

의학 석사학위 논문

가토에서 엑시머레이저 후 사용한
Mitomycin C 의 접촉 방법의 차이가
각막창상치유에 미치는 영향

아주대학교 대학원

의학과

유영주

가토에서 엑시머레이저 후 사용한
Mitomycin C 의 접촉 방법의 차이가
각막창상치유에 미치는 영향

지도교수 유 호 민

지도교수 문 창 현

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.

2005년 2월

아 주 대 학 교 대 학 원

의 학 과

유 영 주

유영주의 의학 석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 유 호 민 인

심사위원장 문 창 현 인

심사위원 안 재 홍 인

심사위원 홍 정 인

아 주 대 학 교 대 학 원

2004년 12월 22일

감사의 글

먼저 지금까지 이 논문이 작성될 수 있도록 지도 해 주신 유호민 교수님, 문창현 교수님께 감사드립니다. 그리고 준비부터 실험과 결과 분석까지 꼼꼼하게 챙겨주시고 조언해 주신 안재홍 교수님께 감사드립니다.

항상 많은 도움을 주신 문상호 교수님, 장윤희 교수님, 양홍석 선생님, 문찬식 선생님과 논문 작성 과정을 세심하게 지도 해 주신 홍정 선생님께 감사드립니다.

그리고 논문이 완성되기 까지 많은 도움을 준 안과 의국원 에게도 감사드립니다.

마지막으로 지금의 제가 있도록 옆에서 항상 지켜봐주신 부모님께 감사드립니다.

가토에서 엑시머레이저 후 사용한 Mitomycin C의 접촉 방법의 차이가 각막창상치유에 미치는 영향

가토에서 치료레이저절제술(phototherapeutic keratectomy, PTK)을 시행한 후 각막에 Mitomycin C(MMC)를 처리하였을 때 MMC 접촉 방법에 따른 각막창상치유 과정에 미치는 영향을 알기 위해 각막혼탁 및 각막세포 증식의 변화를 관찰 하였다. 백색 가토 17마리 34안을 대상으로 하여 대상 모두 직경 6.0 mm, 40 μ m 깊이로 상피층 절제 후, 추가로 직경 6.0mm 넓이, 100 μ m 깊이로 PTK를 시행하고 0.02% MMC를 접촉 방법에 따라 원반형과 고리형으로 나누어 2분 간 침액 시킨 군과 MMC를 사용하지 않은 군으로 나누었다. 모든 대상은 수술 후 4주, 12주 및 24주째 세극등현미경으로 각막혼탁 정도를 관찰하였고, 조직학적으로 각막세포의 증식을 관찰하였다. 각막혼탁도는 수술 후 4주째에는 MMC를 침액 시킨 군이 고리형과 원반형 모두 PTK만 시행한 군에 비해 유의한 각막혼탁도의 감소가 있었으며($p < 0.001$), 수술 후 12주와 24주째는 유의한 차이는 없었으나, PTK만 시행한 군에 비해 MMC를 침액 시킨 두 군 모두 각막혼탁도가 적은 경향을 나타내었다. 각막세포의 증식은 수술 후 4주와 12주 째에는 PTK만 시행한 군에 비해 MMC를 침액한 군이 유의하게 각막세포가 감소되었으며($p < 0.001$), MMC 침액 방법에 따른 통계적 유의성은 없었다. 수술 후 24주 째에는 PTK만 시행한 군보다 고리형으로 MMC를 침액 시킨 군이 각막세포 수가 유의하게 감소되어 있었으나($p = 0.026$), 원반형으로 MMC를 침액 시킨 군은 PTK만 시행한 군과 유의한 차이는 없었다. 결론적으로 각막혼탁이나 각막세포의 활성화를 막기 위해서는 원반형에 비해 고리형의 경우가 그 효과가 떨어지지 않으면서 MMC와의 접촉 부위를 최소화 하여 MMC에 의한 부작용을 줄일 수 있는 효과적인 방법이라고 생각된다.

핵심어 : 엑시머레이저, Mitomycin C, 각막혼탁, 각막세포

차례

국문 요약	i
차례	iii
그림 차례	iv
표 차례	v
I. 서론	1
II. 연구대상 및 방법	4
III. 결과	6
IV. 고찰	12
V. 결과	16
참고 문헌	17
영문 요약	20

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Biomicroscopic findings of rabbit cornea at 4 weeks(A, B, C) and 24weeks(D,E,F).-----	7
Fig. 2. Changes over time in distribution of average corneal haziness-----	9
Fig. 3. Histopathologic findings of rabbit cornea at 4 weeks(A, B, C) and 36weeks(D,E,F).-----	10
Fig. 4. Number of keratocytes(/ X 400 fields)-----	11

LIST OF TABLES

Table 1. Experiment design-----	4
Table 2. Distribution of corneal haziness (Fantes grading)-----	8

I. 서 론

굴절교정레이저각막절제술(photorefractive keratectomy, PRK) 1983년 Trokel에 의해 처음으로 안과영역에서 수술적 치료로 소개된 이래 증등도 근시 교정과 상충부 각막혼탁의 제거에 있어 탁월한 효과를 보여왔으나 교정도수가 높을수록 각막혼탁이 생기며 시간에 따른 교정효과의 감소 등으로 인한 시력저하가 해결해야 할 문제로 남아있다(Sher 등, 1992; Marshall 등, 1986; Seiler 와 McDonnell, 1995). PRK 이후 각막의 창상치유과정에서 각막세포는 활성화되어 증식하게 되며, 이러한 활성화된 각막세포(keratocyte)에 의해 생성되는 교원질은 정상 각막간질조직보다 덜 조직화된다. 따라서 각막간질 층은 입체적, 공간적으로 불안정한 구조를 갖게 되어 각막혼탁이 생기는 것으로 여겨진다(Xu 등, 2001).

