

Estrogen과 Progesterone이 Ureaplasma urealyticum의 증식과 세포 부착성에 미치는 영향

고신대학 의학부 미생물학교실

이민철, 장명웅

Infuence of Estrogen or Progesterone on Growth and Adherence of Ureaplasma urealyticum to FL cell

Min Chul Lee, Myung Woong Chang

*Department of Microbiology
Kosin Medical College, Pusan 602-030, Korea*

= Abstract =

Many investigators have suggested that hormonal status are closely related with colonization rates of Ureaplasma urealyticum(U.urealyticum) in female genital tract, but some investigators do not agree with this view.

The present study was undertaken to test the significance of estrogen and progesterone acting as either stimulant or inhibitor on growth and adherence of U.urealyticum to FL cell in minimum essential medium,(MEM) and ureaplasma standard liquid medium 10-B media.

U.urealyticum T960 strain and human amniotic fibroblast(FL) cells were used in this study. U.urealyticum was cultured in a 10-B medium formulated by Shepard and Lunceford. FL cells were cultured in complete MEM supplemented by in dose of 10% fetal calf serum and suitable antibiotics.

Estrogen was supplemented with 0.06ng, 0.6ng, 6.0ng or 60.0ng per ml and progesterone in dose of 0.1ng, 1.0ng, 10.0ng or 100.0ng per ml in 10-B or MEM media or FL cell culture system.

U.urealyticum was inoculated into 10ml of new 10-B or MEM media containing different concentrations of estrogen or progesterone, and incubated at 37°C for 30 hours. At every 6 hour

interval, the bacterial number in the culture fluid was calculated by color changing unit(CCU). The CCU of culture fluid was determined by making serial ten-fold dilutions up to 10^{12} in duplicates with 10-B media. The highest dilution at which one of the two media changed from yellow to red was considered to contain 50% color changing unit.

The 90ml of FL cell suspension(10^6) were divided into 9 portions, and were added different concentration of estrogen and progesterone in each portion, then a 0.1 ml of *U.urealyticum* culture fluid was added in it.

After, each portion was divided into 1 ml and placed in 24 well culture plate, then incubated at 37°C for 72 hours. Bacterial number in the culture supernatant and adhered to cell were calculated same as mentioned above.

The results of this study are summarized as follows

1. Growth of *U.urealyticum* in 10-B media was not influenced by 0.06ng or 0.6ng per ml of estrogen by 0.1ng or 1.0ng per ml of progesterone. However, it was inhibited by high concentrations of estrogen and by progesterone.

2. Growth of *U. urealyticum* in MEM media was not affected by 0.06ng per ml of estrogen, but it was inhibited by high concentrations of estrogen and progesterone.

3. Growth of *U. urealyticum* in supernatant of FL cell culture system was not influenced by 0.06ng per ml of estrogen, while its survival times were prolonged by high concentrations of estrogen. On the other hand, adhesion of *U.urealyticum* to FL cells and persistancy of the organism was increased and prolonged by high concentrations of estrogen.

4. Growth of *U.urealyticum* in supernatant of FL cell culture system was not increased, but its survival times were prolonged by progesterone. On the other hand, adhered *U. urealyticum* to FL cells were increased and its survival times were prolonged by progesterone.

Overall, we can suggest that the growth of *U. urealyticum* was inhibited by high concentrations of estrogen and progesterone in 10-B or MEM media.

On the other hand, in FL cell culture system, the adherence of *U. urealyticum* to FL cells were increased and its survival times were prolonged by administration of estrogen and progesterone.

We can also suggest that hormonal status is closely related with colonization of U. urealyticum in female genital tract.

서 론

Ureaplasma urealyticum(이하 U. urealyticum으로 약함)은 1954년 Shepard²⁹⁾에 의해 비임균성 요도염환자의 요도 분비물에서 처음으로 분리 보고한 이래 이 균의 병원성에 관한 연구가 많이 보고되어 왔다^{2) 10, 11, 12, 18, 20, 26, 30, 31, 35, 36)}.

또한 최근에 이 균은 사람에게 비임균성 요도염 뿐만 아니라 여성에서 난관난소농양⁴⁾, 양막염⁵⁾, 산욕패혈증³³⁾, 조산³⁾, 불임²¹⁾ 등의 질병에 원인이 된다고 보고하고 있어 주목이 되고 있다.

U. urealyticum은 남성에서보다 여성에서 분리빈도가 높으며, 특히 성적으로 활동기에 있는 여성에서 감염율이 높은 것 등으로 보아 성적 접촉이 이 균의 감염에 중요한 요인이 되고 있으며, 따라서 성병의 원인균 중의 하나로 주목되고 있다^{24, 25, 28)}.

한편 U. urealyticum의 감염율은 사춘기 전이나 갱년기 이후의 여성에서는 낮으나 사춘기 이후부터 갱년기 이전의 여성에서 감염율이 높다고 보고되고 있다. 특히 임신부에서 높은 감염율을 나타내는 등의 결과로 보아, 여성생식 호르몬이 균의 감염에 중요한 역할을 할 수 있을 것이라는 보고도 있다^{8, 15, 16, 22, 23)}. 이와 관련하여 여성생식 호르몬이 각종 미생물의 감염에 미치는 영향을 검토한 것을 보면 Baker¹⁾ 등은 progesterone 투여가 마우스의 자궁경관에서 Herpes-simplex virus type 2의 감염을 증가시킨다고 보고하였다. Tuffrey³⁷⁾ 등은 progesterone 투여가 마우스의 자궁경관에서 Chlamydia trachomatis의 감염을 증가시켰다고 보고하였으며, Furr¹³⁾ 등은 progesterone 투여가 마우스의 자궁경관에서 Mycoplasma pulmonis의 감염을 증가시켰다고 보고하였다. 이와는 달리 Iwasaka¹⁷⁾ 등은 estrogen

의 투여가 마우스 자궁경관에서 U. urealyticum의 감염을 증가시켰으나, progesterone은 별 영향이 없었다고 보고하였다.

