

소아 아토피피부염 환자에서 혈장 내독소 농도가 질환의 중증도에 미치는 영향

김주영¹, 김은경¹, 이해진¹, 신윤호², 이혜경³, 김진택¹

¹가톨릭대학교 의과대학 소아과학교실, ²차의과대학교 소아과학교실, ³가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실

Effects of plasma endotoxin concentrations on the severity of atopic dermatitis in children

Joo Young Kim¹, Eun Kyung Kim¹, Hye Jin Lee¹, Youn Ho Shin², Hye Kyung Lee³, Jintack Kim¹

¹Department of Pediatrics, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul; ²Department of Pediatrics, CHA Gangnam Medical Center, CHA University School of Medicine, Seoul; ³Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Purpose: Endotoxin exposure is associated with the development and pathogenesis of allergic diseases. The present study aimed to determine whether plasma endotoxins are elevated in children with atopic dermatitis (AD) and whether the plasma endotoxins are associated with the AD severity.

Methods: This study included 42 children with AD and 16 controls. The AD severity was assessed and skin prick tests were performed along with serum total IgE, total eosinophil count, and ImmunoCAP analyses for common allergens. For plasma endotoxin levels, kinetic turbidimetric assay and limulus amoebocyte lysate reagent were used.

Results: The endotoxin levels were significantly higher in children with AD than in controls (0.039 [interquartile range {IQR}, 0.031 to 0.046] EU/mL vs. 0.031 [IQR, 0.019 to 0.035] EU/mL, $P < 0.05$). The endotoxin levels showed a significantly inverse correlation with the disease severity in the extrinsic AD ($r = -0.414$, $P = 0.017$) but not in the intrinsic AD ($r = 0.222$, $P = 0.426$). No significant correlation was observed between plasma endotoxin levels, serum total eosinophil count, and serum total IgE.

Conclusion: Our results suggest that plasma endotoxin level is increased in the AD subjects than in the normal controls and affects the disease severity only in the extrinsic AD subjects. Further studies with larger sample sizes are warranted to investigate whether plasma endotoxin levels have a different effect on the AD severity depending on the presence of atopy. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2014;2:59-63)

Keywords: Atopic dermatitis, Child, Endotoxins, Severity

서 론

전세계적으로 아토피피부염의 유병률이 증가하고 있다.^{1,2)} 보건 위생 기준이 향상되면서 영유아기에 미생물 생성물에 대한 노출이 감소하게 되면, 그람 음성세균에서 유래되는 lipopolysaccharide (LPS)로 구성된 내독소에 의해서 Th1 세포에 대한 자극이 감소하고 Th2 세포에 대한 자극이 증가하게 되어서, 결국 알레르기질환이 발생하게 된다.³⁾ 이런 현상을 위생가설이라고 한다. 위생가설을 지지하는 연구들은 영유아기 시기에 강한 전염증성 매개체(proinflammatory mediator)인 내독소에 고농도로 노출되면 알레르기질환

환 발생을 감소시킬 수 있다고 보고하였다.⁴⁻⁷⁾ 다른 연구들은 영유아기에 내독소에 노출되는 경우, 알레르기질환 발생에 대해 장기적인 영향은 없는 것으로 보고하기도 하였다.⁸⁾ 이전 연구들이 서로 다른 결과를 보이는 이유는 집안에서 측정된 내독소 농도와 인체 내로 유입된 내독소 농도가 다르기 때문으로 생각된다. 실제로 알레르기질환 발병에 있어서 중요한 것은 집안에서 채집된 먼지에서 측정된 내독소 수치보다는 인체 내로 유입된 내독소 농도일 가능성이 있다. 또한 아토피피부염 중증도는 다양한 내독소 농도에 의해서 영향을 받고, 이 기전은 아토피성항에 의해서 영향을 받을 것으로 추측된다. 하지만 현재까지 혈장 내독소와 아토피피부염, 아

Correspondence to: Youn Ho Shin
Department of Pediatrics, CHA Gangnam Medical Center, CHA University School of Medicine, 566 Nonhyeon-ro, Gangnam-gu, Seoul 135-913, Korea
Tel: +82-2-3468-3107, Fax: +82-2-3468-2618, E-mail: eprubicin13@gmail.com
Received: July 6, 2013 Revised: October 12, 2013 Accepted: October 13, 2013

© 2014 The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease
The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
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/>).

