

전층각막이식술 후 각막상피결손을 동반한 거부반응에서 양막이식술의 치료 효과

전남대학교 의과대학 안과학교실, ¹산부인과학교실, ²전남대학교 의학연구소, ³서남대학교 의과대학 안과학교실

강인성 · 김윤하^{1,2} · 송태복^{1,2} · 조재갑³ · 박영걸² · 윤경철^{2*}

Efficacy of Amniotic Membrane Transplantation on Corneal Graft Rejection with Epithelial Defects after Penetrating Keratoplasty

In-Seong Kang, Yoon-Ha Kim^{1,2}, Tae-Bok Song^{1,2}, Jae-Kap Cho³, Yeoung-Geol Park² and Kyung-Chul Yoon^{2*}

Departments of Ophthalmology, ¹Obstetrics and Gynecology, Chonnam National University Medical School and Hospital, ²Chonnam National University Research Institute of Medical Sciences, ³Department of Ophthalmology, Seonam Hospital, Seonam University, Gwangju, Korea

We report the therapeutic effect of amniotic membrane transplantation (AMT) on corneal graft rejection with epithelial defects after penetrating keratoplasty (PKP). Twelve patients (12 eyes) who had epithelial and subepithelial graft rejection received human AMT, and they were compared with other 12 patients (12 eyes) who were treated with medication only. There were no differences in age, sex, time to rejection after PKP, and epithelial defect area between two groups. Time to epithelial healing and time to disappearance of rejection sign were significantly shorter in the AMT group (11.8 ± 4.9 days and 15.5 ± 6.3 days) than in the medical treatment group (19.0 ± 3.7 days and 20.8 ± 3.4 days) ($p=0.01$, $p=0.02$). AMT is effective in promoting epithelialization and improving inflammation of epithelial rejection after penetrating keratoplasty.

Key Words: Amniotic membrane transplantation; Graft rejection; Keratoplasty, Penetrating

서 론

수술 기술의 진보와 함께 각막 보존의 방법, 봉합사, 수술 기구 등이 크게 발달하면서 각막이식은 성공률의 증가와 함께 가장 많이 시행되는 이식술로 발전하였다. 그러나 전층각막이식술 후 수여자의 면역반응에 의해 발생하는 거부반응은 각막이식 실패의 가장 큰 원인이 된다.¹ 각막이식의 동종

이식 거부반응에 대한 기전은 아직 명확히 밝혀지지 않았으나 동종이식 거부반응에 있어서 세포매개 면역반응이 중요한 역할을 한다고 믿어지며, T 림프구가 effector cell로서 역할을 한다는 사실도 잘 알려져 있다. 각막이식의 거부반응을 줄이기 위해서 지금까지 스테로이드, 면역억제제 등을 일반적으로 사용하고 있으나, 이러한 약제들의 장기 사용은 많은 부작용을 유발하여 심각한 문제가 발생하기도 한다.²

안과 분야에서 양막은 1995년 Kim 등³이 처치와 보관 방법을 발전시킨 후 심하게 손상 받은 안구표면의 재건 등을 위해 다양하게 사용되고 있으며, 각막상피세포의 이주 및 분

게재결정: 2008년 11월 5일

*교신저자: 윤경철, 501-757, 전남대학교 의과대학 안과학교실, Phone: 062-220-6742, FAX: 062-227-1642, E-mail: kcyoon@chonnam.ac.kr

화를 촉진하고 염증세포의 침윤을 억제하여 신생혈관의 생성을 감소시키며 T 세포의 작용을 억제하는 효과도 있음이 알려져 있다.⁴ 그러나 현재까지 전충각막이식술 후 발생한 거부반응의 치료에 양막이식술을 이용하거나 양막이식술 후 치료 효과에 대한 보고는 없었다. 이에 저자들은 전충각막이식술 후 이식거부반응을 보인 환자에서 양막이식술을 이용한 치료 효과에 대해 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

