

# *Candida albicans*의 Proteinase 및 Phospholipase 분비능과 구강상피세포 부착능과의 상호관계

연세대학교 원주의과대학 미생물학교실

고 춘 명 · 김 수 기

—Abstract—

## Correlative Relationship between Proteinase, Phospholipase Activity and Adherence to Buccal Epithelial Cells of Experimental Strains of *Candida albicans*

Choon-Myung Koh and Soo-Ki Kim

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

This study investigated whether a correlation exists between proteinase activity, phospholipase activity and adherence of *Candida albicans* to buccal epithelial cells by using of various strains isolated from oral cavity.

The proteinase activity of 30 strains was tested by culture on agar media that contained bovine serum albumin as a nitrogen source. Using the serum-protein-agar method to test proteolysis of serum albumin in 20 strains of *Candida albicans*.

Twenty-six strains of *Candida albicans* were phospholipase producers and the degree of phospholipase activity of experimental strains were 0.51~0.89 measured by Pz-value.

Twenty-eight strains of *Candida albicans* were adhesive to buccal epithelial cells and 15 strains were found significantly active adherence.

Fifteen strains of *Candida albicans* were correlated with proteinase activity and adherence to epithelial cells and concomitantly 20 strains of *Candida albicans* were also correlated with phospholipase activity and adherence.

In conclusion our investigation provides evidence of a correlation between quantitative proteinase, phospholipase and adherence. An association of these parameters may be an important contributory factor for pathogenicity.

**Key Words:** Proteinase, Phospholipase, Adherence.

### 서 론

*Candida albicans*는 compromised host에 대하여 기회감염을 일으키는 균주들의 하나로 알려져 있다<sup>16, 17</sup>. 그리고 *Candida albicans*가 질병을 야기하는 데는 현재까지 germ-tube 형성능, 상피세포에의 부착능, 내독소양 물질 그리고 몇 종류의 효소들의 분비가 병원성 결정에 중요 역할을 한다고 알려져 있다<sup>4, 7, 8, 10-14, 19, 21, 24, 26, 32, 37, 39</sup>.

42, 44)

많은 병원성 세균들은 외독소 혹은 내독소 및 여러 종류의 효소들을 분비하여 이들이 세균의 병원성을 좌우하는 결정인자중의 하나로서 작용한다고 알려져 있다. 이들중 몇가지 종류의 효소들은 세균 분비효소들과 유사한 종류로서 *Candida albicans*에서도 관찰이 가능하나 아직은 이들의 역할이 세균의 병원성과 같이 *Candida albicans*에서도 관계가 있는지의 여부에 대하여서는 의심스러운 점들이 있기도 하다.

그러나 몇몇 학자들에 의하여 병원성 *Candida* 균주와 분비효소와의 관계에 대하여 발표된 바 있으며, 이중 Macdonald 및 Odds<sup>26, 27</sup>, Ruchel 등<sup>41</sup>, Costa 등<sup>3</sup>, Louria 등<sup>24</sup>, Odds<sup>23</sup> 그리고 Banno 등<sup>40</sup>은 *Candida albicans*가 분비하는 효소중의 Proteinase 나 phospholipase 등은 병원성과 관계가 있어 이를 분비하는 균주들은 병원성이 있다고 주장한 바 있다. 특히 *Candida albicans*가 피부각질층에 감염을 일으킬 경우 이 균주가 분비하는 단백질분해 효소에 의하여 각질층에 있는 non-soluble keratin protein의 소화현상에 의하여 피부감염이 잘 일어난다고 주장하기도 하였다<sup>10, 12, 28, 33, 47, 48</sup>.

Staib<sup>46</sup>에 의하여 1965년 처음으로 acid proteinase에 대하여 기술된 뒤 Remold 등<sup>37</sup>과 Ruchel<sup>40</sup>은 albumin을 기질로 *Candida albicans*를 배양하여 단백질분해효소를 분리하고 이의 특성을 발표하였다. 아울러 Macdonald와 Odds<sup>26, 27</sup>는 이를 이용하여 *Candida albicans*의 전신감염에 대한 진단의 가능성을 추구하였고, 동시에 이는 진균이 조직침습 과정에서 분비된다고 주장하였다<sup>15, 18</sup>. 이와 같은 현상은 전신감염 시 쉽게 proteinase의 혈청 항체를 관찰할 수 있고 병원성 *Candida* sp.의 많은 균주에 의하여 단백질분해 효소를 관찰할 수 있고, 이 효소에 의하여 단백질 분해(용해)가 일어난다는 점이나 같은 종일지라도 병원성이 강한 균주일수록 병원성이 낮은 균주에 비하여 마우스 상피세포의 파괴현상이 높으며, 이는 분비효소에 의한다는 점등은 병원성과 단백질분해 효소와의 결과를 나타내는 것들이라 할 수 있다<sup>4, 7, 8, 12, 14, 26, 39</sup>.