위의 보고를 종합해 보면 미생물의 종류에 따라 estrogen과 progesterone이 이들균의 감염에 미치는 영향이 상이하게 나타나는 것을 알 수 있다. 그러나 임신부의 경우 estrongen과 progesterone의 농도가 다같이 높은것에 비추어 볼때 estrogen만이 U. urealyticum의 감염을 증가시킨다는 Iwasaka^{16, 17)} 등의 보고는 서로 상이한 결과로 생각될 수 있기 때문에 이 문제는 추시해 볼 필요가 있다고 사료된다.

이에 본 연구에서는 시험관내에서 estrongen과 progesterone이 U. urealyticum의 증식에 미치는 직접적인 영향을 관찰함과 동시에, 사람양막 섬유아 세포(human amniotic fibroblast cell: 이하 FL세포) 배양계에서 이들 호르몬의 투여가 이 균의 증식이나 세포 부착성에 미치는 영향을 관찰하므로서, 생체내에서 이들 호르몬이 균에 미치는 영향을 검토해 볼 수 있을 것으로 사료되어 몇가지 실험을 하였던 바 얻은 성적을 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료 :

1) 사용균주 : Ureaplasma urealyticum T 960균주는 캐나다 Alberta대학의 Robertson교수로부터 분양받아 본 교실에서 보관중인 균주를 ureaplasma 증균배지(10-B)³²⁾에 18시간 배양한 균액을 사용하였다.

2) 사용세포 : Human amniotic fibroblast cell(FL세포)는 일본 히로시마 대학의 Matsuo 교수로부터 분양받아 본 교실에 보관 중인 것을 minimum essential medium(MEM)

완전배지에 배양하여 1×10^6 cell/ml의 세포 부유액을 만들어 사용하였다.

3) 사용호르몬: Estrogen(Estradiol benzoate, 2mg/ml: 삼일제약 주)은 각 실험군에서 최종 농도가 0.06ng/ml, 0.6ng/ml, 6.0ng/ml, 60.0ng/ml 되게, progesterone(50mg/ml: 삼일제약 주)은 각 실험군에서 최종 농도가 0.1ng/ml, 1.0ng/ml, 10.0ng/ml, 100ng/ml 되게 첨가하였다⁹⁾.

4) 사용배지: U.urealyticum 증균용 10-B배지의 제조는 PPLO broth(w/o CV, Difco): 1.5 g 에 삼차 증류수: 73ml를 가하여 용해시킨 다음 1N HCl 로 pH: 5.5가 되게 조정하고 고압 증기멸균하였다. 이를 냉각 시킨 후 무균적으로 마혈청: 20ml, 25% 효모축출액: 10ml, 10% 요소액: 0.5ml, 2% L-cysteine액: 0.5ml, phenol red 용액: 0.1ml, CVA enrichment 0.5ml, penicillin G(10만 단위): 1ml 등을 첨가한 완전배지를 만들어 사용하였다³²⁾. FL세포의 배양을 위한 MEM배지는 MEM기초배지(GIBCO)1ℓ를 여과 멸균하고, 여기에 무균적으로 소태아혈청: 100ml, penicillin(10만 단위): 10ml, 10% 요소액: 5ml를 첨가한 완전 배지를 만들어 사용하였다.

2. 실험방법

1) 10-B 및 MEM배지에서 호르몬의 영향: 10-B배지와 MEM배지 10ml씩을 멸균시험관에 각각 분주하고, estrogen과 progesterone을 각각의 농도로 첨가한 다음, 미리 배양하여 둔 U.urealyticum균액을 각 시험관에 0.1ml씩 접종하여 37C 부란기에 배양하였다. 배양 0, 6, 12, 18, 24, 30시간 후에 각각의 시험관에서 배양액 0.02ml씩을 취하여 0.2ml의 10-B배지가 들어있는 96 well microplate에서 $10^{-1} - 10^{-12}$ 배까지 계단희석한 후 37C 부란기에서 24시간 배양하였다. 한개의 시험관에서 동일한 두개의 희석계열을 만들어 균의 증식유무를 관찰하였다. U.urealyticum은 10-B배지중의 요소를 분해하여 암모니아를 생성하

므로 U.urealyticum이 증식하면 배지의 색깔이 황색에서 적색으로 변하게 된다. 배양한 다음 두개의 동일한 희석계열중 한쪽은 U.urealyticum의 증식으로 배지의 색깔이 변하지 않은 최대 희석계열의 숫자를 50% 색갈변화단위(color changing unit: CCU₅₀)로 판정하였다³⁴⁾.

2) FL세포 배양계에서 호르몬의 영향: FL세포를 MEM배지에서 단층배양 시키고 trypsin으로 처리하여 세포를 수거한 다음 1×10^6 /ml의 세포 부유액을 만들어 10ml씩 시험관에 분주하였다. 여기에 각 농도의 estrogen과 progesterone을 각각 첨가하고 U.urealyticum 배양균액을 0.1ml씩 첨가하였다. 호르몬과 균액이 첨가된 세포 부유액 1ml씩을 24 well culture plate에 각각 분주하여 37C CO₂ 부란기에서 배양하였다. 배양후 0, 6, 12, 18, 24, 30, 48, 72시간 후에 각 농도별로 두개의 well에서 택하여 배양상층액과 세포에 부착된 U.urealyticum의 균수를 계산하였다. 각 well에서 배양 상층액을 0.02ml씩 취하여 0.2ml의 10-B배지에서 $10^{-1} - 10^{-12}$ 배까지 계단희석하여 24시간 배양하고 상기의 방법으로 CCU₅₀을 계산하였다.

3. 결 과

1) 10-B배지에서 U.urealyticum의 증식에 미치는 호르몬의 영향: Estrogen이 각 농도로 함유된 10-B배지에서 U.urealyticum의 증식곡선은 그림 1과 같다.