Mitomycin C(MMC)는 *Streptomyces caespitosus*에서 분리되어 alkylating 계통의 물질과 유사한 기전으로 DNA 와 RNA 및 단백질합성을 저해하는 것으로 알려져 있으며, 과도한 섬유아세포의 증식과 반흔 형성을 막기 위한 보조약제로 사용된다(Lee 등, 1990; Wakaki 등, 1958). MMC는 안과 영역에서 익상편 수술, 녹내장여과술 등 여러 영역에서 사용되어지고 있으며 최근에는 각막상피 및 결막 상피층의 종양치료에도 사용되며 또한 현재 사람의 각막 혼탁 방지를 위해 사용하고 있는 약제로 수술 중의 접촉이 점안에 비해 가장 독성이 적고 효과적으로 알려져 있다(Majmudar 등, 2000; Kim 등, 2004).

인체의 각막세포를 MMC에 노출 후 배양한 연구에 의하면 각막조직의 창상에 따른 각막세포의 증식 억제에 최소 0.05%의 농도, 3분간의 노출이 필요하다는 보고(이지은 등, 2002)가 있었으며, 또한 배양 각막세포를 이용한 다른 연구에서도 임상적으로 사용 가능한 농도에서 MMC의 용량에 비례해 세포고사(apoptosis)를 일으킨다는 보고(위원량 등, 2000)가 있었다. 가토를 대상으로 한 연구를 살펴보면 Talamo 등(Talamo 등, 1991)은 가토에서 PRK 후 0.05% MMC를 하루 2회 점안 하여 각막상피하 반흔이 감소함을 보고하였으며, Schipper 등

(Schipper 등, 1997)은 각막간질절제 후 약 5분간 0.04% MMC를 적신 스폰지에 침액 시키는 방법을 이용하여 MMC를 사용한 경우에 각막 반흔이 감소하는 것을 보고하였다. 또한 MMC의 안전성 면에서는 Ando 등(Ando 등, 1992)은 0.04% 보다 낮은 농도의 MMC의 경우 각막상피재생에 아무런 영향을 미치지 않았다고 하였다. 사람에서는 각막 굴절수술 후 상피하 반흔이 남은 환자에게 상피제거술 및 물리적 반흔 제거술을 시행한 뒤 술 중 0.02% MMC를 침액 시킨 결과 상피하 섬유화의 재발이 억제되는 것에 대한 보고(Majmudar 등, 2000)가 있었으며, Carones 등(Carones 등, 2002)은 고도근시 환자에서 PRK 시술 시 0.02% MMC를 2분간 침액 시키는 방법을 이용하여 MMC를 사용하지 않은 환자보다 각막흔탁이 적고 시력이 좋았음을 발표하였다. 그러나 MMC를 각막수술에 사용 시, 그 안정성 및 유용성에 대해서는 논란의 여지가 있다. 배양된 가토 각막상피세포에서 노출 시간 5분에는 0.057%의 MMC 농도에서, 0.04% MMC 노출농도에서는 30분의 노출 시간에서 LD₅₀를 보였으며(정도영과 이종수, 1999), 가토를 대상으로 한 연구에서 술 중 MMC를 침액 후 충분히 씻지 않으면 각막내피세포의 감소의 각막독성이 나타날 가능성이 보고 되었으며(이제혁 등, 2002), 최근 각막바닥세포이영양증에 의한 반복각막진무름 환자에서 치료각막레이저절제술(phototherapeutic keratectomy, PTK) 이후 MMC 점안 후 영구적 각막부종이 생긴 예(Pfister, 2004)를 볼 때 각막내피세포에는 부작용을 일으키지 않으며 효과를 얻을 수 있는 적절한 농도와 접촉방법에 대한 연구가 필요하다.

창상치유과정에서 각막세포는 주변부에서 중심부로 구심성(centripetal)으로 이동하면서 활성화되어 각막의 반흔을 만든다고 알려져 있다. Jain 등(Jain 등, 2002)은 원반형(discoid)과 고리형(annular)으로 MMC를 침액 시킨 후 각막의 빛의 산란도(corneal light scattering)를 평가하였는데, 고리형 접촉방식이 유리하다고 발표하였다. 따라서 접촉을 최소화하여 독성을 줄이면서 각막흔탁 방지효과를 높일 수 있는 고리형 접촉방식이 유리하다고 할 수 있으나 접촉방식에 따른 흔탁정도의 비교와 조직학적 차이에 대한 연구가 아직 없었다. 따라서 본 연구에서는 MMC 침액 시 각막에 접촉하는 방법에 따른 각막흔탁의 정도 및 각막세포

증식의 조직학적 차이를 비교하여 안전하며 효과가 좋은 방법을 알아보고자 한다.

II. 연구대상 및 방법

New Zealand산 백색가토 18마리 36안을 사용하였다. 대상 모두 치료레이저 절제술(PTK)을 시행하였고 Mitocycin C(MMC)를 사용하지 않은 군과 MMC를 접촉 방법에 따라 원반형(discoid)침액시킨 군과 고리형(annular)으로 침액시킨 군으로 나누어 총 3개의 실험군, 12안씩 되도록 하였다. 이어서 경과관찰 시기별로 4주, 12주 및 24주째 각 실험군에 4안씩 포함되도록 다시 3군으로 나눈 후 각 막흔락을 관찰한 후 각 해당 주 수에 총 6마리 12안 씩 안구 적출 후 조직검사를 시행하였다. 12주 째 대상 중 MMC를 침액 시키던 중 원반형과 고리형 각각에서 침액과정에 고르게 침액이 되지 못했던 경우는 결과에 영향을 줄 수 있다고 판단되어 각각 1안 씩 제외 시켰다. (Table 1.).

