대한안과학회지 제 43 권 제 1 호 2002
J Korean Ophthalmol Soc 43(1):204-212, 2002

증식유리체망막병증의 발생에 있어서 Mitomycin-C의 억제효과

김광수 · 이세엽 · 김종현

계명대학교 의과대학 안과학교실

목적 : 실험적 증식유리체망막병증(proliferative vitreoretinopathy, PVR)의 발생에 대한 mitomycin-C(MMC)의 억제효과를 알아보았다.

대상과 방법 : 배양된 토끼의 섬유아세포를 먼저 3 μg/L(저)와 300 μg/L(고)농도의 MMC에 약 30분간 노출시킨 뒤 약 20만/0.1 mm^2의 농도로 토끼의 유리체강에 주입하여 약물로 처리하지 않은 대조군과 증식유리체망막증의 발생을 비교하였고, MMC에 의한 망막독성을 알아보기 위하여 같은 농도의 MMC를 함유한 용액으로 30분간 유리체관류를 한 다음 병리조직검사를 시행하였다.

결과 : 실험 후 최종검사에서 MMC로 처리하지 않은 세포만을 주입한 대조군의 10안 중 9안(90%)에서 PVR이 발생한 반면, MMC 치료군에서는 저농도로 치료한 12안 중 8안(67%)에서, 고농도로 치료한 10안 중 2안(20%)에서 PVR이 발생하였고 대조군에 비하여 전반적으로 PVR의 정도가 경하였으며, 고농도 치료군과 대조군 사이에서는 PVR의 발생률에 통계학적인 의의가 있었다($p<0.01$). 망막독성 실험의 1주 및 4주 검사에서 망막과 망막색소상피에 대조군에서 보인 소견이상의 조직학적인 병적소견은 관찰되지 않았다.

결론 : 이상의 결과로 볼 때 복합망막박리의 치료를 위한 유리체절제술시 일정농도의 MMC의 안내관류는 PVR의 발생을 효과적으로 감소시켜서 이들의 치료 및 재발방지에 많은 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

<한안지 43(1):204-212, 2002>

증식유리체망막병증은 망막박리시 일차적으로 혹은 수술후 합병증으로 망막표면에 여러 가지 세포들이 증식하여 수축성 증식막을 형성함으로서 발생하며, 흔히 망막박리의 치료 및 예후를 나쁘게 한다.[1-4] 수술수기와 기구의 꾸준한 개선으로 이러한 질환에 대한 수술의 실패율은 많이 낮아지고 있으나 세포증식으로 인한 합병증은 여전히 해결되어야 될 문제로 남아 있다. 그래서 수술에 병행한 치료방법의 일환으로서 이러한 세포증식을 효과적으로 억제시키고, 동시에 주위조직에는 비교적 안전한 약물을 찾아보려는 노력을 최근에도 계속하고 있다.[5-11]

Mitomycin-C(MMC)는 streptomyces caespitosus에서 추출된 항암성 항생제로서 DNA내의 deoxyguanosine residues를 alkylate 하고 DNA를 crosslink 시켜 DNA복제, RNA 및 단백합성을 억제함으로서[12,13] 장기간에 걸친 세포증식억제효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.[14-16] 현재 녹내장 및 군날개 수술시 반흔형성 억제 혹은 재발방지를 위해 보조요법으로 널리 이용되고 있으나,[17-21] 이 약물을 이용한 증식유리체망막증(PVR)의 억제에 대한 연구는 그리 많지 않다.[22,23] Khaw 등[15,24]은 실험 및 생체연구에서 MMC를 포함한 항증식약제에 단시간 노출로 결막하섬유아세포의 증식억제 효과를 장기간에 걸쳐 얻을 수 있었다고 하였다. 만약 효과가 있다면 그러한 단시간의 단일치료가 PVR의 발생에 관여하는 세포작용을 억제시킬 수 있는 것은 분명하고, 이러한 약제를 수술 중에 1회 주입한 후 일정시간 후에 씻어낸다면 치료약제의 노출을 보다 정확하게 조정할 수 있을 것이다. 이에 본 연구자들은 실험적 PVR의 발생에 있어서 MMC에 의한 억제효과, 특히 유리체절제술 동안 일정시간 MMC가 첨가된 관류액의 유리체관류를 통한 억제효과를 알아볼 목적으로 본 연구를 하였다.

<접수일 : 2001년 5월 2일, 심사통과일 : 2001년 12월 10일>

통신저자 : 김 광 수
대구광역시 중구 동산동 194
계명대학교 의과대학 안과학교실
Tel : 82-53-250-7706, 7707, Fax : 82-53-250-7705
E-mail : kimks@dsmc.or.kr

* 본 논문의 요지는 1999년 제 82차 대한안과학회 춘계 학술대회에서 구연 발표되었음
* 본 연구는 1996년도 동산의료원 특수과제연구비로 이루어졌음.

대상과 방법

본 연구는 실험적 증식유리체망막병증의 발생에 대한 실험약제의 유리체관류를 통한 억제 효과를 알아보기 위한 것으로서 실험중 유리체강내로 주입된 세포의 유실등의 실험상의 착오를 줄이기 위하여 예전의 방법을 변형시켜 실험을 하였다.

