

각막 기질창상에서 양막이 각막상피두께와 반결합체의 형성에 미치는 영향

윤용준 · 곽주영 · 최시환

충남대학교 의과대학 안과학교실

목적: 각막 기질창상 치유에서 양막이 각막상피두께와 반결합체의 형성에 미치는 영향에 대해 연구해 보고자 하였다.
대상과 방법: 미세각막 절삭기를 이용해 토끼의 각막에 직경 9 mm, 두께 130 μm 의 각막 기질창상을 만든 후 양막반을 덮은 군, 치료용 콘택트렌즈를 사용한 군과, 치료를 하지 않은 대조군으로 나누어 각막 상피두께의 변화와 반결합체 형성을 비교하였다. 2주와 4주 후 H&E 염색을 하여 각막 상피두께를 관찰하였고, 전자현미경으로 반결합체의 형성을 관찰하였다.
결과: 창상치유 2주째 양막군의 각막 상피두께는 $95.3 \pm 6.3 \mu\text{m}$ 로 $76.4 \pm 5.1 \mu\text{m}$ 와 $68.3 \pm 6.1 \mu\text{m}$ 인 콘택트렌즈군과 대조군과 비교해 유의하게 두꺼웠다. 또한 반결합체 형성에서도 양막군은 다른 두 군과 비교해 보다 많은 반결합체를 형성하였다. 그러나 창상치유 4주째에는 세 군 간에 각막상피두께와 반결합체 형성에 차이가 없었다.
결론: 창상치유 2주째 양막군이 콘택트렌즈군과 대조군에 비해 각막상피 두께가 두꺼웠으며 더 많은 반결합체를 형성하였다. 따라서 각막 기질창상의 초기 치유에 양막반을 사용하는 것은 효과적인 치료법이라 생각한다.
(대한안과학회지 2011;52(5):589-596)

Davis¹가 1910년 최초로 양막으로 피부이식을 시도하였고, 1995년 Kim and Tseng²이 토끼눈에 양막의 이종이식을 시도함으로써 안과에서 양막이 사용되기 시작하여 현재 까지 양막은 다양한 영역에서 사용되고 있다. 양막은 태아막의 가장 안쪽에 존재하는 70 μm 두께의 생체막으로 기저막에 부착된 한 층의 상피세포층과 혈관이 없는 두꺼운 간질층으로 구성되어 있으며 많은 성장인자와 사이토카인, 항염증성물질 등을 함유하고 있어서 각막 창상치유를 촉진하고 염증반응을 억제하며, 신생혈관 및 상흔반응을 억제한다.³⁻⁸ 또한 조직적합항원이 표현되지 않아 이식을 하여도 거부반응이 없다.^{2,9-11} 임상에서 각막 기질층까지 노출된 환자에게 양막반(amniotic membrane patch)을 시행한 후 세극등현미경 검사에서 창상치유과정 중 각막상피두께가 두꺼워지는 것을 관찰하였다. 이에 본 실험에서는 토끼 각막에 각막기질 창상을 만들고 양막반을 시행하거나, 치료용 콘택트렌즈를 덮어주거나, 항생제 점안 이외는 아무런 처치

를 하지 않는 세 가지 방법에 따른 창상치유 초기과정에서 각막상피 두께와 정상 각막상피 유지에 필수적인 유착복합체 중 반결합체의 형성을 비교하였다.

대상과 방법

인위적 각막기질창상

흰색 토끼를 ketamine 30 mg/kg (Ketamine[®], Korea United Pharm, Seoul, Korea), xylazine 5 mg/kg (Rompun[®], Bayer, Seoul, Korea) 근육주사와 0.5 % proparacaine hydrochloride (Alcan[®], Alcon, USA) 점안으로 마취하였다. 모든 눈은 수술 전에 휴대용 세극등 현미경으로 각막과 결막의 상태를 검사하여 질병의 유무를 확인하였다. 개검기로 눈을 벌리고 제 3안검을 젖힌 후 좌안 각막중심에 미세각막도(BDK3000, Becton & Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)를 이용하여 직경 9.0 mm, 두께 130 μm 의 각막절편을 만들었고 경첩의 방향은 코쪽으로 위치하게 하였다. 이후 각막 절편을 경첩 쪽으로 젖혀놓은 상태에서 경첩을 15번 수술용 칼(Bard-Parker blade, AILEE, Busan, Korea)을 이용하여 요철 없이 균일한 표면으로 절제한 후 각막절편을 제거하여 인위적으로 각막기질창상을 만들었다(Fig. 1).

각막절편제거 후 양막반을 시행할 양막군, 콘택트렌즈로 덮을 콘택트렌즈군과 항생제 점안 이외는 아무런 처치도 하

■ 접수 일: 2009년 8월 24일 ■ 심사통과일: 2010년 12월 6일
■ 게재허가일: 2011년 3월 8일

■ 책임저자: 최 시 환

대전시 중구 대사동 640
충남대학교병원 안과
Tel: 042-280-7609, Fax: 042-255-3745
E-mail: shchoi@cnu.ac.kr

* 이 논문의 요지는 2006년 대한안과학회 제96회 학술대회에서 구연으로 발표되었음.

