항산균과 거식세포와의 반응양상에 대한 연구

서울대학교 의과대학 미생물학교실

차 창 용 · 김 등 순 · 이 승 훈

—Abstract—

A Study on the Macrophage-Mycobacterium Interactions in Vitro

Chang Yong Cha, Dong Soon Kim and Seung Hoon Lee

Dept. of Microbiology, College of Medicine, Seoul National University

Numerous studies on the interactions between phagocytes and pathogens were reported; however, informations on the biology of the pathogen in the host, or the biochemical alterations occurring in the tissue of the host due to infection is incomplete or missing. It would be worthwhile to learn more about the mechanisms involved in the maintenance or destruction of function and life as a consequence of the relationship between phagocytes and pathogens.

Thus, an experiment was planned and performed to study the mode of interactions between rabbit macrophages and mycobacteria which are facultative intracellular parasites, at different temperatures which might influence the metabolic activities at various cells.

Normal rabbit macrophages were collected from the peritoneal cavity, suspended in the CMF medium and mixed with suspensions of mycobacteria. The macrophage-bacteria suspensions were maintained for 24 hours at 37°C. and 33°C., and the rate of appearance of the macrophages containing the organisms, and the extracellular and intracellular viable population of the organisms were studied.

The results of the observation were summarized as follow:

- 1) At 37°C. and 33°C. percentages of the intracellular units to the total viable units of *Mycobacterium tuberculosis* (H₃₇Rv) reached 63% after 1 hour and after 6 hours above 65%. Percentages of macrophages containing H₃₇Rv strains began to show above 40% after 2 hours at 37°C. and 33°C.
- 2) Percentages of the intracellular units to the total viable units of *Mycobacterium bovis* (Ravenel) reached 61% at 37°C., or 54% at 33°C. after 1 hour, but after 3 hours 70% were phagocytized at both temperatures. After 2~3 hours 40% of macrophages contained Ravenel strains in the cytoplasm at 37°C. and 33°C.
- 3) Percentages of the intracellular units to the total units of *Mycobacterium bovis*(BCG) showed 45% after 1 hour, and 60% after 3 hours at 37°C. and 33°C. After 3~6 hours 40% of macrophages contained BCG strains intracellularly at 37°C. and 33°C.
- 4) Percentages of the intracellular units to the total units of *Mycobacterium ulcerans* showed 42% at

37°C., or 47% at 33°C. after 1 hour, and after 3 hours 56% at 37°C., or 60% at 33°C. Percentages of macrophages containing Myco. ulcerans were appeared 32% at 37°C., or 42% at 33°C. after 3~6 hours.

- 5) 40% of the total viable units of Mycobacterium fortuitum were phagocytized after 1 hour, and only about 50% after 6 hours at 37°C. and 33°C. At both temperatures 48% of macrophages contained Myco. fortuitum within cytoplasm after 3~6 hours.

I. 서 론

식균현상이 발견되고 생체내에서 식균세포가 미생물을 처리하는 것이 소위 방어기능의 주축을 이루는 경우가 많다는 것이 알려짐에 따라서 식균현상의 양상을 구명하려는 연구가 많이 보고되었다^{1,2)}.

식균 및 그 후의 세포내 균처리에 있어서 균종, 균세포의 생리상태, 균력인자 및 세포채취동물의 일반 건강상태와 면역도 등 각종 인자가 영향을 미칠 것이 추측되며 또 실험적으로 증명 보고되고 있다.

Suter³⁾는 병원성이 강한 결핵균이나 약화된 균은 정상 guinea-pig의 거식세포에 식균된 후 세포내 증식양상이 동일하나, 병원성이 없는 결핵균은 세포내 증식을 관찰할 수 없으며, 거식세포내에서 결핵균이 증식하므로써 세포가 파괴되는데 병원성이 강한 균종이 강한 파괴력을 나타내는 것을 관찰 보고하였다.

Mackness⁴⁾는 정상가토 거식세포내에서 병원성이 다른 결핵균들의 성장 및 증식양상을 관찰한 결과, 결핵균의 병원성은 거식세포내에서 결핵균이 생존 및 증식할 수 있는 능력여하에 달려있다고 시사하였다.

Berthrong⁵⁾은 병원성이 강한 결핵균이 약화된 균종보다 정상 guinea-pig의 거식세포내에서 신속하게 증식하였을 뿐만 아니라 세포를 심하게 파괴시켰다고 보고하였다.