1. 조직채취 및 세포배양

유색토끼의 결막하조직으로부터 종전 저자들의 방법을 이용하여 섬유아세포를 배양하였다.[11,25] 그 방법을 간략하게 기술해보면, 유색토끼를 염산케타민 근주(20 mg/kg)로 전신마취시키고 얻은 결막하조직을 잘게 썬 후 조직배양액[Dulbecco's Modified Eagle Medium+ 10% fetal bovine serum+penicillin (50 units/ml), strep-tomycin(50 ㎍/ml), amphotericin B (2.5 ㎍/ml)] (Gibco, Paisley, UK)에 넣어 37℃, 5% CO_2의 조건하에서 배양하였으며 주 2회씩 배양액을 갈아주었다. 배양기 바닥이 섬유아세포로 차게되면 0.05% trypsin-EDTA (Gibco)으로 처리하여 섬유아세포를 분리시켰으며, 10분간 원심분리하여(1000 rpm/min) 세포를 수확하였다. 수확된 섬유아세포는 동일한 방법으로 계대배양하였으며 본 실험에는 3~6회 계대배양된 세포를 이용하였다.

2. 약제처치 및 세포의 분리

MMC(중외제약사, 2 mg/vial)의 농도는 본 저자들이 종전의 연구에서 얻은 섬유아세포증식에 대한 50% 및 90%억제농도를 이용하였다.[26] 세포가 3개의 75 cm^2 배양기 바닥에 꽉 차도록 자라면 배양액을 버리고, Phosphate-buffered saline(PBS)[Gibco]로 씻은후 3.0 ㎍/L(ID_{50})과 300 ㎍/L(ID_{90})농도의 MMC를 함유한 배양액, MMC가 포함되지 않은 배양액으로 각각 교환하였다. 이후 약 30분간 배양으로 MMC에 노출시킨 뒤 다시 배양액을 버리고 PBS로 배양세포를 2~3회 세척한 후 0.05% trypsin-EDTA으로 세포를 분리하여 세포의 농도가 2.0×10^6/ml 되도록 PBS로 희석하였으며, trypan blue exclusion test를 시행하여 섬유아세포의 생육성(viability)이 95% 이상임을 확인하였다.

Table 1. PVR Score

Score	Characteristics
1	Intravitreal membrane &/or strand
2	Focal traction
3	Localized detachment of medullary ray
4	Extensive retinal detachment
5	Total retinal detachment

3. 실험적 증식유리체망막증의 발생을 통한 MMC의 억제효과 평가

체중 2.0~2.5 kg의 유색토끼 24마리(48안)를 3개군으로 나누어 우안(24안)는 대조군으로 이용하였고, 좌안(24안)은 치료군으로서 농도가 다른 MMC로 전 처치한 섬유아세포를 유리체강내로 주입하였다. 유리체강내 주사전 모든 대상안은 Thresher 등[27]의 방법을 이용하여 팽창가스 주입에 의한 유리체 압축(vitreous compression)을 시행하였다. 먼저 우안에 30게이지 주사침을 이용하여 약 0.4 ml의 C_3F_8 가스를 유리체강내로 주입한뒤 약 4일 후 유리체강이 팽창된 가스로 가득 채워지면 가스-액체 치환술을 실시하였으며, 이후 같은 방법으로 좌안에도 유리체 압축을 시행하였다. 가스-액체 치환술후 적어도 일주일 후에 유리체강내 주입 실험을 시행하였다.

모든 대상안의 동공을 1% tropicamide와 2.5% phenynephrine으로 충분히 산대시키고 염산케타민 근주(20 mg/kg)로 전신마취시킨 후 12마리의 우안에는 0.1ml의 PBS를, 좌안에는 3.0 ㎍/L 농도의 MMC로 전 처치된 섬유아세포 현탁액 0.1 ml(세포수:약 20만)를 도상검안경하에서 각공막윤부 상이측 4-5 mm후방의 공막을 통하여 26게이지 주사침으로 유리체강내에 주입하였고(II군, 혹은 저농도치료군), 나머지 12마리(24안)의 우안에는 MMC로 처치하지 않은 배양된 섬유아세포를(I군, 혹은 비치료군), 좌안에는 300 ㎍/L 농도의 MMC로 전 처치된 섬유아세포를 같은 농도와 방법으로 유리체강내로 주입하였다(III군, 혹은 고농도치료군).

실험직전 도상검안경으로 망막에 이상이 없음을 확인하였고 실험직후, 실험 후 1, 3일 및 1, 2, 4, 8주째에 도상검안경을 이용하여 안저검사 및 안저그림을 그리고 선택된 대상에서 안저사진을 찍었다. MMC에 의한 안내증식의 억제정도는 발생된 망막박리의 빈도 및 PVR정도로 평가하였으며, PVR정도의 판정은 Fasten-berg[28]의 분류를 토대로 각 Stage의 숫자를 score로 한 평균치로 나타내었다(Table 1). 각 군 사이는 Mantel-Haenszel Chi-Square 검정법으로 통계학적인 분석을 하였다.

4. MMC로 처리된 섬유아세포의 재배양

두가지 농도의 MMC에 30분간 노출된 세포와 MMC에 노출되지 않은 세포, 즉 세가지 실험군의 섬유아세포를 같은 농도(5000 cells/cm^2)로 6-well 배양판에 MMC를 함유하지 않은 배양액으로 37℃, 5% CO_2의 조건하에서 1주일동안 배양하여 MMC에 의한 증식억제 정도 및 배양된 양상을 위상차현미경으로 관찰하였다.