병원성과 proteinase 활성능과의 관계에 대하여서는 Budtz-Jorgensen<sup>6</sup>은 proteinase 활성능이 강한 *Candida albicans*와 *Candida tropicalis*가 활성능이 낮은 *Candida krusei*, *Candida mycoderma*, *Candida parapsilosis* 보다 병원성이 강하다고 발표하였고, Macdonald<sup>25</sup>도 *Candida albicans*와 *Candida tropicalis*는 proteinase의 활성능이 높고 반대로 *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida pseudotropicalis* 등은 proteinase 활성능이 없으며, 동시에 병원성도 낮다고 주장하였다.

또한, *Candida* sp.가 분비하는 phospholipase는 현재 2종류로서 phospholipase A와 lyso phospholipase라 발표하고 활성위치는 세포막과 세포벽주위에서 볼 수 있다고 주장한 바 있

다<sup>36</sup>. 그리고 병원성과 phospholipase 활성능과의 관계에 대하여서는 몇 학자들에 의하여 *Candida* sp.가 분비하는 phospholipase가 병원성과 관계가 있다고 마우스를 통한 LD<sub>50</sub>를 조사하여 주장한 바 있으며<sup>2, 3, 11, 13, 15, 19</sup>, Kates<sup>18</sup> 및 Dawson 등<sup>9</sup>은 phospholipase가 세포벽에 작용하여 이 부위에 해를 주며, 숙주세포를 파괴하여 균주가 세포내로 침습하는데 용이한 역할을 하게 하며, 질병의 유발을 높인다고 주장하기도 하였다.

상피세포에의 부착능에 관한 연구결과를 보면 *Candida* sp.가 분비하는 점액성 분비물이 균주들과 혼합, 숙주세포로부터의 탈락을 방지시켜 그 결과 집락이 형성되고 감염이 일어난다고 주장하였으며, *Candida albicans* 세포벽의 mannan 성분이 이와 같은 역할을 한다고 주장하였고, 따라서 세포부착능이 강한 균주일수록 병원성이 높다고 발표된 바 있다<sup>21-22, 23, 43-45</sup>.

이에 본 연구자들은 proteinase, phospholipase 활성능과 세포부착능과의 상호관계를 알아보고 아울러 이와 병원성과의 관계를 추구할 목적으로 본 연구를 실시하였던 바 그 결과의 일부를 얻었기에 여기 보고하는 바이다.

## 실험재료 및 방법

### A. 실험재료

#### 1. 실험균주

본 실험에 사용된 *Candida albicans*는 우리 교실에서 제대배양중인 균주중 30주를 선택하여 사용하였다.

#### 2. 배지 및 시약

실험에 사용된 배지는 미국 Difco 회사 제품을 사용하였으며, 시약은 시판되고 있는 일급 시약이었으며, 특히 질소원으로 사용한 bovine serum albumin은 미국 Sigma 회사제품의 bovine serum albumin fraction V이었다.

#### 3. 구강상피세포

본 실험에 사용한 구강상피세포는 건강한 남자 성인 5인으로부터 멸균된 면봉을 사용하여 구강내를 가볍게 문질러 얻은 구강상피 세포를 멸균 인산완충생리식염수로서 3회 세척하여 얻은 후 사용하였다(0.15mol, pH 7.2).

### B. 실험방법

#### 1. Proteinase 활성능 측정방법

(a) 평판배지법 : Staib<sup>46)</sup> 방법을 변형하여 만든 proteinase assay 배지를 사용하여 실험을 실시하였다. 기본배지로서 1,000ml 당 dextrose, 20gm; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.0gm; MgSO<sub>4</sub>, 0.5gm; enositol, 0.05gm; theamin, 0.01gm; pyridoxine, 0.01gm 및 agar, 20gm을 혼합멸균한 뒤 멸균 bovine serum albumin 5gm을 첨가 pH 5.0으로 조정하여 assay용 평판배지를 만들었다. 이 배지에 1ml당 1.0×10<sup>6</sup>세포의 실험균주를 접종하고 30°C에서 5일간 배양하고 배양된 집락의 성장형태를 Staib 방법에 준하여 칩전대와 용해대 및 amidoblack 10B 염색액을 이용한 염색여부(착색여부)를 조사 효소의 활성능을 측정하였다.