전충각막이식술 후 각막상피결손을 동반한 상피 및 상피하 거부반응이 발생한 환자 중 스테로이드와 싸이클로스포린 A의 국소 및 전신적 투여와 더불어 양막이식술을 시행 받고 3개월 이상 추적관찰이 가능하였던 12명 12안을 양막이식을 시행하지 않고 고식적인 약물 치료만을 시행 받은 12명 12안과 비교하여 치료결과를 조사하였다. 거부반응의 진단은 세극등현미경 검사를 이용하였고, 안통, 충혈, 시력 장애 등의 자각증상과 더불어 검사상 각막이식편에서 거부반응선이 나타나거나, 전방염증반응을 동반한 각막침윤과 각막부종이 나타날 경우로 정의하였다. 그리고 각막이식의 실패는 원인에 관계없이 치료에도 불구하고 이식편이 혼탁해지는 것으로 정의하였다. 동반된 상피결손의 진단은 각막에 형광색소(Hagg-Streit AG CH-3098, Koniz, Switzerland) 염색을 하고 세극등현미경의 코발트블루 광원을 이용하여 관찰하였고, 상피결손의 범위는 Image J (NIH, USA) 프로그램을 이용하여 전체 각막의 표면적에 대한 결손 부위의 표면적을 퍼센트로 산출하여 그 비로 나타내었다.

수술시 사용된 양막은 혈청검사 상 HIV, B형 또는 C형 간염, 매독, 결핵 등의 감염성 질환이 없다고 밝혀진 건강한 산모에서 동의를 얻은 다음, 제왕절개 수술 중 적출된 태반에서 기존에 보고된 방법으로 채취하였다.³ 태반으로부터 양막을 벗겨낸 후, streptomycin, penicillin, gentamycin, amphotericin B 등을 혼합한 균형식염수용액(balanced saline solution)으로 세척하여 혈병을 제거하였다. 박리된 양막을 nitrocellulose 종이에 상피 및 기저막이 위로 향하게 하여 펼쳐 부착시킨 후, Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM) 배지와 글리세롤을 1:1로 혼합한 용액에 넣어 -70°C 에 보존하였다. 양막이식술은 보관된 양막을 원형절제기(trephine blade)를 이용하여 직경 8.0 mm의 원형으로 자른 다음, 점안마취 하에 기저막 부위가 위쪽으로 향하게 하

여 10-0 nylon으로 각막에 봉합하였다. 수술시 3, 6, 9, 12시 방향에 4개의 단속봉합을 한 후 1개의 연속봉합을 실시하여 양막이 각막기질에 단단히 부착되도록 하였다. 약물 치료로 수술 전 후 스테로이드를 체중에 따라 하루에 30 mg에서 60 mg을 경구 투여하였고, 스테로이드(1% prednisolone acetate) 점안액과 1% 싸이클로스포린 A 점안액을 1시간 간격으로 국소 점안하였다. 치료 효과는 수술 후 상피결손 및 거부반응의 소실까지의 기간으로 평가하여 두 군간에 비교하여 조사하였다.

통계는 SPSS 12.0에서 Mann-Whitney U 검사를 이용하였고, p값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

전충각막이식술을 시행받은 후 각막상피결손을 동반한 상피와 상피하 거부반응을 보여 양막이식술을 시행받은 12명(12안) 중 남자는 10명(10안), 여자는 2명(2안)이었고, 약물 치료만을 시행받은 12명은 8명(8안)이 남자였고, 4명(4안)은 여자였다. 거부반응 발생시의 평균 연령은 양막이식술 군은 51.6 ± 13.2 세(23~75세)였고, 약물치료 군은 50.8 ± 7.1 세(38~64세)였으며, 각각 전충각막이식술 후 평균 460 \pm 932일(6~2,981일)과 428 \pm 868일(12~2,942일)이 경과한 후 거부반응이 발생하여 두 군간의 통계적인 차이는 보이지 않았다($p=0.84$). 각막이식술을 시행받은 원인으로는 양막이식술 군에서는 지질각막병증 4안(33.3%), 단순포진각막