토피 성향 사이의 연관성을 규명한 연구는 전무하다.

따라서 이번 연구의 목적은 아토피피부염에 이환된 소아의 혈장 내독소 농도를 측정하고, 혈장 내독소 농도와 아토피 성향, 아토피 피부염 중증도 사이의 연관성을 규명하는 것이다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

2009년 1월부터 12월까지 의정부 성모병원 소아청소년과를 방문한 환자 중 Hanifin과 Rajka의 진단기준을 만족하는 환자를 대상으로 하였다. 정상군도 이번 연구에 자발적으로 참여하였다. 아토피피부염 환자와 정상군을 대상으로 혈청 총 면역글로불린 E치, 말초혈액 총 호산구 수, ImmunoCAP (Phadia AB, Uppsala, Sweden) 분석, 알레르기 피부단자시험을 시행하였다. 총 45명의 아토피 피부염 환자와 17명의 정상군을 모집하였고, 그중 3명의 아토피 피부염 환자와 1명의 정상인에서는 잠재 확인 단계(potency verification phase)에서 스파이크(spike) 값 회복이 50%~200%를 벗어나서 혈장 내독소 농도를 측정하지 못했기 때문에 제외하였다. 따라서 최종 분석에는 42명의 아토피피부염 환자와 16명의 정상인이 포함되었다. 이번 연구는 의정부성모병원 의료윤리위원회의 심사(IRB No. UC13RIS10111)를 통과하였고 모든 환자와 정상인의 보호자로부터 서면 동의를 받았다.

2. 혈액검사와 피부단자시험

피부단자시험은 주요 알레르기 항원 16종(*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, German cockroach, dog dander, cat epithelium, *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, short ragweed, mugwort, peanut, bean, milk, wheat, birch, and egg white)에 대하여 시행하였고, 생리식염수와 히스타민을 각각 음성과 양성 대조액으로 사용하였다. 전박부 내측에 항원 용액을 점적한 후 26 G 주사 침으로 단자를 시행하였고, 판독은 단자 시행 15분 후에 팽진의 장경과 단경을 측정하여 평균 팽진의 크기를 결과로 사용하였다.⁹⁾ 각 항원의 팽진이 3 mm 이상이면 양성 대조액으로 사용한 히스타민(10 mg/mL)에 의한 팽진의 크기와 같거나 클 때 양성반응으로 판정하였다. 혈청 특이 IgE는 ImmunoCAP (Phadia AB, Uppsala, Sweden)으로 측정하였다. 2세 미만 소아에서는 집먼지진드기(*D. farinae*), egg white, milk, bean, wheat, β -lactoglobulin에 대한 특이 IgE를 측정하였고, 2세 이상 소아에서는 집먼지진드기(*D. farinae*), egg white, wheat, peanut, *Alternaria*, dog dander에 대한 특이 IgE를 측정하였다. 항원 특이 IgE는 0.35 kUA/L 이상일 경우 양성으로 정의하였다. 피부단자시험이나 혈액검사상 한 가지 이상의 항원에서 양성을 보이는 경우 아토피(atopy)로 정의하였다. 말초혈액 총 호산구 수는 자동혈

구분석기(XE2100 D, Sysmex, Kobe, Japan)를 이용하여 측정하였다. 혈청 총 면역글로불린 E치는 ImmunoCAP으로 측정하였다.

3. 아토피피부염의 중증도 측정

SCORing Atopic Dermatitis (SCORAD) 지수를 이용해서 아토피 피부염의 중증도를 측정하였고, 한 명의 소아알레르기 호흡기 전문의가 모든 환자들의 중증도를 측정하였다. SCORAD 지수는 병변의 범위와 심한 정도, 주관적 증상인 소양증과 수면 부족의 심한 정도에 따라 아토피피부염의 중증도를 평가하는 방법이다. 병변의 범위를 9의 법칙을 이용하여 두피 및 안면, 체간의 앞면과 뒷면, 상지, 하지, 손, 음낭 부위 등을 0%~100%로 측정하였다. 병변의 심한 정도는 홍반, 부종, 삼출, 가피, 찰상, 태선화, 피부 건조에 대하여 각각 0~3점까지 점수를 주어 합산하였다. 주관적인 증상인 소양감과 수면 장애는 최근 한 주간 심했던 정도를 0~10점까지 평가하였다.¹⁰⁾

