국소 피부감염증에서 ITS 염기서열 분석을 이용한 *Scedosporium apiospermum* 동정의 예

동국대학교 의과대학 피부과학교실[1], 진단검사의학교실[2], 병리학교실[3],
영남대학교 의과대학 피부과학교실[4]

유지영[1] · 송유범[1] · 서무규[1†] · 하경임[2] · 이종임[3] · 송승현[4]

= Abstract =

A Case of Localized Skin Infection Due to *Scedosporium apiospermum* Diagnosed by DNA Sequencing of the Internal Transcribed Spacer Region

Ji Young Yoo[1], You Bum Song[1], Moo Kyu Suh[1†], Gyoung Yim Ha[2], Jong Im Lee[3] and Seung Hyun Sohng[4]

Department of Dermatology, College of Medicine, Dongguk University;
Department of Dermatology[1], College of Medicine, Dongguk University;
Department of Laboratory Medicine[2], College of Medicine, Dongguk University;
Department of Pathology[3], College of Medicine, Yeungnam University[4], Daegu, Korea

Scedosporium apiospermum is an asexual state of *Pseudallescheria boydii* which has been isolated from soil, sewage, and decaying vegetation. It can cause cutaneous infections by traumatic implantation of the contaminant due to penetrating injury. This ubiquitous fungus cause not only mycetoma, but also infections of variety of body sites including the skin. The localized skin infection due to this organism is much rare than mycetoma. We report a case of cutaneous *S. apiospermum* infection occurred in 80-year-old male. The skin lesion was manifested by a 8.0 × 4.0 cm-sized erythematous plaque with pustules and crusts on the dorsum of right hand. The fungal culture from the biopsy specimen on Sabouraud's dextrose agar showed white to gray colored cottony colonies of *S. apiospermum*. The nucleotide sequence of internal transcribed spacer for clinical isolate was identical to that of *S. apiospermum* strain IHEM 23829. The patient was treated with oral fluconazole for 3 months.

[Korean J Med Mycol 2014; 19(2): 45-51]

Key Words: Localized skin infection, *Scedosporium apiospermum*

Received: December 20, 2013, Revised: December 26, 2013, Accepted: April 4, 2014

†Corresponding author: Moo Kyu Suh, Department of Dermatology, College of Medicine, Dongguk University, Department of Dermatology 87 Dongdaero, Gyeongju, Kyungbuk, 780-350, Korea.
Tel: +82-54-770-8268, Fax: +82-54-770-8378, e-mail: smg@dongguk.ac.kr

Copyright@2014 by The Korean Society for Medical Mycology (pISSN:1226-4709). All right reserved.
This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. http://www.ksmm.org

서 론

*S. apiospermum*은 *Pseudallescheria(P.) boydii*의 무성생식 세대로 토양, 오수, 부패한 식물 등에 광범위하게 존재하는 진균이다. 인체감염은 외상을 통한 직접적인 접종이나 균의 흡입 등의 경로를 통해 발생하게 되며, 장기 이식, 부신피질 호르몬제, 면역억제제의 사용과 같은 면역이 저하된 상태의 환자에서 기회감염을 일으키게 된다. 다기관 침범이 가능하나 피부, 피하조직, 근막, 관절 등을 주로 침범한다고 알려져 있다[1]. 피부감염증에는 진균종 (mycetoma)과 국소 피부감염증이 있으며 이중 국소 피부감염증이 좀더 드물고, 항진균제에 저항성을 갖고 있는 경우가 많아 치료가 어렵다[2,3]. 현재까지 국내에서 발생한 *S. apiospermum*에 의한 국소 피부감염증은 13예[2,4-14] (Table 1)가 보고되어 있으나, 그 원인균은 주로 형태학적으로 동정되었으며 분자생물학적 분석을 보완적으로 이용한 예는 아직 없다.

저자들은 80세 남자 환자의 우측 손등에 발생한 *S. apiospermum* 국소 피부감염증을 분자 생물학적 분석으로 진단한 1예를 경험하고 문헌고찰과 함께 보고한다.

