

폐암 말기 환자에서 발생한 *Phialemonium dimorphosporum*과 *Myrothecium* Species에 의한 심재성 피부 진균증 1예

영남대학교 의과대학 피부과학교실, 병리학교실*

신영민 · 박소현 · 신동훈 · 최종수 · 김기홍 · 배영경*

=Abstract=

A Case of Cutaneous Deep Mycosis by *Phialemonium dimorphosporum* and *Myrothecium* Species in Lung Cancer Patient

Young Min Shin, So Hyun Park, Dong Hoon Shin, Jong Soo Choi,
Ki Hong Kim and Young Kyung Bae*

Departments of Dermatology and Pathology*, College of Medicine,
Yeungnam University, Daegu, Korea

Phialemonium and *Myrothecium* species are rare agents of human deep mycosis infection and those have been increasingly documented as emerging agents of opportunistic infection in immunocompromised patients. We described a 69-year-old Korean male, previously diagnosed as lung cancer, presented with 2×2 cm sized normal skin to erythematous nodules on the both lower legs for 10 years. Biopsy specimen showed brownish septated hyphae in the dermis and subcutaneous tissue from the left lower leg and colorless spores from the right leg (H&E). Each identifications were confirmed by polymerase chain reaction of ITS2 using universal fungal primers as *Phialemonium dimorphosporum* on the left lower leg and *Myrothecium* species on the right lower leg. The patient was treated with surgical excision and fluconazole. [Kor J Med Mycol 2005; 10(4): 166-172]

Key Words: Lung cancer, Cutaneous deep mycosis, *Phialemonium dimorphosporum*, *Myrothecium* species, ITS2

서 론

심재성 진균증은 표재성 진균증과는 달리 살아있는 조직인 진피, 피하 지방층 및 내부장기에 원인균이 침범하여 발생하는 진균성 질환이다. 심재성 진균증은 후천성 면역결핍증 (AIDS) 같은 면역저하

질환, 악성 암, 장기 이식, 대 수술 등 면역억제제를 사용하거나 면역이 저하된 환자에서 기회감염을 일으키며 최근 증가하는 추세이다. 심재성 진균증은 일차적으로 피부에 감염되어 발생하거나, 전신성 감염에 의해 피부에 전파되어 나타난다. 임상적으로 무통성 결절이나 궤양의 형태로 나타나며 항생제 치료에도 호전되지 않고 장기간 지속된다¹.

따라서 항생제 치료에 효과가 없는 피하 결절이나 농양은 진균증의 가능성이 높으므로 조직검사와 진균학적 검사로 진균감염 유무를 확인하여야 한다. 또한 진균의 동정은 진균배양 검사나 슬라이드 배양검사와 같은 전통적인 진균검사 방법을 이용하지

†별책 요청 저자: 최종수, 705-717 대구광역시 남구 대명동 317-1, 영남대학교 의과대학 부속병원 피부과학교실
전화: (053) 620-3160, Fax: (053) 622-2216
e-mail: jschoi@med.yu.ac.kr

*본 논문의 요지는 2005년 7월 16일 대한의진균학회 제 12차 학술대회에서 발표하였음.

만, 종합효소연쇄반응을 보조적으로 사용하여 보다 정확한 원인균의 동정이 가능하다.

저자들은 면역이 저하된 폐암 말기 환자에서 *Phialemonium(P.) dimorphosporum*과 *Myrothecium* species에 의해 결절성 농포 형태로 발생한 심재성 진균증 1예를 경험하고 보고하는 바이다.

증 례

환 자: 박 OO, 69세, 남자

주 소: 양측 하지에 발생한 유동성 결절

현병력: 내원 약 10년 전부터 양측 하지에 정상 피부색의 유동성 결절이 발생하였으나 자각 증상이 없고 크기의 증가나 모양의 변화가 없어 특별한 치료 없이 지내다가, 5개월전 폐암으로 방사선 치료를 위해 입원 중 우측 하지의 병변이 홍반성의 농포를 동반한 결절로 변화되어 협진의뢰됨.

