

분자생물학적 방법으로 진단한 백선의 중복감염 1예

건국대학교 의학전문대학원 피부과학교실

고종현 · 황영지 · 김지영 · 이양원 · 최용범 · 안규중

= Abstract =

A Case of Concomitant Tinea Infection Diagnosed with Molecular Biologic Technique

Jong Hyun Ko, Young Ji Hwang, Ji Young Kim, Yang Won Lee, Yong Beom Choe and Kyu Joong Ahn

Department of Dermatology, Konkuk University School of Medicine, Seoul, Korea

Trichophyton(T.) rubrum is known to be the most common causative agent of tinea cruris, tinea corporis, and tinea pedis, and hygiene, nutritional status, and high temperature/humidity are known to play an important role in pathogenesis. Although there has been a report on a case of co-infection in which tinea pedis subsequently developing tinea cruris with the foot lesion being a reservoir of the later lesion, there is of yet no report which confirmed co-infection of two different lesions through identification of definite causative organisms. This case concerns a 32 year-old patient who presented with erythematous annular scaly patches on the groin and axilla. Although no organism was identified on mycosel culture, DNA base sequence and RFLP analysis of the scales revealed *T. rubrum* in both of the lesions. Considering that this is a rare case of tinea cruris accompanied by tinea corporis in the axilla and groin confirmed by molecular biological techniques, the authors present it with review of literature.

[Kor J Med Mycol 2010; 15(3): 150-155]

Key Words: *T. rubrum*, Tinea cruris, Tinea corporis, RFLP

서 론

살백선 (tinea cruris)은 사타구니에 발생하는 피부사상균에 의한 진균성 감염증으로 백선 환자의 20~30%를 차지하며, 대부분 성인 남자에서 호발하고, 고온 다습한 여름에 악화되고 겨울에 호전되는 것으로 알려져 있다¹⁻³.

살백선의 원인균으로는 *Trichophyton (T.) rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Epidermophyton (E.) floccosum* 등이 있으며, 주로 족부백선과 동반되어 나타나는 경우가 많다^{1,2}.

몸백선 (tinea corporis)은 두피, 수염, 손발, 얼굴 및 살고랑을 제외한 피부에 발생하는 염증성 및 비염증성 피부사상균 감염증을 말하며, 지역이나 연령에 무관하게 발생한다. 전형적인 병소는 경계부가 구진이나 잔물집으로 둘러싸여 분명한 경계를 나타내고 중심부는 치유되어 인설이 덮힌 과색소반이나 정상 피부 색깔이 나타난다⁴.

우리나라에서는 1924년부터 최근까지 몸백선의 원인균에 대한 광범위한 연구가 있었으며⁵ 원인균으로는 *T. rubrum*이 가장 많고, 이외

접 수 일: 2010년 3월 20일, 수정일: 2010년 7월 27일
최종승인일: 2010년 7월 28일

†별책 요청 저자: 이양원, 143-914 서울특별시 광진구 화양동 4-12, 건국대학교병원 피부과
전화: (02) 2030-8161, Fax: (02) 2030-5179
e-mail: 20050078@kuh.ac.kr

*본 연구는 2008년도 건국대학교 병원 임상연구비의 지원에 의하여 이루어진 것임.

에도 *T. mentagrophytes*, *Microsporum (M.) canis*, *Epidermophyton floccosum*, *T. violaceum*, *M. ferrugineum*, *T. verrucosum*, *M. gypseum*, *T. tonsurans* 등이 보고되었다⁶⁻⁹.

족부백선 (tinea pedis)의 경우 *T. rubrum*에 의해 발에서 사타구니로 자가감염 (autoinfection)되어 살백선을 일으키는 병원소 (reservoir)로 역할을 하나⁴⁵, 아직까지 다른 백선의 예가 보고된 문헌은 없는 실정이다.