## 2. Phospholipase 활성능 측정방법

(a) 평판배지법 : Price 등<sup>35)</sup>의 방법에 따라서 Sabouraud's dextrose 평판배지에 1mol, sod, chloride 및 0.005mol, cal, chloride를 첨가하고 8%의 난황을 함유시키어 phospholipase 활성능 배지를 만들었다. 이 배지내에 1ml당 1.0×10<sup>7</sup>세포의 실험균주 부유액을 직경 1cm 크기의 원형으로 균일하게 접종하고 37°C 항온기에서 48시간 배양하여 집락주위의 칩전대의 생성여부와 칩전대가 형성되었을 경우 칩전대를 포함한 집락직경을 측정 집락직경의 비를 계산하여 phospholipase precipitation zone(Pz-value) 값으로 활성능을 측정하였다.

## 3. 구강상피세포 부착능 측정방법

구강에서 채취한 구강상피세포를 pH 7.2으로 조정된 0.15mol 인산완충 생리식염수로서 3회 세척한 뒤 세포수가 1ml당 1.0×10<sup>7</sup>세포로 조정하고 구강상피세포액 0.5ml와 동량의 1ml당 1.0×10<sup>7</sup>세포로 조정된 실험균주를 혼합하여 37°C

수조상에서 3시간 진탕배양하였다. 배양 후 혼합액을 12μm 크기의 membrane filter를 통하여 여과한 다음 pH 7.2으로 조정된 0.15mol 인산완충 생리식염수로 다시 3회 세척하여 부착되지 않은 실험균주를 제거하였다. 다음 무수 알콜로 고정하고 그람 crystal violet 용액으로 염색 부착능을 관찰 계산하였다. 판정기준으로서 는 상피세포 100세포당 150이상의 *Candida albicans*가 부착되었을 경우, “卍”; 100세포~150세포가 부착되었을 경우, “卐”; 100세포 이하로 부착되었을 경우, “+” 그리고 부착현상을 볼 수 없었을 경우, “-”로 표시하였다.

## 실험성적

### A. 평판배지상에서의 proteinase 활성능성적

Budtz-Jorgensen의 방법을 변형하여 제작한 proteinase assay 배지상에서의 proteinase 활성능 성적을 보면, 총 실험균주 30주의 배양 5일째에서의 칩전대 형성균주는 20주(66.6%)이었으며 또한, 12주(40%)는 용해대도 형성함을 관찰할 수 있었고, 아울러 용해대를 형성하는 경우는 모두 칩전대를 형성하였으나 칩전대만을 형성하는 균주들도 8주(26.7%)가 있었다. 아울러 용해대를 형성한 12주중 10주는 amidoblack으로 착색하였을 때 착색이 되지 않았다 (Table 1).

### B. Phospholipase 활성능 측정성적

평판배지상에서의 P<sub>z</sub>-값을 측정하므로써 관찰한 phospholipase 활성능을 보면 총 30주의 실험균주중 4주(13.3%)는 phospholipase 활성능

**Table 1.** The reaction of 30 strains of *Candida albicans* to bovine serum albumin on BSA-Agar medium, pH 5.0

	5 days incubation			Decolorization
	Growth	Precip.	Lysis	
No. of tested strains	30/30	20/30	12/30	10/12
Percentage	100.0	66.6	40.0	83.3

**Table 2.** Phospholipase activity of experimental *Candida albicans* measured by Pz-value\*

	No.	%	PLase activity	Mean value
PLase producing strains	26	86.7	0.51—0.89	0.67±0.12
PLase nonproducing strains	4	13.3	—	—

Pz-value: Precipitation zone value, PLase: Phospholipase.

이 없었으며, 나머지 26주만이 활성능을 나타내었다.

이들 활성능을 가진 균주들의  $P_z$ -값의 분포를 보면 0.51부터 0.89사이의 값을 보였으며, 이

중 0.60~0.69의 값을 나타내는 균주가 12주(46.2%)로서 수위를 차지하였고 다음, 0.50~0.59의 값을 나타내는 균주가 6주(23.0%)이었다. 그리고  $P_z$ 의 평균값은  $0.67 \pm 0.12$ 이었다(Table 2, 3).

**Table 3.** PLase activity of experimental strains of *Candida albicans* measured by  $P_z$ -value

PLase activity	Number	Percentage
0.80~0.89	4	15.4
0.70~0.79	4	15.4
0.60~0.69	12	46.2
0.50~0.59	6	23.0
Total	26	100.0

**Table 4.** Buccal epithelial cell adherence activity of *Candida albicans*

BEC adherence activity	Number	Percentage
###	8	26.7
##	7	23.3
+	3	10.0
+	10	33.3
-	2	6.7
Total	30	100.0

###; Above 150 cells/100 BEC

##; 100~150cells/100 BEC

+

+

### C. 구강상피세포 부착능 성적

구강상피세포에의 부착능 성적을 보면 총 30주의 실험균주중 2주만이 부착능을 관찰할 수 없고, 28주는 모두 부착능을 나타내었다. 이 중 8주(26.7%)는 100개의 상피세포당 150세포이상의 부착능을 나타내어 우수한 결과를 나타내었으며, 10주(33.3%)는 50~150세포의 부착능(#+~##)을 나타내었다. 그 반면 100주는 100세포당 50세포이하의 부착능(+)을 나타내어 낮은 부착능을 보였다(Table 4).

