sup>8</sup> 국내에서 1 차 3 제 *H. pylori* 제균 치료제 중 clarithromycin 은 한양대학교서울병원과 서울대학교병원에서 1987 년 분리한 균주에서는 내성률이 0% (0/34), 1994 년에는 2.8% (1/36), 2003 년에는 13.8% (9/65)로 급격히 증가하였다.<sup>12</sup> 분당서울대병원의 2003 년부터 2005 년까지 분리균주의 내성률은 16.7% (11/66), 2007 년부터 2009 년까지 내성률은 38.5% (60/156)로 급격한 상승세를 보이고 있다.<sup>13</sup> 특히, amoxicillin 과 clarithromycin 에 모두 내성이 없는 경우의 표준 삼제요법의 제균률은 95% 내외인데 반해, clarithromycin 에 내성이 있는 경우 제균률은 43~65% 정도로 보고하고 있어, clarithromycin 의 내성률 증가가 제균 치료에 미치는 영향은 심각한 수준이다.<sup>13,14</sup>

Clarithromycin 에 대한 내성 균주의 증가 뿐만 아니라 고농도의 세균 최소억제농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 값을 갖는 균주의 비율이 높아졌으며, 2003 년도 이후의 MIC 분포를 보면, 감수성균은 주로 저농도의 MIC 값을, 내성균은 고농도의 MIC 값을 나타내는 쌍봉분포(bimodal distribution)를 나타내고 있는데 이는 내성을 의미하는 전형적인 형태라고 할 수 있다. 대부분의 clarithromycin 내성 헬리코박터균은 macrolide 의 상호작용에 중요한 부위인 23s rRNA 에 있는 특정 염기서열이 점 돌연변이에 의해 치환되기 때문에 내성이 발생한다.<sup>15</sup> 이들 점 돌연변이는 주로 2143, 2144, 2142 위치의 adenosine 이 guanine, cytosine, 또는 thymidine 으로 치환되기 때문이며 지역에 따른 차이가 있지만 A2142G, A2143G, A2144G

변이가 가장 흔하며, 일부에서 A2116G, G2141A, A2144T, T2182C 등이 보고되었다.<sup>15</sup> 최근 연구들에서 A2142G, T2182C 변이는 높은 내성 (MIC > 64 µg/mL)을 나타내었고, A2143G 변이는 보다 낮다(MIC 2-64 µg/mL).<sup>15-18</sup> 제균치료에 있어 해당 지역에서 또는 특정 환자군에서 한 항생제에 대한 내성률이 15%가 넘으면 경험적인 일차치료제로 권장되지 않는다.<sup>19,20</sup> 일반적으로 1 차 제균 치료 실패 시 항생제 감수성 검사를 하여 2 차 제균 치료 약제를 결정할 것을 권장하고 있다. 본 연구와 국내 이전연구를 종합하여 볼 때 국내 clarithromycin 의 내성률이 15%가 넘는다고 판단되며, 이는 clarithromycin 의 1 차 표준 *H. pylori* 제균치료 약제로써 투여여부를 고민해봐야겠다. 따라서, 1 차 제균 치료 전에 Clarithromycin 항생제 감수성 검사를 시행하여 clarithromycin A2143G 점돌연변이가 있는 경우 1 차 제균 치료를 보다는 바로 2 차 제균 치료 약제투여를 고려해 볼 수 있다.

