

正常人 및 肝癌患者의 Propionibacterium acnes에 對한 抗體

全北大學校 醫科大學 微生物學教室

河 大 有

=Abstract=

Antibody to Propionibacterium acnes in Normal Human and Hepatoma Patients

Tai-You Ha, M.D.

Department of Microbiology, Jeonbug University Medical School, Jeonbug, Korea

Antibodies to Propionibacterium acnes in patients with tumor, leprosy, schizophrenia and normal human were measured by using a microtiter bacterial agglutination test. They were found in all sera examined, including normal human sera. It was confirmed that a microtiter bacterial agglutination test on P. acnes is found to be an easy and satisfactory method for the measurement of antibody to P. acnes. The agglutinin titers of tumor patients, particularly hepatoma and gastric cancer patients, were significantly lower as compared with those of normal human sera. Antibody titers in leprosy patients were somewhat lower when compared with those in normal human sera. Antibody titers of lepromatous type of leprosy patient were lower than those of tuberculoid type. However, antibody levels were the same in schizophrenia patient and normal human. No correlation between antibody titers and age or sex of the patients and normal human was found.

Propionibacterium acnes(同意語 Corynebacterium parvum)는 혐기성 gram 양성桿菌이며 形態學的으로 Actinomyces 또는 Arachinia propionica菌과 類似하며 사람의 消化器系統 그리고 주로 皮膚에 常在하는 正常細菌叢으로 때때로 感染을 일으키며 骨髓에서도 間或 分離된다¹⁾.

이 P.acnes는 Mononuclear phagocytic system 또는 網狀內皮系를 高度로 刺戟하여 大食細胞를 活性化하며²⁾ 活性化된 大食細胞는 抗體形成細胞의 反應을 促進시킨다^{2,3)}. 最近에는 P. acnes가 腫瘍의 免疫學的研究에 immunomodulating agent로서 廣範圍하게 利用^{4,5)}되고 있을 뿐만 아니라 抗體形成細胞의 反應을 促進시키는 adherent accessory(A) cell

activity 以外에도 腫瘍細胞의 繁殖을 抑制하는 antitumor activity를 共히 가지고 있으며 實際적으로 癌의 免疫療法에도 使用되고 있다⁶⁻¹⁰⁾. 그러나 癌의 治療目的으로 投與된 P.acnes로 因한 合併症 또는 副作用이 報告되고 있으며¹¹⁻¹³⁾, 그 合併症 그리고 그 發生機轉에 關해서는 究明되어 있지 않으나 著者は 免疫療法를 實施하고자 P. acnes를 投與할때 個體의 P. acnes에 對한 特異的免疫狀態의 把握이 重要하리라고 思料되었으며 또한 P. acnes에 對한 個體의 特異抗體가 副作用의 發生 및 副作用의 程度에 影響을 미칠 可能性이 있다고 推理하고 우리나라에서도 P. acnes를 使用하여 癌의 免疫療法를 實施할 때 正確한 治療와 豫想되는 副作用을 豫防하려면 우리나라 正常人 및 各種

Table 1. Agglutinin titers to *P. acnes* of sera from various patients and healthy persons

Subjects	Number of Cases	Mean titer(log ₂)±s.d.	P value
Tumor-bearing Patient	51	6.9±1.9	<0.001
Schizophrenia Patient	26	9.2±1.4	>0.05
Leprosy Patient	12	8.1±1.4	<0.05
Healthy Person	28	8.9±1.5	

患者 특히 癌患者의 抗體價를 把握해들 必要가 있다고 思料되어 이에 關한 實驗을 實施하였는바 興味있는 結果를 얻었기에 그 結果를 提示하고자 한다.

實驗材料 및 方法

血清 : 全北大學校 醫科大學附屬病院 및 全州에 在 病院에 入院한 患者로서 臨床症狀, 理化學的 檢査 또는 病理組織學的 檢査結果 確診된 肝癌患者 23名, 胃癌患者 13名, 肺癌患者 6名, 氣管支癌과 大腸癌 各 2名, 그리고 脾臟癌, 膽管癌, 림프腫, 慢性骨髓性白血病, 急性骨髓 및 芽狀白血病患者等 各種腫瘍患者 51名, 精神分裂症患者 26名 그리고 全南大學校醫科大學 皮膚科學教室 金永杓教授께서 取扱한 癩病患者 12名等等 總 89名의 患者로부터 分離한 血清을 供試하였다(第1 및 2表 參照). 正常人의 血清은 全北大學校醫科大學 28名으로부터 分離한 血清이었다.