Table 1. Summary of the reported cases of cutaneous *Scedosporium apiospermum* infection in Korean

Author (year)	Age/ Sex	Site of infection	Duration	Skin lesion	Treatment
Kim et al[4] (1996)	70/F	Forearm, hand	5 months	Erythematous crusted papules & plaques	Itraconazole
Ahn et al[5] (1999)	64/M	Shin, ankle	2 months	Ulcer	Itraconazole
Kim et al[2] (1999)	65/F	Forearm	2 months	Suppurative nodules	Itraconazole
	48/M	Hand	13 weeks	Abscess	Itraconazole
Lee et al[6] (2001)	67/F	Forearm	1 year	Multiple subcutaneous nodules	Itraconazole
Im et al[7] (2004)	75/F	Forearm	15 days	Multiple subcutaneous nodules	Itraconazole
Choi et al[8] (2005)	58/M	Foot	1 month	Confluent nodules	Itraconazole
Lee et al[9] (2007)	69/F	Hand	1 year	Erythematous plaque	Itraconazole
Jeong et al[10] (2008)	78/F	Forearm	5 days	Ulcerative patch with pustules, nodules	Voriconazole
Kim et al[11] (2010)	78/M	Hand	1 month	Subcutaneous nodules & pustules	Itraconazole
Kim et al[12] (2011)	83/M	Forearm	15 days	Suppurative nodules on erythematous plaque	Itraconazole
Nam et al[13] (2011)	79/F	Wrist	Unknown	Multiple erythematous papulopustules	Itraconazole
Cho et al[14] (2013)	79/F	Forearm	2 weeks	Suppurative nodules, erythematous plaque	Voriconazole
Present Case (2013)	80/M	Hand	1 year	Erythematous plaque with pustules and crusts	Fluconazole

Fig. 1. Localized, well-defined, 8.0 × 4.0 cm sized erythematous plaque with pustules and crusts on the dorsum of right hand.

증 례

환 자: 정 OO, 80세, 남자

주 소: 우측 손등에 발생한 딱지 및 농포를 동반한 홍반성 판

현병력: 천추 골절 및 요추 협착증으로 본원 정형외과에 입원한 환자로 내원 1년 전 담벼락에 우측 손등을 부딪힌 후 무증상의 홍반성 판이 발생하였으며 점차 크기가 증가되고 딱지 및 농포가 동반되어 개인의원 및 본원 정형외과에서 항생제 치료하였으나 호전이 없어 본원 피부과로 의뢰되었다.

과거력 및 가족력: 5년 전 류마티스 관절염을 진단받아 5년 전부터 개인의원에서 predenisolone 1일 10 mg을 간헐적으로 복용하였으며, 최근 2년 전부터는 증상이 악화되어 지속적으로 복용중이었음

이학적 소견: 피부 소견 외 특기사항 없음

피부 소견: 우측 손등에 8.0 × 4.0 cm 크기의 홍반성 판 위에 국소적으로 고름 배출 및 딱지, 농포가 관찰되었다 (Fig. 1).

진균학적 소견: 우측 손등의 피부병변에서 시행한 KOH 검사상 균을 발견할 수는 없었으나, 병변의 생검조직을 사부로 배지에 6개의 절편으로 나누어 접종하여 25℃에서 7일간 배양한 결과

