

Indocyanine Green이 배양된 망막색소상피세포에 미치는 영향*

계명대학교 의과대학 안과학교실

백철민 · 김광수 · 김유철

Effects of Indocyanine Green on Cultured Retinal Pigment Epithelial Cells

Chul Min Baek, M.D., Kwang Soo Kim, M.D., Yu Cheol Kim, M.D.

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

Abstract : This study was designed to investigate effects of indocyanine green (ICG) on cultured retinal pigment epithelial cells, used in macular hole surgery to improve visualization of the internal limiting membrane and facilitate complete dissection of the internal limiting membrane. After cultured porcine retinal pigment epithelial cells were exposed to ICG, the morphological change, toxicity and effect on cell proliferation was compared and analyzed with the control group exposed to balanced salt solution (BSS®). Cultured porcine retinal pigment epithelial cells were seeded and grown in 24-well and 96-well plates. Cells were exposed to BSS®, 0.1%, 0.5% and 1.0% concentration of ICG for 30 seconds, 1 minute, 5 minutes and 10 minutes. Cells were evaluated by phase-contrast microscopy, MTT assay or transmission electron microscopy. Retinal pigment epithelial cells exposed to ICG showed no morphological change except slight irregularity in cell size and demonstrated no toxicity and inhibitory effect on cell proliferation. But, among those exposed to over 0.5% concentration of ICG for over 5 minutes, retinal pigment epithelial cells proliferating to occupy the central defect area showed tendency to be transformed to fibroblast-like cells. Cytoplasmic vacuoles were observed in proliferating cells in ICG treated groups on transmission electron microscopy. These results suggest that ICG with a concentration of 1.0–5.0 mg/mL (0.1 – 0.5%) for about one minute exposure time appears to be safe to retinal pigment epithelial cells but loss of retinal pigment epithelial cells during macular hole surgery assisted by ICG may influences visual outcomes due to poor differentiation of proliferating cells.

Key Words : Indocyanine Green, Macular hole, Retinal pigment epithelial cells

* 본 논문의 요지는 2003년 4월 부산에서 개최된 제89회 대한안과학회 춘계학술대회에서 구연발표 되었고 2003년 5월 미국 포트로 더데일에서 개최된 ARVO(The Association for Research in Vision and Ophthalmology) 연례학회에서 포스터 발표되었음.

서 론

황반원공의 치료를 위해 유리체절제술과 동시에 내경계막(internal limiting membrane)을 제거함으로써 해부학적인 원공 폐쇄율이 증가되고 시력 예후가 향상되었다는 보고가 많이 있어 왔다[1-4]. 그러나 내경계막은 얇고 투명하여 육안적으로 구분해 내기가 쉽지 않아 내경계막을 제거한다는 것은 쉬운 일이 아니다. 최근 내경계막을 indocyanine green(ICG)으로 염색하면 보다 쉽고 빠르게, 그리고 정확하게 내경계막을 제거할 수 있다는 사실이 보고된 이후 황반원공수술시 내경계막을 용이하게 제거할 목적으로 널리 이용되고 있다[5-12].

ICG는 안전성이 높고 매우 낮은 독성을 가져 오랫동안 널리 사용되어져 왔다[13-18]. 친수성을 띠고 단백질과 강하게 결합하며 살아있는 세포와는 세포막에 의해 분리된다[19]. 안과영역에서는 형광안저조영술 및 심한 백색 백내장 환자에서 전방절개술을 용이하게 하기 위해 전방염색을 위해 사용되어지고 있으며 짧은 시간동안의 전방내의 ICG는 각막내피세포에 안전한 것으로 알려져 있다[20,21].

황반원공수술시 ICG는 망막하 공간으로 들어가 망막색소상피세포와 직접적으로 접촉할 수 있어 ICG의 사용이 망막색소상피세포 손상의 위험을 증가시킬 수도 있다. 그럼에도 불구하고 아직까지 ICG가 망막색소상피세포의 형태와 기능에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구는 미미한 실정이다.

본 연구는 황반원공 수술시 내경계막을 염색하여 내경계막 제거를 용이하도록 하기 위해 사용되어지는 ICG가 배양된 망막색소상피세포에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

대상 및 방법

망막색소상피세포 세포주 채집 및 배양을 위해서 돼지안구를 소독 후 공막을 벗겨내고 맥락막을 노출시킨 다음 25 U/mL의 dispase (GIBCO,

Carlsbad, CA, USA) 용액으로 20분간 처리하였다. 이후 Hank's balanced salt solution(HBSS)로 안구를 씻은 뒤 맥락막을 망막색소상피로부터 조심스럽게 분리하여 제거하고 망막의 후면에 느슨하게 부착되어 있는 망막색소상피판을 떼어내어 모은 다음 0.25% trypsin-EDTA (GIBCO, Carlsbad, CA, USA)로 처리하여 개개의 망막색소상피세포로 분리시킨 뒤 60 mm 배양접시에 옮겨 배양하였다. 배지는 15% fetal bovine serum(FBS), 100 IU/mL penicilline G, 100 μ L/mL streptomycin, 5 μ L/mL gentamicin, 2.5 μ L/mL amphotericin B을 함유한 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)를 사용하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 및 95% 공기 조건하에서 배양하였으며 이틀마다 배지를 교환하였고 망막색소상피세포가 밀생상태가 되면 계대배양하여 3-6 세대의 세포로 실험을 실시하였다.

ICG 용액의 제조는 실제 수술 중 사용되는 ICG 용액과 같은 방법으로 희석하여 배양된 망막색소상피세포에 노출하였다. ICG(Diagnogreen[®] Injection; Daiichi Pharmaceutical, Tokyo, Japan)를 0.5 mL의 증류수에 완전히 녹인 후 안구내 관류용액인 balanced salt solution (BSS[®], Alcon Laboratories, Inc, Fort Worth, Texas, USA)으로 희석하여 1.0 mg/mL (0.1%), 5.0 mg/mL(0.5%) 및 10 mg/mL(1%) 농도의 ICG 용액을 만들어 실험에 이용하였다.