Table 1. Experiment design (Number of eyes)

	4 weeks	12 weeks	24 weeks
PTK alone	12	8	4
PTK alone with a-MMC*	11	7	4
PTK alone with d-MMC**	11	7	4

PTK : phototherapeutic keratectomy

* a-MMC : annular mitomycin C

** d-MMC : discoid mitomycin C

Ketamine hydrochloride (30mg/kg) 과 Xylazin hydrochloride (7mg/kg) 의 근육주사 및 proparacaine hydrochloride 점안으로 토끼를 마취한 후 양안에 PTK를 시행하였다. 엑시머 기종은 Technolas 217zTM(Bausch and Lomb Surgical, Germany)를 사용하였으며, 3군 모두 PTK mode로 직경 6.0mm , 40 μ m 깊이로 상피층 절제 후, 추가로 직경 6.0mm 넓이, 100 μ m 깊이로 각막간질절제를

양안에 시행하였다. MMC의 침액은 filter paper를 이용하였는데, 원반형은 직경 6.0mm의 filter paper, 고리형의 경우는 직경 6.0mm의 거름종이(filter paper)에 내경 3.0mm의 부위는 제거하여 사용하였다. 0.02% MMC에 미리 담가둔 각각의 filter paper를 PTK 후 각막 중심부에 2분간 침액 시킨 후 BSS(Balanced sodium solution) 50cc 로 충분히 세척해 주었으며, PTK 만 시행한 군도 BSS 50cc로 세척하였다. 수술 후 상피가 완전히 치유될 때까지 매일 플루레신으로 염색 후 관찰하면서 ofloxacin eye drop을 1일 4회 점안하였다.

모든 대상은 수술 후 4주, 12주 및 24주째 세극등현미경으로 각막혼탁 정도를 관찰하였다. 각막혼탁은 Fantes 등의 등급에 따라 분류하였는데, grade 0은 전혀 각막혼탁이 없는 경우, grade 0.5는 direct and diffuse illumination으로 주의 깊은 관찰로 최소한의 각막혼탁이 있는 경우, grade 1은 direct and diffuse illumination으로 경미한 각막혼탁이 있으나 미세한 홍채 구조의 관찰이 가능한 경우, grade 2는 미세한 홍채 구조의 관찰이 일부 가려지는 각막혼탁, grade 3는 홍채와 수정체의 자세한 구조가 중등도로 가려지는 정도의 각막혼탁이 있는 경우, grade 4는 안내구조의 관찰이 불가능할 정도로 심한 각막혼탁이 있는 경우로 하여 동일 관찰자가 맹검법에 의해 관찰하였다.

각막혼탁을 관찰한 후, 수술 후 4주, 12주 및 24주째 해당하는 가토를 전신 마취한 후, 각 6마리 총 12안씩의 안구를 적출하여 4% paraformaldehyde에 3일간 고정한 후, 각막 중심부 직경을 포함하도록 4mm두께로 각막조직을 잘라 paraffin wax에 embedding 후, 5 μ m두께로 block을 잘라 Hematoxylin & Eosin 염색을 시행하였다. 각각 2개의 조직절편에서 각 2곳, 총 4곳의 레이저부위에서 400배 시야로 동일 관찰자가 맹검법에 의해 각막세포의 수를 조사하였다.

각 실험 시기에서 실험처리 군에 따른 각막혼탁의 분포의 차이를 Fisher's exact test를 통해 검정하였으며, 각 실험처리군의 각막세포 수의 평균을 Bonferroni의 다중비교를 이용한 one-way ANOVA를 통해 검정하였다. 통계분석의 유의성은 p value 0.05미만을 유의수준으로 보았으며 모든 통계분석은 SPSS v.11.0을 사용하였다.

III. 결 과

실험대상 모두 상피화가 5일 이내에 이루어졌으며 MMC 사용여부에 따른 상피 치유 지연은 관찰되지 않았다. 각막중심부의 조직학적 소견을 확인할 때 고리형 접촉방식을 사용한 경우 MMC가 접촉되지 않은 중심부 3.0 mm에 각막중심부가 포함되도록 하는 것이 중요하며 연마중심이 각막의 해부학적 중심부와 일치해야 한다. 이를 확인하기 위해 술 후 1일 째 플루레신 염색을 시행하였고 그 결과 모든 경우에서 각막 중심부가 절삭이 이루어 졌으며 육안적으로 중심이 탈이 발생한 경우는 없는 것을 확인하였다.

각막혼탁도는 수술 성공 여부를 평가하기 위해 grade 1 이하인 경우와 grade 2 이상인 경우로 나누어 결과를 분석하였다. 수술 후 4주 째에는 PTK만 시행한 군은 grade 2 이상의 혼탁도를 총 12안 중 11안(91.66%)에서 보인 반면, MMC를 침액한 군은 고리형의 경우 grade 2 이상의 혼탁이 있었던 경우는 없었으며 원반형은 총 11안 중 3안(27.27%)에서 grade 2의 혼탁도를 나타내어 유의한 차이를 보였으며($p < 0.001$), 원반형과 고리형 사이의 각막혼탁도에 유의한 차이는 없었다. 수술 후 12주째에는 PTK만 시행한 군은 grade 2의 혼탁도가 총 8안 중 4안(50%)에서 관찰되었으나, 고리형으로 MMC를 침액한 군은 grade 2 이상이 없었고, 원반형으로 MMC를 침액한 군은 grade 3의 혼탁을 보인 예가 총 7안 중 1안(14.29%)이 있었다($p = 0.081$). 24주 째는 통계적으로는 유의하지 않았으나($p = 1.000$), PTK만 사용한 군에서 grade 3의 혼탁이 총 4안 중 1안(25%)에서 관찰되었고, MMC를 침액 시킨 군은 고리형과 원반형 모두 grade 2 이상의 각막 혼탁도를 보인 예는 없었다(Fig. 1. & Table 2.). 수술 후 12주 및 24주에는 통계적으로 유의한 결과를 얻지는 못했으나, PTK 단독 시행한 군보다 고리형 및 원반형으로 MMC를 침액 시킨 군이 각막 혼탁이 적은 경향이 있음을 알 수 있었다(Fig. 2.).

