영남의대학술지 제8권 제1호
The Yeungnam Univ. Med. J.
Vol. 8. No. 1, June 1991.

증식성 초자체망막증의 실험적 유발

영남대학교 의과대학 안과학교실

박영훈 · 이봉환 · 한덕기

서 론

망막박리는 증가하고 있는 산업재해, 교통사고 등의 외상, 고도근시, 망막변성 및 당뇨병 등이 원인이 되며 실명의 중요한 원인중의 하나이다[1,2].

망막박리의 치료에서 가장 장애가 되는 요소중의 하나인 증식성 초자체망막증은 망막박리 수술의 주된 원인이다[3,4].

일반적으로 증식성 초자체 망막증은 망막색소상피[5,6], 교세포[7], 섬유아세포[8]등이 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있고 또 증식성 초자체 망막증을 억제하는 방법에 대한 연구도 진행되고 있다.

가토를 이용하여 증식성 초자체 망막증을 유발하기 위하여 시행된 여러 실험중 Gonvers와 Thresher[9]는 초자체 절제술후 섬유아세포수를 50,000으로 주입하는 경우 28일내 100%에서 망막박리를 유발할 수 있다고 보고 하였고, personal communication으로 50,000이하의 주입군에서도 증식성 초자체 망막증의 유발은 가능 하다고 하였다.

저자들은 유색토끼를 이용하여 여러 조건하에서의 증식성 초자체 망막증의 발생의 정도와 경과 및 조직소견을 관찰하여 향후 증식성 초자체 망막증에 관한 연구에 도움을 주고자 본 실험을 시행하게 되었다.

연구 재료 및 방법

체중 2.5~3.5Kg의 유색가토 12마리 24안을 사용하였다.

마취는 Ketamine hydrochloride로 Kg당 1ml (50mg/ml)를 근육주사하고 0.5% proparacaine hydrochloride를 점안하여 시행하고 0.25% tropicamide 및 2.5% phenylephrine을 점안하여 산동 시켰다. 실험동물은 양안 모두 각공막 윤부에서 상이측으로 5~6mm 후방에 결막을 절개한 후 공막에 8-0 black silk로 전구봉합을 넣은 후 봉합사를 중심으로 간접검안경상 경한 냉응고반응이 나타날 때까지 냉응고술을 시행하였다.

냉응고술 시행 2주일 후 유색가토의 우안 초자체강내에 0.5cc의 100% perfluoropropane gas를 30gauge주사침을 이용하여 간접검안경 조절하에 주입하고 이에 따른 안압상승을 막기위해 전방천자를 시행하여 정상안압을 유지시켰으며 좌안은 가스를 주입하지 않은 상태로 대조군으로 하였다.

Gas 주입 1개월 후 우안의 초자체의 정상적 구조가 파괴되고 액화된 것을 확인하고 배양된 가토의 동종섬유아세포를, 1군은 양안 모두 세포수가 5.0×10^4cells/0.3ml, 2군은 1.0×10^5cells/0.3ml, 3군은 1.5×10^5cells/0.3ml의 세포를 냉응고술을 시행한 부위의 공막을 통하여 안저 후극부 가까이에 27 G 주사침을 이용하여 망막의

손상을 유의하며 서서히 주입하였다.

동종 섬유아세포의 배양 및 분리 : 유색토끼를 염산케타민 근주(20mg/kg)로 전신마취 시킨 후에 둔부의 털을 깎고 70% isopropyl alcohol로 피부를 깨끗이 소독하였으며 1% 염산리도카인으로 다시 국소마취한 다음 외과용 메스로 진피직하부까지 절개하여 배양할 피부조직을 얻었다. 얻어진 조직을 약 1mm의 입방체로 잘게 썬후 조직배양액(Dulbecco's Modified Eagle Medium+HEPES buffer+10% fetal bovine serum+penicillin(50units/ml), streptomycin(50 μg/ml), amphotericin B(2.5μg/ml)에 넣어 37℃, 5% CO_2의 조건하에서 배양하였으며 섬유아세포가 배양기 바닥에 고르게 부착할때까지 주2회씩 배양액을 갈아 주었다. 이렇게 배양된 섬유아세포는 PBS(-)로 두번 씻은 다음 0.25% trypsin과 0.02% ethylenediamine tetra-acetic acid를 첨가하여 섬유아세포를 분리시켰으며 다시 5분간 원심분리(800rpm/min)하여 세포를 수확하였다. 수확된 섬유아세포는 PBS로 재현탁 시킨후 앞에서와 동일한 방법으로 4회 계대배양 하였다. 초자체강내에 주입시는 혈구계를 이용하여 섬유아세포의 세포수가 5.0×10^4, 1.0×10^5, 1.5×10^5가 되도록 하였으며 trypan blue로 exclusion test를 시행하여 섬유아세포의 생육성(viability)이 99%이상임을 확인 하였다.

실험방법 : I군은 4마리 가토의 양안 모두를 산동시키고 ketamine hydrochloride로 마취후 배양된 동종 섬유아세포 현탁액 0.3ml(세포수 : 5.0×10^4)를 냉응고 부위를 통하여 양안 초자체강내에 주입하였다. II군은 I군과 동일한 방법으로 산동 및 마취후 동종 섬유아세포 현탄액 0.3ml(세포수 : 1.0×10^5)를 투입하였다. III군 역시 I군과 같은 방법으로 산동 및 마취후 동종 섬유아세포 0.3ml(세포수 : 1.5×10^5)를 주입하였다. 동종섬유아세포를 초자체강내 주입시 주입한 주사침이 망막에 손상을 일으키지 않도록 조심하였고 섬유아세포의 손상을 최소화하기 위해 천천히 주입하였으며 주사침을 제거할때 초자체탈출을 방지하기 위하여 면봉으로 주입구를 압박하였다. 세포주입후 안압이 상승한 경우는 전방천자를 시행하여 정상안압을 유지시켰다.

