

## 매독균이 혈관 내피세포 표면 유착 분자 발현에 미치는 영향

최현주 · 이광훈 · 이민걸 · 이정복

연세대학교 의과대학 피부과학교실

### **Expression of Cell Adhesion Molecules by Virulent *Treponema Pallidum***

Hyun-Joo Choi, Kwang Hoon Lee, Min-Geol Lee, and Jung Bock Lee

*Department of Dermatology, Yonsei University College of Medicine,  
 Seoul, Korea*

Syphilis is a chronic, systemic, sexually transmitted disease caused by the spirochetal bacterium *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*(*T. pallidum*). Histopathologically, perivasculitis and endothelial cell abnormalities are observed. In inflammatory and immune reactions, vascular endothelial cells act as key effectors. In such reactions the binding of leukocytes to endothelial cells is governed by the expression of cell adhesion molecules such as intercellular cell adhesion molecule-1(ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1) and E-selectin. Their expressions are regulated by biological response modifiers.

The purpose of the present study is to observe the changes of the expression of ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin on human dermal microvascular endothelial cells(HDMEC) following incubation with either virulent *T. pallidum* or non-pathogenic treponemes. The immunofluorescence flow cytometry and the enzyme-linked immunosorbent assay were used to check the expression of adhesion molecules on HDMEC.

The expression of ICAM-1 on HDMEC was increased significantly after stimulation with virulent *T. pallidum* and the expression of VCAM-1 and E-selectin were also induced. These expressions were increased in a dose dependent manner with increasing cell number of *T. pallidum*. But we did not find any difference of expressions of adhesion molecules after stimulation with non-pathogenic treponemes such as *T. phagedenis*, *T. refringens* and *T. denticola* or heat-inactivated *T. pallidum*.

These data suggest that virulent *T. pallidum* is capable of stimulating HDMEC to increase the expression of ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin on their membranes and this process may play an important role in the immunopathogenesis of syphilis.

**Key word :** *T. pallidum*, Human dermal microvascular endothelial cells, Cell adhesion molecules

\* 이 연구는 1994년도 한국과학재단의 연구비 지원에 의한 결과임(과제번호:94-0403-02-02-3).

저자연락처 : 최현주, 서울시 서대문구 신촌동 134, 연세대학교 의과대학 피부과학교실, Tel (02)361-5720 / Fax (02)393-9157

## 서 론

매독은 *Treponema pallidum*(*T. pallidum*)에 의해 피부궤양, 다양한 피부발진, 심혈관계의 이상 초래 등 다양한 임상양상을 보이는 만성 성인성 질환(성병)이다<sup>1</sup>. 매독의 면역병리와 감염기전에 대해서는 확실히 밝혀져 있지 않으나, 선천성 매독의 태반염과 매독의 많은 합병증이 직접적으로 혈관병변으로부터 기인하며, 병리조직학적으로 혈관내피세포 부종과 혈관주위염 및 혈전증의 소견을 보인다. 따라서 혈관 변화에 관한 세포분자적 연구는 매독 발병기전을 이해하는데 중요하다고 하겠다<sup>1,2</sup>.

매독 병변이 유발되려면 매독균에 대한 면역반응이 일어나고, 림프구를 비롯한 염증세포가 병변 부위로 유주하여야 한다. 혈관 내피세포는 혈관의 가장 내측에 위치하기 때문에 혈관강내의 염증세포와 일차적으로 접해있음으로써 백혈구 이동 및 복귀에 중요한 역할을 한다. 순환하는 백혈구가 혈관내로부터 항원이 있는 조직으로 이동하려면 첫 단계로 반드시 혈관 내피세포에 유착하여야 한다<sup>3</sup>. 염증세포와 혈관 내피세포 간의 유착은 세포유착분자에 의해 증개되며<sup>4,5</sup>, 혈관 내피세포 표면에 발현되는 intercellular cell adhesion molecule-1(ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1), E-selectin 등의 세포유착분자가 T 림프구와 혈관 내피세포의 유착을 증개하는 것으로 밝혀져 있다<sup>3,6,8</sup>.