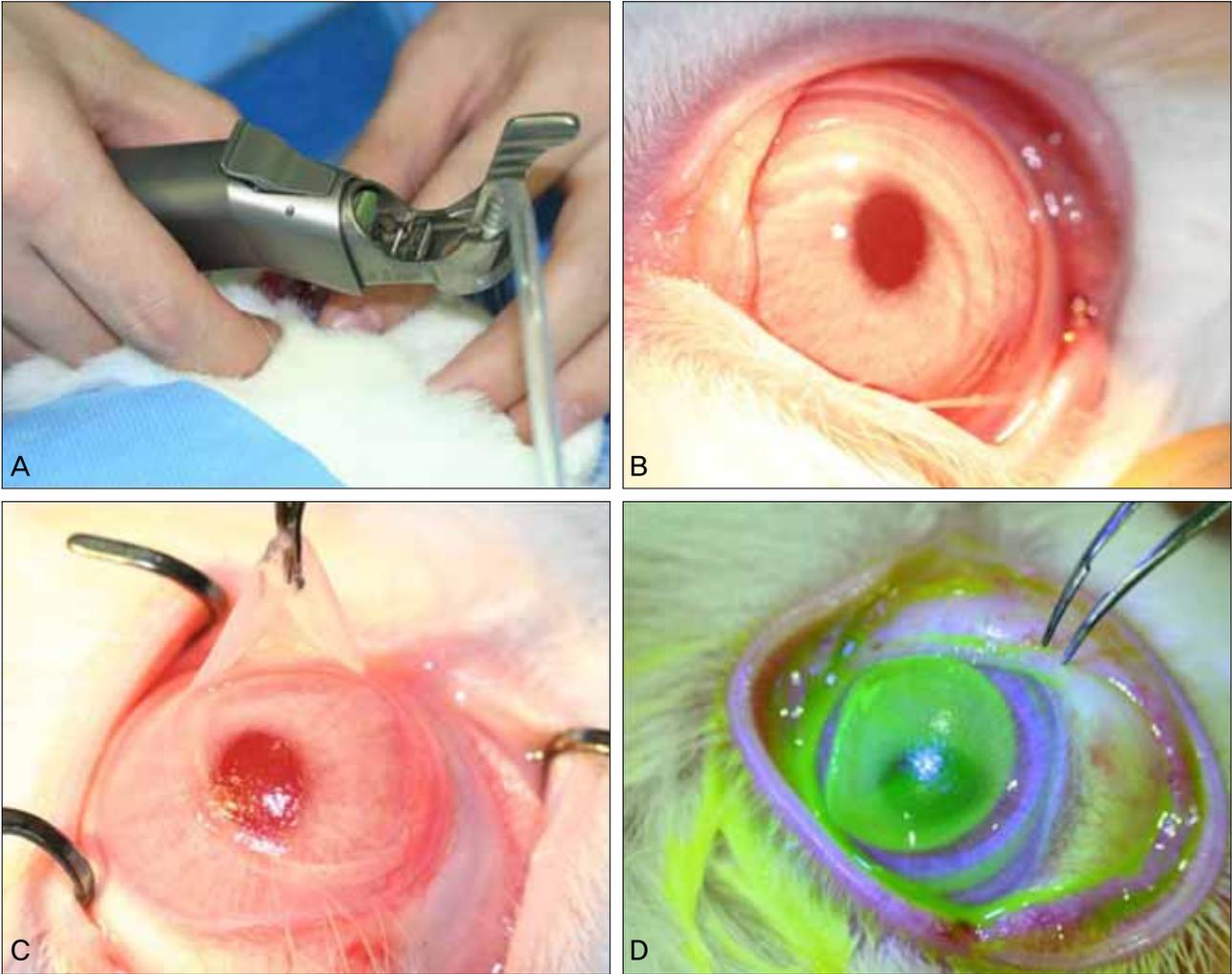


Figure 1. Photographs showing the making and removal of the corneal wound (diameter 9 mm, depth 130 μ m). (A) Creating the corneal wound flap with Microkeratome (BDK3000, Becton & Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA). (B) Corneal flap. (C) Lifting of the corneal wound flap and cutting the hinge of the corneal flap using a blade. (D) Fluorescein dye staining after corneal flap removal.

지 않을 대조군 등 세 군으로 분류하여 각 군당 20안씩 나누었다. 이후 각 군을 10안씩 나누어 2주, 4주에 조직학적으로 관찰하였다.

양막의 준비

건강한 산모가 제왕절개로 출산하고 난 뒤 얻은 태반을 무균상태로 운반한 후 멸균된 용기에 넣어 생리식염수 1,000 ml에 5 mg의 Amphotericin B (Fungizone[®], Subsidiary of Bistol-Myers Squibb company, New York, NY, USA)가 함유된 용액으로 두 번 세척하고, 생리식염수 1000 ml당 160 mg의 Gentamicin (Gentamicin[®], Kukje Pharm, Seongnam, Korea)이 함유된 용액으로 두 번 세척하였다.

에틸렌옥사이드가스(ethylene Oxide gas)로 멸균된 nitro-cellulose membrane (NC membrane, pore size: 0.45 μ m, Schleicher & Schuell, Dassel, Germany)을 바닥막쪽에 붙였다. NC membrane에 붙은 양막을 3×3 cm의 크기로 자른 뒤 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, Welgene, Daegu, Korea)과 glycerol이 1:1의 비율로 혼합된 양막보관액에 넣어 -80°C의 초저온 냉동고에서 보관하였다. 사용할 때에는 사용 1시간 전에 꺼내 실온에서 해동시킨 후 D-PBS (Dulbecco's phosphate buffered saline, Welgene)에 3회 이상의 세척과정을 거쳐 남아 있는 보관액을 제거한 후 사용하였다.