Estrogen이 함유되지 않은 10-B 배지 대조군에서 U.urealyticum의 증식곡선은 균집중 6시간과 12시간 후에 균수가 각각 10^{11} /ml로 극기 정지기에 달하였다가, 18시간 후에는 10^{10} /ml로 사멸되기 시작하여 24시간 후에는 10^3 /ml로 대수 사멸기였으며, 30시간 후에는 10^1 /ml로 감소되었으나 균이 완전히 사멸되지는 않았다. Estrogen이 0.06ng/ml와 0.6ng/ml 농도로 함유된 10-B배지에서 이 균의 증식곡선은 균집중 6시간과 12시간 후에는 대조군과

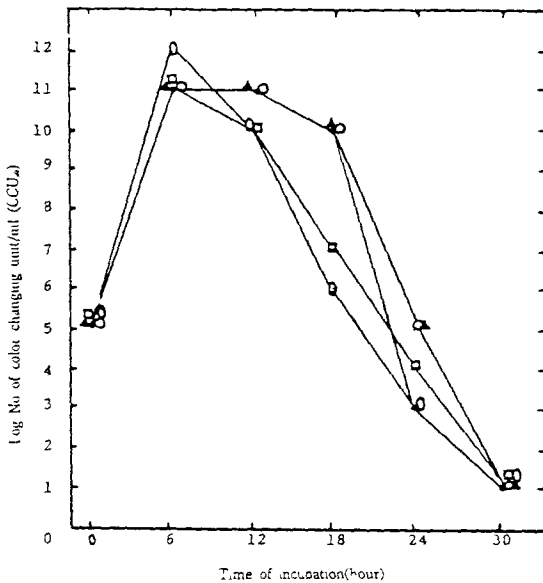


Fig. 1. Effect of estrogen on the growth of U urealyticum in ureaplasma broth

—○—, control.
—▲—, 0.06 ng/ml.
—□—, 6.0 ng/ml.
—◇—, 60.0 ng/ml.

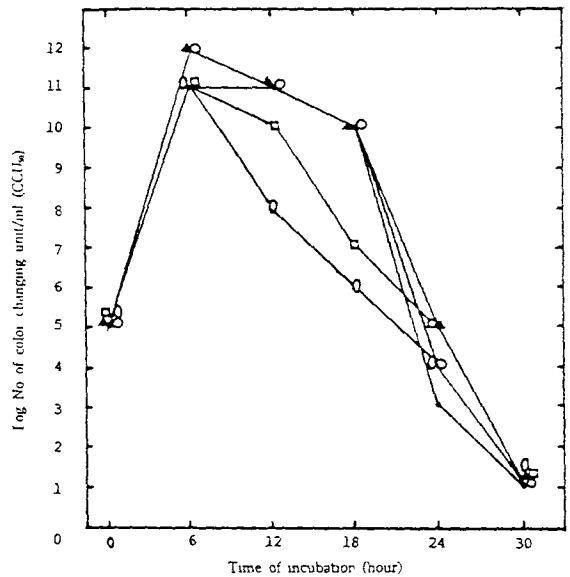


Fig. 2. Effect of progesterone on the growth of U urealyticum in ureaplasma broth

—○—, control.
—▲—, 0.1 ng/ml.
—□—, 10.0 ng/ml.
—◇—, 100.0 ng/ml.

같이 균수가 각각 $10^{11}/\text{ml}$ 로 극기정지기에 달하였다가, 18시간 후에는 각각 $10^{10}/\text{ml}$ 로 사멸되기 시작하여 24시간 후에는 균수가 각각 $10^1/\text{ml}$ 로 감소하였다. Estrogen이 $6.0\text{ ng}/\text{ml}$ 농도로 함유된 경우에는 6시간 후에는 대조군과 같이 $10^{11}/\text{ml}$ 로 극기 정지기에 달하였다가, 12시간 후에는 $10^{10}/\text{ml}$ 로 사멸하기 시작하여 18시간 후에는 $10^7/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 대수사멸기가 현저하게 촉진되었으나 24시간 후에는 10^4 로 감소하였고 30시간 후에는 $10^1/\text{ml}$ 로 대조군과 같았다. Estrogen이 $60.0\text{ ng}/\text{ml}$ 농도로 함유된 경우에는 6시간 후 $10^{12}/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 증식이 촉진되었으며 12시간 후에는 $10^{10}/\text{ml}$ 로 사멸되기 시작하여, 18시간 후에는 $10^7/\text{ml}$ 로 사멸하였고, 30시간후에는 $10^1/\text{ml}$ 로 대조군과 같았다.

Progesterone이 각 농도로 함유된 10-B배지에서 U. urealyticum의 증식곡선은 그림 2와 같다.

Progesterone이 $0.1\text{ ng}/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 증식이 촉진되어 극기정지기에 달하였다가, 12시간과 18시간 후에 각각 $10^{12}/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 증식이 촉진되어 극기정지기에 달하였으며, 12시간과 18시간 후에 각각 $10^{11}/\text{ml}$ 와 $10^{10}/\text{ml}$ 로 사멸되기 시작하여 24시간 후에는 각각 $10^4/\text{ml}$ 와 $10^5/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 대수사멸기가 지연되었으나, 30시간 후에는 $10^1/\text{ml}$ 로 대조군과 같았다. Progesterone이 $10.0\text{ ng}/\text{ml}$ 농도로 함유된 경우에는 6시간 후에는 대조군과 같이 $10^{11}/\text{ml}$ 로 극기정지기에 달하였다가, 12시간에는 $10^{10}/\text{ml}$ 로 사멸되기 시작하여 18시간에는 $10^7/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 현저히 대수 사멸기가 촉진되었으나, 24시간에는 $10^5/\text{ml}$ 로 감소하였고 30시간에는 $10^1/\text{ml}$ 로 대조군과 같았다. Progesterone이 $100.0\text{ ng}/\text{ml}$ 농도로 함유된 경우에는 6시간에 $10^{11}/\text{ml}$ 로 대조군과 같이 극기정지에 달하였다가 12시간에는 $10^8/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 현저하게 대수사

멸기가 촉진되었으며, 18시간과 24시간에 각각 $10^6/\text{ml}$ 와 $10^4/\text{ml}$ 로 감소하였고, 30시간에는 $10^1/\text{ml}$ 로 대조군과 같았다.

2) MEM배지에서 *U. urealyticum*의 증식에 미치는 호르몬의 영향: Estrogen이 각 농도로 함유된 MEM배지에서 *U. urealyticum*의 증식 곡선은 그림 3과 같다.

