

Steroid가 試驗管内 眞菌發育에 미치는 影響에 關한 研究

殷 熙 哲 · 金 洪 植

서울大學校 醫科大學 皮膚科

The Study of the Effect of Steroid
to Fungal Growth *in vitro*

Hee Chul Eun, M.D. and
Hong Sik Kim, M.D.

Department of Dermatology, College of Medicine
Seoul National University, Seoul, Korea

Abstract: This study was undertaken to investigate the direct effect of three different kinds of steroid to *Trichophyton(T.) mentagrophytes* growth *in vitro*. A loopful of *T. mentagrophytes* was inoculated into Sabouraud's media and Sabouraud's media containing various concentrations of dexamethasone (0.04%—0.00004%) prednisolone (0.25%—0.00025%), triamcinolone acetonide (0.2%—0.0002%), Sabouraud's media containing imidazole nitrate (econazole nitrate) 10 micro gm. per cc. of media, and Sabouraud's media containing econazole nitrate 10 μ g per cc. of media of various dexamethasone concentrations (0.04%—0.00004%). After inoculation they were left for two weeks at room temperature and the colony diameter were compared between Sabouraud's media and Sabouraud's media containing various concentrations of three different steroids, Sabouraud's media containing econazole nitrate and Sabouraud's media containing econazole nitrate of various dexamethasone concentrations.

For complementary study, hanging slide culture were done between Sabouraud's media and Sabouraud's media containing various dexamethasone concentrations to compare the degree of branching of hyphae and sporulation serially.

The study results were as follows:

1. There is no significant difference in growth rate of *T. mentagrophytes* between Sabouraud's media and Sabouraud's media containing various concentrations of three different steroids.
2. There is no significant difference in growth rate of *T. mentagrophytes* between Sabouraud's media containing econazole nitrate 10 micro gm per cc. of media and Sabouraud's media containing econazole nitrate 10 micro gm per cc. of media of various dexamethasone concentrations.
3. In hanging slide culture, there is no significant difference in branching of hyphae and sporulation between Sabouraud's media and Sabouraud's media containing various dexamethasone concentrations.

結 論

Steroid의 全身投與가 各種 感染을 誘發, 助長 또는 惡化시킨다는 것은 잘 알려진 사실이나 Azarnoff et al. steroid의 局所塗布가 真菌의 感染에 미치는 影響에 關해서는 아직도 論難이 많다. (Marples et al. & Adrin et al.)

真菌感染된 皮膚에 steroid의 局所塗布가 미치는 影響은 steroid 自體가 炎症皮膚에 미치는 影響과 steroid가 直接的으로 真菌에 미치는 影響으로 나눌 수 있다. steroid 自體가 炎症皮膚에 影響을 미치는 데에는 消炎作用, 解毒作用, 抗알러지 作用등 宿主에 利로운 效果를 줄 수도 있으나, 真菌에 對한 局所防禦를 減少시킬 수도 있다⁴⁾. Steroid가 直接的으로 真菌에 미치는 影響은 steroid의 種類, 使用된 菌株, 實驗方法, steroid의 濃도에 따라 過去부터 相異한 結果가 報告되어 왔다(Raab).

著者は 이와같은 論難이 많은 steroid가 真菌에 미치는 直接影響을 觀察하기 爲하여 Sabouraud 葡萄糖寒天培地에 3種類의 steroid를 여러 濃도로 混合하고, 單一菌株인 *Trichophyton mentagrophytes*로 移植培養에서 一定期間後 그 發育程度를 觀察하여 그 結果를 報告하고자 한다.

實 驗 材 料

菌株 : 서울醫大 附屬病院 皮膚科 外來患者에서 分離한 *Trichophyton (T.) mentagrophytes*를 使用하였다.

培地 : Sabouraud 葡萄糖寒天培地를 使用하였다.

Steroids : Dexamethasone, Prednisolone, Triamcinolone acetonide의 3種의 steroid를 使用하였다.