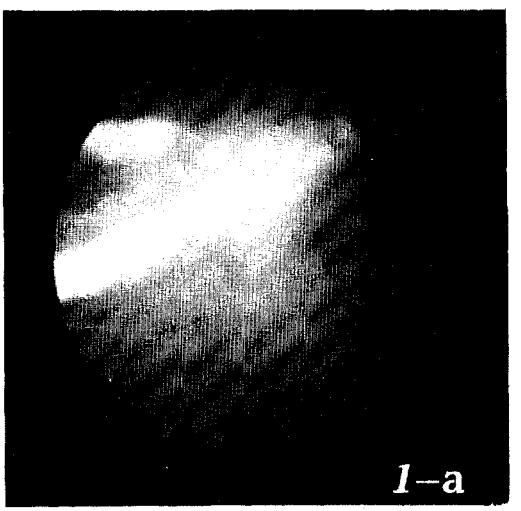
실험가토는 술전 및 냉응고술후에 세극등검사, 도상검안경 및 망막 전위도 검사를 시행하여 망막의 이상이 없음을 확인하였고 실험 후 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28일째에 도상검안경을 사용하여 안저검사 후 안저촬영을 하였다. 실험후 각군에서 1주일째 1마리(총 3마리, 6안), 2주일째 1마리(총 3마리, 6안), 그리고 4주일때 나머지 2마리(총 6마리, 12안)씩 안구를 적출하여 병리조직학적 소견을 관찰하였다. 적출된 안구는 각공막윤부를 통한 절개로 전반부를 제거한뒤 즉시 2.5% glutaraldehyde용액(0.1M, phosphate buffer, pH 7.4, 4℃)에 2시간동안 전고정하였으며 다시 1% OsO_4용액(0.1M, phosphate buffer, pH 7.4, 실온)에 2시간동안 후고정하였다. 고정된 조직은 계열 ethanol용액으로 탈수하여 propyrene oxide로 침투시켰다. 그후 epon혼합물로 포매하였고 관찰할 부위를 1mm의 두께로 박절한 후 alkaline toluidine blue로 염색해서 광학현미경으로 관찰하였다. 전자현미경으로 관찰할 부위가 선정되면 diatome knife를 사용, Porter-Blum MT-2B ultramicrotome으로 두께 40~60nm로 초박절한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 한 다음 Jeol JEM-100CX 전자 현미경으로 가속전압 80 KV에서 관찰하였다.

성 적

1. 안저검사소견

1) 대조군

동종 섬유아세포수를 5만으로 주입한 1군의 경우 주입직후 전안에서 경계가 불분명한 초자체혼탁이 발생하였으며 주입 1일 후 4안중 1안에서 초자체 혼탁의 정도가 감소하였다. 3일경과 후 비교적 경계가 분명한 초자체 인대와 초자체막이 형성되었으며 이 막과 인대는 초자체 뒷쪽에 분포하며 유수신경섬유 혹은 시신경유두와 연결되었다(Fig. 1—a). 주입 7일째 4안에서 모두 초자체인대가 존재하였으나 망막의 박리나 견인은 발견되지 않았으며 초자체혼탁은 많이 감소되어 있었으며 이 중 1안에 대해 안구적출을 시행하였다.



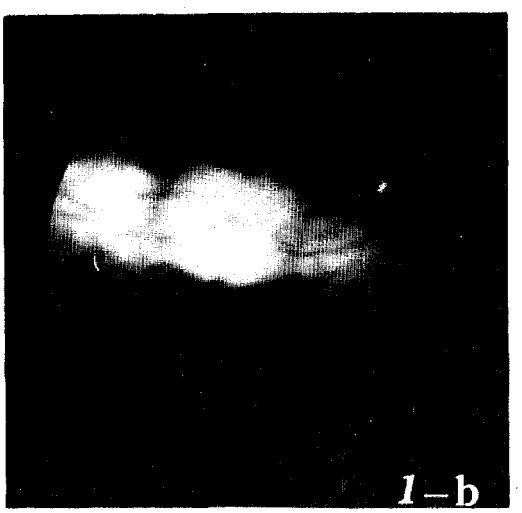


Fig. 1—a. 3 days after injection of homologous fibroblast(5.0×10^4/0.3ml), vitreous strands attached to medullary ray or optic disc(control group).

Fig. 1—b. 14 days after injection, increased vascular tortuosity on medullary ray(control group).

주입 후 14일째는 3안중 2안에서 시신경유두 주변의 혈관의 tortuosity가 증가되었으며(Fig. 1—b) 이 중 1안은 안구적출을 시행하였다. 21일 및 28일째도 2안에서 초자체인대 및 혈관의 tortuosity가 다소 증가하였을 뿐 망막박리는 2안에서 모두 발견되지 않았다.

동종 섬유아세포 10만을 주입한 2군의 경우에서는 주입직후 4안 모두에서 경계가 불분명한 초자체 혼탁이 발생하였고 1일째에는 그 정도가 증가하였다. 3일째 전반적 초자체 혼탁은 다소 감소하였으나 시신경유두 및 유수신경섬유 하부에 증가된 농도의 국소적 초자체 혼탁이 발생하였고 7일째에는 4안에서 모두 유수신경섬유의 혈관주행이 tortuous해지고 유수신경섬유 및 시신경 유두에 부착된 초자체 인대가 발생하였으며 1안은 안구 적출을 시행하였다. 14일째에는 시신경유두와 유수신경섬유의 혈관주행의 tortuosity가 증가되며 주변부의 초자체혼탁 및 초자체인대가 조금 더 두터워졌으며 1안은 안구적출을 시행하였다. 28일째에도 망막박리는 나머지 2안 모두에서 발견되지 않았다.