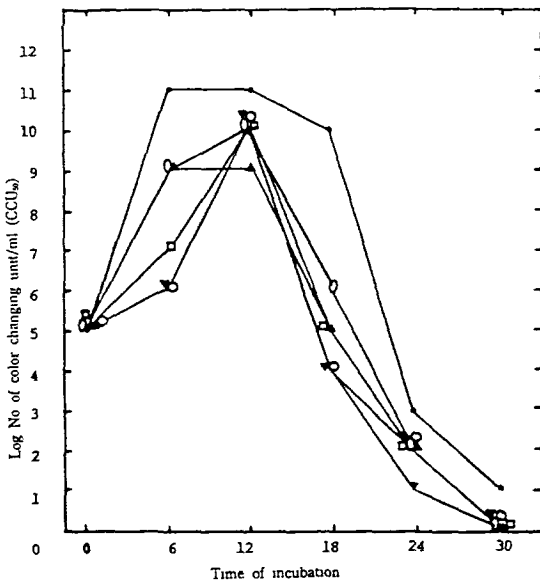


Fig. 3. Effect of estrogen on the growth of *U. urealyticum* in MEM medium

—, Ureaplasma broth .
 —, 0.06ng/ml .
 —, 0.6ng/ml .
 —, 60.0ng/ml .
 —, control ;
 —, 0.6ng/ml .
 —, 60.0ng/ml .

Estrogen이 함유되지 않은 MEM배지 대조군에서 이 균의 증식곡선은 6시간 후에 균수가 $10^9/\text{ml}$ 로 대수증식기였으며, 12시간에는 $10^{10}/\text{ml}$ 로 극기정지기에 달하였다가 18시간에는 $10^6/\text{ml}$ 로 대수사멸기가 되었으며, 24시간 후에는 $10^2/\text{ml}$ 로 감소하여 30시간에는 균이 완전히 사멸하였다. MEM배지에 estrogen이 0.06ng/ml농도로 함유된 경우에 이 균의 증식곡선은 균집종 6시간과 12시간 후에 각각 $10^9/\text{ml}$ 로 극기정지기를 이루다가 18시간과 24시간 후에는 각각 $10^5/\text{ml}$ 와 $10^2/\text{ml}$ 로 감소하여 30시간에는 균이 완전히 사멸하였다. Estrogen이

0.6ng/ml농도로 함유된 경우에는 6시간 후에 균수가 $10^7/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 증식이 억제되어 대수증식기가 지연되었으며, 12시간에는 $10^{10}/\text{ml}$ 로 극기정지기에 달하였다가 18시간에는 $10^5/\text{ml}$ 로 감소되었으며, 24시간에는 $10^2/\text{ml}$ 로 대조군보다 사멸이 촉진되었으며, 30시간에는 완전히 사멸하였다. Estrogen이 6.0ng/ml와 60.0ng/ml농도로 함유된 경우에는 6시간 후에 균수가 각각 $10^6/\text{ml}$ 로 증식이 억제되었으며, 12시간에는 각각 $10^{10}/\text{ml}$ 로 대조군과 같이 극기정지에 도달하여 대수증식기가 지연되었고, 18시간에는 각각 $10^4/\text{ml}$ 로 대조군에 비해 대수 사멸기가 촉진되었으며, 24시간에는 각각 $10^2/\text{ml}$ 와 $10^1/\text{ml}$ 로 감소하여, 30시간에는 모두 사멸하였다.

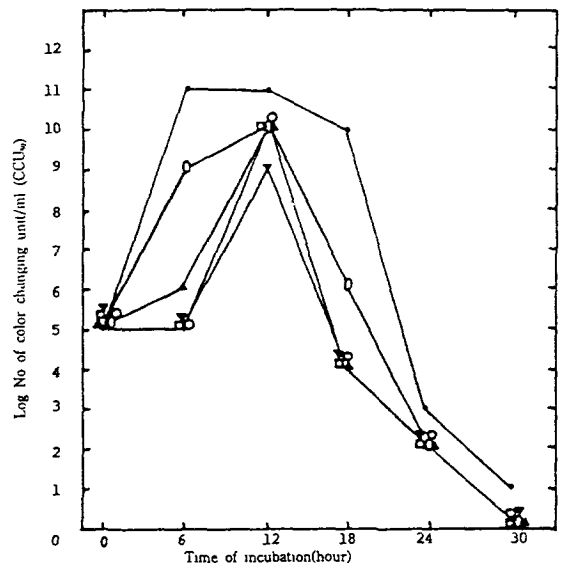


Fig. 4. Effect of progesterone of the growth of *U. urealyticum* in MEM medium

—, Ureaplasma broth .
 —, 0.1ng/ml .
 —, 1.0ng/ml .
 —, 100.0ng/ml .
 —, control ;
 —, 1.0ng/ml ;
 —, 100.0ng/ml .

Progesterone이 각 농도로 함유된 MEM배지에서 *U. urealyticum*의 증식곡선은 그림 4와 같다.

Progesterone이 0.1ng/ml 농도로 함유된

MEM배지에서 이 균의 증식은 6시간에 $10^6/\text{ml}$ 로 증식이 억제되었다가 12시간에 $10^{10}/\text{ml}$ 로 극기정지기에 달하여 대수증식기가 지연되었으며, 18시간에는 $10^4/\text{ml}$ 로 대수사멸기가 촉진되었고, 24시간에는 $10^2/\text{ml}$ 로 감소하였다가 30시간에 균이 완전히 사멸되었다. Progesterone이 $1.0\text{ng}/\text{ml}$ 와 $10.0\text{ng}/\text{ml}$ 농도로 함유된 경우에 6시간 후에 균수는 각각 $10^5/\text{ml}$ 로 증식이 억제되어 균의 증식이 일어나지 않았으며, 12시간 후에 각각 $10^{10}/\text{ml}$ 로 대조군과 같은 극기 정지기에 달하여 대수증식기가 지연되었고, 18시간 후에는 각각 $10^4/\text{ml}$ 로 대수사멸기가 촉진되었으며, 24시간에는 $10^2/\text{ml}$ 로 감소하였다가 30시간에는 균이 모두 사멸하였다. Progesterone이 $100.0\text{ng}/\text{ml}$ 농도로 함유된 경우에 6시간 후에 균수가 $10^5/\text{ml}$ 로 균의 증식이 일어나지 않았으며, 12시간 후에는 $10^6/\text{ml}$ 로 대조군 보다 낮기는 하였으나 극기정지기에 달하였다가 18시간에는 $10^2/\text{ml}$ 로 감소하였다가 30시간에는 모두 사멸하였다.

