

*Candida albicans*의 상피세포에 대한 부착능과 병원성과의 상관관계에 관한 연구*

연세대학교 원주의과대학 미생물학교실

고 춘 명

= Abstract =

Relationship between Germ Tube Formation, Adherence to Human Buccal Epithelial Cells and Virulence of *Candida albicans*

Choon-Myung Koh

Department of Microbiology, Yonsei University, Wonju College of Medicine, Wonju, Kangweondo Korea

This study investigated whether a correlation exists between environmental physical and biochemical factors and adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells by using normal and UV-irradiated strains.

The results were as follows:

1. The percentage of germ tube forming activities of normal *Candida albicans* was 91.5% and UV-irradiated *Candida albicans* was 15.0%. The LD₅₀ of normal strains in mice were 1.0×10^6 cells/ml, but could not be observed in the UV-irradiated strains even with 1.0×10^6 cells/ml. It demonstrated that the virulence is decreased in the UV-irradiated strain.
2. The adherence of normal *Candida albicans* to human buccal epithelial cells ($166 \pm 29 \sim 207 \pm 17$ cells/100 epithelial cells) was significantly greater than UV-irradiated *Candida albicans* ($99 \pm 21 \sim 131 \pm 25$ cells/100 epithelial cells).
3. *Candida albicans* cultured at 37°C adhered to buccal epithelial cells ($166 \pm 16 \sim 207 \pm 17$ cells/100 epithelial cells) in greater numbers than cultured at 25°C ($80 \pm 15 \sim 143 \pm 22$ cells/100 epithelial cells).
4. On comparison of the adherence of viable and nonviable(heat-killed) *Candida albicans* to human buccal epithelial cells, the nonviable *Candida albicans* demonstrated poorer adherence than viable *Candida albicans*.
5. Adherence in vitro of *Candida albicans* to human epithelial cells appeared to be effected by the pH. The adherence ability was maximum increased at pH 7.0 (187 ± 22 cells/100 epithelial cells) other than experimental pH.
6. The adherence was proportional to the incubation time and the *Candida* cell concentration in the suspension.
7. A strong correlation was shown between germ tube forming activity and increased adherence of *Candida albicans* to human epithelial cells, indicating that germ tube forming activity were responsible for candidal virulence.

Key Words: Germ tube formation, candida albicans adherence, buccal epithelial cells.

서 론

* 본 연구는 1986년도 원주의과대학 교수연구비에 의하여 이루어졌음.

미생물들의 상피세포에 대한 부착현상은 점막부 위의 집락형성 및 침습의 첫단계로서 감염의 중요한 과정으로 알려져 있으며^{1, 2, 19, 20}, 세균의 경우에서 보면 수종의 그람 음성 간균을 비롯한 여러 종

류의 세균들의 상피세포에의 부착현상과 병원성과의 관계 및 이들 세균의 부착능¹⁰⁾은 세균이 가지고 있는 pili의 상피세포에 부착하는 성질에 의한다고 알려져 있으며, 아울러 상피세포 표면의 특수구성 성분과 관계가 있다고 여러 학자들에 의하여 보고되었다.¹⁷⁻²¹⁾

그러나 근래에 와서 숙주상피세포에 대한 미생물들의 부착현상이 미생물 감염시 병원성과 관계가 있으며, 특히 기회성 진균들의 세포부착성도 흥미 있는 연구대상이 되기 시작하면서 구강 및 질의 감염인 피부성 칸디다증이 전반적인 칸디다증중 가장 흔한 질병이라는 이유로 *Candida albicans*를 대상으로 한 구강 및 질의 상피세포에의 부착능에 대한 실험과 병원성과의 관계에 대한 연구가 많이 진행되고 있다.

상피세포에 미생물들의 집락형성과정을 보면 세균의 경우에는 첫단계로 세포에 부착현상이 일어나면 세포점막의 분비물에 의하여 세균들이 탈락되는 것이 방지되고, 그 결과 세포에서 세균이 분열 증식이 가능하게 되고 집락을 형성하게 된다고 King 등¹⁸⁾, Gibbons 및 van Houte⁹⁾, 그리고 Reed 및 Williams²²⁾ 등이 주장한 바 있으며, *Candida sp.*를 비롯한 기타 진균들의 경우에서도 비슷한 양상을 가진다고 발표하였다¹⁴⁾.

한편 종(species)에 따른 부착능에도 차이가 있어 *Candida albicans*가 가장 부착능이 우수하고^{10, 13, 23)} 또한 분아포자의 경우보다 발아시에 부착능이 증가한다고 주장하고, Sandin 등²⁴⁾은 이 부착현상에 관여하는 표면수용체의 분자구조는 불확실하다고 하였으나, Ray 등²⁵⁾에 의하여는 세포벽의 mannan 성분과 관계가 있다고 하고, 이는 그뒤 몇몇 학자에 의하여 연구되었다^{16, 26)}.