본 증례는 32세 남자 환자로 사타구니 및 겨드랑이에 발생한 홍반성 윤상형 인설성 반을 주소로 내원하였으며, Mycosel 배양 검사상 균주가 동정되지 않았으나, 신체 두 부위에서 채취한 인설로부터 유전자 염기서열 분석 및 RFLP 분석 방법에 의해 원인 균주를 규명하고 구분을 시도하였다. 이에 저자들은 최근 *T. rubrum* 감염에 의하여 사타구니에 발생한 병변이 겨드랑이로 자가감염된 양상의 살백선과 몸백선을 동시에 갖고 있는 임상적으로 드문 증례를 경험하고, 두 부위에서 발생한 백선증이 동일 균주에 의한 것임을 유전학적 분석 방법을 사용하여 증명하였으며, 이는 기존의 형태학 및 생화학적 동정에 비해 분자생물학적 방법이 보다 신속하고 정확한 기법임을 확인하고 임상적용 가능성 여부 및 유용성을 평가할 수 있는 자료가 될 것으로 생각되어 보고하는 바이다.

증 례

환 자: 이 O O, 32세, 남자

주 소: 사타구니 및 겨드랑이의 윤상형의 홍반성 인설성 반 및 구진

현병력: 내원 1개월 전부터 수차례에 걸쳐 애완동물 (강아지)과 접촉하여 왔던 환자로, 내원 15일 전부터 사타구니에 윤상형 홍반성 인설성 반 및 구진이 발생되고 약 1주일 후 겨드랑이에도 다발성의 유사한 병변이 동반되었다. 환자 평소 땀이 많고, 사타구니와 겨드랑이를 습관적으로 자주 동시에 긁었다고 하였다.

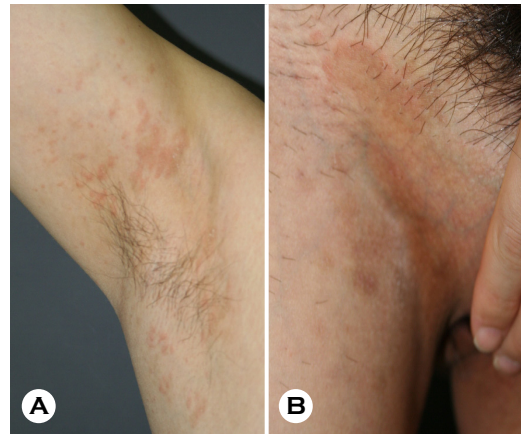


Fig. 1. Multiple variable sized erythematous scaly patches on the axillary area (A) and erythematous scaly annular patches on the crural area (B).

과거력 및 가족력: 특기사항 없었다.

이학적 소견: 전신 상태는 양호하였고 피부 소견 이외의 특기사항 없었다.

피부 소견: 사타구니에 10.5×9.0 cm 크기의 경계가 명확하고 불규칙한 형태의 인설을 동반한 홍반성 반이 관찰되었고, 겨드랑이에서도 다발성의 다양한 크기 및 형태의 유사한 병변을 보였다 (Fig. 1).

검사 소견: 일반혈액검사, 요 검사 및 일반화학검사상 모두 정상 소견을 보였다.

진균학적 소견: 병변부에서 시행한 KOH 도말 검사상 모외사상균이 관찰되었고, 환자의 사타구니, 겨드랑이의 인설을 Mycosel에 각각 접종하여 25°C에서 4주간 배양한 결과 2군데 모두 아무 것도 배양되지 않았다 (Fig. 2).

