

## 단세포균 항체를 이용한 *Chlamydia trachomatis*의 면역형 결정

한양대학교 의과대학 임상병리학교실

윤 규 석 · 김 덕 언 · 최 태 열

= Abstract =

### Immunotyping of *Chlamydia trachomatis* by Monoclonal Antibodies

Kyoo-Seok Yoon, M.D., Deog-Un Kim, M.D. and Tae-Yeal Choi, M.D.

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

An immunotyping of 27 strains of *Chlamydia trachomatis* isolated from patients with non-gonococcal urethritis or pelvic inflammatory diseases in Korea was achieved in dot-enzyme linked immunosorbent assay (dot-ELISA) with monoclonal antibodies. Monoclonal antibodies were produced with standard techniques by immunization of Balb/c mice and fusion with SP 2/0 myeloma cell. Seven type-specific (D,E,F,H,I,J,L<sub>2</sub>), 2 subspecies-specific (B-complex, C-complex) and species-specific (HMC 1-1) monoclonal antibodies were used for immunotyping. Immunotyping of 12 control strains and 27 clinical strains isolated in Korea was studied by using dot-ELISA.

Species-specific (HMC 1-1) monoclonal antibody reacted with all control strains and 27 isolated. Subspecies-specific (B-complex) monoclonal antibody reacted with B/HAR-36, Ba/Aphach-2, D/UW-3Cx, E/Bour, LGV type I/440, LGV type II/CDC control strains and 19 isolates. Type-specific monoclonal antibody of D was reacted with D/UW-3/Cx control strain and 10 isolates. E type-specific monoclonal antibody reacted with E/Bour control strain and 6 isolates. F type-specific monoclonal antibody reacted with 5 isolates. Three isolates which reacted with subspecies-specific monoclonal antibody didn't react with any type-specific monoclonal antibodies. Subspecies-specific (C-complex) monoclonal antibody reacted with A/HAR-13, C/CDC, H/UW-43/Cx, J/UW-36/Cx control strains and 2 clinical isolates, but the isolates did not react with any type-specific monoclonal antibodies. One of 27 isolates reacted with any type-specific monoclonal antibodies. One of 27 isolates reacted with species-specific (HMC 1-1) monoclonal antibody didn't react with any other subspecies-and type-specific monoclonal antibodies.

In conclusion, the major immunotypes of *C. trachomatis* from urogenital system in Korea were D, E and F, and dot-ELISA with monoclonal antibody may contribute for immunotyping as a simple and specific technique.

### 서 론

*Chlamydia trachomatis*는 임상적으로 여러 질환의 원인이 되며, 면역형에 따라 발병되는 질환의 종류가 다양하다. 면역형 A, B, Ba, C는 주로 저개발국가에서 안과적 질환인 트라코마를 일으켜 실명의 원인이 된다. 면

역형 D부터 K는 비임균성 요도염, 자궁경관염 및 폐렴 등의 원인이 되며 합병증으로 부고환염, 자궁내막염, 나팔관염등을 초래하여 불임의 원인이 될 수가 있다. 뿐만 아니라 면역형 L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> 및 L<sub>3</sub>는 서혜부 림프절을 침범하여 성병성 림프육아종의 원인이 된다<sup>1)</sup>. 그러므로 *C. trachomatis*의 면역형 분류는 질병의 역학적인면 뿐만 아니라 병리현상을 규명하는데도 중요하다<sup>2)</sup>.

Wang 등<sup>1)</sup>이 처음 마우스 면역혈청으로 15가지 면역형을 규명하였으나, 면역형간에 서로 교차 반응이 많이 나타나 결과 판정에 어려움이 많이 있었다. 그 후 Stephen 등<sup>3)</sup>이 처음으로 *C. trachomatis*에 대한 단세포균 항체를 생산하였는데 이는 항원 분석에 획기적인 새로운 방법일 뿐만 아니라 형특이 면역형 결정에 중요한 전기를 마련하게 되었다. Wang 등<sup>4)</sup> 및 Newhall 등<sup>5)</sup>도 여러종류의 형특이 단세포균 항체를 만들어 면역형 분류에 사용하였다. 그간 면역형 결정에 미세면역형광법(micro-immunofluorescence test)을 사용하였으나, 방법이나 시설면에서도 어려운 점이 많아 임상에 쉽게 적용하기가 어려웠다<sup>1)</sup>. 그 후 Barnes 등<sup>6)</sup>은 면역형 검사시 다량의 검체를 동시에 검사할 수 있는 효소결합 면역흡착검사법(dot-enzyme linked immunosorbent assay 이하 dot-ELISA라함)를 *C. trachomatis* 면역형 시험에 처음 이용하여 우수함을 입증하였다.