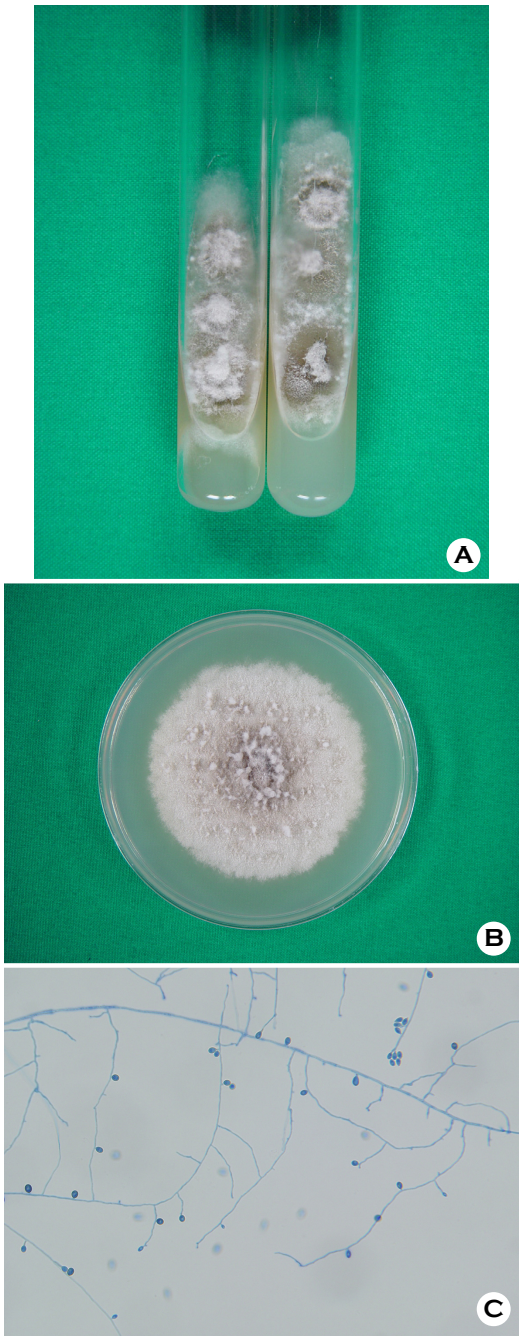

Fig. 2. (A) White to gray colored cottony colonies in Sabouraud's dextrose agar slants at 25℃ for 1 week **(B)** A white to gray colored cottony colony on Sabouraud's dextrose agar plate after incubation at 25℃ for 1 week **(C)** Branched conidophore with single conidium at the tips were observed in slide culture *S. apiospemum* (Lactophenol cotton blue, ×400).

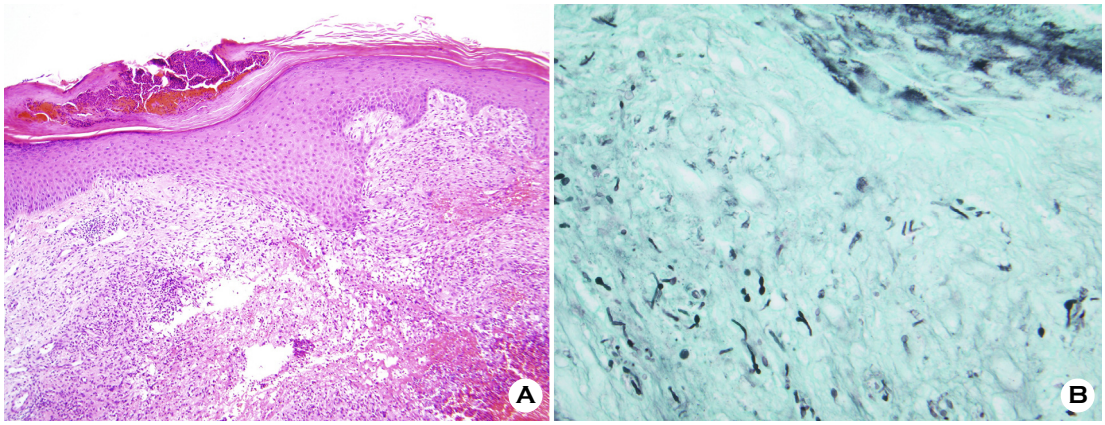

Fig. 3. (A) Chronic granulomatous inflammation with dense inflammatory cellular infiltration in the dermis (H&E, ×100) **(B)** Dark black hyphae and spores in the dermis (GMS stain, ×400).

빠르게 자라는 회백색의 동일한 균집락이 관찰되었다 (Fig. 2A). 또한 평판배지에 계대 배양 시 비슷한 소견을 보였다 (Fig. 2B). 이 집락을 슬라이드 배양표본으로 만들어 Lactophenol-cotton blue로 염색하여 현미경으로 관찰한 결과 두터운 세포벽을 가진 균사와 균사의 끝이나 측면에서 자라나는 분생포자병 (conidiophore), 분생포자병 말단부에 형성된 단일 분생포자 (conidium)가 관찰되었다 (Fig. 2C).

검사 소견: 일반혈액검사, 소변검사, 간기능 및 신기능 검사와 매독혈청반응 검사, 흉부 X-선 검사, 심전도 검사는 모두 정상 범위 내지 음성이었다.