Hsu⁶⁾는 결핵균에 대한 숙주세포의 저항성은 거식세포내에서 결핵균의 증식을 억제시킬 능력에 있다기 보다는 오히려 세포내 생존 및 증식하는 결핵균의 세포에 대한 독성에 전디어 낼 능력을 소유하느냐의 여부에 달려 있다고 하였다.

Shepard⁷⁾은 병원성이 강한 결핵균이 약한 균종보다 Hela cell에 식균되는 속도 및 증식속도가 신속하며 세포내 증식속도는 결핵균의 병원성과 밀접한 관계가 있다고 보고하였다.

저자들은 항산균과 거식세포와의 반응양상을 구명하기 위하여 정상가토혈청을 함유한 배지에 정상가토거식세포를 부유시킨 후, 병원성에 차이가 있는 Mycobacterium tuberculosis (H₃₇Rv), Mycobacterium bovis

(Ravenel), Mycobacterium bovis(BCG), Mycobacterium ulcerans 또는 Mycobacterium fortuitum 균액을 가지고 37°C 및 33°C에 유지하며 거식세포내의 균의 소장을 관찰하여 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 배지

균부유액에 사용될 세균증식용 배지로는 Human transudate가 10% 포함되어 있는 PH 6.8의 Dubos broth을 사용하였다.

세포수집액(Cell Collecting Fluid, CCF) 및 세포유지액(Cell Maintenance Fluid, CMF)은 Marcus⁸⁾ 및 Cha⁹⁾에 따라서 Earle씨의 Balanced Salt Solution(BSS)을 기본배지로 하고, 이 BSS에 Lactoalbumin hydrolysate를 5% 첨가 용유시킨 Lactoalbumin Hydrolysate Solution (LAH)을 BSS와 혼합하고 Heparin 또는 정상가토혈청을 가하여 사용하였다. 즉, CCF은 BSS와 LAH을 9:1로 혼합하고 Heparin을 CC 당 60단위씩 가하였고, CMF은 BSS, LAH, 및 정상가토혈청을 7:1:2로 혼합하여 NaHCO₃ 용액⁸⁾으로 PH 7.2~7.3으로 조정하여 사용하였다.

2. 세 균

서울대학교 의과대학 미생물학교실 보관균주인 Mycobacterium tuberculosis (H₃₇Rv), Mycobacterium bovis(Ravenel), Mycobacterium bovis (BCG)는 37°C에서 2주일간, Mycobacterium ulcerans는 33°C에서 2주일간, Mycobacterium fortuitum은 37°C에서 72시간 동안 Dubos broth에서 발육 증식시킨 후에 2,000 r.p.m에 20분간 원심 침전시킨 다음, 침전은 버리고 상층액을 사용하였다. 이때에 상층액에 결핵균은 1개, 2개 또는 3개씩 떨어져 있거나 많아야 5개정도로 합쳐져 있었다. Fenner¹⁰⁾의 방법을 응용하여 균수를 CC 당 3.0×10⁸미리 조정하여 다시 CMF로 10배 희석한 균부유액을 실험에 사용하였다.

3. 거식세포

대체로 Suter³⁾ 및 Cha⁹⁾의 방법을 따랐다. 0.02mg/cc의 glycogen용액 100 CC를 체중 2kg 내외의 가토복

강내에 1회 주입하였다. 7~8일 후에 심장체혈이나 10 CC의 공기를 정맥내 주입하여 죽인 후에, 복부 정중선을 따라서 5cm 절개를 가한 후에 150 CC의 CCF을 주입하고 가토복부를 가볍게 massage하였다. 절개공을 통하여 멸균된 pipette을 사용하여 무균적으로 복강삼출액(peritoneal exudate)을 채취하였는데 120 CC 내외였다.

Marcus⁸⁾ 및 Cha⁹⁾에 따라서 삼출액을 1,000 r.p.m.에 10분간 원심침전 시킨 후 상청액을 제거하고 침전은 CMF로 회석하였다. 제조된 세포부유액은 대부분이 거식세포이며 CC 당 3.0×10^5 의 세포수가 포함되어 hemocytometer로 조정하여 실험에 사용하였다.

