대한안과학회지 : 제 41 권 제 3 호 2000
J Korean Ophthalmol Soc Vol. 41, No. 3

실험적 서울형인공각막의 임상적, 물리적 안정성과 조직적합성에 관한 연구

김희영 · 위원량* · 정의상* · 이진학* · 박성회**

〓 요 약 〓

동종 생체 각막이식이 불가능한 예에서 시력 회복의 방법은 인공각막이식이다. 본 연구에서는 서울형 인공각막 모델을 실험 토끼에 이식하여 임상적 안정성과 물리적 안정성을 평가하고, 인공각막 이식 후 조직학적 검사를 통해 생체적합성을 조사하였다. 그리고 인공각막 이식 후 양막이식이 임상적, 물리적 안정성에 미치는 효과를 조사하였다.

서울형 인공각막은 PMMA로 만든 실린더 모양의 optic과 Gore-tex® 또는 polyurethane 지지부(skirt), prolene으로 만든 haptic으로 이루어져 있다.

서울형 인공각막 이식 1개월 후 지지부는 결막으로 완전히 덮이고, 2개월에는 덮였던 결막의 연화작용이 시작되면서, 지지부의 노출이 시작되고, 6개월까지 서서히 진행되는 양상을 보였지만, 인공각막 후면의 섬유막 형성이나, 인공각막의 이탈, 망막박리와 같은 후안부의 합병증은 발생하지 않아 비교적 안정된 임상적 양상을 보였다. 이식 2개월 후의 압력부하 검사상, 높은 압력에서도 비교적 양호한 물리적 안정성을 보였다. 조직학적 검사상 각막주머니(lamellar pocket of cornea) 안쪽과 Gore-tex® 지지부 연접부위, 전부 각막에 중증도의 염증반응을 보였으며, 교원질 및 기질의 분포가 염증으로 인해 정상적인 형태를 보이지 않았고 Gore-tex® 지지부 내로 교원질 침착은 관찰되지 않았다. 그러나 각막주머니 후부의 각막은 비교적 정상적인 형태를 잘 유지하고 있었다. 인공각막 이식 후 양막이식을 반복한 군이 수술직후 1번 이식한 군과 이식하지 않은 군에 비해 비교적 양호한 임상적, 물리적 안정성을 보였다(한안지 41:550~561, 2000).

<접수일 : 1999년 11월 1일, 심사통과일 : 2000년 2월 14일>

한림대학교 의과대학 강남성심병원 안과학교실
Address reprint requests to Hee Young Kim, M.D.
Department of Ophthalmology, Kangnam Sacred Heart Hospital, Hallym University Medical College
#948-1 Daelim-dong, Youngdeungpo-ku, Seoul, 150-071, Korea
Tel : 82-2-829-5193, Fax : 82-2-848-4638

서울대학교 의과대학 안과학교실*
Department of Ophthalmology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea*

서울대학교 의과대학 병리학교실**
Department of Pathology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea**

* 이 연구는 1996년도 서울대학교병원 대형공동과제 연구비 지원에 의해 이루어짐.

Abstract

Clinical, Physical Stability and Histological Biocompatibility of Experimental Seoul Type Keratoprosthesis

Hee Young Kim, M.D., Won Ryang Wee, M.D.*, Eui Sang Jung, M.D.*, Jin Hak Lee, M.D.*, Sung Hoi Park, M.D.**

In cases that penetrating keratoplasty do not help to improve vision, keratoprosthesis implantation is necessary. This study was performed to assess clinical and mechanical stability of Seoul type-keratoprosthesis(SKPro), biocompatibility and effect of amniotic membrane transplantation on clinical and mechanical stability of SKPro. SKPro consists of an optic portion made of PMMA, a skirt of Gore-tex® or polyurethane and a haptic of prolene. The skirt of SKPro was covered with recipient conjunctiva completely at postoperative 1 month and melting of covered conjunctiva and exposure of skirt developed at postoperative 2 months and progressed slowly to postoperative 6 months. But retroprosthetic membrane formation, extrusion of SKPro, posterior segment complication such as retinal detachment did not develop and transplanted SKPro showed relatively good clinical stability during 6 months. Pressure loading test showed relatively good mechanical stability under high pressure at postoperative 2 months. Histologic study showed moderate inflammatory reaction and abnormal pattern of collagen and extracellular matrix in lamellar pocket and anterior flap. There was no deposit of collagen in Gore-tex® skirt. But histology of posterior flap of lamellar pocket was nearly normal. Group that was transplanted with amniotic membrane twice showed more better stability than once and without amniotic membrane transplantation on clinical and mechanical stability(J Korean Ophthalmol Soc 41:550~561, 2000).

Key Words : Amniotic membrane transplantation, Biocompatibility, Clinical stability, Mechanical stability, SKPro

현재 각막혼탁으로 인한 시력 개선의 방법으로 확립된 수술방법이 동종 생체각막이식술이다. 그러나 각막 상피세포의 간세포 결핍으로 인하여 생체각막이식술을 받더라도 각막상피세포의 유지가 힘들게 되어 반복적인 상피세포의 탈락과 이차적인 각막염이 발생하게 되고 이로 인한 거부반응이 빈번하게 발생되어 이식편의 유지가 어렵게 되는 질환인 각막화상, 안천포창, Stevens-Johnson 증후군 등에서는 동종 생체각막이식술이 시력회복에 도움이 되지 않는다. 이런 동종각막 생채이식술의 한계를 극복하기 위해 인공각막 개발의 필요성이 제기되어 왔다.

이런 필요성에 따라 인공각막의 소재와 모델에 대한 많은 연구와 개발 노력이 있었다. 1950년대의 intralamellar implant 모델[1], 1960년대의 bolt and nut형의 인공각막 모델[2,3], 1970년대의 osteo-odonto keratoprosthesis[4] 모델, 1980년대에는 ceramic과 같은 첨단소재를 이용한 인공각막을 개발하였고[5], 90년대 들어 생체적합성에 기초를 둔 인공각막의 재질에 대한 연구가 활발하게 진행되었다[6-8].

한편 국내에서 저자들은 optical cylinder의 소재로 silicone, PMMA 등과 supporting plate의 소재로 expanded PTFE(Gore-tex®)를 사용한 동물실험을 통하여 그 적합성을 연구한 바 있고, 1993년부터 PMMA를 소재로 modified champagne

cork type의, supporting plate가 없는 독자적인 design의 model을 만들었고[9,10], 성공적 인공각막의 개발에 기본이 되는 기초연구도 시행하였다[11]. 1997년 PMMA로 만든 실린더 모양의 optic과 Gore-tex® skirt, prolene으로 만든 haptic으로 이루어진 서울형 인공각막을 개발하였다[12].

본 연구에서는 서울형 인공각막 모델을 실험 가토에 이식하여 임상적 안정성과 물리적 안정성을 평가하고, 인공각막 이식 후 조직학적 검사를 통해 생체적합성을 조사하였다. 그리고 인공각막 이식 후 양막이식이 임상적, 물리적 안정성에 미치는 효과를 조사하고자 한다.