각막조직 관찰을 위해 수술 후 4주, 12주 및 24주 째에 안구 적출 후 조직 검사를 시행하였다. 수술 후 4주와 12주째에는 PTK만 시행한 군에 비해 MMC

를 침액한 군은 고리형 및 원반형 모두 유의하게 각막세포가 감소되었으며 ($p < 0.001$), MMC 침액 방법에 따른 통계적 유의성은 없었다. 수술 후 24주 째에는 PTK만 시행한 군보다 고리형으로 MMC를 침액 시킨 군이 각막세포 수가 유의하게 감소되어 있었으나($p = 0.026$), 원반형으로 MMC를 침액 시킨 군은 PTK만 시행한 군보다 각막세포의 수는 적었으나 그 차이는 유의하지 않았다($p = 0.208$). 각 실험 시기별로 전부 간질의 콜라겐 다발은 PTK만 시행한 군에서 더욱 조밀한 양상으로 관찰되었으며 수술 후 24주 째 전부 간질은 간질 층판 구조가 수술 후 4주 째에 비해 모든 군에서 물결치는 양상으로 성글게 연결되어 있었다(Fig. 3. & Fig. 4).

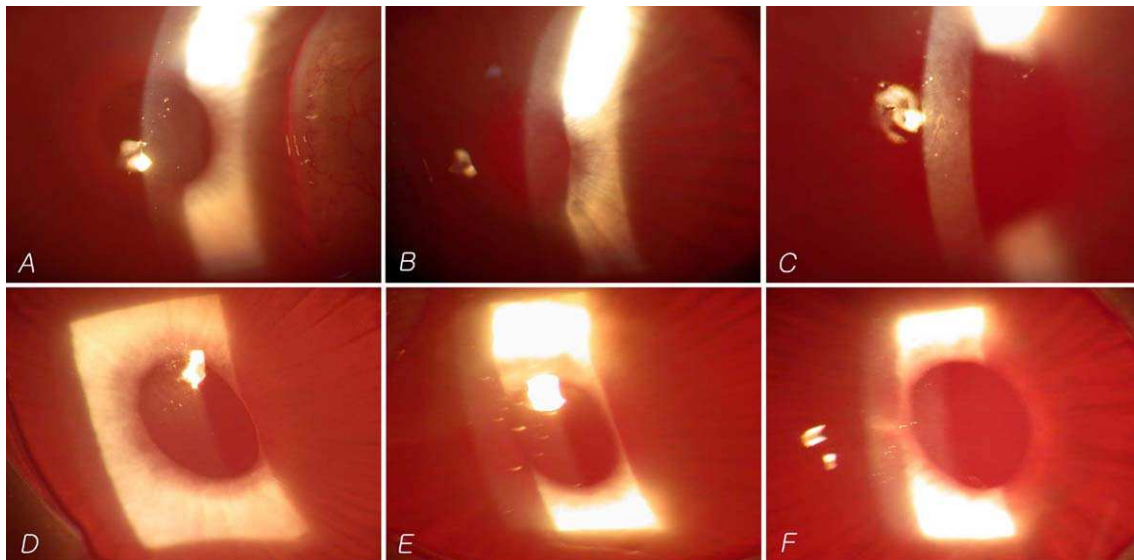


Fig. 1. Biomicroscopic findings of rabbit cornea at 4 weeks(A, B, C) and 24 weeks(D, E, F). PTK with annular MMC group(A and D) show grade 1 and 0.5 corneal haziness, PTK with discoid MMC group(B and E) grade 1 and 0.5 and PTK alone group(C and F) grade 3 and 1, each other.

Table 2. Distribution of corneal haziness (Number of eyes)

		corneal haziness(Fantes grading)				
		0.5	1	2	3	total
4 weeks	PTK alone	0	1	10	1	12
	PTK with a-MMC*	4	7	0	0	11
	PTK with d-MMC**	1	7	3	0	11
12 weeks	PTK alone	1	3	4	0	8
	PTK with a-MMC*	3	4	0	0	7
	PTK with d-MMC**	2	4	0	1	7
24 weeks	PTK alone	1	2	0	1	4
	PTK with a-MMC*	3	1	0	0	4
	PTK with d-MMC**	2	2	0	0	4

Corneal haziness gradings are divided into two groups for statistical analysis. One group includes grade 0.5 and grade 1. The other group includes more than grade 2. The p values by groups are <0.001 at 4 weeks, 0.081 at 12 weeks and 1.000 at 24 weeks. ; Fisher's exact test