형태학적 연구를 위해 배양된 망막색소상피세포를 24-well plates에 심어 well 바닥이 세포로 가득 메워지면 well 내의 망막색소상피세포를 BSS[®], 0.1%, 0.5% 및 1.0% 농도의 ICG에 30초, 1분, 5분 및 10분간 노출시킨 다음 BSS[®]로 세 번 씻은 후 배양액으로 교환하여 이틀마다 배지 교환을 하였고, ICG 처리 후 3일, 1주, 2주 및 4주째 BSS[®]에만 노출시킨 대조군에 비한 ICG에 노출시킨 각 실험군의 형태학적 변화를 위상차 현미경으로 비교 관찰하였다.

세포독성 연구를 위해 망막색소상피세포를 96-well plates에 심어 well 바닥이 세포로 차게 되면 세포를 BSS[®], 0.1%, 0.5% 및 1.0% 농도의

ICG에 각각 30초, 1분, 5분 및 10분간 노출시킨 다음 BSS[®]로 세 번 씻은 후 배양액으로 교환하여 이틀마다 배지 교환을 하였고 3일, 7일, 14일 및 28일째에 MTT assay (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany)를 이용하여 대조군(BSS[®] 노출군)에 비한 실험군(ICG 처리군)의 미토콘드리아 탈수소효소 활성도 (mitochondrial dehydrogenase activity)를 ELISA 방법으로 570 nm에서 측정하여 비교하였다. MTT assay는 건강한 세포에서 미토콘드리아 탈수소효소가 tetrazolium salt를 쪼개 ELISA reader로 정량할 수 있는 formazan dye를 만들어 내는 것을 이용한 측정법이다.

세포증식 억제에 대한 연구를 위해 망막색소상피세포를 96-well plates에 2×10^4 cells/well 농도로 심은 뒤 밤 동안 세포가 well 바닥에 부착되면 세포를 BSS[®], 0.1%, 0.5% 및 1.0% 농도의 ICG에 각각 30초, 1분, 5분 및 10분간 노출시킨 다음 BSS[®]로 세 번 씻은 후 배양액으로 교환하여 이틀마다 배지 교환을 하였고, 대조군인 BSS[®]에 노출된 망막색소상피세포가 well 바닥을 다 채우는 시점에 MTT colormetric assay로 각 well내의 살아 있는 세포수를 측정하여 ICG 농도에 따른 세포의 증식에 미치는 영향을 알아보았다.

세포 재증식에 미치는 영향 연구를 위해 배양된 망막색소상피세포를 24-well plates에 심어 well 바닥이 세포로 가득 메워지면 well 내의 망막색소상피세포를 BSS[®], 0.1%, 0.5% 및 1.0% 농도의 ICG에 30초, 1분, 5분 및 10분간 노출시킨 다음 BSS[®]로 세 번 씻은 후 배양액으로 교환하면서 인위적으로 각 well의 중심부에 5 mm 크기의 결손을 만들고 이틀마다 배지 교환을 하면서 망막색소상피세포가 결손부를 메우는 과정을 위상차 현미경으로 관찰하였다.

투과전자현미경 검사를 위해 망막색소상피세포를 60mm 배양접시에 계대배양하여 계대배양 2일째 및 10일째 망막색소상피세포를 BSS[®], 0.5% 및 1.0% 농도의 ICG에 1분 및 5분간 노출시킨 다음 BSS[®]로 세 번 씻은 후 배양액으로 교환하여 이틀마다 배지 교환을 하였고 노출 후 1주일째 E-tube

에 망막색소상피세포를 모아 2.5% glutaraldehyde용액으로 1-4℃에서 2시간 전고정을 하고, 0.1M phosphate buffer로 수세한 후 1% Osmium tetroxide용액에 2시간 후고정을 실시한 다음 같은 완충용액으로 세척하여 계열에탄올로 탈수시켰다. Propylene oxide로 치환한 후 Luft방법에 의한 epon혼합물로 포매하여 37℃에서 12시간, 45℃에서 12시간, 60℃에서 48시간동안 방치하여 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 1 μ m 두께로 박절한 후 toluidine blue염색을 하여 관찰 부위를 결정한 다음 초박절은 Sorvall MT XL형 초박절기에 Dupont 다이아몬드 칼을 부착하여 회백색의 간섭색을 나타내는 초박절편(40-50 nm)을 얻어서 grid에 부착한 뒤 Watson 및 Reynolds방법에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 Hitachi H-7100형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

형태학적 변화는 대조군인 BSS[®]에 노출된 군에 비해 ICG에 노출된 실험군의 망막색소상피세포 중 0.5% 농도이하의 군에서는 별 다른 변화를 찾아볼 수 없었으나 1% 농도에 5분 이상 노출된 군에서는 크기가 다소 불규칙하였다. 그러나 위상차현미경 하에서 세포 모양이 길쭉해지는 섬유모세포양상으로의 변형이나 세포의 위축을 보이는 형태학적인 변화 없이 전형적인 상피세포 모양을 유지하였다 (Fig. 1).

세포독성 연구에서는 배양기 바닥에 밀생된 망막색소상피세포에 시행한 실험에서 ICG에 노출된 모든 실험군은 대조군인 BSS[®]에 노출된 군과 비교하여 망막색소상피세포의 미토콘드리아 탈수소효소 활성도에 별 차이가 없었다 (Fig. 2).