4. 혈장 내독소 농도 측정

혈장 내독소 농도 측정을 위해서 운동 비탁 분석(kinetic turbidimetric assay, KTA)과 리물루스 아메보사이트 라이세이트 시약(limulus ameocyte lysate reagent KTA2, Charles River Lab, Wilmington, MA, USA)을 사용하였다. 환자로부터 3 mL의 혈액을 헤파린 나트륨이 섞여 있는 진공관에 채취한 후 3분간 6,000 rpm으로 원심 분리하였다. 분리된 혈장을 폴리스티렌 튜브에서 10 배 희석하였다. 75°C에서 10분간 폴리스티렌 튜브를 열불활성화 처리한 후 냉장고에서 10분간 냉각시켰다. 대부분의 환자에서 혈액 채취 즉시 내독소 농도를 측정하였다. 50 EU/mL 농도의 표준 내독소를 리물루스 아메보사이트 라이세이트 시약 용수(limulus ameocyte lysate reagent water, Charles River Lab, Wilmington, MA, USA)에 용해시켰고 5, 0.5, 0.05, 0.005 EU/mL 농도로 희석시켰다. 표준 농도와 환자 혈장을 각각 96 well pate에 분주하였다. 광 간섭(optical interference)을 배제하기 위해서 각각의 샘플을 스파이크로 처리하였다. 스파이크 잠재 확인 단계(potency verification phase)에서 스파이크 값 회복이 50%에서 200% 사이인 경우를 채택하였다. 스파이크 처치를 위해서 리물루스 아메보사이트 라이세이트 시약에 5.2 mL의 리물루스 아메보사이트 라이세이트 시약 용수를 첨가해서 천천히 회전시켜서 용해시켰다. 약 3~5분 후 리물루스 아메보사이트 라이세이트 시약 100 μ L를 표준 내독소 농도와 각각의 샘플에 첨가하였다. 그 후 분광 광도계(spectrophotometer, Endo-Check from Diatech Korea Co., Seoul, Korea)를 이용해서 혈장 내독소 농도를 측정하였다.

5. 통계 분석

모든 연속변수는 평균 \pm 표준편차 또는 중앙값(사분위 범위)으로 표현하였다. 각 군 사이의 유의성 검정은 chi-square test, Fisher

exact test, Mann-Whitney *U* test, Kruskal-Wallis test 등을 사용하였다. 혈장 내독소 농도와 아토피피부염의 중증도(SCORAD 지수) 사이의 상관관계는 Spearman 상관 분석을 이용하여 구하였다. 자료 분석을 위한 통계 처리는 IBM SPSS ver. 19.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하였다. *P* 값은 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

결 과

1. 환자의 특성과 각 군 간의 임상적 차이

총 58명의 대상군 중 남자는 32명(55.2%), 여자는 26명(44.8%)이었고, 외인성 아토피피부염, 내인성 아토피피부염, 정상군은 각각 26, 16, 16명이었다. 연령은 외인성 아토피피부염 환자군은 39 ± 21개월, 내인성 아토피피부염 환자군은 37 ± 20개월, 정상군은 30 ± 25개월이었다. 외인성 아토피피부염, 내인성 아토피피부염, 정상군

사이에서 성별, 연령은 차이를 보이지 않았다(Table 1). 외인성 아토피피부염 환자군에서 통계적으로 유의하게 알레르기질환의 가족력이 많았다(*P* < 0.05) (Table 1). 외인성 아토피피부염 환자군에서 내인성 아토피피부염 환자군보다 SCORAD 지수가 높은 경향을 보였다(*P* = 0.089) (Table 1). 외인성 아토피피부염 환자군에서 내인성 아토피피부염 환자군과 정상군보다 통계적으로 유의하게 말초혈액 총 호산구 수, 총 면역글로불린 E치가 높았다(*P* < 0.001) (Table 1).