기질창상 처치 방법

양막군

동결 보존된 양막을 실온에서 해동하여 14 mm 직경의 원형으로 자른 후, 양막의 상피쪽이 아래로 향하게 하여 각막이 완전히 덮이도록 엮고 3시, 6시, 9시, 12시 방향의 4곳에 10-0 nylon으로 결막에 단속봉합 후 나머지 부위는 연속봉합을 하였고, 이차세균감염을 예방하기 위하여 8시간 간격으로 0.3% 오픈로사신(OCuflox[®], Samil, Seoul, Korea)을 시술안인 좌안에 점안하였다. 양막과 봉합사는 시술 2주 후 각막상피가 벗겨지지 않도록 제거하였다(Fig. 2).

콘택트렌즈군

각막이 완전히 덮이도록 직경 14 mm의 치료용 콘택트렌즈(Focus[®], CIBA Vision, Atlanta, GA, USA)를 덮어주었고 양막군과 동일하게 항생제를 점안하였으며 치료용 콘택트렌즈는 시술 2주 후 제거하였다.

대조군

양막군과 동일하게 항생제를 점안하였으며, 안대 등의 다른 처치는 하지 않고 자연치유 되게 하였다.

조직학적인 염색(Hematoxylin & Eosin stain)

각 군에서 2주, 4주 동안 창상치유과정을 거친 후, ketamine 30 mg/kg, xylazine 5 mg/kg를 근육주사 하여 마취



Figure 2. Photograph of the rabbit cornea after amniotic membrane patch graft. Arrowheads indicate the original amniotic membrane patch margin (diameter 14 mm) and arrows indicate 10-0 nylon sutures.

한 대상가토를 희생시킨 직후 안구를 적출하였다. 적출된 안구의 각막 윤부에서 1.0 mm 후방의 공막에 절개를 시행하여 공막을 포함한 각막표본을 획득하였다. 획득한 조직을 유리구슬 위에 올려두고 각막의 정중앙과 경첩이 있던 자리의 중간지점에서 각막의 전층을 잘라내었다. 조직은 각막 표면에 직각으로 잘라내었고 각각 1/2의 크기로 나누어 그중한 조각은 10% 중성포르말린(neutral buffered Formalin)에 넣어 고정하였다. 18시간 이상 고정된 뒤, 파라핀 포매하여 각막 정중앙의 잘려진 부위와 평행하게 조직을 4 µm의 두께로 잘라 알코올을 이용하여 파라핀을 제거하고 함수시켰다. 조직 절편에 헤마톡실린(Harris hematoxylin)을 이용하여 핵염색을 하고, 산성알콜(acid-alcohol)과 암모니아수(ammonia water)를 이용하여 여분의 염색약을 제거하고 핵을 청색화(blueing)시킨 후, 에오신(eosin)으로 세포질 염색을 하였다. 세포질 염색까지 끝낸 조직은 알코올에 넣어 탈수시킨 후, 봉입하여 첫 번째 절편 중심을 광학현미경으로 관찰하였다. 염색표본은 각 표본당 3부분에서 100배의 광학현미경 배율에서 각막상피 두께를 측정하였다.

전자 현미경

나머지 1/2의 각막조직 절편의 각막 중심에서 5×5 mm 크기의 조직절편을 얻었다. 조직을 3% glutaraldehyde와 1% osmium tetroxide로 고정하고 알코올로 탈수한 후 propylene oxide로 침투시켰다. Epon에 조직을 포매하여 초미세박절기(ultramicrotome, MT-XL, RMC products, Tucson, AZ, USA)으로 semithin section하고 toluidine blue로 염색하여 관찰부위를 선정한 후, 초미세박절기로 각막조직을 둘로 나눈 절단면에 평행하게 90 nm 두께로 절편을 만들고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하였다. 투사전자현미경(T-600, Hitachi, Tokyo, Japan)으로 첫 번째 절편 중심의 상피기저세포와 기저막사이의 반결합체 형성을 2주, 4주째 45,000배 배율에서 관찰하였다. 각 표본당 3부분에서 반결합체의 수를 측정하였다.

Table 1. The comparison of corneal epithelial thickness among the 3 groups 2 mm from the limbus (Corneal flap did not involve this area)

Groups	n	Epithelial thickness (mean ± SD, µm)	p-value*
Control group	9	51.4 ± 4.3	
AM group [†]	9	50.3 ± 3.3	0.73
CL group [‡]	8	52.6 ± 3.3	

*Kruskal-Wallis test; [†]AM = amniotic membrane; [‡]CL = contact lens.

통계처리 방법

각 군 간에 각막상피두께와 형성된 반결합체 수의 비교에는 Kruskal-Wallis test를 이용하였으며, 동일한 군에서 각막창상 후 2주와 4주째의 각막상피 두께의 비교에는 Wilcoxon signed rank test를 이용하였다. 모든 경우에 있어서 *p*-value가 0.05 미만인 경우를 통계적으로 의미 있는 것으로 하였다.

결 과

창상 치유 중 콘택트렌즈군 가토 1안에서 상흔으로 심한 각막흔락이 형성되었으며, 대조군 가토 1안에서는 각막신생혈관을 동반한 염증이 발생하였다. 양막군과 대조군에서 각각 한 마리씩의 토끼가 술 후 2주 이전에 돌연사하여 실험대상에서 제외하였다.

