

정상 한국인의 각막내피세포의 형태학적 분석

김기산·박성렬·오준섭

= 요약 =

정상 한국인의 각막내피세포의 형태학적 특성을 알아보기 위하여 접안형경면 현미경을 이용하여 각막중심부의 내피세포를 촬영하였다. 대상은 정상한국인 총 42명 84안(남녀 각 21명씩 42안, 5세~71세)이었으며 형태학적 분석은 각막내피세포의 밀도, 면적 및 면적의 변이계수, 주변길이, shape factor, hexagonality 및 한변의 길이 등을 측정하여 나이에 따른 변화, 좌우안 및 남녀별 차이를 비교분석하였다. 밀도는 전체평균이 mm^2 당 3025개이며 hexagonality는 67.01%로 연령증가에 따라 감소되었으며($p<0.01$), 면적은 $338 \mu\text{m}^2$, 주변길이는 $68.68 \mu\text{m}$, shape factor는 0.873, 한변의 길이는 $11.47 \mu\text{m}$ 였으며 이들 변수들의 나이에 따른 변화는 모두 통계학적으로 의의가 있었으며 그중 hexagonality가 상관계수 -0.8021로 가장 높은 상관관계를 나타내었다($p<0.001$). 그러나 40세이상에서는 변이 계수, shape factor, 및 hexagonality만이 연령과의 상관관계가 있었고 세포밀도는 상관관계가 없었다. 좌우안 및 남녀별 비교에서는 통계학적으로 의의있는 차이는 없었다. 향후 각막내피세포에 관한 연구시 세포의 밀도뿐 아니라 변이계수, hexagonality 등 여러 변수들을 함께 측정하는 것이 바람직하다고 생각된다 (한안지 33 : 320~325, 1992).

= Abstract =

Morphometric Analysis of the Corneal Endothelial Cells in Normal Korean

Ki-San Kim, M.D., Sung-Youl Park, M.D., Joon-Sup Oh, M.D.

To investigate the morphometric characteristics of the corneal endothelial cells in normal Korean, specular microscope has been used in 84 eyes of 42 normal Korean volunteers, 42 eyes in male, 42 eyes in female ranging in age from 5 to 71 years of age. We have analyzed cell density, cell area, coefficient of variation of cell area(CV), perimeter, shape factor, hexagonality, and side lengths, and compared the changes in each parameters according to age, right and left eye, and sex. The mean cell density was 3025 cells/ mm^2 , and mean hexagonality was 67.01%. The values in these two parameters decreased with age ($p<0.01$). The mean cell area was $338 \mu\text{m}^2$, mean CV, 0.297, mean perimeter, $68.68 \mu\text{m}$, mean shape factor, 0.873, and mean

〈접수일 : 1991년 2월 10일, 심사통과일 : 1992년 3월 23일〉

계명대학교 동산의료원 안과학교실

Department of Ophthalmology, Keimyung University School of Medicine, Tae Gu, Korea

본 논문의 요지는 1990년 10월 19일 서울 워커힐호텔에서 개최된 제65차 대한안과학회 추계학술대회에서 구연 발표되었음.

본 연구는 1991년 계명대학교 갑종연구비의 보조로 이루어졌음.

side lengths was 11.47 μm respectively. The values in these parameters increased with age ($p < 0.01$). The correlation coefficient of all parameters with age were statistically significant, of which the hexagonality showed the highest value of -0.8021. However, in above 40 years of age, the CV, shape factor, and hexagonality showed statistically significant correlation with age, while the cell density did not. There were no statistically significant differences between right and left eye nor between male and female. The results of this study indicate that estimating the coefficient of variation of the cell area, hexagonality, as well as cell density are advisable in analyzing the endothelial morphology (J Korean Ophthalmol Soc 33: 320~325, 1992).