또한, Segal 등²⁹⁾은 질병에 대한 소인을 가진 사람의 상피세포에 부착능과 병원성을 비교한 바 있으며, Liljemark 및 Gibbons¹⁴⁾는 *Candida albicans*의 상피세포 부착능을 germ free mice와 보통 실험 마우스의 구강세포를 이용하여 실험을 실시 germ free 마우스의 구강세포에 부착능이 높다고 보고하였으며, Kimura 및 Pearsall¹⁰⁾은 부착능 실험시 기질을 타액과 인산완충 생리식염수를 사용한 경우 타액을 배양액의 기질로 사용하였을 경우가 부착능이 높고 아울러 반응온도도 37°C가 25°C보다 우수하였다고 주장하였다.

이와같은 일련의 실험들을 기초로하여 정상 *Candida albicans*와 자외선 조사 *Candida albicans*를 이용하여 사람 구강상피세포내의 부착능과 여기에 관여한다고 생각되는 몇가지 외계조건의 변화에 따

른 부착능 변화와 이와 병원성과의 관계를 알아 볼 목적으로 실험을 실시하였던 바 그 성적의 일부를 얻을 수 있어 여기에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

A. 실험재료

1. 실험균주

정상균주: 본 실험에 사용한 정상 *Candida albicans* WMC-19823주는 본 의과대학부속 원주가독병원 치과에 내원한 구강 칸디다증 환자로부터 분리하여 *Candida albicans*로 동정 확인된 본 교실계대 배양균주이었다.

자외선 조사균주: 자외선 조사균주는 상기 *Candida albicans* WMC-19823주를 자외선등(일본국 제품, 삼공살균 램프, 15watt) 직하 30cm에서 20분간 조사한 뒤 배양하여 성장된 균주로 하였다.

2. 구강상피세포

본 실험에 사용한 구강상피세포로서는 건강한 5인의 남자의 구강을 멸균 면봉으로 가볍게 문질러 얻은 구강세포를 멸균 인산완충 생리식염수로 세척하여 얻은 세포이였으며, 실험에 따라서는 구강세포를 하나로 혼합 사용하기도 하였다.

3. 배지 및 시약

균의 배양을 위하여서는 Sabouraud's 포도당 한천 고체배지와 4% 포도당함유 Trypticase Soy 액체배지를 사용하였고, germ tube 생성능 실험에서는 가토의 혈청을 가토로부터 직접 채취하여 사용하였으며, 부착능 실험을 위한 배양액으로서는 pH 7.0으로 조정된 0.01 mol 인산완충 생리식염수를 사용하였다. 아울러 여기에 사용된 시약은 모두 시판되고 있는 일급시약이었다.

B. 실험방법

1. Germ tube 형성능 실험

Germ tube 형성능 검사 방법으로서 Sabouraud's 포도당 한천사면배지에 실험균주를 24시간 배양한 뒤 다시 4%포도당 함유 Trypticase Soy 액체배지에 옮겨 15시간 진탕배양한 다음 pH 7.0으로 조정된 0.01 mol 인산완충 생리식염수로서 3회 세척하여 균수가 1ml 당 1×10^6 세포가 되게 조정하였다.

조정된 실험균주와 가토혈청을 혼합하여 37°C 수조상에서 배양하면서 1시간 간격으로 3회에 걸쳐 일정량을 채취 실험균주 200세포를 측정하는 동안 germ tube 형성 균주수를 측정하여 계산하였다.

2. 부착능 실험

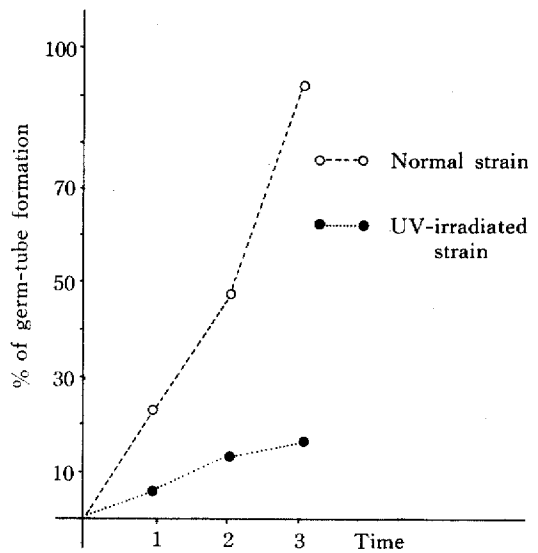
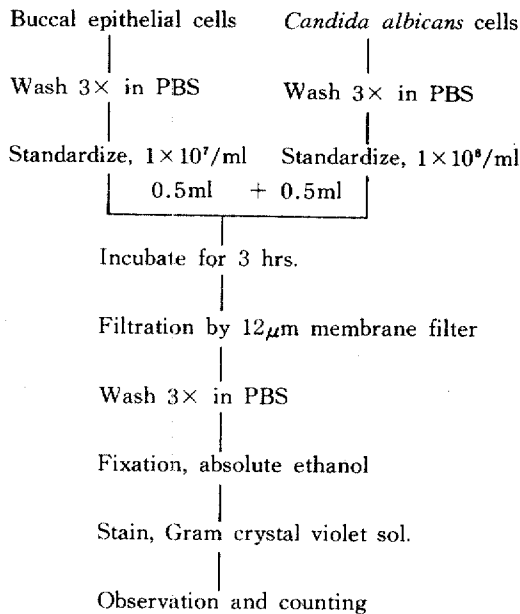