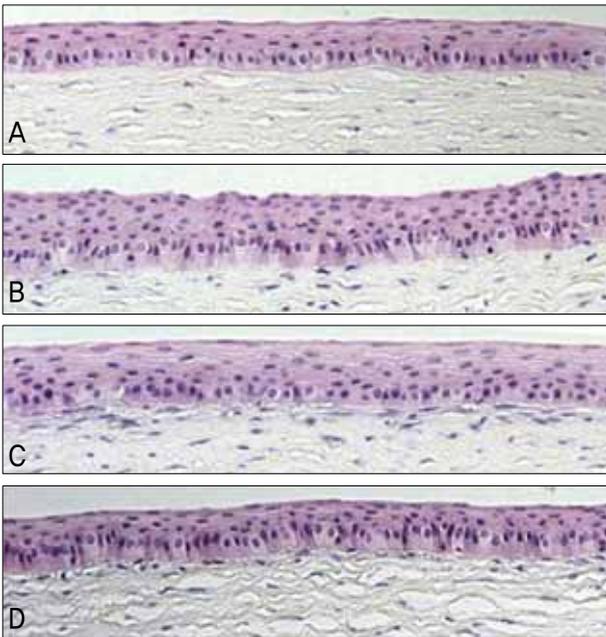


Figure 3. Light microscopy of the central cornea at 2 weeks. (A) Normal cornea. (B) Amniotic membrane group. (C) Contact lens group. (D) Control group. Corneal epithelial thickness in the amniotic membrane group is thicker than the other groups (Hematoxylin-Eosin stain, original magnification $\times 100$).

세 가지 군의 윤부 근처 각막상피 두께 비교

절편을 만들지 않은 부위인 코쪽 윤부에서 2 mm 떨어진 각막에서 술 후 2주째 세 가지 실험군의 각막상피두께를 측정하였다. 양막군은 $50.3 \pm 3.3 \mu\text{m}$, 콘택트렌즈군은 $52.6 \pm 3.3 \mu\text{m}$, 대조군은 $51.4 \pm 4.3 \mu\text{m}$ 으로 각 군 간의 각막상피 두께는 통계학적으로 차이가 없었다($p=0.73$, Table 1).

2주 후 각막상피 두께 비교

2주 후 세 군의 각막상피는 모두 재생되었다. 세 군의 세포의 층수는 정상 각막의 세포 층수와 같거나 증가된 것을 확인할 수 있었고 그중 양막군에서 다른 군에 비해 1-2층 더 증가되었다. 하지만 각 군에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 3). 세 군의 각막상피 두께를 살펴보면 양막군은 $95.3 \pm 6.3 \mu\text{m}$, 콘택트렌즈군은 $76.4 \pm 5.1 \mu\text{m}$, 대조군은 $68.3 \pm 6.1 \mu\text{m}$ 으로 각 군 간의 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p=0.012$, Table 2).

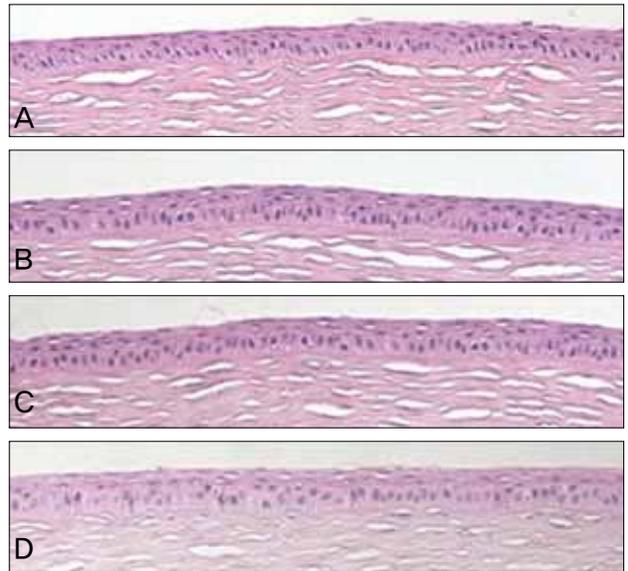


Figure 4. Light microscopy of central cornea at 4 weeks. (A) Normal cornea. (B) Amniotic membrane group. (C) Contact lens group. (D) Control group. Corneal epithelial thickness is similar in all groups (Hematoxylin-Eosin stain, original magnification $\times 100$).

Table 2. The comparison of the central corneal epithelial thickness among the 3 groups

Time	Control group (mean \pm SD, n = 8)	AM group* (mean \pm SD, n = 9)	CL group† (mean \pm SD, n = 9)	<i>p</i> -value‡
2 weeks	68.3 \pm 6.1	95.3 \pm 6.3	76.4 \pm 5.1	0.012
4 weeks	51.4 \pm 4.7	50.0 \pm 6.5	51.8 \pm 3.9	0.612

*AM = amniotic membrane; †CL = contact lens; ‡Kruskal-Wallis test.

4주 후 각막상피 두께 비교

각 군의 각막상피의 두께는 양막군에서 $50.0 \pm 6.5 \mu\text{m}$, 콘택트렌즈군에서 $51.8 \pm 3.9 \mu\text{m}$, 대조군에서 $51.4 \pm 4.7 \mu\text{m}$ 였다. 각 군간의 통계적 유의성은 없었으며($p=0.612$, Table 2) 정상적인 각막상피의 두께와 각 군 간을 비교했을 때 각막상피의 두께와 층수의 차이는 없었다(Fig. 4).