저자는 국내에서 분리된 *C. trachomatis*의 면역형을 규명하고자 표준균주를 사용하여 형특이 단세포균 항체와, 종특이 단세포균항체를 자가생산하였으며, 많은 임상검체의 면역형을 동시에 검사하기 위하여 dot-ELISA의 임상 이용 가능성을 타진하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 균분리

요도와 자궁경부에서 검체를 채취한 면봉은 2SP (0.2M sucrose-0.02M phosphate) 수송배지에 넣어 검사실로 옮겨 진탕기에서 1분간 진탕한 후 면봉을 제거하고 검체를 1,000 rpm에서 10분 원침 후 상청액을 맥코이 단층세포에 0.2 ml씩 접종하였다. 맥코이 단층세포가 들어 있는 shell vial은 2,000×g에서 1시간 원심분리 후 *C. trachomatis* 배양배지(RPMI, 10% fetal calf serum, 2 µg/ml cyclosporine)를 첨가하여 35°C, 10% CO<sub>2</sub>배양기에서 48시간 배양하였다<sup>7,8)</sup>. 배양결과는 자체 생산한 단세포균 항체(HMC 1:1)를 사용 간접면역형광법으로 세포질내 봉입체를 관찰하여 확인하였다.

### 2. 항원제조

사용된 표준 균주는 미국질병통제센터(Centers for Disease Control, 이하 CDC라함)와 American Type Culture Collection (이하 ATCC라함)에서 분양 받은

것으로 각각의 면역형은 A/HAR-13, B/HAR-36, Ba/Aphache-2, C/CDC, D/UW-3/Cx, E/Bour, G/UW-57/Cx, H/UW-43/Cx, J/UW-3/UR, LGV type I/440, LGV type II/CDC, LGV type III/404 등 12종이었다.

표준균주를 shell vial과 culture flask에서 증폭하여 30% renograffin에 중첩시킨 후 30,000×g에서 1시간 원심분리 기본체를 순수분리하여 마우스에 면역시키기 위한 항원으로 사용하였다<sup>9)</sup>. Dot-ELISA에 사용한 항원은 양성검체를 shell vial에서 계속 증폭배양하여 맥코이세포 단층세포가 50%이상 감염되게 한 후 shell vial에 유리구슬(2-3 mm 직경)을 2-3개 넣어 진탕하고 1,000 rpm에서 10분간 원심 분리시켜 microcentrifuge tube에 상청액을 옮긴 후 10,000 rpm에서 30분간 원침하여 침사를 0.05% 포르말린으로 불활성화시킨 후 사용하였다<sup>6,9,10)</sup>.

### 3. 단세포균 항체 생산

Balb/c 마우스(생후 4-10주, 암컷)의 꼬리 정맥에 정제된 표준균주 D/UW-3Cx, E/Bour, F/IC-CaL-3, H/UW-43/Cx, I/UW-3/UR, J/UW-3/UR, 및 LGV type III/404의 기본체를 정맥 주사하여 면역시켰으며, 면역된 마우스의 비장세포와 골수종 세포인 SP<sub>2</sub>를 40% polyethylene glycol (M.W. 1,450 Sigma P-5402)로 융합시켰다. 융합 후 생산된 항체 선별 검사는 효소결합 면역흡착법(enzyme linked immunosorbent assay : 이하 ELISA라 함)을 사용하였으며, 단세포배양은 한계희석법(limiting dilution method)을 사용하였다<sup>3,11)</sup>. 생산된 단세포균 항체는 형특이한 것이 D,E,F,H,I,J 및 L<sub>2</sub>였으며, 종특이 단세포균 항체(HMC 1-1)는 형특이 단세포균 항체 생산 과정에서 획득하였다. 아종특이 B 및 C-complex 단세포균 항체는 CDC의 Dr.Newhall로부터 기증받았다. 단세포균 항체의 면역글로블린 종류는 이중화산법으로 결정하였다. 즉 깨끗한 슬라이드에 1% 아가로스를 3 ml정도 부어 겔평판을 만들고 가운데 구멍에는 단세포균 항체(복수액)를 1 : 100으로 희석 5 µl씩 넣고, 주위 사방형으로 각 구멍에는 anti-mouse IgG<sub>1</sub> (1:8 M-8144, Sigma), anti-mouse IgG<sub>2a</sub> (1:4 M-8269, Sigma), anti-mouse IgG<sub>2b</sub> (1:4 M-8394, Sigma), 및 anti-mouse IgG<sub>3</sub> (1:8, M-8519, Sigma)를 각기 표기된 비율로 희석하여 5 µl씩 넣은 후 24시간후 침강선을 관찰하였다.

