

*Ureaplasma urealyticum*과 *Staphylococcus aureus*에 감작된 마우스 복강 대식세포의 탐식능의 변화

고신대학 의학부 미생물학교실

유경식·장명웅

Phagocytic Activity of Mouse Peritoneal Macrophages Sensitized with *Ureaplasma* *urealyticum* or *Staphylococcus aureus*

Gyung Sig Yoo, Myung Woong Chang

Department of Microbiology
Kosin Medical College, Pusan 602-702, Korea

= Abstract =

Several investigators have reported that mycoplasmas might activate macrophages, but some other investigators do not agree with this view. Furthermore, the interaction between ureaplasmas and macrophages has not been studied previously.

The phagocytic activities of mice peritoneal macrophages activated with *Ureaplasma urealyticum*(*U. urealyticum*) or *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*) have been compared by calculating *Candida albicans*(*C. albicans*) uptake. At same time, hematological changes of peripheral white blood cells in *U. urealyticum* or *S. aureus* infected mice were examined.

The results are :

1. The phagocytic activities of peritoneal macrophages infected 1 - 4 times with *U. urealyticum* or *S. aureus* were augmented for 72 hours. But, after 96 hours, the phagocytic activities of *U. urealyticum* activated macrophages were decreased, and the phagocytic activities of *S. aureus* activated macrophages were increased.
2. The number of peritoneal cells infected 1 - 4 times with *U.*

- urealyticum* or *S. aureus* were increased after 24 hours, but continuously decreased during 48 – 96 hours.
3. The phagocytic activities of peritoneal macrophages, against *C. albicans*, activated by *U. urealyticum* or *S. aureus* showed the highest activity in 2 – 3 hours.
 4. The number of polymorphonuclear leukocytes in peripheral blood of *U. urealyticum* or *S. aureus* infected mice were increased during 24 – 72 hours or 24 – 96 hours, respectively.
 5. The number of white blood cells in peripheral blood infected by *U. urealyticum* were variable during 24 – 96 hours. However, the number of white blood cells in peripheral blood by *S. aureus* were continuously increased during 24 – 96 hours.

서 론

대식세포는 골수에서 유래하여 간, 비장, 흉막, 복막 등의 조직에 광범위하게 분포하는 특수화된 탐식세포로, 총체적으로 단핵 탐식세포계(Mononuclear phagocyte system)로 알려졌다^{28, 35)}. 1884년 Metchnikoff가 척추동물의 단핵세포가 이물질을 탐식하는 현상을 발견한 이래 이 세포에 대한 관심이 크게 증가하게 되었다. 그후 복강에서 미생물의 제거는 복강 내의 대식세포의 탐식작용에 의한 것이라고 보고되었다^{30, 43)}. 대식세포의 활성화는 세균, 곰팡이, 기생충감염 뿐만 아니라 사균과 그들의 추출물에 의한 숙주반응으로 인식되며^{10), 19)}, 근래에는 바이러스 항원에 의해서도 활성화된다고 보고되었다^{22, 29)}.

*Mycoplasma pulmonis*는 지속적인 호흡기 질환을 유발하며 마우스에서 관절염을 유발하여, 이 두 질환의 조직학적 특징은 염증삼출물에 다핵 백혈구와 대식세포가 주된 구성원이라고 보고되었다^{18, 38)}. *Mycoplasma pneumoniae* 감염시 다핵백혈구와 대식세포가 염증삼출물에 축적되고^{8, 44)}, 감염이 진행되는 동안 대식세포는 크기가 증가하고 불규칙한 형태로

되며, 90%가 acid phosphatase를 포함하는 대식세포의 활성화를 보고하였다^{5, 7)}. Silica는 대식세포에 해로운 물질이며, 복강 내에 silica를 주입했을 경우, 복강 내의 대식세포가 mycoplasmas를 제거하는 작용이 억제된다고 보고되었다^{3, 17, 45)}. *M. pneumoniae*, *M. neurolyticum*, *M. gallisepticum*은 사람의 백혈구에 부착되면 즉시 탐식된다고 보고되었다⁴⁶⁾. 이와 대조적으로 마우스 복강 대식세포가 mycoplasmas를 탐식할 때는 opsonins 물질이 필요하다고 보고하고 있다^{4, 14, 15, 16)}. 그러나 최근에 다핵 백혈구가 풍부한 복강내 삼출물에서는 *M. pulmonis*의 탐식은 증가되지 않았지만, 대식세포가 풍부한 복강내 삼출물에서 *M. pulmonis*는 급속히 사멸한다고 보고되었다¹²⁾. *M. arginini*와 *M. pulmonis* 감염시 마우스 복강 내 대식세포는 세포독성 능력을 획득하였으며, 활성화된 대식세포의 항균능력이 증가되었다고 Hibbs 등이¹⁰⁾ 보고하였다. Talyor 등의 *M. pulmonis* 감염시 마우스 복강 대식세포는 가수분해 효소인 β -glucuronidase 등은 분비가 증가한다고 보고하였다³⁷⁾. 이와 대조적으로 Simberkoff 등은³³⁾ *M. arthritis* 감염시 사람 다핵백혈구의 *E. coli* 탐식기능은 억제되고, Thom-

sen 등은³⁹⁾ *M. arthritidis*, *M. hominis* 감염시 다핵백혈구의 탐식기능은 감소되고, Howard 등은¹²⁾ *M. bovis*, *M. dispar* 감염시 소 다핵백혈구의 *E. coli* 탐식능이 억제된다고 보고하였다. 반면 Taylor 등은³⁶⁾ 항체에 의해서 면역세포의 탐식기능이 증가된다고 보고하였다. 따라서 다핵백혈구나 대식세포의 mycoplasmas 탐식기전에 관해서 명확히 밝혀지지 못하고 있다. 숙주의 방어기전에 중요한 요인이 되는 대식세포나 다핵백혈구의 수적증가나 활성도는 미생물의 종류에 따라 크게 다른 것으로 보고하고 있다.

Ureaplasmas는 mycoplasmas와는 세포막의 구성 성분에 차이가 있으므로 항원적으로 차이가 있음에도 불구하고, mycoplasmas 감염과 대식세포와의 상호관계는 많이 보고되어 왔으나, ureaplasmas 감염시 대식세포의 탐식기능의 변화에 대해서는 구체적으로 보고된 문헌을 접하기 힘들었다.

이에 본 연구에서는 만성감염을 일으키는 *U. urealyticum*과 급성감염을 일으키는 *S. aureus*의 감염시 복강내 대식세포의 탐식능의 변화와 혈액에서의 백혈구의 수적변화를 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1. 사용균주 및 배지

Ureaplasma urealyticum T960 균주는 Canada의 Albert대학의 Robertson교수로 부터 분양받은 균주를 증균배지인 10-B³⁰⁾에 18시간 배양후 15,000rpm에서 30분간 원심분리하여 phoshpate buffered saline(PBS) 1ml에 1×10^{12} color changing unit(CCU)³⁴⁾로 농축시킨 균액을 사용하였다.

Staphylococcus aureus ATCC 63389균주는 nutrient broth(DIFCO)에 24시간 배양후 3,000rpm에서 30분간 원심분리하여 PBS 1ml에

1×10^7 colony forming unit(CFU)로 농축시킨 균액을 사용하였다.

Candida albicans(*C. Albicans*) ATCC 10231 균주는 nutrient broth에 72시간 배양 후 3,000rpm에서 30분간 원심분리하여 PBS 1ml에 1×10^6 CFU 농축시킨 균액을 탐식능을 관찰하기 위한 표적균으로 사용하였다.

대식세포의 배양을 위한 RPMI-1640(GIFCO)배지는 RPMI-1640 기초배지 1ℓ를 여과 멸균하고, 여기에 소태아 혈청:100ml, L-glutamine(GIFCO:29.23mg/ml):1ml, amphotercin-B(GIFCO:10,000mcg/ml):1ml, streptomycin(GIFCO:10,000mcg/ml), penicillin(GIFCO:10,000u/ml)1ml를 첨가한 완전배지를 만들어 사용하였다.

2. 사용동물

표준사료로 사육한 생후 6~8주령의 ICR마우스(암컷:25~25g) 150마리를 실험동물로 사용하였다.

2. 방법

1. 균액접종

U. urealyticum(1×10^{12} CCU) 및 *S. aureus*(1×10^7 CFU)균액 1ml씩을 각각 30마리 마우스 복강 내에 24시간 간격으로 1회, 2회, 3회, 4회 접종하였다. 각 균액접종균별은 Table과 같다.

2. 복강대식세포의 탐식능

각각의 균액을 1회 접종한 후 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 각 시간별로 5마리의 마우스 복부를 절개, RPMI-1640 완전배지 5~6ml로 마우스 복강을 3회 씻어서 그 세척액을 보았다. 이 세척액을 1,000rpm에서 10분동안 원심분리하여 복강세포를 분리하고, 멸균증류수로 처리하여 RBC를 제거하여, 3회 씻은 다음 RPMI-1640 배지 5ml에 부유시켰다. 이 세포부유액의 일부를 0.25% trypan blue로 염색하여 hemocytometer를 이용해서 광학현미경으로 복강세포 수를 산출하였다.

Table. Scheme of Experimental Groups.