15만을 주입한 3군의 경우 주입직후 전안에서 모두 경계가 불분명한 초자체 혼탁이 발생하였으며 1일째에는 초자체혼탁의 정도가 다소 증가하였으며 4안중 2안에서 초자체인대가 형성되었고 이 중 1안은 유수신경섬유와 연결되고 또 다른 1안은 시신경유두 하부에 존재하였다. 3일째에는 1안에서 초자체 혼탁의 정도가 감소되었으나 나머지 3안은 혼탁이 증가되었으며 그 중 2안에서 초자체인대가 두터워졌으며 5일째 초자체인대가 두터워진 1안에서 유수신경섬유

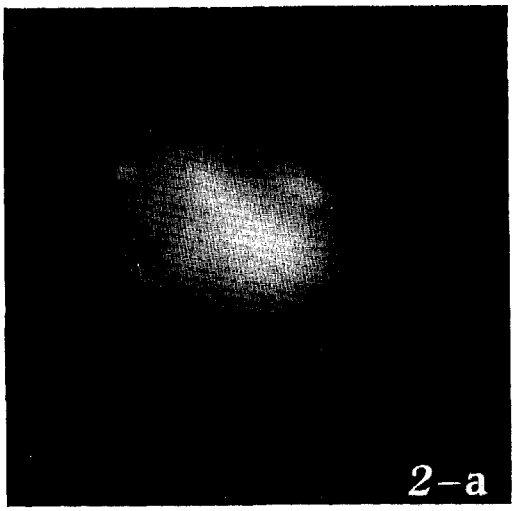


Fig. 2-a. 5 days after injection of homologus fibroblast(1.5×10^5/0.3ml), traction with focal retinal detachment was developed on the medullary ray(control group).

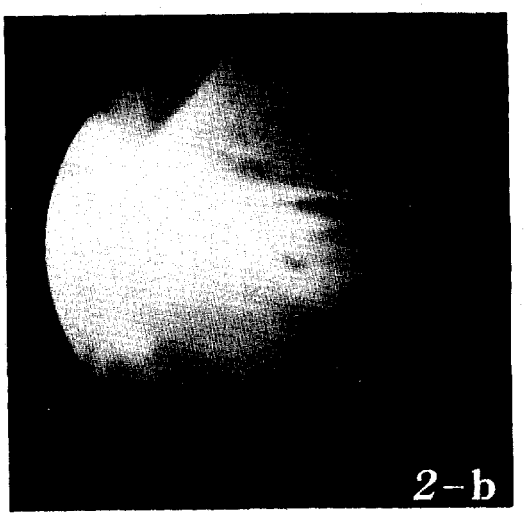


Fig. 2-b. 10 days after injection, extensive total retinal detachment was developed(control group).

하부의 망막박리가 발생하였고(Fig. 2-a) 3안에서는 혈관 주행의 tortuosity가 증가한 양상이 7일째에도 계속되었으며 이 중 1안은 안구적출을 시행하였다.

10일째 3안중 1안의 망막박리가 전체로 확대되었으며(Fig. 2-b) 2안에서 유수신경섬유의 견인이 증가하였고 14일째 이 중 1안에 안구적출을 시행하였다.

21일째에도 2안에서 유수신경섬유의 견인은 있었으나 망막박리는 발생하지 않았으며 28일째에도 유사한 소견을 관찰할 수 있었다.

2) 실험군

동종섬유아세포수를 5만 주입한 1군의 경우 주입직후 모두 경계가 불분명한 초자체혼탁이 있었으며 1일째에는 초자체혼탁이 전안에서 증가된 양상을 보이며 그 중 2안에서 비교적 경계가 분명한 초자체인대가 형성되었다. 이후 초자체인대는 계속 뒤쪽으로 신장되었으나 망막견인대를 형성하지는 않았으며 3일째에는 초자체혼탁이 비교적 감소하는 양상을 보였다. 5일째에는 초자체혼탁이 감소된 2안도 약한 인대가 유수신경섬유와 연결되었으며 초자체인대가 형성된 2안의 경우 초자체인대는 유수신경섬유 혹은 시신경유두와 연결되었으며 2안에서 망막견인대를 형성하였다. 1안에서는 유수신경섬유의 국소망막박리가 발생하였다(Fig. 3-a). 7일째 4안중 1안에서 유수신경섬유와 시신경유두주변의 광범위 망막박리가 관찰되었으며(Fig. 3-b) 나머지 2안은 망막견인대의 강화로 인한 vascular tortuosity는 증가하였으나 망막박리는 발견되지 않았다. 4안중 1안은 안구적출을 시행하였다. 14일째에는 망막박리가 일어나지 않은 2안중 1안에서 유수 신경섬유의 국소적 망막박리가 있었으며 21일 경과 후 다른 1안에서 유수신경섬유의 부분적 박리를 관찰할 수 있었으며 28일 경과후까지 다른 소견은 관찰되지 않았다.

10만의 동종섬유아세포를 주입한 2군의 경우 주입직후 4안에서 모두 경계가 불분명한 초자체혼탁을 관찰할 수 있었으며 1일째는 2안에서 두터운 초자체혼탁이 초자체강내의 하단에 발생하였으며 혼탁은 다소 감소되었다. 3일째 2

안에서 비교적 경계가 분명한 초자체막을 형성하였으며 1안에서는 국소망막박리가 발생하였고 5일째는 박리된 망막주위의 초자체는 혼탁이 감소하였으며 3안중 2안에서 유수신경섬유의 박리가 관찰되었다. 7일째는 3안에서 유수신경섬유부위의 망막박리가 있었으며 그 중 1안에서는 망막박리의 정도가 2 quadrants로 확대되었다. 14일째는 2 quadrants의 박리가 3 quadrants로 진전되었고 유수신경섬유부위에서만 망막의 박리가 있었던 경우는 망막박리의 정도가 더욱 진행하지는 않았으나 혈관의 굴곡이 더욱 심하여졌으며 망막열공이 있는 가장자리는 roll되었다. 21일째에도 14일 경과후와 큰 차이는 없었으나 섬유성 인대의 형성이 더 진행되었으며 혈관주행의 굴곡이 더욱 심하여졌다. 28일 경과후는 박리된 망막의 정도가 더욱 bullous해졌으나(Fig. 3-c) 나머지 안에서 망막박리의 정도가 더 진행되지는 않았다.