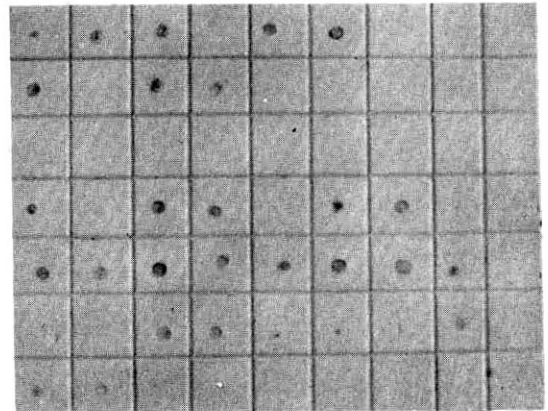
#### 4. Dot-enzyme linked immunosorbent assay

구획이 그려진 nitrocellulose membrane (Trans-Blot transfer medium #162-0115, Sigma, 이하 NCM 이라 함)에 정제된 표준균주(12종)와 분리균주(27주) 항원을 각기 0.2-0.25  $\mu$ l씩 dotting하여 24시간 실온에서 건조시켰다. Dotting이 완료된 NCM은 직경 9 cm petri-dish에 넣고 TPBS (0.05% tween 20 phosphate buffered saline, 0.01M, pH 7.2)로 24시간 동안 dotting 되지않은 부위를 차단하였다. 형특이 단세포균 항체 (D:1/8,000, E:1/16,000, F:1/32,000, H:1/16,000, J:1/4,000, I:1/4,000, I<sub>1</sub>:1/4,000, L<sub>2</sub>:1/8,000, C-complex:1/2,000, B-complex:1/64,000 복수액, HMC 1-1:1/1 세포 배양액)를 minishaker (Dynatech Product, USA) 위에서 20 rpm으로 1시간 동안 반응시켰다. 1차 반응이 끝난후 NCM을 TPBS로 3번 세척한 후 PBS (phosphate buffer saline, pH 7.2)로 1번 더 세척하여 반응하지 않은 단세포균 항체를 제거하였다. 이차 반응은 horseradish peroxidase가 부착된 anti-mouse rabbit 면역글로불린(Dako p214, Denmark)을 PBS로 1,000 배 희석하여 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 NCM은 전과 동일하게 4번 세척하였으며 기질액으로 4-chloro-1-naphthol (HRP Color development reagent Mo 6534 Bio-Rad, USA) 20 mg을 순수 메탄올 10 ml에 녹인후 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30  $\mu$ l를 첨가하여 15분간 발색시킨후 증류수로 세척하였다. 결과 판정은, (-) : 음성대조(McCoy cell antigen)의 dot 색조와 동일하거나 무색, (+) 약한 회색빛, (++) 검은 회색빛, (+++) 진한 검정색 등으로 세분하여 (+) 이상을 양성 반응으로 판정하였다(Fig. 1).

## 결 과

### 1. 단세포균 항체

생산된 단세포균 항체의 면역 글로불린 종류와 dot-ELISA에서의 복수액 최적 희석배수는 다음과 같았다. D (IgG<sub>2b</sub>, 1/8,000), E (IgM, 1/16,000), F (IgG<sub>2b</sub>, 1/32,000), H (IgG<sub>2b</sub>, 1/16,000), I (IgG<sub>2a</sub>, 1/4,000), J (IgG<sub>2a</sub>, 1/4,000), L<sub>2</sub> (IgG<sub>2b</sub>, 1/8,000), B-complex (IgG<sub>3</sub>, 1/64,000), C-complex (IgG<sub>2b</sub>, 1/2,000), HMC 1-1 (IgG<sub>2a</sub>, 1/1, 배양액) (Table 1).