Administration Times of Micorbes	Havesting Hours of Whole Blood Cells and Peritoneal Macrophages	Hours of Observation for Phagocytic Activity	Number of Sacrified Mice
1	24	0	5
		0.5	5
		1	5
		2	5
		3	5
		4	5
2, 3, 4.	48, 72, 96	same as above	

복강세포 수를 산출한 다음 RPMI-1640 완전 배지로 1ml에 1×10^5 세포농도가 되도록 조정하여 24well의 세포배양 용기에 각각 1ml씩 분주하였다. 이를 37°C, CO₂부란기에 3시간 배양하여 대식세포를 착상시켰다. 부착되지 않은 세포는 PBS로 3회 씻어버리고, 새로운 RPMI-1640 완전배지 1ml를 첨가하였다. 각 well에 *C. albicans*가 대식세포와 2:1로 희석된 균액 0.1ml를 첨가하였다. 균액 첨가후 30분, 1시간, 2시간, 3시간, 4시간 배양한 후 각 well을 PBS로 3회 씻고, methanol로 고정, wright 염색 후 도립현미경으로 200개의 대식세포를 관찰해서 탐식율을 산출하였다.

탐식율=(탐색한 대식세포수/200)×100

3. 혈액에서의 백혈구의 변화

각각의 균액을 접종한 다음 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 각 시간별로 마우스 경동맥에서 혈액을 EDTA(1~2mg/ml)를 포함한 용기에 채취하여 잘 혼합한 다음 coulter counter(S-plus4)로 백혈구 수를 3회 계산하여

그 평균치를 산출하였다. 백혈구의 감별백분율은 채취한 혈액을 슬라이드에 도말 건조시킨 다음 wright염색을 시행하여 광학현미경으로 100개의 백혈구를 관찰하여 다핵 백혈구 수를 백분율로 표시하였다.

결 과

1. 복강대식세포의 탐식능

U. urealyticum 균액 1ml을 마우스 복강 내에 1,2,3,4회 주입한 후 24시간 후에 분리된 복강 대식세포의 *C. albicans*에 대한 탐식율의 변화는 Figure 1과 같다.

U. urealyticum 균액 1ml을 마우스 복강 내에 1회 주입한 24시간 후 복강 대식세포의 탐식율은 *C. albicans* 접촉 30분, 1, 2, 3, 4시간 후에 각각 37.50%, 39.85%, 42.65%, 41.15%, 41.35%로 대조군에서 보다 통계학적으로 유의성있게 증가하였다. *U. urealyticum*을 2회 접종한 후의 탐식능도 각각 38.50%, 44.

00%, 50.85%, 49.50%로 대조군 보다 유의성있게 높았다. *U. urealyticum*을 3회 접종한 후에도 각각 43.35%, 52.00%, 61.35%, 54.35%, 49.50%로 대조군보다 높았다. *U. urealyticum*을 4회 접종한 후에도 각각 37.65%, 38.35%, 43.15%, 42.65%로 대조군보다 높았으나 *U. urealyticum*을 2,3회 접종한 경우에서 보다는 낮았다. *U. urealyticum* 접종 24시간 후 대식세포의 탐식능은 이 균액을 3회 접종하고, 탐식표적균의 접촉 2~3시간 후에 가장 왕성한 탐식작용을 나타내었다.

*U. urealyticum*균액 1ml을 마우스 복강내에 1,2,3,4, 회 주입한 후 48시간 후에 분리된 복강대식 세포의 *C. albicans*에 대한 탐식율의 변화는 Figure 2와 같다.

U. urealyticum 균액 1ml을 마우스 복강 내에 1회 주입한 후 48시간 후 분리된 복강 대식 세포의 *C. albicans* 접촉 30분, 1,2,3,4시간 후에 각각 38.15%, 42.50%, 47.85%, 47.85%, 44.65%로 대조군에서보다 통계학적으로 유의성있게 증가하였다. *U. urealyticum*을 2회 접종한 후의 경우에도 각각 42.35%, 45.

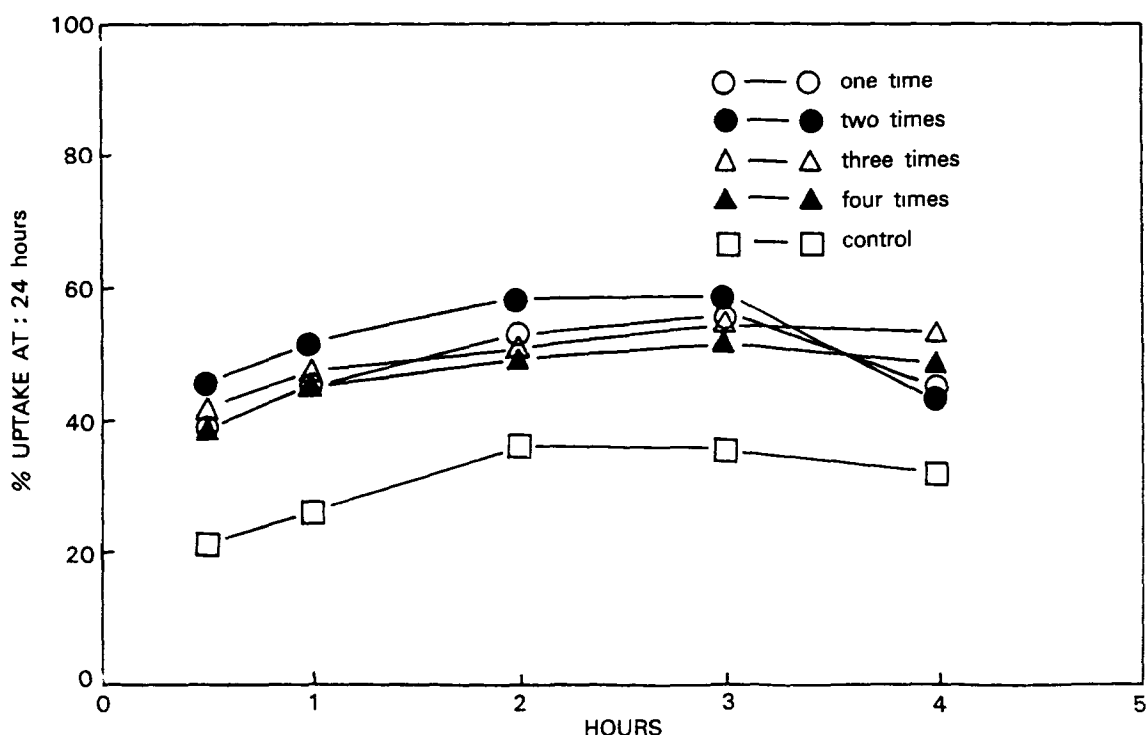


Fig. 1. The percentage of uptake of *C. albicans* by macrophage after injection of *Ureaplasma urealyticum*

A total 1×10^6 macrophages per well were infected with *C. albicans* between 1/2 and 4 hours (○—○) 1 time injection, (●—●) 2 times in jection, (△—△) 3 times injection, (▲—▲) 4 times injection, (□—□) controls. Data are expressed as average of three independent observation.

00%, 51.85%, 54.50%, 50.50%로 대조군보다 유의성있게 높았으며, *U. urealyticum*을 3회 접종한 후에도 각각 47.35%, 51.35%, 54.85%, 58.85%, 52.50%로 대조군보다 높았으며 *U. urealyticum*을 4회 접종한 후에도 각각 37.50%, 38.35%, 43.15%, 47.50%, 42.65%로 대조군보다는 높았으나 *U. urealyticum*을 2,3회 접종한 경우보다는 낮았다. *U. urealyticum*접종 48시간 후의 복강대식세포의 탐식능은 *U. urealyticum*을 3회 접종하고, 탐식표적균의, 접촉3시간 후에 가장 왕성한 탐식작용

을 나타내었다.

*U. urealyticum*균액 1ml을 마우스 복강 내에 1,2,3,4회 주입한 후 72시간 후에 분리된 복강 대식세포의 *C. albicans*에 대한 탐식율의 변화는 Figure 3과 같다.

*U. urealyticum*균액 1ml을 마우스 복강 내에 1회 주입한 72시간 후 복강 대식세포의 탐식율은 *C. albicans* 접촉 30분, 1,2,3,4시간 후에 각각 41.15%, 46.50%, 49.85%, 52.35%, 49.65%로 대조군에서보다 통계학적으로 유의성있게 증가하였다. *U. urealyticum*을 2회 접