Fig. 1. Percentage of Normal and UV-irradiated *Candida albicans* forming germ-tube in rabbit serum with incubation for 2 hours at 37°C

Table 1. Formation of germ tubes by normal and UV-irradiated *Candida albicans* WMC-19823 after treated with rabbit serum.

Incubation time	Normal strain		UV-irradiated strain	
	1 hours	22.5*	7.5	15.0
	2 hours	46.5	14.0	
	3 hours	91.5	15.0	

*Percentage of germ-tube forming cells

(a) 정상부착능 실험: 구강에서 채취한 구강상피세포를 pH 7.0으로 조정된 0.01mol 인산완충 생리식염수로서 3회 세척한 뒤 세포수가 1ml당 1×10^7 세포가 되게 조정하였다. 실험균주는 germ tube 생성능 실험시 제작한 방법을 이용 1ml당 균주수가 1×10^8 세포가 되게 조절하였다.

조절이 끝난 실험균주 및 구강세포 용액을 각각 0.5ml씩 동량 혼합시키어 수조상에서 배양온도 37°C 및 25°C로 3시간 진탕배양(120rpm/min)하였다. 배양이 끝난 뒤 이 혼합액을 $12\mu\text{m}$ 의 크기 membrane filter를 통하여 여과하고 다시 pH 7.0으로 조정된 0.01 mol 인산완충 생리식염수로 3회 세척하여 상피세포에 부착되지 않은 *Candida albicans*를 제거하였다.

다음 무수알콜로 고정하고 그람 Crystal violet 염색액으로 염색한 뒤 부착능을 관찰 계산하였다.

(b) pH 변화에 따른 부착능 실험: 정상 부착능 실험(위의 (a)항목 참조)과 동일한 방법에 의하여 부착능 실험을 실시하나 배양액의 pH를 4.0, 6.0, 7.0, 8.0 및 10.0으로 변화시키어 pH의 변화에 따른 부

착능 변화유무를 실험하였다.

(c) 실험균주수와 부착능 실험: 정상 부착능 실험(위의 (a)항목 참조)과 동일한 방법으로 실시하나 실험균주의 수를 1ml당 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 , 1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 및 1×10^2 세포로 조정하여 실험균주 농도차에 따른 부착능을 검사하였다.

(d) 생균과 사균의 부착능 실험: 정상 부착능 실험(위의 (a)항목 참조)과 같은 방법으로 실시하나, 사균의 부착능 실험시에는 63°C에서 1시간 처리하여 균의 사멸을 확인한 뒤 이 실험균주를 이용부착능에 대한 실험을 실시하였다.

(e) 시간별 부착능 실험: 정상 부착능 실험(위의 (a)항목 참조)과 같은 방법을 이용하였으나, 배양을 시작한 뒤 1/2, 1, 2, 3 및 4시간 경과할 때마다 가검물을 채취부착능을 검사시간별 부착능을 실험하였다.

실험 성적

A. Germ tube 형성능 성적

Germ tube 형성능 성적을 보면 정상균주의 germ tube 형성능 성적은 배양 1 시간의 경우 22.5%, 2 시간 46.5% 그리고 3 시간의 경우 91.5%의 형성능을 나타내었으며, 자외선 조사균주의 경우에는 1 시간 7.5%, 2 시간 14.0%, 그리고 3 시간에서 15.0%의 형성능을 나타내어 정상균주에 비하여 현저히 germ tube 형성능의 감소를 볼 수 있었다(Table 및 Fig. 1).

B. 마우스에 대한 치사량 50(LD₅₀) 성적

실험균주를 사용하여 마우스에 대한 치사량 50의

Table 2. Lethal Dose 50(LD₅₀) of normal and UV-irradiated *Candida albicans* WMC-19823 in mice

	Lethal Dose 50 (Inoculum/ml)
Normal <i>C. albicans</i>	1.0×10 ⁴
UV-irrad. <i>C. albicans</i>	>1.0×10 ⁷

Table 3. Adherence of normal and UV-irradiated *Candida albicans* WMC-19823 to buccal epithelial cells in individual subjects

	1*	2	3	4	5
Normal candida sp.	207±17**	171±25	186±16	166±29	203±25
UV-irrad. candida sp.	113±20	131±25	128±13	124±18	99±21

*: Individual subject No.