세포증식에 대한 영향 연구에서는 96 well plates에 2×10^4 cells/well 농도로 심은 망막색소상피세포는 모든 군에서 1주일 내에 세포수가 well당 40×10^4 에서 60×10^4 로 증가하여 well 바닥을 메웠으며 ICG에 노출된 모든 실험군

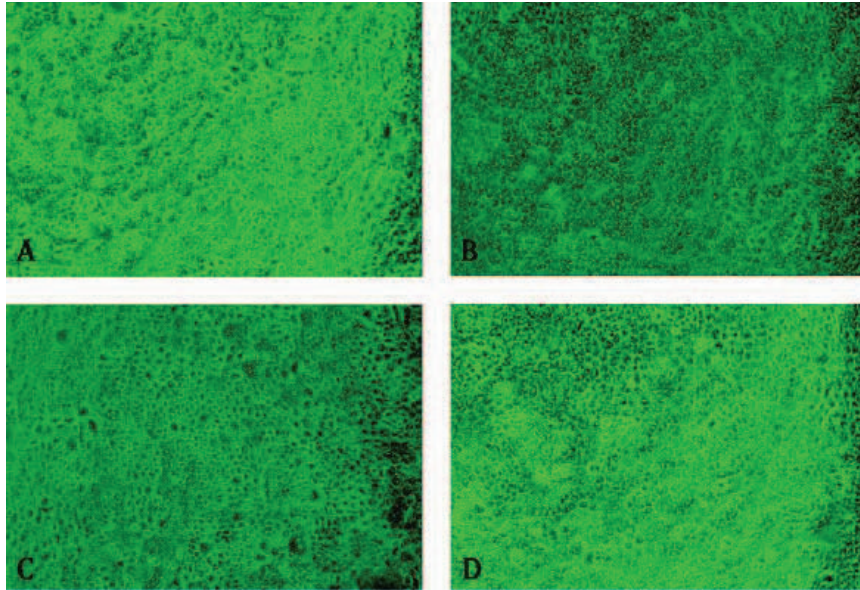


Fig. 1. Phase-contrast photomicrographs of cultured retinal pigment epithelial (RPE) cells exposed to BSS for 30 seconds (A), 0.5% ICG for 1minute (B), 0.5% ICG for 5 minutes (C) and 1% concentration of ICG for 5 minutes (D). No significant morphological change was observed between ICG-treated group and control (BSS) group except slight irregularity in size of ICG-treated RPE cells (original magnification, $\times 100$).

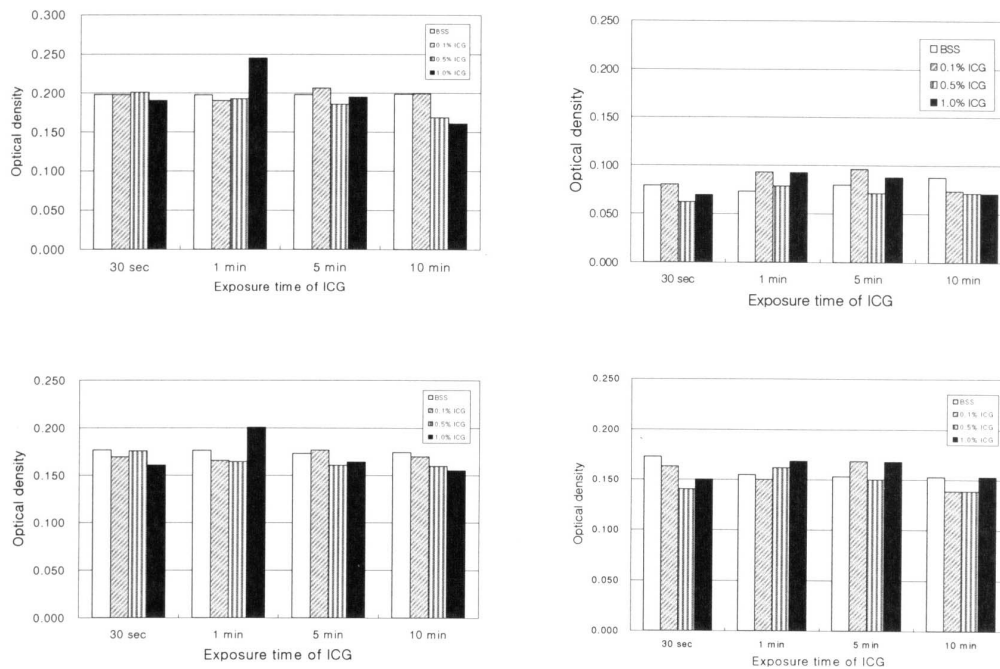


Fig. 2. Mitochondrial dehydrogenase activity of cultured retinal pigment epithelial cells in each group. Top left, 3 days after ICG exposure; top right, 1 week after ICG exposure; bottom left, 2 weeks after ICG exposure; bottom right, 4 weeks after ICG exposure. No significant change of enzymatic activity was observed between ICG-treated groups and control groups.

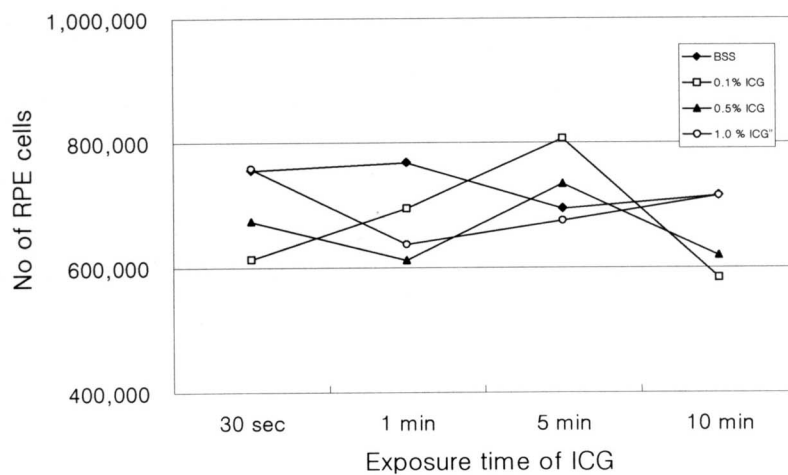


Fig. 3. Effect of ICG on the proliferating RPE cells. No inhibition was observed in ICG-exposed groups in comparison with control group.