이에 본 연구에서 배양한 인체 진피 미세혈관 내피세포(human dermal microvascular endothelial cells: HDMEC)에 매독균을 처리한 다음 면역형광 유량 세포분석(immunofluorescence flow cytometric analysis)과 효소 면역표지법(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA)으로 HDMEC 표면 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자의 발현 변화를 관찰하여 이들이 매독균 감염의 발병기전에 미치는 역할을 관찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 대상

#### 1) 실험균주

표준균주로는 미국 Centers for Disease Control(CDC, Atlanta, GA, U.S.A.)에서 제공받아 토끼의 고환에 계대 접종하여 보존해 오던 *T. pallidum* Nichols strain을 사용하였다. 비교균주로서 *T. phagedenis* biotype Reiter(CDC), *T. refringens* biotype Noguchi(ATCC, Rockville, MD, U.S.A.), *T. denticola* biotype MRB(ATCC)를 가열비동화한 10% 정상 토끼 혈청을 섞은 thioglycollate 액체 배지에 넣어 배양하였다. 37℃에서 3-5일 마다 새로운 배지에 계대 배양하여 10,000×g로 20분간 원심 원침시켜 얻은 침전물을 취하여 암시야 현미경하에서 *T. pallidum* 수를 측정하였다.

*T. denticola* biotype MRB(ATCC)를 계대 배양하여 사용하였다.

#### 2) 실험동물

체중 2.5 kg 내외의 흰색 가토를 실험 동물로 사용하여 실험 전 2주 이상 동물실 환경에 적응케 하고 항생제가 포함되지 않은 비지를 사료로 사용하였다. 가토의 혈청에서 RPR 검사(Hynson, Wescott and Dunhing, Baltimore, MD, U.S.A.)와 TPHA 검사(Fujizoki Pharmaceutical Co. Ltd., Tokyo, Japan)를 실시하여 음성 반응을 보인 가토를 실험 동물로 사용하였다.

#### 2. 실험방법

##### 1) 실험균주 분리 배양

정상 토끼 혈청(Gibco Laboratories, Grand Island, NY, U.S.A.)과 생리식염수가 각각 동량으로 섞인 용액에 2-3×10<sup>7</sup>/ml의 *T. pallidum*이 함유된 부유액 1 ml씩을 매독혈청 검사 음성인 토끼의 양측 고환에 주사한 10일 후에 고환염이 유발된 토끼 고환을 적출하여 절개한 다음 고환 내부 조직을 잘게 썰고 정상 토끼 혈청과 생리식염수 각각 5 ml를 혼합하여 만든 용액내에 옮겨 10분간 진탕하였다. 토끼 고환을 제외한 용액을 취하여 1,000×g로 5분간 원침시켜 얻은 상청액을 Percoll을 이용한 밀도구배 원심분리를 시행하여 *T. pallidum*을 분리하였다<sup>9</sup>. 즉 43% Percoll (Pharmacia Fine Chemicals AB, Uppsala, Sweden) 용액 16 ml를 polycarbonate 원침판에 넣고 상단에 상청액 8 ml를 가한 후, 70 Ti rotor(Beckman Instruments Inc., Palo, CA, U.S.A.)를 이용하여 4℃에서 34,000×g로 30분간 원침시켰다. 원침시킨 후 나타나는 2개의 층층 아래층을 다른 원침판에 옮기고 나서 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)로 27 ml 되게 채우고 4℃에서 100,000×g로 1시간 동안 원침시켜 침전물을 취하여 암시야 현미경하에서 *T. pallidum* 수를 측정하였다.

비교균주로서 *T. phagedenis* biotype Reiter(CDC), *T. refringens* biotype Noguchi(ATCC, Rockville, MD, U.S.A.), *T. denticola* biotype MRB(ATCC)를 가열비동화한 10% 정상 토끼 혈청을 섞은 thioglycollate 액체 배지에 넣어 배양하였다. 37℃에서 3-5일 마다 새로운 배지에 계대 배양하여 10,000×g로 20분간 원심 원침시켜 얻은 침전물을 항원으로 사용하였다.