과거력: B형 간염 보균자이며 6년전 폐결핵으로

치료하여 완치됨.

피부 소견: 좌측 하지에 2 cm 크기의 정상 피부색의 유동성 결절이 관찰되었고 (Fig. 1A), 우측 하지에 2 cm 크기의 중심부에 농포를 동반한 홍반성의 유동성 결절이 관찰되었으며 (Fig. 1B), 촉진시 동통 및 압통이 동반되었음.

이학적 소견: 피부 소견 외 특기 사항 없음.

검사 소견: 일반 혈액검사, 요검사, 간기능 검사상 정상 내지 음성 소견을 보였고, B형 간염 검사상 HBs 항원 양성이었음.

진균학적 소견: 양측 하지의 피부 병변을 생검하여 병리조직검사와 진균배양 검사를 시행하였다. Sabouraud 포도당 한천평판배지에 조직을 접종한 후 실온에서 1~2주간 배양하여 크림색의 습윤성 집락이 형성되었으나 판독상 효모균의 집락과 유사하여 오염된 것으로 간주하고 폐기하였다.

병리조직학적 소견: 좌측 하지의 병변에서 시행한 조직검사상 진피내 섬유화 및 다수의 염증세포의 침



Fig. 1. A: Single walnut-sized normal skin-colored movable nodule on the left lower leg **B:** Single walnut-sized erythematous with central pustular movable nodule on the right lower leg.