4. 균-세포 혼합 및 관찰

세포부유액 27 CC.에 균부유액 3 CC.을 혼합하고, cover-slip이 들어 있는 Leighton판에 2 CC.씩 분주하였다. 가볍게 진탕한 후에 Leighton판의 편편한 면이 아래쪽을 향하고, 약 30°C의 각도로 기울이게 배열하여 37°C 및 33°C의 부란기에 방치하였다.

1, 2, 3, 6, 12, 및 24시간 마다 Leighton판 한개씩으로부터 cover-slip을 꺼내어 absolute methanol로 5분간 고정 한 후에 Ziehl-Neelsen 법으로 염색하여 slide-glass에 옮기고 balsam으로 고정 한 후에 현미경 관찰하였다. 현미경 시야내에서 형태가 견대한 거식세포 100개를 무작위선택하여 그 중에 식균하고 있는 것으로 확인되는 거식세포수 및 거식세포내의 항산균수를 검색하였다.

그리고 동일한 Leighton판에 남아 있는 균-세포혼합액을 screw-cap판에 옮긴 후에 1000 r.p.m.에 10분간 원심침전 시켰다.

상청액 0.5 CC.를 멸균된 Dubos broth로 10배 계단 희석하는 한편, 침전을 CMF 1 CC.로 부유시킨 다음에 0.5 CC.를 멸균된 Dubos broth로 10배 계단 희석하였다.

이들 회석액을 Fenner¹⁰⁾의 방법에 따라서 미리 만들어 놓은 Dubos agar plate 위에 0.2 CC. pipette을 사용하여 0.02 CC.를 한 방울씩 떨어뜨린 후 3~4시간 실온에 방치하였다. 다시 반창고로 봉한 후에 37°C에 (*Mycobacterium ulcerans*은 33°C에) 1주일 내지 2주일간 배양하였다. 0.02 CC. 내에서 형성된 집락수로 균-세포혼합액내의 세포의 및 세포내의 생균수를 산출하였다.

III. 실험 성적

1. 항산균과 정상가토거식세포와의 상호작용

거식세포 내의 항산균의 소장과 생태의 양상을 추구하기 위하여 세포내생균수, 세포외생균수 및 총생

균수에 대한 세포내생균수의 백분율의 변화를 추구하여 도표: 1~도표: 5에 표시된 바와 같은 성적을 얻었다.

a) *Mycobacterium tuberculosis* (H₃₇Rv)와 정상가토 거식세포와의 상호작용.

도표: 1에서 보는 바와 같이 37°C에서 H₃₇Rv 균주의 세포외생균수는 식균수보다 감소되어 있었고, 세포내생균수는 1시간 후에 이미 상당수에 달하여 세포외생균수를 능가하였으나 그 후에는 근소한 증가가 계속되었다. 총생균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간 후에 63%, 2~3시간 후에 68%, 6시간 후에 73%로 증가하였다.

33°C에서의 세포의 및 세포내생균수의 소장은 37°C.에서와 유사한 양상을 나타내었고, 총균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간 후에 63%, 2~3시간 후에 66%, 6시간 후에 73%에 달하였다. (Fig. 1참조)

Fig. 1. Viable units curves of the intra- and extra-cellular tubercle bacilli (H₃₇Rv strain), and percentage of the intracellular units to the total viable units at 37°C and 33°C

b) *Mycobacterium bovis* (Ravenel)와 정상가토 거식 세포와의 상호작용.

도표: 2에서 보는 바와 같이 37°C.에서 세포외생균수는 식균수보다 감소되어 있었고 6시간동안 거의 증감이

없었고, 세포내생균수는 1시간후에 이미 상당수에 달하여 세포외생균수를 능가한 상태로 계속 완만하게 증가하였다. 총생균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간후에 61%, 2시간후에 64%, 3시간후에 70%, 6시간후에 73%로 증가하였다.

33°C.에서는 37°C.에서와 유사한 세포의 및 세포내균수의 소장을 나타내었고, 총균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간후에 54%, 2시간후에 60%, 3시간후에 68%, 6시간후에 73%에 달하였다. (Fig. 2참조)

Fig. 2. Viable units curves of the intra- and extra-cellular tubercle bacilli (Ravenel strain), and percentage of the intracellular units to the total viable units at 37°C and 33°C

c) *Mycobacterium bovis* (BCG)와 정상가토 거식세포와의 상호작용.