### D. Proteinase 활성능과 phospholipase 활성능과의 상호관계

Proteinase 활성능과 phospholipase 활성능의 상호관계를 보면 침전대 및 용해대를 나타내어 proteinase 활성능이 높으며, 아울러 phospholipase 활성능이 있는 균주는 26주(86.7%)이었으며, phospholipase 활성능은 있으나 proteinase 활성능이 없는 균주는 4주(13.3%)이었고 phospholipase 활성능이 높으며, 아울러 proteinase 활성능이 높은 균주가 18주로서 서로 관계가 있음을 보여 주었다(Table 5).

**Table 5.** Correlative relationship between proteinase activity and phospholipase activity to *Candida albicans*

		Proteinase activity		Total
		Precip./lysis	Not Precip./lysis	
Phospholipase activity	Above 0.67 $P_z$ -value	8(26.7)	3(10.0)	11( 36.7)
	Below 0.87 $P_z$ -value	18(60.0)	1( 3.3)	19( 63.3)
Total		26(86.7)	4(13.3)	30(100.0)

**Table 6.** Correlative relationship between proteinase activity and buccal epithelial cell adherence activity to *Candida albicans*

		Proteinase activity		Total
		Precip./lysis	Not precip./lysis	
Buccal epithelial cell adherence activity	Above 100 <i>Candida</i> cells attached	11(36.7)	4(13.3)	15( 50.0)
	Below 100 <i>Candida</i> cells attached	2( 6.7)	13(43.3)	15( 50.0)
Total		13(43.4)	17(56.6)	30(100.0)

### E. Proteinase 활성능과 구강상피세포 부착능과의 상호관계

Proteinase 활성능과 구강상피세포에의 부착능과 관계를 보면 proteinase 활성능이 있으며, 구강상피세포 부착능이 높은 균주가 11주(36.7%)이었으나 반대로 proteinase 활성능이 없는 균주는 구강상피세포에의 부착능도 낮아 13주(43.3%)이었다. 그리고 proteinase 활성능이 있으나 상피세포 부착능이 낮은 균주는 2주(6.7%)이었고, proteinase 활성능이 없으나 부착능이 있는 균주는 4주(13.3%)이었다(Table 6).

### F. Phospholipase 활성능과 구강상피세포 부착능과의 상호관계

Phospholipase 활성능이 높으며 아울러 구강상피세포 부착능이 높은 균주는 총 실험균주중 11주로서 36.7%이었으며, phospholipase 활성능은 높으나 구강상피세포 부착능이 낮은 균주는 2주(6.7%)로서 phospholipase 활성능과 상피세포 부착능과는 밀접한 관계를 가지고 있음을 나타내었다. 한편, 구강상피세포 부착능은 강하나 phospholipase 활성능이 낮은 균주는 9주(30%)이었고, 상피세포 부착능과 아울러 phospholipase 활성능도 낮은 균주는 8주(26.7%)이었다(Table 7).

## 고 찰

*Candida albicans*는 우리 몸에 정상적으로 존재하는 정상균총중의 하나이나 compromised host에 대하여는 전신질환을 야기하는 것이 보통이다<sup>13, 14, 17</sup>. 피부에 감염을 야기하였을 경우 대부분의 단백질용해 효소에 대하여 용해되지 않고 내성을 나타내는 각질조직으로부터 영양물질을 얻어 피부에 감염을 일으킨다는 주장들

이 있으며, 이는 피부사상균을 이용한 전자현미경을 통한 연구결과에서도 몇 학자들<sup>20, 21</sup>에 의하여 제시된 바 있다. 특히 Yu 등<sup>47-49</sup>은 extracellular, cell-bound keratinolytic proteinase를 *Tr. mentagrophytes*에서 분리 정제하였으며, 그뒤 여러 학자들은 이 효소의 특성과 성질을 규명한 바 있기도 하다<sup>7, 8, 22, 26</sup>. 그러나 *Candida albicans*에 대한 단백질 용해효소에 대하여서는 Staib<sup>40</sup>에 의하여 처음 연구가 실시되고 Remold 등<sup>27</sup>, Ruchel 등<sup>41</sup>에 의하여 알부민을 질소원으로 단백질용해효소의 분비를 유도한 바 있고, 이 효소의 주성분은 glycoprotein이라 발표하였다. 그뒤 근래에 와서는 이 proteinase의 역할중 하나가 virulent factor라고 Macdonald 및 Odds<sup>25, 27</sup>에 의하여 보고되었고 여러 학자에 의하여 이를 추시한 바 있다.