병리조직학적 소견: 우측 손등의 병변부에서 시행한 피부생검의 H & E 염색 상 진피에 림프구, 조직구, 다핵 거대세포 등으로 구성되어 있는 만성 육아종성 염증이 관찰되었다 (Fig. 3A). Grocotts methenamine silver 염색에서는 진피에서 검은색의 균사와 포자가 관찰되었다 (Fig. 3B).

분자생물학적 검사: 환자의 배양된 균집락으로부터 DNA를 분리하여 진균핵 내의 internal transcribed spacer (ITS) 부위의 염기서열을 얻은 후 Blast를 이용하여 GenBank에 있는 *S. apiospermum* strain IHEM 23829 (GenBank accession number JQ690950.1)의 ITS 부위의 염기서열과 비교한 결과 100% 일치하여 *S. apiospermum*으로 동정하였다 (Fig. 4).

치료 및 경과: 1일 itraconazole 200 mg을 4주 간 경구 투여하여 병변의 호전을 보였으나 간기능 검사 상 AST, ALT가 40 U/L, 75 U/L로 증가 소견을 보여 itraconazole 투여를 중단하고, 이후 1일 fluconazole 50 mg을 3개월 간 경구 투여하여 병변은 소실되었으며 재발 소견 없이 6개월 째 외래 추적 관찰 중에 있다.

고 찰

*S. apiospermum*은 1911년 Saccardo가 진균종 환자에서 처음 동정하였고 1919년에 Castellani와 Chalmers가 *S. apiospermum*이라고 명명하였으며 1944년 이전에는 *P. boydii*와 서로 다른 개체로 이해되었다가 이후 동종의 무성생식 세대로 알려지게 되었다[15].

S. apiospermum 감염의 임상 양상은 피부감염 질환부터 골관절질환, 안구질환, 내부장기질환부터 파종성 질환까지 다양하게 나타날 수 있으며 병의 중증도는 환자의 면역 상태에 따라 달라진다. 정상인의 경우 외상에 의한 진균종 및 국소

```
Query 1   ATCATTACAGAGTTACTACTCCAAACCCATTGTGAACCTTACCTATGTTCTGTTGCCTCG 60
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 35  ATCATTACAGAGTTACTACTCCAAACCCATTGTGAACCTTACCTATGTTCTGTTGCCTCG 94
Query 61  GCGGCGTCGGTCAGCGCCCCTCTGAGAAGAGGACGATGCCCCTCCCGCCGGCAGCACCAA 120
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 95  GCGGCGTCGGTCAGCGCCCCTCTGAGAAGAGGACGATGCCCCTCCCGCCGGCAGCACCAA 154
Query 121 ACTCTTGAATTTTACAGCGGATTACAGTTCTGATTTGAAAACAAAAAACAAGTTAAAACT 180
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 155 ACTCTTGAATTTTACAGCGGATTACAGTTCTGATTTGAAAACAAAAAACAAGTTAAAACT 214
Query 181 TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA 240
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 215 TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTA 274
Query 241 ATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGGCAGT 300
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 275 ATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGGCAGT 334
Query 301 AATCTGCCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCTCCGTTTCCTCAGG 360
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 335 AATCTGCCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCTCCGTTTCCTCAGG 394
Query 361 GAAGCCCAGGGTCGGTGTTGGGGCGCTACGGCGAGTCCTCGCGACCCCCGTAGGCCCTGA 420
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 395 GAAGCCCAGGGTCGGTGTTGGGGCGCTACGGCGAGTCCTCGCGACCCCCGTAGGCCCTGA 454
Query 421 AATACAGTGGCGGTCCCGCCGCGGTTGCCTTCTGCGTAGTAAGTCTCTTTTGCAAGCTCG 480
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 455 AATACAGTGGCGGTCCCGCCGCGGTTGCCTTCTGCGTAGTAAGTCTCTTTTGCAAGCTCG 514
Query 481 CATTGGGTCCCGGCGGAGGCCTGCCGTCAAACCACCTAACAACTCCAGATGGTTTGACC 539
          ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 515 CATTGGGTCCCGGCGGAGGCCTGCCGTCAAACCACCTAACAACTCCAGATGGTTTGACC 573
```

Fig. 4. Alignment of ITS sequences of the sample from the patient. The sequences of ITS region of clinical sample was 100% match to that of *S. apiospermum* strain IHEM 23829 (GenBank accession number JQ690950.1).