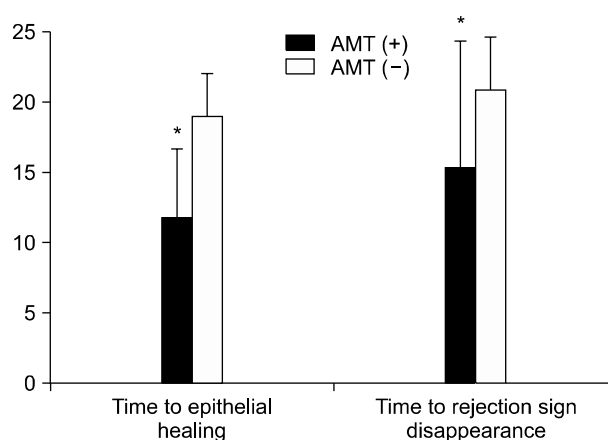


Fig. 1. Comparison of time to epithelial healing and time to disappearance of rejection sign between the amniotic membrane transplanted group and the medical treatment group.

염 3안(25.0%), 원추각막 2안(16.7%), 외상성각막혼탁 1안(8.3%), 수포각막염 1안(8.3%), 그리고 진균각막염 1안(8.3%)이었다. 약물치료 군에서는 지질각막병증 3안(25.0%), 단순 포진각막염 5안(41.7%), 원추각막 1안(8.3%), 외상성각막 혼탁 1안(8.3%), 수포각막염 2안(16.7%)이었다. 거부반응 진단 시 양막이식술군에서는 전체 각막면적의 평균 $37.8 \pm 20.2\%$ (15~88%)의 각막상피결손을 동반하여 $39.3 \pm 11.6\%$ (21~59%)의 각막상피결손을 동반한 약물치료 군과는 통

계적인 차이를 보이지 않았다($p=0.41$). 양막이식술 후 양막의 자연소실이나 발사까지의 기간은 평균 9.4 ± 4.7 일(3~21일)이었다. 수술 후 상피결손과 거부반응의 증상이 소실 되기까지의 기간은 양막이식술을 시행한 군에서는 각각 평균 11.8 ± 4.9 일(5~21일)과 15.5 ± 6.3 일(7~28일)로, 약물 치료를 시행하였던 군에서의 19.0 ± 3.7 일(14~28일)과 20.8 ± 3.4 일(16~32일)에 비해 빠른 치유를 보였다($p=0.01$, $p=0.02$) (Fig. 1, 2). 진균각막염으로 각막이식을 시행받은

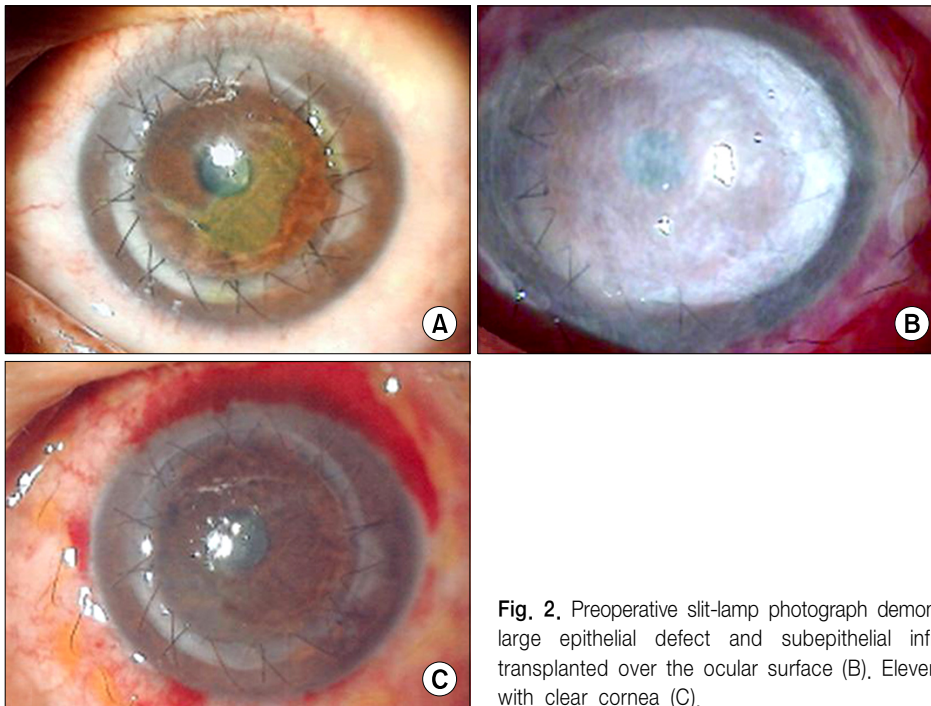


Fig. 2. Preoperative slit-lamp photograph demonstrated epithelial graft rejection showing large epithelial defect and subepithelial infiltration (A). Amniotic membrane was transplanted over the ocular surface (B). Eleven days after operation, the lesion healed with clear cornea (C).