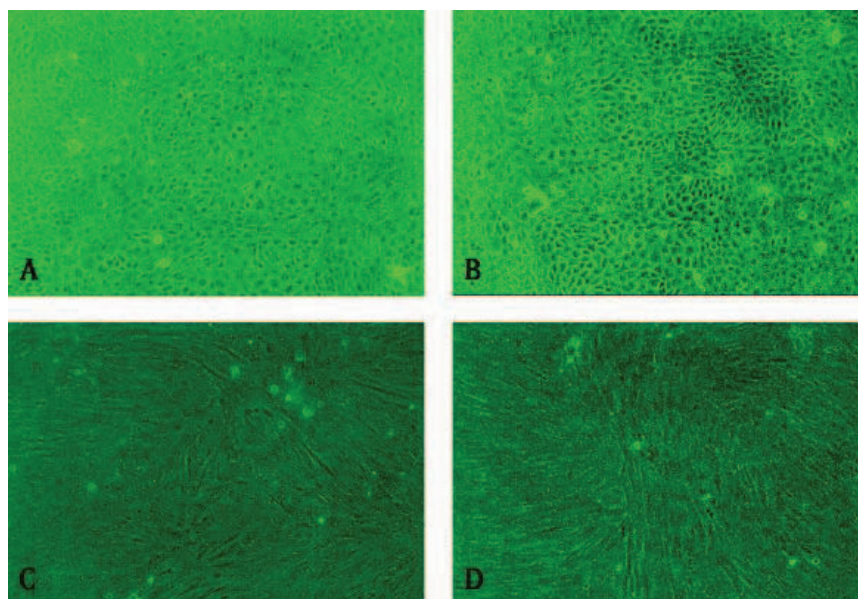


Fig. 4. Phase-contrast photomicrographs of RPE cells proliferating to occupy the central defect area. In RPE cells that were exposed to BSS for 1 minute (A), 0.1% concentration of ICG for 1 minute (B), no morphological aberrations were observed. However, RPE cells exposed to 0.5% ICG for 10 minutes (C), and 1.0% ICG for 10 minutes (D) showed tendency to be transformed to fibroblast-like cells (original magnification, $\times 100$).

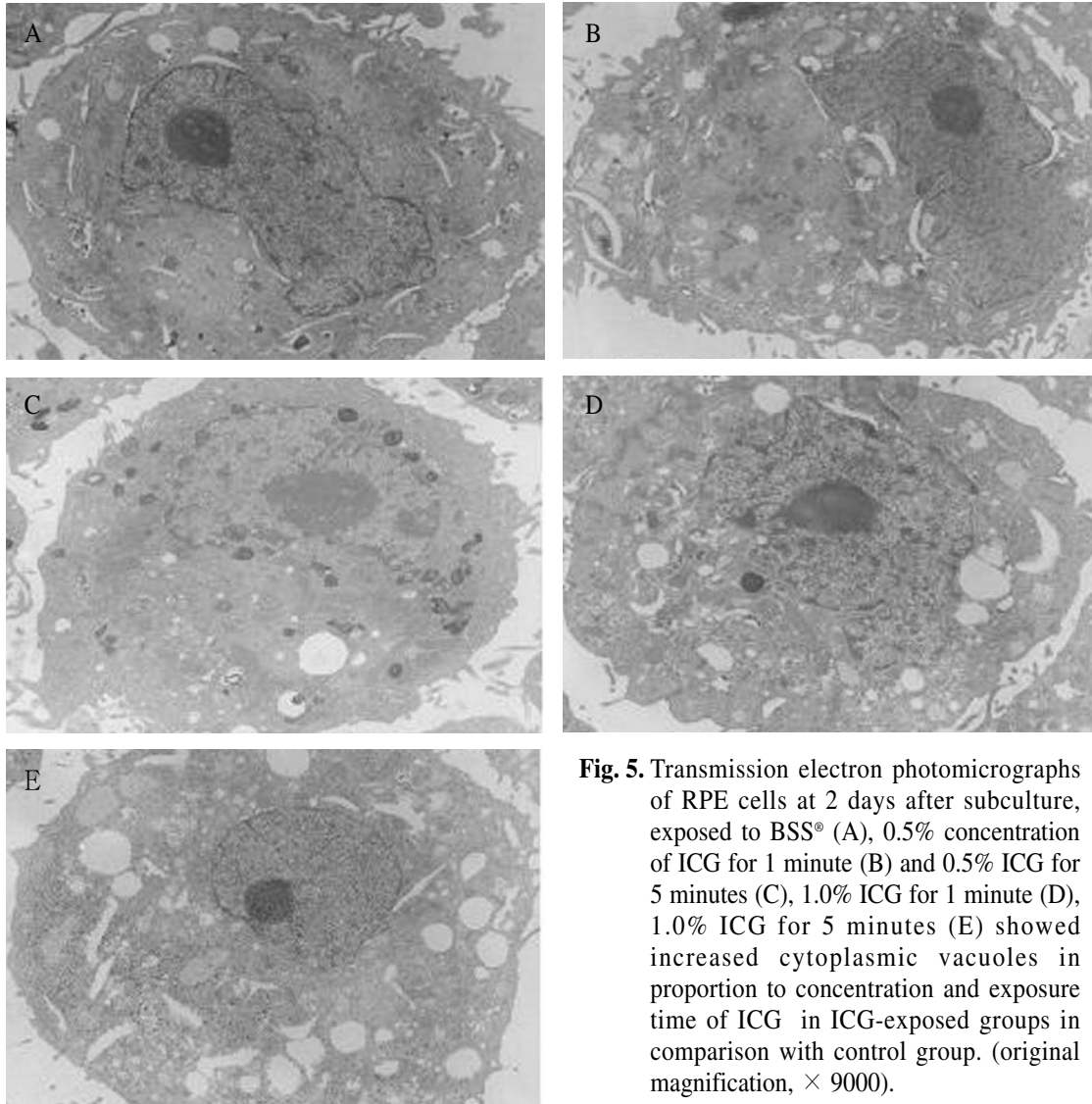


Fig. 5. Transmission electron photomicrographs of RPE cells at 2 days after subculture, exposed to BSS[®] (A), 0.5% concentration of ICG for 1 minute (B) and 0.5% ICG for 5 minutes (C), 1.0% ICG for 1 minute (D), 1.0% ICG for 5 minutes (E) showed increased cytoplasmic vacuoles in proportion to concentration and exposure time of ICG in ICG-exposed groups in comparison with control group. (original magnification, $\times 9000$).