**Fig. 1.** DOT-ELISA result: Reactivity of control strains (top 2 rows) and clinical isolates (bottom 4 rows) with monoclonal antibody (subspecies specific, B-Complex) in the dot-ELISA. A variety of signal strength is shown.

**Table 1.** Immunoglobulin Type and Dilution Factor of Monoclonal Antibodies (Ascites)

Monoclonal antibodies	Immunoglobulin type	Optimal dilution
D	IgG <sub>2b</sub>	1 : 8,000
E	IgM	1 : 16,000
F	IgG <sub>2b</sub>	1 : 32,000
H	IgG <sub>2b</sub>	1 : 16,000
I	IgG <sub>2a</sub>	1 : 4,000
J	IgG <sub>2a</sub>	1 : 4,000
L <sub>2</sub>	IgG <sub>2b</sub>	1 : 8,000
B Complex	IgG <sub>3</sub>	1 : 64,000
C Complex	IgG <sub>2b</sub>	1 : 2,000
HMC 1-1*	IgG <sub>2a</sub>	1 : 1

\* HMC 1-1 : species specific monoclonal antibody (supernatant)

### 2. 표준균주의 면역형

종특이 단세포균 항체(HMC 1-1)는 12개의 표준균주와 모두 양성반응을 나타내었다. 아종특이(B-complex) 단세포균 항체는 표준균주 B/HAR-36, Ba/Aphache-2, D/UW-3/Cx, E/Bour, LGV type I/440 및 LGV type II/CDC와 양성반응을 나타내었으며, 아종특이(C-complex) 단세포균 항체는 표준균주 A/HAr-13, C/CDC, H/UW-43/Cx 및 J/UW-366/Cx와 양성반응을

Table 2. Reactivity of Monoclonal Antibodies with Reference Antigens by the Dot-ELISA

Antigens	Monoclonal Antibodies to									
	HMC 1-1*	B-Comp.*	D	E	L <sub>2</sub>	F	C-Comp.*	H	I	J
A/HAR-13	++	—	—	—	—	—	+	—	—	—
B/HAR-36	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
Ba/Aphache-2	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
C/CDC	++	—	—	—	—	—	+	—	—	—
D/UW-3/Cx	++	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—
E/Bour	+++	+++	—	+++	—	—	—	—	—	—
F/IC-Cal-3	NT**	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
G/UW-57/Cx	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H/UW-43/Cx	+++	—	—	—	—	—	+	+++	—	—
I/UW-3/UR	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
J/UW-36/Cx	+++	—	—	—	—	—	+	—	—	+
K/UW-31/Cx	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
LGV type I/440	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
LGV type II/CDC	++	++	—	—	++	—	—	—	—	—
LGV type III/404	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\* HMC 1-1 : species-specific monoclonal antibody, \*\* NT : not tested  
+ B-Comp. / C-Comp. : subspecies-specific monoclonal antibody.

나타내었다.

D형특이 단세포균 항체는 D/UW-3/Cx와, E형특이 단세포균 항체는 E/Bour와 각각 양성반응을 나타내었다. L<sub>2</sub>형 특이 단세포균 항체는 LGV type II/CDC와, H형특이 단세포균 항체는 H/UW-43/Cx와, J형특이 단세포균 항체는 J/UW-36/Cx와 각각 특이하게 양성 반응을 나타내었다(Table 2).

### 3. 분리균주의 면역형

종특이 단세포균 항체(HMC: 1-1)는 임상분리균주 27예와 양성반응을 나타내었다. 아종특이 B-complex 단세포균 항체는 19예와 양성 반응을 나타내었고, 아종 특이 C-complex 단세포균은 2예와 양성반응을 보였다. 형특이 반응 관찰에서 D형특이 단세포균 항체와 반응한 균주는 10균주로 제일 많았으며, 다음이 E형특이 단세포균 항체와 반응한 균주가 6균주이었다. F형특이 단세포균 항체와 반응하는 균주는 5주 였으며, H, I, J 및 L<sub>2</sub> 형특이 단세포균 항체와 양성반응을 나타내는 분리균주는 한예도 없었다. 분리균주 6예에서는 형특이 단세포균 항체와는 반응하지 않았으며, 이중 아종특이 B-complex 단세포균 항체와 반응하는 균주는 3예가 있었

으며, 아종특이 C-complex 단세포균 항체와 반응하는 균주는 2예 이었다. 나머지 분리 균주 1에는 종특이 단세포균 항체(HMC 1-1)와 양성 반응을 보였을 뿐 나머지 아종 및 형특이 단세포균 항체와는 전혀 반응하지 않았다(Table 3, 4).