##### 2) HDMEC 분리 배양

신생아 포피를 3 mm 크기의 소절편으로 잘게 잘라

0.03% trypsin(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.) 및 1% ethylenediamine tetracetic acid(EDTA, Sigma)가 함유된 PBS로 37°C에서 10분간 처리한 후 scalpel blade 옆면을 이용하여 각각의 소절편을 놀려 절단면으로부터 미세혈관편이 빠져 나오도록 하였다. Hank's balanced salt solution(HBSS)으로 혼합한 35% Percoll 용액을 원침관에 넣고 4°C, 30,000×g에서 10분간 원침하여 밀도구배를 만든 다음 상단에 미세혈관편이 함유된 용액 1 ml를 가한 후 실온에서 400×g로 15분간 원침시켰다. 밀도 1.048 g/ml 이하의 분획(원침시킨 후 나타나는 중간의 백색층)을 다른 원침관에 옮기고 HBSS로 채워 실온에서 400×g로 15분간 다시 원침시킨 후 그 침전물을 미리 gelatin(Sigma)을 처리한 조직 배양용기에 넣고 1 ng/ml epidermal growth factor (Clonetics Corp., San Diego, CA, U.S.A.), 1 μg/ml hydrocortisone acetate(Sigma), 5 × 10<sup>-5</sup>M dibutyryl cyclic AMP (Sigma), 2 × 10<sup>-9</sup>M glutamine(Sigma), 100 U/ml penicillin, 100 μg/ml streptomycin, 250 μg/ml amphotericin B(Sigma), 30% 인체 AB 혈청이 함유된 endot helial basal media(Clontech Corp., San Diego, CA, U.S.A.)로 37°C, CO<sub>2</sub> 항온기에서 배양하였다. 배양용기에 부착된 후 역위상차현미경(inverted phase contrast microscope)하에서 내피세포의 다른 세포들을 멀균 소독된 25 게이지 주사침으로 제거하였다. 형태학적검사 및 면역형광검사를 시행하여 배양된 세포가 순수함을 확인한 후 2-8 계대의 HDMEC을 실험에 사용하였다. 형태학적 검증은 역위상차현미경으로 평가하였으며, von Willebrand's factor (vWF)의 발현은 면역형광검사로 평가하였다. 세포배양유리(Lab Tek Chamber®, Miles Lab., Naperville, IL, U.S.A.)에서 배양된 HDMEC을 100% 메탄올로 영하 20°C에서 10분간 고정시킨 후 1:40으로 희석한 rabbit anti-human vWF (anti-factor VIII-associated antigen, Behring Diagnostics, La Jolla, CA, U.S.A.)를 넣고 30분간 반응시킨 다음 fluorescein isothiocyanate(FITC)-conjugated goat anti-rabbit IgG (Sigma)와 30분간 반응시키고, 면역형광현미경으로 관찰하였다.<sup>10</sup>

### 3) 면역형광 유량 세포분석

배양배지 또는 매독균을 첨가한 후 37°C에서 적정시간 배양한 HDMEC 단층을 5 mM EDTA와 1% bovine serum albumin(BSA)이 함유된 HBSS로 조직 배양판으로부터 수집하여 HBSS로 3회 세척 후 항체염색을 위해 각 시험관으로 분주하였다. 0.5% BSA가 함유된 PBS(BSA-PBS)로 적절히 희석한 단클론 항체 84H10(anti-ICAM-1, Immunotech Inc.,

Westbrook, ME, U.S.A.), 51-10C9(anti-VCAM-1, Pharminogen, San Diego, CA, U.S.A.), 및 1.2B6(anti-E-selectin, Immunotech Inc.)를 각 시험관에 10 μl씩 넣은 후 얼음속에서 30분간 반응시키고 BSA-PBS로 3회 세척 후 BSA-PBS를 이용하여 1:20으로 희석한 FITC-conjugated goat anti-mouse IgG(Fab)'2 (Sigma)를 넣고 30분간 반응시켰다. BSA-PBS로 다시 3회 세척한 후 fluorescence activating cell sorter(FACStar, Becton-Dickinson, Lincoln, NJ, U.S.A.)를 이용하여 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현양상을 측정하였다. Propidium iodide(Sigma)로 죽은 세포를 처리하여 구별하였다.

### 4) 효소 면역 표지법

바닥이 편평한 폴리스티렌 배양용기에 well당 4 × 10<sup>4</sup> 세포의 HDMEC을 넣고 배양한 후 37°C에서 100 U/ml TNF-α (Amgen Biologicals, Thousand Oaks, CA, U.S.A.)를 첨가하거나 혹은 *T. pallidum*, 56°C에서 30분간 처리하여 비활성화시킨 *T. pallidum*, 비병원성 매독균인 *T. phagedenis*, *T. refringens* 또는 *T. denticola* 등을 첨가한 다음 미호기성(microaerophilic) 조건하 37°C에서 적정시간 배양하였다. 적절하게 희석된 단클론 항체를 각 well에 넣고 37°C에서 1시간 반응시켰다. HBSS로 3회 세척한 후 peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG(Sigma)를 5% 우테아 혈청(Gibco)이 함유된 HBSS로 1:1,000 희석시킨 용액과 37°C에서 1시간 반응시킨 다음, HBSS로 3회 세척 후 상온의 암실에서 기질과 반응시켰다. 기질은 100 mg의 tetramethylbenzidine (Sigma)을 10 ml의 아세톤에 섞어 stock solution을 만들고, 사용 직전 100 μl 기질 stock solution을 10 ml 증류수에 넣고 1 μl 30% 과산화수소를 첨가하여 잘 혼합한 다음 100 μl 씩을 각 well에 넣었다. 25 μl 8N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>씩을 떨어뜨려 반응을 중지시켰고, ELISA reader(Dynatech Laboratories Inc., Alexandria, VA, U.S.A.)로 450 nm에서 HDMEC 표면 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현 정도를 판독하였다.