은 대조군인 BSS[®]에 노출된 대조군과 비교하여 망막색소상피세포의 증식에 미치는 영향은 없었다 (Fig. 3).

단세포층에 만든 결손부위로 주위의 세포가 증식되어 가는 형태학적 관찰에서 0.5% 농도이상의 ICG에 5분 이상 노출된 군에서는 결손부를 메우는 망막색소상피세포는 섬유모세포형태로 변형되는 경향을 보였으나, 그 외의 군에서는 대조군인 BSS[®]에 노출된 군과 형태학적 차이는 없었다 (Fig. 4).

투과전자현미경검사 상 망막색소상피세포의 초미세구조는 대조군인 BSS에 노출된 군에 비해

ICG에 노출된 실험군의 망막색소상피세포 중 계대배양 2일째의 활발히 증식중인 세포에서는 농도와 노출시간이 증가될수록 세포질 내에 소공포가 증가된 소견을 보였다. 계대배양 10일째의 증식이 중지된 세포에서는 ICG에 노출된 실험군의 망막색소상피세포의 초미세구조는 대조군인 BSS에 노출된 군과 비교하여 별다른 변화를 보이지 않았다 (Fig. 5, 6).

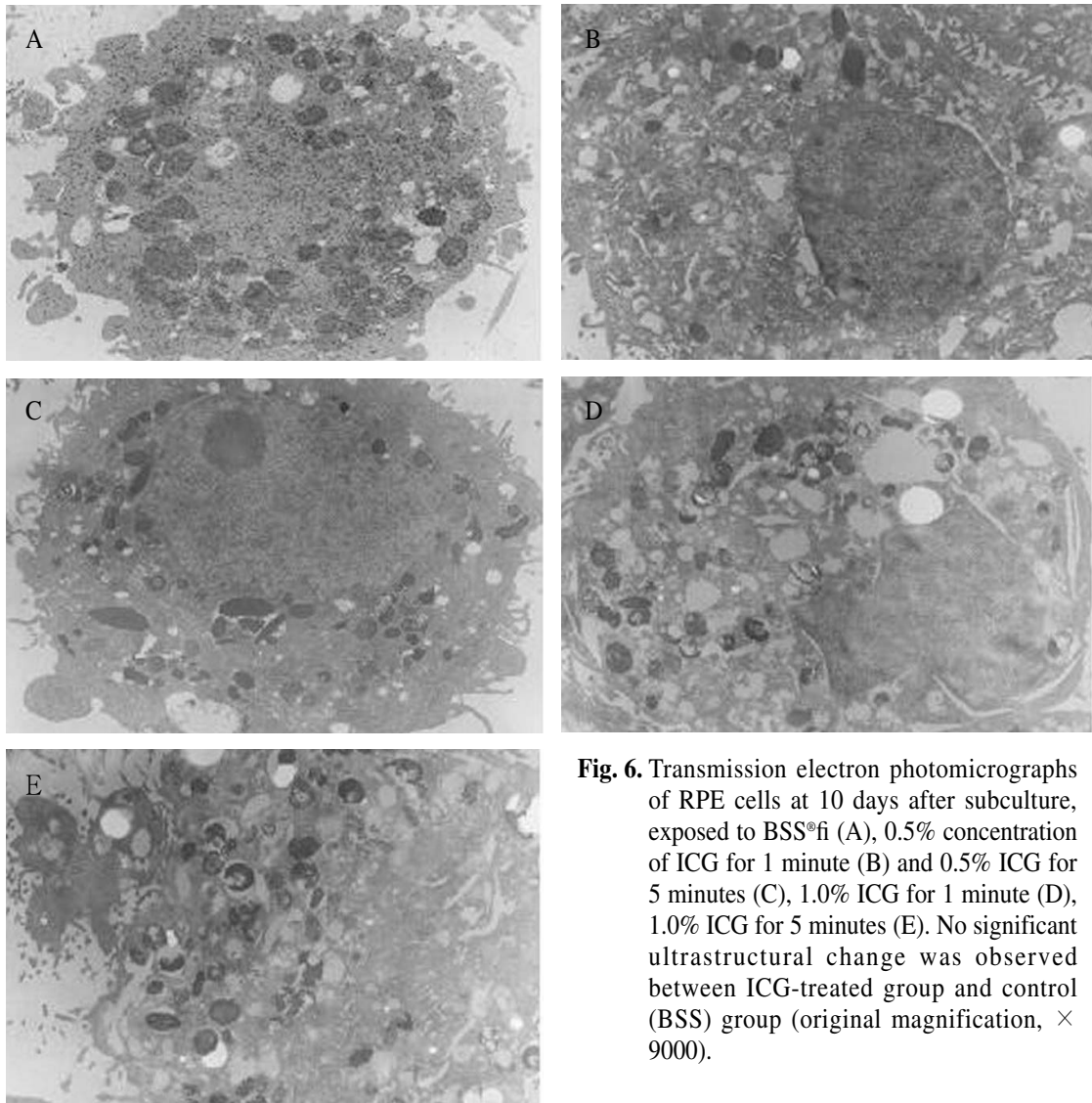


Fig. 6. Transmission electron photomicrographs of RPE cells at 10 days after subculture, exposed to BSS[®] (A), 0.5% concentration of ICG for 1 minute (B) and 0.5% ICG for 5 minutes (C), 1.0% ICG for 1 minute (D), 1.0% ICG for 5 minutes (E). No significant ultrastructural change was observed between ICG-treated group and control (BSS) group (original magnification, $\times 9000$).

