

트리판 블루가 배양된 섬유주세포의 생존에 미치는 영향

Effect of Trypan Blue on the Survival of Cultured Trabecular Meshwork Cells

강혜리 · 황석진 · 김재우

Hye Ri Kang, MD, Seok Jin Hwang, MD, Jae Woo Kim, MD, PhD

대구가톨릭대학교 의과대학 안과학교실

Department of Ophthalmology, Catholic University of Daegu School of Medicine, Daegu, Korea

Purpose: To evaluate the effects of trypan blue (TB) on the survival of cultured human trabecular meshwork cells (HTMCs).

Methods: Primarily cultured HTMCs were exposed to 0.05, 0.10 or 0.50% TB for 1, 5 or 30 min. Cellular survival was assessed using the MTT assay and degree of apoptosis was analyzed with flow cytometry using annexin-V/propidium iodide double staining.

Results: Long-term exposure or high concentration of TB decreased the survival of HTMCs ($p < 0.05$). In flow cytometric analysis, exposure to 0.50% TB for 30 min increased the degree of apoptosis ($p < 0.05$). Commercial TB decreased cell survival after exposure for 5 min and increased the degree of apoptosis after exposure for 30 min ($p < 0.05$).

Conclusions: TB may cause cellular damage of cultured HTMCs and apoptosis could be the underlying mechanism. In TB-assisted cataract surgery, TB should be used for the shortest time possible and removed completely.

J Korean Ophthalmol Soc 2017;58(3):327-332

Keywords: Apoptosis, Flow cytometry, Survival, Trabecular meshwork cell, Trypan blue

안과영역에서 백내장, 망막유리체, 각막, 녹내장의 수술 등을 시행할 때 조직을 좀 더 명확하게 인지하기 위하여 플루오레신, 인도시아닌 그린, 젠티안 바이올렛 등이 생체염색물질로 사용되고 있다.¹ 특히 백내장 수술에서 안저반사가 불분명할 때 많이 사용되고 있는데, 그중 트리판 블루(trypan blue, TB)는 성숙백내장 수술 시 수정체전낭절개술을 시행할 때 전낭의 시야를 확보하기 위해 많이 사용되고 있다.^{2,3}

TB는 비교적 안전한 것으로 알려져 있지만 각막내피세포

포의 경우 농도가 높거나 노출시간이 길 경우 독성을 나타낸다.^{4,5} 수정체상피세포에서는 0.025%에서 5.0 mg/mL의 농도에서는 세포의 생존에 유의한 영향을 미치지 않지만 0.0125%의 TB는 수정체상피세포의 밀도를 유의하게 감소시킨다는 보고도 있다.^{6,7}

섬유주세포는 녹내장에서 방수유출로의 조절에 중요한 역할을 하는데, 섬유주의 손상이나 변성으로 인해 방수유출로의 저항이 증가되면 개방각녹내장을 유발할 수 있는 기전이 된다.^{8,9} 기존의 보고들에서 TB가 안압을 유의하게 상승시킨다는 보고는 없지만^{2,10-12} 노출시간이나 농도에 따라 섬유주세포의 생존이나 기능에 영향을 미칠 가능성은 있다. 또한 TB는 수정체상피세포의 탄력성을 감소시키므로¹³ 섬유주에 노출될 경우 농도와 노출시간에 따라 섬유주의 기능에도 영향을 미칠 수 있을 것이다.

따라서 TB가 섬유주에 노출될 경우 안압을 상승시킬 가능성이 있으나 TB가 인체의 섬유주세포에 미치는 영향에

■ Received: 2016. 7. 28. ■ Revised: 2016. 8. 17.

■ Accepted: 2017. 1. 31.

■ Address reprint requests to **Jae Woo Kim, MD, PhD**
Department of Ophthalmology, Daegu Catholic University
Medical Center, #33 Duryugongwon-ro 17-gil, Nam-gu, Daegu
42472, Korea
Tel: 82-53-650-4728, Fax: 82-53-627-0133
E-mail: jwkim@cu.ac.kr

© 2017 The Korean Ophthalmological Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

관한 연구는 아직 자세히 되어 있지 않다. 본 연구에서는 사람의 섬유주세포를 일차배양하여 TB가 농도와 노출시간에 따라 인체의 섬유주세포의 생존에 미치는 영향과 그 기전을 알아보고자 하였다.