## 고 찰

*C. trachomatis*의 면역형 분류는 1960년대부터 시작 되었으며 처음에는 마우스를 면역시킨후 *C. trachomatis*를 주사하여 마우스의 사망 여부를 관찰함으로써 면역형을 결정하였으나 시간과 노력의 소모가 많았다<sup>12,13</sup>. 그후 면역혈청을 사용한 미세면역 형광법이 개발되어 다량의 검체를 동시에 처리할 수 있게 되어 현재의 15개 면역형이 규명되었다<sup>14</sup>. 최근 Wang 등<sup>4</sup>)은 형특이 단세포균을 이용한 간접 미세 면역형광법을 개발하였으며, Barne 등<sup>6</sup>)은 효소결합면역흡착법을 일부 변형한 dot-ELISA를 이용하여 *C. trachomatis*의 면역형 연구를 시도하였다.

*C. trachomatis*의 면역형은 현재까지 15가지(A,B, Ba,C,D,E,F,G,H,I,J,K,L<sub>1</sub>,L<sub>2</sub> 및 L<sub>3</sub>)가 밝혀졌으며, 면

Table 3. Reaction Patterns and Strength of Isolated *C. trachomatis* to Monoclonal Antibodies by Dot-ELISA

No.	Monoclonal Antibodies to									
	HMC 1-1*	B-Comp.*	D	E	L <sub>2</sub>	F	C-Comp.*	H	I	J
1	+	+++	++	-	-	-	-	-	-	-
2	++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
3	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-
4	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-
5	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-
6	+	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+++	++	-	-	-	-	-	-	-
8	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-
9	+	+	++	-	-	-	-	-	-	-
10	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-
11	++	+++	-	++	-	-	-	-	-	-
12	++	+++	-	++	-	-	-	-	-	-
13	++	+++	-	++	-	-	-	-	-	-
14	++	++	-	+	-	-	-	-	-	-
15	++	++	-	+	-	-	-	-	-	-
16	+	++	-	+	-	-	-	-	-	-
17	+	-	-	-	-	+++	-	-	-	-
18	++	-	-	-	-	+++	-	-	-	-
19	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-
20	++	-	-	-	-	++	-	-	-	-
21	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
22	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
23	+	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
24	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-
25	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
26	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
27	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* HMC 1-1 : species specific monoclonal antibody

+ B-Comp. / C-Comp. : subspecies specific monoclonal antibody.

Table 4. Immunotyping Result of 27 *C. trachomatis* Strains with Monoclonal Antibodies

Immunotype	Isolates
D	10
E	6
F	5
B-Complex	3
C-Complex	2
UT*	1
Total	27

\* UT : untypable

역형의 종류에 따라 신체 감염 부위가 다르고 질병의 종류가 다양하다<sup>5)</sup>. 면역형 A,B,Ba,C는 눈에 감염을 일으켜 주로 실명의 원인이 되는 트라코마의 원인이 되며, 면역형 D부터 K는 요도, 자궁경부, 나팔관등에 침범하여 비임균성 요도염 및 자궁내막염 등을 일으켜 불임의 중요한 원인이 된다<sup>14,15)</sup>. 뿐만아니라 소아에서는 눈과 호흡기 감염을 일으켜 봉입체성 결막염 및 폐렴등을 일으키며<sup>16,17)</sup>, 면역형 L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, 및 L<sub>3</sub>는 림프절을 침범 성병성 림프육아종을 일으킨다<sup>18)</sup>.

저자는 한국에서 분리된 *C. trachomatis*의 면역형을 규명하기 위하여 각 형특이 단세포항체를 만들고

dot-ELISA를 이용하여 면역형 검사를 시도하였다.