3) FL세포 배양계에서 estrogen이 U. urealyticum의 증식과 세포 부착성에 미치는 영향 : Estrogen이 각 농도로 함유된 FL세포배양계에서 U. urealyticum의 배양상층액과 세포에 부착된 균의 수를 관찰한 결과는 그림 5와 같다.

FL세포세포 배양계에 호르몬을 첨가하지 않은 대조군의 배양 상층액에서 U. urealyticum의 증식곡선은 6시간 후에 균수가 $10^6/\text{ml}$ 로 증식이 일어나지 않았으며, 12시간과 18시간에 각각 $10^7/\text{ml}$ 로 극기 정지기에 달하였다가 24시간에는 $10^6/\text{ml}$ 로 사멸되기 시작하여 30시간에는 $10^4/\text{ml}$ 로 대수 사멸기였으며, 48시간에는 균이 모두 사멸하였다. Estrogen이 $0.06\text{ng}/\text{ml}$ 농도로 함유된 FL세포배양계의 상층액에서 6시간 후에 $10^7/\text{ml}$ 로 증식이 촉진되었다가 12시간에 $10^5/\text{ml}$ 로 감소하였고, 18시간과 24시간에는 각각 $10^6/\text{ml}$, 30시간에 $10^4/\text{ml}$ 로 대수 사멸기가 되어 48시간에는 균이 모두 사멸하였다.

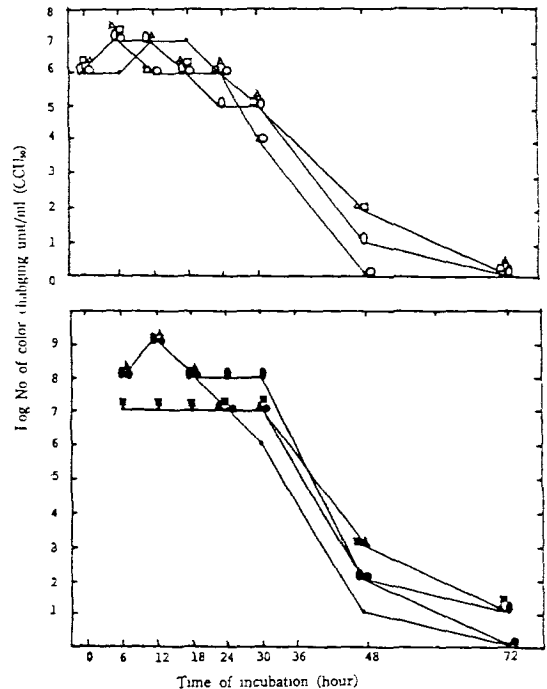


Fig. 5. Effect of estrogen on the growth of U. urealyticum in FL Cell culture system

—, control of supernatant
○, 0.06ng/ml, □, 0.6ng/ml
△, 6.0ng/ml, ▽, 60.0ng/ml
—, control of adhered ureaplasma
○, 0.06ng/ml, □, 0.6ng/ml
△, 6.0ng/ml, ▽, 60.0ng/ml

Estrogen이 각각 $0.6\text{ng}/\text{ml}$ 와 $6.0\text{ng}/\text{ml}$ 농도로 함유된 FL세포배양계의 상층액에서 6시간과 12시간 후에 균수는 각각 $10^7/\text{ml}$ 로 대조군 보다 빨리 극기정지기에 달하였다가 18시간과 24시간에는 각각 $10^6/\text{ml}$ 와 $10^4/\text{ml}$ 로 감소하였으며, 30시간에는 각각 $10^5/\text{ml}$ 로 감소하였고, 48시간에 각각 $10^1/\text{ml}$ 와 $10^2/\text{ml}$ 로 감소하여 72시간에는 균이 모두 사멸하였다.

FL세포배양계의 세포에 부착된 U. urealyticum의 균수는 estrogen이 함유되지 않은 대조군에서 6시간에서 24시간 동안은 $10^7/\text{ml}$ 로 유지되었다가 30시간에 $10^6/\text{ml}$ 로 감소하였고, 48시간에는 $10^1/\text{ml}$ 로 감소하였으며, 72시간에는 세포에 부착된 균도 모두 사멸하였다.

Estrogen이 $0.06\text{ng}/\text{ml}$ 함유된 FL세포배양

계에서 세포에 부착된 *U. urealyticum*의 군수는 6시간에 10^6 /ml로 대조군에서 보다 현저히 많았으며, 12시간과 18시간에 각각 10^6 /ml로 유지되어 대조군 보다 많았으며, 24시간과 30시간에는 각각 10^7 /ml로 대조군과 같았으며, 48시간에는 대조군과 같이 10^1 /ml로 감소하였다가 72시간에는 대조군과 같이 부착된 군도 모두 사멸하였다.

Estrogen이 0.6ng/ml 농도로 함유된 FL세포 배양계에서 세포에 부착된 *U. urealyticum*은 6시간에 10^6 /ml로 최고치에 달하였다가 12시간에서 30시간까지는 각각 10^6 /ml로 대조군보다 많았으며, 48시간에는 10^3 /ml로 감소하였고, 72시간에는 10^1 /ml로 감소하였으나, 대조군과는 달리 부착된 군이 완전히 사멸되지는 않았다. Estrogen이 6.0ng/ml 농도로 함유된 경우에 6시간에서 18시간 사이에서는 각각 10^6 /ml - 10^9 /ml로 대조군에서보다 많았으며, 24시간과 30시간에 각각 10^7 /ml로 대조군과 같았고, 48시간에 10^3 /ml로 감소되었고, 72시간에는 10^1 /ml로 감소되었으나 부착된 군이 완전히 사멸되지는 않았다. Estrogen이 60.0ng/ml로 함유된 경우에 6시간에서 30시간까지는 군수가 10^6 /ml로 유지되다가 48시간에 10^3 /ml, 72시간에 10^1 /ml로 감소하였으나 군이 완전히 사멸되지는 않았다.

4) FL세포배양계에서 progesterone 이 *U. urealyticum*의 증식과 세포부착성에 미치는 영향 : progesterone이 각 농도를 함유된 FL세포배양계에서 *U. urealyticum*의 증식과 세포부착성을 관찰한 결과는 그림 6과 같다.