Key Words : Corneal endothelial cell, Morphometric analysis, Specular microscopy

각막은 그 투명도를 유지하기 위해서는 여러가지 요소가 필요하지만 그 중 가장 중요한 것은 각막내피세포의 pump 기능이다. 그러나 사람의 각막내피세포는 한번 손상되면 재생이 되지 않고 결손부위 주위의 내피세포들이 주로 이동, 재배열 및 확대에 의해 손상된 부위가 치유되게 된다. 결국 새로운 세포간 junction이 만들어지고 내피세포의 기능을 회복하게 된다¹⁾. 그러면서 원래의 내피세포의 특징적인 모양인 육각형 형태가 여러가지 모양으로 변하게 되고 이렇게 형태가 변한 각막내피세포는 그 기능이 감소되리라고 짐작 할 수 있다. 그러므로 각막내피세포의 형태학적 분석으로 연령증가나 안내수술 또는 안질환으로 인한 각막내피세포의 변화에 대한 정보를 알 수 있다. 그러나 현재까지 각막내피세포에 관한 연구는 주로 각막내피세포수에 관한 것이었고 각막내피세포의 형태학적 접근은 빈약했고 국내에는 전문한 설정이다.

본 연구는 정상 한국인의 각막내피세포의 형태학적 분석을 시행하여 나이에 따른 각막내피세포의 밀도의 변화뿐 아니라 내피세포의 면적 및 면적의 변이 계수(coefficient of variation), 주변길이(perimeter), shape factor, hexgonality 및 내피세포의 한변의 길이(length)등의 변화를 측정하여 향후 내피세포에 관한 연구의 형태학적 기초자료를 제시하기 위하여 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

대상으로는 외래에 내원한 혹은 입원한 환자 및 환자보호자 중 과거력상 안외상 및 안수술의 경력이 없으며, 나안시력이 0.8이상, 정상범위의 안압, 세극

등 검사상 외안부에 질환이 없음을 확인하고 각막내피세포에 영향을 줄 요소가 없는 자원자중 10세 미만, 10~19세, 20~29세, 30~39세, 40~49세, 50~59세, 60세 이상군으로 나누고 각군별로 남녀 각 3명 6안씩, 총 42명 84안을 대상으로 하였다(Table 1).

Table 1. Age and sex distribution of subjects

age	male (eyes)	female (eyes)	total (eyes)
<10	3(6)	3(6)	6(12)
10~19	3(6)	3(6)	6(12)
20~29	3(6)	3(6)	6(12)
30~39	3(6)	3(6)	6(12)
40~49	3(6)	3(6)	6(12)
50~59	3(6)	3(6)	6(12)
>60	3(6)	3(6)	6(12)
total	21(42)	21(42)	42(84)

자원한 피검자의 양안에 국소점안 마취제로 각막표면을 국소마취후 접안형 경면현미경(Bio-optics, U.S.A)으로 좌, 우안의 중심각막부 다섯군데를 무작위로 촬영하였으며 필름은 Kodak Tri-X ASA 400혹백필름을 사용하여 Flash 2.0~2.8, 1/30 sec로 촬영했으며 촬영한 필름은 Kodak D19현상용액으로 68°F에서 12분간 현상해서 3배크기로 확대인화하였다. 3배로 확대인화된 각막내피세포를 computer assisted digitizer (SAC, U.S.A)를 이용하여 1안당 100개 이상의 각막내피세포를 형태학적분석을 하였다. 즉 단위면적당 각막내피세포의 수인 밀도, 각막내피세포의 면적, 세포면적의 표준편차를 평균세포면적치로 나눈 즉 단위면적당 각막내피세포크기의 다양성(polymegathism)을 나타내는 양적 지침인 coefficient of variation(CV), 주변길이(perimeter), 원(circle)을

1.00으로 기준하여 컴퓨터에 의해 계산된 shape factor, 측정된 세포중 육각형세포의 비율 즉, 세포형태의 다양성(pleomorphism)을 나타내는 hexagonality, 내피세포의 한변의 길이(length)를 분석함으로써 연령증가에 따른 각 변수별 변화유무와 좌, 우안 및 남,녀에서의 각 변수별 차이유무를 Kruskal-Wallis 1-way ANOVA test와 Mann-Whitney U test를 이용하여 알아보았다.