분자생물학적 동정: Mycosel에서 배양이 이루어지지 않은 관계로 병변부 인설을 직접채취 후 genomic DNA를 추출하였다. 13종 dermatophytes의 염기서열을 Align Sequence ClustalW2를 사용하여 비교하였으며, rDNA의 18S와 5.8S사이인 internal transcribed spacer 1 (ITS1), 5.8S와 25S 사이인 internal transcribed spacer 2 (ITS2)를 선택적으로 증폭시키기 위해 forward 5'-ATCATTAACGCGC-3', reverse 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'인

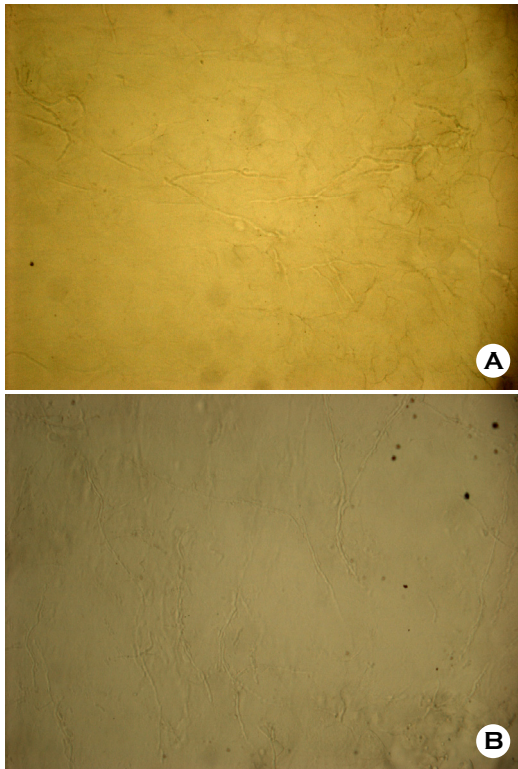


Fig. 2. Long hyphae, suggestive of *Trichophyton rubrum*, were shown on microscopy (A: crural area, B: axillar area) (KOH, $\times 400$).

primer를 사용하여 polymerase chain reaction (PCR)을 시행하였다¹⁰. 0.25 mM deoxynucleoside triphosphate (dNTPs), 10 \times PCR buffer, 0.5 M primer, 1 U Takara Ex Taq polymerase, genomic DNA 용액 1 μ l을 포함하여 PCR amplification 반응 혼합물이 50 μ l가 되도록 하였다. 반응 조건은 pre-denaturation 단계 94 $^{\circ}$ C에서 14분, denaturation 단계 94 $^{\circ}$ C에서 30초, annealing 단계 55 $^{\circ}$ C에서 30초, 72 $^{\circ}$ C에서 1분간 extension을 35회 반복하였고 마지막 extension은 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 시행하였다. 병변부 인설의 PCR product를 확인 후 LaboPassTM gel and PCR clean-up kit (Cosmo, Seoul, Korea)를 이용하여 정제하였다. 병변부 인설의 RFLP 분석을 위해 *Mva*I (fermantas, U.S.A)을 이용하였으며, 제한효소반응은 10 \times PCR buffer, 10 U restriction endonuclease (*Mva*I), PCR 산물 17 μ l을 포함한 반응 혼합물이