이들 모든 血清은 分離直後 -40°C deep freezer에 保管하였으며 抗體力價를 測定하기 前에는 4~5°냉장고에서 녹인 後 56°C에 30分間 非動化하였다.

抗原 : Wellcome Research Laboratories (Burrors Wellcome Co., Research Triangle Park, N.C)의 Dr. C. Adlam으로부터 分讓받은 冷凍乾燥된 *P. acnes* serogroup 1을 抗原으로 使用하였다. 이 抗原은 formalin으로 處理된 菌을 培地成分과 formalin을 充分히 除去하기 爲해 生理的 食鹽水로 4回 遠沈沈沈하고 最終遠沈沈沈後 上清液을 버리고 沈澱된 菌을 0.01% thimerosol이 包含된 0.9%食鹽水에 再浮遊하여 冷凍乾燥한 것이었으며 이 冷凍乾燥菌을 抗體力價를 測定하기 前 1~2時間에 0.9%滅菌食鹽水로 *P. acnes*浮遊液 濃도가 0.5mg/ml되도록 再浮遊하여 使用하였다.

凝集素價 測定 : Wolberg等¹⁸⁾이 記述한 方法에 따라 實施하였다. 簡記하면, U-type well microtiter plates (Limbro Scientific Inc., New Haven, Conn.)에 供試血清을 phosphate buffered saline

Table 2. Agglutinin titers to *P. acnes* of cancer patients

Tumor Patient	Number of Cases	Mean Titer (log ₂) s.d.
Gastric Carcinoma	13	6.8±2.2
Hepatic Carcinoma	23	6.8±1.8
Pulmonary Carcinoma	8	7.1±2.1
Colonic Carcinoma	2	7.0
Pancreatic Carcinoma	1	7.0
Malignant Lymphoma	1	6.0
Chronic Myelocytic Leukemia	1	4.0
Acute Myelocytic Leukemia	1	7.0
Cholangiocarcinoma	1	5.0
Healthy Person	28	8.9±1.5

(PBS)으로 2倍 系列稀釋하고, 各稀釋血清 0.05ml에 *P. acnes* 浮遊液(0.5mg/ml) 0.05ml를 加하여 plates 內의 血清이 증발되지 않도록 tray로 덮어 37°C에 1時間 放置한 다음 2~5°C 냉장고에 約 18時間 放置하여 凝集 與否를 判讀하였다. 이때 使用한 PBS는 0.15 M Na₂HPO₄ 容量 9容量, 0.15M KH₂PO₄ 1容量 그리고 0.85% NaCl溶液 10容量을 混合하고, 이 混合液에 最終濃도가 2% 되도록 牛胎兒血清을 添加하여 만들었으며 이 PBS의 pH는 7.6이었다.

凝集素價測定時는 正常人 및 患者血清 外에 Dr. C. Adlam으로부터 分讓받은 hyperimmune animal serum인 reference sheep anti-*P. acnes* 血清(力價 1:960)을 對照로 使用하였다.

實驗成績

第1 및 2表에서 보는 바와 같이 癌患者의 *P. acnes*에 對한 抗體價는 正常人의 抗體價에 비해 有義하게 낮았다. 腫瘍別 抗體價는 第2表에서 보는 바와 같이

Table 3. Anti-P.acnes agglutinin titers of normal human and patient with cancer and leprosy by age and sex

Group	Age and Sex			Number of Cases	Mean Titer(log ₂)
Tumor-bearing Patient	Age	Below	40	9	7.2
		Above	40	32	5.5
	Sex	Male		33	5.6
		Female		8	5.4
Schizophrenia Patient	Age	Below	40	23	8.1
		Above	40	3	8.3
	Sex	Male		21	8.3
		Female		5	7.4
Leprosy Patient	Age	Below	40	9	6.9
		Above	40	3	7.6
	Sex	Male		11	7.9
		Female		1	8.0
Healthy Person	Age	Below	40	27	7.9
		Above	40	1	7.0
	Sex	Male		24	7.8
		Female		4	7.9