결 과

총 84안의 각막중심부의 내피세포밀도의 평균은 3025.23 ± 424.55 개/mm²였으며 최소 2086 개/mm²에서 최대 4065 개/mm²의 분포였고 10세미만에서 3490 개/mm²에서 60 세이상에서는 2740 개/mm²로 연령증가에 따라 감소하였으며($p < 0.01$) 세포면적의 평균은 $337.99 \pm 45.55 \mu\text{m}^2$ 이였으며 연령증가에 따라 증가되었으며($p < 0.01$) polymegathism을 나타내는 세포면

적의 평균변이계수는 0.297 ± 0.079 으로써 10세미만에서 0.197 , 60 세이상에서는 0.390 으로써 연령증가에 따라 polymegathism이 증가되었으며 이는 통계학적으로 유의했다($p < 0.01$)(Table 2). 평균주변길이는 $68.68 \pm 4.41 \mu\text{m}$ 였고 shape factor의 평균은 0.873 ± 0.005 로써 연령증가에 따라 각각 증가 및 감소되었다. hexagonality는 평균 $67.01 \pm 6.56\%$ 이였으며 10 세미만에서 88.44% , 60 세이상에서는 55.31% 로 연령증가에 따라 현격한 감소를 보였다. 한변의 길이는 평균 $11.47 \pm 0.73 \mu\text{m}$ 였으며 이들 변수의 연령에 따른 변화도 통계학적인 의의가 있었다($p < 0.01$)(Table 3).

나이와 이들 변수와의 상관관계를 볼 때 그중 hexagonality의 상관계수가 -0.8021 로 가장 높았으며 변이계수는 0.7755 , 세포밀도는 -0.6896 였고 shape factor는 -0.4160 으로 가장 낮은 상관관계를 나타내었다(Table 4), 40 세이상에서의 연령에 따른 변화를 볼때 밀도는 상관계수는 -0.0193 , 세포면적은 $0.$

Table 2. Morphometric characteristics of corneal endothelial cells in normal Korean 84 eyes.

age (years)	density* (cell/mm ²)	cell area* (μm^2)	coefficient of variation*
<10	3490.88 ± 267.50	287.92 ± 21.94	0.197 ± 0.027
10-19	3364.93 ± 414.89	307.32 ± 38.57	0.235 ± 0.044
20-29	3050.67 ± 254.21	330.58 ± 26.19	0.263 ± 0.029
30-39	3072.50 ± 296.84	328.27 ± 31.74	0.300 ± 0.060
40-49	2765.25 ± 242.98	364.31 ± 33.68	0.321 ± 0.050
50-59	2675.42 ± 312.42	378.74 ± 44.82	0.353 ± 0.072
>60	2740.33 ± 181.46	366.49 ± 26.05	0.390 ± 0.069
total	3025.23 ± 424.55	337.99 ± 45.55	0.297 ± 0.079

* $p < 0.01$

Table 3. Morphometric characteristics of corneal endothelial cells in normal Korean 84 eyes.

age (years)	perimeter* (μm)	shape factor* (circle=1)	hexagonality* (%)	lengths* (μm)
<10	63.94 ± 2.29	0.873 ± 0.005	88.44 ± 4.46	10.69 ± 0.36
10-19	65.81 ± 4.13	0.876 ± 0.005	76.15 ± 8.18	11.00 ± 0.70
20-29	68.21 ± 2.76	0.877 ± 0.005	70.09 ± 4.15	11.39 ± 0.46
30-39	67.82 ± 3.25	0.872 ± 0.004	65.16 ± 6.54	11.35 ± 0.55
40-49	71.43 ± 3.27	0.872 ± 0.006	61.82 ± 7.93	11.87 ± 0.60
50-59	72.06 ± 4.14	0.873 ± 0.005	57.04 ± 5.46	12.04 ± 0.66
>60	71.38 ± 2.46	0.868 ± 0.005	55.31 ± 4.65	11.91 ± 0.38
total	68.68 ± 4.41	0.873 ± 0.005	67.01 ± 6.56	11.47 ± 0.73

* $p < 0.01$

Table 4. Correlation coefficients of morphometric parameters of corneal endothelial cells with age.