대상과 방법

세포배양

본 연구는 대구가톨릭대학교병원 의학윤리심의위원회 (institutional review board, IRB)의 승인을 받았고(승인번호: CR-16-097) 헬싱키 선언을 따라 시행되었다. 안구이식에 동의한 55세 환자로부터 안구은행에서 얻은 사후 6시간 이내에 적출한 안구의 전방각에서 섬유주를 벗겨내어 폴리라이신(Sigma, St. Louis, MO, USA)으로 처리한 배양접시에 옮긴 후 항생제(Gibco, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)와 15% 우태아혈청(Hyclone, ThermoScientific, Carlsbad, CA, USA)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium 배지(DMEM, Gibco, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 5% CO₂ 배양기에서 초대배양하였다. 섬유주세포가 이식된 조직편 주위로 자라나온 것을 확인한 후 섬유주조직의 이식편을 제거하고 배양을 계속하였으며 세포가 배양접시에 충만해지면 10% 우태아혈청(Hyclone, ThermoScientific)을 포함한 배지로 1:3의 비율로 트립신 처리하여 계대배양하였다.

약물처리

24 well 배양접시에 2×10^4 cells/mL의 농도로 각 well에 세포를 분주한 후 24시간 동안 배양기에 넣어 세포를 부착시킨 후 배지를 제거하고 나서 1% 혈청이 포함된 DMEM 배지를 이용하여 TB (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 0.05%, 0.1%, 0.5%의 농도로 단계적으로 희석한 후 1분, 5분, 30분간 각각 노출시켰다. 대조군은 염류용액을 사용하였으며, 백내장 수술용으로 상용으로 사용되는 0.06% TB인 VisionBlue (VB; DORC, Zuidland, Netherland)에도 노출시켰다.

MTT assay

세포의 생존에 대한 효과는 세포생존과 세포독성의 선별 검사로 흔히 이용되고 있는 발색검사의 일종인 3-[4, 5 -dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma, St. Louis, MO, USA) assay를 이용하였다.¹⁴ 약물처리한 세포의 배지에 MTT를 각 well당 100 µL씩 투여한 후 4시간 동안 정지배양하였다. 염류용액으로 씻어낸 후 dimethylsulfoxide를 각 well당 0.5 mL씩 넣어 10분 이상 흔들 다음 96-well 배양접시에 200 µL씩 옮겨 분광광도계

(FLUOstar OPTIMA, BMG labtech, Offenburg, Germany)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 세포의 생존 정도는 실험군의 값을 약물처리 하지 않은 대조군의 비로 나누어 백분율로 나타내었다.

Annexin-propidium iodide (PI) 이중염색을 이용한 유세포 분석

세포고사의 정도를 정량적으로 분석하기 위하여 상용의 kit (TACS Annexin V-FITC apoptosis detection kit, R & D systems, Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 annexin-V와 propidium iodide (PI)로 이중염색을 한 후 유세포분석을 시행하였다. 트립신 처리한 세포를 원심분리한 후 차가운 염류용액으로 세척한 다음 5 µL의 annexin V와 1 µL의 PI와 함께 100 µL의 세포부유액에 넣은 후 상온에서 15분간 배양하였다. 그 다음 400 µL의 완충액으로 부드럽게 섞은 후 유세포분석기(Gallios, Beckam Coulter, Brea, CA, USA)를 이용하여 fluorescence emission 530 nm와 575 nm 이상의 파장에서 유세포분석을 시행하였다.

통계적 처리

모든 실험은 3계대에서 5계대 사이의 세포를 이용하였고 3회 이상 반복하여 시행하여 평균과 표준오차로 나타내었다. 모든 실험에서 대조군은 약물처리를 하지 않은 군으로 하여 unpaired t-test를 이용하였으며 유의수준은 0.05로 정하였다.