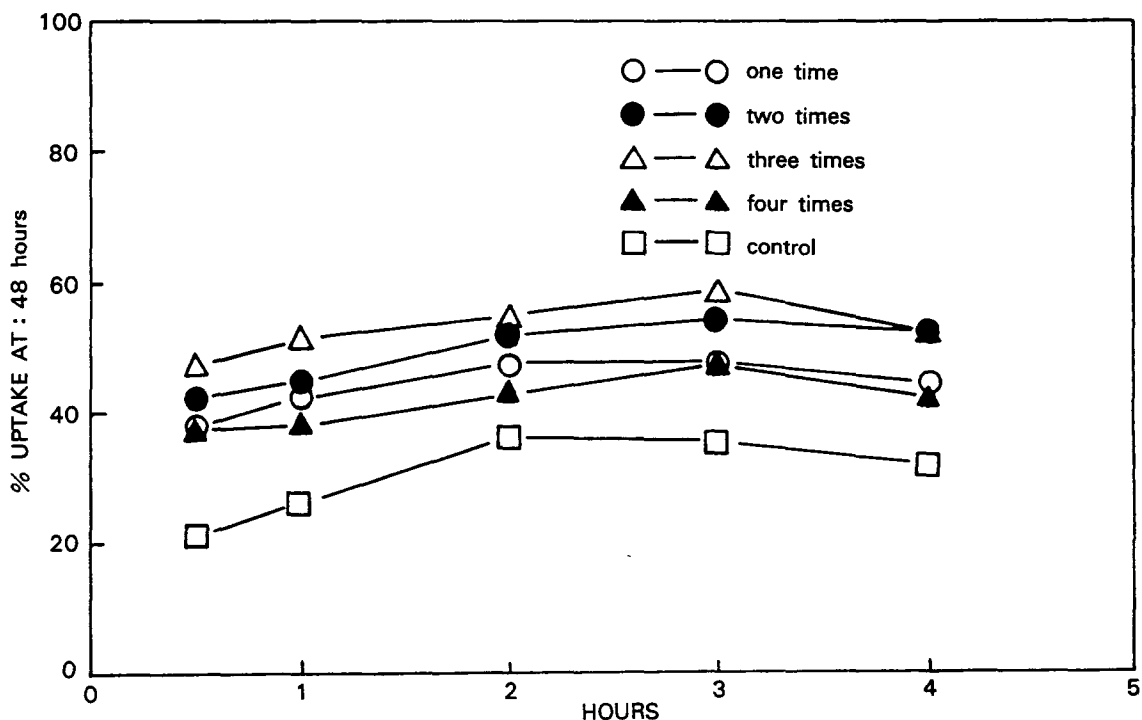


Fig. 2. The percentage of uptake of *C. albicans* by macrophage after injection of *Ureaplasma urealyticum*

A total 1×10^5 macrophages per well were infected with *C. albicans* between 1/2 and 4 hours (○—○). 1 time injection, (●—●) 2 times in jection, (△—△) 3 times injection, (▲—▲) 4 times injection, (□—□) controls. Datas are expressed as average of three independent observation

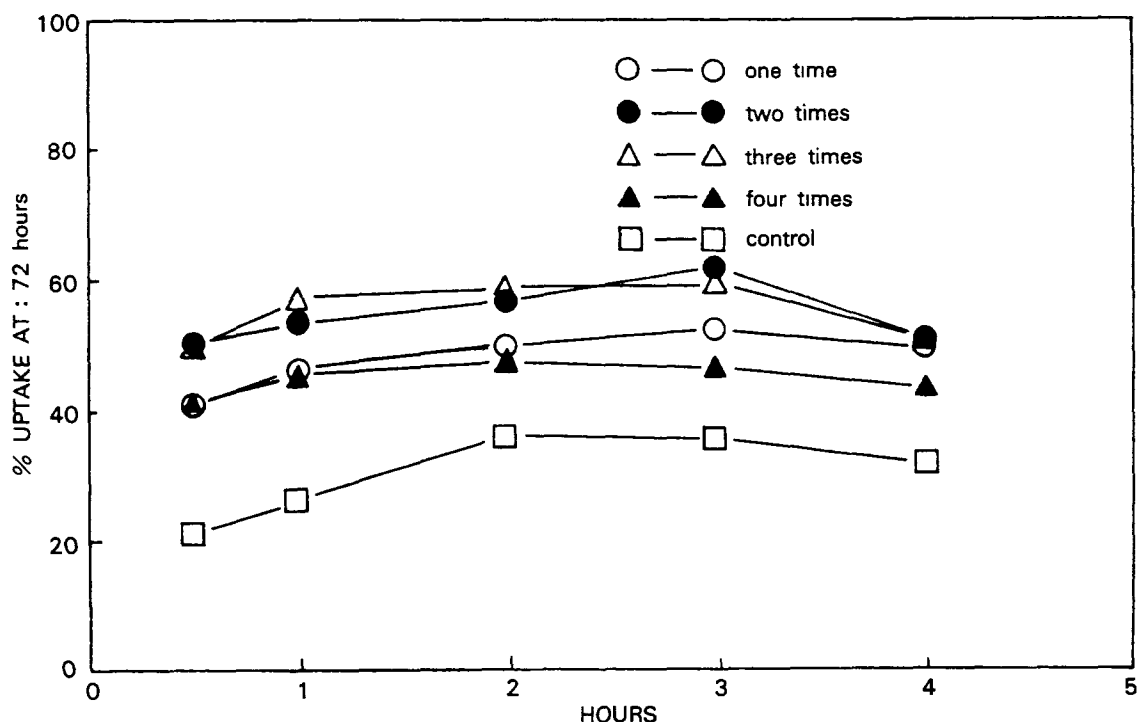


Fig. 3. The percentage of uptake of *C. albicans* by macrophage after injection of *Ureaplasma urealyticum*

A total 1×10^6 macrophages per well were infected with *C. albicans* between 1/2 and 4 hours. (○—○) 1 time injection, (●—●) 2 times in jection, (△—△) 3 times injection, (▲—▲) 4 times injection, (□—□) controls. Data are expressed as average of three independent observation

종한 후의 경우에도 각각 50.35%, 53.50%, 56.85%, 61.85%, 51.15%로 대조군보다 높았으며, *U. urealyticum*을 3회 접종한 후에도 각각 49.35%, 57.00%, 58.85%, 59.35%, 51.15%로 대조군보다 높았으며, *U. urealyticum*을 4회 접종한 후에도 각각 41.50%, 45.50%, 47.35%, 46.50%, 43.65%로 대조군보다 높았다. *U. urealyticum* 접종 72시간 후의 복강대식세포의 탐식능은 *U. urealyticum*을 2회 접종하고, 탐식표적균의 접촉 3시간 후에 가장 높은 탐식작용을 나타내었다.

*U. urealyticum*균액 1ml을 마우스 복강 내에

1, 2, 3, 4회 주입한 후 96시간 후에 분리된 복강 대식세포의 *C. albicans*에 대한 탐식율의 변화는 Figure 4와 같다.

*U. urealyticum*균액 1ml을 마우스 복강 내에 1회 주입한 96시간 후 복강 대식세포의 탐식율은 *C. albicans*접촉 30분, 1, 2, 3, 4시간 후에 각각 40.00%, 41.85%, 43.30%, 42.30%, 40.05%로 대조군에서 보다 유의성있게 높았다. *U. urealyticum*을 2회 접종한 후의 경우에도 각각 44.00%, 41.85%, 43.30%, 42.30%, 40.05%로 대조군보다 높았으며 *U. urealyticum*을 3회 접종한 경우에도 각각 40.15%,

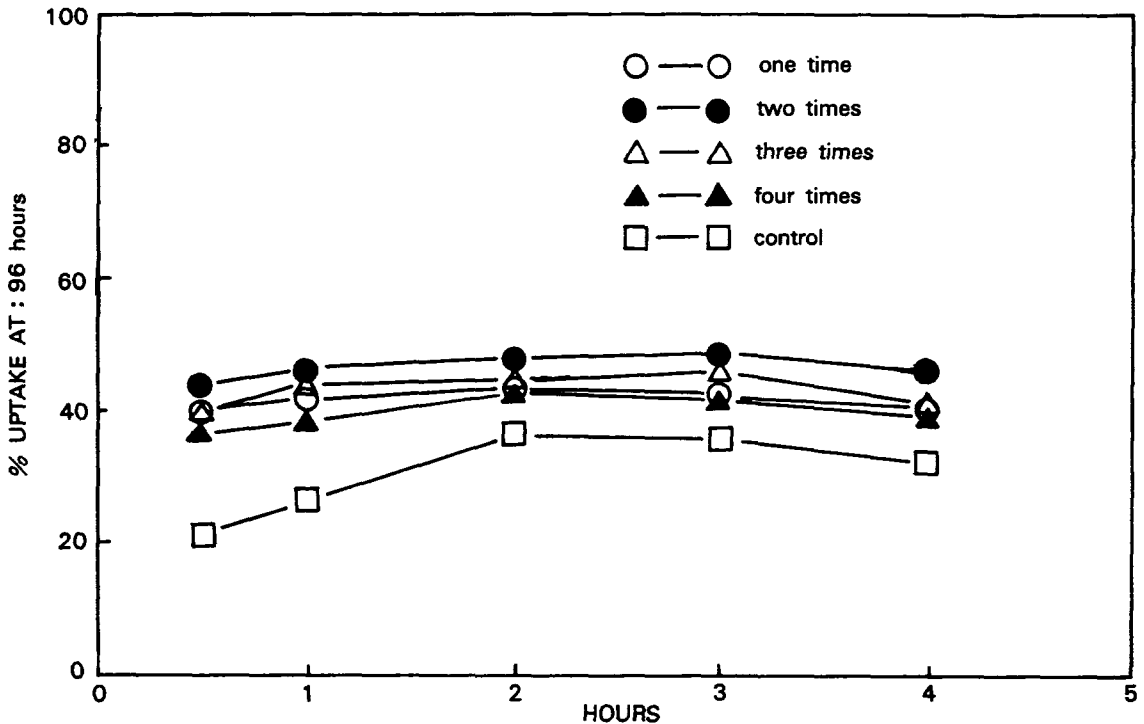


Fig. 4. The percentage of uptake of *C. albicans* by macrophage after injection of *Ureaplasma urealyticum*

A total 1×10^6 macrophages per well were infected with *C. albicans* between 1/2 and 4 hours. (○—○): 1 time injection, (●—●): 2 times injection, (△—△): 3 times injection, (▲—▲): 4 times injection, (□—□): controls. Datas are expressed as average of three independent observation.

44.00%, 44.85%, 46.00%, 41.00%로 대조군보다 높았으며, *U. urealyticum*을 4회 접종한 후에도 각각 36.85%, 38.50%, 42.65%, 41.65%, 39.00%로 대조군보다 높았다. *U. urealyticum*접종 96시간 후의 복강 대식세포의 탐식능은 *U. urealyticum*을 2회 접종하고 탐식 표적균의 접촉 3시간 후에 가장 높은 탐식작용을 나타내었다.