도표 : 3에서 보는 바와같이 37°C.에서 세포외생균수는 1시간후에 식균수보다 감소되었고 계속 감소하여 3시간 후에는 최저치에 달하였다. 세포내생균수는 1시간 후에는 급격하게 증가하였으나, 그 후에는 완만하게 증가하였다. 총생균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간 후에 47%, 2시간 후에 54%, 3시간 후에 60%로 증가하였으나 그 후에는 완만하게 증가하였다.

33°C.에서는 세포의 및 세포내생균수의 소장은 37°C.

에서와 유사한 양상을 나타내며, 총생균수에 대한 세포내생균수의 백분율도 유사하여 1시간후에 45%, 2시간후에 55%, 3시간후에 60%에 달하였다. (Fig. 3참조)

Fig. 3. Viable units curves of the intra- and extra-cellular tubercle bacilli (BCG strain), and percentage of the intracellular units to the total viable units at 37°C and 33°C

d) *Mycobacterium ulcerans*와 정상가토 거식세포와 상호작용.

도표 : 4에서 보는 바와같이 37°C.에서 세포외생균수는 식균수보다 감소된 상태가 6시간 후까지 계속되었으며, 세포내생균수는 1시간 후에 상당수에 달하였으며, 3시간 후부터는 세포외생균수를 능가하기 시작하였다. 총생균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간 후에 42%, 2시간 후에 48%, 3시간 후에 56%, 6시간 후에 64%에 달하였다.

33°C.에서 세포내 및 세포외균수의 소장은 37°C.에서와 유사한 양상이나 세포내생균수가 2시간 후부터 세포외생균수를 능가하기 시작하였다. 총균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간에 47%, 2시간에 53%, 3시간 후에는 60%로 증가하였으나 6시간 후에도 62%로 완만하게 증가하였다. (Fig. 4)

Fig. 4. Viable units curves of the intra-and extracellular *Myco. ulcerans*, and percentage of the intracellular units to the total viable units at 37°C and 33°C

e) *Mycobacterium fortuitum*과 정상가토 거식 세포와의 상호작용.

도표 : 5에서 보는 바와같이 37°C에서 세포외생균수는 식균수보다 감소된 상태에서 증감없이 3시간까지 계속되나, 세포내생균수는 1시간 후에 이미 상당수에 달하여 6시간 후에는 세포외생균수를 능가할 정도로 증가하였다. 총생균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간 후에 40%, 2시간 후에 42%, 3시간 후에 42%, 6시간 후에 53%로 증가하였다.

33°C에서는 세포외 및 세포내생균수의 소장은 37°C에서와 유사한 양상이었고, 총균수에 대한 세포내생균수의 백분율은 1시간에 41%, 2시간 후에 42%, 3시간 후에 45%, 6시간 후에 49%에 달하였다. (Fig. 5)

2. 균종과 환경온도가 식균한 거식세포의 출현에 미치는 영향

균종, 식균세포의 상태 및 환경변화에 따라서 식균세포가 식균하는 기능에 차이가 있을 것임으로 37°C 및 33°C에서 [정상가토거식세포와 *Mycobacterium tuberculosis* (H₃₇Rv), *Mycobacterium bovis* (Ravenel),

Fig. 5. Viable units curves of the intra-and extracellular *Myco. fortuitum*, and percentage of the intracellular units to the total viable units at 37°C and 33°C

Mycobacterium bovis(BCG), *Mycobacterium ulcerans*, 및 *Mycobacterium fortuitum*을 접촉시키고 일정한 시간 후에 Leighton 관내의 균-세포혼합액으로 부터 coverslip을 꺼내어 Ziehl-Neelsen법으로 염색하여 항산균에 대한 거식세포의 식균여부를 관찰하였다.

현미경 시야내에서 형태가 전제한 거식세포 100개를 무작위선택하여 그 중에 항산균을 식균하고 있는 것으로 확인되는 거식세포수 및 식균된 항산균수를 계산하여 도표 : 6~도표 : 10에 각 균종 및 온도별에 따라서 백분율로 표시하였다.

a) *Mycobacterium tuberculosis* (H₃₇Rv)

도표 : 6에서 보는 바와 같이 37°C에서 H₃₇Rv균주를 식균한 거식세포의 출현율은 1시간 후에 39%, 2시간 후에 44%, 3시간 후에 48%, 6시간 후에 50%, 12시간 후에 62%, 24시간 후에 67%에 달하였다.