Table 4. Anti-P.acnes agglutinin titers of lepromatous and tuberculoid types of leprosy patients

Subject	Number of Cases	Mean Titer (log ₂) ±s.d.
Lepromatous Leprosy	6	6.7±1.2
Tuberculoid Leprosy	6	7.5±1.6
Normal Human	28	8.9±1.5

考 按

最近 免疫反應에 있어서 P. acnes의 生物學的 役割에 관한 研究報告가 蓄積되고 있다. P. acnes는 mononuclear phagocytic system을 強力히 刺戟하며¹⁹⁾ P. acnes에 依해 活性化된 大食細胞는 A細胞의 機能을 促進^{2,21)시킬 뿐만 아니라 mitogen으로 誘導한 淋巴球의 繁殖을 抑制^{20,22)하며, 細胞仲介性腫瘍免疫反應^{2,9,21,22), 腫瘍細胞增殖^{6-22), 그리고 淋巴球 및 遲延性過敏反應^{23)을 抑制한다. 또한 P. acnes는 herpes 바이러스와 Junin바이러스感染으로부터 動物을 保護하며^{24,25) 寄生虫感染에 對한 保護效果를 나타낸다. 그러나 P. acnes가 上記한 免疫反應에 미치는 影響은 單純히 P. acnes가 大食細胞를 活性化하는에 基因한 것 같지 않다^{25).}}}}}}}

P. acnes는 여드름²⁶⁾을 이르고 健康人의 皮膚에 正常細菌叢으로 常在^{27)하고 있으며 正常人의 骨髓에서도 分離되었다는 報告^{12)로 미루면 正常人 및 各種患者에서 P. acnes에 對한 抗體가 檢索되리라고 豫想은 했었지만 本 實驗結果 Wolberg等^{15)의 成績에 比하여 우리나라 사람에서 比較的 多量의 抗體가 檢索되었으}}}

胃癌 및 肝癌患者에서는 正常人에 比하여 有義하게 낮았으며, 慢性骨髓性白血病患者, 림프腫患者, 膽管癌患者의 抗體價도 顯著히 낮았으나 그 例數가 적어 統計的分析을 할수 없었다. 其他腫瘍患者에 있어서도 그 抗體價가 大體의으로 低下되어 있었으나 亦是 그 例數가 적어 斷言할 수 없었다.

性別 및 年齡에 따른 患者 및 正常人血清의 抗體價 差異는 第3表에서 보는 바와 같이 大同小異하였으며 統計學的 意義가 없었다. 癩病患者血清의 抗體價는 第1表에서 보는 바와 같이 正常人의 그것에 比하여 多少 減少되어 있었으며, 第4表에서 보는바와 같이 癩腫型癩患者의 抗體價는 類結核型患者의 그것에 比해 低下되어 있었다.

며, P.acnes에 대한 抗體價測定을 細菌凝集反應 特히 microtitration에 依해서 實施할 수 있었으며, 이 方法이 簡便하고 再顯性이 있으며 滿足스럽다는 Wolberg等¹⁸⁾의 報告를 確認할 수 있었다.

또한 本實驗結果 腫瘍患者 特히 肝癌 및 胃癌患者血清의 P. acnes에 대한 抗體價가 有義하게 低下되어 있었으며, 癩患者에 있어서도 그 抗體價가 多少 低下되어 있었는데 이와 같은 本成績은 興味있었으나 그 原因에 對해서는 本實驗만으로 確實히 알 수 없었다. 그러나 Argyris³⁰⁾, Ueda等³¹⁾ 및 Fujimoto等³²⁾은 腫瘍動物 또는 癌患者에 있어서 Suppressor cell이 generation되어 免疫反應을 抑制한다고 報告하였으며, Argyrios等³³⁾은 腫瘍患者血清에 抗原-抗體複會體가 免疫反應을 抑制한다는 報告를 하였다. 著者³⁴⁾ 등은 癌患者의 腹水와 肋膜滲出液이 淋巴球의 “early” and “late” rosette形成을 抑制함을 究明한바 있다. 癩患者 特히 癩腫型患者에 있어서 細胞性免疫反應이 減少되어 있었다는 Bullock³⁵⁾ 및 Turk等³⁶⁾의 報告以來 이와 같은 事實은 잘 알려져 있으며³⁷⁾ Sell³⁸⁾은 Suppressor cell이 癩患者의 免疫反應에 關與함을 示唆하였는바 P. acnes에 대한 抗體價가 類結核型患者에 있어서 보다 癩腫型患者에서 낮았다는 本實驗結果는 興味있었다.