** : No. of *Candida albicans* attached per 100 epithelial cells±SE

Table 4. Adherence of viable and heat-killed *Candida albicans* WMC-19823 to buccal epithelial cells in individual subjects

	1*	2	3	4	5
Viable candida sp.	207±17**	171±25	186±16	166±29	203±25
Heat-killed candida sp.	51±20	90±25	66±18	45±15	61±20

*: Individual subject No.

** : No. of *Candida albicans* attached per 100 epithelial cells±SE

Table 5. Adherence of *Candida albicans* WMC-19823 to buccal epithelial cells at 25°C and 37°C

	1*	2	3	4	5
25°C	81±20**	125±16	115±18	143±22	80±15
37°C	207±17	171±25	186±16	166±29	203±25

*: Individual subject No.

** : No. of *Candida albicans* attached per 100 epithelial cells±SE

Table 6. Adherence of *Candida albicans* WMC-19823 to buccal epithelial cells at various pH

	4.0	6.0	7.0	8.0	10.0
Normal candida sp.	51±9*	90±16	187±22	166±10	102±13
UV-irrad. candida sp.	35±6	57±8	118±20	92±5	67±7

*No. of *Candida albicans* attached per 100 epithelial cells±SE

성적을 보면 정상균주의 경우에는 LD₅₀의 값이 1 ml당 1.0×10⁴세포이었는데, 자외선 조사균주에서는 1ml당 1.0×10⁷세포에서도 사망례를 관찰할 수 없어 이보다 높은 균량이어야 함을 관찰할 수 있었다(Table 2).

C. 부착능 성적

1. 정상상태에서의 부착능 성적

정상균주의 경우 구강으로부터 채취한 개체별 상피세포에 따라 다소의 차이가 있어 최저 100개의 구강세포당 166±29세포로부터 최고 207±17세포이었고, 자외선 조사균주의 경우는 최저 99±21세포로부터 최고 131±25세포이었고, 전체적으로 보아 정상균주의 부착능이 자외선 조사균주의 부착능보다 우수하였다(Table 3).

2. 열처리 균주의 부착능 성적

63°C에서 60분간 열처리한 균주에 대한 부착능 성적을 보면 정상균주의 경우 최저 100개의 구강세포당 45±15세포로부터 90±25세포이었고, 자외선

Table 7. Adherence of *Candida albicans* WMC-19823 to buccal epithelial cells over time

	Incubation time(hours)				
	1/2	1	2	3	4
Normal strain of <i>Candida albicans</i>	49±4*	138±9	193±12	204±18	183±15

*No. of *C. albicans* attached per 100 epithelial cells±SE

Table 8. Adherence effects of *Candida albicans* WMC-19823 concentration in PBS at 37°C for 3 hours

	No. of cells/ml						
	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸
Normal strain of <i>Candida albicans</i>	3*	4±1	12±1	18±2	42±8	128±18	204±18

*No. of *Candia albicans* attached per 100 epithelial cells±SE

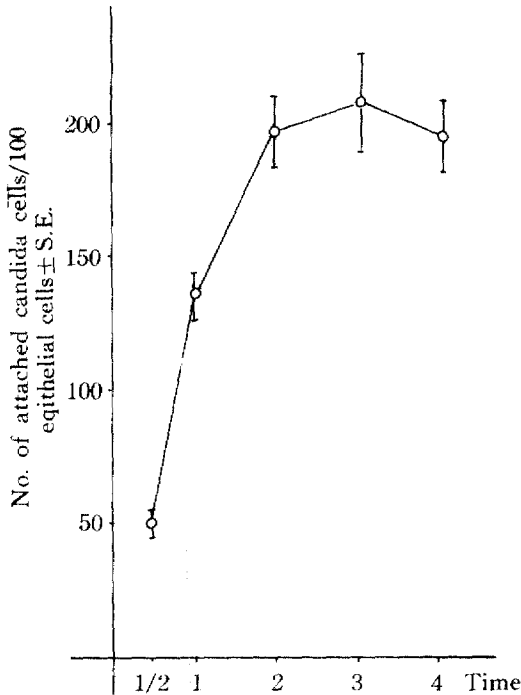


Fig. 2. Adherence of *Candida albicans* to buccal epithelial cells over time.

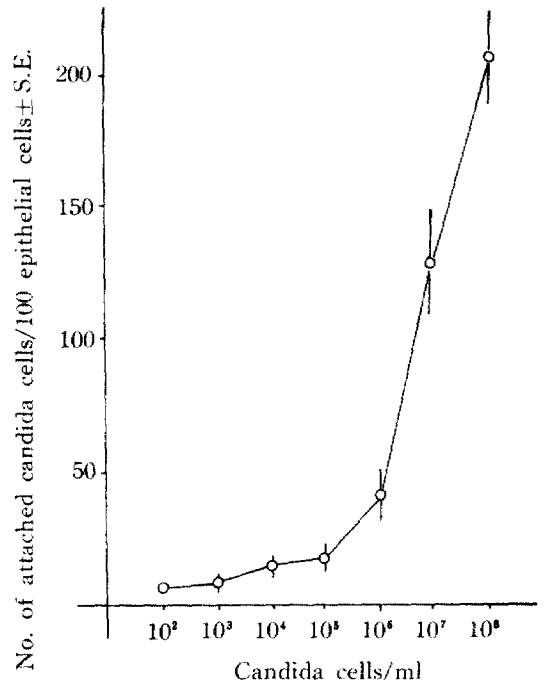


Fig. 3. Effect of *Candida albicans* concentration on adherence in PBS at 37°C for 3 hours.