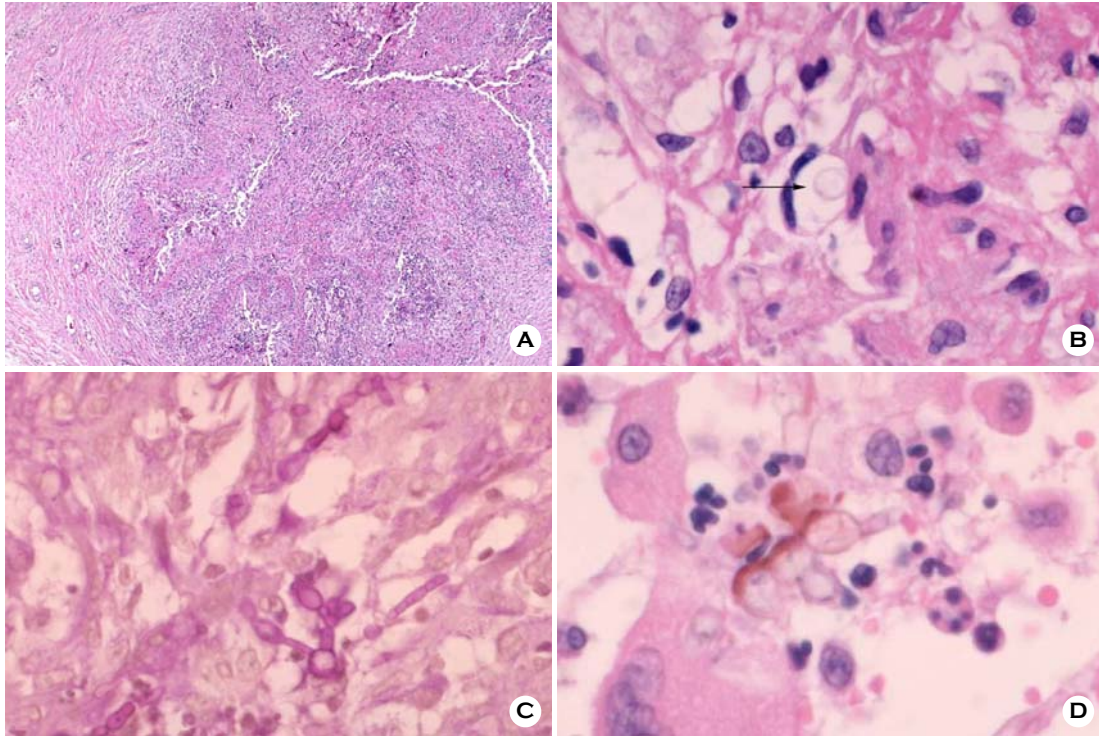


Fig. 2. A: Diffuse granulomatous inflammatory cells infiltration in the dermis of both legs (H&E, $\times 40$) **B:** The cells that are observed on the specimen from left lower leg are composed of multiple neutrophils and several colorless hyphae (H&E, $\times 400$) **C:** Red colored budding hyphae and spores are observed on the left lower legs (PAS, $\times 400$) **D:** The cells that are observed on the specimen from the right lower leg are composed of multiple neutrophils, multinucleated giant cells, and several brown colored hyphae & ovoid spores (H&E, $\times 400$)

윤이 관찰되었고 (Fig 2A), 염증세포는 다수의 호중구와 다핵거대세포로 구성되었으며, 무색의 포자가 관찰되었다 (Fig. 2B). 또한 periodic acid-Schiff (PAS) 염색상 붉게 염색된 다수의 균사와 난원형의 포자가 관찰되었다 (Fig. 2C).

우측 하지의 병변에서 시행한 조직검사에서에도 화농성 육아종성 염증 소견이 관찰되었으나 고배율에서는 좌측 하지의 조직 소견과 달리 갈색의 분아하는 양상의 균사와 포자가 관찰되었다 (Fig. 2D).

중합효소연쇄반응 소견: 포르말린 고정 파라핀 포매 (embedded) 조직에서 조직을 분리하기 위해 8 μm 두께로 자른 4개의 조직절편을 준비하여 56°C에서 1시간 동안 가열한 후 4차례 반복하여 5분간 xylene에 담그고, 2차례 반복하여 1분간 무수알코올에 담근 후 1분간 95% 에탄올에 담그는 작업을 4차례 반복하였다. 파라핀이 제거된 조직을 100%

ethanol (EtOH)로 세척하고 완전히 건조시킨 후 TE buffer (pH 8.0) (Sigma, Steinheim, Germany) 400 μl 와 proteinase K (DAKO, Carpinteria, U.S.A.) 40 μl 혼합액에 넣고 흔들고 55°C에서 하루 동안 보관하였다. DNA 분리를 위해 phenol/chloroform/isoamylalcohol (25:24:1, v/v) (Sigma, Steinheim, Germany) 혼합액에 전날 준비해 놓은 용액을 넣고 30초간 흔들고 실온에서 7분간 원심분리 후 상층액을 분리하여, 3M sodium acetate 0.1배 용적과 무수알코올 3배 용적을 가하였으며, 이 용액을 -20°C에서 12시간 동안 방치하여 DNA를 침전시킨 후 건조하여 증류수로 용해시켰다. 분리한 DNA를 사용하여 nested PCR하여 ribosomal DNA의 internal transcribed spacer 2 (ITS2) 부위를 증폭하여 염기서열을 분석하였다. 1차 PCR용 primer는 White 등¹⁰의 primer ITS3와 primer ITS4 이었고, 2차 PCR용 primer는 자체 제작한¹¹ primer

58S62 (5'-ATCGAATCTTTGAACGCACA-3')와 primer 28S361 (5'-CCTACCTGATCCGAGGTCAA-3')이었다. 반응조건은 초기 denaturation (95°C, 5분) 후 denaturation (95°C, 20초), annealing (63°C, 30초), extension

Left leg	gaatctttgaacgcacattgcccatttagtatcttagtgggcatgcctgttcgagcgtc	60
AY188371	gaatctttgaacgcacattgcccatttagtatcttagtgggcatgcctgttcgagcgtc	316
Left leg	at t tcaaccctcaagcactgcttgggtgtggggcgtctgcagctccggctgcaggccctg	120
AY188371	at t tcaaccctcaagcactgcttgggtgtggggcgtctgcagctccggctgcaggccctg	376
Left leg	aaaaacagtggcgggctcgctataaactccgagcgtagtaatctctctcgcttgggaagtg	180
AY188371	aaaaacagtggcgggctcgctataaactccgagcgtagtaatctctctcgcttgggaagtg	436
Left leg	tggcgggtcccggccgttaaaccocccaatttctgaatgtgacctcggatcaggtagga	240
AY188371	tggcgggtcccggccgttaaaccocccaatttctgaatgtgacctcggatcaggtagga	496

Fig. 3. Comparison of ITS2 sequences between the fungi isolated from left lower leg lesion and *P. dimorphosporum* (AY188371). The sequences shows 100% (240/240) homology (*P. dimorph: P. dimorphosporum*).