고 찰

내경계막제거술은 최근에 들어 황반원공을 비롯한 여러 황반질환의 수술적 치료에 있어서 하나의 중요한 수술과정으로 자리 잡아 가고 있지만, 수술 중 내경계막이 잘 보이지 않아 주위조직에 손상을 주지 않고 제거하기가 쉽지 않다. 최근 Kadonosono 등[9]과 Burk 등[12]은 내경계막 염색에 있어서의 ICG의 유용성에 대해 기술한 바 있는데, ICG로 염색된 내경계막은 주위조직으로부터 구분이 용이하여 내경계막을 보다 안전하고 쉽

게 제거하는 것이 가능하게 되었다. 심한 백색의 백내장수술시 전낭절개술의 보조수단으로 사용되어지는 전방내의 ICG는 비교적 각막내피세포에 안전한 것으로 알려져 있으나[20,21], ICG가 내경계막 염색에 사용되기 시작한 후부터 아직까지 ICG가 망막에 미칠 수 있는 영향에 대해서는 연구가 미흡한 실정이다.

망막색소상피세포는 부르크막 (Bruch's membrane)과 광수용체 (photoreceptor) 사이에 위치하는 단층세포구조로서 외측혈액망막장벽 (outer blood retinal barrier)의 역할을 하며 광수

용체의 정상기능과 망막하 공간의 수분양 및 이온 농도 조절에 중요한 기능을 한다. 황반원공수술에 연관된 합병증 중 하나로 망막색소상피세포에 병적 변화가 올 수 있는데, Banker 등[22]에 따르면 복와위 동안 유리체내 가스충전의 지속으로 인한 맥락막모세혈관의 관류감소, 광독성, 망막색소상피세포와 광수용체의 직접적인 기계적 손상, 그리고 황반원공을 통한 망막하액의 흡인으로 인해 발생한다고 하였다. 황반원공수술시 내경계막의 제거를 위해 ICG를 사용하는 경우 ICG는 망막하 공간으로 들어가 망막색소상피세포와 직접적으로 접촉할 수 있으므로 ICG의 독성으로 인해 망막색소상피세포에 추가적인 손상을 줌으로서 시력예후가 더욱 나빠질 수도 있음을 여러 연구자들이 시사한 바 있다 [23-26].

본 연구에서는 돼지 망막색소상피세포를 이용하여 ICG의 노출에 따른 세포의 형태학적 변화, 독성 및 세포증식에 대한 영향 등을 알아보았다. ICG에 노출된 배양된 망막색소상피세포는 대조군에 비해 크기가 다소 불규칙하였으나 4주간의 전 관찰기간을 통해 전형적인 상피세포의 모양을 유지하였고 그 외에 의미 있는 형태학적 변화는 관찰되지 않았는데, Sippy 등[27]도 ICG에 20분간 노출된 배양된 인간 망막색소상피세포에서 조직학적 변화나 초미세구조의 이상은 없었다고 보고한 바 있다. 또한 본 연구에서는 대조군인 BSS[®]에 노출된 군과 비교하여 ICG로 처리한 군에서 ICG에 노출된 시간 및 농도에 관계없이 배양된 돼지 망막색소상피세포의 미토콘드리아 탈수소효소 활성도에 영향을 주지 않아 1% ICG농도까지는 망막색소상피세포에 특별한 독성작용은 없는 것으로 간주되었지만, Sippy 등[27]은 인간 망막색소상피세포에 시행한 연구에서 0.1%의 ICG에 20분간 노출되었을 때에도 통계학적으로 의미 있게 미토콘드리아 탈수소효소 활성도가 감소하였다고 보고하였는데, 이는 아마도 종이 달라서 오는 차이로 생각할 수 있겠다.

Weinberger 등[28]에 의하면 황반원공수술을 위해 사용한 ICG는 술 후 6주에도 망막표면이나 유리체내에 존재하였지만 남아있는 분자들이 독성을 나타내지는 않았다고 보고하였다. 그러나 Hotta 등

[29]에 따르면 황반원공수술 후 합병증으로 원공하의 망막색소상피세포의 소실을 4%에서 볼 수 있다고 하였는데, 이 소실부는 주위의 망막색소상피세포가 이동해 들어오거나 증식하여 빠른 시일 내에 메워지지 않으면 아래쪽의 맥락막모세혈관층의 위축을 초래하게 되고 이것은 수술후 시력회복의 주요 장애요인이 될 수 있다. 본 연구에서 ICG가 망막색소상피세포의 증식을 억제하지는 않았으나 0.5%이상의 농도에서 5분 이상 노출된 경우 결손부를 메우는 망막색소상피세포들은 대부분 섬유모세포형태로 변형되어 있었고 투과전자현미경 검사상 세포증식이 완료된 망막색소상피세포의 초미세구조에는 ICG가 영향을 주지 않았으나 증식중인 망막색소상피세포에서는 농도와 노출시간이 증가할수록 초미세구조의 변형을 보였다. 이러한 사실은 황반원공수술 중 망막색소상피세포의 결손이 발생하면 주위의 세포가 이동하고 증식하여 비록 결손부가 치유된다 하더라도 망막색소상피세포의 변형과 이에 따른 기능이상인 광수용체의 기능회복에 걸림돌로 작용하여 술 후 시력 결과에 나쁜 영향을 줄 수도 있을 것으로 사료된다.