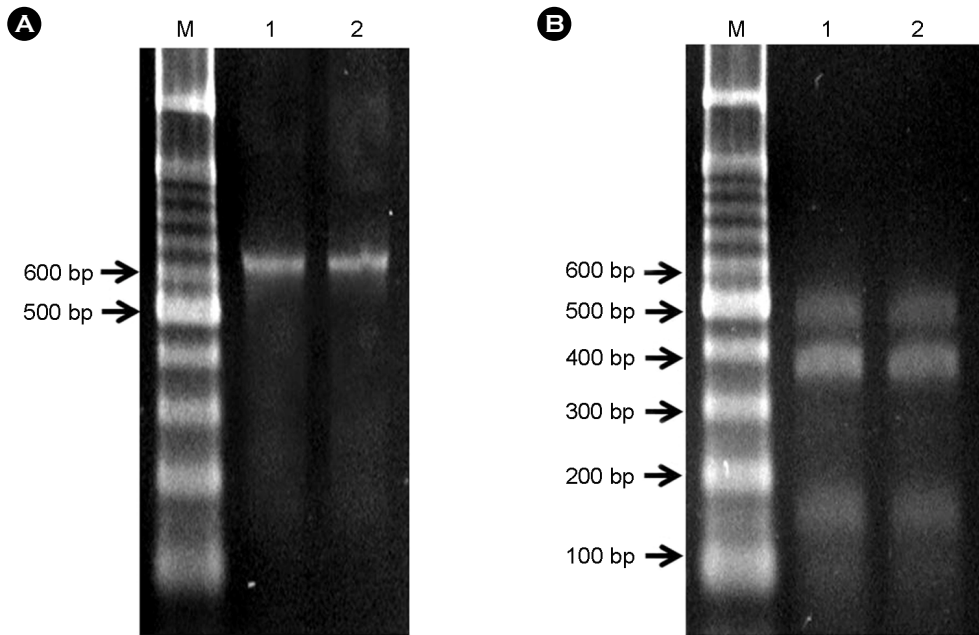
20 μ l되도록 하였고 37 $^{\circ}$ C에서 12시간 반응 후 TAE buffer 상에서 4% (w/v) Seakem LE agarose gel (FMC, Rockland, ME, USA)을 100 volt로 전기영동 후 ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator로 DNA 분절의 크기와 수를 확인하였다. RFLP pattern은 13종 dermatophytes 표준균주의 RFLP pattern과 비교한 결과 *T. rubrum* strain의 RFLP pattern으로 확인하였다¹¹. 최종 PCR 산물을 sequence analysis하여 GenBank에서 Blast search하여 *T. rubrum* gene sequence와 matching 시켜본 결과 사타구니에서는 100%, 겨드랑이에서는 99%에서 동일염기임을 확인하였다 (Fig. 3).

치료 및 경과: Fluconazole (Plunazole[®]) 1주 150 mg씩 4주간 경구투여하였으며, antihistamine (Allelock[®]) 경구투여 및 amorolfine (Loceryl[®]) 연고의 국소도포 병용으로 병변이 호전되었다.

고 찰

살백선 (*tinea cruris*)은 피부사상균에 의해 발생하는 흔한 질환 중의 하나로서 원인균은 *T. rubrum*이 가장 많고 *T. mentagrophytes*, *E. floccosum* 등이 있으며, 족부백선과 동반되어 나타나는 경우가 많다고 한다¹⁻³. 중복감염의 경우 임 등¹²의 연구결과에 따르면, 살백선에서 족부백선이 동반된 경우가 85.7%로 대부분을 차지하였으며, 유병기간도 족부백선이 살백선보다 긴 경우가 69.1%로 대부분이었고, 배양에서 같은 원인균인 *T. rubrum*이 동정된 경우가 높은 빈도를 차지하였으므로 족부백선이 살백선을 일으키는 병원소로 생각할 수 있다고 보고되고 있다.

몸백선 (*tinea corporis*)은 두피, 수염, 손발, 얼굴 및 살고랑을 제외한 피부에 발생하는 표재성 진균증으로 족부백선, 살백선, 손발톱백선 다음으로 높은 발생 빈도를 보인다⁴. 발병 양상으로는 위생 상태가 불량하거나 영양 상태가 좋지 못한 계층에서 호발하며 고온 다습한 환경이 발생에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며¹³, 특히 최근 생활수준의 향상과 더불어 위생 상태나 영양



(C) *T. rubrum* ITS1,5.8S rDNA and ITS2 amplification product of 583bp isolated from crural area of patient.
 ATAGGGACCGACGTTCCATCAGGGGTGAGCAGACGTGCGCCGGCCGTACGCCCCATTCT 60
 TGTCTACCTACCCGTTGCCTCGGCGGGCCGCGCTCCCCCTGCCAGGGAGAGCCGTCCG 120
 GCGGGCCCCTTCTGGGAGCCTCGAGCCGACCGCGCCCGCGGAGGACAGACACCAAGA 180
 AAAAAATTCTCTGAAGAGCTGTCAGTCTGAGCGTTTAGCAAGCACAAATCAGTTAAAACTTT 240
 CAACAACGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT 300
 GTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGCATT 360
 CCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGATGGA 420
 CGACCGTCCGGCCCCTCCCTTCGGGGGCGGGACGCGCCCGAAAAGCAGTGGCCAGGCCGCG 480
 GATTCCGGCTTCTAGGCGAATGGGCAGCCAATTCAGCGCCCTCAGGACCGGCCGCCCTG 540
 GCCCAATCTTTATATATATATATATCTTTTCAGGTTGACCTC 583