조사균주의 경우에는는 28±7세포로부터 35±9세포이었다(Table 4).

3. 온도별 부착능 성적

온도별 부착능 성적을 보면 37°C에서 배양하였을 경우에는 100개의 구강상피세포당 207±17세포로부터 최저 166±29세포이었다. 25°C에서 배양한 성적은 최고 143±22세포이었다고, 최저 80±15세포이었다(Table 5).

4. pH 별 부착능 성적

pH 별 부착능의 성적을 보면 정상균주 및 자외선 처리균주 공히 배양액의 pH가 중성의 경우 가장 부착능에 우수하였으며, pH가 높아지거나 낮아질

경우 부착능이 감소현상을 나타내었고, 산성도가 높을수록 알칼리성이 높은 경우보다 부착능이 낮음을 관찰할 수 있었다. 즉 정상균주의 경우 pH 4.0에서 부착능은 100개의 상피세포당 51±9세포 pH 10.0에서는 102±13세포이었다고, pH 7.0에서는 187±22세포이었다. 자외선 조사균주에서는 pH 4.0에서 35±6세포 pH 10.0에서 67±7세포 그리고 pH 7.0에서는 118±20세포이었다(Table 6).

5. 배양 시간별 부착능 성적

배양시간에 따른 부착능 성적을 보면 배양시간 경과에 따라 부착능은 상승하나 배양시간 3시간의 경우가 최고의 부착능을 나타내었고, 이후 점차 감

소하는 감을 나타내었다. 배양시간 30분에서의 부착능은 49 ± 4 세포, 1시간 138 ± 9 세포, 2시간 193 ± 12 세포, 3시간 204 ± 18 세포 그리고 4시간 경과 후에는 183 ± 15 세포로 감소하였다(Table 및 Fig. 2).

6. 접종 농도별 부착능 성적

접종농도별 부착능을 보면 구강 세포의 수를 1ml 당 1×10^7 세포로 하여 접종 *Candida sp.*를 접착 증가시킬 경우 부착능은 접종량의 증가에 따라 부착능이 증가하나 접종량이 1ml 당 10^8 세포부터 10^9 세포에 이르기까지는 급격한 부착능의 상승현상은 볼 수 없고 10^8 세포를 기점으로 접종량이 더욱 증가할 경우 급속한 부착능의 증가현상을 볼 수 있어 1ml 당 10^7 세포의 경우 부착능은 100개 상피세포당 28 ± 18 세포, 10^8 세포의 경우에는 204 ± 18 세포로 높은 부착능을 볼 수 있었다(Table 8 및 Fig. 3).

고 찰

미생물들의 숙주세포에 대한 부착현상은 감염의 첫단계로서 중요한 과정중의 하나이며, 세균의 숙주세포에의 부착능은 세균자신이 지니고 있는 pili와 세포표면의 특수구성 성분과 관계가 있다고 알려져 있다^{4, 5, 7, 8, 20, 21, 24}.

근래에 와서 이와 같은 부착능도 부착되는 균주의 병원성정도도 관계가 있다고 하고, 기회성 진균들의 세포부착성에 대한 여러 가지 연구가 실시되고 있다^{6, 9, 10, 12, 13, 17, 22, 26, 28}.

숙주 상피세포에의 미생물들의 집락형성 과정을 보면 세균의 경우에는 첫단계로 상피세포에 세균이 부착되는 과정과 다음 세포의 점막분비물이 분비되어 이 물질과 세균이 혼합, 세균의 상피세포로부터 탈락되는 현상을 방지시켜 주므로써 세균이 상피세포 표면에서 분열증식이 가능하게 되고, 그 결과 집락이 형성되고 감염이 발생된다고 King 등¹², Gibbons 및 van Houte⁹ 등이 주장하였고, 기회성 진균중 *Candida sp.*의 경우에서도 이와 비슷한 양상에 의하며, 특히 *Candida albicans*가 가지고 있는 세포벽의 mannan성분이 *Candida adhesin*의 역할을 하여 부착현상과 집락형성이 가능하게 된다고 발표하였다^{6, 12, 13, 17, 26, 28}.