* a-MMC : annular mitomycin C

** d-MMC : discoid mitomycin C

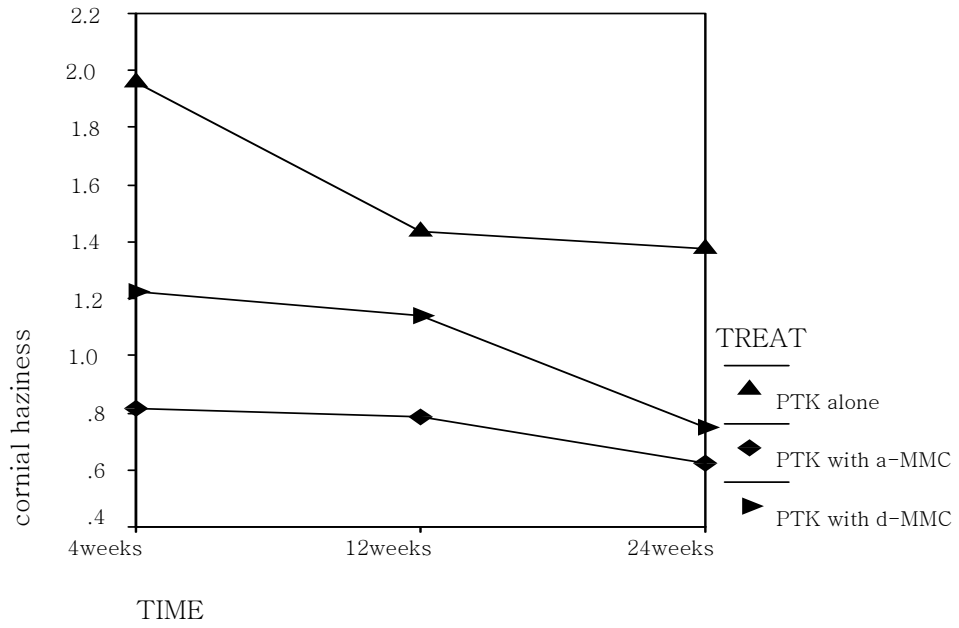


Fig. 2. Changes over time in distribution of average corneal haziness. From first 4 week to 24 weeks, PTK with annular MMC and PTK with discoid MMC groups show lower corneal haziness than PTK alone groups.

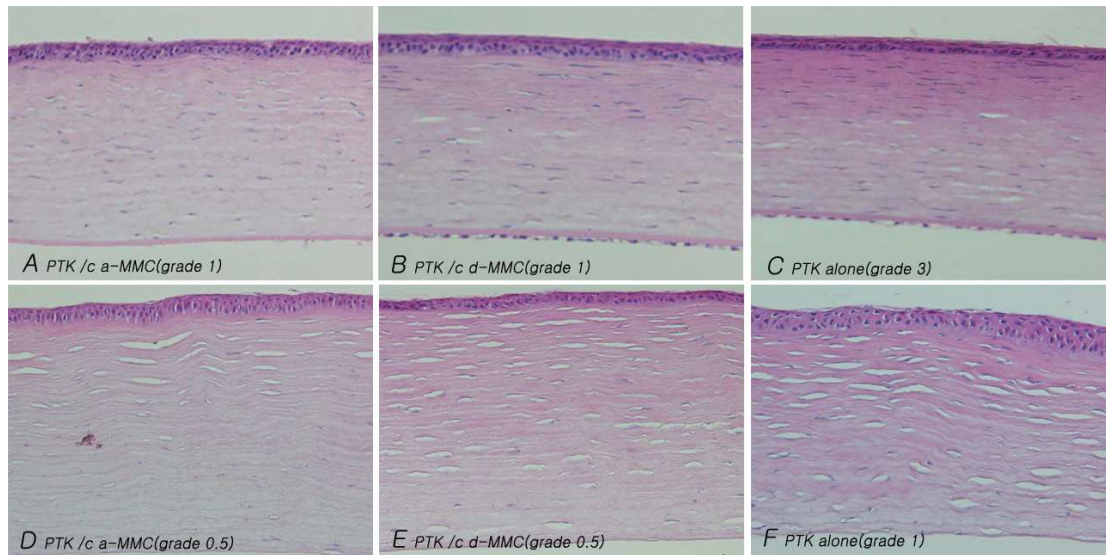


Fig. 3. Histopathologic findings of rabbit cornea at 4 weeks(A, B, C) and 24 weeks(D, E, F). At 4 & 24weeks, PTK with annular and discoid MMC groups have few keratocytes in the anterior stroma. But many keratocytes of PTK alone groups are proliferate into the anterior stroma. At 4 weeks, more subepithelial fibrosis are found in PTK alone group than PTK with annular and discoid MMC groups , but no definite differences are found among three groups at 24 weeks.(H-E stain, X 200 field)

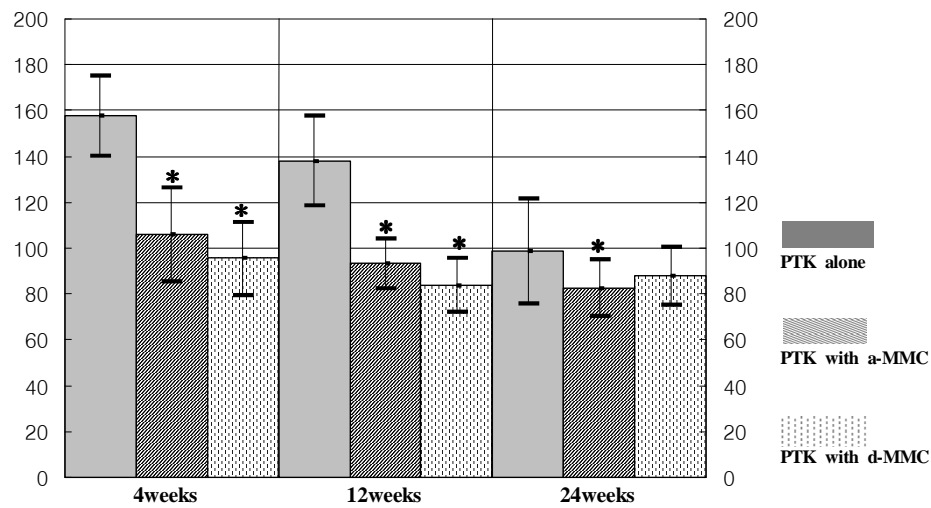


Fig. 4. Number of keratocytes(/ X 400 fields). Quantitation of number of keratocytes after PTK in groups PTK alone, PTK with annular MMC and PTK with discoid MMC. Error bars: SD of the mean; *statistically different from PTK alone group, ANOVA with Bonferroni multiple comparison