연구재료 및 방법

1. 연구재료

본 실험에 채택한 인공각막은 서울형 인공각막으로, 광학부(optic)는 PMMA(polymethylmethacrylate), 지지부(skirt)는 Gore-tex® 또는 polyurethane으로, haptic은 prolene(polypropylene)으로 이루어졌다(Fig. 1). 실험동물은 백색토끼(New Zealand white rabbit, female, 3.0kg)를 사용했다.

2. 서울형 인공각막의 이식

Ketamine(케타라®, 유한양행) 30㎎/kg, xylazine hydrochloride(Rumpun®, Bayer Vetchem, Korea) 5㎎/kg 근육주사로 백색토끼를 마취한 후 proparacaine hydrochloride(Alcain®, Alcon Lab. Inc. ,USA)를 오른쪽 눈에 점안 마취한 후, 360도 윤부결막 절개술을 시행한 후, 각막의 상피층을 #6900 Beaver blade를 이용하여 제거하였다. 그리고 각막중심에 6㎜ 크기의 각막원형절제기를 이용하여 각막 상부 반정도의 두께를 부분 원형절제한 후(partial trephination), 원형절제 변연에서 2~3㎜ 정도 바깥쪽으로 박리 하여 인공각막의 지지부가 들어갈 수 있는 각막 주머니(lamellar pocket of cornea)를 만들었다. 그 후에 부분원형절제 부위를 따라 6㎜ 크기의 전층 각막원형절제술을 시행한 후, 수정체제거술과 앞유리체 제거술을 시행하였다. 그리고 10-0 prolene으로 공막에 prolene haptic을 고정한 후, 인공각막의 지지부를 각막실질 주머니에 삽입한 후 10-0 nylone으로 각막과 지지부를 고정봉합하였다. 인공각막 이식 후, -70°C에서 보관된 양막을 상온에서 녹여 gentamicin 8㎕/cc와 cefamezine 20㎕/cc가 혼합된 식염수에 30분간 담가둔 후 1.5㎝ 크기로 둥글게 잘라 인공각막 위에 덮고 결막의 가장자리에 10-0 nylon으로 purse-string 형태로 연속 봉합하였다(첫 번째 실험군). 두 번째 실험군에서의 양막이식은 실험 군에 따라 추가하거나 생략하였다. 술 후 약물처치는 Forus 연고와 Teramycin 연고를 하루 2회씩 한 달간 점안하였다.

3. 실험군의 분류

인공각막의 임상적, 물리적 안정성 평가를 위해 Gore-tex® 지지부 모델을 채택하여 10마리의 백색토끼(첫 번째 실험군)에 서울형 인공각막을 이식하고 3마리에서는 임상적 안정성을 평가하였고(임상군), 4마리에서는 조직학적 검사를 통해 생체적합성의 평가였고(적합성군), 3마리에서는 물리적 안정성의 평가하기 위해(물리군) 압력부하실험을 시행하였다. 또한 양막 이식이 인공각막의 임상적, 물리적 안정성에 미치는 영향을 조사하기 위해 polyurethane 지지부 모델을 채택하여 10마리의 백색토끼(두 번째 실험군)에 인공각막을 이식한 후 양막 이식의 횟수를 조절하여 4마리에서는 인공각막 이식 직후, 이식 2주후 양막이식을 2회 시행하였고(1군)과, 3마리에서는 인공각막 이식 직후에만 양막이식을 1회 하였고(2군), 3마리에서는 인공각막 이식 후 양막이식을 하지 않았다(3군).

4. 인공각막 시술 후 백색토끼 안의 임상적 안정성의 평가

술후 1개월, 2개월, 3개월, 6개월에 ketamine hydrochloride(케타라®, 유한양행)을 kg당 30㎎과 xylazine hydrochloride(Rumpun®, Bayer Vetchem, Korea)을 kg당 4㎎ 실험토끼 대퇴부에 근육 주사하여 전신마취시킨 후, 생체현미경을 통해(Haag Streit, Swiss)를 이용하여, 안구내 염증소견, 인공각막 주위 수여각막의 염증 및 연화(melting) 소견, 인공각막 주위의 누수(leakage), 이식편 후면의 섬유막 증식 등을 관찰하고, 이때 전안부 상태는 세극등에 장착된 전안부 카메라(Nikon,

Japan)로 기록하였으며, 도상검안경(Keeler, U.K.)을 이용하여 망막박리의 유무를 관찰하였다.

5. 인공각막 시술안의 물리적 안정성 평가

인공각막 이식후 2개월에 3마리의 실험토끼를 ketamine hydrochloride와 xylazine hydrochloride로 전신마취시킨 후 proparacaine hydrochloride을 수회 점안한 후 토끼의 안압 상승을 위하여 공막을 상비측 적도부위에 각공막윤부와 평행하게 0.5㎜ 절개하고 유리체수술용 infusion침을 삽입시켜 5-0 Dacron®(Alcon Surgical Inc, Fort Worth, TX, USA)로 봉합 고정하였다. 그 침을 정맥주사관을 이용하여 토끼의 안구와 같은 높이에 위치시킨 생리식염수병에 연결하였고 새로운 정맥주사관을 생리식염수병에서 펌프로 향하게 하고 그 중간에 3-way stopcock(Discofix-3, B.Braun, Melsugen AG, Germany)을 이용하여 압력계에 연결하였다(Fig. 2). 50㎜Hg, 100㎜Hg, 200㎜Hg의 압력을 가한 후 인공각막주위의 누수 또는 인공각막의 이탈이 일어나는 시간을 측정하였다.

6. 인공각막 시술 후 실험토끼 안의 조직적합성의 평가

서울형 인공각막을 이식한 4마리의 실험토끼를 희생시켜 안구를 2개월(2마리) 및 6개월(2마리)에 적출 하여 광학현미경 및, 전자현미경 검사를 통해 인공각막과 연접부의 조직병리를 관찰함으로써 연접부의 유착여부, 주위결막의 구조적 변화, 상피 및 각질세포의 변화, 염증의 정도, 인공각막의 광학부 후섬유막, 혹은 낭의 형성여부를 조사하여 조직적합성을 평가하였다.

1) 안구의 적출 및 조직의 채취

술 후 2개월, 6개월에 각각 2마리씩의 실험토끼를 치사량의 pentobarbital을 정맥주사하여 희생시킨 후, 안구를 적출하였다. 모양체의 평면부를 관통하여 각막윤부와 평행하게 원형의 절개를 시행하여 인공각막, 주위 각막, 윤부, 홍채 및 모양체를 포함한 조직을 채취한 후, 1안은 광학현미경 검사를 1안은 전자 현미경 검사를 위해 고정하였다.

2) 광학 현미경 검사

10% 포르말린에 각막조직을 24시간 고정한 후 각막을 인공각막의 표면에 수직 방향으로 대칭형의 두 부위로 절단하였다. 절반의 각막조직을 절단면이 위를 향하도록 파라핀에 포매한 후 같은 방향으로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin, Masson's trichrome, Alcian blue 염색을 시행하였다.

