

수포각막병증에서 양막 이식술의 효용성

박정현¹ · 정진욱¹ · 위원량^{1,2} · 이진학^{1,2} · 김미금^{1,2} · 이재림³

서울대학교 의과대학 안과학교실¹, 서울대병원 임상의학연구소 인공안구센터², 소중한빛 안과³

목적 : 수포각막병증에서 냉동보존 양막 영구 이식과 동결건조 양막 영구 이식의 효과를 비교하고자 하였다

대상과 방법 : 약물치료나 치료용 콘택트렌즈로 통증이 조절되지 않는 수포각막병증 환자 8명 8안을 대상으로 트레파인으로 각막 상피를 제거한 뒤 5안에서는 냉동보존 양막을, 3안에서는 동결건조 양막을 영구 이식하였다. 술 후 관찰 기간 동안 상피 재생 및 통증 소실에 걸린 시간을 관찰하였다.

결과 : 평균 관찰 기간은 252 ± 171.0 일 이었다. 8안 모두에서 통증 소실 및 상피 재생을 얻었고, 통증이 완전히 소실되기까지 걸린 시간은 냉동보존 양막을 사용한 군에서 32.2 ± 22.7 일, 동결건조 양막을 사용한 군에서 22.0 ± 18.0 일 이었다($p=0.549$, Mann-Whitney U test). 상피 재생에 걸린 기간은 각각 25.4 ± 20.7 일, 23.0 ± 25.2 일이었 다($p=0.297$). 각막 상피를 제거한 트레파인의 크기는 두 군에서 차이가 없었다(7.6 ± 0.2 vs. 7.3 ± 0.3 mm, $p=0.172$).

결론 : 통증이 조절되지 않는 수포각막병증 환자에서 영구 양막 이식이 효과적이었으며, 냉동보존 양막과 동결건조 양막 사이의 차이는 보이지 않았다.

〈한안지 48(8):1036-1040, 2007〉

수포각막병증은 백내장 수술이나 망막 수술 후, 녹내장의 합병증 등으로 발생하며, 각막 이식술의 흔한 적응증이 된다. 각막 기질의 부종과 파열된 수포로 인하여 각막 신경말단이 자극되어, 환자들은 통증과 불편감을 느끼게 되며, 지속적인 각막 부종과 수포는 이차적인 각막염과 감염으로 이어질 수 있다. 수포각막병증의 대증적 치료로서, 고삼투압 제제 및 인공누액의 점안이나, 치료용 콘택트렌즈 등을 시도할 수 있지만, 이러한 치료에도 불구하고 증상의 조절이 어려운 경우가 많다.

양막 이식술은 1940년 de Rotth¹가 결막결손 부위의 치료에 처음으로 도입하여 그 효과를 보고한 이래 한동안 각광을 받지 못하였으나, 1995년 Kim and Tseng²이 각막 상피 제거 및 각막 윤부 층판 절제술을 시행한 토끼 모델에서 양막을 사용하여 성공적인 안구

표면의 재형성을 보고 한 이래 최근에 안과 질환에서 활발히 적용되고 있다.

양막을 안구에 이식할 경우 양막은 하나의 기저막으로 기능하여 각막 상피 세포의 이주와 성장을 촉진하고 정상적인 상피세포의 특성을 유지시키며, 염증을 억제하고, 신생혈관 억제 및 반흔 형성을 억제하는 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.³ 이러한 특성으로 최근 지속적인 각막 상피결손 및 각막 궤양 상피결손,^{4,5} 결막 결손부의 치료,⁶ 화학적 및 열성 안구 손상,^{7,8} 각막 윤부 세포 결핍^{9,10} 등의 여러 안과 질환에서 양막 이식이 시행되어 훌륭한 임상결과들이 보고되고 있으며, 각막천공,¹¹ 공막 연화증¹² 등의 치료에도 양막 이식을 이용한 사례가 보고되어 있다. 수포각막병증에서도 양막 이식술을 시행하여 성공적인 결과가 보고되었다.^{13,14}