Budtz-Jorgensen<sup>6</sup>은 구내염환자로부터 분리한 90주의 *Candida albicans*와 20주의 대조균을 이용 human serum protein 함유 배지에서 proteinase 활성능을 관찰, 62주의 활성균을 관찰하였다고 발표하고 이 배지에서 배양시 배양 5일째 82%의 침전대, 71%의 용해대를 볼 수 있었다고 주장하였다. 이를 본 실험결과와 비교하여 보면 배양 5일째 66.6%의 침전대 및 40%의 용해대를 관찰하여 타 연구결과와 보다는 약간 낮은 감이 있었다.

Phospholipase 활성능에 대한 연구를 보면 Kates<sup>18</sup> 그리고 Dawson 등<sup>9</sup>은 phospholipase가 세포막에 작용하여 해를 주며, 숙주세포에 침습을 용이하게 하므로 이 효소를 분비하는 균주가 질병의 유발을 높일 수 있다고 하고 이들의 주성분은 phospholipase A와 lysophospholipase라 발표하였다. 활성능측정 방법으로는 Price 등<sup>24, 25</sup>은 난황을 함유한 배지에 접종하였을 경우 침전대를 형성하는 균주에 대하여 침점대를 측정하는 방법을 실시하였던 바 혈액배양 예의

**Table 7.** Correlative relationship between phospholipase activity and buccal epithelial cell adherence activity to *Candida albicans*

		Phospholipase activity		Total
		Above 0.67 Pz-value	Below 0.67 Pz-value	
Buccal epithelial cell adherence activity	Above 100 <i>Candida</i> cells attached	9(30.0)	11(36.7)	20( 66.7)
	Below 100 <i>Candida</i> cells attached	8(26.7)	2( 6.7)	10( 33.3)
Total		17(56.7)	13(43.3)	30(100.0)

55%, 외상가검물에서 50%, 뇨가검물에서 30%의 phospholipase 활성능이 있는 균주를 관찰할 수 있었다고 발표하였으며, Samaranyake 등<sup>42)</sup>은 구강내에서 분리한 균주중 71%의 phospholipase 활성균주를 관찰할 수 있었다고 발표하였고, 고 및 박<sup>2)</sup>도 구강내에서 분리한 *Candida* sp. 38주를 대상으로 한 실험결과에서 34주(89.5%)의 phospholipase 활성균을 관찰하고 Pz-값이 0.39~0.91이었으며, Pz-값이 0.5~0.59인 균주가 32.4%로서 수위였고, 다음이 0.60~0.69로서 29.4%의 순이었다고 발표하였다. 이와 본 실험결과를 비교하여 보면 역시 phospholipase 활성균주가 86.7%이었고, Pz-값도 0.51~0.89사이였으며, Pz-값이 0.60~0.69사이의 균주가 46.2%로서 수위였고, 다음이 0.50~0.59사이의 균주가 23%로서 타 연구결과와 대동소이 하였다.

상피세포에의 부착능에 관한 연구결과를 보면 미생물들의 숙주세포에 부착현상은 감염의 첫단계로서 중요한 과정중의 하나이며, *Candida* sp.의 경우에서도 비슷한 양상에 의하여 이는 *Candida* sp. 세포벽의 mannan 성분이 부착현상과 집락형성을 가능케 하는 현상이라 발표하였다<sup>24, 26, 43)</sup>. 부착능 성적을 보면 King<sup>22)</sup>은 인산완충 생리식염수와 조직배양액 TC-199을 배양액으로 하였을 경우 117±25/세포, 113±11/세포의 부착능을 관찰하였다고 하고 Sobel 등<sup>44)</sup>은 인산완충 생리식염수와 Williams 용액을 사용하였을 경우 인산완충 생리식염수에서는 부착능이 거의 없었고, Williams 용액은 23.9±11 세포의 부착능을 나타내었다고 하였다. Kimura 및 Pearsall<sup>28, 29)</sup>은 인산완충 생리식염수와 타액을 이용한 연구결과 100상피세포당 142~209±22~27 세포와 384~640±60~77 세포로 타액에서 우수한 부착능을 나타낸다고 하였다. 그리고 고 및 박<sup>2)</sup>은 생리식염수를 사용시 100상피세포당 207~166±17~29 세포의 부착능을 볼 수 있었다고 주장하였는데 이를 본 실험결과와 비교하여 볼 때 본 실험결과에서도 총 실험균주 30주중 2주는 부착능을 볼 수 없었고, 나머지 균주는 100상피세포당 100개 이상의 *Candida albicans* 부착능을 나타낸 균주가 60%(18주)로서 대부분을 차지하고 있고, 나머지 33%(10주)는 50개 이하의 *Candida albicans* 부착능을 나타내었는데 이는 타 연구자들의 연구결과와 유사한 것이었다.