2주와 4주째의 각막상피 두께의 비교

각 군의 각막상피의 두께를 살펴보면, 양막군에서 중심각막상피의 두께는 처치 2주째 $95.3 \pm 6.3 \mu\text{m}$ 이고, 4주째 $50.0 \pm 6.5 \mu\text{m}$ 로 얇아졌으며, 이는 통계학적으로 유의한 것으로 나타났다($p=0.012$). 콘택트렌즈군에서도 각막상피의 두께는 $76.4 \pm 5.1 \mu\text{m}$ 에서 $51.8 \pm 3.9 \mu\text{m}$ 로 얇아졌으며, 이는 통계학적으로 유의하였다($p=0.012$). 대조군에서도 위의 두 군에서와 유사하게 각막상피두께는 $68.3 \pm 6.1 \mu\text{m}$ 에서 $51.4 \pm 4.7 \mu\text{m}$ 로 줄어들었으며 통계학적으로 유의하였다($p=0.012$, Fig. 5).

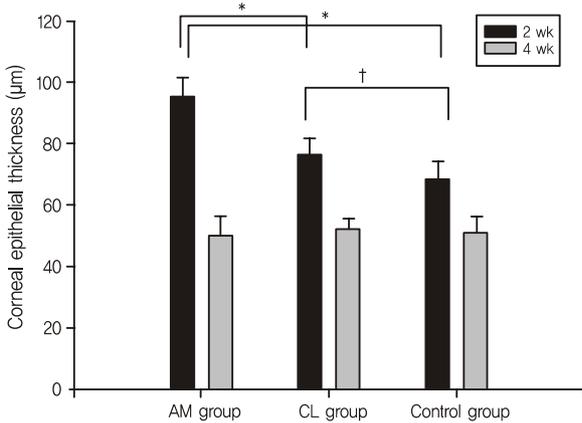


Figure 5. Comparison of central corneal epithelial thickness among the 3 groups at 2 weeks and 4 weeks. In all groups, the central corneal epithelial thickness was significantly thicker at 2 weeks than at 4 weeks. *Corneal epithelial thickness in the AM group is significantly thicker than the CL and control group at 2 weeks. †Corneal epithelial thickness in the CL group is significantly thicker than the control group. AM = amniotic membrane; CL = contact lens.

Table 3. The comparison of hemidesmosome numbers in the central cornea among the 3 groups at 2 weeks

Groups	n	Hemidesmosomes (number/100 µm, mean ± SD)	p-value*
Control group	9	0.80 ± 0.2	0.002
AM group†	9	1.95 ± 0.3	
CL group‡	8	1.45 ± 0.2	

*Kruskal-Wallis test; †AM = amniotic membrane; ‡CL = contact lens.

각막상피에서의 반결합체의 형성

세 가지의 다른 방법으로 각막상피를 재생시킨 후 2주, 4주가 되었을 때 각막상피세포의 반결합체의 형성에 대하여 조사해 보았다. 2주째에서는 세 가지의 실험군 모두에서 유

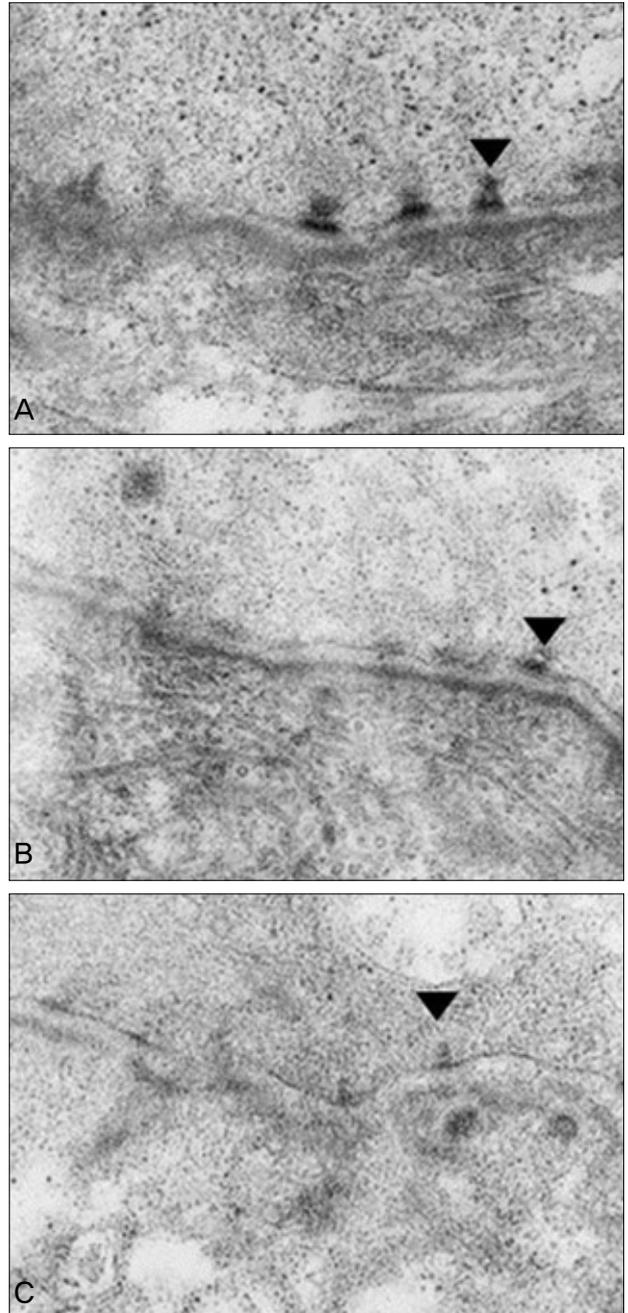


Figure 6. Transmission electron photomicrographs (original magnification $\times 45,000$) of the central cornea at 2 weeks. (A) Morphologically established hemidesmosome is found in the amniotic membrane group. (B) Morphologically identifiable hemidesmosomes appear in the contact lens group. (C) Hyperactive formation of adhesion complex in the control group.

