

한국인에서 분리된 *Trichophyton mentagrophytes*의 분류 및 아형

영남대학교 의과대학 피부과학교실¹, 해운대진피부과², 대구 가톨릭피부과의원³

김우진¹ · 김준균¹ · 최진화¹ · 신동훈¹ · 최종수^{1†} · 김기홍² · 전재복³ · 방용준³

= Abstract =

Classification and Typing of *Trichophyton mentagrophytes* Isolated from a Korean Population

Woo Jin Kim¹, Joon Goon Kim¹, Jin Hwa Choi¹, Dong Hoon Shin¹, Jong Soo Choi^{1†},
Ki Hong Kim², Jae Bok Jun³ and Yong Jun Bang³

Department of Dermatology, College of Medicine, Yeungnam University, Daegu, Korea¹

Jin Dermatology Clinic, Busan, Korea²

Daegu Catholic Dermatology Clinic, Daegu, Korea³

Background: *Trichophyton mentagrophytes* complex is a heterogeneous group. A new classification, based on molecular biology, has replaced the one based on morphology, physiology, and mating behavior.

Objective: *T. mentagrophytes* isolates from Korean patients were classified using the new method and compared with the classic classification.

Methods: During 2010-2011, fungal isolates were collected at the Catholic skin clinic from 562 patients infected with *T. mentagrophytes*; clinical characteristics were reviewed. Patients were divided into four groups based on the morphological characteristics of the isolates. Thirty-four strains of *T. mentagrophytes* were randomly selected from the four groups for mycological and molecular biology analyses, including analyses of morphological characteristics, ribosomal DNA (rDNA) internal transcribed spacer (ITS) sequence, and rDNA nontranscribed spacer (NTS) typing.

Results: Among the 562 isolates, persicolor (41.6%) was the most common strain type, followed by the powdery (38.4%), downy (11.2%), and granular (8.7%) types. The granular type differed from the other three with respect to the isolation site, patient's age, seasonal variation, and microscopic characteristics. Among the selected 34 strains, the microscopic characteristics varied for each strain. The powdery, persicolor, and downy types had ITS sequences identical to those of the anthropophilic *T. interdigitale* /*A. vanbreuseghemii*. The ITS sequence of granular type was similar to that of zoophilic *T. interdigitale* /*A. vanbreuseghemii*. The granular type had different NTS types than the other types did.

Conclusion: The *T. mentagrophytes* strains isolated were classified as *T. interdigitale*/*A. vanbreuseghemii*;

Received: June 15, 2016, Revised: March 5, 2017, Accepted: March 10, 2017

†Corresponding author: Jong Soo Choi, Department of Dermatology, College of Medicine, Yeungnam University, 317-1, Daemyung-dong, Nam-gu, Daegu, 42415, Korea.

Tel: +82-53-620-3160, Fax: +82-53-622-2216, e-mail: jschoi@med.yu.ac.kr

Copyright©2017 by The Korean Society for Medical Mycology (pISSN:1226-4709, eISSN:2465-8278). 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>

the majority (91.7%) was anthropophilic and 8.3% were zoophilic and granular type.

[Korean J Med Mycol 2017; 22(1): 1-14]

Key Words: *Arthroderma vanbreuseghemii*, Internal transcribed spacer, Non-transcribed spacer, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton mentagrophytes* complex

서 론

*Trichophyton (T.) mentagrophytes*은 피부사상균 중의 두 번째로 많은 원인균이며 세계적으로 분포하고 있다^{1,2}. Emmons³는 집락의 현미경 소견을 중심으로 형태학적으로 유사한 여러 균종을 *T. mentagrophytes*로 분류하였으며, 사람선호형인 *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. mentagrophytes* var. *nodulare* (synonym *T. krajdenui*), *T. mentagrophytes* var. *goetzii*와 동물선호형인 *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, *T. mentagrophytes* var. *granulosum*, *T. mentagrophytes* var. *erinacei*, *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum* 등이 포함되었다^{4,5}. 대부분의 학자들이 *T. mentagrophytes* complex의 배양 소견을 기준으로 솜털형과 과립형의 두 가지로 구분하였다^{6,8}. 솜털형은 대부분 사람의 발백선 및 손발톱진균증을 일으키며 *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*가 대표이고, 과립형은 심한 염증반응을 보이는 몸백선과 머리백선을 일으키며 동물과 연관되었고 *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* 또는 *T. mentagrophytes* var. *granulosum*으로 불렸다.

1960년대 이후 유성세대에 대한 연구가 활발하게 이루어졌고^{9,10}, *T. mentagrophytes* complex의 유성세대인 완전형에는 *Arthroderma(A) simii*¹⁰, *A. benhamiae*¹¹와 *A. vanbreuseghemii*¹²⁻¹⁴가 있다. 동물선호인 *T. mentagrophytes* var. *granulosum*은 *A. vanbreuseghemii*와 교배가 이루어지지만 사람선호인 *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*는 *A. vanbreuseghemii*와 교배가 이루어지지 않는다. 따라서 *T. mentagrophytes* 중에서 솜털형이고 사람선호형을 *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*로, 과립형이고 동물선호형을 *A. vanbreuseghemii*로 분류하기도 하였다. 그

리나 과립형 중 일부는 *A. benhamiae* 이었다.

Gräser 등⁷과 Nenoff 등¹⁵은 ribosomal DNA (rDNA) internal transcribed spacer (ITS) 염기서열을 기초로 하여 *T. mentagrophytes* complex를 4가지 균종, 즉 1) 동물선호 및 사람선호 *T. interdigitale/A. vanbreuseghemii* (TI/AV), 2) *T. erinacei* 및 *A. benhamiae*, 3) *T. mentagrophytes sensu stricto*, 4) *Arthroderma simii*으로 분류하였고, *T. interdigitale*와 *A. vanbreuseghemii*는 동일하며 이 중에 사람선호형과 동물선호형이 있다고 하였다.

본 연구는 한국인에서 분리된 *T. mentagrophytes* 균주들을 전통적인 진균학적 분류와 Gräser 등⁷ 및 Nenoff 등¹⁵이 제안한 rDNA ITS 기반의 새로운 분류에 적용하고 두 분류의 연관성을 알아보았다.