抗真菌劑 : 1-[2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(4-Chlorobenzoxyl)-ethyl]-imidazole nitrate (Econazole nitrate)를 使用하였다.

實 驗 方 法

實 驗 I.

Sabouraud 單獨培地와 dexamethasone (0.04% ~ 0.00004%), Prednisolone (0.25% ~ 0.00025%), triamcinolone acetonide (0.2% ~ 0.0002%)를 여러 濃도로 Sabouraud培地에 混合한 混合培地에 各自 正常培養으로 發育 10日제의 spore 및 hyphae가 成

熟한 *T. mentagrophytes*의 菌苔 약 1mm³를 移植培養하여, 室溫에서 放置하고 2週後 그 發育相을 比較하였다.

實 驗 II.

*T. mentagrophytes*를 抗真菌劑 econazole nitrate를 여러 濃도로 混合한 Sabouraud 培地에 培養하였다. 豫備實驗에서 econazole nitrate의 適正抗菌濃도가 培地 cc당 25μg이었으므로 minimal inhibitory concentration을 대략 培地 cc당 25μg으로 假定하고 이보다 적은 濃度인 econazole nitrate培地 cc당 10μg을 混合한 Sabouraud培地와 econazole nitrate培地, cc당 10μg과 함께 dexamethasone을 0.04%에서 0.00004%사이의 여러 濃도로 混合한 Sabouraud 培地系列에 實驗 I과 同一한 方法으로 菌苔를 移植, 培養, 觀察하였다.

實 驗 III.

Sabouraud 單獨培地와 dexamethasone 0.04%에서 0.00004% 사이의 여러 濃도로 混合한 Sabouraud 培地系列에 hanging slide culture를 施行하였다. Hanging slide culture의 方法은 李 등의 方法을 應用하였다.

成 績 判 定

實驗 I에서는 Sabouraud 單獨培地와 steroid를 混合한 Sabouraud培地에서 成長한 菌苔의 直徑을 測定하여, 同一한 實驗造作을 3回反復施行한 平均値를 각각의 成長直徑値로 定하였고, 單獨培地와 steroid 混合培地의 平均直徑値의 比를 百分率로 表示하였다.

實驗 II에서도 培地 cc당 econazole nitrate 10μg을 混合한 Sabouraud 培地와, 培地 cc당 econazole nitrate 10μg과 dexamethasone의 여러 濃도를 混合한 Sabouraud 培地系列에, 菌苔의 成長 直徑을 實驗 I과 같은 方法으로 百分率로 表示하였다.

實驗 III의 hanging slide culture에서는 hyphae의 branching과 spore의 發芽現象의 程度를 Sabouraud 單獨培地와 dexamethasone을 여러 濃도로 混合한 Sabouraud 培地系列에서 Serial로 觀察比較하였다.

實 驗 成 績

實驗 I의 結果는 Table I로 要約되는데, 培養 2週後에 菌苔發育의 百分率은 Sabouraud 單獨培地를 100%로 置때 dexamethasone을 混合한 Sabouraud 培

地에서는 dexamethasone의 濃度 0.04%에서는 92% 0.004%에서는 96%, 0.0004%에서는 104%, 0.00004%에서는 108%를 나타냈으며, prednisolone을 혼합한 Sabouraud 培地에서는 prednisolone의 濃度 0.25%에서는 95%, 0.025%에서는 88%, 0.0025%에서는 88%, 0.00025%에서는 93%를 나타냈으며, triamcinolone acetonide를 혼합한 Sabouraud 培地에서는 triamcinolone acetonide의 濃度 0.2%에서는 100%, 0.02%에서는 119%, 0.002%에서는 119%, 0.0002%에서는 107%를 나타내어 각각의 P-value > 0.05를 나타내어 통계학적으로 相互間에 有意差가 없음을 보였다.