검사물은 비임균성 요도염 환자의 요도 및 자궁내막염으로 진단된 환자의 자궁 경부로 부터 채취한 것으로 통상의 세포배양법으로 분리한 균주이다. 본 연구에서 사용한 dot-ELISA는 극소량(0.2-0.25  $\mu$ l)의 항원만이 필요하여 shall vial에서 봉입체의 수가 50%이상만 되면 균을 더이상 증폭하거나 정제할 필요가 없었다. shall vial내 항원 50  $\mu$ l로는 20-30장의 NCM을 충분히 dotting할 수 있었으며, 항원(기본체, elementary body)을 분리하기 위한 다른 복잡한 과정이 필요없었다. 감염된 단층세포가 있는 shall vial에 유리구를 몇 개를 넣고 진탕하여 1,000 rpm으로 원심한후 상청액을 고속원침(10,000 rpm, 30분)하면 대부분의 항원이 침사에 포함되어 있어 그 침사로 바로 NCM에 쉽게 dotting을 할 수 있었다. 항원에 혼입된 맥코이 세포 지꺼기의 비특이 반응을 관찰하기 위하여 매번 NCM에 맥코이 세포 항원을 음성대조군으로 사용하였으나 비특이 반응은 관찰되지 않았다. 미세면역형광법에서 항원을 유리 슬라이드에 dotting할 경우는 dotting된 항원이 서로 섞여 결과 판정에 어려움이 있었을 뿐만아니라 고가의 형광현미경이 필요하였는데, 본 연구에서는 이러한 단점이 전부 해결되었다. 일부 단세포균 항체(B, 및 C-complex)는 미국질병통제센터에서 분양받은 것이었고, 종특이(HMC 1-1) 및 형특이 단세포균 항체는 자가생산한 것이었다. 단세포균 항체 생산도중 교차 반응이 발견되는 항체는 가능한한 실험에서 제외시켰다. 종전의 면역형광을 이용한 미세면역형광법은 각 면역형에 따라 교차 반응이 있어 C/J/A, B/Ba, D/E, K/I/H 및 F/G 등으로 항원을 묶어 사용하였으나, 본 연구에서는 NCM의 한구획에 한가지 항원만 dotting하여 검사방법이 간결할 뿐만아니라 판정도 용이하였다. Wang 등<sup>4)</sup>에 의하면 단세포균 항체를 사용하여 면역형을 결정하면 항원간의 교차 반응을 많이 감소시킬 뿐만아니라 새로운 면역형(D', I', L<sub>2</sub>' 등)을 발견할 수 있다고 하였다. 모든 단세포균 항체는 *C. trachomatis* 막단백중에 4.2 Kd의 주막단백과<sup>19-24)</sup> 반응하였다.

wang 등<sup>4)</sup>은 단세포균 항체를 이용한 면역형 연구와 종전에 사용하던 면역형광을 이용한 미세면역형광법을 비교하여 81%에서는 면역형 결과가 완전 일치하고 일부 교차반응까지 포함하면 99.3%의 일치율을 나타내었다고 보고하였다. 불일치율을 나타낸 경우는 종전의 방법

에서는 L<sub>2</sub>였으나 단세포균항체 이용후는 D로 나타난 경우와, dotting된 항원의 양이 적어서 잘못 판정된 경우가 있었다고 한다. Barnes 등<sup>6)</sup>도 dot-ELISA와 미세면역형광법을 비교 관찰하여 99% 이상의 일치율을 관찰하였으며, 저자도 dot-ELISA 결과 판정에서 교차 반응이나 판정이 어려웠던 경우는 없었다.

아종특이 단세포균 항체를 이용하면 *C. trachomatis*를 크게 2가지 군으로 C group (C, J, H, A 및 I)과 B group (B, Ba, L<sub>2</sub>, E, L<sub>1</sub>, D)로 분류되고 나머지 면역형들을 intermediate group (G, L<sub>3</sub>, F, K)으로 분류한다<sup>4)</sup>. 본연구에 사용한 아종특이 B-complex 단세포균 항체는 표준균주 B/HAR-36, Ba/Aphache-2, D/UW-3/CX, E/Bour, LGV type I/440 및 LGV type II/CDC와 양성 반응을 나타내었고, 아종특이 C-complex 단세포균 항체는 A/HAR-13, C/CDC, H/UW-43, 및 J/UW-36/Cx와 양성반응을 나타내어 Wang 등<sup>4)</sup>, 및 Barnes 등<sup>6)</sup>의 결과와 유사하였다. 국내에서 분리된 균주의 면역형 결과는 D 10예, E 6예, 및 F 5예이었으며, D와 E형에서 양성반응을 나타낸 16예의 분리 균주는 아종특이 B-complex 단세포균 항체와 양성반응을 나타내었다. F형의 5예는 B 및 아종특이 C-complex 단세포균과는 반응하지 않아 Wang 등<sup>4)</sup>이 분류한 intermediate group에 속하였다. 대부분의 임상검체가 D, E, F에 속하는 것도 임상검체 채취 부위가 비뇨생식계(요도 및 자궁경부)이었기 때문인 것으로 사료되며 이는 Wnag 등<sup>4)</sup> 및 Barnes 등<sup>6)</sup>의 결과와 유사한 것으로 나타났다.