3) 전자현미경 검사

각막조직을 2.5% phosphate-buffer glutaraldehyde에 2시간동안 고정하고, 0.1M sodium cacodylate buffer(pH 7.4)로 세척한 후 4℃ 1% phosphate-buffer osmium trioxide에 1시간 동안 후고정 하였다. 검체를 계열 ethanol 용액으로 탈수하고 prophylene oxide를 침투 시킨후 epoxyresin(Epon 812)에 포매하였다. 그 후 1㎛ 두께로 박절하여 Toluidine Blue로 염색한 후 광학현미경으로 관찰부위를 선정한다. diamond knife를 이용한 LKB-V 초박절기를 이용하여 초박절을 만들고, uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과현미경(H-600, Hitachi, Japan)으로 관찰하였다.

7. 양막이식의 효과(두 번째 실험군)

1) 임상적 안정성의 평가 및 비교

각 군에서 압력부하검사를 하기 위해 2개월에 희생시킨 3마리를 제외한 7마리에서 인공각막 유지기간, 수여각막의 전부 각막(anterior flap) 연화작용(melting), 합병증의 발생, 세 가지를 기준으로 하여 인공각막 유지기간은 1개월에 10점씩 가산하고, 전부 각막의 연화작용(melting)은 1시간 발생시 5점을 감점하고 결막의 과증식(conjunctival overgrowth on optic), 후섬유막, 망막박리, 안내염 등의 합병증이 발생시 10점을 감점하여 이 세가지 평가 항목의 총점을 계산하여 A는 51점 이상, B는 40~50점, C는 30~39점, D는 20~29점, E는 20점 미만으로 임의의 기준을 정하고 이것을 가지고 임상적 안정성을 비교하였다.

2) 물리적 안정성의 평가 및 비교

각 군에서 실험토끼 1마리를 인공각막 이식 2개월 후 희생시켜 윤부 후방 3㎜ 지점에 공막 절개를 한 후 주입관을 삽입하고 압력계를 이용하여 50㎜Hg에서 시작하여 50㎜Hg씩 올리고 각 압력은 1시간 동안 유지시켜, 압력부하 시험시 최대로 견딘

압력을 측정하여 임의로 A는 200㎜Hg, B는 150㎜Hg, C는 100㎜Hg, D는 50㎜Hg, E는 50㎜Hg 미만으로 정하여 물리적 안정성을 비교하였다.

결 과

1. 임상적 안정성

1) 세극등 현미경 검사

(1) 수술 후 1개월까지의 경과

수술 직후 1주일까지 분비물을 동반한 가벼운 염증소견을 보였지만 이식된 양막의 이탈이나 안내염의 소견은 보이지 않았다. 수술 2주 후부터 염증은 서서히 조절되어 투명한 양막 밑으로 인공각막과 수여각막이 잘 관찰되었으며, 전방도 어느 정도 맑게 관찰되었다. 수술 약 3주 후부터 인공각막의 Gore-Tex® 지지부의 전부각막 위로 각막 윤부에서 발생한 신생혈관과 함께 결막이 자라 들어오기 시작하여, 3주에서 5주 사이에 Gore-Tex® 지지부와 앞덮개(anterior flange) 경계부위까지 증식하는 소견을 보였다(Fig. 3).

첫 번째 실험군 10마리의 백색토끼 중 2안(임상군 1안과 적합성군 1안)에서 수술 2주 후 말에 인공각막 연접부의 일부분에서 심한 염증반응이 시작되어 Gore-Tex® 지지부와 수여각막 사이에 연화작용이 일어나서 Gore-Tex® 지지부가 수여각막의 각막주머니에서 일부분 이탈되어 들리는 현상이 나타났으며, Gore-Tex® 지지부가 이탈된 부위에서는 인공각막 위로 결막의 증식은 관찰되지 않았으나, 나머지 부위에서는 결막의 증식이 정상적으로 관찰되었으며, 이 두 예에서도 인공각막의 이탈이나, 안내염은 발생하지 않았다.

(2) 수술 후 2개월에서 3개월까지의 경과

수술 후 1개월이 지나면서 염증이 적었던 군은 결막이 Gore-Tex® 지지부와 앞덮개(anterior flange) 경계부위를 지나 앞덮게의 주변부까지 증식하다가 주변부에서 결막의 증식 선단이 두꺼워지면서 더 이상의 증식을 하지 않아 광학부는 투명하게 유지되는 소견을 보였다. 수여각막의 각막주머니의 끝 부분에 Gore-Tex® 지지부 두께에 의해 약간 융기되어 있는 모양은 모든 실험토끼에서 관찰되었다. 수술 후 2개월부터 수여각막의 각막주머니의 끝 부분에 Gore-Tex® skirt의 두께에 의해 약간 융기되어 있는 부분에서 각막주머니의 전부각막의 끝 부분이 연화되기 시작하여 Gore-Tex® 지지부의 노출이 보이기 시작하였다. 인공각막과 수여각막 사이의 접합부의 염증은 완전히 소실되지는 않았으나, 전방의 염증은 도상검안경으로 안저 관찰이 가능할 정도로 심하지 않았다

(3) 수술 후 4개월에서 6개월까지의 경과

수술 후 4개월까지의 6개월까지 Gore-Tex® 지지부의 노출 범위는 점점 넓어져서 약 6개월이 경과했을 때 2개월에 압력부하검사와 조직검사로 희생시킨 5마리의 5안을 제외한 5안(임상군 3안과 적합성군 2안) 모두에서 2시간에서 6시간까지 다양한 정도로 노출되었으나, 전방의 염증은 경미했으며, 안구의 누수나 인공각막의 이탈의 기미는 보이지 않았다(Fig. 4).

2) 도상검안경 검사

각막주머니에서 Gore-Tex® 지지부의 일부분이 노출되었음에도 불구하고 인공각막이 6개월 이상 잘 유지된 5안에서 도상검안경 검사상 망막 주변부의 부분적인 망막박리가 관찰되었으나 후극부는 망막이 잘 유착된 상태를 유지했다.

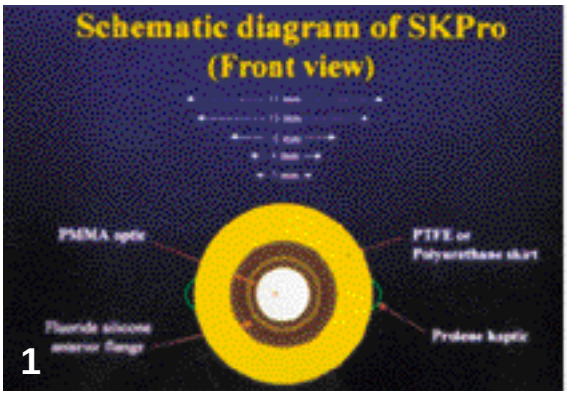
2. 물리적 안정성

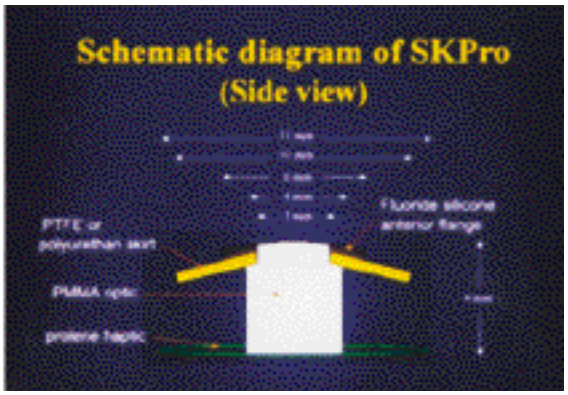
Fig. 2에서와 같이 압력부하검사기를 설치하고 수술 2개월후 3마리의 실험 토끼를 대상으로 압력 부하검사를 시행하였다. 50㎜Hg, 100㎜Hg에서는 3마리 모두 1시간이상 누수나 인공각막의 이탈이 없어, 압력부하검사를 중지했으며, 200㎜Hg에서는 누수가 생기는 시간이 8분 20초에서 12분 20초 사이이며 평균 10분 23초였다. 200㎜Hg에서 누수는 생기지만 인공각막의 이탈은 1안에서도 관찰되지 않았다(Table 1).

