

두경부 아토피피부염 환자에서 연령과 중증도에 따른 *Malassezia* 균종과 *Pityrosporum ovale* 특이 IgE의 차이

을지대학교 의과대학 을지병원 피부과학교실, 진단검사의학교실¹

문형식 · 손숙자 · 박 건 · 채정돈¹

= Abstract =

Difference of *Malassezia* Species and *Pityrosporum ovale* Specific IgE in Head and Neck Lesions of Atopic Dermatitis Related to Ages and Severity

Hyung-sik Moon, Sook-ja Son, Kun Park and Jeong Don Chae¹

Department of Dermatology, College of Medicine, Eulji University,
Department of Laboratory medicine, College of Medicine, Eulji University¹

Background: Members of the genus *Malassezia*, lipophilic yeasts, are considered to be one of the exacerbating factors in atopic dermatitis. When the response of anti-inflammatory treatment of atopic dermatitis to adults was poor, antifungal treatment had a good response to atopic dermatitis. We compared *Malassezia* species detected in head and neck lesions of atopic dermatitis between children and adults.

Objective: To compare *Malassezia* species between children and adults in head and neck lesions of atopic dermatitis and to reveal the correlation levels of *P. ovale* specific IgE and clinical severity among these groups.

Methods: *Malassezia* species were incubated in Leeming and Notman media from skin lesions of 28 patients with head and neck lesions of atopic dermatitis (13 children, 15 adults). And ITS1 amplification and sequencing method was done for detection of *Malassezia* species. We also assayed *P. ovale* specific IgE and clinical severity grade of the patients.

Results: *M. globosa* was the predominant species in the children group. And *M. furfur* was the predominant species in the adults group respectively. The levels of *P. ovale* specific IgE increased more in the adults group than the children group. Clinical severity grade also more increased in the adults group. There was statistically significant correlation between *P. ovale* specific IgE and clinical severity grade ($p < 0.001$).

Conclusion: *Malassezia* species are aggravating factors in head and neck lesions of atopic dermatitis particularly in adults. We must keep in mind *Malassezia* species infection when resistance to anti-inflammatory therapy in atopic dermatitis of adults. [Kor J Med Mycol 2009; 14(1): 1-8]

Key Words: *Malassezia* species, Head and neck lesions of atopic dermatitis, Children and adults

[†]별책 요청 저자: 박건, 139-711 서울시 노원구 하계 1동 280-1, 을지대학교 의과대학 을지병원 피부과
전화: (02) 970-8581, Fax: (02) 974-1577, e-mail: kpark@eulji.ac.kr

서 론

Malassezia 효모균은 지질친화성 균종으로 피부의 정상균총에 속하는 진균이며 건강한 성인의 75~90%에서 발견된다¹. 1996년 *Malassezia* 효모균이 형태학적으로 7개 균종 (*M. furfur*, *M. obtusa*, *M. globosa*, *M. slooffiae*, *M. sympodialis*, *M. pachydermatitis*, *M. restricta*)으로 분류된 이후, 최근 분자생물학의 발달로 인해 추가적으로 4개 균종 (*M. dermatitis*, *M. japonica*, *M. nana*, *M. yamatoensis*)이 더 밝혀진 상태이다².

아토피피부염과 *Malassezia* 효모균의 관계는 아토피 환자에서 *Malassezia* 균종에 대한 특이 immunoglobulin E (IgE) 항체의 증가³, 항진균제 사용 후 아토피습진 병변의 호전⁴ 등, 여러 연구에서 이 균종들이 아토피피부염의 악화와 연관이 있음이 밝혀져 있다.

두경부 아토피피부염의 경우, *Malassezia* 효모균과 더 밀접한 연관이 있는 것으로 밝혀져 있는데, 2000년 Devos 등⁵은 두경부 아토피피부염 환자의 경우 100%에서 *Malassezia* 특이 IgE가 증가된 반면, 다른 부위의 아토피피부염 환자에서는 13% 정도에서만 증가를 보인 연구결과를 보고하면서 부위별 차이를 주장하였다.