한편, germ tube 생성능과 병원성과의 관계를 보면 *Candida sp.* 중 germ tube를 형성하는 균주로서는 *Candida albicans*를 위시하여 *Candida tropicalis* 및 *Candida stellatoidea* 등에서 germ tube를 형성하며, 이들 균주가 타 *Candida sp.*보다 병원성이 높다고 보고하고^{2, 21}, 병원성이 강한 균주와 약화된 균주와의 germ tube형성능에 대한 실험결과

병원성이 강한 균주가 병원성이 낮은 균주보다 germ tube형성능이 높아 혈청처리 3시간 경과시 60%이상의 germ tube형성능을 나타내었으나, 약화된 균주는 40%이하의 형성능을 나타내었다고, 주장하였고²¹, 고 및 주²는 수중혈청을 이용 정상 *Candida albicans*와 자외선 조사 *Candida albicans*를 비교한 결과 germ tube형성능은 가토혈청이 가장 우수하였고, 이 혈청을 사용할 경우 정상균주는 86.5~91.5%의 germ tube형성능을 자외선 조사균주는 15.0~37.5%의 형성능을 나타낸다고 하였으며, 김²¹은 이들 균주간의 LD₅₀값을 측정한 결과 정상균주에서는 1ml 당 2.5×10^8 세포이었으나, 자외선 조사균주에서는 5.0×10^7 세포에서도 실험동물의 사망례를 볼 수 없어 정상균주보다 병원성이 낮다고 발표하였다. 이와 본 실험결과를 비교하여 보면 germ tube형성을 실험결과 본 실험에 사용된 정상균주에서는 91.5% 자외선 조사균주에서는 15.0%의 germ tube형성능을 보여 타 연구결과와 일치하였으며, LD₅₀ 측정값도 정상균주에서 1ml 당 1.0×10^8 세포 자외선 조사균주에서 1.0×10^7 세포보다 높은 측정값을 나타내어 역시 타 연구자들의 연구결과와 일치하였다.

배양액에 따른 *Candida albicans*의 상피세포에의 부착실험 결과를 보면 King 등¹²은 인산완충 생리식염수와 조직배양액인 TC-199을 배양액으로 사용한 바 인산완충 생리식염수의 경우 117 ± 25 /세포, 조직배양액의 경우 113 ± 11 /세포를 나타내며, 상피세포의 origin(공여자)과도 관계가 된다고 주장하였고, Samaranyake 및 MacFarlane²⁷은 Hela 세포를 이용하여 인산완충 생리식염수를 배양액으로 여기 peptone과 설탕을 첨가 실험하였을 경우 1mm²의 Hela 세포 단층면적당 149 ± 26 세포, peptone만 첨가한 경우 128 ± 26 세포로서 설탕첨가시 부착능이 증가된다고 발표하였다. 한편, Sobel 등²⁰은 인산완충 생리식염수와 Williams 용액을 사용하여 실시한 실험결과는 3시간 배양시 인산완충 생리식염수에서는 부착능이 발견되지 않았고, Williams 용액에서 23.9 ± 1.0 세포의 부착능을 관찰할 수 있다고 주장하였다. 그러나 Kimura 및 Pearsall¹⁰은 인산완충 생리식염수와 타액을 이용한 실험에서는 100개의 상피세포당 $142 \sim 209 \pm 22 \sim 27$ 세포와 $384 \pm 60 \sim 640 \pm 77$ 세포로 타액의 존재하에서 부착능이 우수하다고 발표하였으며, Lee 및 King¹³, Collins-Lech⁶, 그리고 Sandin 등²⁶은 *Candida albicans*의 mannan 및 설탕을 처리하여 부착능을 억제되는 현상을 관찰 보고하기도 하였다. 이를 본 실험결과와 비교하여 보면 인산완충 생리식염수로 배양하였을

경우 정상균주의 부착능은 100개의 상피세포당 207~166±17~29세포로서 타 연구자들의 연구결과와 대동소이하였다. 한편, 자외선 조사균주의 부착능은 Lee 및 King¹³⁾은 자외선 조사시간에 따라 차이가 있어 조사 10분의 경우는 90%의 상대부착능을 가지고 있으나, 24시간 경과시에는 11%로 감소한다고 발표하고, Rostrosen 등¹⁴⁾은 18시간 자외선으로 처리한 균주에서 98.7%의 부착능 억제현상을 나타내었다고 발표하였는데, 본 실험결과에서도 100개의 상피세포당 99~131±21~25세포로서 상대부착능이 48%~74%로 정상균주에 비하여 26%~52%의 부착능 감소현상을 나타내어 타 연구자들에 비하여 상대부착능 감소현상이 낮았으나, 이는 자외선 조사시간의 차이를 비롯한 기타 실험여건의 차이등 여러 요인이 관여된다고 볼 때 타당한 결과라 하겠다.