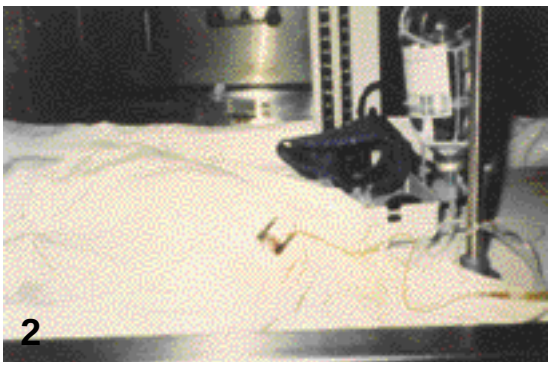
3. 인공각막의 조직적합성

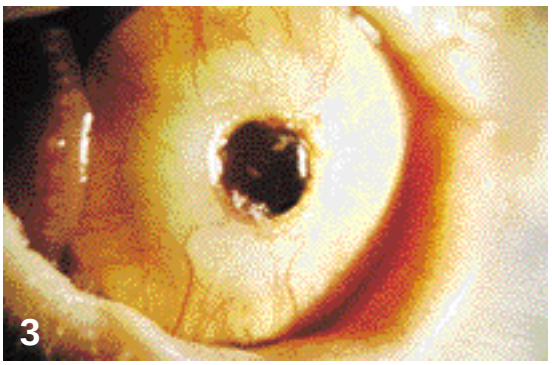
1) 적출된 안구의 소견(Gross examination)

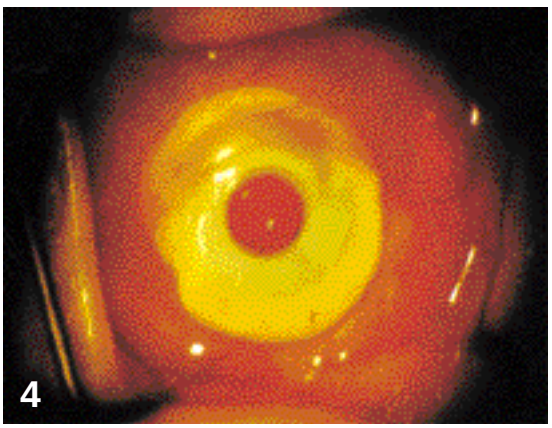
적출된 안구 모두에서 Gore-Tex® 지지부가 각막주머니에서 일부분의 이탈이 관찰되었다. 광학부(optics)의 후면은 후섬유막(retroprosthetic membrane)의 증식 없이 투명성을 유지하고 있었다(Fig. 5).











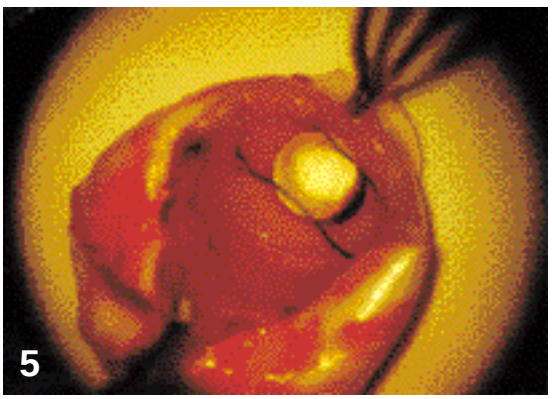


Figure 1. Schematic diagram of Seoul type keratoprosthesis.
Figure 2. Photography of pressure loading test. The vitrectomy infusion tip inserted into the equator of the rabbit eye and was connected to the normal saline bottle with the intravenous line. The pump was connected to the air portion of the bottle with the other intravenous line and the middle of the line, a manometer was connected using 3-way stopcock.
Figure 3. Rabbit eye implanted with SKPro at postoperative 2 months. There are growth of conjunctiva and blood vessel over anterior cornea without melting.
Figure 4. The rabbit eye implanted with SKPro at postoperative 6 months. Cornea shows partial melting of anterior flap of cornea(from 4 o'clock to 8 o'clock) and exposure of skirt and rest of cornea is covered with conjunctiva. There are good red reflex.
Figure 5. Posterior view of enucleated eye with implantation of SKPro. Optics is clear without retro-prosthetic membrane formation.

Table 1. The results of pressure-loading test at postoperative 2 months.

loading pressure	Rabbit No.	time at leaking
50㎜Hg	# 1	over 1 hour
	# 2	over 1 hour
	# 3	over 1 hour
100㎜Hg	# 1	over 1 hour
	# 2	over 1 hour
	# 3	over 1 hour
200㎜Hg	# 1	10 ′ 30 ″
	# 2	12 ′ 20 ″
	# 3	8 ′ 20 ″
	average	10 ′ 23 ″

′ : minute
″ : second

2) 광학현미경 검사

(1) Hematoxylin-Eosin(H&E) 염색

호산구 및 다형핵백혈구로 이루어진 염증세포가 각막주머니 안쪽 면과 Gore-tex® skirt의 연접부위, 전부 각막에 많이 침윤되어 있었고 이와 같은 양상은 2개월과 6개월에 큰 차이를 보이지 않았다. Gore-Tex® skirt 내에도 다수의 염증세포가 보였다. 후부 각막(posterior flap of lamella pocket)은 규칙적인 각막실질 세포의 배열을 보였으며 염증세포의 침윤이 거의 없었다(Fig. 6).

(2) Masson's trichrome 염색

호산구 및 다형핵백혈구 등의 염증세포가 많이 침윤되어 있는 각막주머니 안쪽 면과 Gore-tex® 지지부 연접부위, 전부 각막에는 교원질(collagen)이 불규칙하게 분포되어 있으며, 그 양도 적었다. 이에 반해 후부 각막은 교원질(collagen)이 규칙적으로 잘 배열되어 있으며, 교원질(collagen) 사이에는 각막세포(keratocyte)가 규칙적으로 배열되어 정상각막과 큰 차이를 보이지 않는 조직 소견을 보였다. Gore-Tex®내의 세공에는 확실한 교원질(collagen)이 관찰되지 않았다(Fig. 7).