유리체절제술시 사용되어지는 안내조명과 수술현미경의 조명은 광독성 망막병증을 일으킬 수 있는데, 조명의 강도와 노출시간, 조명과 망막간의 거리, 특히 황반부와의 거리 등에 영향을 받는 것으로 알려져 있다[30-34]. 내경계막제거시 ICG를 사용하면 수술시간을 단축할 수 있어 이러한 조명에 의한 광독성을 감소시켜 망막색소상피세포의 손상을 줄일 수도 있을 것으로 예상되나, Sippy 등[27]에 의하면 안내조명과 ICG를 같이 사용한 경우에 안내조명만 사용한 경우나 ICG만 사용한 경우보다 배양된 인간 망막색소상피세포의 미토콘드리아 탈수소효소 활성도에 더 많은 감소를 가져왔다고 보고하면서 ICG사용 시 안내조명에 의한 망막독성의 심각성을 제시한 바 있다. Enaida 등[35]에 의하면 2.5% 이상 농도의 ICG는 쥐의 모든 망막세포에 독성을 나타내어 망막구조의 변형과 망막색소상피세포의 부분적인 소실을 초래하였고 낮은 농도(0.025%)에서도 형태학적인 손상 없이 망막전위도를 감소시키는 것으로 보고하였다. 이는 ICG가

감각층 망막에도 독성을 나타낼 수 있다는 것을 시사하는 것으로 ICG의 안내사용시 안전성을 확보하기 위해서는 감각층 망막에 미치는 영향에 대한 연구도 향후 이루어져야 할 것으로 사료되고, 내경계막염색 시 사용되는 ICG의 농도나 노출시간 및 희석방법에 대한 명확한 지침을 얻기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다. 또한 본 연구에서는 세포의 형태학적 변화를 정량화 하지 않고 저자의 소견으로 기술하였으나 세포의 다면성과 다형성을 정량적으로 나타내는 hexagonality와 세포의 변이계수 같은 지표를 이용한 세포모양에 대한 객관적인 통계를 이용한 추가 연구도 필요할 것으로 사료된다.

본 연구의 결과로 미루어 볼 때 통상적으로 황반원공수술시 내경계막을 염색하기 위해 1.0-5.0 mg/mL (0.1 - 0.5%)의 농도로 약 1분간 사용되는 ICG는 망막색소상피세포에 안전한 것으로 여겨지지만 수술도중 발생한 망막색소상피세포의 결손은 증식하는 세포들의 잘못된 분화로 인해 술 후 시력 결과에 영향을 줄 수도 있을 것으로 보인다.

요 약

본 연구는 황반원공 수술시 내경계막을 염색하여 내경계막제거를 용이하도록 하기 위해 사용되어지는 indocyanine green (ICG)이 배양된 망막색소상피세포에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

배양된 돼지 망막색소상피세포를 ICG에 노출 후 망막색소상피세포의 형태학적 변화, 독성 및 세포 증식에 미치는 영향을 안구내 관류용액인 Balanced salt solution (BSS®)에 노출된 군을 대조군으로 하여 비교 분석하였다. 배양된 돼지망막색소상피세포를 24-well 및 96-well plates에 심어 well바닥을 채우게 되면 망막색소상피세포를 BSS®, 0.1%, 0.5% 및 1.0% ICG에 각각 30초, 1분, 5분 및 10분간 노출 후 위상차현미경, MTT assay 및 투과전자현미경 관찰을 시행하여 망막색소상피세포를 평가하였다.

ICG 노출군에서 망막색소상피세포의 크기가 다

소 불규칙한 것 외에는 의미 있는 형태학적 변화는 없었으며, 세포 독성 및 세포증식에 대한 억제효과는 나타나지 않았다. 그러나, 0.5% 농도이상의 ICG에 5분 이상 노출된 군에서 결손부를 메우는 망막색소상피세포는 섬유모세포형태로 변형되는 경향을 보였고 투과전자현미경상 ICG 노출군에서 증식중인 망막색소상피세포의 세포질 내에 소공포가 관찰되었다.

본 연구의 결과로 미루어 볼 때 통상적으로 황반원공수술시 내경계막을 염색하기 위해 1.0-5.0 mg/mL (0.1 - 0.5%)의 농도로 약 1분간 사용되는 ICG는 망막색소상피세포에 안전한 것으로 여겨지지만 수술도중 발생한 망막색소상피세포의 결손은 증식하는 세포들의 잘못된 분화로 인해 술 후 시력 결과에 영향을 줄 수도 있을 것으로 보인다.

참 고 문 헌

1. Mester V, Kuhn F. Internal limiting membrane removal in the management of full-thickness macular holes. *Am J Ophthalmol* 2000;**129**:769-77.
2. Brooks HL Jr. Macular hole surgery with and without internal limiting membrane peeling. *Ophthalmology* 2000;**107**:1939-49.
3. Wendel RT, Patel AC, Kelly NE, Salzano TC, Wells JW, Novack GD. Vitreous surgery for macular holes. *Ophthalmology* 1993;**100**:1671-6.
4. Kelly NE, Wendel RT. Vitreous surgery for macular holes. Results of a pilot study. *Arch Ophthalmol* 1991;**109**:654-9.
5. Haritoglou C, Gandorfer A, Gass CA, Kampik A. Indocyanine green staining and removal of internal limiting membrane in macular hole surgery: histology and outcome. *Am J Ophthalmol* 2002;**133**:587-8.
6. Gandorfer A, Messmer EM, Ulbig MW, Kampik A. Indocyanine green selectively stains the internal limiting membrane. *Am J Ophthalmol* 2001;**131**:387-8.