腫瘍免疫의 實驗의 研究에 P. acnes가 頻繁히 利用되고 있으며^{4, 8, 13, 26, 28)} 實際로 癌의 免疫學的 治療에도 利用^{1, 7, 26, 39)}되고 있으나 輕度の 副作用이 惹起된다^{15, 17, 39)}. Gill等¹⁴⁾은 P. acnes를 癌患者에 靜脈으로 投與할 때 發熱, 高血壓 또는 低血壓, 心硬塞症, 또는 口脣疱疹等 副作用을 이끈다고 報告하였으며, Lampert等¹⁷⁾은 P. acnes投與는 血液凝固機轉에 障礙를 이끈다고 報告하였다. James等⁴⁰⁾ 및 Woodruff等⁵⁾은 P. acnes를 使用한 癌治療에 對備하기 爲하여 P. acnes에 대한 抗體價를 測定한 바 있다. 또한 Wolberg等¹⁸⁾은 P. acnes를 癌治療의 目的으로 投與할 때 그에 對한 反應의 程度와 型을 알기 爲해서 그리고 副作用을 豫防하기 爲해서 P. acnes에 대한 抗體價를 測定할 必要가 있다고 強調하였는데 앞으로 여드름의 生物學意義⁴¹⁾ P. acnes에 依한 特異的 및 非特異的 免疫反應의 調節^{42, 43)}에 關해서도 廣範圍한 研究가 必要하리라고 思料되었다.

要 約

凝集反應을 利用하여 各種 腫瘍患者, 精神分裂症患

者 및 正常人의 Propionibacterium acnes(同意語 Corynebacterium parvum)에 대한 抗體價를 測定하였는바 各種患者 및 正常人에게 P. acnes에 대한 抗體가 檢索되었다. 腫瘍患者의 抗體價는 正常人에 비해 有意하게 低下되어 있었다. 癩患者의 抗體價는 多少 낮았으며, 癩腫型患者의 抗體價는 類結核型患者에 비해 多少 낮은 傾向이었다. 그러나 精神分類症患者의 抗體價는 正常人의 그것과 비슷하였다. 大體으로 各種患者 및 正常人에서 年齡 및 性別에 다른 抗體 價로 差異가 없었다.

感 謝

終稿함에 있어 P. acnes를 分讓하여준 C. Adlam 博士, 血清을 分讓하여 주신 金永杓教授님과 金國隆先生에게 感謝하며 本實驗을 도와준 本敎室 鄭憲鐸助敎의 勞苦에 感謝한다.

REFERENCES

- Hattori, T., and Mori, A.: Bacteriological survey of anaerobic Corynebacterium in human marrow and blood, Gann., 64: 7, 1973.
- Lee, K.C., and Berry, D.: Functional heterogeneity in macrophages activated by Corynebacterium parvum: Characterization of subpopulations with different activities in promoting immune responses and suppressing tumor cell growth, J. Immunol., 118: 1530, 1977.
- Wiener, E.: The role of macrophages in the amplified in vitro response to sheep red blood cells by spleen from Corynebacterium parvum treated mice, Cell Immunol., 19: 1, 1975.
- Halpern, B.(ed): Corynebacterium parvum, applications in experimental and clinical oncology, Plenum Press, New York, 1975.
- Woodruff, M.F.A., McBride, W.H., and Dunbar, N.: Tumor growth, phagocytic activity and antibody response in Corynebacterium parvum-treated mice, Clin. Exp. Immunol., 17: 509, 1974.