아토피피부염의 치료는 먼저 염증을 완화시키는 것이 첫 번째 치료로 알려져 있는데, 최근 보고에 따르면, 성인에서 항염증치료에 저항을 보이는 경우가 늘어나고 있고⁶, 이러한 환자들 중에서 항진균치료를 시행 시 호전을 보이는 경우가 많은 것으로 나타났다. 이를 토대로 Takahata 등⁷은 두경부 아토피피부염 소아와 성인에서 검출되는 *Malassezia* 균종이 차이를 보일 것이라 가정하였고, 두 연령군의 차이에 대해 연구하였다.

현재까지 국내에 연령에 따른 *Malassezia* 균종 차이의 보고는 없고, 외국문헌에서도 Takahata 등⁷의 보고가 연령에 따른 차이를 확인한 첫 번째 보고이다. 이에 저자들은 총 28명의 국내의 두경부 아토피피부염 환자에서 연령군에 따른

Internal transcribed spacer 1 (ITS1) 부위의 PCR방법을 통한 염기서열분석으로 두 군간의 균종의 차이를 확인하고, 또한 혈중 *P. ovale* 특이 IgE를 측정하고, 두경부 아토피피부염의 임상적인 중증도를 측정하여 소아와 성인에서의 차이를 확인하였다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

2006년 8월부터 2007년 12월까지 본원을 내원한 Hanifin과 Rajka⁸ 진단기준을 만족하는 아토피피부염 환자 중에서 두경부 피부염이 있는 15세 이하 13명 (남자: 6명, 여자: 7명)과 16세 이상 15명 (남자: 11명, 여자: 4명)의 총 28명의 환자를 대상으로 하였다. 15세 이하 소아 환자의 평균연령은 10.3세였고, 성인 환자의 평균연령은 26.1세였다. 환자들은 모두 최근 4주 이내에 스테로이드 국소도포 치료나 항진균제 치료를 받지 않은 환자들로 구성되었다.

2. 연구 방법

1) 검체의 채취

Phosphate buffered solution 0.1%와 Triton X-100 1 ml를 혼합한 세정액에 소독된 면봉을 적셔서 환자들의 목부위를 25회 정도 문지른 후, 준비된 배지에 접종하였다.

2) Leeming과 Notman 배지의 제조

증류수 1 L에 glycerol monoesterate (BDH, Poole, UK) 0.5 g, bacteriological peptone (Oxoid, Hampshire, UK) 20 g, glucose (Oxoid, Hampshire, UK) 5 g, yeast extract (Oxoid, Hampshire, UK) 0.1 g, ox bile (Merk, Darmstadt, Germany) 4 g, agar NO.1 (Oxoid, Hampshire, UK) 12 g, Tween 60 (Yakuri, Osaka, Japan) 0.5 ml, glycerol (Tedia, Fairfield, USA) 1 ml을 넣고 잘 녹인 후 121°C에서 20분간 멸균 소독하였다. 멸균 후 cycloheximide (Sigma, St Louis, MO, USA) 200 mg, chloramphenicol (Sigma, St Louis, MO, USA) 50 mg을 첨가하고 초고온 비탈지 우유 (Namyang

문형식 등: 두경부 아토피피부염 환자에서 연령과 증증도에 따른 *Malassezia* 균종과 *Pityrosporum ovale* 특이 IgE의 차이

Dairy, Seoul, Korea) 5 ml와 잘 혼합한 후에 바로 Petri dish에 분주하고 배지를 사용할 때까지 냉장 보관하였다.

3) 균주의 배양

1)의 방법으로 채취한 검체를 Leeming과 Notman 배지에 접종 후 34°C에서 2주간 배양하였다.

4) *P. ovale* 특이 IgE 측정

환자의 전혈 10 ml을 원심분리 후 얻어진 혈청을 실험에 이용하였다. *P. ovale* 특이 IgE는 RAST kit (Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Sweden)를 이용하여 측정하였다. 각 측정 값은 0단계부터 4단계로 구분하였다 (Table 1).

5) 두경부 아토피피부염의 증증도 평가

두경부 아토피피부염의 증증도는 Takahata 등⁷의 척도를 이용하였다 (Table 2).