5. MMC의 망막독성

12마리의 토끼를 이용하여 MMC관류액에 의한 망막독성을 알아보았다. 본 실험에서 세포에 노출시킨 같은 농도의 MMC(3.0 ㎍/L, 300 ㎍/L)를 함유한 관류액으로 유리체절제술을 시행하면서 유리체강내를 30분간 관류한후 약제를 함유하지 않은 관류액으로 다시 치환시켰으며 1주 및 4주째에 각각 2마리씩 총 8마리에서 광학 및 전자현미경적 병리조직검사를 시행하여, 같은 방법으로 동일한 시간동안 약제를 함유하지 않은 관류액으로 유리체절제술을 실시한 4마리의 대조군과 비교하여 망막독성이 있는지를 알아보았다. 적출된 안구는 각공막윤부를 통한 절개로 전반부를 제거한 뒤 즉시 2.5% glutaraldehyde용액(0.1 M, phosphate buffer, pH 7.4, 4℃)에 2시간동안 후고정하였다. 고정된 조직은 계열 ethanol용액으로 탈수하여 propylene oxide로 침투시켰다. 그후 epon혼합물로 포매하였고 관찰할 부위를 1 ㎛의 두께로 박절한 후 alkaline toluidine blue로 염색해서 광학현미경으로 관찰하였다. 광학현미경 관찰 후 전자현미경으로 관찰할 부위가 선정되면 Sorvall MT-5000형 초박절기에 Dupont diamond knife를 부착하여 두께 40~60 nm로 초박절한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 한 다음 Hitachi H-600형 투과 전자 현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. MMC에 의한 실험적 유리체망막병증 발생의 억제

실험동물중에서 고농도 MMC로 처리한 세포를 투여한 12마리 중 2마리가 8주에 걸쳐 진행된 실험도중 폐

Table 2. Time-based change in severity of PVR by group. (mean±SD)

	Time after intravitreal cell injection					
	1 d	3 d	1 w	2 w	4 w	8 w
Group I	1.0±0.0	2.0±0.8	2.7±0.9	3.2±1.2	3.6±1.2	3.6±1.2
Group II	0.8±0.4	1.6±0.9	2.1±1.2	2.4±1.4	2.5±1.4	2.5±1.4
Group II	0.6±0.5	1.1±1.1	1.3±1.3	1.3±1.3	1.3±1.3	1.3±1.3

d: day (s), w: week (s)

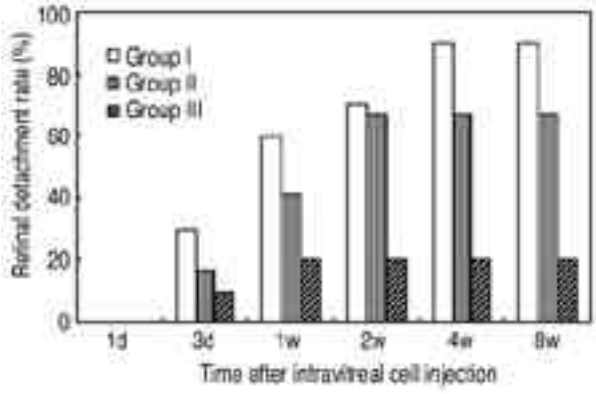

Figure 1. Histogram showing retinal detachment rate by group. Group I: nontreated control, Group II: treated with MMC 3.0 μg/L, Group III: treated with MMC 300 μg/L. d: day (s), w: week (s).

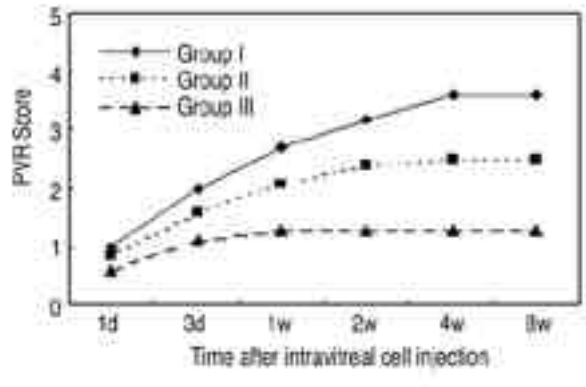

Figure 2. Time-based change in severity of PVR by group. Group I: nontreated control, Group II: treated with MMC 3.0 μg/L, Group III: treated with MMC 300 μg/L. d: day (s), w: week (s).

사하여, 최종적으로 PBS만 주입한 대조군 12안, 저농도치료군(II군) 12안, 비치료군(I군) 10안, 및 고농도치료군(III군) 10안에 대해서만 관찰이 가능하였다. PBS만 주입한 대조군에서는 전 관찰기간을 통하여 망막박리가 발생되지 않았으나, 섬유아세포를 주입한 비치료군(I군)과 치료군(II군 및 III군)에서 망막박리는 발생율과 정도에 많은 차이를 보였으며, 특히 I군과 II군에서는 시간이 경과할수록 증가되는 경향을 보였다. 세