제주지역에서 프로톤 펌프 억제제를 근간으로 한 3 제 용법의 제균율은 2005 년도 1 월부터 2007 년도 8 월까지 총 523 명의 환자를 대상으로 한 연구에서 1 주 치료에서 68.6%였고, 2 주 치료에서 86.2%로 보고하였다.<sup>21</sup> 내성 발생시 약제 용량을 증가하여도 제균율이 현저히 떨어지는 'all or nothing phenomenon'을 고려해 볼 때,<sup>22</sup> 제주지역의 clarithromycin 내성율은 13.8%로 예측해 볼 수는 있으나 2005-2007 년도 자료로서 현재 내성율은 상승했으리라고 추정된다. 본 연구에서는 1 차 *H. pylori* 제균치료 약제를 복용 후 성공 및 실패를 추적 관찰한 82 명의 환자에서 실패한 24 명 중 15 명(62.5%) 에서 A2142G 1 명, A2143G 13 명의 점돌연변이가 발견되어 점돌연변이가 있는 경우 1 차 제균율은 13.7%로 2007 년부터 2009 년도 보고된 제주도의 clarithromycin 에 내성이 있는 경우 제균률은 43~65% 보다 더 낮아졌다.<sup>21</sup>



Clarithromycin 에 의한 내성률의 증가와 이로 인한 *H. pylori* 제균 실패의 문제가 대두되고 있는 현실에서 clarithromycin 에 대한 내성을 치료 전에 확인할 수 있는 방법을 찾는 점은 매우 유용하다. 그러나 현재까지 *H. pylori* 에 대한 내성 검사를 위해 배양은 조건이 까다롭고 배양기간이 길어서 최근까지 항생제 감수성 검사방법으로는 표준화된 방법이 없었고, 내성을 판정하는 기준 농도도 연구자마다 달라서 내성을 비교에도 문제가 있었다. 본 연구에서는 Seeplex ClaR-*H. pylori* PCR kit 을 통한 돌연변이 여부를 판단하였는데 이를 이용한 방법은 배양검사보다 시간이 적게 걸려 치료 시작까지의 시간을 줄일 수 있는 장점이 있어 임상적 유용성이 있다.<sup>8</sup>

본 연구에서 A2143G 점 돌연변이의 존재여부가 1차 3제 *H. pylori* 의 제균 치료 성공여부에 중요한 인자로 생각되며, 이를 PCR assay (Seeplex<sup>®</sup> ClarR-*H. pylori* ACE detection)을 통해 확인하였다. 하지만 2 명의 A2143G 점돌연변이 환자에서(13.3%) 1 차 3 제 제균 치료로 치료 성공하였는데 이는 야생형과 변이형이 같이 있는 hetero-resistance 균주 감염이거나 한 환자에서 감수성을 나타내는 균과 저항성을 나타내는 균이 중복 감염되어 있는 것으로 추정할 수 있겠다.<sup>23</sup>

본 연구는 제주도라는 국내의 고립된 지역에서 clarithromycin 에 대한 *H. pylori* 점돌연변이의 유병율을 측정하고 이에 따른 제균치료의 성공여부를 분석하였다. 로 이전 국내 연구들과 비교하여(15.8~31.3%),<sup>8</sup> 제주지역에서도 clarithromycin 의 23S rRNA 점 돌연변이률이 26.0%로 비슷한 결과를 보였다. 이 중 A2143G 는 제균 치료실패의 중요한 원인인자로 볼 수 있으며 나이가 고령일수록 (50 대 후반이상) 1 차 3 제 *H. pylori* 제균 치료의 실패율도 높아진다고 할 수 있겠다. Clarithromycin 의 내성률이 점점 증가하는 국내 현실을 고려하였을 때 이번

연구결과를 바탕으로 고령의 환자에게 치료 실패의 중요한 원인인자로 알려진 A2143G 점 돌연변이의 유무를 미리 판별할 수 있는 선별검사를 통해 *H. pylori* 제균 치료를 보다 효과적으로 할 수 있을 것이다. 또한 제주 지역에서 clarithromycin 내성을 극복하기 위해 1 차 제균 치료로 표준 삼제 요법이 아닌 levofloxacin 일차 요법이나, 순차 요법이나 동시 요법 등을 고려해 볼 수 있겠다.