6. Israël, L., and Halpern, B.N.: *Le Corynebacterium parvum* dens les cancer avances, *Nouv. Press Med.*, 1 : 19, 1972.
7. Israël, L., Edelstein, R., Depierre, A., and Dimitrov, N.: Daily intravenous infusion of *Corynebacterium* in twenty patients with disseminated cancer: a preliminary report of clinical and biological findings, *J. Natl. Cancer Inst.*, 55 : 29, 1975.
8. Scott, M.T.: *Corynebacterium parvum* as an immunotherapeutic agent, *Semin. Oncol.*, 1 : 367, 1974.
9. Kirchner, H., Halden, H.T., and Herberman, R.B.: Splenic suppressor macrophages induced in mice by injection of *Corynebacterium parvum*, *J. Immunol.*, 115 : 1212, 1975.
10. Olivotto, M., and Bomford, R.: In vitro inhibition of tumor cell growth and DNA synthesis by peritoneal and lung macrophages from mice injected with *Corynebacterium parvum*, *Int. J. Cancer*, 13 : 478, 1974.
11. Christie, G.H., and Bomford, R.: Mechanisms of macrophages activation by *Corynebacterium parvum* I. In vitro experiments, *Cell Immunol.*, 17 : 141, 1975.
12. Bomford, R., and Christie, G. H.: Mechanisms of macrophage activation by *Corynebacterium parvum* II. In vitro experiments, *Cell Immunol.*, 17 : 1504 1975.
13. Oettgen, H.F., Pinsky, C.M., and Delmonte, L.: Treatment of cancer with immunomodulators *Corynebacterium parvum* and levamisole, *Med. Clin. North Am.*, 60 : 511, 1976.
14. Gill, P.G., Morris, P.J., and Kettlewell, M.: The complications of intravenous *Corynebacterium parvum* infusion, *Clin. Exp. Immunol.*, 30 : 229, 1977.
15. Reed, R., Gutterman, J.A., Marlight, G.M., Burgess, A.A., and Hensch, E. M.: *Corynebacterium parvum*. Preliminary report of a phase I clinical and immunological study in cancer patients. *Corynebacterium parvum* (ed. B. Halpern), p.349, Plenum Press, New York, 1975.
16. Fisher, B., Rubin, H., Sartiano, G., Ennis, L., and Wolmar, N.: Observations following *C. parvum* administration to patients with advanced malignancy, *Cancer*, 38 : 119, 1976.
17. Lampert, J.A., Jones, P.D.E., Sadler, T.E., and Castro, J.E.: Histological changes of intravascular coagulation in mice resulting from intravenous injection of *C parvum*, *Proceedings of Symposium on Biological Preparation in the Treatment of Cancer*, London, April, 1977 (ed.H. Regamey), S. Karger, Basle, 1977.
18. Wolberg, G., Duncan, G.S., Adam, C, and Whisnant, J.K.: Antibody to *Corynebacterium parvum* in normal human animal sera, *Infect. Immune.*, 15 : 1004, 1977.
19. Helpers, B. N., Prevot, A.R., Biozzi, G., Stiffel, C., Mouton, D., Morard, C., Bouthiller, Y., and Decreusefond, C.: Stimulation of the phagocytic activity of the reticuloendothelial system provoked by *Corynebacterium parvum*, *J. Reticuloendothel. Soc.*, 1 : 77, 1964.
20. Scott, M.T.: Biological effects of the adjuvant *Corynebacterium parvum* II. Evidence of macrophage-T cell inactivation, *Cell Immunol.*, 5 : 469, 1972.
21. Scott, M.T.: *Corynebacterium parvum* as a therapeutic antitumor agent in mice I. Systemic effect from intravenous injection, *J. Nat. Cancer Inst.*, 53 : 855, 1974.
22. Scott, M.T.: *Corynebacterium parvum* as a therapeutic antitumor agent in mice II. Local injection, *J. Natl. Cancer Inst.*, 53 : 861, 1974.
23. Scott, M.T.: Biological effects of the adjuvant *Corynebacterium parvum* I. Inhibition of PHA, mixed lymphocyte and GVH reactivity, *Cell Immunol.* 5 : 459, 1972.
24. Kirchner, H., Hirt, H.M., and Munk, K.: Protection against herpes simplex virus infection in mice by *Corynebacterium par-*