(D) *T. rubrum* ITS1,5.8S rDNA and ITS2 amplification product of 582bp isolated from axillar area of patient.
 ATAGGGACCGACGTTCCATCAGGGGTGAGCAGACGTGCGCCGGCCGTACGCCCCATTCT 60
 TGTCTACCTACCCGTTGCCTCGGCGGGCCGCGCTCCCCCTGCCAGGGAGAGCCGTCCGG 120
 CGGGCCCCTTCTGGGAGCCTCGAGCCGACCGCGCCCGCGGAGGACAGACACCAAGAA 180
 AAAATTCTCTGAAGAGCTGTCAGTCTGAGCGTTTAGCAAGCACAAATCAGTTAAAACTTTT 240
 AACAACGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATG 300
 TGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGCATT 360
 CCGGGGGGCATGCCTGTTCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGGCTTGTGTGATGGAC 420
 GACCGTCCGGCCCCTCCCTTCGGGGGCGGGACGCGCCCGAAAAGCAGTGGCCAGGCCGCG 480
 ATTCCGGCTTCTAGGCGAATGGGCAGCCAATTCAGCGCCCTCAGGACCGGCCGCCCTGG 540
 CCCCAATCTTTATATATATATATATCTTTTCAGGTTGACCTC 582

Fig. 3. (A) Polymerase chain reaction products of *Trichophyton rubrum* (ATCC 28188). M, 100-base pair marker; (B) Restriction fragment length polymorphism patterns by *Mva*I. Patterns were designated M, 100-base pair (bp) marker, 1. Crural area 2. Axillar area; *T. rubrum* genes for ITS1, 5.8S rRNA, ITS2 and 28S RNA, partial and complete sequence Length = 632. (C) Crural area (Identities = 583/583 (100%), Gaps = 0/583 (0%)); (D) Axillar area (Identities = 582/583 (99%), Gaps = 1/583 (0%).

상태 등이 호전되고 있음에도 국내에서 몸백선의 발생 빈도가 줄지 않는 것은 애완동물에 감염될 수 있는 *M. canis* 같은 동물호성균의 출현과 당뇨병 등의 성인성 질환의 증가, 스테로이드제제 오남용 등과 연관이 있을 것으로 생각된다^{7,14}.

1945년 이전에는 국내 몸백선의 원인균으로 *M. ferrugineum*이 63%로 가장 많았으며, 1970년대 중반에는 *M. ferrugineum*이 급격히 감소하면서 *T. rubrum*과 *T. mentagrophytes*가 중요 원인균이 되었다¹⁵. 1970년대 말에는 *T. rubrum*이 가장 많이 동정되고 *M. canis*가 11%로 급격한 증가 추세를 보였으며 *M. ferrugineum*은 0.3%로 거의 소멸되었다⁸. 이후 1989년 천 등¹⁶은 *T. rubrum*, *M. canis*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*을 동정하였으나 *M. ferrugineum*은 분리되지 않았음을 보고하였다. 1995년 서 등¹³의 조사에서도 *T. rubrum*이 증가하는 경향을 보이면서 *T. verrucosum*이 처음으로 보고되었으며, 1998년 경 등¹⁷도 *T. rubrum*이 대부분을 차지하는 보고를 발표하였다. 이 중 *M. gypseum*에 의한 몸백선은 국내에서 1976년 김 등¹⁸이 처음 보고한 이래 김 등⁸이 1.8%, 천 등¹⁶이 2%의 발생 빈도를 보고하는 등 꾸준히 보고되고 있다.