Table 1. Characteristics of patients who were treated with amniotic membrane transplantation (AMT) and immunosuppressive agents for corneal graft rejection

No.	Age (years)	Sex	Diagnosis before penetrating keratoplasty	Time to rejection after PKP (days)	Area of epithelial defects (%)	Time to AM melting or stitch out (days)	Time to epithelial healing (days)	Time to disappearance of rejection sign (days)
1	43	F	Lipid keratopathy	6	61	14	14	19
2	23	M	Keratoconus	88	15	3	5	12
3	46	M	Lipid keratopathy	46	32	11	17	17
4	57	M	Traumatic corneal opacity	64	49	11	13	19
5	57	M	HSK	1,756	22	6	13	15
6	53	M	Fungal ulcer	235	88	5	—	—
7	64	M	HSK	2,981	31	10	15	21
8	33	M	Keratoconus	53	40	7	7	7
9	58	M	Lipid keratopathy	29	37	8	8	8
10	57	F	Lipid keratopathy	13	24	21	21	28
11	75	M	HSK	32	29	9	9	9
12	53	M	Bullous keratopathy	219	25	8	8	15

AM, amniotic membrane; HSK, herpes simplex keratitis; PKP, penetrating keratoplasty.

Table 2. Characteristics of patients who were treated with immunosuppressive agents only for corneal graft rejection

No.	Age (years)	Sex	Diagnosis before penetrating keratoplasty	Time to rejection after PKP (days)	Area of epithelial defects (%)	Time to epithelial healing (days)	Time to rejection sign disappearance (days)
1	52	M	HSK	12	25	14	16
2	48	M	Bullous keratopathy	50	33	20	25
3	44	M	Lipid keratopathy	20	21	22	23
4	52	F	HSK	190	46	16	18
5	55	F	HSK	56	37	17	18
6	64	M	Bullous keratopathy	127	59	20	21
7	46	M	Lipid keratopathy	44	42	16	17
8	38	F	Keratoconus	1,290	55	14	17
9	44	M	Traumatic corneal opacity	2,945	38	19	19
10	55	M	HSK	45	29	28	32
11	61	M	HSK	297	37	20	24
12	50	F	Lipid keratopathy	65	49	19	21

HSK, herpes simplex keratitis; PKP, penetrating keratoplasty.

후 거부반응으로 양막이식술을 시행받았던 1안에서는 이식 실패가 발생하여 재차 각막이식술을 시행하였다(Table 1).

고 찰

각막이식의 거부반응은 면역 매개성 염증반응으로서 각막 이식 실패의 가장 흔한 원인으로 알려져 있으며, 수술 3주 후부터 발생하고 대개 3년 이후에는 잘 발생하지 않으나, 20년 후에도 나타날 수 있다.⁵ 상피형 거부반응은 이식 후 며칠 이내에 형광염색되는 회고 굵은 용기된 선이 공여각막의 주변부에 주로 나타나는데, 드물게 각막의 주변부에서 중심부로 진행되는 경우도 관찰되며, 많은 경우에서 상피하 간질내로의 흰색 침착물을 동반한다.⁶ 각막상피하 침윤은 동그란 상피하 침착물이 유행각결막염의 후유증 같은 형태로 공여각막에 국한되어 나타나며 상피형 또는 내피형 거부반응과 전방의 염증반응을 동반하기도 한다.⁶ Figueiredo 등⁷은 상피형 거부반응은 내피형 거부반응만큼 중요하게 여겨지지 않으나 임상적으로 보다 중요하게 여겨지는 내피형 거부반응에 앞서 나타나거나 동시에 나타날 수 있으므로 주의 깊게 경과를 관찰하여야 하며, 실제적으로 전층각막이식을 받은 대부분의 경우에서 발생한다고 보고하였다. Alldredge 등⁶은 상피형 거부반응이 각막이식술을 시행받은 후 1개월에서 13개월까지 평균 3개월에 발생한다고 하였으나 저자들의 경우에는 6일에서 99개월까지 평균 약 15개월로 거부반응의 발생까지 시간이 더 길었다.