결 과

세포배양

초대배양 7일째부터 섬유주 조직의 이식편 주위로 섬유주세포가 자라 나오기 시작하였으며 섬유주세포의 확인은 세포들이 밀집해서 단층을 형성하며 세포들 사이에 분지를 내어 서로 연결하며 약간 길다란 모양의 세포체를 가지는 편평한 모양의 특징적 형태학적인 양상과 섬유주 조직의 이식편 주위에서 위성양상으로 자라나는 섬유주세포의 특징적인 성장양상으로 확인하였다.^{15,16}

TB가 섬유주세포의 생존에 미치는 영향

섬유주세포에 TB를 1분간 노출시킨 경우 0.05%, 0.1%의 농도에서는 세포의 생존에 유의한 영향을 미치지 않았으나, 0.5%의 농도에서는 세포의 생존이 60.9%로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$) (Fig. 1). 5분간 노출시킨 경우 역시 0.5%의 농도에서는 세포의 생존이 59.9%로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$) (Fig. 2). 섬유주세포에 TB를 30분간 노출시킨 경

우 0.05%의 농도에서는 세포의 생존에 유의한 영향을 미치지 않았으나, 0.1%와 0.5%의 농도에서는 50.0%와 22.3%로 세포의 생존이 각각 유의하게 감소하였다($p < 0.05$) (Fig. 3).

상용의 VB에 노출시킨 경우 1분간 노출시켰을 때는 세포의 생존에 유의한 영향을 미치지 않았으나, 5분 또는 30분간 노출시킨 경우 59.9%와 30.5%로 세포의 생존이 각각 유의하게 감소하였다($p < 0.05$) (Fig. 4).

TB가 섬유주세포의 세포고사에 미치는 영향

세포고사가 일어나게 되면 세포막의 포스파디딜세린이 노출되게 되는데, annexin-V/PI 이중염색을 시행하면 annexin-V는 세포고사가 일어나는 세포 외막의 포스파디딜세린과 결합하게 되며, 괴사되는 세포는 PI에 염색된다. 따라서 정상적인 살아있는 세포는 annexin-V 음성이면서 PI 음성, 세포고사의 경우 annexin-V에 양성이면서 PI에 음성으로, 그리고 세포괴사(necrosis)의 경우에는 annexin-V에 양성이면서 PI에도 양성으로 나타난다.

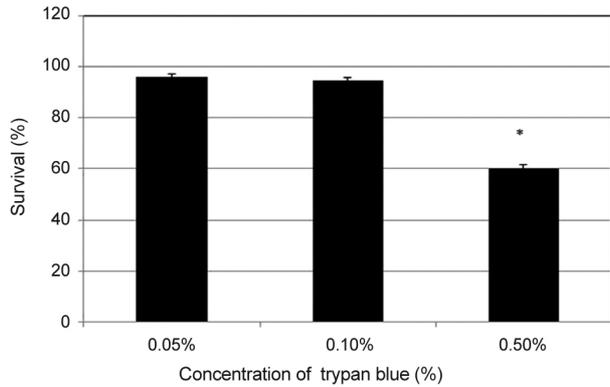


Figure 1. Effects of trypan blue on the survival of human trabecular meshwork cells. Exposure to trypan blue for 1 minute decreased cellular survival significantly at the concentration of 0.50%. * $p < 0.05$.

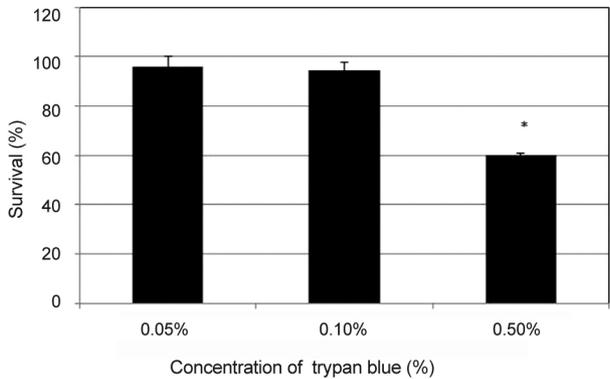


Figure 2. Effects of trypan blue on the survival of human trabecular meshwork cells. Exposure to trypan blue for 5 minutes decreased cellular survival significantly at the concentration of 0.50%. * $p < 0.05$.