### 3. 통계처리

본 실험의 측정수치는 평균±표준편차로 표시하였다. 세포유착분자의 발현 결과의 통계학적 분석은 반복측정된 자료의 분산분석법(repeated measures analysis of variance)으로 검정하였으며, p값은 0.05 미만인 경우에 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. HDMEC 배양배지에서 *T. pallidum*의 생존율

토끼 고환에서 10일간 배양하여 얻어지는 *T. pallidum*의 수는 토끼 마리당  $2\text{--}8 \times 10^8/\text{ml}$ 이었다. Percoll 밀도구배 원심분리법에 의해 분리된 *T. pallidum*은 37°C, 미호기성 조건의 항온배양기에서 여러 성장 보조인자 및 30% 인체 AB 혈청이 함유된 endothelial basal media로 배양시 16시간까지 70% 이상의 생존율을 보였다(그림 1).

### 2. 병원성 매독균의 처치용량에 따른 HDMEC 표면 유착 분자의 발현변화

HDMEC에  $1.5 \times 10^6/\text{ml}$  *T. pallidum*을 첨가하고 16시간 배양한 후 HDMEC 표면 ICAM-1 분자 발현이 증가하였다. 자극하지 않은 HDMEC 표면에서는 VCAM-1과 E-selectin 분자 발현을 관찰할 수 없었으며,  $1.5 \times 10^6/\text{ml}$  *T. pallidum*을 첨가하고 16시간 배양한 후 VCAM-1과 E-selectin 분자 발현을 관찰할 수 있었다.  $1.5 \times 10^7/\text{ml}$  *T. pallidum*을 첨가하고 배양한 HDMEC 표면 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현은  $1.5 \times 10^6/\text{ml}$  *T. pallidum*을 첨가시 유착분자의 발현에 비해 *T. pallidum*의 수에 비례하여 모든 유착분자 발현이 증가하였다(그림 2). 면역형광 유량 세포분석에서도  $1.5 \times 10^7/\text{ml}$  *T. pallidum*

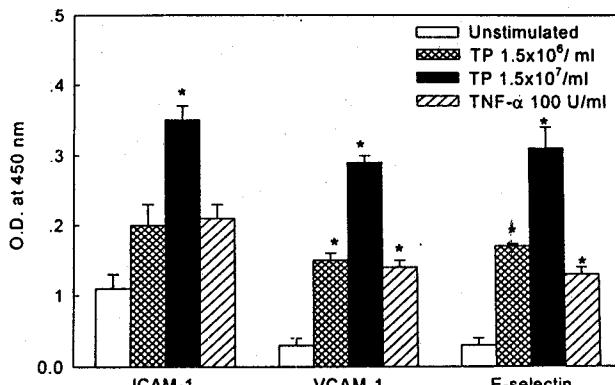


Fig. 2. Dose-dependent expression of cell adhesion molecules on HDMEC in responses to *T. pallidum*. \*, significantly different from control( $p<0.05$ ) ; TP, *T. pallidum*.

을 첨가하고 16시간 배양한 후 HDMEC 표면에서 ICAM-1 분자의 발현이 증가하였으며, VCAM-1과 E-selectin 분자 발현을 관찰할 수 있었다(그림 3).

### 3. 비병원성 매독균에 의한 HDMEC 표면 유착분자의 발현변화

비병원성 매독균인 *T. phagedenis*, *T. refringens* 또는 *T. denticola*를 첨가하고 배양한 HDMEC에서는 자극 전에 비해 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현의 유의한 변화를 관찰할 수 없었다(그림 4).

### 4. 비활성화시킨 매독균에 의한 HDMEC 표면 유착분자의 발현변화

56°C에서 30분간 열처리하여 비활성화시킨 *T. pallidum*을 첨가하고 배양한 HDMEC에서 자극 전에 비해 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현의 유의한 변화를 관찰할 수 없었으며, 정상 토끼 혈청 혹은 정상 토끼 고환 조직을 첨가하고 배양한 HDMEC 표면에서도 자극 전에 비해 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현의 유의한 변화를 관찰할 수 없었다(그림 5).