Progesterone이 0.1ng/ml 농도로 함유된 FL세포배양계의 상층액에서 이 군의 증식곡선은 6시간 후에 10^7 /ml로 대조군에 비하여 증식이 촉진되었으나, 12시간에서 24시간까지는 10^6 /ml로 대조군에서 보다 증식이 억제되었으며, 30시간까지는 10^4 /ml로 감소되기 시작하여 48시간에는 10^2 /ml로 감소하였으며, 72시간에 군이 완전히 사멸하여 대조군에 비하여 사멸 기간이 지연되었다.

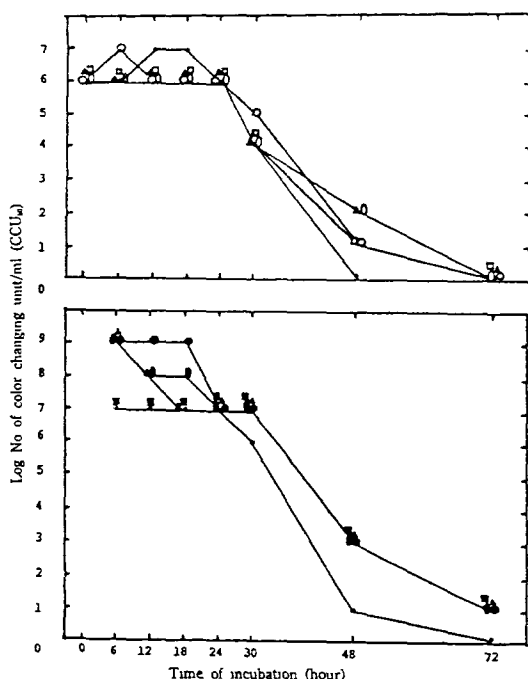


Fig. 6. Effect of progesterone on the growth of *U. urealyticum* in FL cell culture system.

○ control of supernatant
○ 0.1ng/ml;
○ 10.0ng/ml;
○ control of adhered ureaplasma
○ 0.1ng/ml;
○ 10.0ng/ml;
○ 1.0ng/ml;
○ 100.0ng/ml

Progesterone이 1.0ng/ml, 10.0ng/ml 및 100.0ng/ml 농도로 함유된 FL세포배양계의 상층액에서 이 군의 증식은 6시간에서 24시간까지는 각각 10^6 /ml로 군의 증식이 없었으며, 30시간에 각각 10^6 /ml로 감소되기 시작하여 48시간에 각각 10^3 /ml와 10^2 /ml로 감소하여 72시간에는 군이 완전히 사멸하였으나 대조군에 비하여 사멸기간이 지연되었다. Progesterone이 0.1ng/ml로 함유된 FL세포배양계에서 세포에 부착된 *U. urealyticum*의 군수는 6시간에서 18시간까지는 10^6 /ml로 대조군에서 보다 현저히 많았으며, 24시간과 30시간에는 각각 10^7 /ml로 대조군과 같았고, 48시간에는 10^3 /ml로 감소하였으나 대조군 보다는 군수가 많았으며, 72시간에는 10^1 /ml로 세포에 부착된 군이 완전히 사멸되지는 않았다. Progesterone

이 1.0ng/ml와 10.0ng/ml 농도로 함유된 FL세포배양계에서 세포에 부착된 U. urealyticum의 균수는 6시간 후에 각각 10^6 /ml로 대조군에서 보다 현저히 많았으며 12시간과 18시간에는 각각 10^6 /ml와 10^7 /ml로 대조군 보다 많았으며, 24시간과 30시간에는 대조군과 같이 10/ml를 유지하다가 48시간에 10^3 /ml, 72시간에 10^1 /ml로 감소하였으나, 세포에 부착된 세균은 완전히 사멸되지 않았다. Progesterone이 100.0ng/ml 농도로 함유된 FL세포배양계에서 세포에 부착된 U. urealyticum의 균수는 6시간에서 30시간까지는 각각 10^7 /ml로 유지하다가 48시간에 10^3 /ml로 감소하여 72시간에는 10^1 /ml로 감소하였으나 세포에 부착된 균은 완전히 사멸되지 않았다.

고 찰

U. urealyticum의 비노생식기계에서 감염율은 보고자나 인종이나 사회 경제적 환경 등에 따라 많은 차이를 나타내고 있다^{7,19}. 여성의 비노생식기계에서 U. urealyticum의 감염은 임신부에서 높으며 이는 여성생식호르몬이 크게 관여될 수 있을 것이라고 Mardh등²³이 보고한 바 있다. 이후 임신부에서 U. urealyticum의 감염율이 정상에서 보다 높다는 보고^{8,16,19,23}와 정상인에서의 감염율과 차이가 없다고 보고^{6,14,27}가 있어 여성생식호르몬과 U. urealyticum의 감염율과의 관계는 명확히 규명되지 않고 있다.

생체내에서 여성생식호르몬이 mycoplasma의 감염에 미치는 영향을 규명하기 위하여 Furr¹⁰은 progesterone을 투여한 마우스에서 M. pulmonis의 감염이 증가되었으며, 감염기간도 연장되었다고 보고한 바 있다. 한편 Iwasaka¹⁷ 등은 estrogen을 투여한 마우스에서는 U. urealyticum의 감염이 증가되었으나 progesterone 투여마우스에서는 U. urealyticum의 감염에 영향이 없었다고 보고하였다. 이는 균종에 따라 이들 홀몬의 영향이 다르게

나타난다는 것을 보여 주는 결과라 하겠다.

시험관내에서 이들 여성생식호르몬이 U. urealyticum의 증식에 직접적인 영향을 줄 수 있는지를 확인하기 위한 저자의 실험결과에서는 U. urealyticum의 증균배지인 10-B배지에 estrogen이 6.0ng/ml, 60.0ng/ml, progesterone이 10.0ng/ml와 100.0ng/ml 농도로 함유된 경우에 6시간 이후에 U. urealyticum의 증식이 현저히 억제된 것으로 미루어 보아 시험관내에서는 estrogen과 progesterone이 사람의 혈중의 최고농도 이상에서 U. urealyticum의 증식을 억제할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 세포배양용인 MEM배지에서는 estrogen이 0.1ng/ml, 1.0ng/ml, 100.0ng/ml 농도에서 모두 U. urealyticum 증식이 억제되었으나 이는 MEM배지 자체가 U. urealyticum의 증식용 배지가 아니고, 세포배양용 배지이므로 U. urealyticum의 증식에 적합하지 않음을 보여 주는 결과라 하겠다. 따라서 이 결과만으로 10-B배지에서 보다 MEM배지에서 이들 홀몬이 U. urealyticum의 증식억제 효과가 크다고 볼 수는 없을 것으로 사료된다.