Proteinase 활성능과 상피세포의 부착능과의

관계를 보면 Ghannoum 및 Elteen<sup>10)</sup>은 57주의 *Candida albicans*를 이용 proteinase 활성능과 구강상피세포와의 부착능을 관찰, 23주가 서로 연관관계를 가지고 있으며, 이중 14주는 마우스에 대하여 치사력을 나타낸다고 하고 이와 같이 부착능이 강한 균주일수록 병원성이 높다고 주장하였다. 이를 본 실험결과와 비교하여 보면 총 30주의 실험균주중 11주(36.7%)가 강한 상피세포에의 부착능을 나타내었으며, proteinase 활성능이 낮은 균주는 상피세포에의 부착능도 낮았다. 이를 미루어 proteinase 활성능과 상피세포 부착능은 서로 연관관계를 가지고 있음을 알 수 있고 이는 타 연구결과와 일치하였다<sup>4, 8, 10, 12, 14, 20, 23, 25, 27, 29, 39, 41, 42, 44)</sup>. 그리고 phospholipase 활성능과의 관계에서는 직접적인 연구결과를 비교할 수는 없었으나, phospholipase 활성능이 강한 균주일수록 proteinase 활성능이 높은 것을 미루어 이것 역시 관계가 있을 것으로 추정되며, 본 실험에서는 phospholipase 활성능이 높으며, 아울러 부착능이 강한 균주는 총 실험균주 30주중 11주이었으며, phospholipase 활성능은 높으나 부착능이 낮은 균주는 2주(6.7%)에 불과하였다. 또한 phospholipase 활성능은 낮으나 부착능이 강한 균주는 9주(30.0%)이었고, 부착능이 낮은 균주는 8주(26.7%)로서 역시 phospholipase 활성능과 상피세포 부착능은 서로 밀접한 관계가 있다는 결과를 얻을 수 있었다. 아울러 proteinase 활성능과 phospholipase 활성능과의 관계를 보면 proteinase 활성능과 phospholipase 활성능이 동시에 나타나는 균주는 26주(86.7%)이었고, 이중 양자의 활성능이 동시에 높은 균주가 18주(60.0%)이었으며, proteinase 활성능이 높으나, phospholipase 활성능이 낮은 균주는 8주(26.7%)이었고 proteinase 활성능은 낮으나 phospholipase 활성능이 높은 균주는 1주뿐으로서 이 역시 두 효소간에는 연관관계를 가지고 있었다.

이상의 실험성적들을 종합하여 볼 때 proteinase 활성능, phospholipase 활성능 및 상피세포에의 부착능은 모두 서로 밀접한 관계를 가지고 있으며, 각각의 효소 활성능이 높은 균주일수록 상피세포에의 부착능이 강하게 나타남을 볼 수 있었다. 이를 토대로 하여 각 효소의 활성능이 강한 균주 및 부착능이 높은 균주들에 대한 실험동물을 통한 병원성의 연구가 좀 더 체계적으로 계속 실시되어야 할 것으로 생각되며 *Candida albicans* 이외의 균주와도 비교 검토되

어야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

*Candida albicans* 30주를 이용하여 이들이 분비하는 proteinase, phospholipase의 활성능을 검사하고 아울러 구강상피세포에의 부착능을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Proteinase 활성능을 조사하기 위하여 bovine-serum-albumin(BSA) 한천배지를 사용하였고, 배양 5 일째의 집락주위의 침전대 용해대 및 amidoblack에 의한 착색여부를 검토 proteinase 활성능을 조사하였으며, 총 실험군주중 20주(66.6%)가 침전대를, 12주(40%)가 용해대를 그리고 10주가 탈색현상을 나타내었다.

2. Phospholipase 활성능을 조사하기 위하여는 효소측정배지를 사용 Pz-값을 측정하므로 검사하였고, 총 실험군주중 26주(86.7%)가 phospholipase를 분비하였으며, Pz-값은 0.51~0.89의 값을 나타내었다. 이중 0.60~0.69 사이의 값을 나타내는 군주가 12주(46.2%)로서 수위였고, 다음 0.50~0.59 사이의 값을 나타내는 군주가 6주(23%)로서 그 다음이었다.

3. 구강상피세포에의 부착능은 100 상피세포당 150세포 이상이 부착된 예는 8주(26.7%)이었고, 100세포-150세포 사이의 부착능을 나타낸 예는 7주(23.8%)이었으나, 10주(33.3%)는 50세포 이하의 부착능을 나타내었다.