## 고 찰

병원성 매독균을 주사하여 유발시킨 고환조직과 피부병변에서 초기단계에는 T 림프구가 침윤되고 병변의 회복시기에는 대식세포가 침윤하여 매독균을 파괴한다<sup>11,12</sup>. 숙주에 침입한 매독균은 모낭, 기모근 및 피신경 내에 숨어서 숙주의 매독균에 대한 면역학적 대응을 피하기 때문에 조

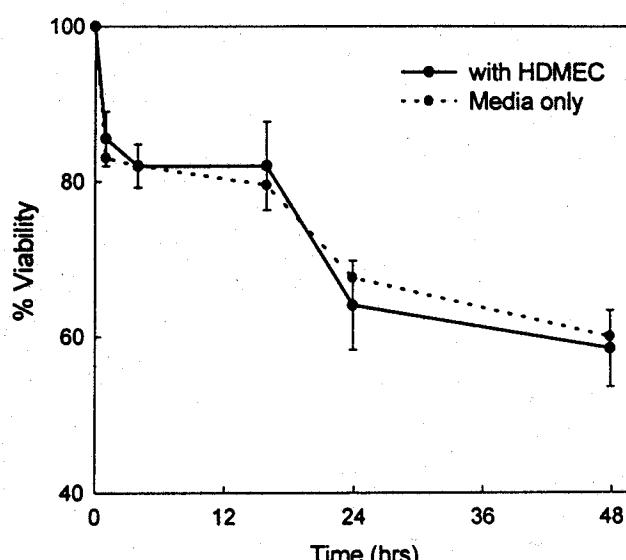
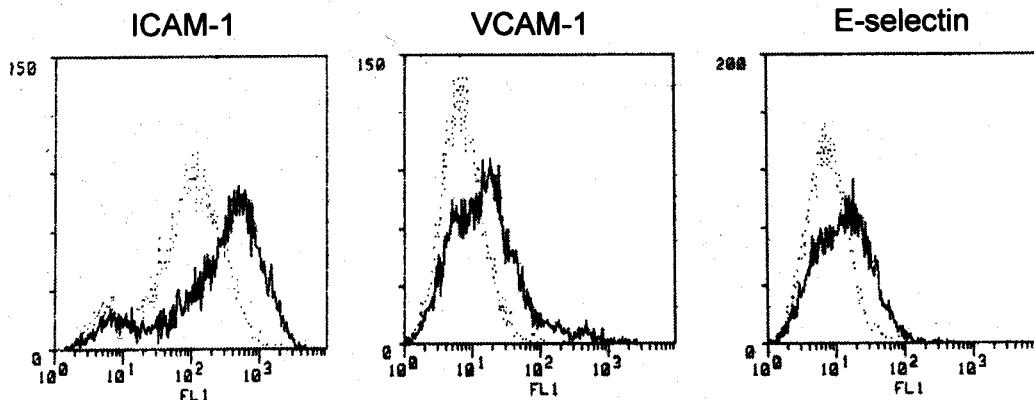
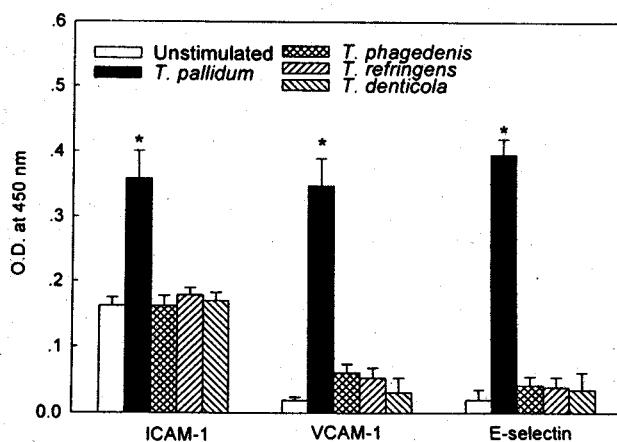


Fig. 1. Time course of survival rates of *T. pallidum* in culture media of HDMEC.