## 참고문헌

1. NIH consensus conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH consensus development panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. JAMA 1994;272:65-69.
2. Blaser MJ. Hypothesis: The changing relationships of *Helicobacter pylori* and humans: Implications for health and disease. J Infect Dis 1999;179:1523-1530.
3. Boyanova L, Mentis A, Gubina M, et al. The status of antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in eastern Europe. Clin Microbiol Infect 2002;8:388-396.
4. Pounder RE, Ng D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in different countries. Aliment Pharmacol Ther 1995;9 (Suppl 2):33-39.
5. Yim JY, Kim N, Choi SH, et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in South Korea. Helicobacter 2007;12:333-340.
6. 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;112:1442-1447.
7. Kim JJ, Reddy R, Lee M, et al. Analysis of metronidazole, clarithromycin and tetracycline resistance of *Helicobacter pylori* isolates from Korea. J Antimicrob Chemother 2001;47:459-461.
8. Lee HK, Chae HS, Kang JO, et al. Multicenter study for the frequency of 23S rRNA point

- mutations associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* in Korea. Korean J Clin Microbiol 2008;11:84-89.
9. Houben MH, van de Beek D, Hensen EF, de Craen AJ, Rauws EA, Tytgat GN. A systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy--the impact of antimicrobial resistance on eradication rates. Aliment Pharmacol Ther 1999;13:1047-1055.
10. Kim JY, Kim NY, Kim SJ, et al. Regional difference of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains in Korea. Korean J Gastroenterol 2011;57:221-229.
11. Woo HY, Park DI, Park H, et al. Dual-priming oligonucleotide-based multiplex PCR for the detection of *Helicobacter pylori* and determination of clarithromycin resistance with gastric biopsy specimens. Helicobacter 2009;14:22-28.
12. Kim JM, Kim JS, Jung HC, Kim N, Kim YJ, Song IS. Distribution of antibiotic MICs for *Helicobacter pylori* strains over a 16-year period in patients from Seoul, South Korea. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:4843-4847.
13. Hwang TJ, Kim N, Kim HB, et al. Change in antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains and the effect of A2143G point mutation of 23S rRNA on the eradication of *H. pylori* in a single center of Korea. J Clin Gastroenterol 2010;44:536-543.

14. Kim N, Kim JM, Kim CH, et al. Institutional difference of antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains in Korea. J Clin Gastroenterol 2006;40:683-687.
15. Gerrits MM, van Vliet AH, Kuipers EJ, Kusters JG. *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. Lancet Infect Dis 2006;6:699-709.
16. Kim KS, Kang JO, Eun CS, Han DS, Choi TY. Mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* associated with clarithromycin resistance. J Korean Med Sci 2002;17:599-603.
17. Garcia-Arata MI, Baquero F, de Rafael L, et al. Mutations in 23S rRNA in *Helicobacter pylori* conferring resistance to erythromycin do not always confer resistance to clarithromycin. Antimicrob Agents Chemother 1999;43:374-376.
18. Versalovic J, Shortridge D, Kibler K, et al. Mutations in 23S rRNA are associated with clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother 1996;40:477-480.
19. Kim JM, Kim JS, Kim N, Kim SG, Jung HC, Song IS. Comparison of primary and secondary antimicrobial minimum inhibitory concentrations for *Helicobacter pylori* isolated from Korean patients. Int J Antimicrob Agents 2006;28:6-13.
20. Sung H, Chung HJ, Kim MN, Lee GH. Clinical usefulness of antimicrobial susceptibility test for *Helicobacter pylori*. Korean J Lab Med 2006;26:179-184.

21. Kim HJ, Song HJ, Choi EK, Cho YK, Song BC. The eradication rate of *Helicobacter pylori* using PPI-based triple therapy in Jeju Island. *Korean J Helicobacter Up Gastrointest Res* 2009;9:26-30.
22. Gerrits MM, van Vilet AH, Kupipers EJ, Kusters JG. *Helicobacter pylori* and antimicrobial resistance: molecular mechanisms and clinical implications. *Lancet Infect Dis* 2006;6:699-709.
23. Cho AR, Lee MK. A comparison analysis on the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and the detection of clarithromycin resistance according to biopsy sites. *Korean J Lab Med* 2010;30:381-387.