Table 1. Growth rates of *T. mentagrophytes*

Media		Growth rates
Sabouraud media		100
Sabouraud	D 0.04 %	92
	P 0.25 %	95
	T 0.2 %	100
+	D 0.004 %	96
	P 0.025 %	88
	T 0.02 %	119
Steroids	D 0.0004 %	104
	P 0.0025 %	88
	T 0.002 %	119
	D 0.00004 %	108
	P 0.00025 %	93
	T 0.0002 %	107

D : dexamethasone P : prednisolone
T : triamcinolone acetonide

實驗Ⅱ의 結果는 Table 2로 要約되는데, Sabouraud 와 econazole nitrate의 混合培地를 100%로 칠때 Sabouraud에 econazole nitrate와 함께 混合한 dexamethasone의 濃度 0.04%에서는 95%, 0.004%에서는 90%, 0.0004%에서는 85%, 0.00004%에서는 10.5%를 나타내어 P-value > 0.05로 역시 實驗Ⅰ과 統計學的으로 相互間에 有意差가 없음을 보였다.

實驗Ⅲ의 hanging slide culture에서는 hyphae의 branching과 Spore의 發芽現象을 serial로 觀察한 結果, Sabouraud 單獨培地와 dexamethasone의 여러 濃度(0.04%~0.00004%)를 混合한 Sabouraud 培地 사이에 菌芽의 發育伸張速度와 芽胞의 分芽現象, 菌

Table 2. Growth rates of *T. mentagrophytes* on various media

Media		Growth rates
Sabouraud + econazole nitrate		100
Sabouraud	D 0.04 %	95
	D 0.004 %	90
+ econazole nitrate	D 0.0004 %	85
	D 0.00004 %	105

D : dexamethasone

系原形質의 結菌狀態 등의 현미鏡用見을 毎日 관찰한 結果에서 아무런 所見差異가 없음을 認定하였다.

總括 및 考察

1949年 Reiss 등은 試驗管內에서 12個의 서로 다른 steroid를 4% dextrose agar에 0.74 millimol/l 와 0.074 millimol/l의 濃度로 混合하고 各培地에서 14個의 相異한 真菌의 發育을 觀察한 結果, 一般的으로 steroid는 fungistatic하지만, *Torula hystolitica* 와 *Candida albicans*에서는 成長이 오히려 促進됨을 보였다. 1959年 Canizares 등은 Reiss와 同一한 方法으로 hydrocortisone이 *T. rubrum*에 미치는 影響에 關하여 研究한 結果, hydrocortisone 自體가 *T. rubrum*의 成長에 特別한 影響을 미치지 않음을 보였다. 1976年 Raab는 過去의 報告들을 review하면서 glucocorticoid가 真菌에 直接的으로 미치는 影響은 使用된 steroid의 種類, steroid의 濃度, 使用된 方法, 使用된 菌株에 따라 相異한 結果를 보여왔다고 報告하였다.

著者の 實驗에서는 hydrocortisone 1%에서 0.001%에 該當하는 濃度の dexamethasone, prednisolone, triamcinolone acetonide를 混合한 Sabouraud培地에서는 *T. mentagrophytes*가 影響을 받지 않음을 보여주고 있다.

Steroid를 全身投與한 때 白癬菌을 包含한 各種真菌의 感染이 誘發, 助長 또는 惡化된다는 것은 잘 알려져 왔다.

그러나 steroid의 局所塗布가 表在性 真菌感染에 미치는 影響에 關해서는 真菌의 試驗管內 發育에서와 같이 相異한 結果가 報告되어 왔다. 1969年 Ive 등은 steroid를 局所塗布함으로써 이미 存在하는 白癬菌의 感染이 場所에 있어서나, 範圍에 있어서 特異한 擴大를 보임을 觀察하고 steroid가 真菌의 毒性

을 증가시킨다고 報告하였다. 1961年 Burke는 感染된, 혹은 *Pityrosporum erbiculare*를 含有하고 있는 olive油를 血中 cortisol值가 높은 5명의 患者와 steroid를 局所塗布 시킨 2名에게 塗布시킨 결과 cortisol值가 높은 患者에서는 *Tinea versicolor*를 誘發시켰으나, steroid를 局所塗布한 2名에서는 感染을 誘發시키지 못하였다. 1973年 Marples 등은 triamcinolone을 *Candida*에 感染된 皮膚에 局所塗布하던 炎症反應은 減少되나 *Candida*細胞의 數에는 影響을 주지 않음을 報告하였다. 上記 著者들의 實驗結果에서도 Steroid의 局所塗布가 真菌發育에 미치는 影響에 關해 아직도 論難이 많음을 보여주고 있다.