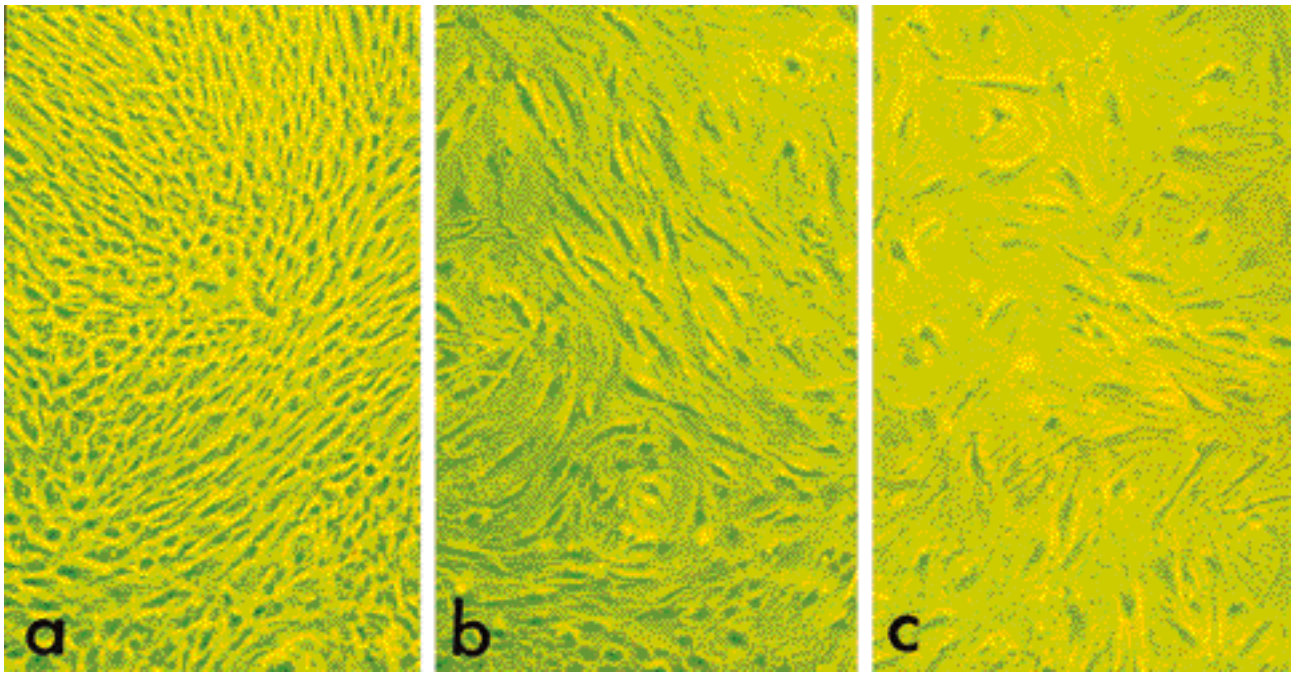

Figure 3. Phase-contrast photomicrographs of fibroblasts re-cultured in MMC-free media for 7 days. These cells were pre-treated with MMC-free media (**A**) or with either 3.0 μg/L (**B**), or 300 μg/L (**C**) concentration of MMC for 30 minutes.

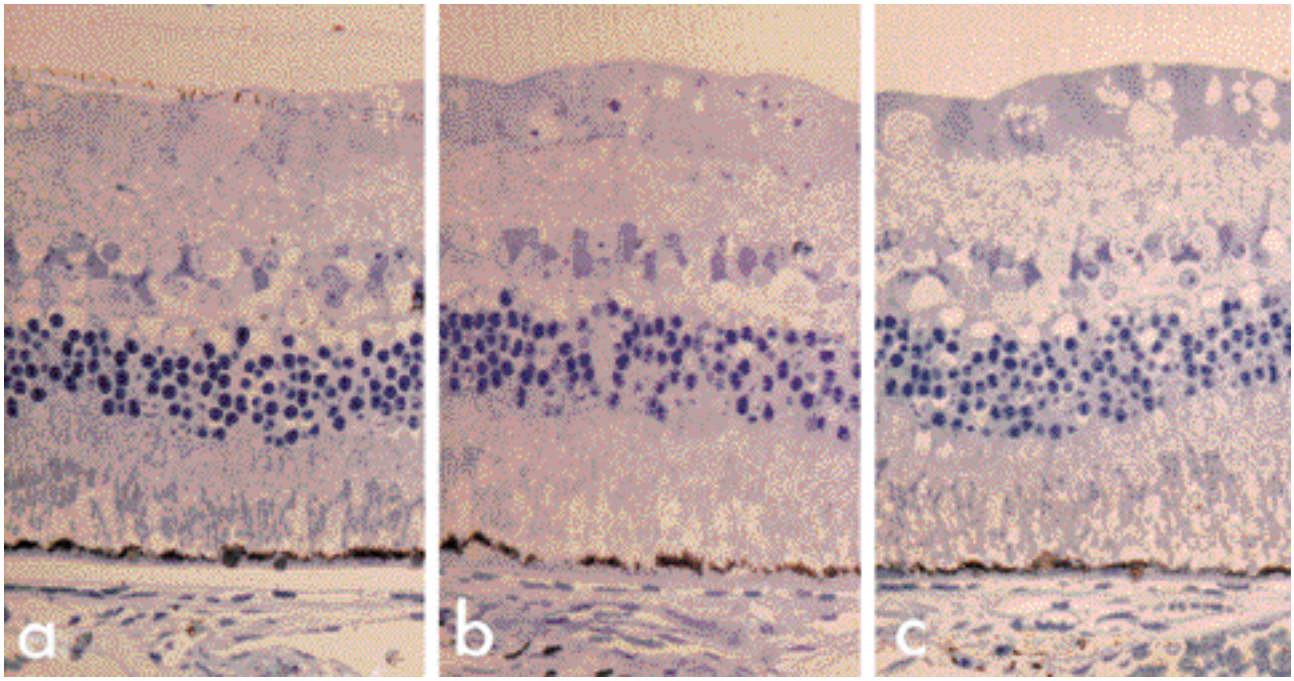

Figure 4. Light micrographs of the retina 4 weeks after 30 minutes-intravitreal infusion with MMC-free balance salt solution (**A**), or with either 3.0 μg/L (**B**), or 300 μg/L (**C**) concentration of MMC in rabbit eyes. Note the retina with normal appearance in MMC-trated groups compared to the control group (toluidine blue, ×400).