Right leg	atcgaatctttgaacgcacattgccccttgggtatccatggggcatgcctgttcgagc	60	
AJ619957	atcgaatctttgaacgcacattgccccttgggtatccatggggcatgcctgttcgagc	2157	
Right leg	gtcatttacaccctcaagctctgcttgggtgtggggcgtctgtccagccgactcggcgcg	120	
AJ619957	gtcatttacaccctcaagctctgcttgggtgtggggcgtctgtcccgcc-tctgcgcg	2216	
Right leg	actcgtcctaaaaatatggcagcggctcctaacccagcctcacgcgcagcagttcgcgctt	180	
AJ619957	actcgcocccaaattcattggcagcggctccttgcc-tcctctgcgcagcagcattcgcgctt	2275	
Right leg	ctcgagg 187	Right leg	ttgacctcggatcaggtagga 247
AJ619957	ctcgagg 2282	AJ619957	ttgacctcggatcaggtagga 2339

Fig. 4. Comparison of ITS2 sequences between the fungi isolated from right lower leg lesion and *Myrothecium* species (AJ619957). The sequences shows 75% (188/247) homology.

(72°C, 1분) 과정을 30회 반복하고, 마지막에 extension (72°C, 10분)을 시행하였다. 증폭산물을 정제한 후 염기서열 분석을 하였다 (마크로젠, 서울, 한국). GenBank에서 검색한 결과 좌측 하지의 병변에서 분리된 염기서열은 *P. dimorphosporum*과 100% 일치하였고 (Fig. 3), 우측 하지의 병변의 염기서열은 정확히 일치하는 균종을 찾을 수 없었으나 *Myrothecium species*와 75%의 상동성을 보였다 (Fig. 4). 4번의 반복된 PCR과 염기서열 분석은 동일하였다.

치료 및 경과: 피부 병변을 완전 절제 후 40일간 fluconazole 200 mg을 매일 경구 투여 하였으며 피부 진균증의 재발 소견은 보이지 않았으나, 치료시작 1달 후 호흡장애로 사망하였다.

고 찰

심재성 진균증은 임상적으로 매우 다양한 형태로 나타날 수 있으며, 본 증례와 같이 농양성 병소의 형태로 발생한 경우 단순 농양으로 결론짓고 이에 준해 치료해 버리는 경우가 많다. 또한 병리조직학적 검사를 통해 진균증이 확인되었다고 하더라도 진균배양 검사로 원인균을 밝히지 못하는 경우가 많다. 저자들은 환자의 피부병변이 임상적으로 표피 낭종과 피하 농양이 의심되어 조직검사를 시행하였고, 조직검사에서도 진균증이 확인되어 조직검사 일주일 후 진균배양 검사를 시행하였다. 배양 1~2주일 후 크림색의 습윤성 집락이 형성되었으나 판독상 효모균의 집락과 유사하여 오염된 것으로 간주하고 더 이상의 동정은 시행하지 않았다.

따라서 본 증례를 발표하는 의도는 먼저 임상적으로 심재성 진균증이 의심되면 반드시 진균배양 검사를 시행하여 균을 동정해야 하고, 다양한 균종의 동정에 익숙해야 하며, 파라핀 포매 병변 조직에서도 PCR 검사를 통해 정확한 진단을 할 수 있다는 것이다.