IV. 고 찰

PRK는 수술 후의 통증과 절제량이 많을수록 각막혼탁이 발생하는 등의 이유로 라식(LASIK)에 비해 덜 선호되지만, 각막절편으로 인한 합병증이 없어 각막혼탁의 문제가 해결된다면 각막두께가 충분치 못한 경우의 고도근시에서도 사용할 수 있는 대안이 될 수 있다(이제혁 등, 2003). 따라서 각막혼탁을 줄이기 위해 PRK 시술 전 후로 MMC의 적용이나 스테로이드 점안이 여러 방법으로 시도되고 있다. Carones 등(Carones 등, 2002)은 라식이 적합하지 않은 중등도와 고도근시 환자에서 PRK 후 예방적으로 0.02% MMC를 2분간 사용하고 20ml의 평형용액으로 씻어내는 방법을 사용하여 대조군에 비해 실험군에서 각막혼탁이 적게 발생하고 교정시력 및 나안시력이 좋았으며 정확한 교정도수를 가질 수 있었음을 발표하였다. 또한 Hashemi 등(Hashemi 등, 2004)은 28명의 -5.00 D 이상의 근시환자에서 PRK 후 0.02% MMC를 2분간 침액시키는 방법을 이용한 결과 각막혼탁과 시력 교정 면에서 좋은 결과를 얻었음을 발표했으나 대조군이 없었는 단점을 가지고 있다. 그러나 최근 Pfister(Pfister, 2004)의 보고에 의하면 각막 바닥세포이영양증 환자의 각막기질혼탁치료를 위해 PTK 시행한 후 0.02% MMC를 수술 후 6일간 총 14방울 점안 후 영구각막부종이 발생한 예를 보고하였다. 따라서 아직은 적정 사용 방법에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Xu 등(Xu 등, 2001)이 발표한 보고에 따르면 24마리의 가토에서 PRK(120 μ m depth, 6mm in diameter)를 시행한 뒤 0.02% MMC를 5분간 침액 시키고 30ml의 평형용액으로 세척하는 방법이 술 후 4주째까지 PRK만 단독 시행한 군에 비해 각막기질의 각막세포가 감소되고 술 후 26주째에는 PRK 단독 시행한 군과 비교하여 각막세포 수의 유의한 차이는 없었으며 각막혼탁에서도 MMC 사용군은 모든 경우 grade 1을 넘지 않았으나 대조군은 심한 경우 술 후 4주째 grade 3이상의 혼탁이 관찰되었으며 술 후 26주 째에도 통계적으로 유의한 차이의 혼탁이 관찰되었다. Kim 등(Kim 등, 2004)은 72안의 가토안에서 PRK (-10 D, 5mm

in diameter)시행 후 수술 후 0.02% MMC를 2분간 사용한 군과 수술 후 4주째 까지 하루에 2회 0.02%의 MMC를 한방울씩 점안 한 군 및 대조군으로 나누어 술 후 모두 UVB를 100mJ/cm²의 양으로 조사한 후 관찰 한 결과 술 후 6주 째에는 대조군에 비해 MMC를 침액 시킨 군과 점안한 군 모두에서 각막세포가 약간 감소되었으며, 수술 후 12주 째에 0.02% MMC를 2분간 침액 시킨 군에서 대조군에 비해 가장 많이 각막세포수가 감소되었고 각막혼탁에서도 MMC를 침액 시킨 군에서 통계적으로 유의한 감소가 있었음을 보고하여 MMC를 침액 시키는 방법이 활성화된 각막세포의 고사(apoptosis)를 유도하여 각막 혼탁을 줄인다고 결론지었다. 본 연구에서는 MMC 장기 노출에 의한 부작용을 줄이기 위해 0.02% MMC를 2분간 침액 시키는 방법을 사용하여 Xu 등(Xu 등, 2001)의 결과와 유사하게 술 후 4주, 12주째에 PTK만 시행한 군에 비해 MMC를 침액 시킨 군에서 각막세포가 유의하게 감소하였으며, Kim 등(Kim 등, 2004)의 연구와도 유사한 결과를 얻었다. 그러나 Xu 등의 결과는 24주째에는 PTK만 시행한 군과 MMC를 침액한 군과는 유의한 차이가 없었으나 본 연구에서는 24주 째에는 고리형으로 MMC를 침액 시킨 군은 PTK만 시행한 군에 비해 유의한 각막 세포의 감소가 관찰되었다.

이 등(이제혁 등, 2003)이 11마리의 가토를 대상으로 PRK(96 um, 6mm in diameter) 후 0.02% MMC로 2분간 침액 후 10ml의 평형용액으로 세척하는 방법으로 시행한 연구에 의하면 술 후 4주째까지 각막혼탁은 유의하게 줄었으나 각막내피세포의 수가 통계적으로 유의하게 감소하였다. 이 결과는 일반적으로 이용되는 농도와 노출 시간에 의해서도 각막내피세포가 손상 받을 수 있음을 시사하고 있다. Jain 등(Jain 등, 2001)은 24마리의 가토에서 PTK이후 원반형과 고리형으로 MMC를 침액 시킨 후 각막혼탁을 객관적으로 관찰하기 위해 각막의 빛의 산란도(corneal light scattering)를 정량적으로 평가하였는데, 술 후 2 주째에는 고리형으로 침액 시킨 경우가 대조군이나 원반형으로 침액 시킨 군에 비해 빛의 산란도가 감소하였으며 술 후 10주 째에는 고리형과 대조군은 각막의 빛의 산란도가 기저수치로 회복되었는데 반해 원반형은 증가되었음을 발표하였고 이는 고

리형의 경우 원반형에 비해 중심각막에 MMC가 더 깊게 확산되는 것을 막아 각막내피세포 독성을 피했기 때문으로 설명하고 있다. 본 연구에서도 각막내피세포의 독성을 최소화 하며 MMC의 효과를 동일하게 얻을 수 있는 결과를 얻기 위해 MMC를 원반형과 고리형으로 나누어 침액 하였으며 원반형 및 고리형 모두 PTK 단독 시행한 군에 비해 각막혼탁이나 각막세포의 수가 감소되었으며, 특히 고리형의 경우 원반형에 비해 장기적으로도 각막혼탁의 정도와 각막세포의 증식이 안정적으로 관찰되었다.