- vum, *Infect. Immun.*, 16 : 9, 1977.
25. Budzko, D.B., Casals, J., and Waksman, B.H.: Enhanced resistance against Junin virus infection induced by *Corynebacterium parvum*, *Infect. Immun.*, 19 : 893, 1978.
 26. Kierszenbaum, F.: Enhancement of resistance and suppression of immunization against experimental *Trypanosoma cruzi* infection by *Corynebacterium*, *Infect. Immun.*, 12 : 1227, 1975.
 27. Nussenzweig, R.S.: Increased nonspecific resistance to malaria produced by administration of killed *Corynebacterium parvum*, *Exp. Parasitol.*, 21 : 224, 1967. ;
 28. Somerville, D.A., and Murphy, C.T.: Quantitation of *Corynebacterium acnes* on healthy human skin, *J. Invest. Dermatol.*, 60 : 231, 1973.
 29. Whiteride, J. A., and Voss, J. G.: Incidence and lipolytic activity of *Propionibacterium acnes* (*Corynebacterium acnes* group I) and *P. granulosum* (*C. acnes* group II) in acne and in normal skin, *J. Invest. Dermatol.*, 60 : 94, 1973.
 30. Argyris, B.F.: Suppressor cell in the spleen of tumor-allo sensitized mice, *Cancer Research*, 37 : 3390, 1977.
 31. Ueda, K. et al.: Immunosuppressive effect of serum in patients with ovarian carcinoma, *Obstel. Gynecol.*, 51 : 225, 1977.
 32. Fujimoto, S. Greene, N.I., and Schon, H.: Regulation of the immune response to tumor antigens II. The nature of immunosuppressor cells in tumor-bearing hosts, *J. Immunol.*, 116 : 800, 1976.
 33. Argyrics, N. et al.: The nature of immune complexes in human cancer sera, *J. Immunol.*, 119 : 657, 1977.
 34. 河大有・鄭憲鏞: 癌患者의 腹水 및 肋膜滲出液에 淋巴球의 rosette形成에 미치는 影響. 第42次 大韓微生物學會抄錄, 1978.
 35. Bullock, W.E.: Studies on immune mechanisms in leprosy I. Depression of delayed allergic response to skin test antigens, *New Engl. J. Med.*, 278 : 298, 1968.
 36. Turk, J.L., and Waters, M.F.R.: Immunological basis for depression of cellular immunity and the delayed allergic response in patients with lepromatous leprosy, *Lancet*, 2 : 436, 1968.
 37. Sell, S.S.: Immunopathology, *Am. J. Pathol.*, 90 : 215, 1978.
 38. Tuttle, R.L., and North, R.J.: Mechanisms of antitumor action of *Corynebacterium parvum*: Nonspecific tumor cell destruction at site of an immunologically mediated sensitivity reaction to *C. parvum*, *J. Natl. Cancer Inst.*, 55 : 1403, 1975.
 39. Cheng, V.S.T., Suit, H.D., Wang, C.C., and Cummings, C.: Nonspecific immunotherapy by *Corynebacterium parvum*, *Cancer*, 38 : 1687, 1976.
 40. James, K.G., Clunie, J. A., Woodruff, N.F. A., McBride, W. H., Stimson, W.H., Drew, R., and Catty, D.: The effect of *Corynebacterium parvum* therapy on immunoglobulin class and IgG subclass levels in cancer patients, *Br. J. Cancer*, 32 : 310, 1975.
 41. Shuster, S.: Biological purpose of acne, *Lancet*, 1 : 1328, 1976.
 42. Kirchner, H., Glaser, M., and Herberman, R.B.: Suppression of cell-mediated tumor immunity by *Corynebacterium parvum*, *Nature (Lond.)*, 257 : 396, 1975.
 43. Israël, L., and Edelstein, R.: Nonspecific immunostimulation with *Corynebacterium parvum* in human cancer, p.458-504, In *Immunological Aspects of Neoplasia*, No. 26. The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1975.