

The Role of Pepsin in Laryngopharyngeal Reflux

성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 이비인후-두경부외과학교실

이 상 혁

서 론

펩신(pepsin)은 위 점막의 주세포(chief cells)에서 분비되는 단백질 분해효소로, 미주신경 자극이나 위 팽창에 의하여 효소전구체(zymogen)인 펩시노젠(pepsinogen)으로 분비된 후 위산에 의하여 분해되어 활성화된다. 최근 인후두 역류질환에 대한 관심이 증가되고 있지만 그 병인이 아직 확실하게 밝혀지지 않았고 그 진단과 치료에는 아직 다양한 이견이 존재한다. 인후두 역류를 쉽고 정확하고 효과적으로 확인할 수 있는 진단법이 부재한 상황에서 현재 다양한 검사들이 시도되고 있지만 그 효용성에는 아직 부족함이 많다. 현재 사용되고 있는 진단검사들의 한계점을 극복하기 위하여 인후두 부위에서 펩신을 검출하여 역류의 효과적인 진단방법으로 사용할 수 있는지 연구가 진행이 되고 있다. 또한, 역류가 인후두 상피세포의 다양한 세포 생물학적 조절기전에 영향을 주는 것이 알려지면서, 역류된 펩신의 역할과 이것이 후두 상피세포에 미치는 영향을 규명하려는 시도가 활발히 진행되고 있다. 역류된 펩신으로 인한 소화기계 상피 세포의 손상이 위식도 역류, 식도염, 식도암 발생과 밀접한 관계가 있는 것은 이미 잘 알려져 있지만, 아직 인후두 역류질환이나 후두의 상피세포에 미치는 영향, 후두암 발생과정에서의 역할에 대한 연구는 많이 이루어지지 않았다. 따라서, 본 발표를 통하여 펩신이 인후두 역류질환에서 가지는 진단적인 가치와 후두 상피세포에 미치는 영향, 후두암 발생에서의 역할에 대한 최신 지견들을 알아보고자 한다.

인후두 역류의 진단에서 펩신의 역할

인후두 역류질환의 진단은 자세한 병력 청취로 시작되며 객관적으로 역류를 확인하기 위하여 후두경 내시경검사, 위 내시경검사, 이중 탐침 24시간 위산 역류검사 등의 검사를 시행할 수 있다. 하지만, 아직까지 인후두 역류질환을 정확하

게 진단하는 객관적인 검사방법이 부재하며, 현재 많이 시행되고 있는 검사방법들 역시 여러 가지 한계점을 가지고 있어서 진단에 어려움이 있다. 많은 연구에서 양자펌프 억제제의 경험적 사용을 통한 증상의 호전으로 인후두 역류질환을 진단하는 방법이 다른 검사방법들에 비하여 경제적, 임상적으로 유용하다고 보고하고 있지만, 또 많은 연구들에서는 양자펌프 억제제의 효과에 대한 부정적인 결과들을 보고하고 있다. 따라서, 보다 쉽고 객관적으로 인후두 역류를 진단할 수 있는 새로운 검사방법의 개발이 절실하고 최근 펩신을 이용하여 인후두 역류를 간편하게 진단하기 위한 연구가 계속되고 있다.

위에서 분비되는 펩신은 아주 좋은 역류의 표지자(marker)로 사용될 수 있다. 펩신은 위에서만 생성이 되기 때문에 인후두 부위에서 검출이 될 경우 인후두 역류의 증거로 여겨질 수 있다. 이러한 이유로 펩신을 검출하기 위하여 인후두 조직이나 타액, 객담, 기관지 세척액, 중이삼출액 등에서 enzymatic assays, immunohistochemistry, Western blot 등 다양한 방법을 이용한 연구들이 보고되고 있다. 또한, 최근 개발된 항 인체 펩신항체(anti-human pepsin antibody)는 0.05 ng의 아주 미세한 양의 펩신도 상당히 민감하게 측정할 수 있다.