피부감염증이 흔한데, 국소 피부감염증은 진균종보다 훨씬 드물며 스포로트리쿰증 병변과 같이 결절 또는 궤양성 병변이 림프관을 따라 염주알 모양으로 나타나고 점진적으로 크기가 증가하며,

드물게는 혈행성 파종이 나타나거나 인접한 근육이나 뼈를 침범하기도 한다. 따라서 임상적으로 스포로트리쿰증, 결핵, 나병, 매독 등과 감별이 필요하다[1].

현재까지 *S. apiospermum*에 의한 국소 피부감염증은 국내에서 13예[2,4-14] (Table 1)가 보고되었으며, 환자의 평균 나이는 70.2세로 대부분이 60세 이상의 고령층이었다. 유발 인자로 장기간의 스테로이드 복용이 8예[2,5,7-12]에서 보고되었고, 외상의 병력이 6예[2,5,9,10,12,14]에서 있었으며, 면역억제나 외상의 유발 인자가 모두 없는 경우는 3예[4,6,13]로 드물었다. 발생 부위는 모두 외상을 입기 쉬운 상지와 하지였고, 특히 상지가 11예[2,4,6-14]로 감염이 호발하는 부위로 생각되었다. 병원 방문 전까지 피부감염의 이환기간은 5일에서 1년 사이로 다양하게 나타나 질병의 급성 또는 만성적 진행이 가능하였다. 피부병변은 홍반성 판, 결절, 궤양 등의 형태로 나타났으며 그 중 결절 형태가 8예[2,6-8,10-12,14]로 가장 흔하게 보였고, 다음으로 판 형태가 4예[4,9,12,14] 순이었다. 원인균 동정은 13예[2,4-14] 모두 형태학적 동정을 통해 시행되었다. 본 증례에서도 이환기간이 1년인 고령 환자에서 스테로이드 경구제제의 장기 복용력 및 외상의 병력이 있었으며 발생 부위는 외상을 입기 쉬운 상지인 손등이었고 피부병변은 딱지 및 농포를 동반한 판 형태의 임상 양상을 보였다.

*S. apiospermum*은 사부로 배지에서 7일간 실온 배양했을 때 비교적 빠른 속도로 자라 초기에는 백색의 솜털 모양을 보이며, 점차 회백색으로 바뀌고 집락의 뒷면은 회색을 띤다. Lactophenol-cotton blue 염색 상 균사의 끝이나 측면에서 존재하는 분생포자병이 자라나오고 그 끝에는 난원형을 가지며 한 개씩 또는 군집을 이루는 큰 분생포자가 관찰되는 진균학적 특징을 보인다. 유성생식 세대의 *P. boydii*에서는 사부로 배지에서 25℃ 10일간 배양했을 때 난원형의 자낭포자(ascospore)가 들어있는 자낭 (ascus), 8개의 자낭이 들어있는 폐자낭각 (cleistothecia), 내부의 기름방울 같은 구조물을 함유한 자낭포자가 관찰되며, 10일 이상 배양한 후에도 위와 같은 유성 생식기의 소견이 관찰되지 않으면 *S. apiospermum*으로 명명한다[1]. 본 증례에서도 환자 병변의 절편을 25℃에서 7일간 배양한 결과 빠르게 자라며 회백색을 띠는 솜털 같은 균집락이 관찰되었으며, 균집락에서 시행한 Lactophenol-cotton blue 염색 상 두터운 세포벽을 가진 균사, 균사의 끝이나 측면에서 자라나는 분생포자병, 분생포자병 말단부에 형성된 단일 분생포자가 관찰되었다.

전통적인 진균 동정법은 형태학적 특성에 의존하고 있으나 이는 적어도 수 주일이 소요되며, 동정의 정확도 향상에 매우 숙련된 전문가가 필요하다. 이해 비하여 분자생물학적 동정은 보다 신속하고 정확한 기법으로 최근 임상적으로 적용되어 진균 동정에 보완적으로 활용되고 있다[16]. 본 증례에서는 환자의 배양된 균집락으로부터 DNA를 분리하여 진균핵 내의 internal transcribed spacer (ITS) 부위의 염기서열을 얻은 후 Blast를 이용하여 GenBank에 있는 *S. apiospermum* strain IHEM 23829 (GenBank accession number JQ690950.1)의 ITS 부위의 염기서열과 비교하여 100% 일치하는 결과를 보여 *S. apiospermum*으로 최종 동정하였다. 분자생물학적 방법으로 *S. apiospermum*을 동정한 증례는 현재까지 국내에 보고된 바 없다.