6) 배양균종의 동정

(1) Genomic DNA의 분리

배양된 균 집락을 끊어내어 Wizard® Genomic DNA Extraction kit (Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 genomic DNA를 분리하였다.

(2) ITS1 부위의 PCR

ITS1 부분을 증폭하기 위한 primer는 Choi 등⁹의 방법에서 사용한 primer를 이용하였다. ITS1 (18SF1): 5'-AGGTTTCCGTAGGTGAACCT-3'와 ITS2 (58SR1): 5'-TTCGCTGCGTTCTTCATCGA-3' (Amersham Pharmacia Biotech, Tokyo, Japan)를 사용하여 PCR을 시행하였다. PCR 반응조건은 pre-denaturation 단계 95°C에서 14분, denaturation 단계 94°C에서 45초, annealing 단계 55°C에서 45초, extension 단계 72°C에서 1분을 총 35회 반복하였고, 마지막 extension은 72°C에서 7분간 시행하였다. 증폭된 DNA를 확인하기 위해서 PCR 산물을 1.2% agarose gel에 분주하여 120 volt에서 40분간 전기 영동을 시행하였고, ethidium bromide에 염색 후 PCR band를 관찰하였다.

(3) ITS1 염기서열분석

Ready Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Perkin Elmer, CA, USA)의 시약에 PCR preps 정제 시스템 (Promega, Madison, WI, USA)으로 정제된 DNA와 primer ITS1 또는 ITS2를 첨가 후 MacroGen™에 의뢰하여 염기서열분석을 시행하였고, 가장 상동성이 있는 염기서열을 찾았다.

7) 자료의 처리 및 분석

소아와 성인 두경부 아토피피부염 환자간의

Table 1. *P. ovale* specific IgE RAST grade

Grade	Values (KU/l)
Grade 0	Below 0.35
Grade 1	0.35~0.7
Grade 2	0.7~3.5
Grade 3	3.5~17.5
Grade 4	Over 17.5

Table 2. Clinical severity grades of head and neck lesions of atopic dermatitis

Grade	Clinical Features
Grade 1	Scale only without inflammation
Grade 2	Slight erythema and scale
Grade 3	Erythema, scale, with a few papules and scratch marks
Grade 4	Erythema with swelling, edema, infiltration and lichenification

Table 3. Isolated *Malassezia* species in head and neck lesions of atopic dermatitis group (children, adults)

<i>Malassezia</i> Species	No. of Children Group (%)	No. of Adult Group (%)
<i>M. furfur</i>	3 (23.1)	7 (46.7)
<i>M. globosa</i>	7 (53.8)	4 (26.7)
<i>M. sympodialis</i>	1 (7.7)	2 (13.2)
<i>M. restricta</i>	0	0
<i>M. obtusa</i>	0	0
<i>M. slooffiae</i>	0	0
<i>M. pachydermatitis</i>	0	0
No growth	2 (15.4)	1 (6.7)
Contamination	0	1 (6.7)
Total	13 (100)	15 (100)

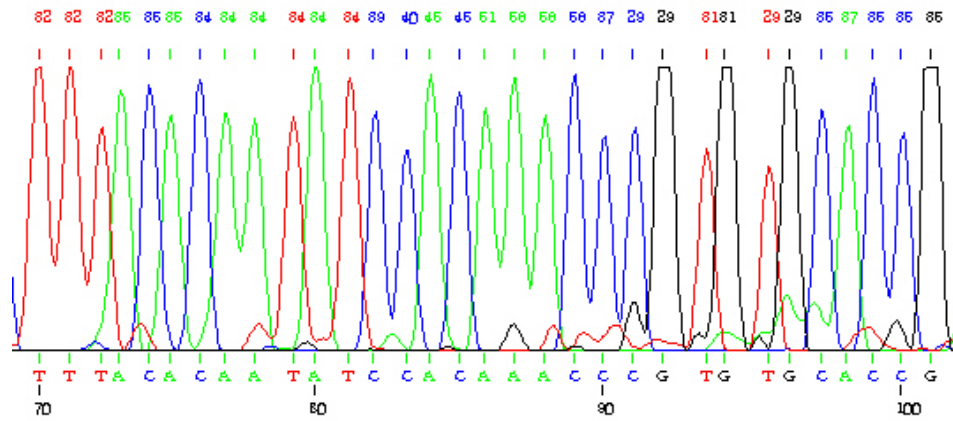


Fig. 1(a). Chromatogram of patient 14 (*M. furfur*).