Parameter	correlation whole group	coefficient ≥ 40 years
density	-0.6896*	-0.0193
cell area	0.6607*	0.0090
coefficient of variation	0.7755*	0.4168 ⁺
perimeter	0.6390*	0.0050
shape factor	-0.4160*	-0.3345 ⁺
hexagonality	-0.8021*	-0.3398 ⁺
lengths	0.6321*	-0.0258

* p < 0.001 + p < 0.01 ^p < 0.05

0090으로 연령과의 상관관계가 거의 없었고 세포면적의 변이계수는 0.4168($p < 0.01$), shape factor는 -0.3345($p < 0.05$), hexagonality는 -0.3398($p > 0.05$)로 상관관계가 있었다(Table 4).

좌우안의 각 변수들의 평균과 남녀별 각 변수들의 평균은 Table 5,6에서와 같으며 좌우안중에서는 좌안이, 남녀중에서는 남자가 약간씩 밀도가 적고 변이계수는 크고 hexagonality도 적었으나 통계학적으로 의의있는 차이는 없었다($p < 0.05$).

고 찰

각막은 5층으로 이루어져 있으며 그중 각막내피는 두께가 4-6 μm , 폭 20 μm 의 6각형의 단일세포층으로 각막의 투명도와 두께를 유지하기 위해서는 각막내피세포의 능동적인 펌프작용과 장벽기능이 정상적으로 유지되어야 한다. 각막내피세포를 생체실험으로 관찰하는데는 현재까지 경면현미경이 가장 좋은 방법이다. 1930년 Vogt가 최초로 세극등으로 생체각막내피세포를 관찰했으며, 1968년 Maurice는 경면현미경을 최초로 소개했고, 1974년 Bron과 Brown은 세극등에 장착된 사진기로 사람의 각막내피세포를 흑백필름으로 촬영하였다. 1975년 Laing 등²⁾은 최초로 경면현미경을 이용하여 중심각막내피세포를 촬영했으며 1976년 Laing 등³⁾과 Bourne와 Kaufman⁴⁾은 경면현미경을 이용하여 연령증가에 따른 중심각막내피세포밀도의 변화를 보고한 아래 유사한 연구가 있어 왔다. 그러나 거의 모두가 세포의 밀도만을 관찰하였을 뿐 그외에 있을 수 있는 형태의 변화에는 언급이 없었다.

각막내피세포의 형태학적 변화는 연령증가에 따라

Table 5. Morphometric characteristics of corneal endothelial cells in normal Korean according to right or left eye.

parameter	od	os	total
density (cell/ mm^2)	3036.41 \pm 438.00	3014.05 \pm 415.80	3025.23 \pm 424.55
cell area (μm^2)	336.61 \pm 44.70	339.38 \pm 46.91	337.99 \pm 45.55
CV	0.296 \pm 0.077	0.299 \pm 0.083	0.297 \pm 0.079
perimeter (μm)	68.47 \pm 4.27	68.89 \pm 4.59	68.68 \pm 4.41
shape factor	0.873 \pm 0.005	0.872 \pm 0.006	0.873 \pm 0.005
hexagonality (%)	67.48 \pm 5.95	66.53 \pm 7.27	67.01 \pm 6.56
lengths (μm)	11.44 \pm 0.74	11.49 \pm 0.73	11.47 \pm 0.73

CV : coefficient of variation of the cell area

Table 6. Morphometric characteristics of corneal endothelial cells in normal Korean according to sex.

parameter	male	female	total
density (cell/ mm^2)	3017.27 \pm 412.84	3033.19 \pm 427.06	3025.23 \pm 424.55
cell area (μm^2)	339.01 \pm 44.52	336.97 \pm 45.83	337.99 \pm 45.55
CV	0.299 \pm 0.069	0.296 \pm 0.089	0.297 \pm 0.079
perimeter (μm)	69.22 \pm 3.91	68.16 \pm 4.83	68.68 \pm 4.41
shape factor	0.872 \pm 0.006	0.873 \pm 0.005	0.873 \pm 0.005
hexagonality (%)	66.07 \pm 6.17	67.90 \pm 7.00	67.01 \pm 6.56
lengths (μm)	11.56 \pm 0.66	11.38 \pm 0.80	11.47 \pm 0.73