포주입 후 1일째 유리체막 소견이 정도에 차이는 있지만 I군의 전안에서 발생하였고, II군과 III군에서는 각각 10안 및 6안에서 관찰되었다. 3일째 I군의 10안중 4에서는 국소적인 견인소견만 관찰되었으나, 3안(30%)에서 망막박리가 발생하였으며 그 정도는 모두 stage 3의 범주에 있었다. 반면 II군과 III군은 각각 6안과 3안에서 국소 견인소견만을, 2안(16.7%)과 1안(10%)에서 망막박리소견을 보였고 그 정도는 I군에 비하여 경하였다. 1주일째 I군과 II군에서 망막박리의 발생이 각각 6안(60%) 및 5안(42%)으로 증가되었는데, 이중 stage 4인 경우가 각각 2안과 1안이었으며, 반면 III군에서는 2안(20%)에서만 stage 3의 망막박리가 관찰되었다. 2주일째 I군과 II군은 각각 7안(70%), 8안(66.7%)으로 망막박리 안이 증가되었고 그 정도도 다소 심해진 반면, III군에서는 1주째 소견에 비해 더 이상 변화가 없었다. 4주째 I군에서는 망막박리안이 9안(90%)로 증가되었고, 이 중 2안에서 전 망막박리소견을 보여 평균 PVR정도도 더 진행되었다. 반면 II군과 III군은 더 이상 변화가 없었다. 8주째 검사에서는 세군 모두 4주째에 비해 더 이상 변화를 보이지 않았다(Fig. 1, 2). 최종적인 망막박리 발생율은 I군, II군, 및 III군에서 각각 90%, 67%, 20%이었고, 평균 PVR정도는 각각 3.6, 2.5, 1.3으로서 통계학적으로 I군과 II군 사이에는 의의가 없었으나, III군과 이들 사이에는 유의한 차이를 보였다($p<0.01$).

2. in vitro 섬유아세포증식에 대한 MMC의 억제효과

1주일간의 배양기간동안 세 실험군의 섬유아세포들은 증식되어 모두 6-well 배양판 바닥을 메웠으나 MMC (3.0 ㎍/L, 300 ㎍/L)에 노출된 세포는 노출되지 않은 세포에 비해, 또한 노출된 MMC의 농도가 높을수록 증식이 많이 억제되어 배양기바닥을 메우는 속도가 늦었고, 세포도 훨씬 커져 있었다(Fig. 3).

3. MMC 관류액에 의한 망막독성

두가지 농도(3.0 ㎍/L, 300 ㎍/L)의 MMC를 함유한 관류액으로 30분간 유리체절제술을 시행한 눈에 대한 1주와 4주째 광학현미경 소견에서 약제를 함유하지 않은 관류액을 이용한 대조안과 비교하여 별 다른 차이 없이 망막색소상피세포와 광수용체외절을 포함한 전 망막층이 잘 유지되었다(Fig. 4). 전자현미경적 소견에서는 MMC용액으로 관류한 눈에서 광수용체외절의 밀도가 감소되어 있고 구조와 형태가 다소 변형된 소견을 보였지만 대조안과 비교하여 보았을 때 이들 사이에는

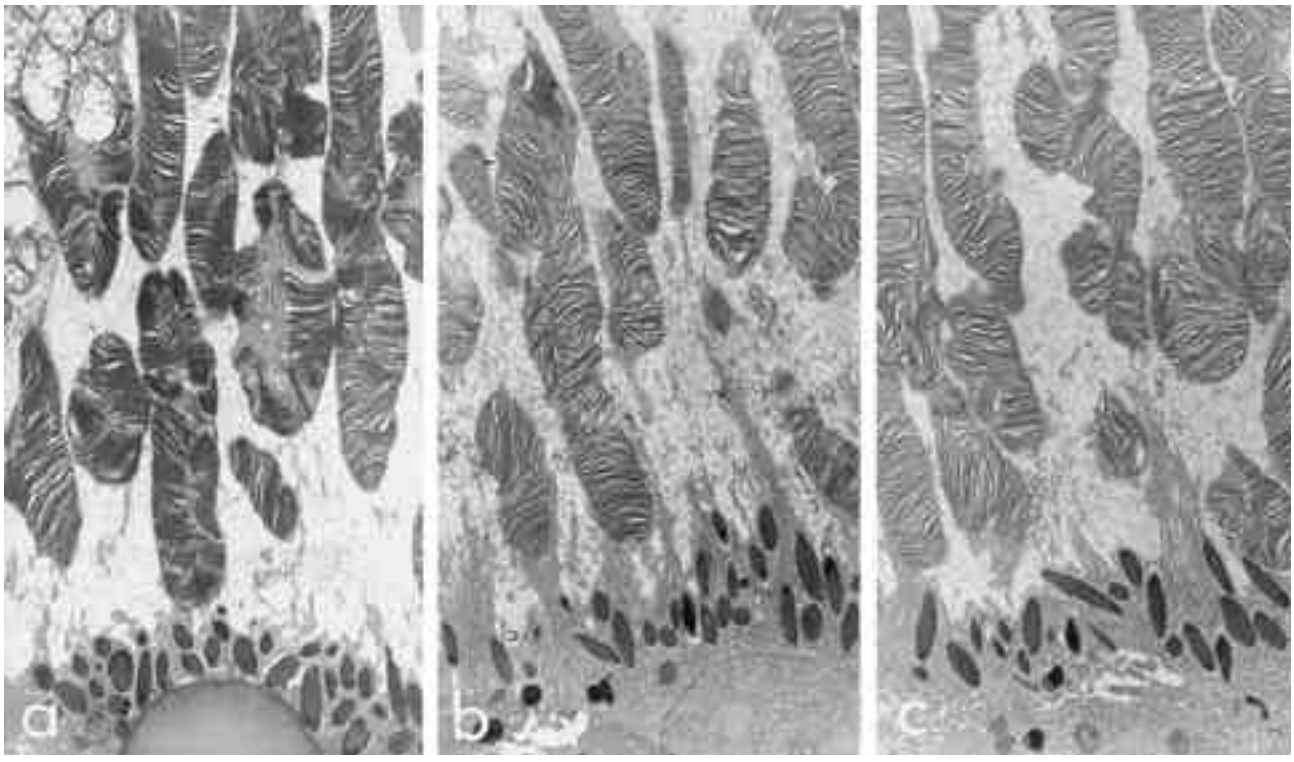

Figure 5. Transmission electron micrographs of the outer retina 4 weeks after 30 minutes-intravitreal infusion with MMC-free balance salt solution (**A**), or with either 3.0 μg/L (**B**), or 300 μg/L (**C**) concentration of MMC. The phtoreceptor outer segments decrease in density and show some structural alteration in MMC-treated groups. Note the similar findings in control group (×4500).