본 증례에서는 사타구니 및 겨드랑이에서 시행한 KOH 도말 검사상 모두 양성이며, 비록 진균 배양에서는 동정되지 않았으나, 병변부에서 채취한 인설로부터 DNA를 추출하여 시행한 RFLP에서 두 군데 모두 *T. rubrum*이 동정되었다.

이렇게 동시 다발적인 중복감염이 보일 때는 원인 균주의 규명이 필요하며, 이는 원인 균주에 의한 백선의 감염경로를 추정하거나 재발과 재감염을 구분하고 내성 균주의 파악 및 감염부위에 따른 원인 균주의 동정으로 치료에 도움을 주고자 함에 있다¹⁹.

최근 이런 중복감염 환자에게서 분리된 동일 균종의 DNA의 염기서열 분석을 통한 피부사상균의 균주간 유전자 아형 분석이 국내 및 국외에서 활발히 진행되고 있다¹⁹⁻²⁴. *T. rubrum*의 다양성 및 복잡성을 설명하고 이해하기 위하여

1990년대 초부터 분자생물학적인 방법을 이용한 연구가 활발하게 진행되어 왔으며, 특히 Jackson 등^{20,21}은 Southern blot을 이용하여 *T. rubrum*의 nontranscribed spacer에 다형성의 반복 염기서열이 존재할 것을 추측하였고, 이 염기서열을 분석하여 TRS-1, TRS-2 두 개의 repetitive subelements가 존재하고 있음을 발견하였으며, specific primer들을 이용하여 증폭시켜, 101가지의 *T. rubrum* 균주를 23가지 아형으로 구분하였다. Baeze 등²²과 Kim 등²³은 *T. rubrum*을 randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)를 이용하여 확정 동정을 하고 Jackson 등^{20,21}의 방법에 따라 nontranscribed spacer 부분을 증폭하여 균주간 구분을 하였다. 하지만 Choi 등²⁴은 Jackson 등^{20,21}이 사용한 primer들은 *T. rubrum*에 특이하여 다른 균종에서는 반응하지 않아, Southern blot보다는 편리하고, 염기서열을 모르는 균종에도 사용할 수 있는 방법, 즉, nontranscribed spacer 전체를 증폭하기 위한 primer 제작과 이상적인 PCR 조건을 찾으려는 시도를 하였다. 그러나 본 증례의 경우 보다 간단하고 신속하며 정확한 결과를 얻기 위한 방법으로 RFLP를 사용하였으며²⁵, 결과상 두 부위 모두 *T. rubrum*에 의한 동일 균종의 감염임을 밝혀냈다.

이에 저자들은 건강한 32세 남성에서 *T. rubrum*에 의한 살백선으로부터 몸백선으로의 중복감염을 분자생물학적 방법으로 진단한 1예를 경험하고 문헌고찰과 함께 보고한다.

REFERENCES

1. Hay RJ, Ashbee HR. Mycology, In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Rook's Textbook of dermatology. 8th ed. Wiley-Blackwell, 2010:36.18-36.34
2. Kim KH. Dermatophytosis. KDA Textbook Editing Board. Dermatology. 5th ed. Seoul: Ryo Moon Gak, 2008:347-356
3. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical mycology.