4. Proteinase 활성능과 phospholipase 활성능과의 관계를 보면 proteinase 활성능이 높으며, 아울러 phospholipase 활성능이 높은 군주는 18주(60.0%)로서 나타났으며, phospholipase 활성능은 높으나 proteinase 활성능이 낮은 군주는 1주뿐이었다.

5. Proteinase 활성능과 상피세포에의 부착능 관계를 보면 proteinase 활성능이 높으며, 100세포 이상의 상피세포 부착능을 나타낸 군주는 11주(36.7%)로 나타났으며, proteinase 활성능이 낮으며, 아울러 100세포 이하의 상피세포 부착능을 나타낸 군주는 13주(43.3%)이었다.

6. Phospholipase 활성능과 상피세포 부착능과의 관계를 보면 phospholipase 활성능이 높고 100세포 이상의 부착능을 나타내는 군주는 11주(36.7%)이었으며, phospholipase 활성능이 낮으며, 100세포 이하의 부착능을 나타내는 군주는 8주(26.7%)이었다.

이상의 결과를 미루어 proteinase 활성능, pho-

spholipase 활성능 및 상피세포의 부착능과는 서로 밀접한 연관관계를 가지고 있음을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- 1) 고춘명: *Candida albicans*의 상피세포에 대한 부착능과 병원성과의 상관관계에 관한 연구. 대한미생물학회지, **21**:407, 1986.
- 2) 고춘명, 박전환: 구강에서 분리한 *Candida* species의 phospholipase 생성능 측정과 세포화학적 활성위치에 대한 전자현미경적 관찰. 최신의학, **29**:389, 1986.
- 3) Adriano SM and Schwarz J: Experimental moniliasis in mice, *Am. J. Pathol.*, **38**: 859, 1955.
- 4) Banno Y, Yamada T and Nozawa Y: Secreted phospholipase of the dimorphic fungus, *Candida albicans*; separation of three enzymes and some biological properties, *Sabouraudia*, **23**:47, 1986.
- 5) Barrett-Bee K, Hayes Y, Wilson RG and Ryley JF: A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeast, *J. Gen. Microbiol.*, **131**: 1217, 1985.
- 6) Budtz-Jorgensen E: Proteolytic activity of *Candida* spp. as related to the pathogenesis of denture stomatitis, *Sabouraudia*, **12**:266, 1971.
- 7) Chattaway FW, Odds FC and Barlow A JE: An examination of the production of hydrolytic enzymes and toxins by pathogenic strains of *Candida albicans*, *J. Gen. Microbiol.*, **67**:255, 1971.
- 8) Costa AL, Misefari A and Amato A: Enzymatic activities of mycetes, I. Enzymatic activity of *Candida albicans* in egg-yolk containing media, Atti XIV Congresso Nazionale di Microbiologia, *Messina Taorina*, 1987.
- 9) Dawson RMC: The metabolism of phospholipase, *Comparative Biochemistry*, **III**, p. 265, Florin, K(Ed.), *Academy Press*, 1962
- 10) Ghannoum M and Elteen KA: Correlative relationship between proteinase pro-