별 다른 차이를 발견할 수 없었다(Fig. 5).

고 찰

안내수술기구와 수술수기의 꾸준한 발전과 개선에도 불구하고 증식유리체망막병증은 여전히 망막박리수술에 있어서 실패의 가장 중요한 원인이 되고 있다.[1-4] 증식유리체망막병증은 망막 앞뒤에 망막색소상피세포, 섬유아세포, 대식세포를 포함하는 여러 가지 세포들에 형성된 증식막이 수축되어 발생하므로, 수술적인 방법 외의 다른 치료보조 수단으로서 이러한 세포작용을 억제시키는 약물치료를 생각할 수 있다. 따라서 이에 대한 많은 연구들이 세포배양 혹은 동물실험을 통하여 이루어지고 있으며,[5-9,10,29] 최근에 들어 일부 약제에 대해 실제 임상적용을 시도하고 있다.[6,8,30] 그러나 이러한 약제를 임상에 안전하게 이용하기 위해서는 증식하는 세포를 효과적으로 억제시키는 대신 망막이나 주위조직에 독작용이 없어야 된다.

많은 항대사성 약제가 섬유아세포와 망막색소상피세포의 성장과 증식을 억제시키는 것으로 보고되고 있다.[31-38] 이들 중 5-FU가 가장 안전성이 높은 좋은 약제로 알려져 있으나 눈속에 주입하였을 때 안내 농도가 빠르게 감소하여 짧은 기간동안만 항증식효과를 나타내므로 지속적인 효과를 얻기위해서는 재주사가 필요하기 때문에 임상적인 이용에는 많은 제약이 따른다.[36] 반면 MMC는 단 한번의 투여로도 장기간에 걸친 세포증식억제효과를 나타내는 것으로 알려져 있는데,[14-19] 이는 MMC가 DNA내의 deoxyguanosine residues를 alkylate 하고 alkylated residue가 세포내 DNA치유기전에 의해 대치될 때까지는 DNA복제를 방해하며, 유리산소기를 형성할 수 있고, 또한 RNA 및 단백합성을 억제하는 등의 연계된 작용들에 의해 장기적인 증식억제효과를 가져올 수 있기 때문이다.[12,13,39] 그리고 5-FU보다 MMC에의 노출이 세포증식을 더욱 완전하게 억제시키는 것으로 알려져 있는데 이는 약제의 다른 작용기전으로 설명되고 있다. 즉, 두 약제는 모두 DNA합성을 억제하지만[12,40] 5-FU는 주로 thymidylate합성을 억제시키기 때문에 DNA를 왕성하게 합성하는 세포(세포주기의 S phase)에 가장 효과적이며,[40] 반면 MMC는 alkylating agent로서 이 약제에 노출될 당시 세포 내 DNA의 활발한 합성여부에 관계없이 모든 세포에 영향을 준다.[12] 다시 말하면 5-FU에 노출당시 DNA를 합성하지 않았던 세포는 5-FU의 노출이 중지된 뒤에 증식이 다시 일어나지만, MMC에 노출된 경우는 DNA를 합성하고 있지 않은 세포들 조차도 영향을 받아서 MMC의 노출이 없어진 뒤에도 증식이 일어나지 않을 수 있으며, 실제 수술 당시에는 DNA를 왕성하게 합성하는 세포는 적다.[41] 이와 같이 세포자체의 증식를 억제하는 작용 외에도 MMC의 항증식효과는 지속적인 조직결합, 세포이동 및 세포외기질의 형성과 같은 창상치유과정에서의 작용, 혹은 혈관에 대한 영향 등을 통하여도 일어날 수 있다.[14]

증식의 억제는 약제의 농도와 치료기간에 달려있지만 종전의 여러 가지 연구결과로 보아 MMC를 비롯한 항증식제는 고농도에서 단시간의 노출로도 섬유아세포의 증식 및 형태학적 특성에 장기간에 걸쳐 영향을 미칠 수 있으며,[15,24,42,43] 특히 MMC로 치료된 세포에서 가장 큰 변화를 보였다고 하였다.[44] 그러나 이와 같은 짧은 노출의 효과에 대한 작용기전은 잘 모르지만, FU에 노출한 세포배양실험에서 세포내 FU의 최대축적이 200초내에 일어났다는 결과를 두고 볼 때, MMC의 경우도 세포내 축적이 빠르게 일어날 수 있다는 점을 시사한다.[45,46]

항증식억제제는 세포의 밀도에 따라 그 효과가 달라질 수 있다. Ho 등[23]은 in vitro 실험에서 1 μM MMC는 배양면을 꽉 메운 RPE 에는 독작용이 미미하였지만, 덜 메워진 RPE의 증식을 적어도 2주일동안 현저하게 억제시켰다고 하였는데, 이러한 증식 중에 있는 RPE세포가 MMC에 더욱 민감하게 반응한다는 사실은 MMC를 증식유리체망막병증과 같은 안내증식의 치료를 위한 약제로서 이용될 수 있다는 것을 시사한다. 그리고 MMC는 이미 형성되어 있는 DNA를 분해하는데 필요한 것보다 낮은 농도에서 DNA합성을 억제시킨다고 알려져 있다.[12,47,48]