(3) Alcian blue 염색

각막내의 기질의 분포와 배열모양을 보기 위해 시행한 alcian blue 염색 소견상, 염증세포가 많이 침윤되어 있는 각막주머니 안쪽 면과 Gore-Tex® 지지부 연접부위, 전부 각막에는 염색된 기질이 거의 관찰되지 않았다. 이에 반해 후부 각막은 기질이 정상에 가까운 양과배열로 염색되었으나, Gore-Tex®내의 세공에는 확실한 기질 침착이 관찰되지 않았다(Fig. 8).

광학 현미경 소견을 종합해 보면 네 부분으로 나누어 설명할 수 있다. 첫째, Gore-tex® 지지부에 접해있는 각막주머니 안쪽 면에 연하여 상당수의 염증세포가 침윤되어 있으며, 섬유아세포는 거의 관찰되지 않고 있으며, 교원질과 기질이 정상에 비해 적고 불규칙하게 배열되는 소견을 보였다 둘째, 각막주머니의 전부 각막은 각막주머니의 안쪽면에 비해 그 정도는 적지만 염증세포의 침윤이 있었고, 교원질과 기질의 분포도 정상에 비해 적고 불규칙하였다. 셋째, Gore-tex® 지지부에 침윤된 세포는 주로 염증세포이고 교원질과 각막실질 기질의 확실한 염색 소견은 보이지 않았다. 넷째, 각막주머니의 후부 각막에는 염증세포의 침윤은 거의 없으며, 규칙적인 각막세포와 교원질, 그리고 기질이 잘 관찰되고 있다.

3) 전자현미경 검사

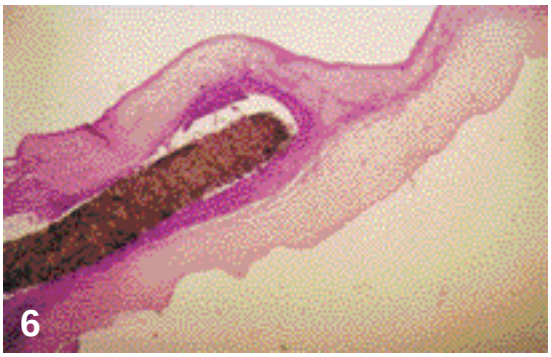
수여각막의 각막주머니 안의 Gore-tex® Skirt의 전자 현미경 소견은 1500배의 배율에서 Gore-tex® Skirt의 실질과 세공이 잘 관찰되고 있으며, Gore-tex® Skirt의 실질에 염증세포가 불규칙하게 분포되어 있었고, Gore-tex® Skirt의 변성 소견은 관찰되고 있지 않으며, 세공사이의 세포 침윤이나 교원질(collagen)과 세포외 기질(extracellular matrix)의 침착은 관찰되지 않았다. 2000배의 배율에서 Gore-tex® Skirt와 각막주머니 안쪽에 접해 있는 부위에서 핵과 세포질이 긴 섬유아세포가 관찰되었고, 3500배의 고배율에서 관찰한 소견상 섬유아 세포는 풍부한 세포질내세망(rough surfaced endoplasmic reticulum)을 보이는 활성화된 형태를 보였으나(Fig. 9), Gore-tex® Skirt내의 소공에서는 활성화된 섬유아세포를 발견할 수 없었다.

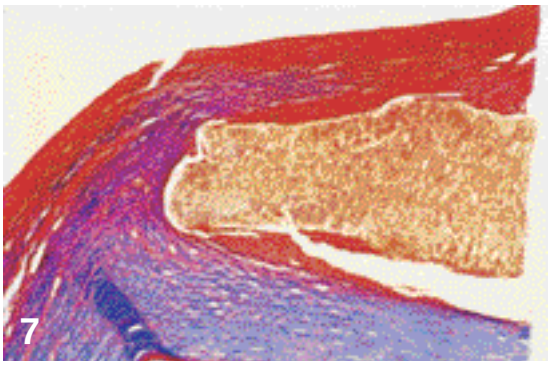
4. 양막 이식의 효과(두 번째 실험군)

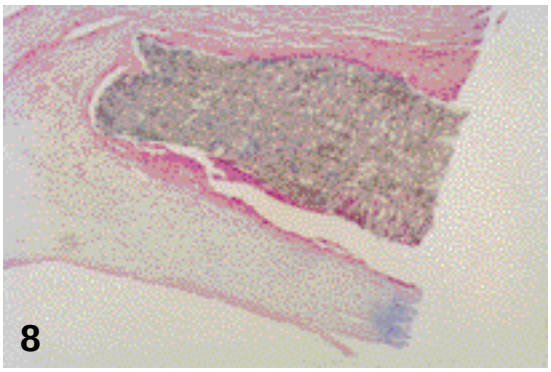
1) 임상적 안정성(Table 2)

(1) 1 군 : 2회 양막 이식 군(3마리)

첫 번째 토끼는 8개월 이상 인공각막이 유지되었으며 수여각막의 각막주머니의 전부 각막의 연







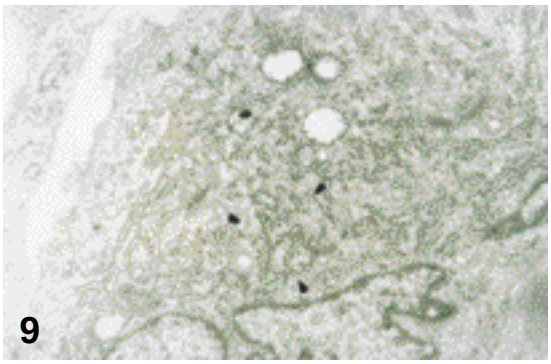


Figure 6. H&E staining in rabbit cornea with implantation of SKPro(×20). There are moderate severe inflammatory reaction in inner aspect of lamellar pocket and moderate inflammatory reaction on anterior flap covered with conjunctiva. But posterior flap shows nearly normal pattern.

Figure 7. Masson's trichrome staining in rabbit cornea with implantation of SKPro(×40). There are sparse and disorganized pattern of collagen in lamellar pocket and anterior flap. But posterior flap shows nearly normal pattern of collagen.

Figure 8. Alcian blue staining in rabbit cornea with implantaion of SKPro(×40). There are sparse staining of extracellular matrix in lamellar pocket and in anterior flap. But posterior flap shows nealy normal pattern of matrix.

Figure 9. Transmission electron microscopic finding of activated fibroblast in inner aspect of lamellar pocket. There are abundant, well developed rough surfaced endoplasmic reticulum in cytoplasm of activated fibroblast(×3500).