- duction, adherence and pathogenicity of various strains of *Candida albicans*, *J. Med. Vet. Mycol.*, **24** :407, 1986.
- 11) Hansenclever HF and Mitchell WO: Pathogenicity of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*, *Sabouraudia*, **1** :16, 1961.
  - 12) Hattori M, Yoshiura K, Negi M and Oga-  
wa H: Keratinolytic proteinase produced by *Candida albicans*, *Sabouraudia*, **22**:175, 1984.
  - 13) Hurley R: Experimental infections with *Candida albicans* in modified hosts, *J. Pathol. Bacteriol.*, **12** :57, 1966.
  - 14) Hurley R and Stanley Y: Cytopathic effects of pathogenic and nonpathogenic species of *Candida* on cultured mouse epithelial cells; relation to growth rate and morphology of the fuffgi, *J. Med. Microbiol.*, **2** :62, 1969.
  - 15) Hurley K and Winner HI: *Experimental renal moniliasis in the mouse*, *J. Pathol. Bacteriol.*, **86** :75, 1963.
  - 16) Jawetz E, McInick JL and Adelberg EA: Review of Medical Microbiology, 17th Eds., *Lange Med. Publ.*, 1986.
  - 17) Joklik WK, Willett HP and Amos DB: *Zinsser Microbiology*, 18th Eds., *Appleton-Century-Crofts*, 1984.
  - 18) Kates M: Lipolytic enzymes, In *Lipid Metabolism*, p. 165, Block, K.(Ed.), *John Wiley and Sons*, 1960.
  - 19) Kemp G and Solotorovasky M: Fluorescent studies of pathogenesis in experimental *Candida albicans* infection in mice, *J. Immunol.*, **88** :777, 1962.
  - 20) Kimura LH and Pearsall NN: Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cell, *Infect. Immun.*, **21** :64, 1978.
  - 21) Kimura LH and Pearsall NN: Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells, *Infect. Immun.*, **28** :464, 1980.
  - 22) King RD, Lee JC and Morris AL: Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* spp. to mucosal epithelial cells, *Infect. Immun.*, **27** :667, 1980.
  - 23) Lee JC and King RD: Characterization of *Candida albicans* adherence to human vaginal epithelial cells in vitro, *Infect. Immun.*, **41** :1004, 1983.
  - 24) Louria DB, Bryaton RG and Finkel G: Studies on the pathogenesis of experimental *Candida albicans* infections in mice, *Sabouraudia*, **2** :271, 1963.
  - 25) Macdonald F: Secretion of inducible proteinase by pathogenic *Candida* species, *Sabouraudia*, **22** :79, 1984.
  - 26) Macdonald F and Odds FC: Inducible proteinase of *Candida albicans* in diagnostic serology and in the pathogenesis of systemic candidosis, *J. Med. Microbiol.*, **13** :423, 1980.
  - 27) Macdonald F and Odds FC: Virulence for micr of a proteinase-secreting strain of *Candida albicans* and a proteinase-deficient mutant, *J. Gen. Microbiol.*, **129** :431, 1983.
  - 28) 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.
  - 29) McCourtie J and Douglas LJ: Relationship between cell surface composition, adherence and virulence of *Candida albicans*, *Infect. Immun.*, **45** :6, 1984.
  - 30) Mercer EH and Verma BS: Hair digested by *Trichohophyton mentagrophytes*, *Arch. Dermatol.*, **87** :357, 1963.
  - 31) Miyazaki H, Seiji M and Takagi Y: Electron-microscopic study on fungi in horny layer, *J. Dermatol. (Tokyo)*, **76** :265, 1966.
  - 32) Negi M, Tsuboi R, Matsue T and Oga-  
wa H: Isolation and characterization of proteinase from *Candida albicans*; substrate specificity, *J. Invest. Dermatol.*, **83** :32, 1984.
  - 33) Odds FC: *Candida and Candidosis*, Leicester Univ. Press, *Leicester*, 1979.
  - 34) Price MF and Cawson RA: Phopholipase activity in *Candida albicans*, *Sabouraudia*, **15** :179, 1977.
  - 35) Price MF, Wilkinson ID and Gentry LO:



- Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*, *Sabouraudia*, **20**:7, 1982.
- 36) Pugh D and Cawson RA: The cytochemical localization of phospholipase A and lysophospholipase in *Candida albicans*, *Sabouraudia*, **13**:110, 1975.
  - 37) Remold H, Fasold H and Staib F: Purification and characterization of a proteolytic enzyme from *Candida albicans*, *Biochim. Biophys. Acta*, **167**:399, 1968.
  - 38) Richardson MD and Smith H: Production of germ tubes by virulent and attenuated strains of *Candida albicans*, *J. Infect. Dis.*, **144**:565, 1981.
  - 39) 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.
  - 40) Ruchel R: Properties of a purified proteinase from the yeast *Candida albicans*, *Biochem. Biophys. Acta*, **659**:99, 1981.
  - 41) Ruchel R, Tegeler T and Trost M: A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*, *Sabouraudia*, **20**:233, 1982.
  - 42) Samaranayake LP and MacFarlane TW: The adhesion of the yeast *Candida albicans* to epithelial cells of human origin in vitro, *Arch. Oral Biol.*, **261**:815, 1981.
  - 43) 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.
  - 44) 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.
  - 45) Sobel JD, Myers PG, Kaye O and Levi-son ME: Adherence of *Candida albicans* to human vaginal and epithelial cells, *J. Infect. Dis.*, **143**:76, 1981.
  - 46) Staib F: Serum proteins as nitrogen source for yeast-like fungi, *Sabouraudia*, **4**:187, 1965.
  - 47) Yu RJ, Harmon SR and Blank F: Isolation and purification of an extracellular keratinase of *Trichophyton mentagrophytes*, *J. Bacteriol.*, **96**:1435, 1968.
  - 48) Yu RJ, Harmon SR, Grappel SF and Blank F: Two cell-bound keratinases of *Trichophyton mentagrophytes*, *J. Invest. Dermatol.*, **56**:27, 1971.
  - 49) Yu RJ, Harmon SR, Wachter PE and Blank F: Amino acid composition and specificity of a keratinase of *Trichophyton mentagrophytes*, *Arch. Biochem. Biophys.*, **135**:363, 1969.