섬유주세포에 각 농도의 TB를 1분 또는 5분간 노출시킨 경우 염류용액에 노출시킨 대조군에 비하여 세포고사를 유발하는 정도에 있어서 각 농도에서 유의한 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$, data not shown). 그러나 TB를 30분간 노출시킨 경우 0.5%의 농도에서 대조군의 14.3%에 비해 26.5%로 유의하게 세포고사를 증가시켰다($p < 0.05$) (Fig. 5).

상용의 VB는 1분 또는 5분간 노출시킨 경우 유의하게 세포고사를 유발하지 않았으나 30분간 노출시킨 경우에는 유의하게 대조군에 비해 유의하게 세포고사를 증가시켰다($p < 0.05$) (Fig. 6).

고 찰

안과 영역에서 수술 보조제로 여러 종류의 생체염색제가 이용되고 있다. 그중 TB는 친수성의 azo 염색제의 일종으로 1999년에 처음 백내장 수술에 사용된 이후 많이 사용되고 있으며 상용의 제품으로도 출시되어 있는데 유리체절제

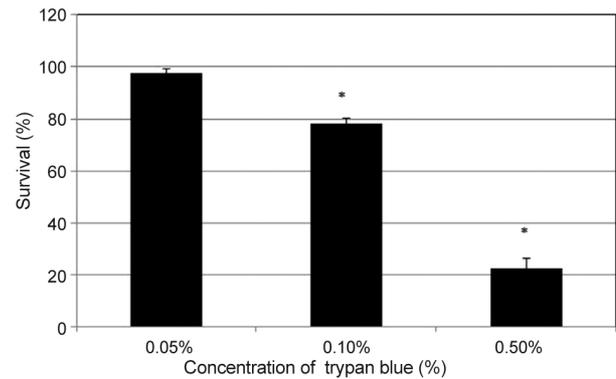


Figure 3. Effects of trypan blue on the survival of human trabecular meshwork cells. Exposure to trypan blue for 30 minutes decreased cellular survival significantly at the concentration of 0.10% and 0.50%. * $p < 0.05$.

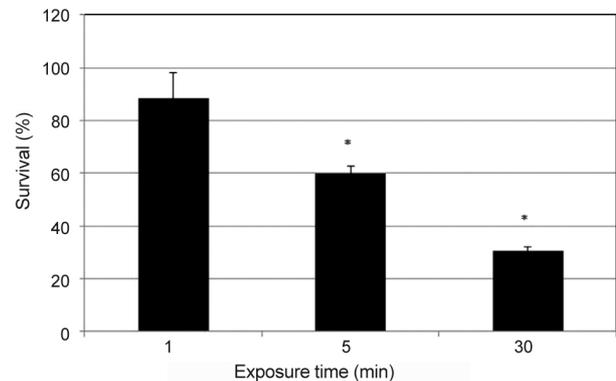


Figure 4. Effects of 0.06% commercial trypan blue on the survival of human trabecular meshwork cells. Exposure to trypan blue for 5 minutes or 30 minutes decreased cellular survival. * $p < 0.05$.

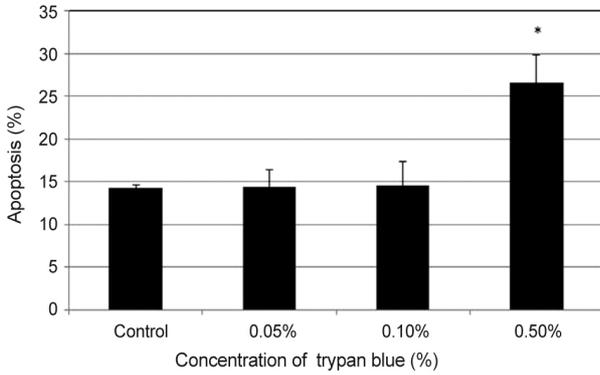


Figure 5. Flow cytometric analysis of apoptosis using annexin-PI double staining. Exposure to 0.50% trypan blue for 30 minutes increased the degree of apoptosis significantly compared to non-exposed control. * $p < 0.05$.