심재성 진균증의 진단에 있어서 진균배양 검사는 가장 중요하다. 진균배양 검사상 균집락의 모양이 피부 사상균이나, 효모균 등 흔히 볼 수 있는 모양과 다를 경우 오염된 것으로 결론짓고 쉽게 간과해 버릴 수 있으므로 판독에 좀더 신중을 기해야 한다. 따라서 심재성 진균증이 의심되는 경우 cyclo-

heximide가 첨가되지 않은 배지를 사용하여 25°C와 37°C에서 배양해야 하며, 여러 개의 배지를 사용하여 여러 번 반복하여 배양을 시행해야 한다. 또한 심부 조직은 무균상태이므로 균이 자라는 경우 병원균일 가능성이 높다.

진균배양 없이 PCR 반응만으로 균 동정을 할 수는 없다. 그러나 진균배양을 하지 못하는 상황이거나 진균배양 검사상 정확한 균 동정이 되지 않을 경우 염기서열 분석은 비교적 믿을 수 있는 차선택이고, 진균배양 검사로 해결하지 못하는 문제점을 보완한다. 균종특이 PCR 반응은 교차 반응이나 오염에 의한 위양성 반응의 가능성이 있으나, 범진균 primer를 이용하여 ribosomal DNA 부위를 증폭한 후 얻은 염기서열은 교차 반응에 의한 위양성 반응의 위험성이 없다. 여러 번의 실험에서 일관되게 같은 결과를 보이고, 양성 및 음성 대조군을 사용하여 실험을 하면 오염의 가능성도 배제할 수 있다. 또한 빠르고 쉽게 균종을 동정할 수 있고, 파라핀 포매 조직을 이용할 수 있으므로 후향적으로 실시할 수 있다. 그러나 PCR을 통한 염기서열 분석에는 다음과 같은 한계가 있다. 염기서열이 보고되지 않은 균종은 동정할 수 없고, 여러 단계의 실험을 거치는 동안 오염될 수 있으며, 두 가지 이상의 균이 동시에 존재하는 경우 염기서열의 분석이 불가능하기 때문이다. 따라서 전통적인 진균학적 검사와 더불어 염기서열 분석을 보조로 사용하면 신속하고 정확한 균 동정이 가능하다.

본 증례의 좌측 하지의 병변 조직에서는 *P. dimorphosporum*과 100% 일치하는 균종을 밝혀냈다. 그러나 우측 하지 병변의 조직에서는 GenBank에서 정확히 일치하는 균종을 찾을 수 없었고 186개의 염기서열 중 전반부 120개의 염기서열이 *Myrothecium species*와 일치하는 양상을 보였다. 4차례 반복하여 PCR 검사를 시행하여 동일한 염기서열을 얻었으므로 오염이라기 보다는 이전에 보고되지 않은 새로운 균종으로 생각할 수 있다. 두 병소를 일으킨 균종이 서로 다른 것임을 뒷받침해 줄 수 있는 또 다른 근거로 임상 양상이 서로 달랐으며, 병리조직검사상 좌측 하지 병변에서는 H&E stain에서 무색의 균사와 포자가 관찰되었고, 우측 하지 병변에서는 H&E stain에서 갈색의 포자가 관찰된 점을 들 수 있다.

Phialemonium species는 토양과 식물에 존재하는 진균으로 Ascomycota에 속하고 *Acremonium*과 *Phialophora* 사이에 위치하며, 대개 phaeohyphomycosis 또는 hyalohyphomycosis를 일으키는 원인균이다². 분생포자의 모양에 따라 *P. obovatum*, *P. curvatum*, *P. dimorphosporum*으로 분류되며, Sabrouard dextrose agar에서 실은 배양했을 때, 집락은 주름지고, 회고, 회색 또는 장미빛을 나타내며, 후에는 느슨한 균사체로 달리게 된다. 병리조직학적 검사시 균사는 색이 없는 투명한 초자양 균사로 나타나며, Fontana-Masson 염색시 진균의 세포벽에 존재하는 melanin을 관찰할 수 있다. 주로 AIDS와 같은 면역저하 질환, 악성 암, 장기 이식, 부신피질호르몬 장기 투여, 대 수술 등 세포성 면역에 이상이 있는 사람이나 동물에게 기회 감염을 일으킨다. 치료 방법에 있어서 Magnon 등³은 ketoconazole, fluconazole, itraconazole이 *P. obovatum*과 *P. dimorphosporum*의 치료에 저항을 나타므로 amphotericin B로 치료하는 것이 바람직하다고 보고하였고, Patrick 등⁴은 초기에 수술로 병변을 제거한 후에 고용량의 fluconazole을 병용 투여하는 것이 최선의 치료라고 보고하는 등 아직까지 명확히 정립된 치료원칙은 없는 실정이다³⁻⁵.