한편, 양막의 보존 방법은 크게 두 가지로 냉동보존과 동결건조 보존이 있다. 그러나 대부분의 임상 결과는 냉동보존 양막 이식에 관한 것으로 동결건조 양막의 임상적 유용성에 대한 보고는 많지 않다. 냉동보존은 보존상의 어려움이 있고, 오염의 가능성이 있어 최근 상온 보관이 가능하고 오염의 가능성이 적은 동결 건조가 많이 연구되고 있다.¹⁵ 동결건조시 상피세포도 제거되기 때문에 실험상에서 많이 논의되고 있는 것처럼^{16,17} 임상에서도 수여자의 상피세포가 쉽게 자라 들어와 분화가 빨리 될 가능성이 있다. 동결건조 양막을 안

〈접수일 : 2006년 7월 10일, 심사통과일 : 2007년 5월 22일〉

통신저자 : 김 미 금

서울시 종로구 연건동 28

서울대학교병원 안과

Tel: 02-2072-2665, Fax: 02-741-3187

E-mail: kmk9@snu.ac.kr

* 본 논문의 요지는 2005년 대한안과학회 제95회 춘계학술대회에서 포스터로 발표되었음.

구 표면질환에서 사용한 연구들이 보고되고 있지만,¹⁸ 냉동보존 양막과 비교한 효과는 아직 확실히 알려지지 않았다.

본 연구에서는 약물 치료나 치료용 콘택트렌즈로 통증이 조절되지 않는 수포각막병증을 대상으로 영구양막 이식술의 유용성에 대하여 보고하고자 하며 각막의 상피화 및 통증 소실에 걸리는 시간을 비교하여, 양막의 보존 방법에 따른 임상적 효용성의 차이가 있는지를 알고자 하였다.

대상과 방법

2003년 10월부터 2004년 12월까지 치료용 콘택트렌즈와 약물치료에도 불구하고 통증이 호전되지 않는 수포각막병증 8안에 대하여 영구 양막 이식술을 시행하였다.

냉동보존 양막 또는 동결건조 양막을 사용하였다. 냉동보존 양막의 처리 및 보관은 Kim and Tseng²이 보고한 방법에 따라 시행하였다. 즉, 양막은 제왕절개 직후 태반에서 분리하여 phosphate buffered saline (gentamicin 8 µg/ml, cefazolin 4 µg/ml 함유)로 씻고, nitrocellulose membrane에 붙인 후 적당한 크기로 잘라 100% glycerin과 Dulbecco's modified Eagle Medium (Life Technologies Inc, N.Y., USA)을 1:1로 섞은 media에 넣어 영하 70℃에 보관하여 사용하였다. 동결건조 양막은 sodium hypochlorite (NaOCl) solution에 세척 후 상피층을 벗겨내고 nitrocellulose paper에 붙여 동결건조한 뒤 Gamma 선 조사(25 kGy)를 시행한 후 실온에 보관 가능한 AmniSite-Cornea (쥘바이오랜드, Korea)를 구매해 사용하였다.

Trephine 을 이용하여 직경 7~8 mm 크기로 각막 상피를 벗겨내고 이와 같거나 0.25 mm 큰 크기로 양막을 잘라 상피 세포층이 위로 향하도록 영구 양막 이식술을 시행하고 그 위에 임시 양막 이식술을 시행하였

다. 모든 환자에서 수술 후 점안 항생제 및 점안 스테로이드제를 사용하였다.

냉동보존 양막을 이식한 5안과 동결건조 양막을 이식한 3안에서 상피재생의 기간 및 통증 소실의 기간의 차이가 있는지를 Mann-Whitney U 검정법(SPSS version 12.0)을 시행하여 비교하였다.

결 과

평균 경과 관찰은 252±171.0일이었으며 수포각막병증의 원인으로는 백내장 수술 후 각막 부전으로 인한 경우가 4안, 녹내장으로 인한 경우가 3안, 망막 박리인하여 유리체 절제술 및 실리콘 기름 삽입술을 받았던 경우가 1안이었다. 모든 환자에서 각막의 상피화 및 통증의 소실을 보였고, 각막의 상피화가 일어나기 까지 걸린 기간은 평균 24.5±20.7 (6~62)일, 통증이 소실되기까지 걸린 기간은 평균 28.4±20.4 (5~62)일이었다. 4안에서 각각 술 후 3, 5, 7, 15개월 제 수포가 재발하였으나, 눈물흘림, 통증을 호소한 경우는 1안에서만 있었다. 5안에서 냉동보존 양막을, 3안에서 동결건조 양막을 이용하여 영구 양막 이식술을 시행 받았으며 냉동보존 양막을 사용한 군과 동결건조 양막을 사용한 군 사이에 상피를 제거한 트레파인의 크기(7.6±0.2 mm vs. 7.3±0.3 mm)와 재상피화(25.4±20.7 일 vs. 23.0±25.2일) 및 통증 소실 기간(32.2±22.7 일 vs. 22.0±18.0일)에 유의한 차이는 없었다(p=0.172, 0.297, 0.549, Mann-Whitney U test)(Table 1).