FL세포배양계의 배양상층액에서 U. urealyticum의 증식은 estrogen이 각 농도로 함유된 경우 배양 초기인 6시간에는 증식이 촉진되었으나, 이후부터는 증식이 다소 억제되었으며, 48시간 이후의 사멸기가 지연된 것으로 미루어 증식된 균이 세포에 부착되며, 세포에 부착되었던 U. urealyticum이 배양상층액내로 유리되어나온 결과가 아닌가 추정된다.

한편 FL세포에 부착된 U. urealyticum은 estrogen 각 농도에서 부착성이 증가되었으며, estrogen이 0.6ng/ml와 6.0ng/ml, 60.0ng/ml 농도에서는 U. urealyticum의 사멸이 지연되었다. 이는 U. urealyticum의 세포 부착성이 증가되며 부착된 U. urealyticum은 지속적으로 유지되고 있음을 시사하여 주고 있다고 하겠다. 이와같은 저자의 성적은 Iwasaka¹⁷ 등의 마우스에서의 결과와 같이 FL세포배양계에 estrogen투여가 U. urealyticum의 부

착성을 증가시키고 부착된 균은 더 지속적으로 생존하는 결과라고 사료된다.

FL세포 배양계의 배양상층액에 progesterone이 각 농도로 함유된 경우 30시간까지는 증식이 억제되었으나 48시간 이후의 사멸기가 지연되었으며, 이는 세포에 부착된 *U. urealyticum*가 유리되어 나오는 것으로 사료된다. Progesterone의 투여로 FL세포에 부착된 *U. urealyticum*의 수가 증가되며 사멸기도 지연되는 것으로 추정된다. 이는 Iwasaka²⁶⁾ 등의 마우스에서의 결과와는 상반되는 결과이다. 그러나 Baker¹⁾등과 Tuffrey³⁷⁾ 등의 실험결과 및 Iwasaka¹⁶⁾ 등의 결과를 비교검토 할때 저자의 결과에서와 같이 *U. urealyticum*의 증식과 FL세포부착성이 progesterone에 의해 증가된다는 할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 이 문제는 앞으로 다른 동물실험이나 다른 세포 배양계에서 추시되어야 할 것으로 사료된다.

저자의 시험관내의 FL세포배양계에서의 실험 결과는 Iwasaka⁷⁾의 쥐에서의 결과와는 달리 estrogen과 progesterone이 사람의 정상혈중농도로 첨가되었을 때 모두가 균의 세포부착성을 증가시키며, 사멸기를 지연시키는 것으로 미루어 보아 사람에게도 이들 호르몬의 혈중농도가 증가되는 임신부 등에서 *U. urealyticum*의 감염이 증가되는 것과 일치되는 결과라고 사료되나 체내에서는 여러가지 요인이 관여 될 것으로 사료되어 이 문제는 앞으로 더 많은 추시가 있어야 할 것으로 사료된다.

요 약

Estrogen(0.06, 0.6, 6.0, 60.0ng/ml)과 progesterone(0.1, 1.0, 10.0, 100.0ng/ml)이 각 농도로 함유된 10-B배지나 MEM배지 및 FL세포배양계에서 *U. urealyticum*의 증식과 세포부착성에 미치는 이들 호르몬의 영향을 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 10-B배지에서 estrogen이 0.06ng/ml,

progesterone이 0.1ng/ml와 1.0ng/ml농도로 함유되었을때 *U. urealyticum*의 증식에는 영향이 없었다.

2. 10-B배지에 estrogen이 6.0ng/ml와 60.6ng/ml, progesterone이 10.0ng/ml와 100.0ng/ml농도로 함유되었을 때 6시간 이후부터 *U. urealyticum*의 증식이 억제되어 대수사멸기가 촉진되었다.

3. MEM배지에 estrogen이 0.06ng/ml와 0.6ng/ml농도로 함유되었을때 *U. urealyticum*의 증식에 영향이 없었으나, estrogen이 6.0ng/ml와 60.0ng/ml 및 progesterone이 0.1ng/ml, 1.0ng/ml, 10.0ng/ml, 100.0ng/ml 농도로 함유되었을 때 6-12시간 사이에 *U. urealyticum*의 증식이 억제되어 대수증식기가 지연되었으나 사멸기에는 영향이 없었다.

4. FL세포배양계에 estrogen이 0.6ng/ml, 6.0ng/ml, 60.0ng/ml농도로 함유되었을 때 배양상층액에서 *U. urealyticum*의 사멸기가 지연되었으며, FL세포에 부착된 *U. urealyticum*의 수가 증가되었으며 사멸기도 지연되었다.