본 연구에서 사용한 형특이 단세포 항체와 반응하지 않은 6예의 분리 균주는 종특이 단세포균 항체와 전부 반응하였으며, 이중 3예는 아종특이 B-complex 단세포균 항체와, 2예는 아종특이 C-complex 단세포균 항체와 반응하였고, 나머지 1예는 반응이 없었다. 이것은 본 연구에서 충분한 종류의 단세포균 항체(A, B, Ba, C, G, K, L<sub>1</sub>, 및 L<sub>3</sub>)를 전부 사용 하지 못하였기 때문에 새로운 형의 면역형인지 또는 기존의 면역형인지는 단정하기가 어려우나 앞으로 다른 종류의 형특이 단세포균 항체를 생산하여 더욱 연구되어져야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과로 미루어 보아 비뇨생식기에서 채취한 국내 분리균주는 D, E, 및 F가 주요한 면역형으로 생각되며, *C. trachomatis*의 면역형 결정은 단세포균 항체를 이용한 dot-ELISA로 검사하는 것이 편리하고 정확하여 임상적으로 널리 이용될 수 있을 것으로 생각된다.



## 결 론

저자는 *C. trachomatis*의 형특이 단세포균 항체(D, E, F, H, I, J 및 L<sub>2</sub>)와 종특이 단세포균 항체(HMC 1-1)를 생성하여 국내에서 분리 보관되었던 27주의 *C. trachomatis*에 대하여 dot-ELISA로 면역형을 관찰하였다.

종특이 단세포균 항체(HMC 1-1)는 12개 표준균주 및 27개 임상분리 균주와 모두 양성 반응을 나타내었다. 아종특이 B-complex 단세포균 항체는 표준균주중 B/HAR-36, Ba/Aphache-2, D/UW-3/Cx, E/Bour, LGV type I/440, LGV type II/CDC와 19개의 임상분리 균주와 양성반응을 나타내었다. D형특이 단세포균 항체는 표준균주 D/UW-3/Cx와 10개의 임상분리 균주와 양성 반응을 나타내었으며 E형특이 단세포균 항체는 5개의 임상분리 균주와 양성반응을 나타내었다. 아종특이 C-complex 단세포균 항체는 표준균주 A/HAR-13, C/CDC, H/UW-43/Cx, J/UW-36/Cx와 2개의 임상분리 균주와 양성반응을 나타내었다. H 및 J의 형특이 단세포균 항체는 각 형의 표준균주와 반응하였으나 임상분리 균주와 양성반응을 나타낸 예는 없었다. 아종특이 (B-complex) 단세포균 항체와 양성 반응을 나타낸 3개의 분리균주와 아종특이(C-complex) 단세포균 항체와 양성반응을 나타낸 2개의 분리균주는 형특이 단세포균 항체와는 전혀 반응하지 않았다. 분리균주 1예는 종특이 단세포균 항체와 반응하였을 뿐 다른 아종 및 형특이 단세포균 항체와는 반응하지 않았다.