동일초점현미경(confocal microscopy)를 이용한 연구에서 각막손상 후 전부기질의 각막세포의 재생은 주변부 각막 전부기질에서의 이동으로 인한 것임이 밝혀졌으며, vital fluorescent probe를 이용한 연구에서도 주변부 각막세포의 구심성 이동이 보고 되었다(Chew 와 Kaufman, 1992; Kratz-Owens 등, 1992). 따라서 본 연구에서 사용한 고리형 MMC 침액 방법은 주변부 각막세포의 중심부로 구심성 이동을 막아 결론적으로 각막교원질의 형성 및 각막 혼탁을 줄일 수 있는 방법으로 연구 결과 술 후 4주 째에는 고리형 및 원반형으로 MMC를 침액 시킨 군 모두에서 PTK 단독 시행한 군에 비해 유의하게 각막 혼탁이 감소하였으며($p < 0.001$), 수술 후 12주($p = 0.081$) 및 24주($p = 1.000$)에는 대상의 수가 적어 통계적으로 유의한 결과를 얻지는 못했으나, PTK 단독 시행한 군보다 고리형 및 원반형으로 MMC를 침액 시킨 군이 각막 혼탁이 적은 경향이 있음을 알 수 있었다. 또한 고리형의 경우 수술 후 4주 이 후 grade 2 이상의 각막혼탁을 보인 경우는 없었으나 원반형은 수술 후 4주째 11안 중 3안, 수술 후 12주째 7안 중 1안이 grade 2 이상의 각막혼탁을 보였다. 따라서 본 연구 결과 고리형의 경우 원반형과 비교할 때 장기적으로도 안정적으로 적은 각막혼탁 정도를 보여주고 있음을 알 수 있었다. 각막세포의 수는 술 후 4주, 12주 째에는 PTK 단독 시행 군에 비해서는 고리형 및 원반형 모두 유의한 감소가 있었으며($p < 0.001$), 술 후 24주 째에는 마찬가지로 PTK 단독 시행 군에서 각막세포의 수가 가장 많았고 여전히 고리형은 PTK 단독 시행 군에 비해 각막세포의 수의 유의한 감소가 있었던 반면($p = 0.026$), 원반형은 PTK 단독 시행 군과 유의한 차이는 없었다

($p=0.208$). 이는 고리형의 경우에서 각막세포의 재활성화, 구심성 이동 및 콜라겐 침착이 원반형에 비해 억제 되었음을 알 수 있는 소견 이었다(Jain 등, 2001).

본 연구에서는 기존의 연구에서 가장 안정적이라 평가되어진 0.02% MMC 를 2분간 침액 시킨 후 50ml의 평형용액으로 충분히 세척하여 잔류되어지는 양 을 줄여준 후 각막과 접촉방법에 따라 원반형과 고리형으로 나누어 6개월간의 장기 관찰 후 그 효과를 평가한 결과 각막혼탁이나 각막세포의 활성화를 막기 위해서는 고리형이 원반형에 비해 그 효과가 떨어지지 않으면서 MMC에 의한 부작용을 줄일 수 있는 효과적인 방법이라고 할 수 있었다.

V. 결 론

본 연구는 PRK 후 생길 수 있는 각막혼탁을 줄이고 현재 흔히 사용되고 있는 MMC의 억제 부작용을 최소화 하면서 그 효과를 최대화 시킬 수 있는 방법을 알고자 하여 기존의 연구에서 가장 안정적이라 평가되어진 0.02% MMC를 2분간 침액 시킨 후 50ml의 평형용액으로 충분히 세척하여 잔류되어지는 양을 줄여주었다. 더불어서 MMC에 의한 침액 부위를 원반형과 고리형으로 나누어 그 효과를 수술 후 6개월 까지 장기 관찰한 결과 고리형은 수술 후 4주 째 이후 grade 2 이상의 각막 혼탁이 없었으나, 원반형은 수술 후 4주째 grade 2가 11안 중 3안, 수술 후 12주 째 grade 3가 7안 중 1안에서 관찰되어 각막혼탁의 억제면에서 고리형의 경우가 원반형에 비해 효과가 더 나은 분포를 보여 주었으며 수술 후 24주 까지 장기적으로도 각막세포의 증식 또한 고리형이 원반형에 비해 안정적으로 억제되었다. 따라서 고리형으로 MMC를 침액 시키는 방법은 각막 중심부와 MMC의 접촉을 피하므로 빛의 산란을 감소시키고, 세포 독성을 줄여 주어 억제에 의한 부작용을 줄이면서 결과면에서도 효과적인 방법이므로 추후에 고도근시 환자에서 PRK의 시술을 할 때 고리형으로 MMC를 침액 시키는 방법이 추천되어 질 수 있다.

참고문헌

1. 위원량, 이원량, 김미금, 박인숙, 김민석: 배양 각막 간질세포에서 Mitomycin-C에 의한 Apoptosis. *대한안과학회지* 41:332-325, 2000
2. 이제혁, 안재홍, 유호민, 이동호: 가토에서 Mitomycin C가 엑시머 레이저 각막 절삭술 후 창상치유에 미치는 영향. *대한안과학회지* 44:2876-2884, 2003
3. 이지은, 이종수: MMC에 의한 각막실질세포 증식억제에 관한 연구. *대한안과학회지* 43:2519-2526, 2002
4. 정도영, 이종수: Mitomycin C의 가토각막상피세포 독성에 대한 실험적 연구. *대한안과학회지* 40:926-932, 1999
5. Ando H, Ido T, Kawai T, Yamamoto T, Kitazawa T: Inhibition of corneal epithelial wound healing: A comparative study of mitomycin C & 5-fluorouracil. *Ophthalmology* 99:1809-1814, 1992
6. Chew SJ, Beuerman RW, Kaufman HE: In vivo assessment of corneal stromal toxicity by tandem scanning confocal microscopy. *Lens Eye Toxic Res* 9:275-292, 1992
7. Carones F, Vigo L, Scandola E, Vacchini L: Evaluation of the prophylactic use of mitomycin-C to inhibit haze formation after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* 28:2088-2095, 2002
8. Garty DS, Muir MGK, Marshall J: Photorefractive keratectomy with argon fluoride excimer laser: a Clinical study. *Refract Corneal Surg* 7:4204-35, 1991
9. Hashemi H, Taheri SMR, Fotouhi A, Kheiltash A: evaluation of the