대상 및 방법

1. 대상

2010년 1월 1일부터 2011년 12월 31일까지 2년간 대구 소재 가톨릭피부과외원을 방문한 한국인 백선 환자 중에서 potato corn meal Tween 80 한천배지(PCTA) 배지를 이용한 진균배양에서 *T. mentagrophytes*가 분리된 환자 562명을 대상으로 하였다. 균집락이 과립, 분말, 도실, 또는 솜털의 형태를 나타내면서 현미경 소견에서 많은 수의 서양배 또는 둥근 모양의 소분생자를 보이면 *T. mentagrophytes*로 동정하였다. *T. mentagrophytes* 집락의 육안적 형태를 기준으로 과립형, 분말형, 도실형, 솜털형의 4가지 아형으로 분류하고¹⁶⁻¹⁸, 각 아형들의 임상적인 특징을 비교하였다.

환자들에서 분리한 균주 중에서 균집락 형태가 뚜렷하고 보존상태가 좋은 4가지 아형별 대표 균주 34주를 임의로 선택하여 진균학적 및 분자생

Table 1. Clinical, mycologic, and molecular characteristics of the Korean strains

Strain	Sex	Age	Site	Culture	ITS type*	NTS type
G 1	M	8	Face	Granular	Granular-a	B23 XII
G 2	F	78	Face	Granular	Granular-a	A25 X1
G 3	F	85	Back	Granular	Granular-a	B21 XII
G 6	F	54	Face	Granular	Granular-a	A21 X1
G 8	M	8	Face	Granular	Granular-a	B32 XII
G 10	F	54	Face	Granular	Granular-a	A25 XI
G 4	F	46	Neck	Granular	Granular-b	C25 II
G 5	M	1	Leg	Granular	Granular-b	C25 II
G 7	M	24	Arm	Granular	Granular-b	C25 II
G 9	F	69	Palm	Granular	Granular-b	B25 II
Dong 1	M	79	Wrist	Granular	Granular-b	C30 II
Dong 2	M	52	Face	Granular	Granular-b	C28 II
Dong 3	F	17	Chest	Granular	Granular-b	C5 II
B 11	F	68	Toe web	Powdery	II	F12 II
B 12	F	38	Toe web	Powdery	II	D24 II
B 13	F	60	Toe web	Powdery	II	D1 II
B 14	M	26	Sole	Powdery	II	F21II
B 15	F	79	Toe web	Powdery	II	D1 II
B 16	F	54	Sole	Powdery	II	C22 II
B 17	F	31	Sole	Powdery	II	D29 II
B 18	M	25	Toe web	Powdery	II	D1 II
B 19	M	30	Sole	Powdery	II	C1 II
D 21	M	49	Sole	Persicolor	II	C31 II
D 23	M	30	Sole	Persicolor	II	C30 II
D 24	M	35	Toe web	Persicolor	II	C12 II
D 26	M	57	Toe web	Persicolor	II	C33 I
D 27	F	40	Toe web	Persicolor	II	C29 II
D 28	M	39	Toe web	Persicolor	II	C29 II
W 31	F	47	Toe nail	Downy	II	C29 II
W 32	M	52	Sole	Downy	II	D29 II
W 33	M	49	Toe web	Downy	II	D22 II
W 34	M	19	Sole	Downy	II	D29 II
W 35	ni [†]	ni	Ni	Downy	II	C12 I
W 36	M	11	Toe web	Downy	II	R29 II

*ITS type: *T. interdigitale* ITS type (Heidemann et al., 2010)²⁰; †ni, not informed

물학적 분석을 하였다(Table 1). 아형별 균주의 수는 과립형 13주, 분말형 9주, 도실형 8주, 솜털형 6주였다.

2. 방법

1) 임상 소견

상기 대상 환자의 임상자료를 분석하였다. 균집락의 4가지 아형에 따른 환자의 연령, 성별, 병변의 위치, 계절 등의 차이를 보았다.

통계처리는 IBM SPSS version 19.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA) 카이스퀘어를 이용하였고, $p < 0.05$ 를 유의수준으로 하였다.

2) 균집락의 육안 소견 및 현미경 소견

4가지 아형별 대표 균주 34주를 PCTA, potato dextro agar (PDA), Sabouraud 포도당 한천배지 (SDA)에 각각 접종 후 25°C에서 2~3주간 배양하여 균집락의 육안 소견에 따라 과립형, 분말형, 도실형, 솜털형의 4가지 아형으로 분류하였다. 균집락 표면에 거친 과립이 나타나면 과립형, 고운 분말이 보이면 분말형, 배지 배면의 균집락과 주변의 배지가 복숭아 색(붉은 색)을 띠면 도실형, 솜털이나 솜같은 형태는 솜털형으로 각각 구분하였다.

현미경 소견은 투명 테이프를 이용하여 균집락에서 시료를 채취 후 lactophenol cotton blue로 염색하고 현미경으로 관찰하였다. 대분생자, 소분생자 및 용수철 모양의 나선형 균사를 관찰하여 4가지 아형간의 차이를 보았다. 양적인 측정은 400배 현미경으로 5곳을 관찰하여 1~5개는 +, 6~15개는 ++, 16개 이상은 +++로 구분하였고, 각 아형에 속한 균주들의 중간값을 대표값으로 표기하였다.

3. ITS 염기서열 분석 및 계통발생분석

1) DNA 분리

형태학적 동정 후 QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Germany)를 사용하여 DNA를 분리하였다. SDA에 배양하여 순수 분리한 균집락을 1.5 mL microcentrifuge tube에 넣고 buffer ATL 180 µl와

proteinase K 20 µl를 넣고 56°C에서 하룻밤 동안 처리한 후 buffer ATL 200 µl를 넣고 섞은 후 70°C에서 10분간 반응시켰다. 100% ethanol 200 µl를 넣고 원심분리 후 상층액을 QIAamp mini spin column에서 8,000 rpm으로 1분간 원심분리하였다. Buffer AW1 500 µl와 buffer AW2 500 µl로 각각 세척한 후 buffer AE 50 µl로 녹인 DNA를 -20°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

2) rDNA ITS PCR

진균 rDNA ITS 부위를 증폭하기 위해 범진균 primer인 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')를 사용하였다¹⁹. DNA polymerase (STD16-R500)와 dNTP, tracking dye (Bromophenol blue), 젤 침강제 등이 섞여 분주되어 있는 Smart Taq Pre-Mix (Solgent, Daejeon, Korea) 0.2 mL PCR tube에 반응 혼합물 1 µl를 넣고 rDNA ITS 부위를 증폭하기 위하여 primer ITS1 1 µl, primer ITS4 1 µl, smart buffer 18 µl를 혼합하여 PCR을 시행하였다. Thermal cycler는 Perkin Elmer 480 (Perkin Elmer, Norwalk, USA)를 사용하였다. 반응 조건은 처음에 94°C에서 5분간 denaturation 후, denaturation(94°C, 30초), annealing (58°C, 30초), extension(72°C, 3분)을 30회 반복하였고 마지막에 extension(72°C, 10분)을 하였다. PCR로 증폭된 DNA를 ethidium bromide가 첨가된 1% agarose gel에서 전기영동하여 자외선 투과조명기로 증폭 산물을 확인 후 purification kit (Bioneer, Korea)로 정제하여 마크로젠 회사(Seoul, Korea)에 의뢰하여 염기서열을 얻었다.