외부의 환경조건과 *Candida sp.*의 상피세포 부착능과의 관계를 보면, 배양액 pH의 변화에 대한 실험은 Persi 등¹⁵⁾은 pH 5.0으로부터 시작 pH 8.0사이에서의 변화 양상에서 균주에 따라 차이가 있다고 보고하고, King 등¹⁶⁾은 차이는 있으나 pH 7.3에서의 부착능이 가장 우수하였다고 보고하였으며, 생균과 사균과의 부착능 실험결과도 Kimura 및 Pearsall¹⁷⁾은 배양액이 인산완충 생리식염수의 경우 부착능은 생균에서는 100개의 상피세포당 142~209±27~22세포이고, 사균은 63~74±17~24 세포라 주장하였으며, Sobel 등¹⁸⁾은 생균의 경우 20.0±0.7 세포, 사균의 경우 5.3±0.3 세포라 발표하였고, Samaranyake 및 MacFarlane¹⁹⁾은 Hela세포 1mm²당 생균은 138±15세포, 사균은 34±11세포로 생균의 부착능이 높다고 발표하였다. 아울러 배양온도에서도 King 등¹⁶⁾은 22°C 및 37°C에서 103±7세포 및 115±3세포라 하였고, Lee 및 King¹³⁾은 125±6~163±4세포 및 10±3~33±4세포라 발표하였다. 또한 배양시간별 부착성 성적은 배양시간의 증가에 따라 계속 증가한다고 Samaranyake 및 MacFarlane¹⁹⁾은 주장하였으나, Kimura 및 Pearsall¹⁷⁾은 *Candida*세포수가 1ml당 10⁶세포까지는 큰 증가를 볼 수 없으나, 10⁷세포이후 부터는 급속한 부착능의 상승을 보인다고 주장한 바 있다.

이들 본 실험결과와 비교하여 보면 배양액의 pH 7.0에서 부착능이 100상피세포당 187±22세포로 가장 우수하였고, 배양액의 pH가 높아지거나 낮아지면 부착능이 공히 감소하였다. 생균과 사균과의 부착능 결과는 생균의 경우 100상피세포당 207±17~166±29세포이나, 사균의 경우에서는 45±15~90±25세포로서 생균에 비하여 사균의 경우 부착능

의 감소현상을 나타내었다. 그리고 배양온도별 실험결과 37°C에서 개체별 차이가 있으나 207±17~166±29세포, 25°C에서 배양시는 80±15~143±22세포로서 37°C에서 배양할 경우가 25°C에서 배양할 경우보다 부착능이 우수한 점등은 모두 타 연구자들의 연구결과와 일치하는 점들이라 하겠다.

이상 본 실험을 종합하여 볼 때 정상 균주보다 germ tube형성능이 낮은 자외선 조사균주의 부착능이 낮은 점은 병원성과도 관계가 있는 것으로 생각되며, 이 실험을 기초로 발아(germination)시의 부착능 비교, 및 병원성과의 관계 비교와 이를 이용한 실험동물을 통한 연구, 그리고 타 *Candida sp.*와의 관계등의 실험은 계속되어야 할 것으로 생각되며, 나가서 이들 균주의 상피세포에 대한 부착과정에 대한 좀더 깊은 기전작용에 대한 연구가 실시되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

구강 캔디다증 환자에서 분리한 *Candida albicans*를 이용하여 구강상피세포에 대한 부착능 실험을 실시 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상균주의 구강상피세포 부착능은 100 상피세포당 207±17~166±29세포이었고, 자외선 조사균주의 부착능은 131±25~99±21세포이었다.
2. 생균과 사균에 대한 부착능은 생균의 경우 207±17~166±29세포이었고, 사균의 경우는 45±15~90±26세포로서 부착능의 감소를 볼 수 있었다.
3. 온도별 부착능 성적을 보면 25°C에서는 80±15~143±22세포이었고, 37°C에서는 166±29~207±17세포이었다.
4. 배양액 pH별 부착능 성적은 pH 7.0에서 가장 부착능이 우수하여 정상균주의 경우 187±22세포 자외선 조사균주 118±20세포이었고, pH가 높아지거나 낮아질 경우 감소하였다.
5. 배양시간별 부착능은 배양시간 3시간에서 가장 우수하여 100상피세포당 204±18세포이었다.
6. 접종량에 따른 부착능 성적은 1ml당 10⁶세포를 기준으로 이보다 균수가 증가할 경우 급속한 부착능의 증가현상을 보여 1ml당 10⁷세포에서는 100상피세포당 128±18세포, 10⁸세포에서는 204±18세포이었다.