치료는 항진균제인 itraconazole의 *S. apiospermum* 균종에 대한 최저억제농도가 amphotericin B, terbinafine보다 낮게 측정되기 때문에 itraconazole이 우선적인 선택 약제로 쓰인다[2,4-9,11-13,17]. 또한 최근 개발된 voriconazole을 투여하여 성공적으로 치료된 증례[10,14]도 보고되어 있다. 본 증례에서는 itraconazole을 처음 사용하여 효과를 보였으나 간효소치의 증가로 itraconazole이나 voriconazole을 투여할 수 없어서 신장으로 배설되고 itraconazole과 같은 triazole계 항진균제인 fluconazole을 매일 50 mg씩 3개월 간 경구 투여하여 호전을 보였다.

REFERENCES

1. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992:678-694
2. Kim HU, Kim SC, Lee HS. Localized skin infection due to *Scedosporium apiospermum*. Br J Dermatol 1999;141:605-606
3. Capilla J, Guarro J. Correlation between *in vitro* susceptibility to voriconazole and *in vivo* outcome of scedosporiosis in guinea pigs. Antimicrob Agents Chemother 2004;48:4009-4011
4. Kim DJ, Jo HY, Hong SH, Yi GY, Kim IH, Oh CH. A case of cutaneous Pseudallescheriasis. Kor J Med Mycol 1996;1:101-106
5. Ahn BJ, Lee SH, Kim DS, Kim SW. Cutaneous pseudallescheria boydii infection. Kor J Med Mycol 1999;4:143-147
6. Lee HJ, Shin SB, Ha SJ, Moon JS, Kim SO, Kim SJ, et al. A case of cutaneous abscess due to *Scedosporium apiospermum*. Korean J Dermatol 2001;39:812-815
7. Im M, Kim HW, Seo YJ, Lee JH, Park JK, Suh MK. A case of localized skin infection due to *Scedosporium apiospermum*. Korean J Dermatol 2004;42:1505-1507
8. Choi YL, Lee KJ, Park JH, Rho NK, Lee DY, Lee ES. A case of cutaneous *Scedosporium apiospermum* infection. Korean J Dermatol 2005;43:704-706
9. Lee YH, Kim SH, Suh MK, Ko WT, Ha GY, Kim JR. A case of localized skin infection due to *Scedosporium apiospermum*. Korean J Dermatol 2007;45:1060-1063
10. Jeong YG, Bae IG, Lim MH, Kim JH, Hang MK, Kim SJ, et al. A case of skin infection due to *Scedosporium apiospermum* treated with voriconazole. Korean J Med Dermatol 2008;13:187-191
11. Kim BR, Kim YK, Kang TY. A case of localized skin infection due to in a patient with rheumatoid arthritis. J Korean Rheum Assoc 2010;17:100-102
12. Kim S, Lee S, Lee Y, Seo Y, Lee J, Im M. Primary cutaneous infection with *Scedosporium apiospermum* successfully treated with intravenous itraconazole. Kor J Med Mycol 2011;16:105-108
13. Nam HM, Kwon UK, Park K, Park SD. Localized cutaneous infection due to *Scedosporium apiospermum*. Kor J Med Mycol 2011;16:196-200
14. Cho HK, Lee HE, Choi YJ, Lee SH, Whang KU, Lee JS, et al. A case of cutaneous *Scedosporium apiospermum* infection successfully treated with voriconazole. Korean J Dermatol 2013;51:135-139
15. O'Bryan TA. Pseudallescheriasis in the 21st century. Expert Rev Anti Infect Ther 2005;3:765-773
16. Ko JH, Hwang YJ, Kim JY, Lee YW, Choe YB, Ahn KJ. A case of concomitant tinea infection diagnosed with molecular biologic technique. Kor J Med Mycol 2010;15:150-155
17. Karaarslan A, Arikan S, Karaarslan F, Cetin ES. Skin infection caused by *Scedosporium apiospermum*. Mycoses 2003;46:524-526