prophylactic use of mitomycin-C to inhibit haze formation after photorefractive keratectomy in high myopia: A Prospective clinical Study. *BMC Ophthalmology* 4:12-16, 2004

10. Kim TI, Tchah HW, Lee SY, Sung K, Cho BJ, Kook MS: Mitomycin C-induced reduction of keratocytes and fibroblasts after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:2978-2984, 2004

11. Kratz-Owens KL, Hageman GS, Schanzlin DJ: An in-vivo technique for monitoring keratocyte migration following lamellar keratoplasty. *Refract Corneal Surg* 8:230-234, 1992

12. Lee DA, Lee TC, Coretes AE, Kitada S: Effect of mithramycin, mitomycin, daunorubicin and bleomycin on human subconjunctival fibroblast attachment and proliferation. *Invest ophthalmol Vis Sci* 31:2136-2144, 1990

13. Majmudar PA, Fosrtot SL, Dennis RF, Nirankari VS, Damiano RE, Brenart R, Epstein RJ: Topical mitomycin-C for superepithelial fibrosis after refractive corneal surgery. *Ophthalmology* 107:89-94, 2000

14. Marshall J, Trokel S, Rothery S, Kruneger RR: Photoablative reprofiling of the cornea using an excimer laser: Photorefractive keratectomy. *Laser ophthalmol* 1:21-48, 1986

15. Obart DPS, Lohmann C, Klonos G: The effect of topical corticosteroid and plasmin inhibitors on refractive outcomes, haze and visual performance after photorefractive keratectomy: A Prospective, randomized observer-masked study. *Ophthalmology* 101:1565-1574, 1994

16. Pfister RR: Permanent corneal edema resulting from the treatment of PTK corneal haze with mitomycin. *Cornea* 23:744-747, 2004

17. Jain S, McCally RL, Connelly PJ, Azar DT: Mitomycin C reduces corneal light scattering after excimer keratectomy. *Cornea* 20:45-49, 2001
18. Schipper I, Suppelt C, Gebbers JO: Mitomycin C reduces scar formation after excimer laser(193nm) photorefractive keratectomy in rabbits. *Eye* 11:649-645, 1997
19. Seiler T, Derse M, Plan T: Repeated excimer laser treated after photorefractive keratectomy. *Arch Ophthalmol* 110:1230-1233, 1992
20. Seiler T, McDonnell PJ: Excimer laser photorefractive keratectomy. *Surv Ophthalmol* 40:89-118, 1995
21. Shear NA, Barak M, Daya S, Demarchi J, Tucci A, Hardten DR, Frantz JM, Eiferman RA, Parker P, Telfair WB: Excimer laser photorefractive keratectomy in high myopia. *Arch Ophthalmol* 110:935-943, 1992
22. Talamo JH, Gollamudi S, Green WR, De La Cruz Z, Filatov V, Stark WJ: Modulation of corneal wound healing after excimer laser keratomileusis using topical mitomycin C and steroids. *Arch Ophthalmol* 109:1141-1146, 1991
23. Wakaki S, Marumo H, Tomioka k: Isolation of new fraction of antitumor mitomycin. *Antibio Chemother* 8:228-40, 1958
24. Xu H, Liu S, Xia X, Huang P, Wang P, Wu X: Mitomycin C reduces haze formation in rabbits after excimer laser photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* 17:342~349, 2001

- ABSTRACT -

**Effect of Mitomycin C with different application method on
rabbit corneal wound healing process after Excimer laser
phototherapeutic keratectomy**

Young Ju Lew

Department of Medical Sciences
The Graduate School, Ajou University
(Supervised by Professor Ho Min Lew)

We investigated the effect of Mitomycin C with different application method on corneal haziness and keratocyte proliferation after Excimer laser phototherapeutic keratectomy in rabbit.

PTK was performed in both eyes of 18 New Zealand white rabbits using Technolas 217TM. After laser removal of the epithelium(40 um depth with the optical zone 6.0mm), stromal ablation of 100 um dept with the optical zone 6.0mm was performed. 12 eyes underwent PTK alone, 24 eyes underwent intraoperative application of filter paper(annular shape or discoid shape) soaked 0.02% Mitomycin C(MMC) for 2 minutes. Corneal haziness was described with slit lamp biomicroscope at postoperative 4, 12 & 24weeks. Histologic findings of keratocyte proliferation were observed at postoperative 4, 12 & 24 weeks after enucleation.

At 4 weeks, significantly more corneal haziness were found in PTK alone group than PTK with both MMC group. But no difference was found between annular MMC group and discoid MMC group. At 12 and 24 weeks, statistically significant difference was not obtained between groups, but MMC applied group showed less corneal haziness than PTK alone group. The

number of keratocytes were more decreased in MMC group than PTK alone group at 4 & 12 weeks, but at 24 weeks annular MMC group had more significant less number of keratocytes than PTK alone or PTK with discoid MMC group.

In conclusion, for reducing corneal haziness or keratocytes proliferation, the application of annular MMC after PTK was not less effective but also more safty compared to PTK with discoid MMC.

Key Words: Excimer laser, Mitomycin C, Corneal haziness, Keratocyte