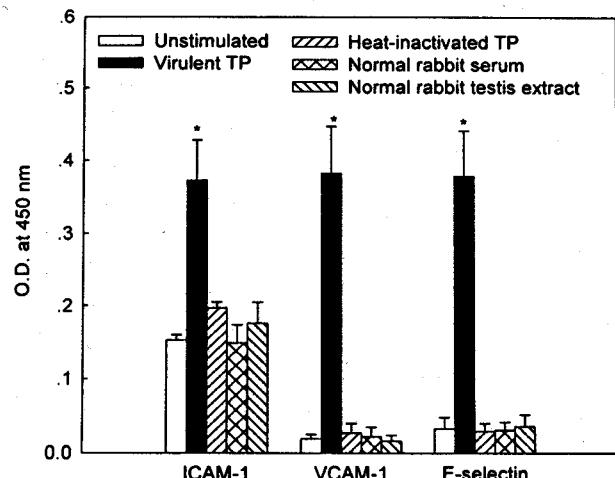


**Fig. 3.** Immunofluorescence flow cytometric analysis of the expression of cell adhesion molecules on HDMEC in response to *T. pallidum*.

… ; unstimulated, — ; stimulated with *T. pallidum*.



**Fig. 4.** Regulation of the expression of cell adhesion molecules on HDMEC in responses to pathogenic or non-pathogenic treponemes. \*, significantly different from control ( $p<0.05$ )



**Fig. 5.** Regulation of the expression of cell adhesion molecules on HDMEC by heat-inactivated *T. pallidum*. \*, significantly different from control ( $p<0.05$ ) ; TP, *T. pallidum*.

직내의 매독균에 대해서는 체액성 면역이 작동되지 못한다. 따라서 조직내의 매독균에 대해서는 T 림프구에 의해 활성화된 대식세포에 의해 매독균을 파괴하는 세포매개성 면역이 매독의 방어기전에 효과적이다<sup>13</sup>.

*T. pallidum*의 계대배양은 토끼나 햄스터 등의 생체에서는 가능하지만 체외배양은 힘든 것으로 알려져 있다. 매독균은 무호기성 균주로 분류되어 있으나 체외배양시 호기성 조건에서 활동성과 병원성을 유지하며 산소 농도 1-20%의 호기성 또는 미호기성 조건에서 적절한 대사 활성도를 유지한다<sup>14,15</sup>.

Riley 등은 배양한 인체 제대정맥 내피세포(human umbilical vein endothelial cells: HUVEC)을 이용한 매독균의 투과실험에서 산소 농도 4.5%와 이산화탄소 농도 5% 조건에서 매독균의 혈관 내피세포 투과력을 관찰하였다<sup>16</sup>. 본 연구에서 HDMEC과 매독균을 함께 배양하였을 때 나타나는 세포유착분자의 발현변화를 관찰하기 위해 매독균의 체외배양 조건을 찾기 위한 예비실험을 시행하였다. 산소 농도 5% 이하의 미호기성 조건에서 무호기성 조건에 비해 생존율이 높았고, 37°C 미호기성 조건 하의 HDMEC 배양액에서 16시간까지 70% 이상 생존하였으며, 그 후에

는 급격히 생존율이 감소하여 본 실험에서는 HDMEC에 매독균을 16시간 처치하였다. 이러한 실험결과는 향후 *T. pallidum*을 이용한 *in vitro* 실험 모형으로서 기여하리라 생각된다.

배양한 HUVEC을 이용한 연구에서 *Borrelia burgdorferi*를 처치한 후 자극전에 비해 HUVEC 표면 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자의 발현이 증가하는 것을 관찰하고 *B. burgdorferi*가 혈관 내피세포를 활성화시켜 숙주의 면역반응을 유발한다고 하였다<sup>17,18</sup>. 또한 병원성 *T. pallidum*을 처치한 후 HUVEC 표면에서 ICAM-1 분자의 발현증가를 관찰한 연구에서는 병원성 *T. pallidum*에 의해 증가된 ICAM-1 분자의 발현이 매독의 병리기전에 관여할 것을 시사하였다<sup>16</sup>.

특정조직의 미세혈관으로부터 유래된 내피세포는 대혈관 내피세포와 많은 차이가 있음이 알려지고 있다<sup>19,20</sup>. 생물학적 반응 조절물질(biologic response modifiers: BRM)에 의한 세포유착분자의 발현조절에도 차이가 있고, 백혈구의 복귀(homing)는 미세혈관 부위에서 일어나며, 조직 특이성의 발현양상을 갖는 세포유착분자가 이 과정을 중개한다<sup>10,21</sup>. 본 연구에서는 매독균이 주로 피부 및 점막을 통해 감염되고 매독병변이 피부에 가장 흔히 발생하는 점에 착안하여 피부로부터 분리 배양한 HDMEC을 사용하였다.