2. 각 군 사이의 혈장 내독소 농도 차이

총 아토피피부염 환자와 정상군의 혈장 내독소 농도를 비교했을 때, 아토피피부염 환자의 내독소 농도가 통계적으로 유의하게 높았다(0.039 [interquartile range {IQR}, 0.031–0.046] EU/mL vs. 0.031 [IQR, 0.019–0.035] EU/mL, *P* < 0.05) (Fig. 1). 아토피피부염 환자를 항원감작 여부에 따라서 외인성과 내인성으로 분류한 후, 혈장 내독소 농도를 비교하였다. 외인성 아토피피부염 환자군에서 내인성

Table 1. Clinical characteristics of the subjects and SCORAD index, total eosinophil count, total IgE, and plasma endotoxin levels in the three groups

Characteristic	Extrinsic atopic dermatitis (n=26)	Intrinsic atopic dermatitis (n=16)	Control (n=16)	<i>P</i> -value*
Sex (M/F)	14/12	9/7	9/7	0.76
Age (mo)	39 ± 21	37 ± 20	30 ± 25	0.85
Family history of allergic disease	20/26	2/16	2/16	<0.05
SCORAD index [†]	26.5 (18.0–45.5)	20.5 (14.0–30.0)		0.089
Total eosinophil count (cells/mm ³)	398 (222–625)	236 (147–360)	145 (75–242)	<0.001
Total IgE (IU/mL)	246.3 (105.7–870.0)	38.0 (4.2–98.5)	11.6 (1.2–15.9)	<0.001
Endotoxin level (EU/mL) [‡]	0.042 (0.033–0.047)	0.037 (0.029–0.042)	0.031 (0.019–0.035)	<0.05

Values are presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range). SCORAD, SCORing Atopic Dermatitis.

**P*-value was calculated by the chi-square, Fisher exact test, Mann-Whitney *U* test, or Kruskal-Wallis test when appropriate. [†]*P*-value was calculated by Mann-Whitney test to compare the values between extrinsic and intrinsic atopic dermatitis subjects. [‡]There was a significant difference in plasma endotoxin levels between extrinsic and intrinsic atopic dermatitis and controls by the Kruskal-Wallis test.

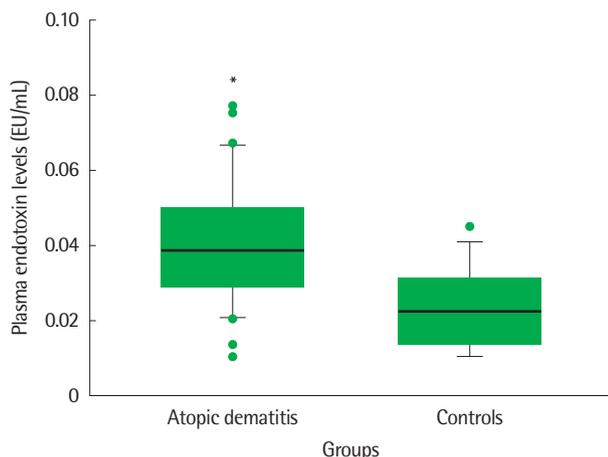


Fig. 1. This figure shows the comparison of the plasma level of endotoxins in children with atopic dermatitis and controls. *P*-value was calculated by the Mann-Whitney *U* test. **P* < 0.05, atopic dermatitis versus controls.

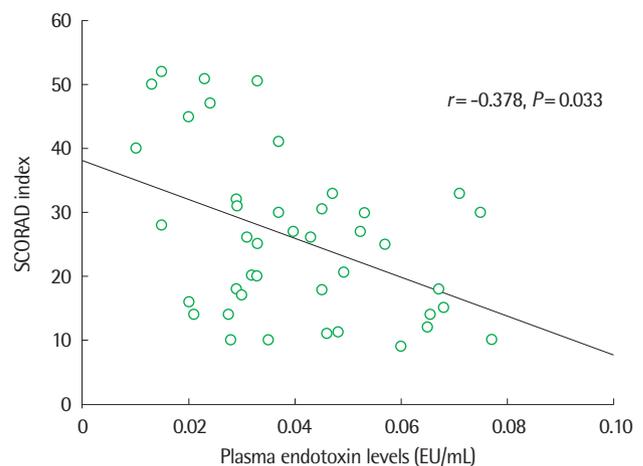


Fig. 2. This figure presents the correlation between the severity of atopic dermatitis and plasma endotoxin levels in children with atopic dermatitis. Spearman correlation analysis was used to calculate the correlation between plasma endotoxin levels and the SCORing Atopic Dermatitis (SCORAD) index.