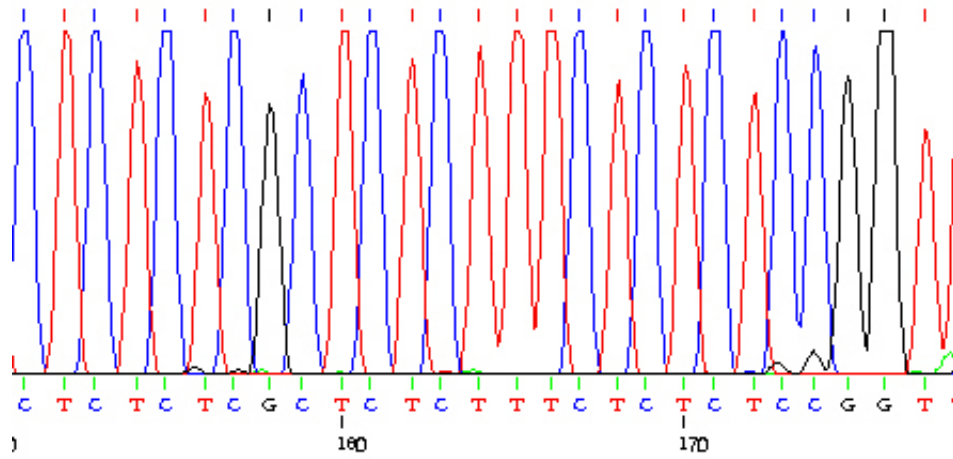


Fig. 1(b). Chromatogram of patient 1 (*M. globosa*)

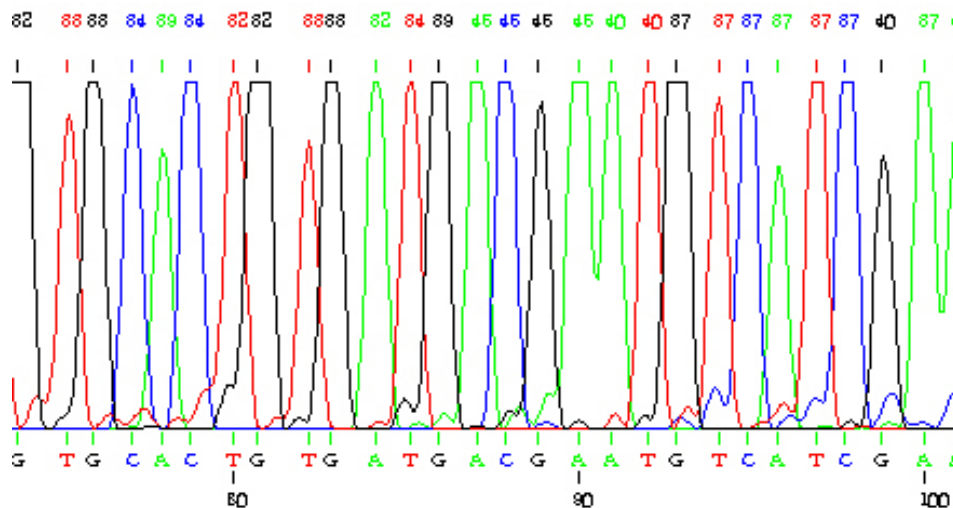


Fig. 1(c). Chromatogram of patient 8 (*M. sympodialis*)

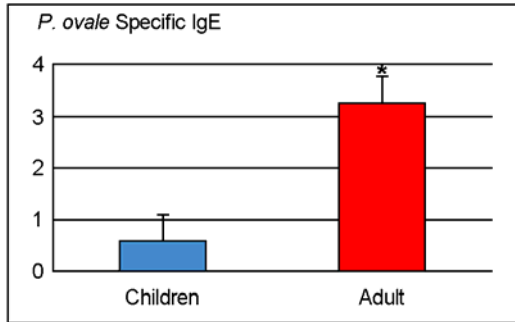


Fig. 2. The levels of *P. ovale* specific IgE in the adults were higher than those in the children (* $p < 0.001$).