ICAM-1 분자는 정상 상태에서도 혈관 내피세포 표면에 미약하게 발현되며, interleukin-1(IL-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 또는 interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 등의 BRM의 자극에 의해 발현이 현저히 증가한다. VCAM-1 분자는 자극되지 않은 상태의 혈관 내피세포 표면에서는 관찰되지 않으나 IL-1 또는 TNF- $\alpha$  등에 의해 발현이 유도되는 당단 백으로서 ICAM-1 분자와 함께 immunoglobulin supergene family에 속한다. E-selectin 분자는 시험판 내에서 자극되지 않은 상태의 내피세포에서는 관찰되지 않으며, IL-1, TNF- $\alpha$ , 또는 lipopoly-saccharide (LPS) 자극으로 HUVEC에서 발현을 유도할 수 있다. 활성화된 혈관 내피세포 표면에 발현되는 ICAM-1, VCAM-1 또는 E-selectin 분자는 염증반응과 면역반응에서 염증세포와 혈관 내피세포간의 유착 및 염증세포의 유주에 관여한다<sup>22-24</sup>.

본 연구에서 매독균에 의해 HDMEC이 활성화되어 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현이 증가함을 관찰하였다. 비병원성 매독균을 처치한 후나 *T. pallidum*을 비활성화시킨 후에는 유착분자의 발현변화를 관찰할 수 없었는데 이는 매독균에 의한 HDMEC의 활성 유발이 매독균의 병원성과 활성도에 좌우됨을 시사한다. 정상 토끼 혈청과 정상 토끼 고환조직을 처리한 후 HDMEC 표면 유

착분자의 발현변화를 관찰할 수 없어 유착분자의 발현변화가 매독균을 분리배양한 토끼 조직이나 혈청에서부터 유래한 효과가 아님을 확인할 수 있었다. 매독균이 직접적으로 혈관 내피세포 표면 유착분자의 발현을 유도하는지, 매독균에 의해 활성화된 혈관 내피세포에서 분비된 BRM이 세포유착분자 발현을 유도하는지는 아직 알려져 있지 않다. 매독균 표면 지단백질이 대식세포를 활성화시켜 TNF를 생성하게 하고 제2형 조직적합성복합체의 발현을 유도하는 것이 알려져 있고<sup>16,25</sup>, 본 연구에서 TNF- $\alpha$ 로 자극한 HDMEC에서 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자의 발현이 증가함을 관찰하였는데 이는 매독균에 의한 HDMEC 표면 유착분자의 발현변화가 매독균에 의해 활성화된 혈관 내피세포에서 분비된 TNF- $\alpha$  등의 BRM에 의해 유도됨을 시사한다. 따라서 매독균에 의해 활성화된 혈관 내피세포에서 생성되는 BRM에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 매독균에 의한 HDMEC 표면 유착분자의 발현변화는 염증세포와 혈관 내피세포 간의 유착을 조절함으로써 매독 병변의 발생에 기여할 것으로 생각되며 매독균에 의한 HDMEC 표면 유착분자의 발현변화와 HDMEC-림프구 간의 유착 변화의 상관성에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 결 롬

매독균 감염이 매독균의 발병기전에 미치는 역할을 알아보자 매독균 처치 후 HDMEC 표면 세포유착분자 발현변화를 면역형광 유량 세포분석과 효소 면역표지법을 이용, 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. *T. pallidum*을 첨가하고 배양한 HDMEC 표면에서 ICAM-1 분자 발현이 자극 전에 비해 유의하게 증가하였고 VCAM-1과 E-selectin 분자 발현이 관찰되었으며, 모든 유착분자의 발현은 첨가한 *T. pallidum*의 수에 비례하여 증가하였다.
  2. 비병원성 균주인 *T. phagedenis*, *T. refringens*, *T. denticola*을 첨가하고 배양한 HDMEC 표면에서 자극 전에 비해 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현의 유의한 변화를 관찰할 수 없었다.
  3. 비활성화시킨 *T. pallidum*을 첨가하고 배양한 HDMEC 표면에서 자극 전에 비해 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현의 유의한 변화를 관찰할 수 없었다.
- 이상의 결과로 보아 병원성 매독균이 인체 진피 미세혈관 내피세포 표면 ICAM-1, VCAM-1 및 E-selectin 분자 발현의 변화를 유도함으로써 매독의 면역학적 발병기전에