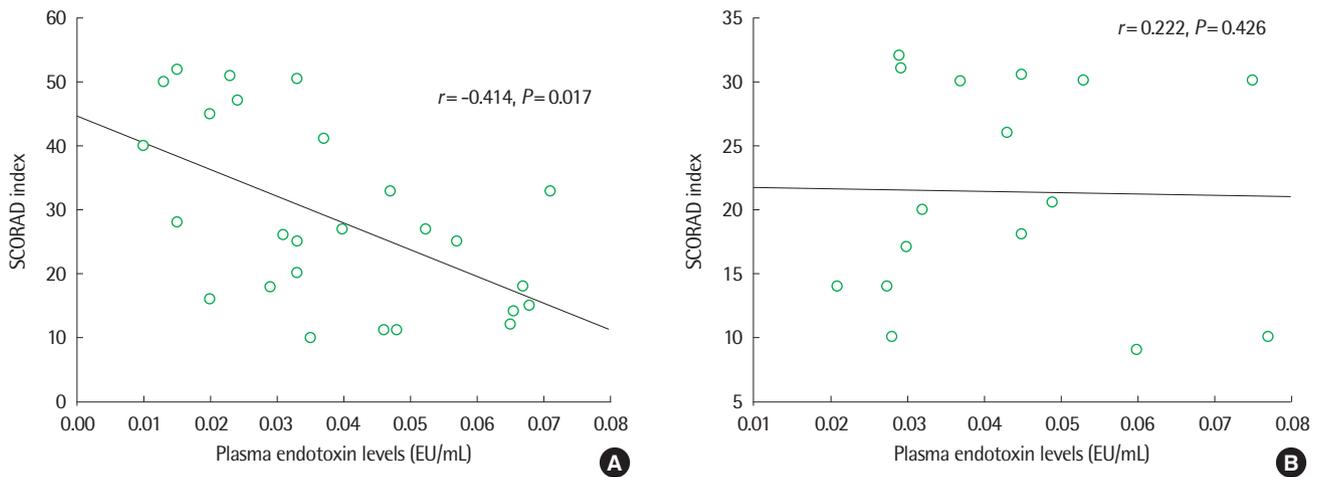


Fig. 3. These figures demonstrate the correlations between the severity of atopic dermatitis and plasma endotoxin levels in children with extrinsic atopic dermatitis (A) and with intrinsic atopic dermatitis (B). Spearman correlation analyses were used to calculate the correlations between plasma endotoxin levels and the SCORING Atopic Dermatitis (SCORAD) index.

아토피피부염 환자군보다 혈장 내독소 농도가 증가하였지만 통계적으로 유의하지는 않았다(0.042 [IQR, 0.033–0.047] EU/mL vs. 0.037 [IQR, 0.029–0.042] EU/mL, $P = 0.372$) (Table 1). 총 아토피피부염 환자들에서 혈장 내독소 농도와 SCORAD 지수는 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 나타냈다($r = -0.378$, $P = 0.033$) (Fig. 2). 외인성 아토피피부염 환자에서 혈장 내독소 농도와 SCORAD 지수는 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 나타냈다($r = -0.414$, $P = 0.017$) (Fig. 3A). 하지만 내인성 아토피피부염 환자에서는 혈장 내독소 농도와 SCORAD 지수는 통계적으로 유의한 상관관계를 나타내지 않았다($r = 0.222$, $P = 0.426$) (Fig. 3B).

고 찰

이번 연구는 아토피피부염 소아 환자에서 혈장 내독소 농도가 정상군보다 증가한 것을 확인하였다. 또한 외인성 아토피피부염 환자군에서 혈장 내독소 농도와 질환의 중증도가 음의 상관관계가 있음을 확인하였다.

이전 연구들은 집안에서 채집한 먼지에서 측정된 내독소 수치가 높은 경우, 어린이 집에 등원하는 경우, 저온 살균을 하지 않은 우유를 먹는 경우, 영유아기 때 애완동물에 자주 노출되는 경우, 비병원적 미생물에 반복적으로 노출되는 경우에서, 인체가 내독소에 고농도로 노출되기 때문에 인체의 면역반응을 Th1으로 유도해서 알레르기질환을 예방한다고 보고하였다.^{4,7,11,12} 이와 반대로, 주위 환경에서 내독소가 고농도로 존재하는 경우 오히려 영유아기 때 반복적인 천명이 발생할 위험이 증가하고,¹³ 천식이 악화된다¹⁴)는 결과를 보고한 연구들도 있다. 모든 아토피피부염 환자는 아토피 여부와 상관 없이 피부 장벽의 이상 소견이 있기 때문에¹⁵ 주위 환