7. Eshita T, Ishida S, Shinoda K, Kitamura S, Inoue M, Oguchi Y, *et al.* Indocyanine green can distinguish posterior vitreous cortex from internal limiting membrane during vitrectomy with removal of epiretinal membrane. *Retina* 2002;**22**:104-6.
8. Foster RE, Petersen MR, Da Mata AP, Burk SE, Rosa RH Jr, Riemann CD. Negative indocyanine green staining of epiretinal membranes. *Retina* 2002;**22**:106-8.
9. Kadonosono K, Itoh N, Uchio E, Nakamura S, Ohno S. Staining of internal limiting membrane in macular hole surgery. *Arch Ophthalmol* 2000;**118**:1116-8.
10. Kwok AK, Li WW, Pang CP, Lai TY, Yam GH, Chan NR, *et al.* Indocyanine green staining and removal of internal limiting membrane in macular hole surgery: histology and outcome. *Am J Ophthalmol* 2001;**132**:178-83.
11. Da Mata AP, Burk SE, Riemann CD, Rosa RH Jr, Snyder ME, Petersen MR, *et al.* Indocyanine green-assisted peeling of the retinal internal limiting membrane during vitrectomy surgery for macular hole repair. *Ophthalmology* 2001;**108**:1187-92.
12. Burk SE, Da Mata AP, Snyder ME, Rosa RH Jr, Foster RE. Indocyanine green-assisted peeling of the retinal internal limiting membrane. *Ophthalmology* 2000;**107**:2010-4.
13. Hope-Ross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES, Guyer DR, Slakter JS, Sorenson JA *et al.* Adverse reactions due to indocyanine green. *Ophthalmology* 1994;**101**:529-33.
14. Lutty GA. The acute intravenous toxicity of biological stains, dyes, and other fluorescent substances. *Toxicol Appl Pharmacol* 1978;**44**:225-49.
15. Yannuzzi LA, Slakter JS, Sorenson JA, Guyer DR, Orlock DA. Digital indocyanine green videoangiography and choroidal neovascularization. *Retina* 1992;**12**:191-223.
16. Destro M, Puliafito CA. Indocyanine green videoangiography of choroidal neovascularization. *Ophthalmology* 1989;**96**:846-53.
17. Guyer DR, Puliafito CA, Mones JM, Friedman E, Chang W, Verdooner SR. Digital indocyanine-green angiography in chorioretinal disorders. *Ophthalmology* 1992;**99**:287-91.
18. Ho AC, Yannuzzi LA, Guyer DR, Slakter JS, Sorenson JA, Orlock DA. Intraretinal leakage of indocyanine green dye. *Ophthalmology* 1994;**101**:534-41.
19. McEnerney JK, Peyman GA. Indocyanine green: a new vital stain for use before penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1978;**96**:1445-7.
20. Holley GP, Alam A, Kiri A, Edelhauser HF. The effect of intraocular indocyanine green (ICG) on the corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;**42**:S27.
21. Horiguchi M, Miyake K, Ohta I, Ito Y. Staining of the lens capsule for circular continuous capsulorrhexis in eyes with white cataract. *Arch Ophthalmol* 1998;**116**:535-7.
22. Banker AS, Freeman WR, Kim JW, Munquia D, Azen SP. Vision-threatening complications of surgery for full-thickness macular holes. Vitrectomy for Macular Hole Study Group. *Ophthalmology* 1997;**104**:1442-52.
23. Schechter RJ. Retinal pigment epithelial changes after macular hole surgery with indocyanine green-assisted internal limiting membrane peeling. *Am J Ophthalmol* 2002;**134**:150-1.
24. Freeman JY, Engelbrecht NE, Aaberg TM Jr, Retinal and RPE changes after ICG-assisted ILM peeling in macular hole surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;**42**:S729.
25. Haritoglou C, Gass CA, Schaumberger M, Ehrt O, Gandorfer A, Kampik A. Macular changes after peeling of the internal limiting membrane in macular hole surgery. *Am J Ophthalmol* 2001;**132**:363-8.
26. Engelbrecht NE, Freeman J, Sternberg P Jr, Aaberg TM Sr, Aaberg TM Jr, Martin DF, *et al.* Retinal pigment epithelial changes after macular hole

- surgery with indocyanine green-assisted internal limiting membrane peeling. *Am J Ophthalmol* 2002;**133**:89-94.
27. Sippy BD, Engelbrecht NE, Hubbard GB, Moriaty SE, Jiang S, Aaberg TM *et al.* Indocyanine green effect on cultured human retinal pigment epithelial cells: implication for macular hole surgery. *Am J Ophthalmol* 2001;**132**:433-5.
28. Weinberger AW, Kirchhof B, Mazinani BE, Schrage NF. Persistent indocyanine green (ICG) fluorescence 6 weeks after intraocular ICG administration for macular hole surgery. *Graefe 's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;**239**:388-90.
29. Hotta K, Hirakata A, Shinoda K, Miki D, Hida T. Posterior segment complications after macular hole surgery. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1997;**101**:808-13.
30. Fuller D, Machemer R, Knighton RW. Retinal damage produced by intraocular fiber optic light. *Am J Ophthalmol* 1978;**85**:519-37.
31. Michels M, Sternberg P Jr. Operating microscope-induced retinal phototoxicity: pathophysiology, clinical manifestations and prevention. *Surv Ophthalmol* 1990;**34**:237-52.
32. Poliner LS, Tornambe PE. Retinal pigment epitheliopathy after macular hole surgery. *Ophthalmology* 1992;**99**:1671-7.
33. Duker JS. Retinal pigment epitheliopathy after macular hole surgery. *Ophthalmology* 1993;**100**:1604-5.
34. Meyers SM, Bonner RF. Retinal irradiance from vitrectomy endoilluminators. *Am J Ophthalmol* 1982;**94**:26-9.
35. Enaida H, Sakamoto T, Hisatomi T, Goto Y, Ishibashi T. Morphological and functional damage of the retina caused by intravitreal indocyanine green in rat eyes. *Graefe 's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002;**240**:209-13.