5. FL세포배양계에 progesterone이 0.1ng/ml, 1.0ng/ml, 10.0ng/ml 및 100.0ng/ml 농도로 함유되었을 때 배양상층액에서 6-24시간 사이에서는 *U. urealyticum*의 증식이 억제되었으나 이후의 사멸기는 지연되었으며, FL세포에 부착된 *U. urealyticum*의 균 수도 증가하였으며, 사멸기도 지연되었다. 이상의 결과로 미루어 보면 세포가 없는 시험관내의 10-B배지나 MEM배지에 estrogen과 progesterone이 사람의 최대혈중농도로 첨가되면 *U. urealyticum*의 증식이 억제되나, FL세포 배양계에서는 이들 호르몬의 투여가 *U. urealyticum*의 증식을 촉진시키며 세포 세포 부착성을 증가시키는 것으로 사료된다. 따라서 사람에서도 이들 호르몬이 이 균의 감염율에 영향을 줄 수 있는 요인으로 될 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Baker DA, Plotkin SA : Enhancement of vaginal infection in mice by Herpes simplex virus type 2 with progesterone Proceeding of the Society of Experimental Biology and Medicine 158 : 131~134 1978
2. Black FT, Rasmussen DC : Occurrence of T-strain and other mycoplasmas in nongonococcal urethritis Brit J Vener Dis 44 : 324~330, 1968
3. Braun P, Lee YH, Klein JO, Marcy SM, Klein TA, Charles D, Levery P, Kass EH : Birth weight and genital mycoplasmas in pregnancy New Engl J Med 284 : 167~171, 1971
4. Braun P, Besdine R : Tuboovarian abscess with recovery of T-mycoplasma Amer J Obstet Gynecol. III : 1102~1106, 1971
5. Caspi E, Herezeg E, Solomon F, Sompinsky D : Amnionitis and T-strain mycoplasma Amer J Obstet Gynecol III : 1102~1106, 1971
6. Chang MW : Study of urogenital mycoplasmas Med J Hiroshima Univ 34 : 433~442, 1986
8. Csonka GW, Williams REO, Coese J : T-strain mycoplasma in nongonococcal urethritis Lancet 1 : 1292~1295, 1966
9. Deroot LJ, Cahil GF, Odell WD, Martin L, Potts JT, Nelson DH, Steinberger E, Winegard A : Endocrinology New York Gurr & Stratton 1979, pp 1401~1417
10. Desai S, Cohen MS, Khatamee M, Leiter E : Ureaplasma urealyticum (T-mycoplasma) infection : does it have a role in male infertility? J Urol 124 : 469~471 1980
11. Ford KD, Duverniet ME : Genital strains of human pleuropneumonia like organisms Brit J Vener dis 39 : 18~20, 1963
12. Fowler W, Leeming RJ : T-strain mycoplasma in nongonococcal urethritis Brit J Vener Dis 45 : 287~293 1969
13. Furr PM, Taylor-Robinson D : Enhancement of experimental Mycoplasma pulmonis infection of the mouse genital tract by progesterone treatment J Hyg Camb 92 : 139~144, 1984
14. Gnärpe H, Friberg J : Mycoplasma and human reproductive failure Am J Obstet Gynecol 114 : 727~731 1972.
15. Hammerschlag MR, Alpert S, Rosner I : Microbiology of the vagina in children : normal and potentially pathogenic organisms Pediatrics 62 : 57~62 1978
16. Iwasaka T, Wada T, Kidera Y, Sugimori H : Hormonal status and mycoplasma colonization in the female genital tract Obstet Gynecol 68 : 263~266, 1986
17. Iwasaka T, Wada T, Sugimori H : Enhancement of colonization of U. urealyticum in mouse genital tract by estrogen treatment Amer. J Obstet Gynecol 155 : 11 241127, 1986
18. Jansson E, Lassus A, Stubb S, Tuuri S : Studies on T-strain mycoplasma in nongonococcal urethritis Brit J Vener Dis 47 : 122~125 1971

19. Kamamoto Y. : Studies on genital mycoplasma. 1 Isolation of mycoplasmas from pregnant woman and neonates Med J Hiroshima Univ 33 : 415~422, 1985.
20. Kato N, Shimizu Y, Kawada Y, Nishiura T : Isolations of Ureaplasma urealyticum from Japanese patients with nongonococcal urethritis. 4th Intern Cong of IOM, Tokyo. 1982 pp 79.
21. Kundsın RB : The role of mycoplasmas in humn reproductive failure. Ann. N.Y. Acad. Sci 174 : 794~797, 1970.
22. Lee YGH, McCormack WM, Marcy SM : The genital mycoplasmas : their role in disorders of reproduction and in pediatric infections Pediat. Clin North Am 21 : 457~466, 1974
23. Mardh PA, Westrom L : T-mycoplasma in genitourinary tract of the female Acta Pathol Microbiol Scand(B). 78 : 367~374, 1970
24. McCormack WM, Almeida PC, Bailey Pe : Sexual activity and vaginal colonization with genital mycoplasmas JAMA. 221 : 1375~1377, 1972
25. McCormack WM, : Lee TH, Zinner SH : Sexual experience and urethral colonization with genital mycoplasmas : a study in normal men. Ann Intern Med 78 : 69~698, 1973
26. McDonald MI, Lam MH, Birch DF, D'Arcy AF, Fairley KF, Pavillard ER : Ureaplasma urealyticum in patient with acute symptoms of urinary tract infection J Urol 128 : 517~519, 1982
27. O'Leary WM, Frick, T : The correlation of human male infertility with the presence of mycoplasma T-strain. Androloga 7 : 309~316, 1975
28. Russo JF, Coppola K, Funes G : Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum and Corynebacterium genitalium recovered from the lower genital tracts of adolescent women Int J. Gynecol Obstet 19 : 461~466, 1981.
29. Shepard MC : The recovery of pleuropneumonia like organisms from nongonococcal urthritis. Amer J Syph. Gonorr, Venereal Dis 38 : 113~124, 1954
30. Shepard MC : Recovery, propagation and characteristics of T-strain PPLO isolated from human cases of nongonococcal urethritis Ann NY Acad Sci. 79 : 397~402, 1960.
31. Shepard MC, Alexander CE, Lunceford CD, Campbell PE : Possible rold of T-strain mycoplasma in nongonococcal urethritis. A sixth Venereal disease. Amer. J Med Ass 188 : 729~735, 1964.
32. Shepard MC, Lunceford CD : Serological typing of Ureaplasma urealyticum isolated from urethritis patients by an agar growth inhibition method J. Clin Microbiol 8 : 566~574, 1978
33. Sompolinsky S, Solomon F, Leiba H, Capsi E, Lewinsohn G, Almog C : Puerperal sepsis due to T-strain mycoplasma. Israel J Med. Sci 7 : 745~748, 1971
34. Stemke GW, Robertson JA : Comperison of two methods for enumeration of mycoplasma J Clin Microbiol. 16 : 959~963, 1982
35. Taylor-Robinson D, McCormack WM : The genital mycoplasmas (First of

- two parts) New Engl J Med 302 : 1063. 1980
36. Taylor-Robinson D. McCormack WM :
The genital mycoplasmas (Second of
two parts) New Engl J Med 302 :
1063. 1980
37. Tuffrey M. Taylor-Robinson D : Prog-
esterone as a key factor in the de-
velopement of a mouse model for
genital infection with Chlamydia
trachomatis. FEMS Microbiology
Letters 12 : 111~115. 1981
-