Table 2. Clinical stability according to frequency of amniotic membrane transplantation.

		clinical parameter			
		duration(mo.)	melting(hr.)	complication	grade
1 Gr.*	# 1	8(80)	0	-	80(A)
	# 2	5(50)	1(-5)	-	45(B)
	# 3	5(50)	0	-	50(B)
2 Gr.**	# 1	5(50)	4(-20)	-	30(C)
	# 2	5(50)	4(-20)	-	30(C)
3 Gr.***	# 1	4(40)	10(-50)	-	-10(E)
	# 2	2(20)	10(-50)	-	-30(E)

* : amniotic membrane was transplanted twice(on operation and two week later)

** : amniotic membrane was transplanted once(on operation)

*** : amniotic membrane was not transplanted

화작용은(melting) 없었으며, 지지부로 결막의 과성장이 관찰되어 본 연구의 임상적 안정성의 평가 기준(임상 및 합병증)으로 총점은 80점 이상이고 안정성은 A 등급에 해당하였다. 두 번째 토끼는 인공각막 유지기간이 5개월, 전부 각막의 연화작용이 1시간으로 총점은 45점으로 임상적 안정성은 B 등급을 나타냈다. 세 번째 토끼는 인공각막 유지 기간은 5개월 이상, 전부 각막의 연화작용은 없었고 총점은 50점으로 임상적 안정성은 B 등급을 나타냈다.

(2) 2 군 : 1회 양막 이식군(2마리)

첫 번째 토끼의 인공각막의 유지 기간은 5개월, 전부 각막의 연화작용은 4시간으로 총점은 30점으로 임상적 안정성은 C 등급, 두 번째 토끼의 인공각막 유지 기간은 5개월, 전부 각막의 연화작용은 4시간으로 총점은 30점으로 물리적 안정성은 C 등급을 나타냈다.

(3) 3군 : 양막 이식을 하지 않은 군(2마리)

첫 번째 토끼는 인공각막 유지기간이 4개월, 전부 각막의 연화작용은 10시간으로 총점은 -10점으로 임상적 안정성은 E 등급, 두 번째 토끼는 인공각막 유지 기간은 2개월 이상, 전부 각막의 연화작용은 10시간, 총점은 -30점으로 임상적 안정성은 E 등급을 나타냈다.

2) 압력부하검사

2회 양막 이식 군이 최대로 견딘 압력은 200㎜Hg(A 등급)이며, 1회 양막이식 군은 150㎜Hg(B 등급), 양막이식을 하지 않은 군은 50㎜Hg(D 등급)이었다.

고 찰

본 연구는 서울형 인공각막의 디자인과 재질의 임상적, 물리적 안정성, 조직적합성과 인공각막 이식 후 양막이식이 임상적, 물리적 안정성 미치는 영향을 연구하였다.

임상적 안정성과 관련해서 주변조직의 염증을 동반한 연화작용(melting)과 후섬유막 증식, 망막박리 여부를 관찰하고 평가하였으며, 물리적 안정성은 압력부하 실험을 통해서 평가하였다.

조직적합성의 향상을 위해 기존의 모델과 비교하여 각막주머니의 형성, 각막주머니에 삽입되는 지지부(skirt)의 재질로 Gore-tex® 및 polyurethane 물질의 채택 그리고 양막이식의 도입을 특징으로 하고 있다[12]. 서울형 인공각막의 디자인은 실린더형 광학부의 이중고정방식을 특징으로 하고 있는데 이는 수여각막의 각막주머니에 지지부를 고정하고 공막에 prolene haptic을 고정하는 방법으로 실린더 모양의 광학부는 물리적 장벽의 역할을 해서 후섬유막의 형성이 억제되었으며, 이 점은 디스크 타입 인공각막에서 보았던 후섬유막의 증식으로 인한 인공각막의 이탈을 해결할 수 있는 방법이며 또한 이중고정방식을 채택하여 물리적 안정성을 보완할 수 있었다고 생각된다. 현재까지 개발된 인공각막 중 최근까지 활발히 연구되고 있는 design은 크게 두 가지 형태로 나눌 수 있는데 첫째는 collar button type이며, 둘째는 nut and bolt type 이다. Collar button type은 인공각막의 지지부위가 각막 전면 또는 후면에 있는 것으로 외관상의 모양이 좋지 않고 합병증이 높아 현재 거의 사용하지 않는다[13]. Nut and bolt type은 인공각막의 광학부와 지지부로 구성되어 있고 지지부가 각막 내로 들어가 초기의 모델들은 앞 뒤 지지판 사이의 각막의 괴사의 문제로 인한 빈번한 탈락을 극복하지 못해서[14] 수여각막과 지지부사이의 생체접합을 유발시키는 것이 현재까지의 인공각막연구의 주된 과제중의 하나이다. 서울형 인공각막은 두 가지 인공각막의 합성형태라고 할 수 있다.

서울형 인공각막의 임상적 양상은 2개월 후에 완전히 덮었던 접합부는 약 1개월 정도 유지하다가 어느 한 부분의 Gore-tex® 또는 polyurethane으로 이루어진 지지부의 노출이 시작되어 결막의 연화작용과 염증반응으로 노출되는 지지부의 범위가 확대되는 양상이 관찰되는데, 이런 후반부의 염증반응의 일차 원인은 각막주머니의 전부 각막과 인공각막과 수여각막 사이의 접합부를 보호해 주던 결막의 연화작용으로 생각된다. 결막의 연화 작용의 원인으로 생각해 볼 수 있는 점은 눈물 층의 불안정 형성으로 추측된다. Gore-tex® 또는 polyurethane 지지부의 두께는 약 0.4㎜ 이므로 이것이 각막주머니 속으로 삽입되면 지지부가 삽입된 부분의 전부 각막이 융기되어 정상적으로 눈꺼풀의 깜박거림으로 인한 눈물

층의 공급이 융기된 부분에서는 불안정하게 되므로 융기된 부분에서 건조작용(desiccation)이 생기게 되고 이것으로 인해 결막이 연화작용이 시작되고 진행하여 각막주머니의 전부각막의 연화작용으로 인해 지지부의 노출이 증가된다고 생각된다. 이 점은 인공각막의 장기간 유지와 안정성의 확보에 있어 매우 중요하다. 해결방안으로 고려해 볼 수 있는 것은 인공각막의 표면에 안정된 눈물층의 형성방법의 고안이며, 현재 사용하고 있는 Gore-tex®와 polyurethane 지지부의 두께를 조절하여 융기된 표면의 높이를 줄이는 물리적인 방법과 인공각막 표면의 화학적 성질을 변화시켜 눈물층의 형성을 안정되게 하는 화학적 방법이 있을 것으로 생각된다. 현재 사용하고 있는 Gore-tex® 지지부의 두께는 0.4㎜ 인데 이것을 강도를 줄이지 않으면서 두께를 반 이상 줄이면 연접부의 융기의 정도가 훨씬 감소하여 눈물층의 불안정화도 많이 감소하고 이로 인한 결막의 연화작용도 감소하리라고 생각된다. 또한 화학적 방법으로는 인공각막 광학부의 화학적 성질을 좀더 친수성을 띠게 표면처리 하여, 인공각막위로 형성된 눈물층이 지속적으로 안정된 상태로 유지되는 방법을 생각해 볼 수 있겠다.