착복합체가 형성되기 시작했으며, 반결합체는 각막중심 100 μm 길이에서 양막군, 1.95 ± 0.3 개, 콘택트렌즈군, 1.45 ± 0.2 개, 대조군, 0.8 ± 0.2 개로 양막군에서 가장 많은 유착복

합체를 형성한 것을 확인할 수 있었으며 이는 통계학적으로 유의했다($p=0.002$, Fig. 6, Table 3). 그러나 4주째에서 반결합체가 서로 연결되어 개수를 파악할 수 없어 통계적인 유의성을 구할 수 없었다(Fig. 7).

고 찰

정상적인 각막상피는 전체 각막두께의 약 10%를 차지하며 5-7층의 비각질화된 중층편평상피세포층으로 이루어져 있다. 각막상피는 부위에 따라 다른 형태학적 특징을 가지고 있는데 표면에 있는 2층으로 이루어진 표면세포, 중간에 있는 날개세포, 맨 아래층에 있는 단층의 입방원주형인 바닥세포로 구성되어 있다. 바닥세포는 세포분열 능력을 가지고 있다.

각막상피와 각막기질이 함께 상처를 입었을 경우, 2-3일 만에 각막상피의 재생이 일어나며, 각막상피와 각막기질 내에 존재하고 있는 각막기질세포의 상호작용에 의해 파괴된 기질 부위가 새로운 교원질로 대체되면서 기질의 재생이 이루어진다.¹² 이러한 경우 빠른 상피 재생효과를 유도하고 물리적으로 각막을 보호하기 위하여 fibronectin, plasmin, TGF- β 1 등의 각막상피의 재생을 촉진시키는 물질을 투여하거나 치료용 콘택트렌즈, 양막반 등이 이용되고 있다.^{2,13-16}

양막은 많은 종류의 사이토카인과 성장인자, 화학주성인자 등을 함유하고 있어서 각막의 재생에 많은 영향을 끼친다. 각막상피 결손 시 양막을 덮어 주면 각막상피의 재생을 증진시키고 이동을 촉진시키며, TGF- β 전달체계를 억제하여 상흔생성을 줄여준다. 또한 tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) 1, 2, 3, 4 Interleukin (IL)-10과 IL-1 receptor antagonist 등과 같은 항염증 cytokine 등을 함유하고 있어서 염증 반응을 줄여주고, cystein E, cystein proteinase inhibitor 등과 같은 항세균성, 항바이러스성 cytokine을 함유하고 있어서 술 후 감염의 위험성을 줄여준다.¹⁶⁻²¹

각막의 치료에 있어서 가장 중요한 물리적 요인으로 상피세포에 지속적인 산소공급, 각막상피의 충분한 수화, 상피세포에 마찰을 주는 요인의 제거를 들 수 있다.²² 치료용 콘택트렌즈는 각막 창상치료 과정에서 상피세포에 마찰을 주는 요인은 제거할 수 있으나 양막에 비해 상피세포의 지속적인 산소공급과 충분한 수화가 낮으며,^{23,24} 대조군의 경우 각막 창상치료 과정에서 상피세포에 마찰을 주는 요인을 제거할 수 없어 치료과정 중 상피가 탈락되어 양막군이나 콘택트렌즈군에 비해 각막상피두께가 얇아졌으리라 유추할 수 있었다. 이에 반해 양막반을 시행한 군에서는 양막의 산