3) Alignment와 phylogenetic reconstruction

환자에서 분리한 균주들의 염기서열을 Heidemann 등²⁰의 5가지 type 및 GenBank의 *T. mentagrophytes* 염기서열들과 비교하였다. Cluster W²¹를 이용하여 multiple alignment를 하였다.

Phylogenetic trees는 MEGA4의 Neighbor-joining method를 이용하여 작성하였고, complete deletion과 Kimura-2 model을 적용하였다²². 1,000회의 bootstrap analysis를 이용하여 robustness of the branches를 점검하였다.

Table 2. Clinical characteristics of Korean patients by colony phenotypes of *Trichophyton interdigitale*/*A. vanbreuseghemii*

		Group by colony phenotypes (Number of patients)			
		Granular (49)	Persicolor (234)	Powdery (216)	Downy (63)
Anatomic site					
	Area 1*	93.9‡	1.3	1.4	0.0
	Area 2†	6.1	98.7	98.6	100.0
Age					
	<20	28.6	3.4	3.7	6.3
	20~39	8.2	25.6	22.2	25.4
	40~59	38.8	55.1	56.0	44.4
	≥60	24.5	15.8	18.1	23.8
Season					
	Spring	32.7	25.6	26.4	31.7
	Summer	10.2	50.0	49.1	41.3
	Fall	20.4	15.8	14.4	15.9
	Winter	36.7	8.5	10.2	11.1
Sex					
	Male	38.8	65.4	59.3	55.6
	Female	61.2	34.6	40.7	44.4

*Area 1: hand, trunk, arm, leg, face, †Area 2: foot, toe nail, groin, ‡Values are presented as percent.

4. rDNA NTS typing

Jackson 등²³ 및 Wakasa 등⁸의 방법대로 NTS 부위를 증폭하여 동일균 중에서 균주간 구분을 시도하였다. rDNA NTS의 TmiS0, TmiS1, TmiS2 부위를 증폭하기 위하여 각 부위의 특이 primer를 이용하였다. TmiS0 부위의 증폭은 TmiS0F (5'-CGAAGCATACTGTGGAAGATG-3')와 TmiS0R (5'-GCAACATAAGTGTACAGCTG-3'), TmiS1 부위의 증폭은 TmiS1F (5'-CAGCTGTACACTTATGTTGC-3')과 TmiS1R (5'-TCGTTTCGCCTCGAAGACGCAC-3'), TmiS2 부위의 증폭은 TmiS2F (5'-GACCTTCATTCTAGCTATG-3')과 TmiS2R (5'-CCTATCGTACGAGAACGTTAG-3')을 사용하였다.

Buffer, NTP 및 Taq polymerase가 포함된 반응 혼합물(Solgent, Daejeon, Korea) 15 µl에 각각의

primer 1 µl, template DNA 1 µl, 증류수 12 µl를 추가하였다. PCR 반응 조건은 다음과 같다. 95°C에서 3분간 denaturation 후, denaturation(95°C, 30초), annealing(55°C, 30초), extension(72°C, 90초)을 30회 반복하였고, 마지막으로 72°C에서 5분간 extension을 하였다. 증폭이 안될 경우 annealing 온도를 54°C로 낮추어서 시행하였다. 증폭한 PCR 산물 1 µl를 2% agarose gel에서 40분간 전기영동 후 ethidium bromide로 염색하여 자외선에서 관찰하였다.

결 과

1. 임상 소견(Table 1, 2)

562명의 환자에서 분리한 *T. mentagrophytes*를 육안적 배양 소견을 바탕으로 4가지 아형으로 구

분하였다. 이 중에서 도실형 234주(41.6%), 분말형 216주(38.4%), 슴털형 63주(11.2%), 과립형 49주(8.7%)의 순으로 많았다.

병변이 발생한 부위를 부위 1(팔, 다리, 몸통, 손, 목, 얼굴)과 부위 2(발, 발톱, 사타구니, 엉덩이)로 구분하였을 때, 과립형이 분리된 환자의 병변은 93.9%가 부위 1이었고, 반면에 도실형 98.7%, 분

말형 98.6%, 슴털형 100%가 부위 2이었다($p < 0.05$). 각 아형에 따른 환자의 연령 분포는 20세 미만이 과립형의 28.6%로, 도실형 3.4%, 분말형 3.7%, 슴털형 6.3%에 비하여 많았다($p < 0.05$). 계절에 따른 검출률을 보면, 과립형은 봄(32.7%)과 겨울(36.7%)에 많았고 여름에 가장 적었으며, 다른 3가지 아형들은 여름에 가장 많았고(41.3~50.0%),