CV : coefficient of variation of the cell area

일어날수 있으며⁴⁻⁷⁾ 전방내 공기주입 및 약제투여⁸⁻¹⁴⁾, 안내수술¹⁵⁻¹⁷⁾, 전총각막이식술¹⁸⁾, 근시수술^{19,20)}, 레이저 치료²¹⁾, 외상²²⁾ 및 전신질환²³⁾등 여러 원인에 의하여 일어날수 있다. 각막내피세포가 손상되면 내피세포가 소실되고 소실된 곳은 주위세포의 이동과 확대에 의해서 메꿔지며 인체에서는 세포분열은 되지 않는 것으로 알려져 있으나 Laing 등²⁴⁾은 드물지만 세포분열이 일어난다고 보고했다. 이러한 손상된 내피세포의 수복과정에서 polymegathism과 pleomorphism이 증가되며 그 모양도 변하게 된다.

본 연구에서의 평균각막내피세포밀도는 $3025\text{개}/\text{mm}^2$ 로 정등⁶⁾의 2686개, Hoffer와 Kraff⁷⁾의 2319개, Heiles 등²⁵⁾의 2696개보다 다소 높게 측정되었는데 이는 측정방법의 차이때문이라고 생각된다. 과거에는 각막내피세포를 촬영하여 격자등을 이용하여 밀도를 계산하였는데 이제는 본 연구에서 사용한 computer에 달려있는 digitizer를 사용하거나 비디오판면에서 바로 모든 형태학적 분석이 가능한 software도 개발되어 있어 많은 오차를 줄일 수 있을 뿐만 아니라 polymegathism이나 pleomorphism 등을 동시에 측정할 수 있다.

Laing 등^{2,3)}은 노인의 좌, 우안에서 내피세포면적의 차이가 있다고 보고했으나 본 연구에서는 대부분의 보고^{5,6)}에서처럼 면적뿐 아니라 모든 변수에서 좌우안의 차이는 볼 수 없었으며 남녀간의 차이 또한 없었다.

세포밀도의 변화외에 polymegathism을 나타내는 수치인 변이계수는 10세미만에서 0.197, 60세이상에서는 0.390으로 증가하였으며 이때의 상관계수는 0.7755로 상당히 높은 상관관계를 보였으며 hexagonality역시 10세미만에서 88.44%, 60세이상에서 55.31%로 현격히 감소하여 형태학적 변수중 가장 높은 상관관계를 나타내었다($R=-0.8021$).

Laing 등³⁾과 Bourne과 Kaufmann⁴⁾은 연령의 증가에 따라 각막중심부의 내피세포밀도는 감소한다고 하였다. 그러나 Hoffer와 Kraff⁷⁾는 40세에서 90세사이의 전체 1950명에 대해 조사한 결과 내피세포밀도와 연령의 상관계수는 -0.042로 연령에 따른 차이가 없다고 하였다. 본 연구에서 5세에서 71세까지 조사한 결과는 상관계수 -0.6896($p<0.001$)으로 의의있는 상관관계를 보였지만 40세이상에는 -0.0193($p<0.05$)으로 상관관계가 없었다. 그렇지만 40세이상에서

도 변이계수의 상관계수는 0.4168($p<0.01$), hexagonality는 -0.3398($p<0.05$)로 전체군에서 보다는 낮았지만 의미있는 상관관계가 있었다. 이는 역시 각막내피세포를 관찰하는데는 그 밀도도 중요하지만 변이계수나 hexagonality 또한 아주 중요하다는 것을 보여주는 것으로 앞으로 각막내피세포의 변화를 보고자 할때는 세포의 밀도뿐 아니라, polymegathism, pleomorphism 등을 함께 조사하는 것이 바람직하다고 생각된다.