15만의 동종섬유아세포를 주입한 3군의 경우 주입직후 경계가 불분명한 초자체혼탁이 발생하였으며 1일째는 2안에서 초자체인대가 형성되었다. 3일째에는 4안 모두에서 유수신경섬유 및 시신경유두와 연결되는 초자체인대 및 초자체막 그리고 망막견인대가 형성되었으며 초자체혼탁의 정도는 다소 감소하였으나 여전히 존재하였으며 4안중 2안에서 유수신경섬유 및 시신경유두의 한쪽면을 포함하는 망막박리가 발생하였다.

5일째 2안의 망막박리는 광범위 견인성 망막박리로 진행되었으며 1안에서는 유수신경섬유부위의 망막박리가 발생하였고 나머지 1안은 초자체인대 및 막의 형성은 있었으나 망막박리는 발생하지 않았으며 초자체혼탁은 많이 감소된 양상을 보였다. 7일째는 유수신경섬유부의 망막박리가 있었던 1안에서 2 quadrants의 망막박리로 진행되었고 나머지 1안에서의 초자체혼탁은 다소 엷어졌으나 유수신경섬유의 견인력은 다소 증가된 상태였다. 이중 1안은 안구적출을 시행하였다. 10일째 3안 중 2안에서 견인성 망막박리가 있었으며 그 중 1안은 열공을 동반한 전망막박리였으며 1안은 3 quadrants의

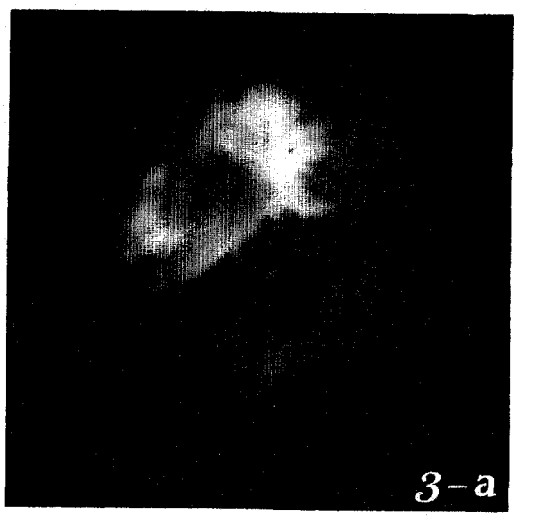


Fig. 3-a. 5 days after injection of homologus fibroblast(5.0×10^4/0.3ml), traction with focal retinal detachment on the medullary ray was developed(experimental group).

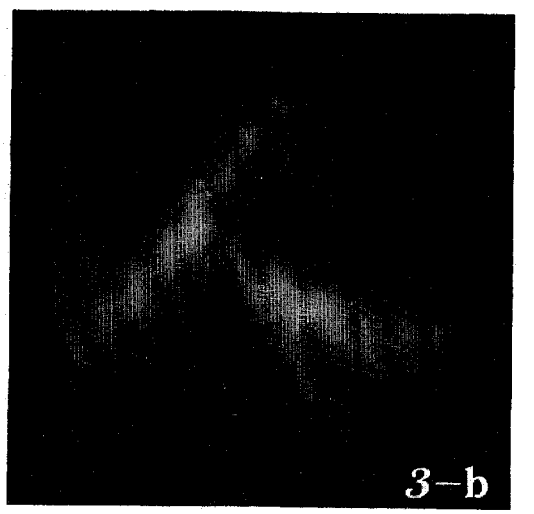


Fig. 3-b. 7 days after injection, medullary ray and surrounding retina was elevated(experimental group).

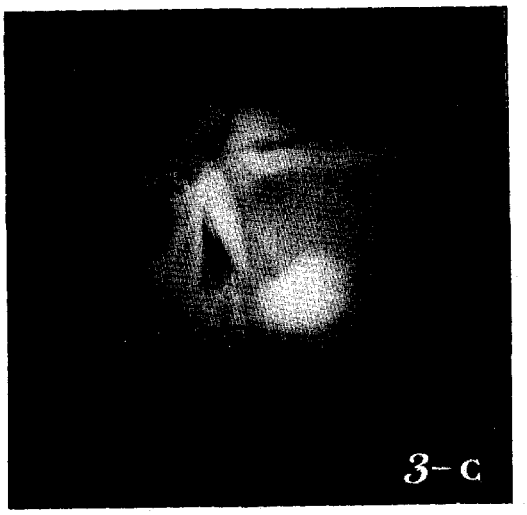


Fig. 3-c. 10 days after injection of homologous fibroblast(1.0×10^5/0.3ml), totally detached retina became more bullous(experimental group).

망막박리가 있었고 1안의 초자체혼탁은 현저히 감소하였으나 망막의 박리는 발견되지 않았고 유수신경섬유의 혈관주행의 굴곡은 더욱 증가하였다. 14일째 2안에서 열공성 망막박리가 있었으며 초자체혼탁이 있었던 1안에서는 시간의 경과에 따른 변화는 보이지 않았다. 21일째는 1안의 초자체막은 띠양상으로 남았으며 유수신경섬유와 연결을 가지며 다소의 견인을 보였다. 28일째에도 시신경유두주변의 유수신경섬유의 융기와 혈관주행의 굴곡이 다소 증가되었으나 망막의 박리는 보이지 않았다.