펩신이 검출된 후두 조직에서 RT-PCR 검사와 Western blot 검사를 통하여 펩시노젠 mRNA와 펩신 단백(protein)을 각각 검사한 결과, 펩신 단백질은 확인이 되었지만 펩시노젠 mRNA는 검출되지 않았다. 따라서 인후두 부위에서 검출된 펩신은 위에서부터 역류가 발생하여 인후두 부위에 도달한 것의 좋은 증거라 할 수 있다. 임상적으로 인후두 역류질환으로 진단된 환자의 후두조직에서 96% (26/27)에서 펩신이 검출된 반면 대조군에서는 펩신이 검출되지 않았다. 다른 보고에서는 면역조직염색(immunohistochemical staining)을 통하여 후두 점막에서 펩신을 확인하였는데, 85.7% (6/7)의 산성 역류와 75% (6/8)의 비산성 역류에서 펩신이 확인된 반면

대조군에서는 14.3% (3/21)에서만 펩신이 확인되었다. 이를 통하여 후두 점막에서 면역조직염색을 이용하여 펩신을 확인하는 방법이 인후두 역류를 80%의 높은 민감도와 85.7%의 높은 특이도를 보이는 유용한 검사라고 보고 하였다. 하지만 이 방법은 타액이나 객담에서 시행하는 검사에 비하여 침습적이라는 단점이 있다.

타액이나 객담에서 검출된 펩신은 위에서 역류된 후 인후두 부위를 지나서 온 것이므로 인후두 역류의 간접적인 증거로 사용될 수 있다. 위식도 역류환자의 타액에서 81%의 높은 양성예측도와 78%의 높은 음성예측도로 펩신이 검출되었고, 따라서 타액에서 펩신을 확인하는 검사가 많은 비용을 유발시키는 위내시경 검사나 산도 검사를 대신할 수 있다고 보고하였다. 다른 보고에서도 ELISA 검사를 이용하여 객담에서 인후두 역류질환 환자의 93.7% (30/32), 만성 후두염 환자의 75% (18/24), 대조군에서 20% (3/15)에서 펩신을 확인하여 immunoassay 검사를 통한 객담 내 펩신 검출이 인후두 역류를 확인할 수 있는 민감하고 비침습적인 방법으로 사용될 수 있음을 보고하였다.

현재 인후두 역류를 진단하기 위하여 사용되는 검사인 후두 내시경이나 24시간 산도검사 등은 많은 비용과 환자 불편감을 초래하는 반면, 그 진단의 정확성과 치료의 예후를 예측하는데 많은 한계점을 보인다. 다른 전향적인 연구에서도 위산검사로 확인된 위식도 역류환자와 인후두 역류 증상이 있는 환자에서 후두 점막과 객담에서 펩신을 확인하였다. 또한, 펩신을 이용한 검사가 역류를 보다 쉽고 정확하게 확인할 수 있으며 치료의 효과까지도 예측할 수 있어서 다른 검사에 비하여 상당히 우수하고 유용한 인후두 역류의 진단방법으로 사용될 수 있다고 보고하였다. 많은 연구들이 다양한 검체와 검사방법으로 펩신을 확인하는 것이 보다 쉽고 정확하게 인후두 역류를 진단할 수 있다고 보고 하고 있지만, 향후 보다 많은 환자군에서 그 임상적인 가능성과 유용성을 확인하기 위한 노력이 필요할 것으로 사료된다.

후두암 발생에서 펩신의 역할

후두암의 발생에서 가장 중요한 위험인자로 흡연과 음주의 역할은 잘 알려져 있으며, 유두종 바이러스나 역류로 인한 세포의 손상도 가능한 인자로 보고되고 있다. 인후두 역류와 후두암의 관계에 대한 최근 보고들은 대부분 역류가 후두암 환자에서 유의하게 높은 빈도로 존재함을 증명하고 이를 통하여 둘 사이의 가능한 연관성을 제시하여준다. 하지만, 대부분의 대상 환자들이 흡연, 음주, 비만과 같은 다른 변수들에

동시에 노출이 되어 있어서 단일인자로서 역류가 후두암의 발생에 독립적으로 가지는 영향을 정확하게 증명하기는 어려움이 많다. 또한, 현재 인후두 역류를 정확히 진단할 수 있는 객관적인 진단방법이 부재한 상황에서 보고된 결과들의 해석에도 다양한 이견이 존재할 수 있다. 따라서 이러한 연구의 한계를 극복하고 인후두 역류가 후두암 발생에서 가지는 정확한 세포생물학적 기전을 명확하게 확인하기 위하여 많은 세포실험과 동물실험이 이루어져왔다.