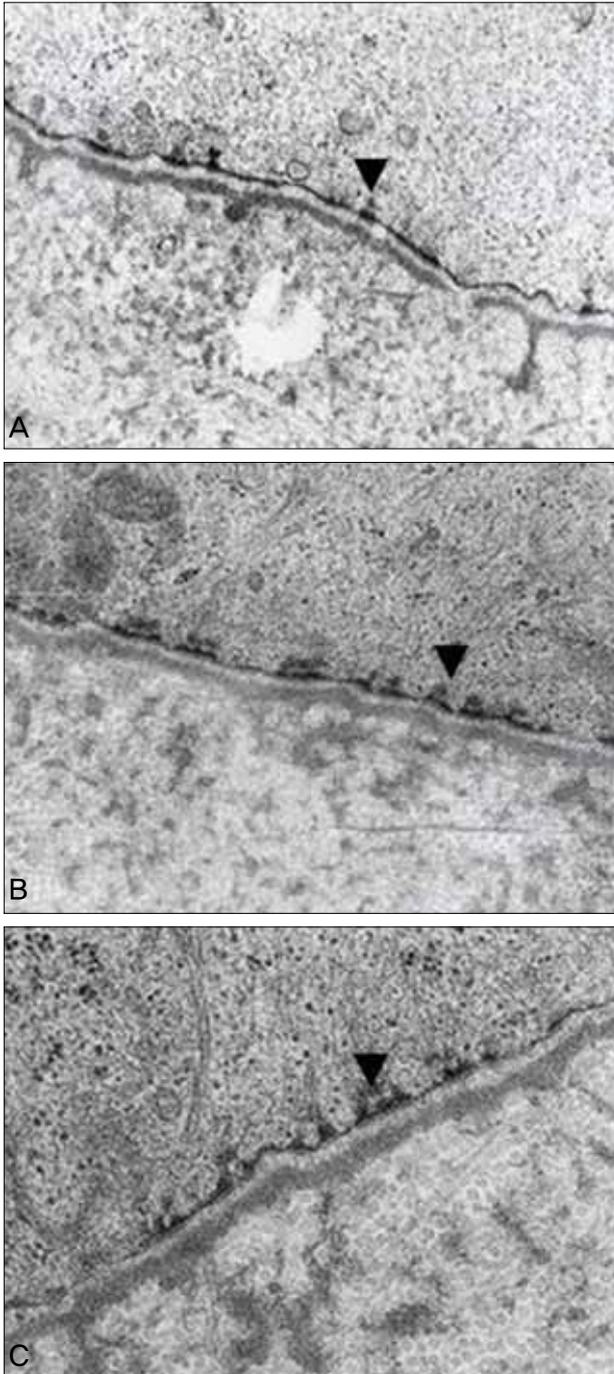


Figure 7. Transmission electron photomicrographs (original magnification $\times 45,000$) of the central cornea at 4 weeks. (A) Amniotic membrane group. (B) Contact lens group. (C) Control group. Morphologically established hemidesmosomes (arrowheads) are detected in all groups. There are no significant differences in adhesion complex formation among the 3 groups.

소투과도와 각막상피에 대한 수화도가 치료용 콘택트렌즈에 비해 높고, 상피세포에 마찰을 주는 요인을 제거할 수 있으며, 양막 자체에 함유하고 있는 많은 보조물질들의 영향으로 창상 후 2주째에는 각막상피두께가 가장 두꺼워졌으리라 추측된다. 이러한 이유로 양막반을 시행한군에서 2주째 양막반을 제거하고 4주째 관찰한 결과 양막이나 콘택트렌즈가 대조군에서와 마찬가지로 마찰을 주는 요인을 제거하지 못하고, 양막군의 경우 양막에서 공급받던 물질들을 공급받지 못하게 됨으로써, 세 개의 군에서 각막상피의 두께가 유사해진 것으로 보인다. 또한 Woo et al²³의 연구에서는 각막 기질창상 치유에서 양막을 사용한 군에서 대조군에 비해 각막실질세포의 수가 2주 이전에는 증가하고 2주 이후에는 감소한다고 하였다. 양막이 각막실질세포의 수를 증감시키는 것과 같이 양막은 각막상피에도 같은 영향을 미치는 것으로 생각해볼 수 있다.

각막상피세포와 기질 사이에 존재하는 유착복합체는 정상적인 각막상피 유지에 필수적이다.²⁵ 각막상피와 기질이 함께 손상을 입거나 다른 이유로 유착복합체가 소실된 후 완전히 재생되는 데에는 몇 달에서 몇 년의 시간이 걸린다고 알려져 있다. 그러나 토끼의 경우는 각막상피 손상 후 1주부터 형태적으로 구별 가능한 반결합체와 고정원 섬유, 고정반이 나타나기 시작하며 2주째에는 형태학적으로 뚜렷해지고, 크기와 개수, 깊이 등이 증가하여 4주째에는 서로 융합된 반결합체가 관찰되어진다고 알려져 있다.²⁶ 본 연구에서도 각 군의 유착복합체 형성을 2주째와 4주째에 전자현미경으로 확인하였는데, 2주째에 양막군에서 다른 두 군보다 많은 반결합체를 확인할 수 있었다.

본 결과에서 알 수 있듯이 각막기질창상 후 세 가지의 방법으로 처치하여 2주째에 중심각막상피의 두께는 세 군 모두에서 상처를 입지 않은 정상적인 각막상피에 비하여 두꺼워져 있으나, 그중 양막군이 콘택트렌즈군이나 대조군에 비해 유의하게 더 두꺼워진 것을 알 수 있었다. 또한 이때에 상피와 기질의 부착에 기여하는 반결합체도 콘택트렌즈군이나 대조군에 비하여 양막군에서 더 많은 숫자가 형성되어 있는 것을 알 수 있었다. 그러나 4주째에는 세 군에서 각막상피의 두께와 반결합체의 숫자가 유사해졌다. 이에 각막기질창상의 초기 치유에 양막반을 덮어주면, 보다 많은 각막상피세포가 증식하고 반결합체가 형성되어 빠른 치유를 기대할 수 있고 지속적으로 각막상피결손을 유발할 수 있는 여러 질환에서 양막반을 이용하여 초기에 빠른 각막 상피의 재생 및 유지에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각한다. 다만, 양막반이 각막의 정상화 및 투명성에 미치는 영향에 대하여 다각적으로 이해하기 위하여 추후 연구에서 각막상피의 두께, 반결합체뿐 아니라 integrin, fibronectin, laminin 등의

발현과 각막 실질 혹은 상피의 혼탁도를 비교하는 연구가 필요할 것으로 생각한다.