2. 광학현미경 소견

1) 대조군

동종섬유아세포를 10만으로 주입한 2군의 경우 1주 경과후에 섬유성 띠의 형성이 있었고 띠의 주변부는 원형 혹은 타원형의 섬유아세포로, 핵부위는 방추형의 섬유세포로 구성되어 있었고 2주 경과후에는 섬유성 띠가 방추형의 섬유아세포로 구성되어 있었으며 matrical collagen fiber가 풍부하였으며 4주 경과후에는 섬유성띠가 더욱 조밀해진 것을 볼 수 있었다.

2) 실험군

동종섬유아세포를 10만으로 주입한 2군의 1주째 소견은 loose한 섬유성 띠가 원형 혹은 타원형의 섬유아세포로 구성되어 있었으며 15만으로 주입한 경우에서는 두터운 섬유성 띠가 형성되어 있었다. 2주경과군은 방추형의 섬유아세포와 산재한 색소상피세포로 섬유성 띠가 구성되어 있었고 matrical collagen fiber가 풍부하였으며 4주경과한 경우에는 조밀한 섬유성 띠가 형성되어 있었다. 전체적으로 가스를 주입한 군과 많은 수의 동종섬유아세포를 주입한 군에서 collagen의 양과 cellularity가 증가되어 있었다.

3. 전자현미경 소견

1) 대조군

동종 섬유아세포를 10만 및 15만으로 주입후 1주 경과군에서는 young fibroblast가 많은 세포돌기를 가지고 있었으며 intercellular collagen fiber가 loose하게 분포하였으며(Fig. 4-a), 2주 경과군에서는 young fibroblast가 원형 혹은 방추형의 모양을 이루고 있었으며 collagen fiber가

Fig. 4-a. 7 days after intravitreal injection of homologous fibroblast(cell count 1.0×10^5~1.5×10^5/0.3ml), the young fibroblast(FB) having many cell processes and intercellular collagen fibers(CL) are loosely distributed(control group, ×3,000).

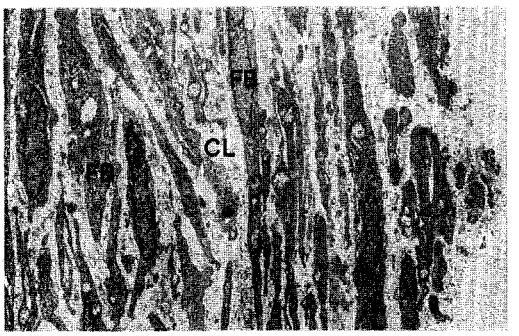


Fig. 4—b. 14 days after injection, young fibroblasts or spindle fibroblasts(FB) are seen. And the collagen fibers(CL) are more dense(control group, ×3,000).

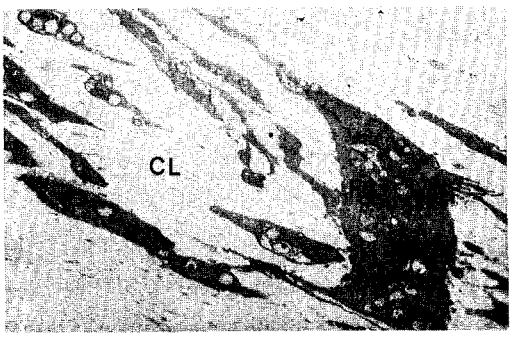


Fig. 4—c. 28 days after injection, the decreased number of fibroblast and the fibrocytes (FC) are present(control group, ×1,000).

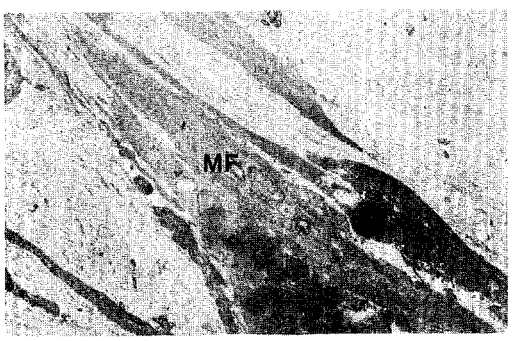


Fig. 4—d. 28 days after injection, myofibroblasts (MF) and dense collagen fibers are present(control group, ×3,000).

더욱 조밀하였다(Fig. 4—b). 4주 경과군의 경우에서는 섬유아세포는 감소하고 섬유세포가 나타났으며(Fig. 4—c), 근섬유아세포를 볼 수 있었고 collagen fiber가 조밀해져 있었다(Fig. 4—d).

2) 실험군

동종 섬유아세포의 수를 10만 및 15만으로 주입후 1주 경과군의 경우 young fibroblast와 intercellular collagen fiber가 loose하게 분포하였고(Fig. 5—a), 2주 경과후에는 young fibroblast가 원형 혹은 방추형의 모양을 가졌으며 collagen fiber의 양은 증가하였다(Fig. 5—b). 4주 경과한 경우는 young fibroblast가 여전히 남아 있었고

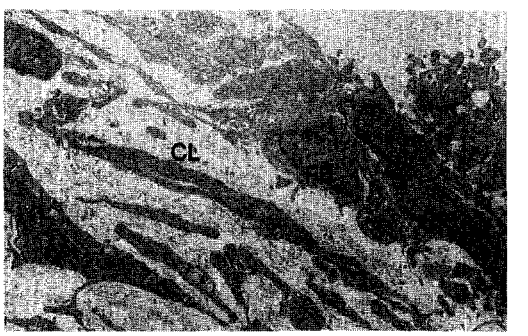


Fig. 5—a. 1 week after injection of homologous fibroblasts($1.0\times10^5\sim1.5\times10^5$/0.3ml), young fibroblast(FB) and loose intercellular collagen fiber(CL) are appeared (experimental group, ×3,000).