술용으로 0.15%, 백내장 수술용으로 0.06%의 제품이 나와 있다.¹² 백내장 수술 시 수정체 전낭을 염색할 때 TB의 노출시간은 대개 1분 정도인데, 그 부작용에 대한 보고는 비교적 적은 편이다. 안압상승에 미치는 영향은 적은 것으로 알려져 있으나¹⁰⁻¹² 노출시간이 길어지거나 완전히 제거를 못한 경우 또는 섬유주에 접촉한 경우 섬유주에 손상을 줄 가능성이 있다. 토끼를 이용한 동물실험에서는 0.2% TB를 유리체 내에 주사하였을 때 최소한 4주 이상 지속된다고 한다.¹⁷ 특히 거짓비늘증후군이나 외상성 백내장의 경우처럼 모양체소대가 약해진 경우에는 안구전방으로 흘러 나올 가능성이 있다.

Tsaousis et al¹⁸은 상용의 0.06% TB를 섬유주세포에 1분까지는 노출시킨 경우 독성을 나타내지 않았으나 5분 이상 노출시킨 경우 형태학적 변화와 함께 독성 효과가 나타난다고 보고하였는데, 본 연구의 결과에서도 TB는 농도와 노출시간에 따라서 섬유주세포에 손상을 줄 가능성이 있음을 보여 준다. TB가 섬유주세포의 생존에 미치는 영향을 알아본 결과 0.5%의 고농도에서는 1분만 노출되어도 세포의 생존을 저하시키며, 0.1%의 농도에서도 5분간 노출된 경우 세포의 생존이 감소되었다. 또한 0.06%의 농도로 사용되는 상용의 TB는 5분 이상 노출된 경우 섬유주세포의 생존이 감소하였다.

TB는 망막색소상피에서 노출시간과 농도에 비례하여 세포고사를 유발하는 것으로 알려져 있으므로,¹⁹ 섬유주세포에서도 TB가 세포의 생존을 저하시키는 기전으로 세포고사를 유발할 가능성이 있는데 이 경우 즉각적인 손상을 주지 않더라도 시간이 경과함에 따라 세포의 생존을 저하시키는 기전이 될 수 있다. 본 연구의 결과에서 30분간 0.5%의 TB에 노출시킨 경우 세포고사가 유의하게 증가하였으

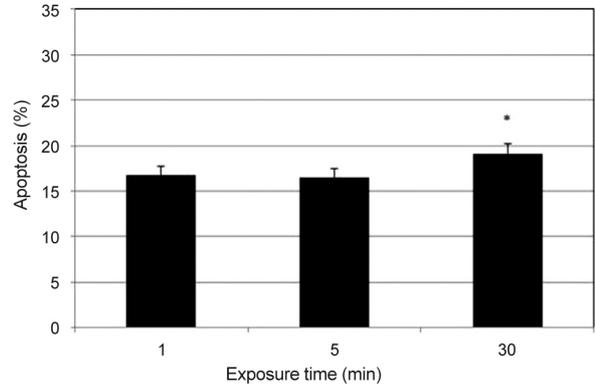


Figure 6. Flow cytometric analysis of apoptosis using annexin-propidium iodide double staining. 0.06% commercial trypan blue exposed for 30 minutes increased the degree of apoptosis significantly compared to non-exposed control. * $p < 0.05$.

므로 고농도로 장시간 노출될 경우 세포고사에 의해서도 섬유주세포의 손상을 유발할 가능성이 있다. 또한 0.06% 농도인 상용의 TB에 노출시킨 경우에도 30분간 노출되면 섬유주세포의 세포고사를 유발함을 알 수 있었다. 뿐만 아니라 TB는 수정체 전낭의 기계적 성질에도 영향을 미쳐서 수정체 전낭의 탄성을 감소시키는 것으로 보고되어 있다.^{13,20} 따라서 TB는 방수유출의 조절에 능동적으로 관여하는 섬유주의 탄성에도 영향을 줄 가능성도 배제할 수 없을 것이다.²¹ 이러한 결과들을 종합해 보면 TB를 고농도로 사용하거나, 상용의 TB인 경우에도 장시간 노출될 경우 세포의 생존을 저하시키며 세포고사를 유발할 수 있음을 보여 준다. 따라서 섬유주세포의 손상을 줄이기 위하여 TB를 사용할 경우 저농도로 단시간 사용하는 것이 안전하며, 특히 점탄물질을 사용할 경우 가능한 한 완전히 TB를 제거해서 섬유주와의 직접적 접촉을 되도록 피하도록 할 것이다.