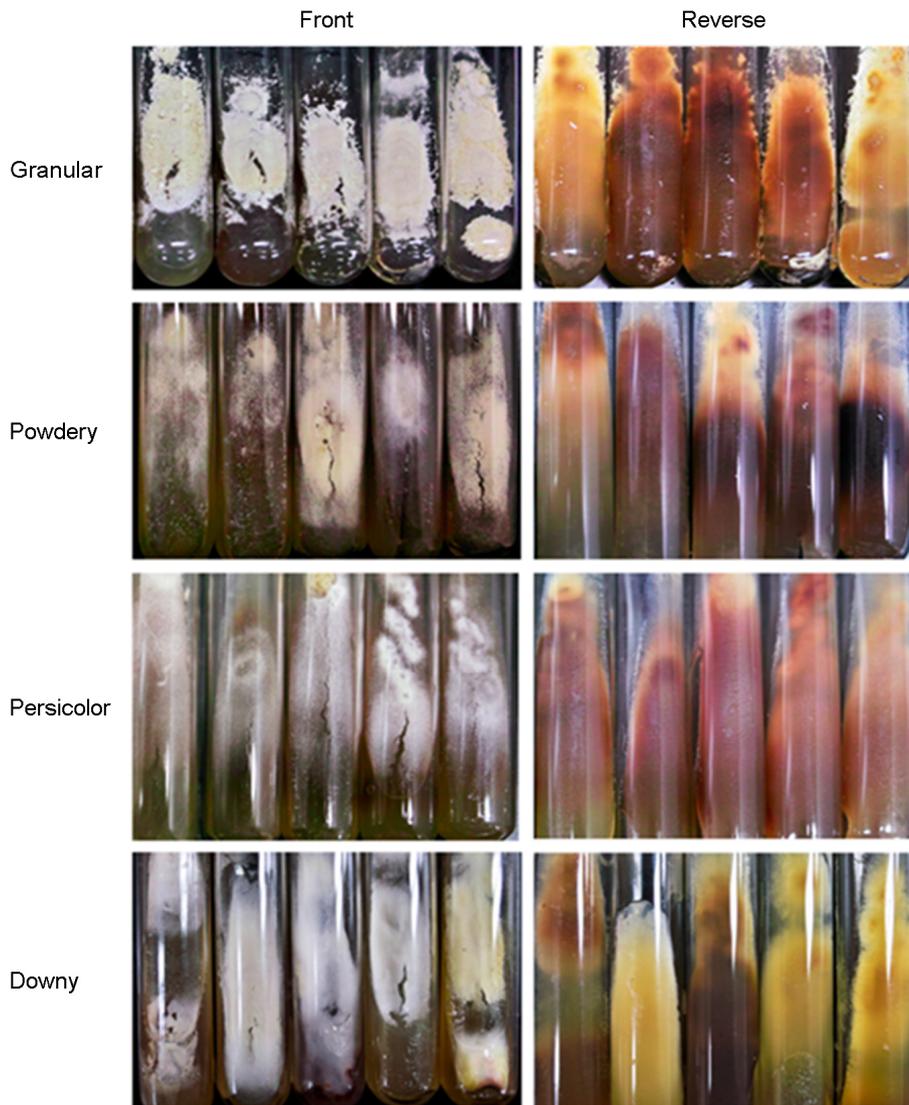


Fig. 1. Four subtypes of *Trichophyton mentagrophytes* isolated from Korean. Potato corn meal-Tween 80 agar, 3 weeks at room temperature

Table 3. Microscopic findings of *Trichophyton interdigitale/A. vanbreuseghemii* strains isolated from Korean

Subtypes	Macroconidia	Microconidia		Spiral hyphae
		Pyriform	Round	
Granular-a (n=6)	+++*	+	+++	++
Granular-b (n=7)	+++	+	+++	++
Powdery (n=9)	+	+++	+++	+++
Persicolor (n=8)	-	+++	+++	+++
Downy (6)	-	+++	++	+

*: Median value of each group
In 5 fields of microscope (×400), +, less than 6; ++, 6~15; +++, >15

겨울에 가장 적었다(8.5~11.1%) ($p<0.05$). 환자의 성별 차이를 보면, 과립형은 여자에서 더 많은 (61.2%) 반면, 다른 아형들은 남자에서 더 많았다 (55.6~65.4%). 따라서 도실형, 분말형, 솜털형은 비슷한 임상양상을 나타내었으며, 과립형은 매우 다른 임상양상을 보여 다른 아형들과 뚜렷이 구분되었다.

아형별 대표 균주 34주 중에서 과립형 Granular-a는 대부분 얼굴에서, 과립형 Granular-b는 팔다리 및 몸통에서 주로 분리되었다. 분말형, 도실형, 솜털형은 모두 지간, 발바닥, 발톱에서 분리되었다 (Table 1).

2. 배양 소견

1) 균집락의 육안 소견(Fig. 1)

배양 소견과 성장속도는 세 배지에서 유사하였다. PCTA와 PDA에 비해 SDA에서 균집락의 색이 좀 더 진하였으며, 3주 이상 배양하면 솜털형으로 변성하는 부분이 더 많았다. 25°C에서 2주간 배양 후 직경 5~7 cm 크기로 자랐으며 4가지 아형간의 성장 속도의 차이는 없었다.

과립형은 표면에 갈색의 거친 과립을 형성하였고, 집락의 가장자리로는 황색의 나뭇가지 모양의 집락을 형성하였고, 배면은 갈색을 띠었다. 분말형은 고운 입자의 분말을 표면에 형성하였고, 배면은 검붉은 색을 띠었다. 도실형은 표면에 짧은 솜털 모양의 집락을 형성하였고, 배면은 붉거나

자주색을 띠었다. 솜털형은 표면에 짧은 솜털 또는 긴 솜 모양의 집락을 형성하였고, 배면은 갈색 또는 황색을 띠었다. 과립형 중 Granular-a는 Granular-b에 비하여 황색 또는 계피색이 더 진하고 과립이 더 굵었다.

2) 균집락의 현미경 소견(Table 3)

과립형 Granular-a는 균주에 따라 대분생자가 많거나 적었고, 소분생자는 대부분 둥글었으며 서양배 모양은 적었다. 과립형 Granular-b는 대분생자가 매우 풍부하였고, 소분생자는 대부분 둥글었으며, 나선형 균사도 많았다.

분말형은 대분생자가 적었으나 매우 풍부한 균주도 있었다. 균주에 따라 둥근 소분생자와 나선형 균사가 많거나 서양배 모양의 소분생자가 많고 나선형 균사가 적었다.

도실형에서는 대분생자가 전혀 없었고, 서양배 모양 및 둥근 소분생자가 많았으며 나선형 균사도 많이 관찰되었다.

솜털형에서는 대분생자가 대부분 없었고, 서양배 모양의 소분생자가 많았으며 나선형 균사가 적었다.

3. rDNA ITS 염기서열 분석 및 계통발생분석 (Table 4, Fig. 2)

계통발생분석상 *T. mentagrophytes*는 TI/AV, *A. simii*, *A. benhamiae/T. erinacei*의 3가지 clade로 구분되었고, TI/AV는 사람선호형과 동물선호형

Table 4. Signature polymorphism of *Trichophyton interdigitale*/*A. vanbreuseghemii* in ITS sequences

Type	ITS1							5.8S	ITS2				Host
	8*	22	105	137	148	176	217	404	460	483	551		
TI type I	G	G	A	C	C	A	-	G	C	G	C	Anthrophilic	
Persicolor	G	G	A	C	C	A	-	-	C	G	C	Anthrophilic	
Downy	G	G	A	C	C	A	-	-	C	G	C	Anthrophilic	
Powdery	G	G	A	C	C	A	-	-	C	G	C	Anthrophilic	
TI type II	G	G	A	C	C	A	-	-	C	G	C	Anthrophilic	
Granular-b	A	G	A	C	C	A	-	-	C	G	C	? Zoophilic	
TI type III*	A	G	C	C	C	A	-	-	C	G	C	Zoophilic	
TI type III	A	G	C	C	T	A	-	-	T	G	T	Zoophilic	
Granular-a	A	G	C	T	C	C	-	-	C	A	C	Zoophilic	
TI type IV	A	C	C	T	C	C	A	-	C	G	C	Zoophilic	

*Polymorphism numeration follows the works by Heidemann et al²⁰.