McGinnis 등⁶은 화상을 입은 소아의 피부와 비강에서 이차감염의 형태로 발생한 *P. obovatum*을 보고하였고, Magnon 등³은 *P. obovatum*에 의한 osteolytic lesion을 보고하였다. 또한 Guarro 등⁷은 면역억제자의 혈액에서 *P. obovatum*을 동정하였고, Heins-vaccari 등⁸은 골수 이식 후 발생한 *P. curvatum*에 의한 피부 감염증을 보고하였다. 지금까지 *Phialemonium*에 의한 진균 감염증은 세계적으로 13 증례가 보고되어 있으며, 이중 피부에 국한된 심재성 진균증의 형태로 나타난 경우는 본 증례를 포함하여 2예만이 보고되어 있다.

Myrothecium species는 주로 특정한 식물에 감염을 야기하는 것으로 알려져 있으며, 이들의 추출물이 잡초의 대사를 억제하는 것으로 알려져 농촌에서 제초제의 원료로 사용되고 있으나 인간에게 감염을 일으킨 증례는 보고된 바 없다.

이상으로 저자들은 폐암 말기로 면역력이 저하된 환자에서 발생한 심재성 진균증을 경험하고 중합효소연쇄반응 검사를 통해 진균을 동정하였으며, 좌

측 하지 병변에서는 *Phialemonium dimorphosporum*이 동정되었고, 우측 하지 병변에서 동정된 진균은 *Myrothecium* species에 가까운 균종으로 생각하고 보고한다.

참 고 문 헌

1. 대한피부과학회 교과서 편찬위원회 편저. 피부과학. 개정 4 판. 서울: 여문각 2001: 327-340
2. Dixon DM, Polak-Wyss A. The medically important dematiaceous fungi and their identification. Mycoses 1991; 34: 1-18
3. Magnon KC, Jalbert M, Padhye AA. Osteolytic phaeohyphomycosis caused by *Phialemonium obovatum*. Arch Pathol Lab Med 1993; 117: 841-843
4. Patrick JG, Deanna AS, Ben ZK. Fetal endocarditis in a neonate caused by the dematiaceous fungus *Phialemonium obovatum*: Case report and review of the literature. J Clin Microbiol 2002; 40: 2207-2212
5. Dehoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi. 2nd ed. Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000: 859-863
6. McGinnis MR, Gams W, Goodwin MN Jr. *Phialemonium obovatum* infection in a burned child. J Med Vet Mycol 1986; 24: 51-55
7. Guarro J, Nucci M, Akiti T, et al. *Phialemonium* fungemia: Two documented nosocomial case. J Clin Microbiol 1999; 37: 2493-2497
8. Heins-Vaccari EM, Machado CM, Saboya RS, et al. *Phialemonium curvatum* infection after bone marrow transplantation. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2001; 43: 163-166
9. Proia LA, Hayden MK, Kammeyer PL, et al. *Phialemonium*: An emerging mold pathogen that caused 4 cases of hemodialysis-associated endovascular infection. Clin Infect Dis 2004; 39: 373-379
10. White TJ, Burns T, Lee S, Tayler J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, eds. PCR protocols: A guide to methods and application. San Diego: Academic

대한의진균학회지 제 10권 제 4호 2005

Press, 1990: 315-322
11. 최종수, 신동훈, 김기홍, 배영경. 파라핀 포매

조직에서 Nested PCR을 이용한 진균의 동정.
대피지 2004; 42: 77