참고문헌

- 1) Davis JW. Skin transplantation with a review of 550 cases at the Johns Hopkins Hospital. *Johns Hopkins Med J* 1910;15:307.
- 2) Kim JC, Tseng SC. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit corneas. *Cornea* 1995;14:473-84.
- 3) Meller D, Pires RT, Mack RJ, et al. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology* 2000;107:980-9.
- 4) Kruse FE, Rohrschneider K, Völcker HE. Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* 1999;106:1504-10.
- 5) Chen HJ, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol* 2000;84:826-33.
- 6) Kim JS, Kim JC, Hahn TW, Park WC. Amniotic membrane transplantation in infectious corneal ulcer. *Cornea* 2001;20:720-6.
- 7) Solomon A, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation after extensive removal of primary and recurrent pterygia. *Ophthalmology* 2001;108:449-60.
- 8) Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, Tsubota K. Multilayered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmol* 2001;131:324-31.
- 9) van Herendael BJ, Oberti C, Brosens I. Microanatomy of the human amniotic membranes. A light microscopic, transmission, and scanning electron microscopic study. *Am J Obstet Gynecol* 1978;131:872-80.
- 10) Dua HS, Azuara-Blanco A. Amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol* 1999;83:748-52.
- 11) Kim JC, Tseng SC. The effects on inhibition of corneal neovascularization after human amniotic membrane transplantation in severely damaged rabbit corneas. *Korean J Ophthalmol* 1995;9:32-46.
- 12) Kim SY. *Korea External Eye Disease Society. Cornea*, 2nd ed. Seoul: Ilchokak, 2005;2-3.
- 13) Kim YH, Lee DH, Lew HM. The comparison of the corneal epithelial healing according to treatment modalities in rabbit. *J Korean Ophthalmol Soc* 1999;40:2683-92.
- 14) Kang KM, Wee WR. The use of ascorbic acid after excimer laser photorefractive keratectomy in rabbits. *J Korean Ophthalmol Soc* 1996;37:1620-5.
- 15) Sohn JH, Choi SK, Lee JH. The effect of disposable bandage contact lenses on time and velocity of corneal epithelial healing after myopic epikeratoplasty. *J Korean Ophthalmol Soc* 1995;36:1422-8.
- 16) Fernandes M, Sridhar MS, Sangwan VS, Rao GN. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Cornea* 2005;24:643-53.
- 17) Li H, Niederkorn JY, Neelam S, et al. Immunosuppressive factors secreted by human amniotic epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:900-7.
- 18) Cooper LJ, Kinoshita S, German M, et al. An investigation into the composition of amniotic membrane used for ocular surface

- reconstruction. *Cornea* 2005;24:722-9.
- 19) Gomes JA, Romano A, Santos MS, Dua HS. Amniotic membrane use in ophthalmology. *Curr Opin Ophthalmol* 2005;16:233-40.
- 20) Wilson SE, He YG, Weng J, et al. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res* 1996;62:325-7.
- 21) Tseng SC, Li DQ, Ma X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol* 1999;179:325-35.
- 22) Kim JC. *A Practical Guide to Ocular Surface Disorders*, 1st ed. Seoul: Naeweh Haksool, 2006;20-3.
- 23) Woo HM, Kim HS, Kweon OK, et al. Effects of amniotic membrane on epithelial wound healing and stromal remodeling after excimer laser keratectomy in rabbit cornea. *Br J Ophthalmol* 2001;85:345-9.
- 24) Yoshita T, Kobayashi A, Sugiyama K, Tseng SC. Oxygen permeability of amniotic membrane and actual tear oxygen tension beneath amniotic membrane patch. *Am J Ophthalmol* 2004;138:486-7.
- 25) Zagon IS, Sassani JW, Ruth TB, McLaughlin PJ. Epithelial adhesion complexes and organ culture of the human cornea. *Brain Res* 2001;900:205-13.
- 26) Xu YG, Choi SH, Ko SM, et al. Morphology and adhesion complex of cultured epithelium, on amniotic membrane in vitro and in vivo. *J Korean Ophthalmol Soc* 2006;47:160-70.

=ABSTRACT=

Effect of Amniotic Membrane on Epithelial Thickness and Formation of Hemidesmosomes after Corneal Stromal Wound

Yong Jun Yun, MD, Joo Young Kwag, MD, Si Hwan Choi, MD, PhD

Department of Ophthalmology, Chungnam National University College of Medicine, Daejeon, Korea

Purpose: To investigate the effects of an amniotic membrane patch on corneal epithelial thickness and formation of hemidesmosomes during corneal stromal wound healing.

Methods: A stromal wound 9 mm in diameter and 130 μm in depth was created on rabbit cornea using a microkeratome. The changes in corneal epithelial thickness and hemidesmosome formations were compared between the amniotic membrane, contact lens, and control groups. Changes in the corneal epithelium were examined using H&E staining and hemidesmosome formation was examined using an electron microscope at 2 and 4 weeks after flap removal.

Results: Two weeks after treatment, the corneal epithelial thickness was $95.3 \pm 6.3 \mu\text{m}$ in the amniotic membrane group being significantly thicker than $76.4 \pm 5.1 \mu\text{m}$ in the contact lens group and $68.3 \pm 6.1 \mu\text{m}$ in the control group. Furthermore, more hemidesmosome formations were observed in the amniotic membrane group compared to the other 2 groups. However, there were no significant differences in corneal epithelial thickness or hemidesmosome formation among the 3 groups at week 4.

Conclusions: The amniotic membrane group showed a thicker corneal epithelium and more hemidesmosome formation than the other 2 groups 2 weeks after flap removal. Thus, the use of an amniotic membrane patch appears to be effective in the early stages of corneal stromal wound healing.

J Korean Ophthalmol Soc 2011;52(5):589-596

Key Words: Amniotic membrane, Contact lens, Corneal epithelial thickness, Hemidesmosome

Address reprint requests to **Si Hwan Choi, MD, PhD**
Department of Ophthalmology, Chungnam National University Hospital
#640 Daesa-dong, Jung-gu, Daejeon 301-747, Korea
Tel: 82-42-280-7609, Fax: 82-42-255-3745, E-mail: shchoi@cnu.ac.kr