33°C에서는 1시간 후에 34%, 2시간 후에 42%, 3시간 후에 48%, 6시간 후에 54%, 12시간 후에 59%, 24시간 후에 62%의 거식세포가 식균하고 있었다. (Fig. 6)

Fig. 6. Percentages of macrophages containing tubercle bacilli (*H₃₇Rv* strain) in the macrophage-bacteria suspensions at 37°C and 33°C

Fig. 7. Percentages of macrophages containing tubercle bacilli (Ravenel strain) in the macrophage-bacteria suspensions at 37°C and 33°C

b) *Mycobacterium bovis* (Ravenel)

도표: 7에서 보는 바와 같이 37°C에서 Ravenel균주를 식균한 거식세포의 출현율은 1시간 후에 34%, 2시간 후에 39%, 3시간 후에 45%, 6시간 후에 44%, 12시간 후에 60%, 24시간 후에 69%에 달하였다.

반면에 33°C에서는 1시간 후에 30%, 2시간 후에 39%, 3시간 후에 42%, 6시간 후에 63%, 24시간 후에 65%의 거식세포가 식균하고 있었다. (Fig. 7)

c) *Mycobacterium bovis* (BCG).

도표: 8에서 보는 바와같이 37°C에서 1시간 후에 24%의 거식세포가 BCG균주를 식균하고 있었으며, 2시간 후에 29%, 3시간 후에 34%, 6시간 후에 40%, 12시간 후에 50%, 24시간 후에 60%가 식균하고 있었다.

33°C에서는 1시간 후에 19%, 2시간 후에 31%, 3시간 후에 37%, 6시간 후에 40%, 12시간 후에 47%, 24시간 후에 62%의 거식세포가 식균하고 있었다. (Fig. 8)

d) *Mycobacterium ulcerans*.

도표: 9에서 보는 바와 같이 37°C에서 *Mycobacterium ulcerans*에 대하여 1시간 후에 24%의 거식세포가 식

균하고 있었으며, 2시간 후에 27%, 3시간 후에 36%, 6시간 후에 32%, 12시간 후에 47%, 24시간 후에 57%의 거식세포가 식균하고 있었다.

반면에 33°C에서는 1시간 후에 34%, 2시간 후에 30%, 3시간 후에 39%, 6시간 후에 42%, 12시간 후에 51%, 24시간 후에 64%의 거식세포가 식균하고 있었다. (Fig. 9)

e) *Mycobacterium fortuitum*.

도표: 10에서 보는 바와 같이 37°C에서 *Mycobacterium fortuitum*균주를 식균하고 있는 거식세포의 출현율은 1시간 후에 27%에 달하였고, 2시간 후에 31%, 3시간 후에 36%, 6시간 후에 49%, 12시간 후에 58%, 24시간 후에 65%에 달하였다.

반면에 33°C에서는 1시간 후에 22%, 2시간 후에 27%, 3시간 후에 27%, 6시간 후에 48%, 12시간 후에 55%, 24시간 후에 63%의 거식세포가 식균하고 있었다. (Fig. 10)

IV. 고 찰

식균세포와 세균이 동시에 존재할 때 세포 및 세균의 각종 생물학적 성장과 환경의 물리화학적 상태 등 여러

Fig. 8. Percentages of macrophages containing tubercle bacilli (BCG strain) in the macrophage bacteria suspensions at 37°C and 33°C

Fig. 9. Percentages of macrophages containing Mycobacterium ulcerans in the macrophage bacteria suspensions at 37°C and 33°C

인자가 관여하여 식균작용 및 식균세포내의 균생태에 영향을 미치게 된다^{1,2}.

저자들은 본 실험에서 면역 및 기타의 조작이 가하여 지지 않은 정상가토에 항산균이 도입되었을 경우에 일어나는 현상, 특히 거식세포내에서 나타나는 항산균의 생태를 생체외에서 관찰시켜 하였다.

즉, 정상가토로부터 수집된 거식세포를 정상가토 혈청이 포함되고 항생제가 배제된 CMF배지에 부유시키고, 병원성에 차이가 있는 Mycobacterium tuberculosis (H₃₇Rv), Mycobacterium bovis (Ravenel), Mycobacterium bovis (BCG), Mycobacterium ulcerans 및 Mycobacterium fortuitum의 균액을 가하고, 항산균이 생체내에 도입되는 부위를 감안하여 최저온도를 37°C 및 33°C로 구별하여 관찰하였다.