고 찰

양막 이식술은 1995년 Kim and Tseng²이 양막을 여러 안질환에 적용시키는 연구를 진행하며 처치 및 보관 방법을 발전시킨 후 현재 다양한 안과질환에서의 이용과 결과가 보고되고 있다.

양막 이식술은 그 자체로 콘택트 렌즈와 같은 장벽

Table 1. Comparison of the outcomes of permanent amniotic membrane transplantation for the treatment of bullous keratopathy

	Trephine diameter for de-epithelization (mm)	Re-epithelization interval (days)	Pain relief interval (days)
Cryo-preserved AM	7.6±0.2	25.4±20.7	32.2±22.7
Lyophilized AM	7.3±0.3	23.0±25.2	22.0±18.0
p-value*	0.172	0.297	0.549

* by Mann-Whitney U test.

The re-epithelization and pain relief of patients who underwent AMT using cryopreserved AM was not different from that of patients who underwent AMT using lyophilized AM. The trephine diameter for de-epithelization was not different between two groups.

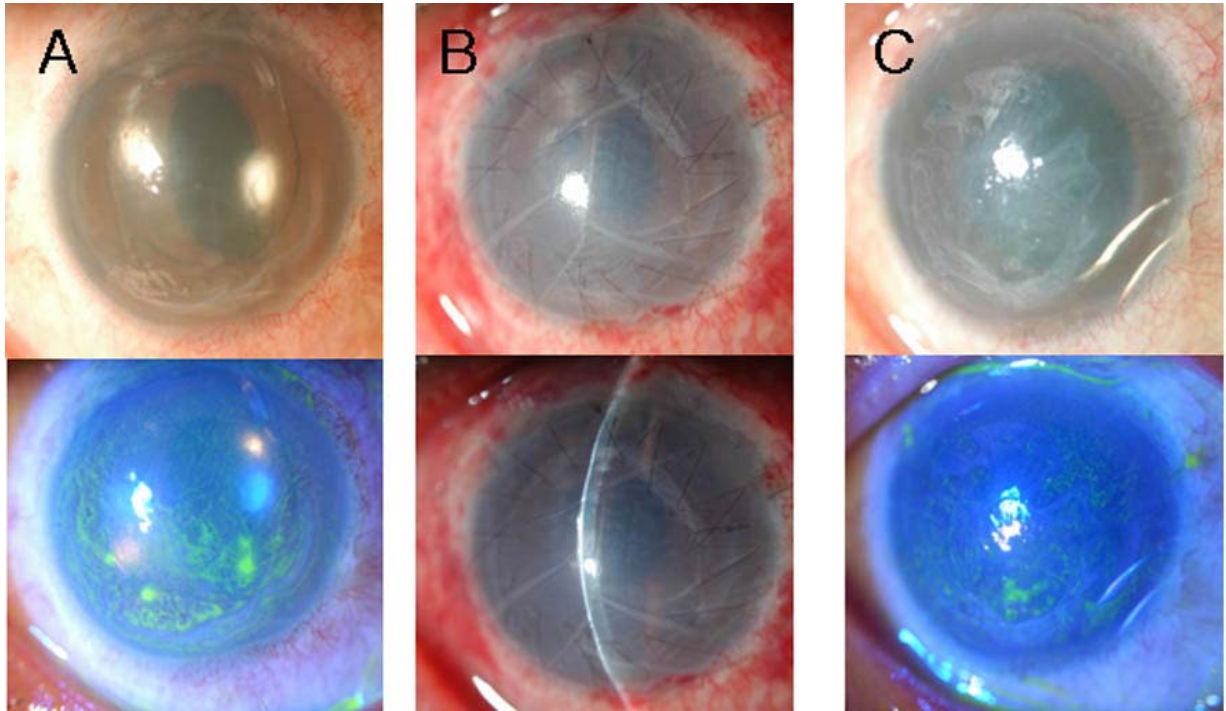


Figure 1. A 44 year-old man with diffuse corneal edema and bulla with intractable pain 10 years after cataract extraction and ACL insertion (A). A day after ACL removal, superficial keratectomy and permanent AMT (B). At two months after the operation, the bulla resolved and he had no pain (C).