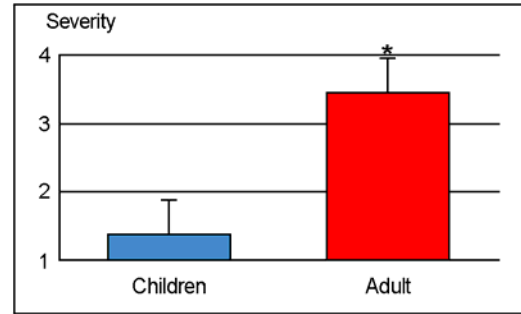


Fig. 3. The levels of severity in the adults were higher than those in the children (* $p < 0.001$).

두 군간의 얻어진 결과의 의의를 확인하기 위해 교차분석법 중 카이제곱 검정법을 이용하여 분석하였다. P value가 0.05보다 작을 경우 유의성이 있는 것으로 보았다. 통계처리를 위해서 SPSS version 12.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)을 사용하였다.

결 과

1. 연령에 따른 *Malassezia* 균종의 차이

두 연령군간의 균종의 비교에서 두 군 모두 *M. furfur*와 *M. globosa* 균종이 가장 많이 동정되었고, 다음으로 *M. sympodialis*가 동정되었다 (Table 3). *M. furfur*와 *M. globosa* 균종 그리고 *M. sympodialis* 모두 100%의 상동성을 보였다 (Fig. 1).

전체적인 배양 양성률은 85.7%였고, 소아군에서 2명의 환자에서는 균이 배양되지 않았고, 성인군에서는 1명에서 집락이 오염되었고, 1명에서 균이 배양되지 않았다. *M. furfur*와 *M. globosa*를 제외한 나머지 배양된 균종은 *M. sympodialis*였고, 소아군에서 1명 (7.7%), 성인군에서 2명 (13.2%)로 배양되었다. 그 외의 나머지 균종은 배양되지 않았다.

소아군에서는 *M. globosa* 종이 53.8%로 가장 많이 동정되었으나, 성인군에 비해 통계적으로 유의하게 많이 관찰되지는 않았다 ($p=0.14$). 그 다음으로는 *M. furfur*가 많이 관찰되었다 (23.1%).

Table 4. *P. ovale* specific IgE results of two groups (children and adults)

<i>P. ovale</i> Specific IgE Grade	No. of Children Group (%)	No. of Adult Group (%)
0	7 (53.8)	0
1	4 (30.8)	0
2	2 (15.4)	2 (13.3)
3	0	7 (46.7)
4	0	6 (40)
Total	13 (100)	15 (100)

성인군에서는 *M. furfur* 종이 46.7%로 가장 많이 동정되었고, 이는 역시 소아군과 비교해 보았을 때 통계적으로 유의하지는 않았다 ($p=0.184$). 다음으로 많이 동정된 종은 *M. globosa*로 26.7%로 동정되었다.

2. 두 연령군의 *P. ovale* 특이 IgE 혈청검사

두 군간의 차이는 통계적으로 유의하게 성인군에서의 *P. ovale* 특이 IgE가 높은 수준으로 측정되었다 ($p < 0.001$, Fig. 2).

소아군에서는 grade 0으로 측정된 환자들이 53.8%로 가장 많았고, 성인군에서는 grade 3로 측정된 환자들이 46.7%로 가장 많은 분포를 보였다 (Table 4).

3. 두 연령군의 임상적 중증도의 차이

소아군에 비해 성인군에서 임상적 중증도가 높게 측정되었으며, 이는 통계적으로 유의한 결

Table 5. Severity grade of two groups (children and adults)

Severity Grade	No. of Children Group (%)	No. of Adult Group (%)
1	9 (69.2)	0
2	3 (23.1)	2 (13.3)
3	1 (7.7)	4 (26.7)
4	0	9 (60)
Total	13 (100)	15 (100)

과를 보였다 ($p < 0.001$, Fig. 3). 또한 *P. ovale* 특이 IgE와 임상적 중증도는 서로 통계적으로 연관성이 있는 결과를 나타냈다 ($p < 0.001$).