경에 있는 내독소가 정상 피부보다 쉽게 인체 내로 유입될 수 있다. 이는 피부장벽 이상이 특징인 아토피피부염 환자군에서 혈장 내독소 농도가 정상군보다 증가되어 있고, 질환의 중증도가 높은 경향을 보인 외인성 아토피피부염 환자군에서 혈장 내독소 농도가 내인성 아토피피부염 환자 군보다 증가되어 있는 경향을 보고한 이번 연구에서도 관찰되었다. 이번 연구 결과는 외인성 아토피피부염 환자들의 질환 중증도가 내인성 아토피피부염 환자들보다 더 중하다고 보고한 이전 연구들^{16,17})과도 같은 결과를 보여주고 있다. 이전 연구들은 단순히 집안에서 채집한 먼지에서 내독소 수치를 측정했기 때문에, 이 수치가 실제로 인체 내로 유입되어서 면역 체계에 영향을 미치는 내독소 농도를 반영할 수는 없다고 생각된다. 실제 인체 내에서 면역반응에 영향을 미치는 인자는 집안에서 채취한 내독소 수치가 아니라 피부장벽 이상 부위를 통해서 인체 내로 유입된 혈장 내독소일 것으로 생각된다. 또한 내독소에 의한 알레르기 면역반응은 주위 환경에서 채집한 내독소 수치, 내독소 노출 기간, 알레르기 항원과 내독소 투여 방법 등 다양한 요인에 의해서 다른 결과를 나타낼 수 있다고 보고한 연구도 있다.¹⁸ 이번 연구에서는 대상군의 집안 내독소 수치, 내독소 노출 기간, 흡입과 피부를 통한 내독소 유입의 차이를 측정하지 않았지만, 이런 다양한 요인들이 인체 내로 유입되는 내독소 농도에 영향을 미쳐서 면역반응을 일으켰을 것으로 사료된다.

이번 연구에서 중요한 결과는 외인성 아토피피부염환자군에서는 아토피피부염 중증도가 혈장 내독소 농도와 음의 상관관계가 있고, 내인성 아토피피부염환자군에서는 이런 상관관계가 없다는 것이다. 이 결과는 다음과 같은 기전으로 설명할 수 있다. 첫째, Th2 면역반응이 우세한 상태인 외인성 아토피피부염 환자에서는 전염증성 매개체인 혈장 내독소 농도가 Th1 세포를 활성화시키면 상대적

으로 Th2 면역반응을 감소시키기 때문에 아토피피부염 중증도와 음의 상관관계를 나타냈을 가능성이 있다. 내인성 아토피피부염 환자는 외인성 아토피피부염 환자보다 적은 양의 interleukin (IL) 4, IL-5, IL-13을 분비한다는 연구 결과¹⁹⁾로부터 추론하면, 내인성 아토피피부염 환자에서는 외인성 아토피피부염 환자만큼 심한 정도로 Th2 면역반응으로 편중되지 않을 것으로 생각된다. 따라서 피부 장벽 이상을 통해서 인체 내로 유입된 혈장 내독소 농도가 Th1과 Th2 세포를 같은 정도의 강도로 자극하기 때문에 아토피피부염 중증도와 상관관계를 나타내지 않았을 가능성이 있다. 둘째, 내인성 아토피피부염 환자들의 혈장 내독소 농도가 피부 면역체계에 영향을 미칠 만큼 충분히 높은 수치가 아니기 때문에 아토피피부염 중증도와 유의한 상관관계를 보이지 않았을 가능성이 있다. 이는 내인성 아토피피부염 환자군에서 혈장 내독소 농도가 외인성 아토피피부염 환자군보다 감소되어 있는 경향을 보인 이번 연구에서도 증명되었다.