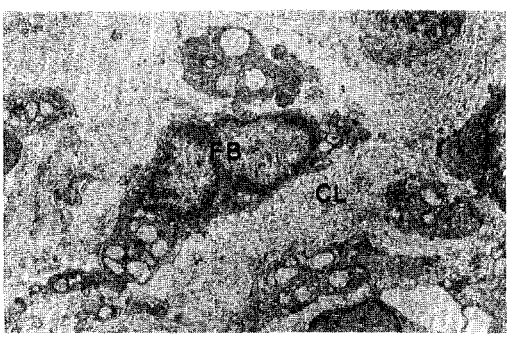


Fig. 5—b. 2 weeks after injection, round or spindle shaped young fibroblasts(FB) and increased collagen fibers(CL) are seen(experimental group, ×3,000).

Fig. 5-c. 4 weeks after injection, young fibroblasts(FB) still remained and have abundant cell organelles. Collagen fibers (CL) are more abundant(experimental group, ×3,600).

세포 organelle가 풍부하였고 collagen fiber도 더욱 증가하였다(Fig. 5-c).

전체적으로 대조군에서는 시간이 갈수록 섬유세포화 하였으며 근섬유아세포가 생겼으나 실험군에서는 young fibroblast가 지속적으로 나타났으며 collagen의 양이 증가하였다.

고 찰

여러가지 원인으로 발생하는 증식성 초자체 망막증은 망막의 양쪽면과 초자체강내로 세포성 섬유막이 증식하여 이것이 수축됨으로써 발생하는 것으로 망막박리 수술의 주된 실패 원인중의 하나로 알려져 있다[3,4].

증식성 초자체망막증의 병인으로서 망막색소상피[5,6], 교세포[7], 섬유아세포[8]및 탐식세포[10]등이 중요한 역할을 한다는 사실이 밝혀지고 있지만 그 기전은 아직도 정확히 밝혀지지 않고 있다[5,6].

증식성 초자체 망막증의 유발 혹은 치료를 위하여 많은 연구가 행하여 졌으며 그 중 가토를 이용한 동물실험이 가장 적합한 것으로 인정된다. 동물에 실험적으로 증식성 초자체망막증을 유발시키는 방법으로는 초자체강내에 배양된 세포, 즉 망막상피세포[6,11], 섬유아세포[11-13], 대식세포[13], 연골세포[11]등을 주입하는 방법과, 정제된 혈장 gibronectin 및 platelet-derived growth factor(PDGF)를 주입하는 방법[14-16], 탄소입자를 주입하는 방법[17]등 여러가지가 보고되고 있다. 1976년 Algvere와 kock[18], 1980년 Sugita[19]등이 자가 섬유아세포를 유색가토의 건강한 초자체강내에 주입하여 견인성 망막박리를 유발시켰으며 1982년 Fastenberg[20]등은 동종 세포를 이용하여 섬유아세포 생산과정을 간소화 시킬 수 있었으며, 이렇게 하여 유발시키는 증식성 초자체 망막증의 경우 견인성 망막박리의 발생율은 주입된 세포수에 의존한다고 하였다. 그러나 증식성 초자체 망막증 실험에서 초자체 구조를 제거하거나 전위(displace) 시킬 경우 초자체가 건강한 경우 보다 실제 질환의 상태에 유사하게 되며 이런 경우 주입된 세포들은 망막세포 표면에서 바로 증식이 가능하다[21].

1984년 Hsu[22]등은 기계적 초자체 절제술을 시행한 실험군과 시행하지 않은 대조군을 대상으로 배양된 일정수의 동종 섬유아세포를 안내로 주입한 동물실험에서 견인성 망막박리가 대조군보다 실험군에서 조기에 그리고 심하게 유발되는 것을 관찰 하였으며, 기계적 초자체 절제술이 안내로 주입된 섬유아세포의 증식을 조장 하였으며 이는 주입한 섬유아세포의 수와 비례하였다고 보고하였다. 1986년 Chandler와 Quansah[21]는 가스 압박후 섬유아세포의 수를 5만으로 주입한 결과 100%에서 전망막박리(total retinal detachment)를 유발하였다고 하였으며, Gonvers에 의하면 기계적 초자체절제술을 시행한 실험안에 다양한 세포수를 주입한 결과 세포의 수가 5만 혹은 그 이하의 경우에도 100%의 견인성 망막박리를 유발할 수 있다고 하였다.

그러나 토끼의 기계적 초자체절제술의 경우 기술상 및 해부학적인 어려움이 있어서 실험동물의 초자체를 인간의 초자체 이액현상(syneresis) 및 후초자체 박리와 유사한 상태로 만들기

위하여 perfluoropropane(C_3F_8) 가스의 팽창하는 힘으로 초자체를 압박하는 방법[23]과 hyaluronidase를 초자체강내로 주입하여 높은 점탄성의 gel 초자체를 점성이 없는 액화상태로 변형시키는 방법이 시도되었다[24]. 그러나 증식성 초자체망막증을 유발하기 위한 실험의 경우에 있어 흔히 사용되는 가토에서도 증식성 초자체망막증을 유발하기란 쉬운 일이 아니며, 섬유아세포를 이용하여도 조직 배양을 해야하는 번거로운 절차를 밟아야 증식성 초자체망막증 유발이 비교적 용이해진다.

저자들은 증식성 초자체망막증을 관찰하기 위하여 2가지의 방법을 사용하여 보았다. 실험가토의 좌안에는 건강한 초자체 강내에 각기 다른수의 동종 섬유아세포를 주입하여 대조군으로 하였고 우안에는 안조직에 대한 손상이 비교적 많은 기계적 초자체 절제술 대신에 안조직에 대한 손상이 거의 없는 팽창가스인 perfluoropropane을 초자체강내에 주사하여 초자체 절제술과 같은 효과를 얻은후 배양된 동종 섬유아세포를 초자체강내로 주입한 실험군을 각각 안저관찰과 함께 1주, 2주, 4주 경과후에 적출한 안구의 조직병리학적 소견을 비교 검토하였다. 주입한 섬유아세포의 수는 5만, 10만, 15만으로 사용하여 다양한 수의 섬유아세포에 대한 증식성 초자체망막증의 유발정도를 관찰하였다.