으로 구분할 수 있었다. 한국인에서 검출된 4가지 아형 모두가 TI/AV에 속하였다(Fig. 2).

네 가지 아형의 ITS 염기서열을 Heidemann 등²⁰의 5가지 genotype들과 비교하여 보면(Table 4), 도실형, 분말형, 솜털형은 ITS 염기서열이 모두 동일하였고, TI type II와 100% 일치하여 사람선호 TI/AV이었다. 과립형은 Granular-a와 Granular-b의 2가지로 세분할 수 있었고, 4개의 염기서열이 서로 달랐다. Granular-a는 TI type IV와 유사하여 동물선호 TI/AV이었다. Granular-b는 TI type III*와 유사하였으나 105번째 염기서열 C가 A로 치환(C105A)되어 있었다. Heidemann 등²⁰은 8번째 및 105번째 염기서열이 각각 G, A인 균주는 사람선호형이고, A, C이면 동물선호형이라고 하였다. 이 기준에 따르면 분말형, 도실형, 솜털형은 모두 사람선호형에 속하며, Granular-a는 동물선호형에 속하였고, Granular-b는 A, A를 나타내어 사람선호형과 동물선호형의 중간에 위치하였다.

4. rDNA NTS typing (Table 1, 5, 6)

분말형, 도실형, 솜털형 간에는 NTS typing의 차이를 관찰할 수 없었고, 매우 다양하였으며 특

별히 빈도가 높은 type도 없었다.

PCR을 Jackson 등²³ 및 Wakasa 등⁸의 방법대로 하였을 경우 과립형은 TmiS0와 TmiS1의 증폭이 잘 이루어지지 않았고, annealing 온도를 55°C에서 54°C로 낮추면 비로소 증폭된 band들이 나타났다. 과립형은 다른 3가지 아형과는 다른 typing 양상을 보였다. 또한, Jackson 등²³과 Wakasa 등⁸의 보고에서 관찰되지 않은 band들이 다수 나타났다. 과립형 중 Granular-a와 Granular-b는 서로 다른 typing 양상을 보였다.

고 찰

Gräser 등⁷과 Nenoff 등¹⁵은 *T. mentagrophytes* 중에서 사람선호형인 var. *interdigitale*와 동물선호형인 var. *nodulare* 및 var. *mentagrophytes* 중에서 분자생물학적으로 매우 가까운 균주들을 합쳐서 *T. interdigitale* 종이라고 새롭게 정의하였고 *A. vanbreuseghemii*와 동일하다고 하였다. 사람선호형인 var. *interdigitale*가 교배능력을 잃었지만 rDNA ITS 염기서열이 *A. vanbreuseghemii*와 동일하고²⁴, 배양 소견상 *A. vanbreuseghemii*과 *A. behamiae*이

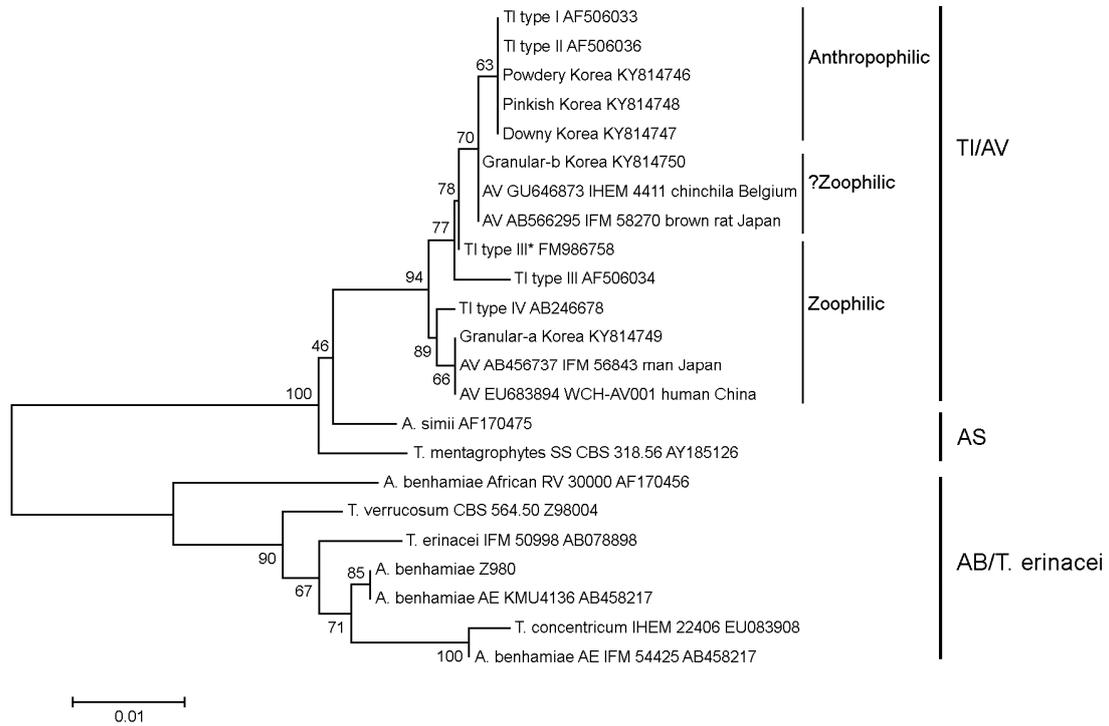


Fig. 2. Neighbour-Joining tree of the strains of *Trichophyton mentagrophytes* complex. Bootstrap values are shown in percentages. Complete deletion and Kimura-2 method were used. A, *Arthroderma*; AB, *A. benhamiae*; AS, *A. simii*; AV, *Arthroderma vanbreuseghemii*; T, *Trichophyton*; TI, *Trichophyton interdigitale*; TI type, ITS type of Heidemann et al.²⁰.

과립형으로 비슷하여 생기는 혼동을 없애는 의미가 있다. 그러나 사람선호형과 동물선호형을 동일한 *T. interdigitale*에 포함시킨 것을 반대하는 의견도 있다. 본 연구에서는 *T. interdigitale*의 개념을 인정하고 *T. interdigitale*/*A. vanbreuseghemii* (TI/AV)로 표기하였다

Gräser 등⁷과 Nenoff 등¹⁵의 분자생물학적 분류에 의하면 한국인에서 분리된 *T. mentagrophytes* 균주들은 *T. mentagrophytes* complex 중 TI/AV이었고, 이들은 임상 소견, 균집락 및 현미경 소견, rDNA ITS 염기서열 및 NTS typing으로 사람선호형과 동물선호형을 구분할 수 있었다. *T. mentagrophytes sensu stricto*, *A. simii*, *T. erinacei* 및 *A. benhamiae*는 없었다.