S. aureus 균액 1ml을 마우스 복강 내에 1, 2, 3, 4, 회 주입한 후 24시간 후에 복강대식세포의 *C. albicans*에 대한 탐식율의 변화는 Figure 5와 같다.

S. aureus 균액 1ml을 마우스 복강 내에 1회

주입한 24시간 후 복강대식세포의 탐식율은 *C. albicans* 접촉 30분, 1, 2, 3, 4시간 후에 각각 39.00%, 45.33%, 53.00%, 55.67%, 45.00%로 대조군에서 보다 통계학적으로 유의성 있게 증가하였다. *S. aureus*을 2회 접종한 후의 경우에도 각각 45.67%, 51.67%, 58.33%, 58.67%, 43.33%로 대조군보다 유의성 있게 높았으며, *S. aureus*을 3회 접종한 후에도 각각 42.00%, 47.33%, 51.00%, 54.67%, 53.33%로 대조군보다 높았다. *S. aureus*을 4회 접종한 후에도 각각 39.00%, 45.33%, 49.33%, 51.67%, 48.67%로 대조군보다는 높았으나 *S. aureus*을 2, 3회 접종한 경우보다 낮았

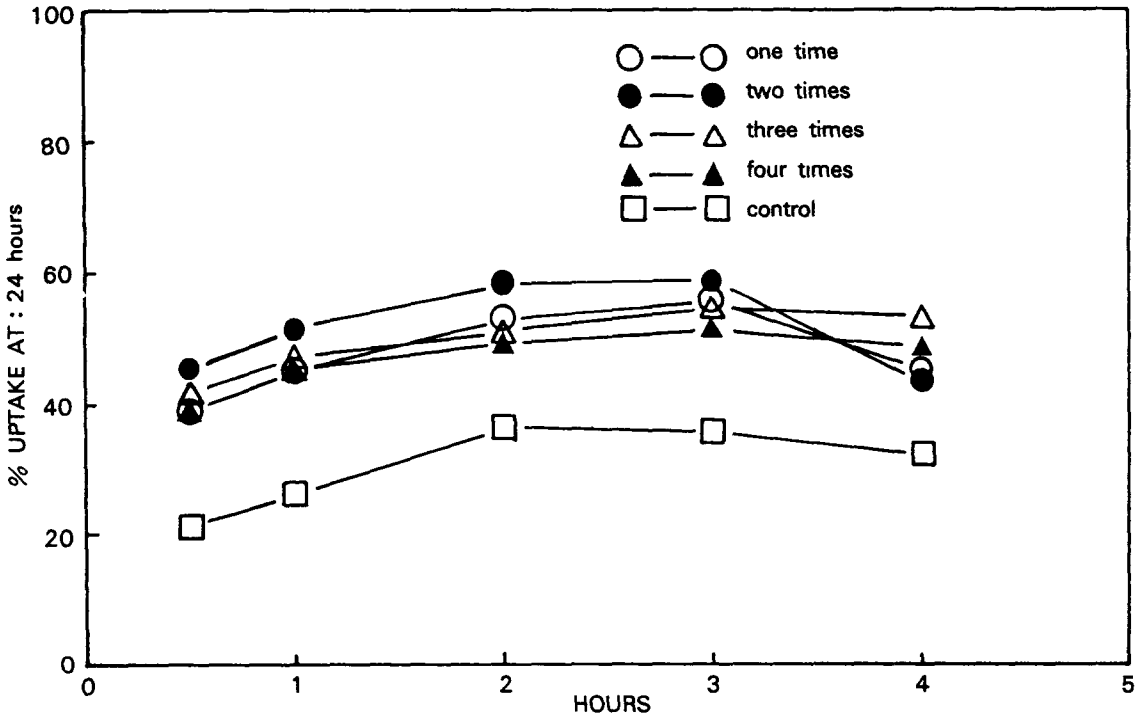


Fig. 5. The percentage of uptake of *C. albicans* by macrophage after injection of *Staphylococcus aureus*

A total 1×10^6 macrophages per well were infected with *C. albicans* between 1/2 and 4 hours. (○—○) 1 time injection, (●—●) 2 times injection, (△—△) 3 times injection, (▲—▲) 4 times injection, (□—□) controls. Data are expressed as average of three independent observation.

다. *S. aureus* 접종 24시간 후 대식세포의 탐식능은 *S. aureus*을 2회 접종하고, 탐식표적균의 접촉 2~3시간 후에 가장 왕성한 탐식작용을 나타내었다.

S. aureus 균액 1ml을 마우스 복강내에 1, 2, 3, 4회 주입한 후 48시간 후에 복강대식세포의 *C. albicans*에 대한 탐식율의 변화는 Figure 6과 같다.

S. aureus 균액 1ml 마우스 복강 내에 1회 주입한 48시간 후 복강 대식세포의 탐식율은 *S. aureus* 접촉 30분, 1, 2, 3, 4시간 후에 각각 41.35%, 50.00%, 53.33%, 58.67%, 51.00%로 대조군에서보다 통계학적으로 유의성있게 증

가하였다. *S. aureus*을 2회 접종한 후의 경우에도 43.67%, 54.67%, 63.33%, 60.00%, 54.33%로 대조군보다 유의성있게 높았으며 *S. aureus*을 3회 접종한 후에도 각각 40.33%, 43.67%, 49.67%, 52.33%, 51.33%로 대조군보다 높았다. *S. aureus*을 4회 접종한 후에도 각각 41.67%, 49.00%, 52.33%, 54.33%, 50.67%로 대조군보다는 높았으나 *S. aureus*을 2, 3, 회 접종한 경우보다는 낮았다. *S. aureus* 접종 48시간 후 대식세포의 탐식능은 *S. aureus*을 2회 접종하고, 탐식표적균의 접촉 2~3시간 후에 가장 왕성한 탐식작용을 나타내었다.

*S. aureus*균액 1ml을 마우스 복강내에 1, 2, 3, 4회 주입한 후 72시간 후에 복강대식세포의 *C. albicans*에 대한 탐식율의 변화는 Figure 7과 같다.

*S. aureus*균액 1ml을 마우스 복강 내에 1회 주입한 72시간 후 복강 대식세포의 탐식율은 *C. albicans*접촉 30분, 1, 2, 3, 4시간 후에 각각 42.33%, 49.67%, 47.33%, 47.33%, 39.33%로 대조군에서 보다 통계학적으로 유의성있게 증가하였다. *S. aureus*을 2회 접종한 후의 경우에도 각각 47.00%, 52.00%, 58.67%, 61.00%, 56.33%로 대조군보다 유의성있게 높았

으며 *S. aureus*을 3회 접종한 후에도 각각 45.33%, 47.33%, 54.67%, 55.67%, 48.33%로 대조군보다 높았다. *S. aureus*을 4회 접종한 후에도 각각 44.33%, 48.67%, 52.33%, 54.33%, 45.00%로 대조군보다는 높았으나, *S. aureus*을 2, 3회 접종한 경우보다도 낮았다. *S. aureus* 접종 72시간 후 대식세포의 탐식능은 *S. aureus*을 2회 접종하고 탐식표적균의 접촉 2~3시간 후에 가장 왕성한 탐식작용을 나타내었다.

*S. aureus*균액 1ml을 마우스 복강 내에 1, 2, 3, 4회 주입한 96시간 후에 복강대식세포의 *C.*

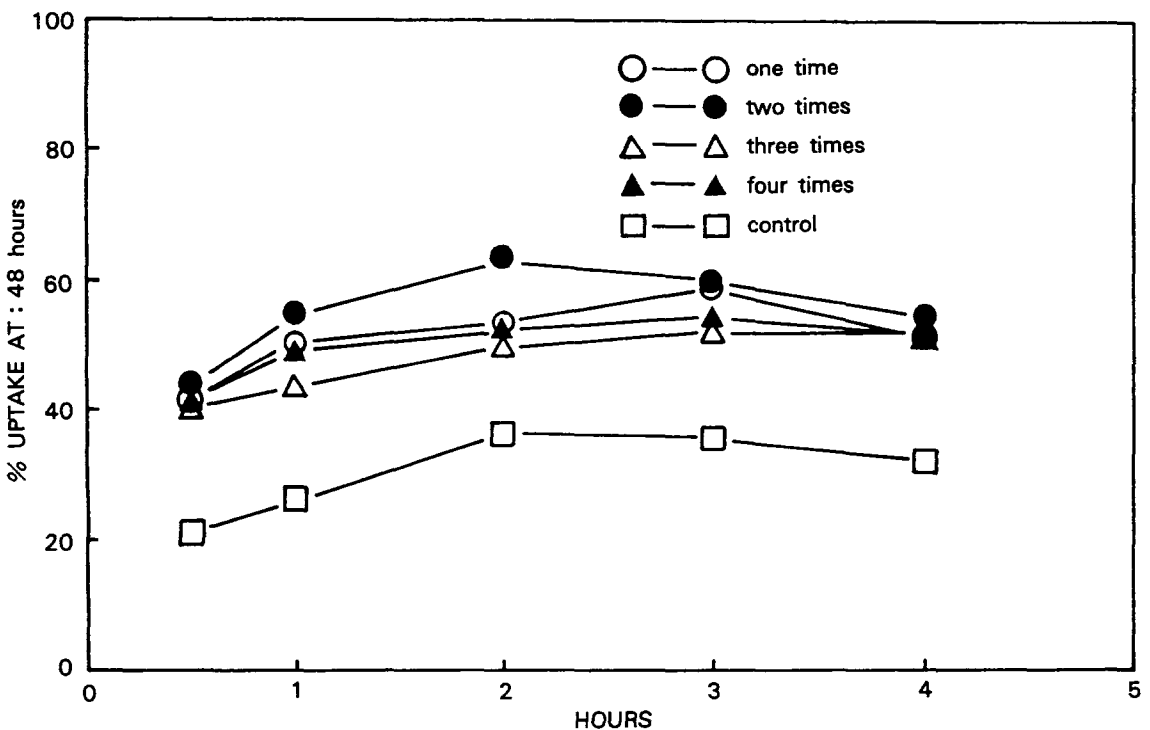


Fig. 6. The percentage of uptake of *C. albicans* by macrophage after injection of *Staphylococcus aureus*

A total 1×10^6 macrophages per well were infected with *C. albicans* between 1/2 and 4 hours. (○—○) 1 time injection, (●—●) 2 times in jection, (△—△): 3 times injection, (▲—▲) 4 times injection, (□—□) controls Datas are expressed as average of three independent observation.