表在性 真菌感染時 皮膚에 發生하는 炎症反應에 對하여 두가지 見解가 있는데, 첫째는 炎症反應은 真菌과 宿主間에 適應이 잘 되지 않은 現象에 不遇하다. 는 것이고 (Rippon) 둘째는 炎症反應을 免疫學的인 面, 特別히 細胞性免疫와 關聯된 免疫學的인 現象으로 보는 見解이다 (Henry et al). steroid를 局所塗布함으로써 living fungi나 Killed fungi에 의한 炎症反應이 弱화 (Conzalez Ochoa et al.) 됨은 잘 알려진 事實이다. 表在性 真菌感染時 皮膚에 發生하는 炎症現象을 真菌에 對한 immunity로 解釋할 때, 이를 steroid의 局所塗布로 弱화시키면 immunity가 弱化되어 真菌의 毒性을 增加시킨다는 Ive 등의 見解를 說明할 수 있고, 反面에 炎症反應을 單純히 宿主와 真菌間에 適應不足으로 解釋할 때, steroid의 局所塗布는 真菌의 發育과는 相關이 없이 炎症反應만 抑制시킨다는 Marples 등의 見解를 說明할 수 있다.

以上の 文獻考察에서 *in vivo*上에서 steroid의 局所塗布가 表在性真菌感染에 미치는 影響에 關해서는 아직도 相反된 見解가 있고, *in vitro*에서 steroid 自體가 真菌에 미치는 影響에 關해서도 역시 相反된 見解가 있음을 알 수 있다.

著者の 實驗에서는 hydrocortisone 1%에서 0.00001%에 該當되는 3種類의 steroid의 여러濃度 즉 dexamethasone (0.04%~0.00004%), prednisolone (0.25%~0.00025%), triamcinolone acetone (0.2%~0.0002%)를 混合한 Sabouraud培地에서의 *T. mentagrophytes*의 成長率은 Table 1에서 보여주는 바와 같이 dexamethasone의 경우는 92%~108%, prednisolone의 경우는 88%~95%, triamcinolone acetone의 경우는 100%~119%로서 成長率에 다소간의 차이가 있지만, 각각에 있어서 P-value는 모두 0.05이상으로 통계학적인 有意差가 없음을 보였고,

肉眼的인 成長直徑의 觀察은 아니라, hanging slide-culture상의 현미경하에서 매일 觀察한 所見에 있어서도 Sabouraud 單獨培地와 steroid 混合培地사이의 菌學的인 所見의 差異를 볼 수 없었다.

이러한 本著者들의 實驗結果는 steroid가 直接的으로 真菌發育에 影響을 주지 않는다는 過去 Canizares 등의 報告와 一致된 結果를 얻었다고 하겠다.

結 論

真菌이 試驗管内에서 steroid에 直接的인 影響을 받는가의 與否를 觀察하기 爲하여 *T. mentagrophytes*를 Sabouraud 培地 및 여러濃度の steroid를 混合한 Sabouraud培地에 培養하여 그 發育相을 比較觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Sabouraud培地에서와 dexamethasone (0.04%~0.00004%), prednisolone (0.25%~0.00025%) 및 triamcinolone acetone (0.2%~0.0002%)를 여러濃度로 混合한 Sabouraud培地 사이에서 *T. mentagrophytes*의 成長率은 特別한 統計學的 有意差가 없었다.