- Philadelphia: Lea & Febiger, 1992:114-118
4. Verma S, Heffernan MP. Superficial fungal infection: Dermatophytosis, Onychomycosis, Tinea nigra, Piedra. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BA, Paller AS, Leffell DJ. editors. Fitzpatrick's Dermatology in general medicine. 7th ed. New York: McGraw-Hill Book, 2008:1807-1821
 5. Suh SB. Dermatophytosis and its causative agents in Korea. Kor J Med Mycol 1996;1:1-10
 6. Kim YJ, Lim SW, Suh MK, Choi JH, Bang JS, Lee JW, et al. Four cases of tinea corporis caused by *Microsporium gypseum*. Kor J Med Mycol 2001;6: 90-96
 7. Kim ST, Jun JB, Suh SB. Clinical and mycologic observations on tinea corporis. Korean J Dermatol 1982;20:703-712
 8. Kim YD, Park ES, Lee KS, Song JY. Tinea corporis occurring in one family caused by *Trichophyton verrucosum*. Korean J Dermatol 1989;27:435-439
 9. Lim JW, Suh MK, Ha GY. The frequency of tinea pedis in patients with tinea cruris. Kor J Med Mycol 2007;12:1-8
 10. Mirhedi H, Makimura K, Zomorodian K, Yamada T, Sugita T, Yamaguchi H. A simple PCR-RFLP method for identification and differentiation of 11 *Malassezia* species. J Microbiol Methods 2005;61:281-284
 11. Lee YW, Lim SH, Ahn KJ. The application of 26S rDNA PCR-RFLP in the identification and classification of *Malassezia* yeast. Kor J Dermaol 2006; 11:141-153
 12. Kim BS, Suh SB. Mycological and clinical observation on dermatophytosis. Korean J Dermatol 1976; 14:325-334
 13. Mervyn LE, Naccy GW. The superficial and subcutaneous mycoses, In Moschella SL, Hurley HJ. Dermatology. 3rd ed. 1992:869-880
 14. Romano C, Asta F, Massai L. Tinea incognito due to *Microsporium gypseum* in three children. Pediatr Dermatol 2000;17:41-44
 15. Suh MK, Sung YO, Ha GY. Dermatophytoses in Kyongju Area. Korean J Dermatol 1995;33:294-302
 16. Chun BN, Yu HJ, Son SJ. A clinical and mycological study of tinea corporis. Korean J Dermatol 1989;27: 537-542
 17. Kyung MS, Kim KS, Shin DH, Choi JS, Kim KH, Kim SH. The correlation of clinical and mycological features of tinea corporis. Kor J Med Mycol 1998;3: 139-146
 18. Kim BS, Suh SB. Mycological and clinical observation on dermatophytosis. Korean J Dermatol 1976; 14:325-334
 19. Kim HC, Shin DH, Choi JS, Kim KH. Strain differentiation of *Trichophyton rubrum* isolated from 2 sites of the same patients by analysis of ribosomal DNA nontranscribed spacer. Korean J Med Mycol 2002;7:69-77
 20. Jackson CJ, Barton RC, Evans EG. Species identification and strain differentiation of dermatophyte fungi by analysis of ribosomal-DNA intergenic spacer regions. J Clin Microbiol 1999;37:931-936
 21. Jackson CJ, Barton RC, Kelly SL, Evans EG. Strain identification of *Trichophyton rubrum* by specific amplification of subrepeat elements in the ribosomal DNA nontranscribed spacer. J Clin Microbiol 2000; 38:4527-4534
 22. Baeza LC, Matsumoto MT, Almeida AM, Mendes-Giannini MJ. Strain differentiation of *Trichophyton rubrum* by randomly amplified polymorphic DNA and analysis of rDNA nontranscribed spacer. J Med Microbiol 2006;55:429-436
 23. Kim JA, Huh CH, Moon SE. Identification and subtyping of *Trichophyton rubrum* by molecular biological methods. Korean J Med Mycol 2001;6: 219-228
 24. Choi JS, Shin DH, Seung JJ, Kim KH. Strain differentiation of *Trichophyton rubrum* using polymorphism of rDNA intergenic spacer. Korean J Med Mycol 2004;9:206-213
 25. Oh BH, Song YC, Lee YW, Choe YB, Ahn KJ. Comparison of nested PCR and RFLP for identification and classification of *Malassezia* yeasts from healthy human skin. Ann Dermatol 2009;21:352-363