*albicans*에 대한 탐식율의 변화는 Figure 8과 같다.

*S. aureus*균액 1ml을 마우스 복강 내에 1회 주입한 96시간 후 복강 대식세포의 탐식율은 *C. albicans*접촉 30분, 1, 2, 3, 4시간 후에 각각 39.33%, 44.67%, 45.33%, 47.00%, 39.67%로 대조군에서 보다 통계학적으로 유의성있게 증가하였다. *S. aureus*을 2회 접종한 후의 경우에도 각각 44.00%, 50.00%, 52.33%, 55.67%, 50.33%로 대조군보다 유의성있게 높았으며, *S. aureus*을 3회 접종한 후에도 각각 41.67%, 47.33%, 52.00%, 55.33%, 51.33%

로 대조군보다 높았다. *S. aureus*을 4회 접종한 후에도 각각 45.67%, 47.67%, 52.33%, 57.00%, 50.67%로 대조군보다는 높았으나 *S. aureus*을 2, 3회 접종한 경우보다는 낮았다. *S. aureus* 접종 96시간 후 대식세포의 탐식능은 균액을 2회 접종하고, 탐식표적균의 접촉 2~3시간 후에 가장 왕성한 탐식작용을 나타내었다.

2. 복강세포수의 변화

*U. urealyticum*균액 1ml을 마우스 복강 내에 1, 2, 3, 4회 주입한 후의 복강세포 수의 변화는

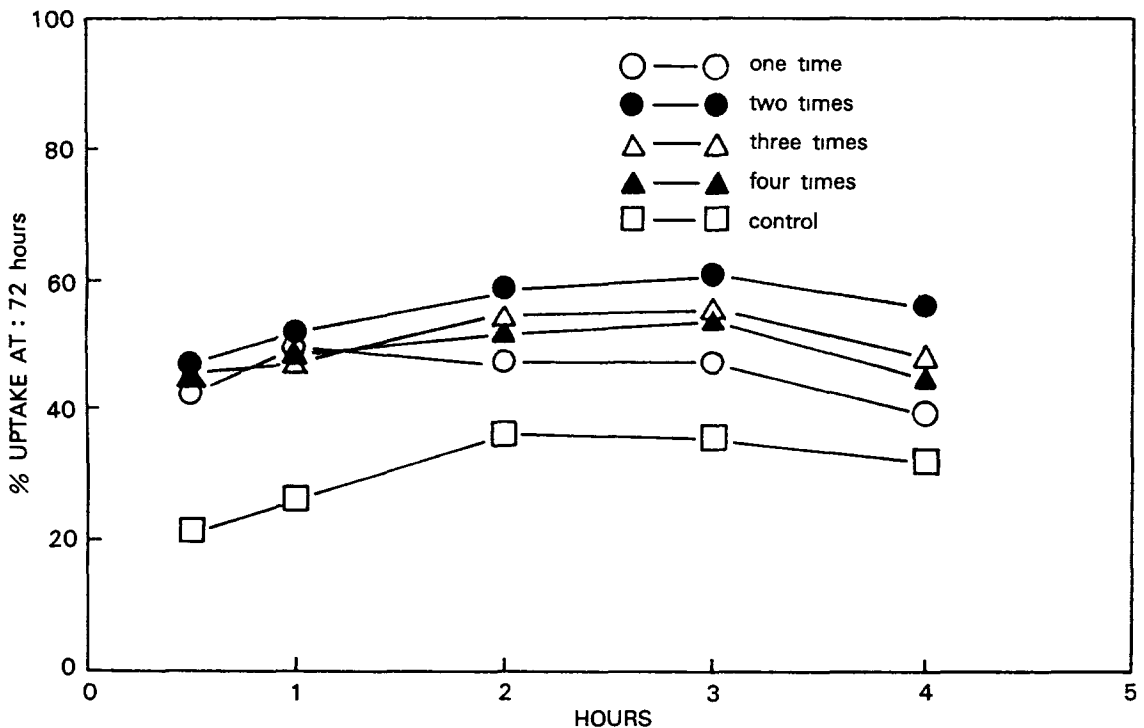


Fig. 7. The percentage of uptake of *C. albicans* by macrophage after injection of *Staphylococcus aureus*

A total 1×10^5 macrophages per well were infected with *C. albicans* between 1/2 and 4 hours (○—○) 1 time injection, (●—●) 2 times in jection, (△—△) 3 times injection, (▲—▲) 4 times injection, (□—□) controls Datas are expressed as average of three independent absservation

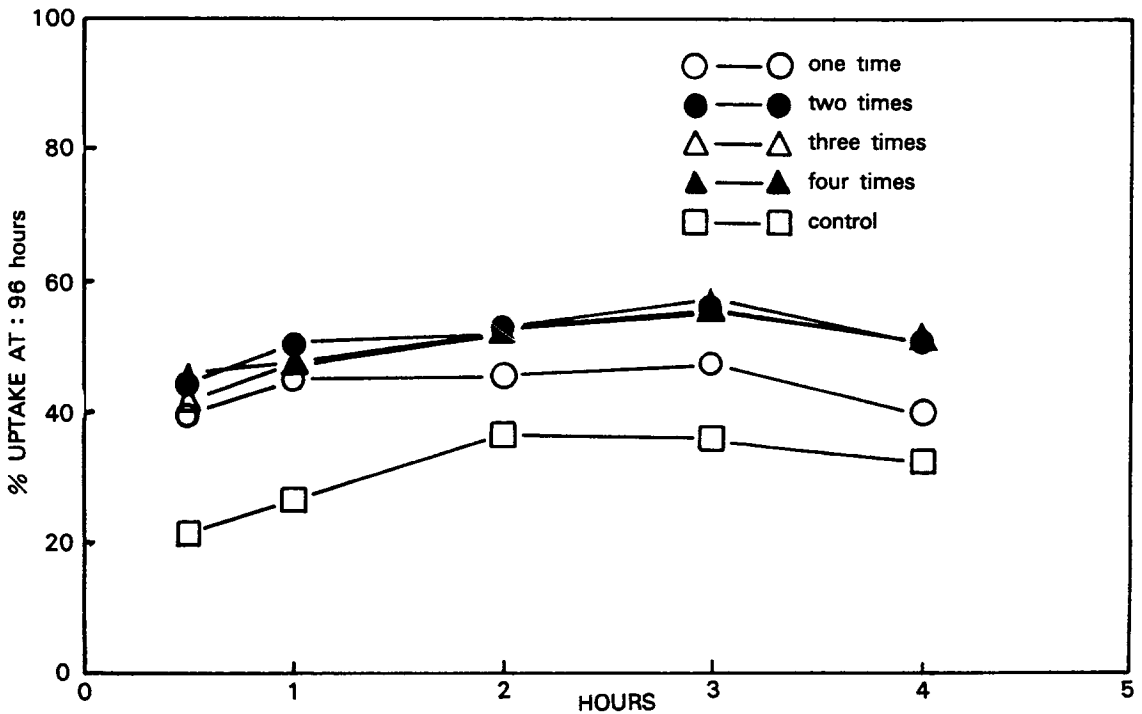


Fig. 8. The percentage of uptake of *C. albicans* by macrophage after injection of *Staphylococcus aureus*

A total 1×10^6 macrophages per well were infected with *C. albicans* between 1/2 and 4 hours. (○—○): 1 time injection, (●—●): 2 times in jection, (△—△): 3 times injection, (▲—▲): 4 times injection, (□—□): controls. Datas are expressed as average of three independent observation.

Table 1과 같다.

U. urealyticum 균액 1ml을 마우스 복강 내에 1~4회 주입한 후 24시간 후에 복강세포수는 1mm^2 당 각각 7.01×10^6 , 8.25×10^6 , 7.85×10^6 , 6.68×10^6 으로 가장 높은 수치를 보였다. 이 균액을 1~4회 주입한 후 48시간 후에 복강세포수는 1mm^2 당 각각 5.10×10^6 , 7.69×10^6 , 6.67×10^6 , 6.24×10^6 이었다. 이 균액을 1~4회 주입한 후 72시간 후에 복강세포수는 1mm^2 당 각각 4.35×10^6 , 7.48×10^6 , 5.84×10^6 , 5.17×10^6 이었다. 이 균액을 1~4회 주입한 후 96시간 후에 복강세포수는 1mm^2 당 각각 4.52×10^6 , 6.64×10^6 , 6.40×10^6 , 6.25×10^6 로 시간이 경

과함에 따라 지속적으로 감소하는 경향을 보였다.