소아군에서는 중증도가 가장 낮은 grade 1으로 측정된 환자들이 69.2%로 가장 많았고, 성인군에서는 중증도가 가장 높은 grade 4로 측정된 환자들이 60%로 가장 높은 분포를 보였다 (Table 5).

고 찰

아토피피부염은 대개 유소아기에 발병하여 만성으로 재발하는 경과를 보이는, 현재까지 원인과 발병기전이 밝혀져 있지 않은 질환이다¹⁰.

친지질성 진균인 *Malassezia* 균종과 아토피피부염의 연관성에 대한 연구는 이 균종이 아토피피부염을 악화시킨다는 보고들이 대부분이다. 이처럼 *Malassezia* 균종이 아토피피부염을 악화시키는 기전은 아토피피부염 환자에서 나타나는 filaggrin의 감소, 항균력의 감소, IgA 그리고 땀분비의 감소 등의 피부장벽 기능의 손상이라 생각된다¹¹. 위와 같은 조건은 *Malassezia* 균종이 번식하기 좋은 환경을 만들고, 항균 펩타이드의 분비를 억제하는 항원들을 *Malassezia* 균종이 분비하게 되어 아토피피부염이 더욱 악화될 것이라 생각되고 있다. 특히 피지분비가 활발한 두경부에는 다른 부위에 비해 심한 임상경과를 보일 것이라 생각되고, 두경부 아토피피부염과 *Malassezia* 균종의 연관성에 대해 많은 연구들이 이루어지고 있다.

현재까지 두경부 아토피피부염 환자에서 동정되는 *Malassezia* 균종에 대해서는, 각 연구마다 상이한 결과를 보이고 있다. 2000년 Nakabayashi 등¹²은 17명의 두경부 아토피피부염 환자와 64명의 대조군을 비교한 실험에서 환자군에서 *M. furfur*가 가장 많이 동정되고, 그 다음으로 *M. globosa*와 *M. sympodialis*의 순서로 동정된다고 보고하였다. 2004년 Choi 등⁹은, 두경부 아토피피부염 환자에서 *M. furfur*, *M. globosa*, *M. restricta*의 순서로 동정된다고 보고하였다. 또한 2006년 Sugita 등¹³은 부위별 비교에서 두경부 아토피피부염 환자에서 다른 부위보다 두경부에서 많이 동정되는 균종은 *M. globosa*와 *M. restricta*라고 보고하였다. 이번 연구에서는 연령을 고려하지 않았을 때 전체적으로 *M. globosa*, *M. furfur*, *M. sympodialis*의 순서로 *M. globosa*가 가장 많이 동정되었고, 연령을 고려했을 때에는, 소아에서는 *M. globosa*, 성인에서는 *M. furfur*가 가장 많이 동정되었다.

두경부 아토피피부염 환자에서 연령에 따른 균종의 차이에 대한 보고는 현재까지 Takahata 등⁷의 보고가 유일한데, 이 연구에서는 15세 이하 소아에서 *M. restricta*가 가장 많이 동정되었고, 성인에서는 *M. globosa*와 *M. restricta*가 비슷한 비율로 다른 균종에 비해 많이 동정된 결과를 보였다. 이번 연구와 차이를 보이는 이유는 크게 지역간의 차이, 균 동정방법의 차이에서 기인된 것이라 생각된다. Darabi 등¹¹은 세계적으로 아토피피부염 환자에서 다른 *Malassezia* 균종이 동정되는 사실에 대해, 인종과 지역에 따라 동정되는 균종은 상이할 것이라 주장하였다. 이러한 차이에 대해 현재까지 밝혀져 있는 이론은 없다. 인종이나 지역과 같은 유전적, 환경적 요인의 차이가 서로 다른 *Malassezia* 균종이 동정되는 원인이라 생각된다. 균 동정방법에서도 Takahata 등⁷은 Opsite™를 이용한 tape strip 방법으로 얻어진 인설을 검체로 사용했으나, 이번 연구에서는 Leeming과 Notman 배지에 배양을 한 후 얻어진 집락을 검체로 하였다. 이러한 균 동정방법의 차

이 역시, 연구결과에 영향을 미쳤을 것이라 생각된다.