역할을 할 뿐만 아니라 상피세포와 기질에서 EGF, b-FGF, HGF, KGF, NGF, TGF- α & TGF- β 등의 사이토카인 및 TIMP, 혈관 신생 억제 인자인 thrombospondine-1을 함유하고 있어 세포 주기와 세포 생존에 영향을 주며, 염증을 억제하고 상피-기질 간 신호에 관여하여 상처 치유를 촉진한다. 기저막의 콜라겐 IV와 콜라겐 VII, 라미닌 1, 5 및 파이브로넥틴은 세포 이주 및 세포의 기질에 유착되는 것을 촉진한다.³

따라서 신경영양각막염이나 지속적인 상피결손,^{4,5} 락모양 각막병증¹⁹이나 및 굴절교정수술 후^{20,21}에도 유용하게 이용되고 있으며 결막 종양^{22,23}이나 군날개 절제술 후^{24,25} 또는 검구 유착시의 안구 표면 재건,^{6,16} 급성 화학 손상의 안구재건,⁷⁻⁹ 만성 윤부 결핍 질환^{10,11}에도 널리 이용되고 있다.

수포각막병증은 각막 내피세포의 부전으로 기질의 부종을 초래하며 상피의 수포로 인하여 각막 신경 말단을 자극함으로써, 통증과 눈물흘림, 눈부심 등의 안구 표면 불편감을 초래한다. 치료용 콘택트렌즈, 고삼투압 식염수 점안, 인공 눈물 등으로 고식적 치료를 하지만 이와 같은 치료에도 불구하고 통증이 계속되는 경우가 많고, 시력예후가 좋을 것으로 예상되는 경우에는 각막 이식이 치료가 될 수 있지만, 시력예후가 크게 기대되

지 않는 경우에는 양막 이식이 하나의 치료로 이용될 수 있고 통증 조절에 있어서 이전의 결막판 이식과 견줄만한 성공율이 보고되고 있을 뿐 아니라 미용적인 효과도 뛰어나다.^{27,28} 양막 이식술이 근본적인 내피세포 병증을 해결하여 각막 부종을 원인 치료하지는 못하지만 부종으로 느슨해진 상피세포의 유착을 강화시킴으로써 이차적으로 발생하는 상피세포의 반복성 결손을 줄임으로써 통증을 완화시키는데 기여하는 것으로 생각된다. 본 연구에서는 모든 환자에서 각막의 재생피화를 관찰할 수 있었고 3안(37.5%)에서 상피 수포가 재발하였으나, 환자의 증상이 재발한 경우는 1안에 불과하여 이전의 연구와 마찬가지로 효과적인 결과를 얻었다.^{14,15,28}

냉동보존의 경우 양막에 상피세포층이 남아 있고 기질이 비교적 두터우며 상피세포층이 남아 있어 이로 인한 수여자의 상피재생의 속도가 저하될 수 있으나 비교적 각막 윤부 줄기세포의 성상을 유지하고 분화를 억제하는 데에는 중요한 미세환경을 제공하는 것으로 알려져 있다.²⁹ 또한 기질이 두터워 지속적 상피결손의 경우와 같이 얇은 병변의 경우에는 주변과 턱이 저서 가장 자리를 맞추기 어려울 수 있으나 탄력성은 높아 봉합이 쉽고 깊은 궤양의 경우에는 결손 부위를 채우는 효과가 오히려 크다. 그러나 감염의 위험성이 있으며, 영하 70℃