S. aureus 균액 1ml을 마우스 복강 내에 1, 2, 3, 4회 주입한 후의 복강세포수의 변화는 Table 2와 같다.

S. aureus 균액 1ml을 마우스 복강 내에 1~4회 주입한 후 24시간 후에 복강세포수는 1mm^2 당 각각 6.12×10^6 , 8.24×10^6 , 10.19×10^6 , 8.25×10^6 으로 가장 높은 수치를 보였다.

이 균액을 1~4회 주입한 후 48시간 후에 복강세포수는 1mm^2 당 각각 5.63×10^6 , 6.27×10^6 , 7.25×10^6 , 6.22×10^6 이었고, 이 균액을 1~4회 주입한 후 72시간 후에 복강세포수는

Table 1. The Number of Peritoneal Cells after Injection of *Ureaplasma urealyticum* into Peritoneal Cavity

Times of Injection	The Number of Peritoneal Cells($10^6/\text{mm}^2$)			
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
One	* 7.01 ± 0.87	* 5.10 ± 0.82	4.35 ± 0.87	4.52 ± 0.62
Two	* 8.25 ± 3.67	* 7.69 ± 1.88	* 7.48 ± 2.35	* 6.64 ± 1.36
Three	* 7.85 ± 3.13	* 6.67 ± 0.52	* 5.84 ± 0.81	6.40 ± 0.10
Four	* 6.68 ± 2.86	* 6.24 ± 0.53	* 5.17 ± 1.70	* 6.25 ± 0.55
Contol	4.32 ± 1.20	4.46 ± 1.25	4.62 ± 0.20	4.37 ± 0.52

Results are means of three independent observations $\pm$ standard deviation.

* $P < 0.05$

Table 2. The Number of Peritoneal Cells after Injection of *Staphylococcus aureus* into Peritoneal Cavity

Times of Injection	The Number of Peritoneal Cells($10^6/\text{mm}^2$)			
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
One	* 6.12 ± 0.09	* 5.63 ± 0.03	4.59 ± 0.23	* 3.86 ± 0.09
Two	* 8.24 ± 0.02	* 6.27 ± 0.03	4.85 ± 0.04	4.60 ± 0.04
Three	* 10.19 ± 0.07	* 7.25 ± 0.06	* 7.31 ± 0.01	* 6.34 ± 0.02
Four	* 8.25 ± 0.06	* 6.22 ± 0.09	* 5.48 ± 0.01	* 4.91 ± 0.27
Contol	4.32 ± 1.20	4.46 ± 1.25	4.62 ± 0.20	4.37 ± 0.52

Results are means of three independent observations $\pm$ standard deviation.

* $P < 0.05$

1mm^2 당 각각 4.59×10^6 , 4.85×10^6 , 7.31×10^6 , 5.48×10^6 이었다. 이 균액을 1~4회 주입한 후 96시간 후에 복강세포수는 1mm^2 당 각각 3.86×10^6 , 4.60×10^6 , 6.34×10^6 , 4.91×10^6 로 시간이 경과함에 따라 지속적으로 감소하는 경향을 보였다.

3. 혈액에서 다핵백혈구 수의 변화

*U. urealyticum*을 마우스 복강 내에 1ml 을 주입한 후 혈액에서의 다핵백혈구의 변화는 Table 3과 같다.

U. urealyticum 1ml 을 마우스 복강 내에 1회

주입한 후 혈액에서의 다핵백혈구는 24시간, 48시간, 72시간 후에 각각 46.5%, 65.0%, 51.5%로 대조군보다 유의성있게 증가하다 96시간 후에 43%로 감소하였다. *U. urealyticum* 1ml을 마우스 복강 내에 2회 주입한 후 다핵백혈구는 24시간, 48시간 후에 각각 47%, 53%로 대조군보다 증가하였으나 72시간, 96

시간 후에 각각 36.3%, 45%로 감소하였다. *U. urealyticum* 1ml을 마우스 복강 내에 3회 주입한 후 혈액에서의 다핵백혈구는 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 각각 57.5%, 47.5%, 51%, 53%로 대조군보다 통계학적으로 유의성있게 지속적으로 증가하였다. *U. urealyticum* 1ml을 마우스 복강 내에 4회 주입

Table 3. The Percentage of PMN Leukocyte in Penpheral Blood after Injection of *Ureaplasma urealyticum* into Pentoneal Cavity

The Percentage of PMN				
Times of Injection	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
One	46.5± 1.5	* 65.0± 0.5	* 51.5± 0.5	43.0± 0.0
Two	47.0± 1.0	* 53.0± 1.0	* 36.3± 1.0	45.0± 1.0
Three	* 57.5± 0.5	47.5± 0.5	* 51.0± 1.0	* 53.0± 0.0
Four	50.5± 0.5	* 52.5± 0.5	* 55.0± 1.0	* 53.0± 0.5
Contol	46.5± 2.1	47.5± 1.5	47.5± 1.3	48.5± 2.1

Results are means of three independent observations ± standard deviation.

* P<0.05

Table 4. The Percentage of PMN Leukocyte in Penpheral Blood after Injection of *Staphylococcus aureus* into Pentoneal Cavity

The Percentage of PMN				
Times of Injection	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
One	45.3± 2.1	49.7± 0.5	* 60.7± 0.8	* 63.0± 0.8
Two	48.3± 0.5	* 54.0± 0.8	* 50.3± 1.3	* 61.0± 2.2
Three	* 53.0± 0.8	* 60.3± 1.3	* 61.7± 0.5	* 61.0± 0.8
Four	* 52.3± 0.4	* 56.3± 0.17	* 54.3± 1.3	* 55.0± 2.2
Contol	46.5± 2.1	47.5± 1.5	47.5± 1.3	48.5± 2.1

Results are means of three independent observations ± standard deviation.

* P<0.05

한 후 혈액에서 다핵백혈구는 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 각각 50.5%, 52.5%, 55%, 53.5%로 대조군보다 통계학적으로 유의성있게 지속적으로 증가하였다.

*S. aureus*을 마우스 복강 내에 1ml주입한 후 혈액에서의 다핵백혈구 수의 변화는 Table 4와 같다.

S. aureus 1ml을 마우스 복강 내에 1회 주입한 후 혈액에서의 다핵백혈구 수는 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 각각 45.3%, 49.7%, 60.7%, 63%로 시간이 경과함에 따라 점차 증가하였다. *S. aureus* 1ml을 마우스 복강 내에 2회 주입한 후 혈액에서의 다핵백혈구 수는 24시간, 48시간, 72시간 96시간 후에 각각 48.3%, 54%, 50.3%, 61%로 대조군보다 통계학적으로 유의성있게 지속적으로 증가하였다. *S. aureus* 1ml을 마우스 복강 내에 3회 주입한 후 혈액에서의 다핵백혈구 수는 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 각각 53%, 60.3%, 61.73%, 61%로 대조군보다 통계학적으로 유의성있게 지속적으로 증가하였다. *S. aureus* 1ml을 마우스 복강 내에 4회 주입한 후 혈액에서의 다핵백혈구 수는 24시

간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 각각 52.3%, 56.3%, 54.3%로 55%로 대조군보다 통계학적으로 유의성있게 지속적으로 증가하였다.

4. 혈액에서의 백혈구 수의 변화

U. urealyticum 1ml를 복강 내에 주입한 후 혈액에서의 백혈구의 수의 변화는 Table 5와 같다.

U. urealyticum 1ml를 마우스 복강 내에 1회 주입하고 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 혈액에서의 백혈구 수는 1ul당 각각 5.76×10^3 , 9.67×10^3 , 7.40×10^3 , 9.17×10^3 으로 불규칙한 변화를 보였다. *U. urealyticum* 1ml을 마우스 복강 내에 2회 주입하고 24시간, 48시간 후에 혈액에서의 백혈구 수는 1ul당 각각 5.83×10^3 , 7.13×10^3 로 대조군보다 유의성있게 감소하였고, 72시간, 96시간 후에는 1ul당 각각 8.47×10^3 , 8.10×10^3 으로 다소 증가하였다. *U. urealyticum* 1ml을 마우스 복강 내에 3회 주입한 후 24시간에 혈액에서의 백혈구 수는 1ul당 11.1×10^3 로 현저히 증가하였으나, 48시간, 96시간에는 각각 1ul당 9.4×10^3 , 9.

Table 5. The Number of WBC in Penpheral Blood after Injection of *Ureaplasma urealyticum* into Pentoneal Cavity

Times of Injection	The Number of WBC($10^3/\mu\text{l}$)			
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
One	* 5.76 ± 0.08	* 9.67 ± 0.12	* 7.40 ± 0.21	* 9.17 ± 0.26
Two	* 5.83 ± 0.05	* 7.13 ± 0.20	* 8.47 ± 0.04	8.10 ± 0.08
Three	* 11.1 ± 0.08	* 9.40 ± 0.21	* 6.57 ± 0.04	* 9.07 ± 0.49
Four	7.63 ± 0.18	* 5.40 ± 0.08	* 6.83 ± 0.04	* 9.00 ± 0.08
Contol	8.00 ± 0.10	8.20 ± 0.05	8.50 ± 0.40	8.45 ± 0.05

Results are means of three independent observations $\pm$ standard deviation.