실험군의 경우 세포수가 5만인 1군의 경우 동종섬유아세포를 팽창가스를 주입하여 초자체 절제술과 유사한 효과를 거둔 후의 초자체강내에 주입하여 4주 경과 후에는 4안 모두(100%)에서 다양한 단계의 증식성 초자체망막증이 유발되었으나 광범위 견인성 망막박리는 위 3안중 1안(25%)에서 발생하였고 또 10만의 세포를 주입한 2군의 경우, 정도의 차이는 있으나 증식성 초자체망막증서은 1개월 후에 4안 전례(100%)에서 발생했으며 그 중 2안(50%)에서 견인성 망막박리가 유발되었으며 15만의 세포를 주입한 3군의 경우 4안 전례(100%)에서 역시 증식성 초자체망막증이 발생하였으며 그중 3안(75%)에서 견인성 망막박리가 유발되었다.

또 gel 상태의 초자체에 동종섬유아세포를 주입한 대조군의 경우 세포수 5만을 주입한 1군의 경우 4안중 3안(75%)에서 stage 2 이상의 증식성 초자체망막증이 발생하였으나 망막박리는 발생하지 않았으며 세포수 10만을 주입한 2군의 경우 4안에서 모두 증식성 초자체망막증이 발생하였으며 이중 2안에서는 유수신경섬유 부위의 국소적 망막박리가, 또 1안에서는 1 quadrant의 견인성 망막박리가 발생하였고 세포수 15만을 주입한 3군의 경우 4주 경과후 전례에서 stage 2 이상의 증식성 초자체 망막증이 발생하였으며 이중 2안에서는 유수신경섬유부위의 국소적 망막박리가, 1안에서는 광범위 견인성 망막박리가 유발되었다.

동종 섬유아세포를 초자체강내로 주입함으로써 발생할 수 있는 면역반응의 영향을 고려해야 하는데, Hong[25]에 의하면 세포배양 과정동안 동종항원은 변하지 않으나 숙주에 거부현상을 일으키는데 필요한 공여자의 단핵세포가 소실되기 때문에 면역반응은 일어나지 않는다고 하는 점으로 미루어 이로 인한 영향을 배제시킬 수 있다.

이상의 결과에서 볼 때 증식성 초자체망막증의 발생은 초자체 절제술후의 안 상태에서, 또 주입한 동종섬유아세포의 수가 많을수록 더욱 많이 발생하는 것을 관찰할 수 있었으며 이는 비록 실험대상 안수가 적다는 문제점도 있기는 하나 높은 것으로 생각되며 또 각 군마다 1주, 2주때 안구적출로 증식성 초자체망막증의 진행을 2주이상 관찰할 수 없었던 경우가 각 군마다 50%였다는 것을 고려하면 다른 문헌과 유사한 높은 결과의 증식성 초자체 망막증의 발생이 예측된다.

저자들이 시행한 실험에서 초자체내에 생긴 증식성 초자체망막증에는 주로 주입된 섬유아세포가 관여한 것으로 생각되며 또 시간의 차

이를 두고 경과를 관찰한 경우 광학현미경 소견상 팽창가스를 주입한 군에서, 또 많은수의 세포를 주입한 군에서 cellularity와 collagen의 양이 보다 저명한 것을 관찰할 수 있었고 전자현미경 검사상 대조군에서는 시간이 갈수록 섬유세포화 되고 근섬유아세포가 생김을 관찰할 수 있었고 팽창가스 주입군에서는 young fibroblast가 지속적으로 나타났으며 collagen의 양이 증가함을 관찰할 수 있었다.

저자들은 유색가토를 이용하여 동종섬유아세포를 주입하여 증식성 초자체망막증을 유발함에 있어 앞서의 조건과 같이 대조군과 실험군으로 나눈 후 각기 다른수의 세포를 주입하여 각군에 따른 증식성 초자체망막증의 발생을 시기적으로 구분, 관찰한 결과 일반적으로 사용되는 15만 이하의 세포수에서도 충분히 증식성 초자체망막증의 발생을 관찰할 수 있었고 또 gel상태의 초자체가 없는 상태에서 증식성 초자체망막증의 빈도가 높음을 관찰할 수 있었으며 이는 일정한 수의 배양 동종섬유아세포를 초자체강내에 주사하여 여러가지 정도의 초자체 망막증을 일으키는 실험의 한 유형으로 제시하는데 의의가 있는 것으로 생각된다.

요 약

저자들은 증식성 초자체망막증을 실험적으로 유발시키기 위해 유색가토 12마리 24안에 대하여 배양된 동종섬유아세포를 정상적 초자체 구조가 파괴된 실험군과 gel상태의 초자체가 있는 대조군에 각각 세포수 50,000, 100,000, 150,000의 세군으로 구분하여 주입한 후 1주, 2주, 4주로 나누어 관찰하여 본 결과 주입된 동종섬유아세포의 수가 많을수록, 그리고 gel상태의 초자체가 없는 경우에 증식성 초자체망막증의 정도 및 빈도가 증가하는 것을 관찰할 수 있었으며 전자현미경 검사상 대조군은 섬유세포화 하는 것을 볼 수 있었고 실험군에서는 young fibroblast가 지속적으로 나타나는 것이 보였고 양군 모두 collagen의 양이 증가함을 관찰할 수 있었다.

본 실험의 결과 실험동물에서의 증식성 초자체망막증의 발생은 세포수 150,000이하의 경우에도 충분히 유발될 수 있으며 gel 초자체가 없는 상태에서는 더 유발의 정도가 심하였다.