소아와 성인에서 동정되는 균종이 다른 이유는 두 연령군의 지질 구성성분의 차이라 생각된다. 일반적으로 성인과 비교하였을 때 소아의 경우는 피지의 분비가 적다¹⁴. 이러한 피지분비 차이에 따른 지질의 구성성분의 차이로, 각 균종이 자랄 수 있는 성장환경이 차이가 날 수 있기 때문에, 성인과 소아에서 동정되는 균종이 다를 것이라 생각된다.

다른 연구결과로 우리는 *P. ovale* 특이 IgE가 성인에서 높게 측정되는 것을 확인할 수 있었다. Takahata 등⁷의 보고에서는 가장 많이 동정된 *M. globosa*와 *M. restricta* 두 균종에 대한 특이 IgE를 사용했기 때문에, 이번 연구와 비교하기는 힘들다. 그러나 이 보고에서도 12세 이하와 13세 이상의 두 연령군으로 나누어 분석하였을 때, *M. restricta* 특이 IgE가 성인에서 유의하게 높게 측정되었다. *P. ovale* 특이 IgE가 성인에서 보다 높게 측정되는 것은 소아에 비해 성인에서 *Malassezia* 항원에 노출되는 횟수 자체가 많기 때문에 발생하는 누적효과라 생각된다¹⁵. 아토피피부염 환자에서 피부장벽 기능이 손상되면 *Malassezia* 항원이 피부의 수지상세포에 결합하여, 항원을 T세포에 전달하고, T세포는 다시 B세포를 자극하여 *Malassezia* 특이 IgE를 생산하게 된다.¹⁶ 때문에 노출의 횟수가 많은 성인의 *P. ovale* 특이 IgE가 소아보다 높게 측정될 것이라 생각된다.

우리는 또한 성인에서 임상적 중증도가 소아보다 더 심하고, 임상적 중증도가 *P. ovale* 특이 IgE와 통계적으로 유의성이 있다는 결과를 얻게 되었다. Takahata 등⁷은 *M. globosa*와 *M. restricta* 두 균종에 대한 특이 IgE와 임상적 중증도와 연관성은 없는 것으로 보고하였다. 이러한 결과의 차이는 위에서 언급한대로 실험에 이용한 항체가 서로 다르다는 것과, 실험에 참가한 환자군의 임상적 중증도의 차이가 원인이라 생각된다. 성인이 더 심한 임상양상을 보이는 이유 또한, 두 연령군의 피지의 양의 차이라 생각된다. 성인

의 두경부에서 피지의 분비량이 소아보다 많고, 그렇기 때문에 *Malassezia* 항원에 노출될 기회가 많을 것으로 생각된다. 따라서 노출을 통한 T세포 포매개 염증반응이 성인에서 더 활발하여, 성인에서 임상적 중증도 역시 심할 것이라 생각된다.

현재까지 두경부 아토피피부염과 연령에 따른 *Malassezia* 균종의 연관성에 대해 확립된 이론은 없다. 이번 연구를 통해 연령에 따른 균종의 분포, *P. ovale* 특이 IgE, 그리고 임상적 중증도가 다른 것을 알게 되었다. 항체가와 임상적 중증도의 차이가 균종의 차이에 기인하는지, 아니면 연령의 차이가 원인일지에 대해서는 향후 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론

이번 연구를 통해, 성인과 소아에서 검출되는 *Malassezia* 균종은 통계적으로 의미는 없었으나 서로 다른 균종이 동정되었음을 알 수 있었다. 소아군에서는 *M. globosa* 종이 53.8%로 가장 많이 동정되었고, 그 다음으로는 *M. furfur*가 많이 관찰되었다 (23.1%). 그러나 성인군에 비해 통계적으로 유의하게 많이 관찰되지는 않았다 ($p=0.14$). 성인군에서는 *M. furfur* 종이 46.7%로 가장 많이 동정되었고, 다음으로 많이 동정된 종은 *M. globosa*로 26.7%로 동정되었다. 그러나 소아군과 비교해 보았을 때 통계적으로 유의하지는 않았다 ($p=0.184$).