인공각막의 물리적 안정성에 관한 압력부하실험의 결과는 대체로 만족할 만하다. 인공각막 이식 후 2개월 후에 관찰된 실험 토끼는 인공각막과 수여각막사이를 덮고 있던 결막이 일정부분 연화작용이 시작된 상태에도 불구하고, 50㎜Hg와 100㎜Hg의 압력에서 1시간 이상 견디어 냈고, 200㎜Hg에서도 약 10분간 견딘 것으로 보아 서울형 인공각막 모델의 물리적 안정성은 잠정적으로 우수하다고 생각된다. 임상에서 안압이 100㎜Hg 이상 올라가는 경우는 거의 없으며, 또한 실험토끼의 결막이 부분적으로 연화작용으로 인해 노출이 있었는데도 위와 같은 안정성을 보인 것으로 보아 앞으로 인공각막의 재질과 디자인 및 수술방법의 개선으로 결막의 증식이 완전해진다면 훨씬 더 뛰어난 물리적 안정성을 얻을 것으로 예상된다.

인공각막 이식 후 안구를 적출 하여 얻은 조직검사 상 염증의 양상이 수여각막의 각막주머니 안쪽과 지지부 연접부위에서 가장 심한 양상을 보였고, 각막 주머니의 전부 각막 조직에서도 비교적 심한 염증 반응을 보였다. 연접부의 염증 작용이 심한 원인으로 생각해 볼 수 있는 것은 Gore-tex®와 polyurethane의 조직적합성이다. Gore-tex®와 polyurethane은 비교적 생체적합성이 좋은 것으로 알려져 있지만[15-18], 아직도 어느 정도의 이물반응(foreign body reaction)을 일으키기 때문에 비교적 심한 염증반응의 소견을 보인 것으로 생각된다. 각막주머니의 전부 각막의 염증이 비교적 심한 양상을 보인 소견은 눈물 층의 불안정화로 인한 각막 전부의 건조현상(desiccation)으로부터 시작된 일종의 이차적 염증반응 때문으로 생각된다. 이식된 인공각막 위로의 양막이식은 수여각막의 건조현상을 방지하는 역할을 수행하지만 이것이 서서히 흡수되고 난 후에 수여각막의 표면은 심한 건조 현상으로 각막염이 생기고 이것이 지속되는 것으로 생각된다. 이것은 각막주머니의 후부 각막이 비교적 적은 염증반응을 보인 것으로 보아 더욱 그 가능성-전부 각막조직의 건조작용에 의한 이차적 염증-이 높은 것으로 생각된다. 또한 염증반응이 높은 곳(인공각막과 수여각막의 연접부와 전부 각막)에서는 교원질(collagen)의 분포 형태와 세포외 기질의 분포도 정상과는 다른 형태를 보였고, 교원질 염색에서도, 정상적인 소견을 보이지 않았다. 반면에 후부각막에는 비교적 정상에 가까운 형태의 교원질과 세포외 기질을 보인 것으로 보아 연접부와 전부 각막의 염증으로 인한 정상각막 조직이 파괴되고 염증이 지속되어 각막세포와 섬유모세포의 침윤이 지연되고 이로 인해 교원질의 생성과 세포외 기질의 침착이 이루어지지 않은 것으로 생각된다.

전자현미경소견에서는 지지부인 Gore-tex®의 실질과 소공에서 염증세포의 침윤이 관찰되었으나 소공내로 섬유모세포의 침윤과 교원질이 침착 되지 않은 소견은 수여각막에서의 지속적인 염증작용과 관련이 있을 것으로 생각된다. 정상각막의 창상치유반응은 염증세포의 침윤으로 시작되고 염증이 소멸되면서 혈관조직의 증식과 함께 섬유모세포가 침윤되고, 교원질이 분비되면서 치유반응이 종결되게 된다[19]. 염증세포가 소멸되어야 섬유모세포의 출현이 이루어지는데, 본 연구에서 지속적인 염증반응으로 인해 섬유모세포의 침윤이 이루어지지 않고, 따라서 교원질의 침착이 Gore-tex® 소공내로 이루어지지 않은 것으로 생각된다.

인공각막 이식 후 양막이식의 횟수를 변화시켜 양막이식이 인공각막의 임상적, 물리적 안정성에 미치는 영향을 조사하였다. 결과에서 전술했듯이 인공각막 이식 직후, 이식후 양막이 흡수되는 2주 후 2번을 이식한 군에서, 수술후 1번 양막을 이식한 군과 이식을 하지 않은 군에 비해 임상적, 물리적으로 좀더 안정된 결과를 보였다. 이것은 인공각막 이식수술 자체가 이식 초기에 심한 염증반응을 일으키고, 초기의 심한 염증반응 억제에 양막의 역할이 크게 작용한다는 사실을 시사한다. 또한 인공각막 이식 후 위에서 전술했듯이 수술초기에 창상치유 반응에 중요한 눈물층의 유지에 양막이식이 도움이 되었다고 생각한다.

현재까지 알려진 바로 수여각막의 영구적인 임상적, 물리적 안정성을 유지하는 방법으로는 염증의 정도를 상쇄할 수 있는 각막주머니에 삽입되는 지지부(skirt)로 혈관 증식이 선행되어 주변 각막조직의 증식을 통한 인공각막과 수여각막조직의 융화이다. 인공각막 이식 후 혈관증식이 시작되어 안정된 혈관이 형성되기까지 이식 초기 심한 염증반응을 억제시키는 보조적인 방법이 필요하다. 인공각막 이식 후 수술 직후(약 1~2주)에는 수술자체가 비교적 커다란 창상임에도 불구하고 염증작용이 현저하지 않았다. 약 2주 후부터 항생제 점안과 필요한 경우 항생제와 항염증 작용이 있는 스테로이드의 결막하 주사에도 불구하고 수술 자체가 큰 창상임을 감안해도 비교적 큰 염증작용을 일으켰다. 수술 2주 후에 염증이 심해지는 시점은 수술후 이식한 양막의 흡수 시기와 일치한다. 이런 염증의 패턴은 양막이 수술 초기에 염증 억제효과를 가지고 있음을 시사한다. 여기서 양막이 염증을 억제하는 이유를 두 가지로 생각해 볼 수 있다. 첫째는 각막주머니의 전부 각막에 대한 양막의 물리적 보호작용이라고 생각한다. 인공각막 이식후의 수여각막의 상태는 염증에 대해 매우 약할 수밖에 없는 상태가 된다. 왜냐하면 주변부 각막의 두께는 1㎜가 채 안되며 이것을 층상절개(lamellar dissection)를 해서 생기는 전부각막의 두께는 0.5㎜가 못되는 상태이며, 전부 각막은 각막주머니 속의 지지부 물질(Gore-tex®와 polyurethane)의 삽입으로 방수에서 영양 공급이 차단되고 수술후 눈물층이 불안정하기 때문에 눈물층으로부터 영양공급과 wetting 효과를 적게 받으며, 또한 실험토끼의 눈꺼풀 움직임도 약한 상태이기 때문에 전부 각막에 영양분 결핍과 건조현상으로 인해 이식 초기의 염증반응이 커지게 되는데 이때 이식된 양막은 전부각막의 물리적 보호 장벽의 역할을 하고 눈물을 유지하는 기능을 하기 때문에 인공각막 이식초기의 염증을 억제하는 효과가 있을 것으로 생각된다. 양막의 두 번째 역할은 창상 치유에 도움을 주는 요소들을 인공각막과 수여각막 사이의 창상에 공급하는 역할을 한다. 양막은 상피세포, 기저막, 간질로 구성되어 있는데 기저막과 간질에는 type IV collagen, fibronectin, laminin, integrin 등 상피세포의 이동, 증식, 유착을 촉진하는 성분이 풍부한 조직이다[20]. 인간의 양막을 토끼의 실험적 각막화상모델에 이식하여 각막표면 재건에 부분적으로 성공한 보고도 있다[21,22].