총생균수에 대한 세포내생균수의 백분율을 살펴보면 37°C에서 1시간후에 H₃₇Rv균주는 63%, Ravenel균주는 61%, BCG균주는 47%, Mycobacterium ulcerans는 42%, Mycobacterium fortuitum은 40%이었다. 반면에 33°C에서는 1시간후에 H₃₇Rv균주는 총균수의 63%,

Ravenel균주는 54%, BCG균주는 45%, Mycobacterium ulcerans는 47%, Mycobacterium fortuitum은 41%가 거식세포에 식균되어 있었다. 이와 같은 소견은 H₃₇Rv 균주가 다른 균주들 보다 거식세포내에 많이 생존해 있었다는 것을 의미하는데 이는 H₃₇Rv 균주가 쉽게 식균되었고 식균된 후에는 오히려 세포내에서 느리게 처리된 소이로 해석되었다.

H₃₇Rv균주, BCG균주 및 Mycobacterium균주는 37°C나 33°C에서 유사한 양상을 나타냈으나, Ravenel균주는 33°C에서 식균된 균수가 37°C에서 보다 적었다. 반면에 Mycobacterium ulcerans는 37°C에서 보다 33°C에서 1시간후에 식균된 균수가 많았다. Mycobacterium ulcerans는 성장최적온도가 33°C로 그 이상의 온도에서는 성장이 억제되며^{1,2}, 반면에 거식세포는 오히려 33°C에서 생리현상이 저하되었기 때문에 37°C보다 33°C에서 세포내균수가 많은 것으로 해석되었다.

도표 : 6~도표 : 10에 표시된 바와 같이 각 균종에 대하여 식균한 거식세포의 출현율을 살펴보면 37°C에서 H₃₇Rv균주는 40% 이상에 달한 것이 2시간이 지난 후부터이고 Ravenel균주는 3시간이 지나서, BCG균주는

Fig. 10. Percentages of macrophages containing *Mycobacterium fortuitum* in the macrophage bacteria suspensions at 37°C and 33°C

3시간이 지나 6시간이 되어야, *Mycobacterium ulcerans*는 6시간이 지나 12시간되어서야, *Mycobacterium fortuitum*은 3시간후 부터 6시간이 되어야 이루어지기 시작하였다. 반면에 33°C에서는 $H_{37}Rv$ 균주는 2시간이 지난후에 Ravenel균주는 3시간 후에 BCG균주, *Mycobacterium ulcerans* 및 *Mycobacterium fortuitum*균주는 6시간 지난 후에야 식균한 거식세포의 출현율이 40%이상에 달하기 시작하였다. 이와 같은 소견은 도표: 1~도표: 5에서 언급된 바와 같이 병원성이 강한 $H_{37}Rv$ 균주가 병원성이 약한 다른 균주들 보다 쉽게 식균되었고 세포내에서 서서히 처리된 소이로 해석되었다.

이와 같은 결과는 Shepard⁷⁾가 병원성이 강한 결핵균이 Hela cell에 쉽게 식균된다고 보고한 바와 일치되며 또한 Suter³⁾ Mackaness⁴⁾, Berthrong⁵⁾이 정상가토나 guinea-pig의 거식세포에 병원성이 강한 결핵균이 보다 쉽게 식균되며 세포내 생존하는 균수도 많았다고 보고한 소견과 일치되었다. $H_{37}Rv$ 균주와 같이 병원성이 강한 균주가 식균세포에 쉽게 식균되어 세포내 증식하여 점차로 세포를 파괴하면서 숙주세포의 생리상태를 장애시키리라 추측되었다.

도표: 1~도표: 10에서 보는 바와 같이 37°C 및 33°C의 환경온도의 차이는 본 실험에서 사용한 조건하에서는 현저하지 않았다. 따라서 도입부위에 따르는 병원성의 차이는 다른 각도로 추구되어야 하는 것으로 생각하는 바이다.

숙주-기생체간의 복잡한 반응양상과 결과로 발생하는 병변현상을 생체의 환경에서 추구하여 이해하는 것이 용이치 않은 것을 다시금 통감하는 바이다.