백내장 수술뿐 아니라 녹내장 수술에서도 TB를 사용하기도 하는데, 섬유주절제술을 시행할 때 0.1% TB를 항대사제와 섞어 항대사제에 노출된 공막 부위를 확인하는데 사용하며, 여과포가 형성되어 있는 경우 백내장 수술을 시행할 때 전방 내에 TB를 주입하여 여과포의 기능을 확인하는데 이용하고, 밸브삽입술에서 튜브의 개구부에 직접적으로 TB를 주입하여 개통 여부를 확인하는데 사용하기도 한다.²²⁻²⁵ 이러한 경우에도 가능한 한 노출시간을 줄이고 섬유주와의 접촉을 피하여 섬유주의 손상을 유발하지 않도록 주의해야 할 것이다. 이외에도 TB는 낭포항반부종과 독성 전안부 증후군을 유발하여 각막의 비가역적 손상을 유발한 심각한 부작용도 보고되어 있다.^{26,27}

본 연구의 결과는 세포배양을 이용한 실험실 내의 조건에서 행한 것이므로 향후 안정성과 적정 농도에 대해서는

실제 동물실험 등을 통한 다양한 연구가 필요할 것이며, 다른 종류의 생체염색제에 대한 비교 연구도 필요할 것이다. 또한 실제 수술에서 전방 내에 주입할 경우 TB의 농도가 희석될 수 있으므로 실제 임상적 유의성에 대해서는 향후 보다 자세한 연구가 필요할 것이다. 결론적으로 고농도 또는 장시간 노출시킨 경우 TB는 배양된 섬유주세포의 생존을 저하시켰으며 세포고사를 유발할 수 있으므로 안과 수술 시 TB를 사용할 경우 섬유주에 손상을 줄 가능성이 있음을 고려하여 짧은 시간 내에 사용하며, 가능한 한 완전히 제거하는 것이 안전할 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) Badaro E, Novais EA, Penha FM, et al. Vital dyes in ophthalmology: a chemical perspective. *Curr Eye Res* 2014;39:649-58.
- 2) Melles GR, de Waard PW, Pameyer JH, et al. Trypan blue capsule staining to visualize the capsulorhexis in cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:7-9.
- 3) Jhanji V, Chan E, Das S, et al. Trypan blue dye for anterior segment surgeries. *Eye (Lond)* 2011;25:1113-20.
- 4) Chang YS, Tseng SY, Tseng SH. Comparison of dyes for cataract surgery. Part 2: efficacy of capsule staining in a rabbit model. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:799-804.
- 5) van Dooren BT, Beekhuis WH, Pels E. Biocompatibility of trypan blue with human corneal cells. *Arch Ophthalmol* 2004;122:736-42.
- 6) Melendez RF, Kumar N, Maswadi SM, et al. Photodynamic actions of indocyanine green and trypan blue on human lens epithelial cells in vitro. *Am J Ophthalmol* 2005;140:132-4.
- 7) Nanavaty MA, Johar K, Sivasankaran MA, et al. Effect of trypan blue staining on the density and viability of lens epithelial cells in white cataract. *J Cataract Refract Surg* 2006;32:1483-8.
- 8) Alvarado J, Murphy C, Juster R. Trabecular meshwork cellularity in primary open-angle glaucoma and nonglaucomatous normals. *Ophthalmology* 1984;91:564-79.
- 9) Rohen JW, Lütjen-Drecoll E, Flügel C, et al. Ultrastructure of the trabecular meshwork in untreated cases of primary open-angle glaucoma (POAG). *Exp Eye Res* 1993;56:683-92.
- 10) Dada VK, Sharma N, Sudan R, et al. Anterior capsule staining for capsulorhexis in cases of white cataract: comparative clinical study. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:326-33.
- 11) Chung CF, Liang CC, Lai JS, et al. Safety of trypan blue 1% and indocyanine green 0.5% in assisting visualization of anterior capsule during phacoemulsification in mature cataract. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:938-42.
- 12) van Dooren BT, de Waard PW, Poort-van Nouhuys H, et al. Corneal endothelial cell density after trypan blue capsule staining in cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2002;28:574-5.
- 13) Dick HB, Aliyeva SE, Hengerer F. Effect of trypan blue on the elasticity of the human anterior lens capsule. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:1367-73.
- 14) Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55-63.
- 15) Polansky JR, Weinreb RN, Baxter JD, Alvarado J. Human trabecular cells. I. Establishment in tissue culture and growth characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1979;18:1043-9.
- 16) Alvarado JA, Wood I, Polansky JR. Human trabecular cells. II. Growth pattern and ultrastructural characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1982;23:464-78.
- 17) Veckeneer M, van Overdam K, Monzer J, et al. Ocular toxicity study of trypan blue injected into the vitreous cavity of rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239:698-704.
- 18) Tsaousis KT, Kopsachilis N, Tsinopoulos IT, et al. Time-dependent morphological alterations and viability of cultured human trabecular cells after exposure to Trypan blue. *Clin Exp Ophthalmol* 2013;41:484-90.
- 19) Rezaei KA, Farrokh-Siar L, Gasyana EM, Ernest JT. Trypan blue induces apoptosis in human retinal pigment epithelial cells. *Am J Ophthalmol* 2004;138:492-5.
- 20) Jardeleza MS, Daly MK, Kaufman JD, et al. Effect of trypan blue staining on the elastic modulus of anterior lens capsules of diabetic and nondiabetic patients. *J Cataract Refract Surg* 2009;35:318-23.
- 21) Raghunathan VK, Morgan JT, Park SA, et al. Dexamethasone stiffens trabecular meshwork, trabecular meshwork cells, and matrix. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:4447-59.
- 22) Healey PR, Crowston JG. Trypan blue identifies antimetabolite treatment area in trabeculectomy. *Br J Ophthalmol* 2005;89:1152-6.
- 23) Agrawal S, Agrawal J, Agrawal TP. Use of trypan blue to confirm the patency of filtering surgery. *J Cataract Refract Surg* 2005;31:235-7.
- 24) Dada T, Muralidhar R, Sethi HS. Staining of filtering bleb with trypan blue during phacoemulsification. *Eye (Lond)* 2006;20:858-9.
- 25) Grigg J, Jang JD, Fung AT, et al. Trypan blue to assess Baerveldt tube patency after repair of its obstruction. *J Glaucoma* 2011;20:571-2.
- 26) Gouws P, Merriman M, Goethals S, et al. Cystoid macular oedema with trypan blue use. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1348-9.
- 27) Buzard K, Zhang JR, Thumann G, et al. Two cases of toxic anterior segment syndrome from generic trypan blue. *J Cataract Refract Surg* 2010;36:2195-9.