관여할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Sanchez MR, Luger AFH. *Syphilis*. In Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, et al. eds. *Dermatology in General Medicine*. 12th ed. New York, McGraw-Hill Inc., 1993:2703-42
2. Fojaco RM, Hensley GT, Moskowitz L. *Congenital syphilis and necrotizing funisitis*. JAMA 1989;261:1788-90
3. Osborn L. *Leukocyte adhesion to endothelium in inflammation*. Cell 1990;62:3-6
4. Stoolman LM. *Adhesion molecules controlling lymphocyte migration*. Cell 1989;56:907-10
5. Springer TA. *Adhesion receptors of the immune system*. Nature 1990;346:425-34
6. Dustin ML, Springer TA. *Lymphocyte function associated antigen-1(LFA-1) interaction with intercellular adhesion molecule(ICAM-1) is one of at least three mechanisms for T lymphocyte adhesion to cultured endothelial cells*. J Cell Biol 1988;107:321-31
7. Shimizu Y, Shaw S, Gruber N, et al. *Activation-independent binding of human memory T cells to adhesion molecule ELAM-1*. Nature 1991;349:799-802
8. Lee KH, Chung KY, Koh YJ. *Memory T lymphocytes' adherence to interferon gamma-activated human dermal microvascular endothelial cells via E-selectin*. J Dermatol Sci 1995;10:166-75
9. Hanff PA, Norris SJ, Lovett MA, Miller JN. *Purification of Treponema pallidum, Nichols strain by Percoll density gradient centrifugation*. Sex Transm Dis 1984;11:275-86
10. Lee KH, Lawley TJ, Xu Y, et al. *VCAM-1-, ELAM-1-, and ICAM-1-independent adhesion of melanoma cells to cultured human dermal microvascular endothelial cells*. J Invest Dermatol 1992;98:79-85
11. Sell S, Baker-Zander SA, Powell HC. *Experimental syphilitic orchitis in rabbits: ultrastructural appearance of Treponema pallidum during phagocytosis and dissolution by macrophages in vivo*. Lab Invest 1982;46:355-78
12. Lukehart SA, Baker-Zander BA, Sell S. *Characterization of the humoral immune response of the rabbit to antigens of Treponema pallidum after experimental infection and therapy*. Sex Transm Dis 1986;13:9-15
13. Sell S, Hsu PL. *Delayed hypersensitivity, immune deviation, antigen processing and T-cell subset selection in syphilis pathogenesis and vaccine design*. Immunol Today 1993;14: 576-80
14. Rathlev T. *Investigations on in vitro survival and virulence of T. pallidum under aerobiosis*. Brit J vener Dis 1975;51: 296-300
15. Baseman JB, Nichols JC, Hayes NS. *Virulent Treponema pallidum: Aerobe or Anaerobe*. Infect Immun, 1976;13:704-11
16. Riley BS, Oppenheimer-Marks N, Hansen EJ, et al. *Virulent Treponema pallidum activates human vascular endothelial cells*. J Infect Dis 1992;165:484-93
17. Sellati TJ, Burns MJ, Ficazzola MA, et al. *Borrelia burgdorferi upregulates expression of adhesion molecules on endothelial cells and promotes transendothelial migration of neutrophils in vitro*. Infect Immun 1995;63:4439-47
18. Radolf JD, Norgard MV. *Borrelia burgdorferi upregulates expression of adhesion molecules on endothelial cells and promotes transendothelial migration of neutrophils in vitro*. Infect Immun 1995;63:4439-47
19. Swerlick RA, Lee KH, Li SJ, et al. *Regulation of vascular cell adhesion molecule 1 on human dermal microvascular endothelial cells*. J Immunol 1992;149:698-705
20. Fujimoto T, Singer SJ. *Immunocytochemical studies of endothelial cells in vivo. II. Chicken aortic and capillary endothelial cells exhibit different cell surface distributions of the integrin complex*. J Histochem Cytochem 1988;36: 1309-17
21. Berg EL, Goldstein LA, Jutila MA, et al. *Homing receptors and vascular addressins: cell adhesion molecules that direct lymphocyte traffic*. Immunol Rev 1989;108:5-18
22. Stauton DE, Dustin ML, Springer TA. *Functional cloning of ICAM-2, a cell adhesion ligand for LFA-1 homologous to ICAM-1*. Nature 1989;339:61-3
23. Osborn L, Hesslion C, Tizard R, et al. *Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule-1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes*. Cell 1989;59:1203-11
24. Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA, et al. *Endothelial leukocyte adhesion molecule-1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins*. Science 1989;243:1160-5
25. Radolf JD, Norgard MV, Brandt ME, et al. *Lipoproteins of Borrelia burgdorferi and Treponema pallidum activate cathepsin/tumor necrosis factor synthesis: analysis using a CAT receptor construct*. J Immunol 1991;147:1968-74