* $P < 0.05$

0.7×10^3 으로 대조군보다 유의성있게 증가하였다. *U. urealyticum* 1ml을 마우스 복강 내에 4회 주입한 후 24시간, 48시간 72시간 후에 혈액에서의 백혈구 수는 1ul당 각각 7.63×10^3 , 5.40×10^3 , 6.83×10^3 으로 대조군보다 점차 감소하였다.

S. aureus 1ml를 마우스 복강 내에 주입한 후 혈액에서의 백혈구 수의 변화는 Table 6과 같다.

*S. aureus*를 마우스 복강 내에 1회 주입한 24시간, 48시간, 72시간 후에 혈액에서의 백혈구 수는 1ul당 각각 4.63×10^3 , 3.77×10^3 , 4.13×10^3 으로 대조군보다 통계학적으로 유의성있게 감소하였다. *S. aureus*를 마우스 복강 내에 2회 주입한 24시간, 48시간, 72시간 후에 혈액에서의 백혈구 수는 1ul당 각각 7.20×10^3 , 6.70×10^3 , 7.53×10^3 으로 대조군에 비해서 감소하였으나, 96시간 후에 1ul당 10×10^3 으로 유의성있게 증가하였다. *S. aureus*를 마우스 복강 내에 3회 주입한 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 혈액에서의 백혈구 수는 1ul당 각각 8.77×10^3 , 12.47×10^3 , 11.73×10^3 , 11.73×10^3 으로 대조군보다 유의성있게

지속적으로 증가하였다. *S. aureus*를 마우스 복강 내에 4회 주입한 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 후에 혈액에서의 백혈구 수는 1ul당 각각 9.60×10^3 , 10.27×10^3 , 10.53×10^3 , 10.53×10^3 으로 대조군보다 유의성있게 지속적으로 증가하였다.

고 찰

본 실험에서 PBS 1ml을 투여한 정상 마우스의 복강대식세포의 *C. albicans*에 대한 탐식능은 30%, 23%로 김¹⁾, 고²⁾ 등의 30.7%와 차이가 없었다. *U. urealyticum* 균액을 1, 2, 3, 4회 주입한 후 마우스 복강 내 대식세포의 *C. albicans*에 대한 탐식능은 균액접종횟수에 관계없이 24시간에서 72시간까지는 대조군에 비해서 증가하였다. 이는 Hibbs¹⁰⁾와 Taylor-Robinson³⁷⁾ 등의 mycoplasmas 감염시 대식세포가 활성화된다는 보고와 유사한 결과였으므로, *U. urealyticum* 감염에 의해 대식세포가 활성화되어 탐식능이 증가된 것으로 사료된다. 그러나 Simberkoff³³⁾ 등의 *M. arthritis*, *M. hominis*에 감염된 복강 대식세포는 *E. coli*를 탐식하는 능력이 억제되었다는 보고와는 상반된

Table 6. The Number of WBC in Peripheral Blood after Injection of *Staphylococcus aureus* into Peritoneal Cavity

The Number of WBC($10^3/\mu\text{l}$)				
Times of Injection	24 hrs	48 hrs	72 hrs	96 hrs
One	* 4.63 ± 0.05	* 3.77 ± 0.05	* 4.13 ± 0.05	8.17 ± 0.24
Two	* 7.20 ± 0.14	* 6.70 ± 0.36	7.53 ± 0.05	* 10.10 ± 0.08
Three	* 8.77 ± 0.05	* 12.47 ± 0.05	* 11.73 ± 0.05	* 11.73 ± 0.05
Four	7.70 ± 0.08	* 9.60 ± 0.08	* 10.27 ± 0.09	* 10.53 ± 0.05
Contol	8.00 ± 0.10	8.20 ± 0.05	8.50 ± 0.40	8.45 ± 0.05

Results are means of three independent observations $\pm$ standard deviation.

* $P < 0.05$

결과를 보였다. 이와같은 차이는 탐식표적균이나, 사용동물 및 감염원의 차이에서 오는 결과라고 사료된다. *U. urealyticum* 균액을 3회 주입한 후 복강대식세포의 탐식능이 균액을 1, 2, 4회 주입한 경우보다 24, 48시간까지는 높았다. 또한 *U. urealyticum* 균액을 2회 주입한 후 복강 대식세포의 탐식능이 1, 3, 4회 주입한 경우에서 보다 72, 96시간에 더욱 높게 나타난 결과로 미루어 균액 주입 후 대식세포의 활성화 시기가 균액 주입 후 2~3일이며, 주입횟수의 증가가 대식세포의 활성화를 지속적으로 증가시키지는 못하며 대식세포를 활성화시키기 위해서는 균액을 2~3회 주입으로 가능하다는 것을 시사하여 주는 것을 사료된다. 활성화된 대식세포의 탐식능을 측정하기 위한 시간은 균액 접종횟수에 관계없이 탐식표적 세균과의 접촉 후 2~3시간이 가장 좋은 것으로 사료된다.

*S. aureus*를 마우스 복강 내에 1, 2, 3, 4회 주입한 후 복강 대식세포의 탐식능은 접종횟수에 관계없이 대조군에서 증가하였고, 균액을 2회 주입한 후에 그리고 균접촉 3시간 후에 가장 높은 탐식능을 보였다. 마우스 복강 내에 균액을 1~4회 주입한 72시간 후에 복강 대식세포의 탐식율이 가장 높았으며, 이는 Verbrugh와 David 등이 보고한 단핵백혈구와 다핵백혈구의 탐식율 58~70%와 유사한 결과를 보였다^{6, 41, 42)}. 반면 Vandenbroucke-Grauls와 Perterson 등의 40%보다는 높았다^{24, 25, 26, 40)}. 이러한 차이는 균종이나 사용동물, 표적세균 등에 따라 균이 대식세포에 부착하는 시기와 관련이 있다고 사료된다.

*U. urealyticum*에 감염되었을 때가 *S. aureus* 감염시보다 96시간 후에 복강대식세포의 탐식능이 감소하는 것은 *U. urealyticum*이 대식세포 표면에 부착하는 능력이 더 강하고, 상대적으로 오랜기간 생존해 있어서, 시간이 경과함에 따라 대식세포의 기능을 저하시킴으로써, *C. albicans* 탐식을 억제하기 때문이라고

사료된다. *U. urealyticum*에 감염된 대식세포는 항체를 첨가하지 안한 상태에서도 대식세포가 활성화되며 이것이 국소 염증반응에 주 작용을 하는 것으로 사료된다.

대식세포는 폐, 유선, 비뇨생식기 등의 정상 또는 감염된 점막 표면의 주 구성원이다. 따라서 mycoplasmas 감염시 대식세포는 숙주의 방어작용으로서 처음으로 접촉하는 탐식세포다. *M. pulmonis*에 감염된 마우스와 rat에서, *M. hyopneumoniae*에 감염된 돼지에서 대식세포가 풍부한 삼출물이 축적된다고 보고되었다^{23, 27, 44)}.

본 실험에서는 *S. aureus*와 *U. urealyticum*을 마우스를 복강 내에 접종하였던 바, 두 경우 모두에서 2회, 3회, 주입한 후 24시간 후에 대조군보다 복강세포가 1mm²당 각각 8.24×10^6 , 10.19×10^6 , 8.25×10^6 , 7.85×10^6 로 최고치를 보였고, 시간이 경과함에 따라 감소하였다. 이것은 Howard¹²⁾ 등이 보고한 sodium alginate를 마우스 복강 내 주입 후 복강세포수 1×10^6 /mm²과 유사한 수치를 보였다. 이상과 같은 결과는 급성, 만성염증시 복강 내에 국소염증 반응으로 *S. aureus*와 *U. urealyticum* 주입한 후 24시간이 내에 혈액내 백혈구 유입과 국소적인 대식세포 생성의 증가로 인해 최고 수치를 보이고, 24시간 후에는 점차 지속적으로 감소한다는 보고와⁹⁾ 일치한다고 사료된다. 또한 2회, 3회 주입한 후에 높은 수치를 보이는 것은 감염된 T림프구의 lymphokine 분비로 인해서 탐식세포가 염증부위로 이동하여 축적되기 때문이라 추정된다.

*U. urealyticum*과 *S. aureus*를 마우스 복강 내에 주입한 후 혈액에서 다핵백혈구는 복강 내 주입 회수에 관계없이 24~97시간 지속적으로 증가하였다. 이는 급성염증반응시 전혈에서 혈액운동학적 변화가 일어나 일시적으로 혈류속도가 느려지고, 혈관 확대가 일어나 다핵 백혈구가 염증부위로 이동하여 일시적으로 감소하나 이것이 골수에 의해서 감지되어 다

해 백혈구의 생성이 촉진되어 전혈로 이동하여 증가한다는 보고와¹³⁾ 유사한 결과를 보였다. *U. urealyticum*를 주입한 경우 총 백혈구 수는 점종횡수에 따라 다양한 변화를 보였다. 그러나 사람에서 *mycoplasmas* 감염시 총 백혈구 수는 증가한다고 보고된²⁶⁾ 것과는 상반된 결과인데 이는 마우스 채혈시의 스트레스, 주위환경요인에 의해 백혈구 수가 영향을 받아서 다양한 수치를 보였다고 사료된다. 그러나 이 문제는 앞으로 추시해 볼 필요가 있을 것으로 사료된다.