실험적 증식유리체망막병증의 발생에 대한 약물의 억제효과를 알아보기 위해 종전에는 통상적으로 유리체강내에 세포를 먼저 주입하고 이어서 항증식약제를 안내로 투여하는 방법을 사용하였으나, 본 연구는 약물의 관류를 통한 억제효과를 알아보는 실험으로서 세포주입후 유리체관류를 하게 되면 이미 주입된 세포가 관류중 유실될 수 있는 등, 실험상의 어려움 때문에 방법을 변형시켰다. 즉 배양세포를 미리 예정된 관류시간과 동일한 30분간 MMC에 노출시킨 후 이들 세포를 수확하여 유리체강 내로 주입하였으며, MMC에 의한 망막독성의 여부를 알아보기 위해 같은 농도의 MMC를 같은 시간 동안 관류시키는 실험을 따로 시행하였다. 세포에 노출한 약물의 농도는 종전 본 연구자들이 발표한 결과를 이용하였다. 즉 섬유아세포에 대한 50% 증식억제 농도인 3.0 ㎍/L와 90% 억제 농도인 300 ㎍/L을 본 실험에 적용하였다. 본 연구에서처럼 MMC로 전처치된 세포를 유리체강내로 주입 시 MMC로 처리된 세포와 망막표면 사이의 유착성에 의문이 있을 수 있다. MMC가 세포-기질사이의 유착성에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각되나, 세포유착의 매개에 관련하는 것으로 여겨지는 세포내 수축성 단백인 F-actin과 세포의 이동성이 24~

72시간동안 노출된 MMC에 의해 별 영향을 받지 않는다는 다른 연구결과[42,43]로 봐서 일정 농도 이하의 MMC가 세포의 유착성에 미치는 영향은 적을 것으로 생각된다. 실제 본 연구의 in vitro 실험에서 300 ㎍/L 농도의 MMC에 노출된 세포를 배양접시에 심었을 때 24시간 후 관찰에서 거의 모든 세포가 배양접시 바닥에 잘 유착된 상태로 성장하는 것을 알 수 있었으며, Lee 등[49]도 이와 유사한 결과를 보고한 바 있다.

본 연구에서 실험 4주째의 최종적인 망막박리 발생율은 비치료 대조군(I군), 저농도 치료군(II군)과 고농도 치료군(III군)에서 각각 90%, 67%, 20%로 I군과 II군 사이에는 통계학적인 의의가 없었으나, III군과 이들 사이에는 유의한 차이를 보였다($p<0.01$). Yu 등[22]도 MMC를 이용한 증식유리체망막병증의 억제에 관한 실험을 하였는바, 대조군에 비해 MMC를 투여한 군에서 망막박리의 발생 및 진행이 훨씬 억제되어 4주째 심한 망막박리를 일으킨 빈도는 대조군이 84.6%인 반면 0.2 ㎍ MMC와 1 ㎍ MMC 투여군은 각각 9.1%, 0%의 훨씬 낮은 빈도를 보였다고 하였다. 그러나 이 실험은 MMC를 유리체강내로 한 차례 주입한 경우로서 본 연구자들의 유리체강 관류방법과는 다르므로 MMC의 치료농도와 PVR의 발생 및 정도를 서로 비교하는 데에는 무리가 있다. 그러나 양 연구에서 MMC가 PVR의 발생을 억제하고 PVR이 발생되더라도 그 정도가 약하다는 사실은 서로 일치한다.

이와 같은 결과를 두고 볼 때 낮은 농도에서 짧은 시간동안 노출로도 강력한 세포증식억제효과를 얻을 수 있고 아울러 안내 독성 등의 위험성을 최소화시킬 수 있다는 것이 임상적으로도 증명된다면 MMC는 증식유리체망막병증의 치료를 위한 유리체절제술시에 유용하게 이용될 수 있다. 따라서 MMC를 PVR과 같은 후안부 질환의 치료에 이용하기 전에 좀 더 실제에 가까운 동물모델을 개발하여 안내증식을 억제시키는 능력과 안내 독성을 평가하는 등의 추가적인 연구가 필요하며, 아울러 전기생리적 기능에 대한 이 약제의 효과를 알아보는 것이 중요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1) Machemer R. Massive periretinal proliferation: a logical approach to therapy. Trans Am Ophthalmol Soc 1978;75: 556-86.
2) The Retina Society Terminology Committee. The Classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy. Ophthalmology 1983;90:121-5.
3) Aaberg TM. Management of anterior and posterior proliferative vitreoretinopathy XLV Edward Jackson memorial lecture. Am J Ophthalmol 1988;106:519-32.
4) Charteris DG. Proliferative vitreoretinopathy: Pathobiology, surgical management, and adjunctive treatment. Br J Ophthalmol 1995;79:953-60.
5) Chen EP, Steinhorst UH, Samsa GP, et al. The effect of combined daunorubicin and triamcinolone acetonide treatment on a refined experimental model of proliferative vitreoretinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 1992;33:2160-4.
6) Wiedemann P, Lemmen K, Schmiedl R, Heimann K. Intraocular daunorubicin for the treatment and prophylaxis of traumatic proliferative vitreoretinopathy. Am J Ophthalmol 1987;104:10-4.
7) Kirmani, Santana M, Sorgente N, et al. Antiproliferative drugs in the treatment of experimental proliferative vitreoretinopathy. Retina 1995;3:269-72.
8) Blumenkranz MS, Hernandez E, Ophir A, Norton EWD. 5-fluorouracil: new application in complicated retinal detachment for an established antimetabolite. Ophthalmology 1984;91:122-30.
9) Steinhorst UH, Chen EP, Hatchell DL, et al. Aclacinomycin A in the treatment of experimental proliferative vitreoretinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 1993;34:1753-60.
10) Wiedemann P, Sorgente N, Bekhor C, et al. Daunomycin in the treatment of experimental proliferative vitreoretinopathy; Effective doses in vitro and in vivo. Invest Ophthalmol Vis Sci 1985;226:719-25.
11) 김광수, 박성렬, 오준섭. 실험적 증식성 초자체망막증에 대한 5-fluorouracil의 억제효과. 한안지 1993;34:53-60.
12) Crooke ST, Bradner WT. Mitomycin C: a review. Cancer Treat Rev 1976;3: 121-39.
13) Tomaz M, Lipman R, Chowdary D, et al. Isolation and structure of a covalent cross-link adduct between mitomycin-C and DNA. Science 1987;235:1204-8.
14) Jampel HD. The effect of brief exposure to mitomycin C on viability and proliferation of cultured human Tenon's fibroblasts. Ophthalmology 1992;99:1471-6.
15) Khaw PT, Sherwood MB, MacKay SLD, et al. 5-minute treatments with fluorouracil, floxuridine and mitomycin have long-term effects on human Tenon's capsule fibroblasts. Arch Ophthalmol 1992;110:1150-4.
16) Yaldo MK, Stamper RL. Long-term effects of mitomycin on filtering blebs. Lack of fibrovascular proliferative response following severe inflammation. Arch Ophthalmol 1993;111:824-6.
17) Chen C-W, Huang H-T, Bair J-S, Lee C-C. Trabeculectomy with simultaneous topical application of mitomycin-