V. 총 괄

정상가토거식세포(normal rabbit macrophage)가 부유되어 있는 CMF배지에 *Mycobacterium tuberculosis* ($H_{37}Rv$), *Mycobacterium bovis* (Ravenel), *Mycobacterium bovis* (BCG), *Mycobacterium ulcerans* 및 *Mycobacterium fortuitum*의 균액을 혼합하고, 1, 2, 3, 6, 12, 및 24시간에 걸쳐 세포의 및 세포내균수의 소장과 식균한 거식세포의 출현율을 관찰하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) *Mycobacterium tuberculosis* ($H_{37}Rv$)은 37°C. 및 33°C.에서 1시간후에 총균수의 63%, 3시간후에는 65% 이상 식균되어 있었다. $H_{37}Rv$ 균주를 식균한 거식세포는 2시간이 지나서야 40% 이상 차지하였다.

2) *Mycobacterium bovis* (Ravenel)은 37°C에서 총균수의 61%, 33°C.에서는 54%가 식균되어 있었으나 3시간후에는 모두 70%정도 식균되어 있었다. Ravenel균주를 식균한 거식세포의 출현율은 3시간이 경과한 후에 40% 이상에 달하였다.

3) *Mycobacterium bovis* (BCG)은 37°C 및 33°C에서 1시간후에 총균수의 45% 이상, 3시간후에는 60%가 식균되어 있었다. BCG균주를 식균한 거식세포의 출현율은 6시간후에야 40%에 달하였다.

4) *Mycobacterium ulcerans*은 37°C.에서 1시간후에 총균수의 42%, 33°C.에서는 47%가 식균되었고, 3시간후에는 37°C.에서 56%, 33°C.에서 60%가 식균되었다. *Mycobacterium ulcerans*을 식균한 거식세포의 출현율은 6시간후에도 37°C.에서는 32%이었으나, 33°C.에서는 42%에 달하였다.

5) *Mycobacterium fortuitum*은 37°C 및 33°C에서 1시간후에 총균수의 40%가 식균되었고, 6시간후에도 50%밖에 식균되어 있지 못하였다. *Mycobacterium fortuitum*을 식균한 거식세포의 출현율이 48%에 달한 시기는 6시간이 경과한 후였다.

References:

- 1) Wilson, G.S., and A.A. Miles; Topley & Wil-

- son's *Principle of Bacteriology and Immunity*, 5th edition, William & Wilkins Co., Md., 1964.
- 2) Dubos, R. J., and J. G. Hirsch; *Bacterial and Mycotic Infections of Man*, 4th edition, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa., 1965.
- 3) Suter, E.; *The multiplication of tubercle bacilli within normal phagocytes in tissue culture*, *J. Exp. Med.*, 96, p.139-150, 1952.
- 4) Mackness, G. B., N. Smith., and A. Q. Wells; *The growth of intracellular tubercle bacilli in relation to their virulence*, *Am. Rev. Tubercul.*, 69, p. 479-494, 1954.
- 5) Berthrong, M., and M.A. Halmiton; *Tissue culture studies on resistance in tuberculosis. I. Normal guinea-pig monocyte with tubercle bacilli of different virulence*, *Am. Rev. Tubercul.*, 77, p. 436-449, 1958.
- 6) Hsu, H. S.; *In vitro studies on the interactions between macrophage of rabbit and tubercle bacilli. I. Cellular basis of native resistance*, *Am. Rev. Resp. Dis.*, 91, p. 488-498, 1965.
- 7) Shepard, C. C.; *Growth characteristics of tubercle bacilli and certain other mycobacteria in Hela cell*, *J. Exp. Med.*, 105, p. 39-48, 1957.
- 8) Marcus, S., and W. G. Wu; *Humoral factors in cellular resistance. I. The effect of heated and unheated homologous and heterologous sera on phagocytosis and cytopepsis by normal immune macrophage*, *J. Immunol.*, 91, p. 313-322, 1963.
- 9) Cha, C. Y., W. H. Park, S. D. Lee, and S. H. Lee; *A study on the macrophage-staphylococcus interactions in vitro*, *New Medical Journal* 13, p. 533-539, 1970.
- 10) Fenner, F; *The enumeration of viable tubercle bacilli by surface drop counts*, *Am. Rev. Tubercul.*, 64, p. 353-380, 1951.