결 론

만성 감염을 일으키는 *U. urealyticum*과 급성 감염을 일으키는 *S. aureus*의 감염시 전혈에서 백혈구 변화의 차이를 관찰하고, 이들 균에 의해 활성화된 복강 내식세포의 *C. albicans* 탐식능과의 관계를 관찰하고자 본 실험에 착수한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *U. urealyticum*을 복강내 1~4회 접종한 후 복강대식세포의 탐식능은 균 점종횡수에 관계없이 24~72시간동안 증가하였고, 96시간에 점차 감소하였으며, 2회, 3회 주입한 후 높은 수치를 보였다. *S. aureus*를 복강내 1~4회 접종한 후 복강대식세포의 탐식능은 점종횡수에 관계없이 24~96시간 동안 지속적으로 탐식율이 증가하였고, 2회, 3회 주입한 후 가장 높은 수치를 보였다.

2. *U. urealyticum*과 *S. aureus*를 복강내 접종한 후 복강 대식세포의 수의 변화는 점종횡수에 관계없이 24시간에 가장 높은 수치를 보였고, 48~96시간에 지속적으로 감소하였다.

3. *U. urealyticum*과 *S. aureus* 감염으로 활성화된 복강 대식세포의 탐식능은 표적세균과의 접촉 후 2~3시간에 가장 높았다.

4. *U. urealyticum*을 복강내 3회, 4회 접종한 후 전혈에서 다핵 백혈구의 수적 변화는 24~96시간까지 지속적으로 증가하였다.

5. *U. urealyticum*을 복강내 접종한 후 전혈에서 백혈구 수적 변화는 점종횡수에 따라 다양한 양상을 보였다. *S. aureus*를 복강내 3~4회 접종한 후 전혈에서 백혈구 수의 변화는 24~96시간 동안 대조군보다 지속적으로 증가하였다.

REFERENCES

1. 김두한, 박주영, 이성락, 김주덕 : 실험동물에 있어서 *C. albicans*에 대한 감수성의 차이와 복강거식세포 균탐식능과의 연관성에 대한 연구. 연세의대 논문집 16 : 350-355, 1983
2. 고춘명 : *C. albicans*와 혼합배양한 마우스 복강거식세포에 있어서 amphotericin B의 항균력에 관한 연구. J.Kor Soc Micro 24 : 197-202, 1989
3. Allison AC, Harington JS, Birbeck M : An examination of the cytotoxic effects of silica on macrophages. J Exp Med 124 : 141-154, 1966
4. Cole BC, Ward JR : Interaction of *M. arthritis* and other mycoplasmas with peritoneal macrophages. Infect Immun 7 : 681-689, 1973
5. Dajani AS, Clyde WA, Denny FW : - Experimental infection with *M. pneumoniae* (Eaton's agent). J Exp Med 121 : 1071-1086, 1965
6. David AL, Hoidal JR, Clawson CC, Quie G, Peterson PK : Phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes of *S. aureus* and *P. aeruginosa* adherent to plastic, agar, or glass. J Immun Meth 63 : 103, 1983
7. Desai S, Cohen MS, Khatamee M, Leiter E : Ureaplasma urealyticum (T-mycoplasma) infection; does it have a role in male fertility? J Urol 124 : -

- 469-471, 1980
8. Erb P, Brecht W : Interaction of *Mycoplasma pneumoniae* with alveolar macrophages ; viability of adherent and ingested mycoplasmas. Infect Immun 27 : 11-14, 1979
9. Gallin JL, Goldstein IM, Snyderman R : Inflammation, New York, Raven Press, pp 289-289, 1989
10. Hibb JB : Role of activated macrophages in nonspecific resistance to neoplasia J Reticuloendothel Soc 20 : 223-231, 1976
11. Hollindale MR, Manchee RJ : The role of mycoplasma membrane proteins in the adsorption of animal cells to *M. hominis* colonies J Gen Mic 70 : 391-393, 1972
12. Howard CJ, Taylor G : Interaction of mycoplasmas and phagocytes. Yale J Biol Med 56 : 643-648, 1983
13. Jandl JH : Blood, 1st ed, Boston Toronto Little Brown Co, 1987, pp 460-461
14. Jones TC : Attachment and ingestion phases of phagocytosis. 4th ed. London, Blackwell Scientific Pub, pp 269-282, 1975
15. Jones TC, Hirsch JG : The interaction in vitro of *M. pulmonis* with mouse peritoneal macrophages and L-cells. J Exp Med 133 : 231-259, 1971
16. Jones TC, Yeh S, Hirsch JG : Studies on attachment and ingestion phases of phagocytosis of *M. pulmonis* by mouse peritoneal macrophages. Proc Soc Exp Biol Med 139 : 464-470, 1972
17. Kessel RI, Monaco L, Marchisio MA : The specificity of the cytotoxic action of silica-a study in vitro Brit J Exp Path 44 : 351-364, 1963
18. Lidsey JR, Cassel GH : Experimental *M. pulmonis* infection of pathogen-free mice. Am J Path 72 : 63, 1973
19. Macaness GB : Resistance to intracellular infection J Infect Dis 123 : 439-445, 1971
20. Manchee RJ, Taylor-Robinson D : Utilization of neuraminic acid receptors involved in attachment of tissue culture cells to mycoplasmas. J Bact 98 : 914-919, 1969
21. Manchee RJ, Taylor-Robinson D : Studies on the nature of receptors involved in attachment of tissue culture cells to mycoplasmas. Brit J Exp Path 50 : 66-75, 1969
22. Morahan PS, Glasgow LA, Crane JL, Kern ER : Comparison of antiviral and antitumor of activated macrophage. Cell Immunol 28 : 404-415, 1977
23. Organick AB, Siegesmund KA, Lutsky II : Pneumonia due to mycoplasma in gnotobiotic mice. II. Localization of *M. pulmonis* in the lungs of infected gnotobiotic mice by electron microscopy. J Bact 92 : 1164, 1966
24. Peterson PK, Verhoef J, Schmeling D, Que G : Kinetics of phagocytosis and bacterial killing by human polymorphonuclear leukocyte and monocytes. J Infect Dis 136 : 502, 1977
25. Peterson PK, Verhoef J, Sabath LD, Que G : Extracellular and bacterial factors influencing staphylococcal phagocytosis and killing by human polymorphonuclear leukocytes Infect Im-

- mune 14 : 496, 1976
26. Petersdorf RG, Adams R, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin J, Wilson JD : Principles of internal medicine. 10th ed, New York, McGraw-Hill Book Co, pp1978-1079, 1983
27. Razin S, Barile MF : The mycoplasmas ; mycoplasma pathogenecity vol IV, London, Academic Press Inc, pp248-265, 1985
28. Robbins SL, Cotran RS, Kumar VK : Pathologic basis of disease. 3th ed. Philadelphia, W.B.Saunders Co, 1984, pp59-60
29. Rodda SJ, White DO : Cytotoxic macrophages, a rapid nonspecific response to viral infection, J Immunol 117 : 2067-2072, 1976
30. Rowley DJ, Whitby JL : The bactericidal activity of mouse macrophages in vitro. Brit J Exp Path 40 : 507-515, 1959
31. Ruth E : In vitro phagocytosis of *C. albicans* by peritoneal mouse macrophages. Infect Immun 28 : 963-971, 1980
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, 1978
33. Simberkoff MS, Elsbach P : The interaction in vitro between polymorphonuclear leukocytes and mycoplasmas. J Exp Med 134 : 1417, 1971
34. Stemke GW, Robertson JA : Comparison of two methods for enumeration of mycoplasma. J Clin Microbiol, 16 : 959, 1982
35. Stites DP, Stobo JD, Fudenberg HH, Wells JB : Basic and clinical immunology, 4th ed. Lange Medical Pub., 1982, pp109-122
36. Taylor G, Howard CJ : Interaction of *M. pulmonis* with mouse peritoneal macrophages and polymorphonuclear leukocytes. J Med Micro 13 : 19, 1980
37. Taylor-Robinson D, Schorlemmer HU, Furr PM, Allison AC : Macrophages secretion and the complement cleavage product C_{3a} in the pathogenesis of infections by mycoplasmas and L forms of bacteria and in immunity to these organisms. Clin Exp Immune 33 : 486, 1978
38. Taylor G, Taylor-Robinson D, Keystone EC : Effects of lymecycline on *M. pulmonis* induced arthritis in mice. Immunology. 30 : 611, 1978
39. Thomsen AC, Heron I : Effect of mycoplasmas on phagocytosis and immunocompetence in rats. Acta Path Micro Scand 87 : 67-71, 1979
40. Vandenbrouke-Grauls CMJE, Thijssen HMWM, Verhoef J : Interaction between human polymorphonuclear leukocytes and *S. aureus* in the presence and absence of opsonins. Immunology 52 : 427, 1984
41. Verbrugh HA, Peters R, Peterson PK, Verhoef J : Phagocytosis and killing of staphylococci by human polymorphonuclear and mononuclear leukocytes. J Clin Path 31 : 539, 1978
42. Verbrugh HA, Peterson PK, Kim Y, Sabath LD, Quie G : Opsonic requirements for staphylococcal phagocytosis. Immunology 33 : 191, 1977

44. Whittlestone P : Pathogenicity of mycoplasma in animals. Symp Soc Gen Mic 22 : 217-250, 1972
 45. Zisman B, Hirsch MS, Allison AC : Selective effects of anti-macrophage serum, silica and anti-lymphocyte serum on pathogenesis of herpes virus infection of young adult mice. J Immun 104 : 115, 1970
 46. Zucker-Franklin D, Davidson M, Thomas L : The interaction of mycoplasma with mammalian cells, I. Hela cells, neutrophils. J Exp Med 124 : 521-532, 1966.
-