각막상피결손은 각막이식 후의 합병증으로 발생하며, 각

막이식 실패의 원인이 되기도 한다.⁸ 각막상피결손이 발생하고 치유되는 과정에서 안구건조, 각막감각저하, 점안 약제 등의 영향으로 상처의 회복이 늦어지고 지속각막상피결손이 발생할 수 있으며, 각막용해를 유발하기도 한다.⁹ 이런 합병증들의 발생을 줄이기 위해서는 각막상피의 빠른 재생과 이주가 중요하므로 안구 표면이 건조되지 않도록 인공눈물, 파이프록틴, 성장인자, 치료용 연성콘택트렌즈 등이 이용되며, 양막이식술이 시행되기도 한다.¹⁰⁻¹²

양막은 태반의 가장 안쪽에 위치하는 70 μ m 두께의 반투명한 막으로 면역학적 불활성물질로 두꺼운 기저막과 무혈관성 기질로 구성되어 있으며 기저막은 4형 콜라겐, 라미닌, 알파6/베타4 인테그린으로 구성되어 세포의 분열 및 이동을 촉진할 수 있다. 또한 인터루킨-1, 인터루킨-8, 다형핵 백혈구 엘라스타아제, Gro-alpha (Growth regulated oncogene-alpha), 호중구 활성 펩티드-78 등을 하향조절하여 항염작용을 나타내고, 염증세포를 흡착하여 염증세포의 고사를 유발시킨다.¹⁰ 또한 섬유아세포의 분화를 지연시켜 반흔형성을 억제하며 눈꺼풀에 의해 각막에 직접적으로 가해지는 물리적 자극을 줄이고 각막의 외부 노출을 막으며 안구 표면의 건조를 막아준다.^{9,13} 이러한 특성으로 인해 안과적으로 지속적인 각막상피결손의 치료와 광범위한 익상편 절제 또는 안구표면신생물 절제 후의 결막과 각막 등의 안구표면 재건, 부분적인 각막윤부줄기세포결핍이나 녹내장 수술 등에 이용되고 있다.¹⁴ Chen 등²²은 양막이식술은 활동기의 감염이나 염증을 동반한 상태에서도 각막상피의 치유를 촉진시킨다고 하였고, 본 연구에서도 전층각막이식술 후 상피와 상피하 거부반응을 보인 환자 중 양막이식을 시행한 군에서

각막상피결손과 거부반응의 증상이 소실되기까지의 기간이 고식적 치료만 시행하였던 군에 비하여 의미있게 짧았다.

각막이식의 거부반응을 줄이기 위해서 주로 스테로이드가 사용되어지고 있으나, 스테로이드를 장시간 사용할 경우 안압상승, 창상치유의 지연, 백내장 등의 합병증이 발생할 수 있다. 때문에 면역억제제와 스테로이드를 병용하여 사용함으로써 거부반응을 줄이고 스테로이드의 부작용을 줄이려는 시도가 계속되어 왔다.^{15,16} 현재 면역억제제로 싸이클로스포린 A를 비롯하여 tacrolimus, azathioprine 등이 사용되고 있다.¹⁷⁻¹⁹ 이들 중 싸이클로스포린 A는 다른 약제에 비하여 독성과 작용기전 등이 비교적 잘 알려져 있어 주로 사용되고 있으나 이 또한 고혈압, 신독성과 간독성 등의 부작용을 일으킬 수 있어 투여 시 전신적인 부작용의 발생을 잘 관찰해야 한다.¹¹ 이에 비하여 양막이식술은 전신적 및 국소적인 부작용이 없고 치료기간을 줄여 상대적으로 스테로이드와 면역억제제의 사용량과 기간을 단축시켜 약물로 인한 부작용을 줄이는 데 도움을 줄 수 있다. 진균각막염으로 인해 각막이식을 시행받은 경우 진균 감염이 재발할 수 있는 위험률이 높다.¹² 본 연구에서도 진균각막염으로 각막이식을 시행받았던 1안에서 각막이식 거부반응 및 진균의 감염의 재발 등으로 인해 치료에 반응하지 않고 이식실패가 발생하였다.