= 국문초록 =

트리판 블루가 배양된 섬유주세포의 생존에 미치는 영향

목적: 백내장 수술에 사용하는 트리판 블루가 배양된 섬유주세포의 생존에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상과 방법: 일차배양한 인체의 섬유주세포에 0.05%, 0.10%, 0.50%의 트리판 블루에 1분, 5분, 30분간 노출시켰으며, 상용의 0.06% 트리판 블루에도 노출시켰다. 세포의 생존은 MTT assay로 알아보았고, 세포고사의 유발을 알아보기 위하여 Annexin-propidium iodide 이중염색을 이용하여 유세포분석을 시행하였다.

결과: 트리판 블루는 농도와 노출시간에 비례하여 유의하게 세포의 생존을 감소시켰으며, 0.50%의 농도에 30분간 노출시킨 경우 유의하게 세포고사를 유발하였다($p < 0.05$). 상용의 트리판 블루는 5분 이상 노출시킨 경우 세포의 생존을 저하시켰으며 30분간 노출시킨 경우 세포고사를 유발하였다($p < 0.05$).

결론: 트리판 블루는 저농도에서도 섬유주세포에 장시간 노출시킬 경우 세포손상을 유발할 수 있으며 그 기전에는 세포고사가 관여한다. 따라서 백내장 수술 시 트리판 블루를 사용할 경우 가능한 한 단시간 사용하고 완전히 제거해야 할 것으로 생각된다.

〈대한안과학회지 2017;58(3):327-332〉