두 연령군간의 *P. ovale* 특이 IgE는 통계적으로 유의하게 성인군에서의 *P. ovale* 특이 IgE가 높은 수준으로 측정되었다 ($p<0.001$).

또한 두 연령군간의 임상적 중증도의 비교에서는 소아군에 비해 성인군에서 임상적 중증도가 높게 측정되었으며, 이는 통계적으로 유의한 결과를 보였다 ($p<0.001$).

다른 결과로 우리는 임상적 중증도와 *P. ovale* 특이 IgE가 통계적으로 유의성이 있다는 결과를 얻게 되었다 ($p<0.001$).

이상의 결과를 통해, *Malassezia* 균종이 특히

성인에서 두경부 아토피피부염을 악화시키는 인자임을 확인할 수 있었다. 따라서 항염증치료에 저항하는 성인의 두경부 아토피피부염의 경우 *Malassezia* 균종이 원인이 될 수 있음을 꼭 생각해야 할 것이다.

REFERENCES

1. Lim SH, Kim SM, Jung BR. A mycological and molecular biological study of *Malassezia dermatitis* isolated from Korean. *Korean J Dermatol* 2007; 45: 1020-1030
2. Sugita T, Suto H, Unno T. Molecular analysis of *Malassezia* microflora on the skin of atopic dermatitis patients and healthy subjects. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 3486-3490
3. Leung DY. Atopic dermatitis: the skin as a window into the pathogenesis of chronic allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 302-318
4. Back O, Scheynius A, Johansson SG. Ketoconazole in atopic dermatitis: therapeutic response is correlated with decrease in serum IgE. *Arch Dermatol Res* 1995; 287: 448-451
5. Devos SA, Van der Valk PG. The relevance of skin prick tests for *Pityrosporum ovale* in patients with head and neck dermatitis. *Allergy* 2000; 55: 1056-1058
6. Baker BS. The role of microorganisms in atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol* 2006; 144: 1-9
7. Takahata Y, Sugita T, Kato H. Cutaneous *Malassezia* flora in atopic dermatitis differs between adults and children. *Br J Dermatol* 2007; 157: 1178-1182
8. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1980; 92: 44-47
9. Choi WW, Won CH, Kim JA, Ahn KJ, Kim KH. The evaluation of *Malassezia* species associated with head and neck lesion of atopic dermatitis. *Kor J Invest Dermatol* 2004; 11: 1-10
10. Hwang SJ, Lee SH, Kim DW. Comparison of clinical manifestations and distribution of *Malassezia* species in patients with seborrheic dermatitis and atopic dermatitis. *Korean J Dermatol* 1998; 36: 617-627
11. Darabi K, Hostetler SG, Bechtel MA, Zirwas M. The role of *Malassezia* in atopic dermatitis affecting the head and neck of adults. *J Am Acad Dermatol* In press 2008
12. Nakabayashi A, Sei Y, Guillot J. Identification of *Malassezia* species isolated from patients with seborrheic dermatitis, atopic dermatitis, pityriasis versicolor and normal subjects. *Med Mycol* 2000; 38: 337-341
13. Sugita T, Tajima M, Amaya M, Tsuboi R, Nishikawa A. Quantitative analysis of cutaneous *Malassezia* in atopic dermatitis patients using real-time PCR. *Microbiol Immunol* 2006; 50: 549-552
14. Downing DT, Steward ME, Strauss JS. Changes in sebum secretion and sebaceous gland. *Clin Geriatr Med* 1989; 5: 109-114
15. Scalabrin DM, Bavbek S, Perzanowski MS. Use of specific IgE in assessing the relevance of fungal and dust mite allergens to atopic dermatitis: a comparison with asthmatic and nonasthmatic control subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 1273-1279
16. Moretta A. The dialogue between human natural killer cells and dendritic cells. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 306-311