참 고 문 헌

1. Laqua, H., and Machemer, R. : Clinical-pathological correlation in massive periretinal proliferation. Am. J. Ophthalmol., 80 : 913-929, 1975.
2. Retina Society Terminology Committee : The classification of retinal detachment with proliferative vitreo-retinopathy. Ophthalmology, 90 : 121-125, 1983.
3. Retinal, W. F., and Burton, T. C. : Changing concepts of failure after retinal detachment surgery. Arch. Ophthalmol., 97 : 480-483, 1979.
4. Stern, W. H., and Fisher, S. K., Anderson, D, H,. and O'Donnell, J. J. : Epiretinal membrane formation after vitrectomy. Am. J. Ophthalmol., 93 : 757-772, 1982.
5. Machemer, R., Van Horn, D., and Aaberg, T. M. : Pigment epithelial proliferation in human retinal detachment with massive periretinal proliferation. Am. J. Ophthalmol., 85 : 181-191, 1978.
6. Radtke, N. D., Tano, Y., Chandler, D., and Machemer, R. : Stimulation of massive periretinal proliferation by auto-transplantation of retinal pigment epithelial cells in rabbits. Am. J. Ophthalmol., 91 : 76-87, 1981.

7. Van Horn, D., Aaberg, T. M., Machemer, R., and Fenzl, R : Glial cell proliferation in human retinal detachment with massive periretinal proliferation. Am. J. Ophthalmol., 84 : 383-393, 1977.
8. Newsome. D. A., Rodrigues, M. M., Machemer, R. : Human massive periretinal proliferation : In vitro characteristics of cellular components. Arch.Ophthalmology, 99 : 873-880, 1981.
9. Gonvers, M., and Thresher, R. : Temporary use of silicone oil in the treatment of proliferative vitreoretinopathy ; An experimental study with a new animal model. Graefe's Arch. clin. Exp. Ophthalmol., 221 : 46-53, 1983.
10. Johnson, N. E., and Foulds, L. O. S : Observations on the retinal pigment epithelium and retinal macrophages in experimental retinal detachment. Br. J. Ophthalmol., 61 : 564-572, 1977
11. Fastenberg, D.M., Diddie, K.R., Sorgente, N, and Ryan, S.J. : A comparison of different cellular inocuar in an experimental model of massive periretinal proliferation. Ophthalmol., 93 : 559-564, 1982.
12. Ophir, A., Blumenkranz, M. S., and Claflin, A. J. : Experimental intraocular proliferation and neovascularization. Am. J. Ophthalmol., 96 : 450-457, 1982.
13. Hui, Y., Goodnight, R., Sorgente, N., and Ryan, S. J. : Fibrovascular proliferation and retinal detachment after intraretinal injection of activated macrophage in the rabbit eye. Am. J. Ophthalmol., 108 : 176-184, 1989.
14. Bowen, S. L., and Glaser, B. M . : Retinal pigment epithelial cells release a chemoattractant for astrocytes. Arch. Ophthalmol., 103 : 704-707, 1985.
15. Campochiaro, P. A., and Glaser, B. M. : Platelet derived growth factor is chemotactic for human retinal pigment epithelial cells. Arch. Ophthalmol., 103 : 576-579, 1985.
16. Campochiaro, P. A., Jerdan, J. A., and Glaser, B. M. : Serum contains chemoattractants for human retinal pigment epithelial cells. Arch. Ophthalmol., 102 : 1830-1833, 1984.
17. Algvere, P., and Kock, E. : Experimental epiretinal membranes induced by intravitreal carbon particles. Am. J. Ophthalmol., 96 : 345-353, 1983.
18. Algvere, P., and Kock, E. : Experimental fibroplasia in rabbit vitreous. Retinal detachment induced by autologous fibroblasts. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 199 : 215, 1976.
19. Sugita, G., Tano, Y., Machemer, R., Abrams, G., Claflin, A., and Fiorentino, B. S. : Intravitreal autotransplantation of fibroblasts. Am. J. Ophthalmol., 89 : 121-130, 1980.
20. Fastenberg, D. M., Diddie, K. R., Dorey, K., and Ryan, S. J. : The role of cellular proliferation in an experimental model of massive periretinal proliferation. Am. J. Ophthalmol., 93 : 565-572, 1982.
21. Chandler, D. B., Quansah, F. A., Hida, T., and Machemer, R. : A refined experimental model for proliferative vitreoretinopathy. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 224 : 86-91, 1986.

22. Hsu, H. T., Dorey, K., Sorgente, N., and Ryan, S. J. : Surgical removal of vitreous : It's effect on intraocular fibroblast proliferation in the rabbit. Arch. Ophthalmol., 102 : 605-607, 1984.

23. Ehrenberg, M., Thresher, R. J., and Machemer, R. : Vitreous hemorrhage nontoxic to retina as a stimulator of glial and fibrous proliteration. Am. J. Ophthalmol., 97 : 611-626, 1984.

24. Algvere, D., and Balazs, E. : Experimental retinal detachment in owl monkeys. Mod. probl., Ophthalmology, 12 : 152-166, 1974.

25. Hong, R. : Allografts of cultured organs. A special supplement to immunology abstracts. Bethesda, National eye institute, 1981, pp. 103-104.

—Abstract—

Experimental Proliferative Vitreoretinopathy

Young Hoon Park, Bong Hwan Lee, and Duk Kee Hahn

Department of ophthalmology
College of medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea

The authors performed experimental study to produce proliferative vitreoretinopathy by intravitreal injection of homologous fibroblasts in pigmented rabbits.

Twenty four eyes of 12 rabbits were divided into control and experimental groups. In experimental group, the eyes were pretreated with expanding gas, perfluoropropane for the vitrectomy. In control group, no such procedure was preceeded.

In both groups, 5.0×10^4, $1.0\times10^5$and 1.5×10^5 cells of homologous fibroblasts were injected into the vitreous cavity. All the eyes were observed regularly with indirect ophthalmoscope followed by fundus photography. Those eyes were enucleated in 1, 2, 4 weeks for the light and electron microscopic studies.

The development and severity of the proliferative vitreoretinopathy were correlated with the numbers of the injected fibroblast. This was more pronounced in the experimental group.

Key Words : Fibroblast, Proliferative vitreoretinopathy