이번 연구는 아토피피부염 환자에서 혈장 내독소 농도를 측정하고 질환의 중증도와와의 연관성을 규명하였으나, 층례 수가 적다는 제한점이 있다. 또한, 아토피피부염의 중증도에 영향을 미치는 인자들, 즉 나이, 성별, 혈장 내독소 농도 측정 당시의 계절, 투여 약물의 종류 및 투여량, 식이섭취 등 다양한 변수에 대한 보정을 시행하지 않았다는 한계점이 있다. 마지막으로, 환자들의 집안에서 먼지를 채집해서 내독소 수치를 측정하지 않았기 때문에, 집안에서 채집한 먼지에서 측정된 내독소 수치가 혈장 내독소 농도와 어떤 상관관계가 있는지 규명하지 못했다. 추후 집안에서 먼지를 채집해서 내독소 수치와 혈장 내독소 농도와의 연관성을 규명하는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 이번 연구는 아토피피부염 환자에서 혈장 내독소 농도가 증가되어 있는 것을 확인하였다. 또한 외인성 아토피피부염 환자에서 질환의 중증도와 혈장 내독소 농도가 통계적으로 유의한 음의 상관관계가 있음을 확인하였다. 이런 상관관계는 내인성 아토피피부염 환자에서는 관찰되지 않았다. 따라서 아토피피부염 환자에서 아토피 여부에 따라서 혈장 내독소 농도가 질환의 중증도에 면역학적으로 다른 영향을 미칠 것으로 사료된다. 이번 연구 결과는 추후 내인성, 외인성 아토피피부염 환자들과 정상군을 대상으로 하는 대규모 연구를 통해서 증명되어야 할 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Hansen TE, Evjenth B, Holt J. Increasing prevalence of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and eczema among schoolchildren: three surveys during the period 1985-2008. *Acta Paediatr* 2013;102:47-52.
- Asher MI, Montefort S, Bjorksten B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006;368:733-43.
- Umetsu DT, Akbari O, Dekruyff RH. Regulatory T cells control the development of allergic disease and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:480-7.
- Gehring U, Bolte G, Borte M, Bischof W, Fahlbusch B, Wichmann HE, et al. Exposure to endotoxin decreases the risk of atopic eczema in infancy: a cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:847-54.
- Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002;347:869-77.
- Phipatanakul W, Celedon JC, Raby BA, Litonjua AA, Milton DK, Sredl D, et al. Endotoxin exposure and eczema in the first year of life. *Pediatrics* 2004;114:13-8.
- Douwes J, van Strien R, Doekes G, Smit J, Kerkhof M, Gerritsen J, et al. Does early indoor microbial exposure reduce the risk of asthma? The Prevention and Incidence of Asthma and Mite Allergy birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1067-73.
- Chen CM, Sausenthaler S, Bischof W, Herbarth O, Borte M, Behrendt H, et al. Perinatal exposure to endotoxin and the development of eczema during the first 6 years of life. *Clin Exp Dermatol* 2010;35:238-44.
- Brown WG, Halonen MJ, Kaltenborn WT, Barbee RA. The relationship of respiratory allergy, skin test reactivity, and serum IgE in a community population sample. *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:328-35.
- Kunz B, Oranje AP, Labreze L, Stalder JF, Ring J, Taieb A. Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. *Dermatology* 1997;195:10-9.
- Lawson JA, Dosman JA, Rennie DC, Beach JR, Newman SC, Crowe T, et al. Endotoxin as a determinant of asthma and wheeze among rural dwelling children and adolescents: a case-control study. *BMC Pulm Med* 2012;12:56.
- Flohr C, Yeo L. Atopic dermatitis and the hygiene hypothesis revisited. *Curr Probl Dermatol* 2011;41:1-34.
- Bolte G, Bischof W, Borte M, Lehmann I, Wichmann HE, Heinrich J, et al. Early endotoxin exposure and atopy development in infants: results of a birth cohort study. *Clin Exp Allergy* 2003;33:770-6.
- Rizzo MC, Naspitz CK, Fernandez-Caldas E, Lockey RF, Mimica I, Sole D. Endotoxin exposure and symptoms in asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol* 1997;8:121-6.
- Bieber T. Atopic dermatitis. *N Engl J Med*. 2008;358:1483-94.
- Reefer AJ, Satinover SM, Wilson BB, Woodfolk JA. The relevance of microbial allergens to the IgE antibody repertoire in atopic and nonatopic eczema. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:156-63.
- Shin JE, Jeon YH, Yang HJ, Pyun BY. Comparison of clinical severity and laboratory results between atopic and non-atopic eczema in children. *Pediatr Allergy Respir Dis* 2008;18:219-27.
- Velickovic TC, Thunberg S, Polovic N, Neimert-Andersson T, Gronlund H, van Hage M, et al. Low levels of endotoxin enhance allergen-stimulated proliferation and reduce the threshold for activation in human peripheral blood cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;146:1-10.
- Novak N, Bieber T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:252-62.