Suh와 Kim²⁵은 한국인 백선 환자에서 분리한

T. mentagrophytes 중에서 var. *interdigitale*를 제외한 333주로 교배실험을 하였고 이 중 313주가 *A. vanbreuseghemii*였다고 보고하였다. 이 연구에서 제외한 균주들은 아마도 사람선호 TI/AV였고, 교배실험으로 확인한 *A. vanbreuseghemii*는 모두 동물선호 TI/AV로 추정된다.

균집락의 육안 소견이나 감염된 환자의 임상 소견만으로 동물선호와 사람선호 TI/AV를 어느 정도 구분할 수 있다. 균집락이 분말형, 도실형, 솜털형 등이고 발톱, 발, 사타구니에서 분리되며 염증이 심하지 않으면 사람선호형이다. 균집락이 과립형이고, 머리, 몸통, 팔다리 등에서 분리되고, 염증이 심할 경우 동물선호형이고 감염원을 찾아야 한다. 반면에 과립형을 계대배양하면 솜털형 변하며, 한국의 동물에서 분리된 *T. mentagrophytes*

Table 5. Comparison of NTS typing by phenotypes in Korean strains

Granular		Powdery	Persicolor	Downy
Granular-a	Granular-b			
A21 X1	B25 II	C1 II	C12 II	C12 I
A25 X1	C25 II	C22 II	C29 II	C29 II
A25 XI	C25 II	D1 II	C29 II	D22 II
B21 XII	C25 II	D1 II	C30 II	D29 II
B23 XII	C28 II	D1 II	C31 II	D29 II
B32 XII	C30 II	D24 II	C33 I	R29 II
	C5 II	D29 II		
		F12 II		
		F21II		

Table 6. Comparison of ITS types of *Trichophyton interdigitale* among studies (%)

ITS type	Heidemann et al ²⁰	Drira et al ³¹	Pchelin et al ³²	This study
	West Europe	Tunisia	Russia	Korea
	n=86	n=56	n=15	n=34
I	11.6	89.3	0.0	0.0
II	45.3	3.6	46.7	61.8
III*	7.0	3.6	13.3	20.6 [#]
III	31.4	3.6	20.0 [#]	0.0
IV	4.7	0.0	20.0 [#]	17.6 [#]

[#]: Similar sequence with ITS type of Heidemann et al²⁰

를 대상으로 한 연구에서 과립형 이외에도 다양한 균집락을 보였고²⁵⁻²⁸, *A. benhaminae*, *T. erinacei*, *A. simii* 등도 과립형을 보이므로 균집락의 형태만으로 사람선호 및 동물선호 TI/AV을 구분하기는 쉽지 않다. 그러나 한국에서 *A. benhaminae*와 *T. erinacei*가 매우 드물고^{29,30}, *A. simii*는 아직 보고되지 않았으므로 균집락이 과립형이면 동물선호 TI/AV일 가능성이 가장 크다.

본 연구에서 현미경 소견에서 과립형은 대부분 생자가 많으며 둥근 소분생자가 많은 반면, 솜털형, 도실형, 분말형은 서양배 모양의 소분생자가 많아

차이를 보였다. 그러나 균주마다 차이가 컸고, 배양 조건에 따라 변하였으므로 현미경 소견만으로 서랍선호형과 동물선호형을 구분하기는 힘들다.

ITS 염기서열을 이용하여 TI/AV와 다른 균종들을 명백하게 구분할 수 있으며 균종들간의 가까운 정도도 알 수 있다. Heidemann 등²⁰의 5가지 ITS type은 보고한 국가에 따라 그 아형의 분포는 매우 달랐다(Table 6). 튀니지는 type I이 많았고³¹, 서유럽은 type II와 III가 많았으며²⁰, 러시아는 type III와 IV가 많았다³². 본 연구에서 34주 중 21주는 Type II, 7주는 type II와 type III* 사이(Granular-b),

Table 7. Strains identical ITS sequences with Granular-a and Granular-b in GenBank

GenBank ITS accession number	Strain	Host	Nation
Granular-a type			
AB456737	IFM 56843	Human	Japan
AB617776	KMU 5478	Human	Japan
EU683894	WCH-AV001	Human	China
EU683893	WCH-AV002	Human	China
EU683892	WCH-AV003	Human	China
GQ140347	WCH-AV004	Human	China
KU315314	XQ3-3	Giant panda	China
Granular-b type			
KM578844	ATCC MYA-3108	Human	Brazil
KC595993	strain 4	Human	Tunisia
KP132831	WM 07.303	?	Australia
KP132832	WM 09.79	?	Australia
KP068999	WM 04.491	?	Australia
KP132819	IHEM 25199	Human	Belgium
GU646873	IHEM 22714	Guinea pig	Switzerland
GU646873	IHEM 4411	Chinchilla	Belgium
GU646873	IHEM 4028	Human	Mozambique
AB566295	IFM 58270	Brown rat	Japan
AB566299	IFM 58444	Brown rat	Japan
AB566300	IFM 58445	Brown rat	Japan
AB566303	IFM 59062	Brown rat	Japan
AB566301	IFM 58446	Brown rat	Japan
AB518070	IFM 57617	Human	Japan
GQ214705	WCH-AV005	Human	China
EU200369	ATCC 28185	?	?

6주는 type IV와 유사하였다(Granular-a). GenBank에서 Granular-a와 동일한 균주는 7주였고 중국과 일본에서만 분리되었다(중국 5주, 일본 2주). Granular-b와 동일한 균주는 17주였으며 일본, 중국, 호주, 벨기에, 스위스, 튀니지, 모잠비크, 브라질에서 분리되었다(Table 7).

Kim 등²⁸은 토끼와 애완동물과 접촉하여 감염

된 한국인에서 분리된 *T. mentagrophytes*의 ITS1 염기서열을 분석하여 *A. vanbreuseghemii*와 유사하다고 하였다. 그 염기서열을 본 연구와 비교하면 Granular-a와 동일하거나 ITS type IV와 유사하였다. Anzawa 등³³의 교배실험으로 확인된 *A. vanbreuseghemii* 27주의 ITS 분석결과, 2주는 type II, 1주는 type III*, 9주는 Granular-a와 유사하였고,

25주는 type IV와 유사하였다. 특이한 점은 사람 선호형인 type II 2주는 성능력을 갖고 있었으며, type IV와 유사한 균주들이 대부분이고 동물과 연관성이 있었고 조금씩 다른 다양한 polymorphism이 있었다. 따라서 TI/AV 중에서 type IV는 동물선호형이고 다양한 polymorphism을 보이며, 사람선호형인 type I, II로 갈수록 성능력을 잃어버리고 polymorphism이 적으며 type III, type III*, Granular-b는 그 중간쯤에 위치한다고 추정할 수 있다.