결론적으로 각막이식술 후 발생한 상피 결손을 동반한 거부반응 환자의 치료에 있어 양막이식술은 각막 표면의 거부반응과 염증반응을 줄이고 상피화를 촉진시키는 효과적인 방법이라고 생각된다.

References

1. Foster CS, Azar DT, Dohlman CH. The cornea. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2005;1035-61.
2. Fraunfelder FW. Corneal toxicity from topical ocular and systemic medications. *Cornea* 2006;25:1133-8.
3. Kim JC, Tseng SC. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea* 1995;14:473-84.
4. Hori J, Wang M, Kamiya K, Takahashi H, Sakuragawa N. Immunological characteristics of amniotic epithelium. *Cornea* 2006;25(10 Suppl 1):S53-8.
5. Mayer DJ, Casey TA. Reducing the risk of corneal graft rejection. A comparison of different methods. *Cornea* 1987;6:261-8.
6. Alldredge OC, Krachmer JH. Clinical types of corneal transplant rejection. Their manifestations, frequency, preoperative correlates and treatment. *Arch Ophthalmol* 1981;99:599-604.
7. Figueiredo FC, Nicholls SM, Easty DL. Corneal epithelial rejection in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:729-36.
8. Prabhasawat P, Tesavibul N, Komolsuradej W. Single and multilayer amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defect with and without stromal thinning and perforation. *Br J Ophthalmol* 2001;85:1455-63.
9. Spigelman AV, Deutsch TA, Sugar J. Application of homologous fibronectin to persistent human corneal epithelial defect. *Cornea* 1987; 6:128-30.
10. Lee SH, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997;123:303-12.
11. Dios E, Herreras JM, Mayo A, Blanco G. Efficacy of systemic cyclosporine A and amniotic membrane on rabbit conjunctival limbal allograft rejection. *Cornea* 2005;24:182-8.
12. Yao YF, Zhang YM, Zou P, Zhang B, Qiu WY, Tseng SC. Therapeutic penetrating keratoplasty in severe fungal keratitis using cryopreserved donor corneas. *Br J Ophthalmol* 2003;87:543-7.
13. Li DQ, Lee SB, Tseng SC. Differential expression and regulation of TGF-beta1, TGF-beta2, TGF-beta3, TGF-betaRI, TGF-betaRII and TGF-betaRIII in culture human corneal, limbal, and conjunctival fibroblasts. *Curr Eye Res* 1999;19:154-61.
14. Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol* 1999;83:399-402.
15. Hill JC. The use of cyclosporine in high-risk keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1989;107:506-10.
16. Lim BK, Tchah HW. Effect of topical FK506 at experimental corneal xenograft. *J Korean Ophthalmol Soc* 1998;39:847-54.
17. Xu KP, Wu Y, Zhou J, Zhang X. Survival of rabbit limbal stem cell allografts after administration of cyclosporin A. *Cornea* 1999;18:459-65.
18. Dua HS, Azuara-Blanco A. Allo-limbal transplantation in patients with limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol* 1999;83:414-9.
19. Holland EF, Djalilian AR, Schwartz GS. Management of aniridic keratopathy with keratolimbal allograft: a limbal stem cell transplantation technique. *Ophthalmology* 2003;110:125-30.
20. Kim EC, Kim MS. Graft rejection in penetrating keratoplasty. *J Korean Ophthalmol Soc* 2003;44:289-95.
21. Feldman ST. The effect of epidermal growth factor on corneal wound healing: practical considerations for therapeutic use. *Refract Corneal Surg* 1991;7:232-9.
22. Chen HC, Tan HY, Hsiao CH, Hyang SC, Lin KK, Ma DH. Amniotic membrane transplantation for persistent corneal ulcers and perforations in acute fungal keratitis. *Cornea* 2006;25:564-72.