참 고 문 헌

- 1) 고춘명, 주혜정: 수종혈청에 대한 자외선 처리

- Candida albicans*의 germ tube 형성능 조사성적. 중양의학, **44**:137, 1983.
- 2) 김영일: 수종실험동물 다형핵 백혈구의 *Candida albicans*에 대한 탐식능과 혈청성분과의 유관성에 관한 연구, 연세대학교 대학원, 1985.
 - 3) Balish E: Chlamyospore production and germ tube formation by auxotrophs of *Candida albicans*, Appl. Microbiol., **25**:615, 1973.
 - 4) Bartelt M and Duncan JI: Adherence of group A streptococci to human epithelial cells, Infect. Immun. **20**:200, 1978.
 - 5) Beachey EH, Eisenstein BI and Ofek I: Bacterial adherence in infectious diseases, In: Current Concepts, pp. 3, The Upjohn Co., Kalamazoo, Michigan, 1982.
 - 6) Collins-Lech C, Kalbfleisch JH, Franson TR and Sohnle PG: Inhibition by sugars of *Candida albicans* adherence to human buccal mucosal cells and corneocytes in vitro, Infect. Immun., **46**:831, 1984.
 - 7) Fader RC, Avots-Avotins AE and Davis CP: Evidence for pili mediated adherence of *Klebsiella pneumoniae* to rat bladder epithelial cells in vitro, Infect. Immun., **25**:729, 1979.
 - 8) Gibbons RJ and van Houte J: Bacterial adherence in oral microbial ecology, Ann. Rev. Microbiol., **29**:19, 1975.
 - 9) Hurley R: The pathogenic *Candida* species and diseases caused by candidas in man, Soc. Bacteriol. Symp. Ser., **9**:19, 1980.
 - 10) Kimura LH and Pearsall NN: Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cell, Infect. Immun., **21**:64, 1978.
 - 11) Kimura LH and Pearsall NN: Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells, Infect. Immun., **28**:464, 1980.
 - 12) King RD, Lee JC and Morris AL: Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells, Infect. Immun., **27**:667, 1980.
 - 13) Lee JC and King RD: Characterization of *Candida albicans* adherence to human vaginal epithelial cells in vitro, Infect. Immun., **41**:1004, 1983. 1024,
 - 14) Liljemark WF and Gibbons RJ: Suppression of *Candida albicans* by human oral streptococci in gnotobiotic mice, Infect. Immun., **8**:846, 1973.
 - 15) Maisch PA and Calderone RA: Role of surface mannan in the adherence of *Candida albicans* to fibrin-platelet clots formed in vitro, Infect Immun., **32**:92, 1981.
 - 16) Mardh PA and Westrom L: Adherence of bacteria to vaginal epithelial cells, Infect. Immun., **13**:661, 1976.
 - 17) McCourtie J and Douglas LJ: Relationship between cell surface composition, adherence and virulence of *Candida albicans*, Infect. Immun., **45**:6, 1984.
 - 18) Ofek I and Beachey EH: Mannose binding and epithelial cell adherence of *Escherichia coli*, Infect. Immun., **22**:254, 1978.
 - 19) Ofek I and Beachey EH: Bacterial adherence, Adv. Intern. Med., **25**:503, 1980.
 - 20) Ofek I, Beachey EH, Jefferson W and Campbell GI: Cell membrane binding properties of group A streptococcal lipoteichoic acid, J. Exp. Med., **141**:990, 1975.
 - 21) Ofek I, Mirelman D and Sharon N: Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors, Nature, **265**:623, 1977.
 - 22) Persi MA, Burnham JC and Duhring JL: Effects of carbon dioxide and pH on adhesion of *Candida albicans* to vaginal epithelial cells, Infect. Immun., **50**:82, 1985.
 - 23) Ray TL, Digrs KB and Payne CD: Adherence of *Candida* species to human epithelial corneocytes and buccal mucosal cells; correlation with cutaneous pathogenicity, J. Invest. Dermatol., **83**:37, 1984.
 - 24) Reed WP and Williams RC: Bacterial adherence: first step in pathogenesis of certain infections, J. Chron. Dis., **31**:67, 1978.
 - 25) Richardson MD and Smith H: Production of germ tubes by virulent and attenuated strains of *Candida albicans*, J. Infect. Dis., **144**:565, 1981.
 - 26) Rotrosen D, Edwards JE Jr, Gibson TR Moore JC, Cohen AH and Green I: Adherence of *Candida* to cultured vascular endothelial cells: mechanisms of attachment and endothelial cell penetration, J. Infect. Dis., **152**:1264, 1985.

- 27) Samaranayake LP and MacFarlane TW: The adhesion of the yeast *Candida albicans* to epithelial cells of human origin in vitro, Arch. Oral Biol., **26**:815, 1981.
- 28) Sandin RL, Rogers AL, Patterson RJ and Beneke ES: Evidence for mannose-mediated adherence of *Candida albicans* to human buccal cells in vitro, Infect. Immun., **35**:79, 1982.
- 29) Segal E, Soroka A and Schechter A: Correlative relationship between adherence of *Candida albicans* to human vaginal epithelial cells in vitro and candidal vaginitis, Sabouraudia, **22**:191, 1984.
- 30) Sobel JD, Myers PG, Kaye O and Levison ME: Adherence of *Candida albicans* to human vaginal and buccal epithelial cells, J. Infect. Dis., **143**:76, 1981.
- 31) Taschdjian CL, Burchall JJ and Kozinn RT: Rapid identification of *Candida albicans* by filamentation of serum and serum substrates, Am. J. Dis. Child., **99**:212, 1960.
- 32) Woods DE, Strauss DC, Johnson WG, Berry VK and Base JA: Role of pili in adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to mammalian buccal epithelial cells, Infect. Immun., **29**:1146, 1980.