Heidemann 등²⁰은 ITS 염기서열 중 8번과 105번이 G와 A이면 사람선호형, A와 C이면 동물선호형이라고 하였다. 이 기준에 따라, 본 연구에서 Granular-b형은 8번과 105번이 A와 A였으며 이는 사람선호형과 동물선호형의 중간이었다. 그러나 Granular-b형은 모두 사지와 몸통에서 분리된 것으로 보아 동물선호형일 가능성이 컸다. GenBank에서 Granular-b와 ITS 염기서열이 동일한 균주 중 6주는 사람에서, 7주는 동물에서 분리되었다 (Table 7). Symoens 등²⁴은 Granular-b와 ITS 염기서열이 동일한 균주 IHEM 4028, IHEM 4411, IHEM 22714가 *A. vanbreuseghemii*와 교배가 일어난다고 보고하였다. 이런 사실들은 Granular-b가 동물선호형임을 뒷받침한다. 따라서 8번째 ITS 염기서열만이 사람선호형과 동물선호형을 구분하는데 도움이 될 것으로 보인다. 앞으로 더 많은 Granular-b형 균주들을 대상으로 감염 경로를 추적하면 의문이 해결될 수 있을 것이다.

Wakasa 등⁸은 일본인에서 분리한 사람선호 TI/AV 65주를 대상으로 NTS typing을 시행하여, TmiS0 7아형, TmiS1 3아형, TmiS2 3아형을 구분하고, 이를 종합하여 15아형으로 구분하였다. 본 연구에서 분말형, 도실형 및 솜털형의 NTS typing 결과를 Wakasa 등⁸의 결과와 비교해 보면 TmiS0과 TmiS2은 유사하였고, TmiS1에서 차이가 컸다. PCR 혼합액 및 기계 등 PCR 반응 조건이 다른 것이 원인일 가능성이 크다. 본 연구에서 과립형의 증폭이 잘 이루어지지 않아 annealing 온도를 낮추었으며, TmiS0, TmiS1, TmiS2 모두가 Wakasa 등⁸의 보고와 다른 것으로 보아 TI/AV 중 동물

선호형과 사람선호형은 NTS typing 양상이 매우 다름을 알 수 있었다. 과립형 중 Granular-a와 Granular-b는 서로 다른 NTS typing 양상을 보여 두 아형이 서로 다름을 뒷받침하였다. Pchelin 등³²은 ITS type II, III*, III, IV에 속하는 균주들 간에 NTS type이 다름을 보고하였지만, 균주의 수가 적었다.

요약하면 한국인에서 분리된 *T. mentagrophytes*는 모두 TI/AV이었고 *T. mentagrophytes sensu stricto*, *A. simii*, *A. benhamiae*, *T. erinacei*는 없었다. 이 중에서 91.3%가 분말형, 도실형, 솜털형으로 다양하게 보였으나 ITS 염기서열 상 모두 사람선호 TI/AV이었다. 이들은 대부분, 발백선 및 손발톱 진균증을 일으켰고, NTS typing도 유사하였다. 8.7%는 과립형이었고, 머리, 얼굴, 몸통 등에서 분리되었으며 ITS 염기서열 상 동물선호 TI/AV이었다.

결 론

Trichophyton mentagrophytes complex에는 다양한 균종들이 존재하였다. 형태 및 교배반응에 근거한 분류가 분자생물학에 기초한 새로운 분류로 바뀌고 있다. 한국인 피부 병변에서 분리된 *T. mentagrophytes*에 새로운 분류를 적용하고, 기존의 분류와 새로운 분류의 연관 관계를 알아보았다. 2010년 1월 1일부터 2011년 12월 31일까지 2년간 가톨릭피부과의를 방문하여 진균배양으로 *T. mentagrophytes*가 분리된 환자 562명을 대상으로 하여 *T. mentagrophytes*의 과립형, 분말형, 도실형, 솜털형 아형에 따른 임상적인 특징을 비교하였고, 아형별 대표 균주 34주를 선택하여 집락의 육안 및 현미경 소견, rDNA ITS 염기서열과 rDNA NTS typing을 비교하였다.

562주의 아형은 도실형이 234주(41.6%)로 가장 많았고, 분말형 216주(38.4%), 솜털형 63주(11.2%), 과립형 49주(8.7%)의 순으로 많았다. 과립형은 봄과 겨울에 노인 또는 어린 환자의 얼굴, 몸통, 팔다리에서 많이 검출되었고, 도실형, 분말형, 솜털형은 여름에, 젊은 환자의 발, 발톱, 사타구니에서

많이 검출되었다.

이형별 대표 균주 34주 중에서 과립형 Granular-a는 대부분 얼굴에서, 과립형 Granular-b는 팔다리 및 몸통에서 주로 분리되었다. 분말형, 도실형, 솜털형은 모두 발가락 사이, 발바닥, 발톱에서 분리되었다. 현미경 소견상 과립형에서 대분생자, 둥근 소분생자와 나선형 균사가 많았다. 분말형, 도실형, 솜털형에서는 대분생자가 대부분 없었고, 서양배 모양의 소분생자가 관찰되었다. 분말형, 도실형, 솜털형은 ITS 염기서열이 동일하였으며, 사람선호 TI/AV와 100% 일치하였다. 과립형은 동물선호 TI/AV인 Granular-a와 동물선호형과 사람선호형의 중간에 속하는 Granular-b로 분류할 수 있었다. rDNA NTS typing은 분말형, 도실형, 솜털형 사이에 큰 차이가 없이 비슷하였고, 과립형 중 Granular-b형은 TmiS1에서 차이가 있었고, Granular-a형은 전혀 다른 양상이었다.

이상의 소견으로 한국인에서 분리된 *T. mentagrophytes*는 모두 TI/AV이었다. 이 중 대부분 (91.7%)은 분말형, 도실형, 솜털형이었고 사람선호 TI/AV이었다. 8.3%는 과립형으로 동물선호 TI/AV 이었고, 임상 소견, 현미경 소견, ITS 염기서열, NTS typing이 사람선호형과 전혀 다름을 알 수 있었다. 본 연구에서는 분석한 균주 수가 적었고 접촉동물에 대한 정보가 없다는 제한점이 있다. 향후 사람과 동물에서 분리된 더 많은 균주를 대상으로 감염 경로를 밝힐 필요가 있다.