역류로 인한 만성적인 염증은 세포의 유전자 손상을 보다 용이하게 하고 세포의 증식(proliferation)과 고사(apoptosis) 과정에 많은 영향을 줄 수 있다. 위식도 역류 환자에서 역류로 유발된 만성적인 식도염이 식도의 암 발생과 상당히 밀접하게 연관되어 있음은 이미 잘 알려져 있다. 많은 보고들은 역류가 식도 상피세포의 화생(metaplasia), 이형성(dysplasia), 발암(carcinogenesis) 과정에 중요한 생물학적 역할을 가지고 있음을 보여준다. 인후두 역류에서도 이와 비슷한 상황이 후두 상피세포에서 유발될 수 있을 것으로 가정할 수 있다. 특히 후두의 경우 식도와 달리 점액분비나 연동운동, 탄산 탈수효소(carbonic anhydrase enzyme)과 같은 식도가 가지는 방어 기전이 부재하는 점을 고려하면 역류에 의한 염증반응과 세포의 손상에 보다 취약성을 가질 수 있다.

Gabriel 등이 인후두 역류로 인한 만성적인 염증이 인후두 부위의 암 발생과 연관이 있음을 처음 보고 한 이후, 음주나 흡연력이 없는 후두암 환자에서 역류의 빈도가 유의하게 높은 것이 알려지면서 역류와 후두암의 상관관계에 대한 관심이 증가하였다. 최근 연구에서도 24시간 이중 탐침 산도검사를 통하여 인후두 역류의 빈도와 강도가 후두암 환자에서 대조군에 비하여 유의하게 높은 상관관계가 있음이 보고되었다. 초기 인후두 역류 관련 연구에서는 주로 위산의 역할이 주목을 받았으나, 양자펌프 억제제의 장기 사용에도 조직손상이 지속되는 점과 흡연과 음주의 감소에도 후두암의 발생이 지속적으로 증가하는 점 등으로 펩신, 담즙산과 같은 비산성 역류의 중요성이 대두되고 있다. 아직 어떤 특정 물질이 이러한 기전에서 중요한 역할을 하는지 명확하게 밝혀져 있지 않지만 위산, 펩신, 담즙산 또는 이들의 다양한 조합이 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

역류되는 다양한 물질 중 어떤 물질이 보다 직접적으로 암 발생에 관여하는지 밝히려는 연구도 많이 진행이 되고 있다. 펩신과 담즙산이 특히 산성 환경에서 강한 세포 독성을 보이고 용량에 비례하여 암 발생 과정에서 중요한 역할을 하는 것이 보고 되었으며, 최근 연구에서는 산성 환경에서만 아니라 비산성 환경에서도 펩신이 후두암 발생에 많은 영향

을 주는 것으로 알려졌다. 펩신은 내포 작용(endocytosis)을 통하여 세포 내에 들어와 장시간 존재할 수 있어서 세포 손상 및 세포 내 유전자 전사과정(transcriptional processes)에 영향을 줄 수 있다. 펩신에 의하여 세포 간 공간(intracellular spaces)이 벌어지고 미토콘드리아(mitochondria)의 손상이 유발되어 후두의 점막이 손상되는 기전도 보고 되었다. 인후두 역류환자에서 펩신은 후두 점막에서 위산 중화에 중요한 중탄산염(bicarbonate)을 분비하는 탄산 탈수효소 III(carbonic anhydrase III)와 점액에서 상피 보호 기능을 가지는 뮤신(mucin)을 고갈 시켜서 점막 세포의 손상을 보다 쉽게 일으키게 한다. 또한, 펩신은 후두와 하인두 상피세포에서 산성과 비산성 환경 모두에서 위식도 역류를 통하여 식도에서 유발되는 것과 유사한 염증관련 사이토카인(cytokine)을 증가시켰다.