REFERENCES

- Dohlman CH : *Physiology of the cornea*. In : Smolin G, Thoft RA, ed. *The cornea*. 2nd ed., Boston/Toronto, Little, Brown and Company, 1987, pp. 3-14.
- Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM : *In vivo photomicrography of the corneal endothelium*. Arch Ophthalmol 93 : 143-145, 1975.
- Laing RA, Sandstrom MM, Berrospri AR, Leibowitz HM : *Changes in the corneal endothelium as a function of age*. Exp Eye Res 22 : 586-594, 1976.
- Bourne WM, Kaufman HE : *Specular microscopy of human corneal endothelium in vivo*. Am J Ophthalmol 81 : 319-323, 1976.
- Laule A, Cable MK, Hoffman CE, Hanna C : *Endothelial cell population changes of human cornea during life*. Arch Ophthalmol 96 : 2031-2035, 1978.
- 정보원, 박천규, 한홍주 : 정상 한국인의 연령에 따른 각막내피세포 밀도의 변화, 한안지 29 : 504-508, 1988.
- Hoffer KJ, Kraff MC : *Normal endothelial cell count range*. Ophthalmology 87 : 861-866, 1980.
- Hull DS, Chemotti MT, Edelhauser HF : *Effects of epinephrine, benzalkonium chloride and intraocular miotics on corneal endothelium*. Southern Med J 72 : 1380-1381, 1979.
- Waltman SR, Yarian D, Hart W, Becker B : *Corneal endothelial changes with long term topical epinephrine therapy*. Arch Ophthalmol 95 : 1357-1358, 1977.
- Birnbaum DB, Hull DS, Green K, Frey NP : *Effect of carbachol on rabbit corneal endothelium*. Arch Ophthalmol 105 : 253-255, 1980.
- David ED, Hull DS, Green K : *Effect of intraocular miotics in corneal endothelium*. Arch Ophthalmol 96 : 1987-1900, 1978.
- Eiferman RA, Wilkins EL : *The effect of air on hu-*

- man corneal endothelium. *Am J Ophthalmol* 92 : 328-331, 1981.
- 13) Edelhauser HF, Hanneken AM, Pederson HJ, Van Horn DL : *Osmotic tolerance of rabbit and human corneal endothelium*. *Arch Ophthalmol* 99 : 1281-1287, 1981.
- 14) Gonnering R, Edelhauser HF, Van Horn DL : *The PH tolerance of rabbit and human corneal endothelium*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18 : 373-390, 1979.
- 15) Rao G, Steven R, Harris J : *Longterm changes in corneal endothelium following intraocular lens implantation*. *Ophthalmology* 88 : 386-397, 1981.
- 16) Schultz KO, Glasser DB, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF : *Response of the corneal endothelium at cataract surgery*. *Arch Ophthalmol* 101 : 1161-1169, 1986.
- 17) Matsuda M, Suda T, Manabe R : *Serial alternations in endothelial cell shape and pattern after intraocular surgery*. *Am J Ophthalmol* 98 : 313-319, 1984.
- 18) Karnama Y, Khodadoust AA : *Corneal endothelium in penetrating keratoplasty*. *Am J Ophthalmol* 102 : 66-71, 1986.
- 19) Rae SM, Matsuda M, Rich CF : *The effect of radial keratotomy on the corneal endothelium*. *Am J Ophthalmol* 100 : 538-542, 1985.
- 20) Chiba K, Tsubota K, Oak SS, Laing RA, Goldstein J, Hecht S : *Morphometric analysis of corneal endothelium following radial keratotomy*. *J Cataract Refract Surg* 13 : 263-267, 1987.
- 21) Hirst LW, Robin AE, Sherman S, Green WR, D'Anna S, Dunkelberger G : *Corneal endothelial changes after argon laser iridotomy and panretinal photocoagulation*. *Am J Ophthalmol* 93 : 473-481, 1982.
- 22) Bourne WM, McCarey BE, Kaufman HE : *Clinical specular microscopy*. *Trans Acad Ophth & Otol* 81 : 743-753, 1976.
- 23) Schultz RO, Matsuda M, Yee RW, Edelhauser HF, Schultz KJ : *Corneal endothelial changes in type I and type II diabetes mellitus*. *Am J Ophthalmol* 98 : 401-410, 1984.
- 24) Laing RA, Neubauer L, Oak SS, Kayne HL, Leibowitz HM : *Evidence for mitosis in the adult corneal endothelium*. *Ophthalmology* 91 : 1129-1134, 1984.
- 25) Hiles DA, Biglan AW, Fetherolf EC : *Central corneal endothelial cell counts in children*. *J Am Intraocular Implant Soc* 5 : 292-300, 1979.