에 보관하여야 하기 때문에 운송 및 보관에 비용이 많이 드는 단점이 있다. 이에 비해 동결건조 양막의 경우는 감염의 위험성이 없고, 실온에 보관이 가능한 장점이 있다. 동결건조 양막은 상피세포 제거술을 전처치하기 때문에 상피세포층이 없고 따라서 상피세포의 침투 및 계층화에 유리하다고 알려져 있다.²⁹ 한편 기질이 매우 얇아 다루기가 어렵고 탄력성이 감소하여 봉합시 쉽게 찢어질 수 있으나 지속적 상피결손의 경우와 같이 얇은 병변의 경우에는 오히려 유리할 수 있다. 동결건조의 과정으로 인해 기존의 냉동보존에 비하여 성장 인자나 항 염증작용 인자들의 농도는 약간 저하되나 큰 차이는 없는 것으로 알려져 있다.¹⁸ 그러나 상피세포층이 제거된 동결건조 양막에서는 기저막을 구성하는 콜라겐-7과 integrin- α 6, integrin- β 4의 발현이 줄어들었다고 보고되어¹⁸ 임상적인 유용성에 대해서는 평가가 필요하다 하겠다. 본 연구의 제한점은 상피 재생기간과 통증 소실 기간이 각 양막간에 통계적인 차이가 없는 것으로 나타났으나 표본 수가 적은 것으로 인한 비뚤림일 가능성이 있다. 따라서 추가적으로 다수의 전향적인 연구가 진행되어야 하겠다.

요약하면 고식적 치료로 통증이 조절되지 않는 수포각막병증에서 영구양막이식술을 시행하여 각막의 상피화 및 통증 조절에 있어서 효과적인 결과를 얻었으며, 냉동보존 양막과 동결건조 양막 사이의 임상적인 차이는 없어서 수포각막병증에는 동결건조 양막도 냉동보존 양막과 대등한 효과를 기대하고 사용할 수 있을 것이라고 기대한다.

참고문헌

- 1) de Roth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membrane. *Arch Ophthalmol* 1940;23:522-5.
- 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) Grueterich M, Espana EM, Tseng SC. Ex vivo expansion of limbal epithelial stem cells: amniotic membrane serving as a stem cell niche. *Surv Ophthalmol* 2003;48:631-46.
- 4) 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.
- 5) Shin KS, Chung IY, Seo SW. The Effect of Amniotic Membrane Transplantation for Corneal Ulcer and Ocular Surface Diseases. *J Korean Ophthalmol Soc* 2003;44:1305-10.
- 6) Tseng SC, Prabhasawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1997;124:765-74.
- 7) Tamhane A, Vajpayee RB, Biswas NR, et al. Evaluation of amniotic membrane transplantation as an adjunct to medical therapy as compared with medical therapy alone in acute ocular burns. *Ophthalmology* 2005;112:1963-9.
- 8) Meller D, Pires RT, Mack RJ, et al. Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology* 2000;107:980-9.
- 9) Tseng SC, Prabhasawat P, Barton K, et al. Amniotic membrane transplantation with or without limbal allografts for corneal surface reconstruction in patients with limbal stem cell deficiency. *Arch Ophthalmol* 1998;116:431-41.
- 10) Ucakhan OO, Koklu G, Firat E. Nonpreserved human amniotic membrane transplantation in acute and chronic chemical eye injuries. *Cornea* 2002;21:169-72.
- 11) Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, et al. Multi layered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmol* 2001;131:324-31.
- 12) Jeoung JW, Yoon YM, Lee JL, et al. The Effect of Amniotic Membrane Transplantation on the Treatment of Necrotizing Scleritis after Pterygium Excision. *J Korean Ophthalmol Soc* 2004;45:1981-8.
- 13) Pires RT, Tseng SC, Prabhasawat P, et al. Amniotic membrane transplantation for symptomatic bullous keratopathy. *Arch Ophthalmol* 1999;117:1291-7.
- 14) Espana EM, Crueterich M, Sandoval H, et al. Amniotic membrane transplantation for bullous keratopathy in eyes with poor visual potential. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:279-84.
- 15) Nakamura T, Yoshitani M, Rigby H, et al. Sterilized, Freeze-Dried Amniotic Membrane: A Useful Substrate for Ocular Surface Reconstruction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:93-9.
- 16) Grueterich M, Espana EM, Tseng SC. Modulation of keratin and connexin expression in limbal epithelium expanded on denuded amniotic membrane with and without a 3T3 fibroblast feeder layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4230-6.
- 17) Koizumi N, Rigby H, Fullwood NJ, et al. Comparison of intact and denuded amniotic membrane as a substrate for cell-suspension culture of human limbal epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:123-34.
- 18) Nakamura T, Inatomi T, Sekiyama E, et al. Novel clinical application of sterilized, freeze-dried amniotic membrane to treat patients with pterygium. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84:401-5.
- 19) Anderson DF, Prabhasawat P, Alfonso E, et al. Amniotic membrane transplantation after the primary surgical management of band keratopathy. *Cornea* 2001;20:354-61.
- 20) Choi YS, Kim JY, Wee WR, Lee JH. Effect of application of human amniotic membrane on rabbit corneal wound healing after excimer laser photorefractive keratectomy. *Cornea* 1998;17:389-95.
- 21) 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.