위에서 열거한 양막의 두 가지 역할로 인공각막 이식 초기에 양막이식은 염증의 정도를 줄이게 되지만 양막이 흡수되거나 탈락한 이후에 염증의 정도가 심해지게 된다. 첫 번째 이식된 양막이 흡수되는 2주 후에 염증의 정도가 다시 증가하는 것을 억제하는 방법이 필요하며, 이 방법에는 양막의 반복적인 이식과 인공각막 이식시 수여안의 결막을 이식하는 방법이 있다. 과거에 인공각막 이식 후, 초기의 인공각막과 수여각막 사이의 접합부를 물리적으로 보호하고, 초기 창상치유기간 동안 생체접합부의 결합을 향상시키기 위해 결막등을 덮어주었다[7,13]. 인공각막 시술시 수여안의 결막을 이식하면 양막에 비해 지속적인 유지가 가능하지만 실제 인공각막이식을 필요로 하는 환자에서 결막도 손상이 되어 있는 경우가 많고 결막이 수축되어 오히려 조직의 melting을 촉진시킬 가능성도 있어[23] 좋은 방법이 아니라고 생각된다. 반복적인 양막이식은 과정이 복잡하지만 언제든지 이식할 양막을 구하기가 용이하고 본 연구에서도 임상적, 물리적으로 좋은 경향을 보였으므로 인공각막 이식 후 초반부의 염증을 억제해서 장기적인 인공각막의 임상적, 물리적 안정성을 유지하는 방법으로 반복적인 양막 이식은 적합하다고 생각된다.

PMMA로 만든 실린더 모양의 optic과 Gore-tex®, 또는 polyurethane의 지지부, prolene으로 만든 haptic으로 이루어진 서울형 인공각막은

인공각막 후면의 섬유막의 형성이나, 인공각막의 이탈, 망막박리와 같은 후안부의 합병증은 발생하지 않아 비교적 안정된 임상적 양상을 보였으나 인공각막 접합부의 지속적인 염증반응은 해결해야 할 문제이며, 물리적 안정성은 비교적 좋은 결과를 얻었다. 인공각막 이식 후 반복적인 양막이식은 초기 창상치유반응에 도움이 되는 방법으로 생각된다. 그러나 이식된 인공각막을 장기간 유지하기 위해서는 임상적 물리적 안정성이 필수적이며 충분한 임상적, 물리적 안정성을 얻기 위해서는 수여각막과 지지부 사이의 지속적인 염증반응의 해결과 접합성을 향상시킬 수 있는 우수한 인공각막 모델의 개발과 생체적합성을 향상시킬 수 있는 인공각막의 재질의 발견, 그리고 이식된 인공각막의 이물반응(foreign body reaction)과 동반되는 염증반응을 줄이기 위해 이식후의 적절한 처치법에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것이다.

REFERENCES

1) Macpherson DG, Anderson MJ : *Keratoplasty with acrylic implant. Br Med J* 1:330-353, 1953.
2) Cardona H : *Keratoprosthesis with a plastic fiber meshwork supporting plate. Am J Ophthalmol* 164:228-233, 1967.
3) Cardona H : *Mushroom transcorneal keratoprosthesis(bolt and nut). Am J Ophthalmol* 68:604-612, 1969
4) Strampelli B, Marchi V : *Osteo-odonto-keratoprosthesis. Ann Ottalmol Clin Ocul* 96:1-57, 1970.
5) Polack FM, Heimke G : *Ceramic keratoprosthesis. Ophthalmology* 87:693-698, 1980.
6) Legeais JM, Rossi C, Renard G, et al : *A new fluorocarbon for keratoprosthesis. Cornea* 1992, 11:538-545, 1992.
7) Legeais JM, Renard G, Parel JM : *Expanded fluorocarbon for keratoprosthesis cellular ingrowth and transparency. Exp Eye Res* 58:41-52, 1994.
8) Legeais JM, Renard G, Parel JM : *Keratoprosthesis with biocolonizable microporous fluorocarbon haptic; Preliminary results in a 24-patient study. Arch Ophthalmol* 113:757-763, 1995.
9) Kim HC : *The experimental Seoul-type keratoprosthesis. Korean J Ophthalmol* 6:55, 1992.
10) 이진학, 함돈일, 이종훈 : Expanded PTFE(Gore-Tex®)를 이용한 실험적 인공각막. 한안지. 1992, 33:555-563.
11) 최웅산, 김희영, 위원량, 이진학 : 토끼에서 실험적 인공각막 이식술 후 발생한 이식편 후면 섬유막증식. 한안지 38:1361-1375, 1997.
12) 최동규, 최용석, 위원량, 이진학 : 서울형 인공각막, 내측공막 고정방식을 이용한 새로운 인공각막의 개발. 대한 안과학회지 38:1362, 1997.
13) Aquavella JV, Rao GN, Brown AC : *Keratoprosthesis; Results, complications and management. Ophthalmology* 89:655-660, 1982.
14) Rao GN, Blatt HL, Aquavella JV : *Results of keratoprosthesis. Am J Ophthalmol* 88:190-204, 1979.
15) Caldwell DR : *The soft keratoprosthesis. Trans Am Ophthalmol Soc* 95:751-802, 1997.
16) Maas CS, Eriksson T : *Evaluation of expanded polytetrafluoroethylene as a soft-tissue filling substance: an analysis of design-related implant behavior using the porcine skin model. Plast Reconstr Surg April* 101(5):1307-1314, 1998.
17) Jongebloed WL, van der Veen G : *New material for low-cost intraocular lenses. Biomaterials* Aug;15(10):766-773, 1994.
18) Zhang Z : *Chemical and morphological analysis of explanted polyurethane vascular prostheses: the challenge of removing fixed adhering tissue. Biomaterials* Oct;17(19):1843-1848, 1996.
19) Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ : *Cornea, 1st ed, St. Luis, Mosby,* 1997, pp. 165-176.
20) Trelford JD, Trelford-Sauder M : *The amnion in surgery, past and present. Am J Obstetr Gynecol* 134:833-841, 1979.
21) Kim JC, Tseng SCG : *The effects on inhibition of corneal neovascularization after human amniotic membrane transplantation in severely damaged rabbit cornea. Korean J Ophthalmol* 9:32-46, 1995.
22) Kim JC, Tseng SCG : *Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit cornea. Cornea* 14:473-480, 1995.
23) Cardona H : *Keratoprosthesis; Acrylic optical cylinder with supporting intralamellar plate. Am J Ophthalmol* 54:284-294,1962.