2. Econazole nitrate를 培地 cc당 10 μ g을 混合한 Sabouraud 培地에서 培地 cc당 econazole nitrate 10 μ g과 함께 여러濃度の dexamethasone을 混合한 Sabouraud 培地에서 *T. mentagrophytes*는 全體의 으로 成長이 抑制되었으나, 각濃度培地間의 成長率에는 特別한 統計學的 有意差가 없었다.

3. Hanging slide culture에서는 Sabouraud 培地와, dexamethasone을 여러濃度로 混合한 Sabouraud培地사이에서는 *T. mentagrophytes*의 hyphae의 branching 정도와 sporulation에 있어 각培地間에 特別한 현미경적 均화소견에 差異가 없었다.

參 考 文 獻

- Azarnoff, Daniel L. M.D.: (1975) Steroid therapy,
 Burke, Ruth C. Ph. D.(1961) *Tinea versicolor* Susceptibility factors and experimental infection in human beings: J. Invest. Dermatol. 36: 389-403,
 Canizares, Ollando M.D.: Harry Shatin, M.D. and Albert J. Kellert, M.D.,(1959): Cushing's syndrome and Dermatormycosis: A.

- M.A. Arch. Dermatol. 80: 705-709,
Conzalez-Ochoa, A. M.D., E. Ricoy, M.D. and
M.A. Bravo-Becherelle, M.D.(1964): Study of
prophylatic action of Griseofulvin-Human
Experimental infection with *Trichophyton*
concentricum: J. Invest. Dermatol 42: 55-59,
Henry LTC E. Jones, MC,USA; CPT Jeffrey
H. Reinhardt, MSC, USA: SP-5 Michael G.
Rinaldi, USA, San Francisco: immunologic
suceptability to chronic dermatophytosis:
Arch. Dermatol, 110: 213-220, 1974.
Ive, F. Adrin M.B., M.R.C.P., Ronald Marks,
M.B., B.S.C., M.R.C.P., D.T.M. & H(1968):
Tinea in cognito: Brit. med. J. 3: 149-152,
李珍雨, 金洪植(1971): 絲狀菌 小分子子の 發芽能測
定에 關한 研究: 中央醫學 21: (6), 547-552,
Marples, R.R., Rebra, A., an Kligman, A.M.
(1973): Topical steroid-antibiotic combinations
:Arch. Dermatol. 108: 237-240,
Raab, W.1976(Suppl. I): Effects of local cortico-
steroidss in kin infection: Dermatologica
152: 67-79,
Reiss, Fredrerick M.D.(1949): Steroid hormoes
(Their fungistatic & genestatic effect of pa-
thogenic fungi): Arch, Dermatol, syphirol,
59: 405-412,
Rippon, John Williard Ph.D.(1974): Medical
Mycology (The pathogenic fungi and The
Pathogenic Actinonycetes): W.B. Saunders
Company Philadelphia,



Fig I. (a) (b) (c) (d) (e) Fig II. (a) (b) (c) (d) (e)

Explanation of the Figures

Fig I. Sabouraud's medium and the medium modified with dexamethasone are compared of their antifungal activities. The culture conditions are such as room temperature and two weeks incubation. The growth was measured by the diameter of zone of fungal growth. There is no significant differences in both media groups was observed.

- a) Sabouraud media ony
- b) Sabouraud+dexamcthasone 0.04%
- c) Sabouraud+dexamethasone 0.004%
- d) Sabouraud+dexamethasone 0.0004%
- e) Sabouraud+dexamethasone 0.00004%

Fig II. Sabouraud's medium containing econazole nitrate (antifungal agent) and another medium contains above econazole nitrate and plus dexamethasone are compared of their antifungal activity. Slight inhibition of growth were observed, however, there is no significant differences in both media groups.

- a) Sabouraud+Econazole
- b) Sabouraud+econazole+dexamethasone 0.04%
- c) Sabouraud+econazole+dexamethasone 0.004%
- d) Sabouraud+econazole+dexamethasone 0.0004%
- e) Sabouraud+econazole+dexamethasone 0.00004%