Conflict of interest

In relation to this article, I declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

1. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical mycology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992:143-145
2. Suh SB, Kim KH, Bang YJ. Medical mycology. Seoul: Daehak Seorim, 1994:45-48
3. Emmons CW. Dermatophytes. Natural grouping based on the form of the spores and accessory organs. Arch Derm Syph 1934;30:337-362
4. Rippon JW. Medical mycology. 3rd ed, Philadelphia: WB Saunders, 1988:252-256
5. Summerbell RC. *Trichophyton*, *Microsporium*, *Epidemophyton*, and agents of superficial mycoses. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, White O. Manual of clinical microbiology. 8th ed, Washington D.C.:ASM Press, 2003:1798-1819
6. Georg LK. The relationship between the downy and granular forms of *Trichophyton mentagrophytes*. J Invest Dermatol 1954;23:123-141
7. Gräser Y, Scott J, Summerbell R. The new species concept in dermatophytes - a polyphasic approach. Mycopathologia 2008;166:239-256
8. Wakasa A, Anzawa K, Kawasaki M, Mochizuki T. Molecular typing of *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* isolated in a university hospital in Japan based on the non-transcribed spacer region of the ribosomal RNA gene. J Dermatol 2010;37:431-440
9. Stockdale PM. The *Microsporium gypseum* complex (*Nannizzia incurvata* Stock, *N. gypsea* (Nann.) comb. nov., *N. fulva* sp.). Sabouraudia 1963;3:114-126
10. Stockdale PM, MacKenzie DWR, Austwick PKC. *Arthroderma simii* sp. nov., the perfect state of *Trichophyton simii* (Pinoy) comb. nov., Sabouraudia 1965;4:112-123
11. Ajello L, Cheng SL. The perfect state of *Trichophyton mentagrophytes*. Sabouraudia 1967;5:230-234
12. Takashio M. Is *Arthroderma benhamiae* the perfect state of *Trichophyton mentagrophytes*? Sabouraudia 1972;10:122-127
13. Vanbreuseghem R, De Vroey C, Takashio M. Guide pratique de mycologie medicale et veterinaire. Paris: Masson, 1978
14. Vanbreuseghem R. Introduction on the sexuality of pathogenic fungi. In: Vanbreuseghem R, De Vroey C, editors, Sexuality and Pathogenicity of Fungi. Paris: Masson, 1981:1-6
15. Nenoff P, Herrmann J, Gräser Y. *Trichophyton menta-*

- grophytes sive interdigitale?* A dermatophyte in the course of time. *J Dtsch Dermatol Ges* 2007;5:198-202
16. Takashio M. The perfect states of dermatophytes and reclassification of *Trichophyton mentagrophytes* on the basis of its perfect states. *Nishinihon J Dermatol* 1976;38:703-728
 17. Suh MK. In vitro sensitivity of *Trichophyton mentagrophytes* against oral antifungal agents. *Korean J Dermatol* 1992;30:769-775
 18. Kim KH, Moon BC, Choi JS. Subtypes and mycologic characteristics of *Trichophyton* genus isolated in Taegu Korea. *Korean J Med Mycol* 1997;2:129-143
 19. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JS, White TJ. PCR protocols a guide to methods and applications. In: White T, Bruns T, S Lee, Taylor J, editors. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. San Diego: Academic Press, 1990:315-322
 20. Heidemann S, Monod M, Gräser Y. Signature polymorphisms in the internal transcribed spacer region relevant for the differentiation of zoophilic and anthropophilic strains of *Trichophyton interdigitale* and other species of *T. mentagrophytes* sensu lato. *Br J Dermatol* 2010;162:282-295
 21. Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 2007;23:2947-2948
 22. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 2007;24:1596-1599
 23. Jackson CJ, Mochizuki T, Barton RC. PCR fingerprinting of *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* using polymorphic subrepeat loci in the rDNA nontranscribed spacer. *J Med Microbiol* 2006; 55:1349-1355
 24. Symoens F, Jousson O, Planard C, Fratti M, Staib P, Mignon B, et al. Molecular analysis and mating behaviour of the *Trichophyton mentagrophytes* species complex. *Int J Med Microbiol* 2011;301:260-266
 25. Suh SB, Kim SW. Perfect state of *Trichophyton mentagrophytes* and their related infections. *Korean J Dermatol* 1984;22:610-618
 26. Lee HJ, Choi WP, Jun MH. Asymptomatic carrier state of dermatophytes on laboratory rodent and the perfect state of *Trichophyton mentagrophytes* isolated from albino rats. *Korean J Vet Res* 1990;30:59-64
 27. Park JH, Choi WP. Biological characteristics of *Trichophyton* spp. and subtypes of *Trichophyton mentagrophytes* isolated from animals in Korea. *Korean J Vet Public Health* 2002;26:261-268
 28. Kim JA, Rim JH, Moon SE, Kim KH, Cho KH. Nucleotide sequence of internal transcribed spacer 1 of *Trichophyton mentagrophytes* isolated from human and animals. *Korean J Dermatol* 2001;39:1086-1093
 29. Jun JB, Sang YH, Chung SL, Choi JS, Suh SB. The mycological and molecular biological studies on *Arthroderma benhamiae* isolated for the first time in Korea. *Korean J Med Mycol* 2004;9:12-27
 30. Lee KJ, Kim JE, Park HJ, Lee JY, Cho BK. A case of *Trychophyton mentagrophytes* var. *erinacei* infection from a patient's pet hedgehog. *Korean J Med Mycol* 2009;14:98-102
 31. Drira I, Neji S, Hadrich I, Trabelsi H, Sellami H, Cheikhrouhou F, et al. Polymorphisms in the ITS rDNA regions for differentiating strains of the *Trichophyton mentagrophytes* complex in Sfax-Tunisia. *Mycoses* 2014;57:453-459
 32. Pchelin IM, Zlatogursky VV, Rudneva MV, Chilina GA, Rezaei-Matchkolaei A, Lavnikovich DM, et al. Reconstruction of phylogenetic relationships in dermatomycete genus *Trichophyton* Malmsten 1848 based on ribosomal internal transcribed spacer region, partial 28S rRNA and beta-tubulin genes sequences. *Mycoses* 2016;59:566-575
 33. Anzawa K, Kawasaki M, Hironaga M, Mochizuki T. Genetic relationship between *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* and *Arthroderma vanbreuseghemii*. *Med Mycol J* 2011;52:223-227