이상의 결과로 미루어보아 비보생식기에서 채취한 국내 분리균주는 D, E, 및 F가 주요한 면역형으로 생각되며, *C. trachomatis*의 면역형 결정은 단세포균 항체를 이용한 dot-ELISA로 검사하는 것이 편리하고 정확하여 임상적으로 널리 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- 1) Wang SP, Kuo CC, Grayston JT: A simplified method for immunological typing of trachoma-inclusion conjunctivitis-lymphogranuloma venereum organisms. *Infect Immun* 7:356-360, 1973
- 2) Kuo CC, Wang SP, Grayston T, et al: Tric type K, a new immunologic type of *Chlamydia trachomatis*. *J*

*Immunol* 113:591-596, 1974

- 3) Stephens RS, Tam MR, Kuo CC, et al: Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis*: Antibody specificities and antigen characterization. *J Immunol* 128:1083-1089, 1982
- 4) Wang SP, Kuo CC, Barnes RC: Immunotyping of *chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies. *J Infect Dis* 152:791-800, 1985
- 5) Newhall WJ, Terho P, Batteiger BE, et al: Serovar determination of *Chlamydia trachomatis* isolates by using type-specific monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 23:333-338, 1986
- 6) Barnes RC, Wang SP, Kuo CC, et al: Rapid immunotyping of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies in a solid-phase enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 22:609-613, 1985
- 7) Birth BR, Forrester FT: Laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections, CDC, Atlanta, 1981, pp33-72
- 8) 최태열, 손향은, 김상경 등: McCoy 세포배양법으로 분리된 *chlamydia trachomatis* 60예 분석, 대한성병학회지 1:51-56, 1991
- 9) Caldwell HD, Kromhout J, Schachter J: Purification and partial characterization of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. *Infect Immun* 31:1161-1176, 1981
- 10) Wang SP, Kuo CC, Grayston JT: Formalinized *Chlamydia trachomatis* organisms as antigen in the micro-immunofluorescence test. *J Clin Microbiol* 10: 259-261, 1979
- 11) 최태열, 김신규, 김춘원 등: *Chlamydia trachomatis* 진단에 유용한 단세포균 항체 생산에 관한 연구, 대한 미생물학회지 22:197-208, 1987
- 12) Wang SP, Grayston JT: Classification of trachoma virus strains by protection of mice from toxic death. *J Immunol* 90:849-856, 1963
- 13) Alexander ER, Wang SP, Grayston JT: Further classification of Tric agents from ocular trachoma and other sources by the mouse toxicity prevention test. *Am J Ophthalmol* 63:1469-1478, 1967
- 14) Treharne JD, Ripa KT, March PA, et al: Antibodies to *chlamydia trachomatis* in acute salpingitis. *Br J Vener Dis* 55:26-29, 1979
- 15) Gaydos CA, Reichart CA, Long JM et al: Evaluation of Syva enzyme immunoassay for detection of *Chlamydia trachomatis* in genital specimens. *J Clin Microbiol* 28:1541-1544, 1990
- 16) Hammerschlag MR, Gelling M, Roblin PM, et al:

- Comparison of two enzyme immunoassays to culture for the diagnosis of chlamydial conjunctivitis and respiratory infections in infants. J Clin Microbiol* 28:1725-1727, 1990
- 17) Harrison HR, Phil D, Marilyn G, et al: *Chlamydia trachomatis infant pneumonitis. N Engl J Med* 298: 702-708, 1978
  - 18) Scieux C, Barnes R, Bianchi A, et al: *Lymphogranuloma venereum. J Infect Dis* 160:662-668, 1989
  - 19) Caldwell HD, Schacheter J: *antigenic analysis of the major outer membrane protein of Chlamydia spp. Infect Immun* 35:1024-1031, 1982
  - 20) Caldwell HD, Schachter J: *Immunoassay for detection Chlamydia trachomatis major outer membrane protein. J Clin Microbiol* 18:539-545, 1983
  - 21) Victor C, Tsang W, Peralta JM, et al: *Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot techniques (EITB) for studying the specificities of antigens and antibodies separated by gel eletrophoresis. Method Enzymol* 92:377-391, 1983
  - 22) 최태열, 강종명 : Western blotting법을 이용한 *Chlamydia trachomatis*의 주막단백 확인에 관한 연구. 대한임상병리학회지 9:123-128, 1989
  - 23) Wilbert J, Newhall V: *Antigenic structure of surface-exposed regions of the major outer-membrane protein of Chlamydia trachomatis. Rev Infect Dis*, 210 (Suppl):S390, 1988
  - 24) Collett BA, Newhall WJ, Jersild RA, et al: *Detection of surface-exposed epitopes on Chlamydia trachomatis by immune electron microscopy. J General Microbiol* 135:85-94, 1989
-