- 22) Paridaens D, Beekhuis H, Vanden Bosch W, et al. Amniotic membrane transplantation in the management of conjunctival malignant melanoma and primary acquired melanosis with atypia. *Br J Ophthalmol* 2001;85:658-61.
- 23) Espana EM, Prabhasawat P, Grueterich M, et al. Amniotic membrane transplantation for reconstruction after excision of large ocular surface neoplasias. *Br J Ophthalmol* 2002;86:640-5.
- 24) Ti SE, Tseng SC. Management of primary and recurrent pterygium using amniotic membrane transplantation. *Curr Opin Ophthalmol* 2002;13:204-12.
- 25) Shimazaki J, Kosaka K, Shimmura S, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation with conjunctival autograft for recurrent pterygium. *Ophthalmology* 2003;110:119-24.
- 26) Jain S, Rastogi A. Evaluation of the outcome of amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in symblepharon. *Eye* 2004;18:1251-7.
- 27) Mekia LF, Santamaria JL, Acosta C. Symptomatic management of postoperative bullous keratopathy with nonpreserved human amniotic membrane. *Cornea* 2002;21:342-5.
- 28) Tang GG, Ahn HB, Park WC. The Clinical Effects of Dye-Amniotic Membrane Transplantation on Bullous Keratopathy. *J Korean Ophthalmol Soc* 2003;44:1741-7.
- 29) Grueterich M, Espana EM, Tseng SC. Ex vivo expansion of limbal epithelial stem cells: amniotic membrane serving as a stem cell niche. *Surv Ophthalmol* 2003;48:631-46.

=ABSTRACT=

The Efficacy of Amniotic Membrane Graft in the Treatment of Symptomatic Bullous Keratopathy

**Jung Hyun Park, M.D.¹, Jin Wook Jeoung, M.D.¹, Won Ryang Wee, M.D., Ph.D.^{1,2},
Jin Hak Lee, M.D. Ph.D.^{1,2}, Mee Kum Kim, M.D., Ph.D.^{1,2}, Jae Lim Lee, M.D.³**

*Department of Ophthalmology, Seoul National University College of Medicine¹, Seoul, Korea
Seoul Artificial Eye Center, Clinical Research Institute, Seoul National University Hospital², Seoul, Korea
Valued Eye Clinic³, Seoul, Korea*

Purpose: To evaluate the efficacy of amniotic membrane (AM) transplantation in symptomatic bullous keratopathy using cryo-preserved or lyophilized AM.

Methods: Eight bullous keratopathic patients, who experienced intractable pain despite medication and the application of a therapeutic lens, underwent permanent AM transplantation with 5 cryo-preserved and 3 lyophilized AMs following removal of epithelium using a trephine. The time to re-epithelization and the subsidence of pain were evaluated retrospectively.

Results: Mean follow-up was 252±171.0 days. Pain relief and re-epithelization were obtained in all eight patients. The times to complete relief of pain was 32.2±22.7 days in patients with cryo-preserved AM transplantations (n=5) and 22.0±18.0 days in those with lyophilized AM transplantations (n=3) (p=0.549, Mann-Whitney U test). Respective times to re-epithelization were 25.4±20.7 days and 23.0±25.2 days (p=0.297). There were no significant differences in the diameter of transplanted AMs between the two groups (7.6±0.2 vs. 7.3±0.3 mm, p=0.172).

Conclusions: Permanent AM transplantation effectively reduced the intractable pain caused by epithelial bulla. Whether the AM was cryo-preserved or lyophilized did not affect the efficacy of the treatment.

J Korean Ophthalmol Soc 48(8):1036-1040, 2007

Key Words: Amniotic membrane transplantation, Bullous keratopathy, Epithelization, Preservation

Address Reprint requests to **Mee Kum Kim, M.D.**

Department of Ophthalmology, Seoul National University, College of Medicine

#28 Yongon-dong, Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea

Tel: 82-2-2072-2665, Fax: 82-2-741-3187, E-mail: kmk9@snu.ac.kr