최근 분자생물학적 연구의 발전으로 역류로 인하여 세포 내에서 유발되는 미세한 변화에 대한 결과도 점점 알려지고 있다. 인두 상피세포에서 역류로 인하여 cyclooxygenase-2 enzyme(COX2)의 발현의 증가와 COX2에 의한 세포 주기(cell-cycle)의 조절변화와 세포고사의 감소를 통하여 세포 증식을 가져오는 것이 보고되었다. 상피세포의 세포부착에 중요한 E-cadherin의 발현이 인후두 역류환자에서 감소되어 있음이 보고되어, 역류로 인하여 후두 상피세포의 간극의 파괴와 이를 통한 세포의 손상을 예상 할 수 있다. 펩신은 이 과정에서 중요한 역할을 하여서 폐쇄막(tight junction)을 손상시킴으로 세포주변의 투과성(permeability)을 증가시킨다. 이를 통하여 후두 점막에서 산성 물질들이 상피세포의 기저막에 침투하는 것을 보다 쉽게 만들어 비가역적인 미란성 조직손상을 유발 할 수 있고, 또한, 세포의 이동성(migration) 증가를 가져오고 암 세포의 조기 전이(metastasis) 에도 영향을 줄 수 있다.

최근 Johnston 등은 human cancer pathway finder와 RNA 분석을 통하여 펩신이 산성과 비산성 환경에서 세포의 성장과 고사에 중요한 20여개 이상의 유전자 발현의 변화를 유발한다고 보고하였다. 하인두 암 세포주와 정상 상피세포에서 펩신은 암 발생과정에서 중요한 다양한 유전자 발현의 변화를 가져왔다. 펩신이 노출 시간과 양에 비례하게 S phase 세포를 증가시키고, 암으로의 형질변화를 가능하게 하

는 세포의 이상증식을 야기하였다. 또한 펩신이 두경부 편평 세포암에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 miRNA 발현 변화를 유발하였다. 펩신은 하인두 암세포의 이동성 증가와 군체(colony) 형성능력을 향상 시켜서 암 세포의 종양형성과 전이 능력에 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 동물실험에서도 펩신의 노출이 산성뿐 아니라 비산성 환경에서도 암 세포의 성장을 유도하고 종양의 크기를 증가시켰다.

이러한 많은 연구들이 역류로 인한 세포의 손상과 이를 통한 암 발생의 가능성을 보여주었지만, 아직까지 펩신이 후두암의 발암 과정에서 주요한 역할을 하는지 또는 암의 진행 과정에서 보조적인 역할을 하는지 또한 다른 인자들과의 상관관계는 어떠한지 명확한 기전의 규명은 아직 이루어 지지 못하였다.

결론 및 제언

인후두 역류의 진단으로 후두 내시경, 24시간 위산 검사, 경험적 양자펌프 억제제 치료가 현재 많이 사용되고 있지만 이들 검사 모두 인후두 역류의 진단에 있어서 그 정확성과 임상적 유용성에 많은 한계를 가지고 있다. 많은 연구들이 다양한 검체와 검사방법으로 펩신을 확인하는 것이 보다 쉽고 민감하게 인후두 역류를 진단할 수 있다고 보고하고 있다. 향후 보다 많은 환자군에서 그 임상적인 가능성과 유용성을 확인하기 위한 노력이 필요할 것으로 사료된다. 또한, 후두암 발생의 원인으로 흡연과 음주가 85% 정도 주요한 원인으로 알려져 있지만 15% 정도의 환자에서는 이러한 위험인자에 노출이 없는데도 후두암이 발생할 수 있다. 이러한 경우 인후두 역류로 인한 후두 상피세포의 손상이 가능한 원인으로 고려 될 수 있다. 역류로 인한 만성적인 염증이 상피세포의 변성을 가져오고 이를 통한 세포의 변화가 암 발생과 진행 과정에서 일정한 역할을 할 수 있을 것으로 보여진다. 많은 연구들에서 인후두 역류가 후두암 환자에서 보다 빈번하게 관찰되고, 다양한 실험을 통하여 펩신이 정상 상피세포와 암 세포에 많은 생물학적 작용을 할 수 있는 것이 보고되었으나 이 역시 향후 정확한 기전을 밝히기 위한 보다 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.