C in refractory glaucoma. J Ocul Pharmacol 1990;6:175-82.

18) Palmer SS. Mitomycin as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. Ophthalmology 1991;98:317-21.
19) Kitazawa Y, Kawase K, Matsushita H, Minibe M. Trabeculectomy with mitomycin. A comparative study with fluorouracil. Arch Ophthalmol 1991;109: 1693-8.
20) Mahar PS, Nwokora GE. Role of mitomycin C in pterygium surgery. Br J Ophthalmol 1993;77:433-5.
21) **이재준**, **박기호**, **윤동호**. Mitomycin C **농도에 따른 섬유주절제술의 예후**. **한안지** 1996;37:622-7.
22) Yu H, Chung H. Antiproliferative effects of mitomycin C on experimental proliferative vitreoretinopathy in rabbits. Korean J Ophthalmol 1997;11:98-105.
23) Ho T, Del Priore LV, Hornbeck R. Effects of mitomycin-C on human retinal pigment epithelium in culture. Curr Eye Res 1997;16:572-6.
24) Khaw PT, Doyle JW, Sherwood MB, et al. Prolonged localized tissue effects from 5-minute exposures to fluorouracil and mitomycin C. Arch Ophthalmol 1993;111:263-7.
25) **남문진**, **김기산**, **김광수**, **오준섭**. **초자체강내 주입된 동종 섬유아세포 및 동종 혈장** fibronectin**에 의한 실험적 증식성 초자체망막증의 발생**. **한안지** 1990;31:1042-55.
26) **이세엽**, **우경호**, **김광수**. **섬유모세포 및 망막색소상피 증식에 대한** 5-fluorouracil**과** mitomycin C**의 억제효과 비교**. **한안지** 1996;37:1397-404.
27) Thresher RJ, Ehrenberg M, Machemer R. Gas-mediated vitreous compression: an experimental alternative to mechanized vitrectomy. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 1984;221:192-8.
28) Fastenberg DM, Diddie KR, Dorey K, Ryan SJ. The role of cellular proliferation in an experimental model of massive periretinal proliferation. Am J Ophthalmol 1982;93: 565-72.
29) van Bockxmeer FM, Martin CE, Thompson DE, Constable IJ. Taxol for the treatment of proliferative vitreoretinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 1985;26: 1140-7.
30) Wiedemann P, Hilgers RD, Bauer P, Heimann K. Adjunctive daunorubicin in the treatment of proliferative vitreoretinopathy: results of a muticenter clinical trial. Am J Ophthalmol 1998;126:550-9.
31) Grierson I, Joseph J, Miller M, Day JE. Wound repair: the fibroblast and the inhibition of scar formation. Eye 1988; 2:135-48.
32) Blumenkranz MS, Claflin A, Hajek AS. Selection of therapeutic agents for intraocular proliferative disease: cell culture evaluation. Arch Ophthalmol 1984;102:598-604.
33) Mallick KS, Hajek AS, Parrish RK II. Fluorouracil(5-FU) and cytarabine(Ara-C) inhibition of corneal epithelial cell and conjunctival fibroblast proliferation. Arch Ophthalmol 1985;103:1398-402.
34) McGuigan LJB, Quigley HA, Lutty G. The effects of D-penicillamine and daunorubicin on conjunctival fibroblast proliferation and collagen synthesis. Invest Ophthalmol Vis Sci 1988;29:112-8.
35) Weller M, Heimann K, Wiedemann P. Cytotoxic effects of daunomycin on retinal pigment epithelium in vitro. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 1987;225:235-8.
36) Stern WH, Lewis GP, Erickson PA, et al. Fluorouracil therapy for proliferative vitreoretinopathy after vitrectomy. Am J Ophthalmol 1983;96:33-42.
37) Fiscella R, Elvart J, Peyman GA. In vitro evaluation of celular inhibitory potential of various antineoplastic drugs and dexamethasone. Ophthalmic Surg 1985;16: 247-9.
38) Litin BS, Jones MA, Kwong EM, Herschler J. Effect of antineoplastic drugs on cell proliferation-indivisually and in combination. Ophthalmic Surg 1985;16:34-9.
39) Glaubiger D, Ramu A. Antitumor antibiotics. Pharmacologic Priciples of Cancer Treatment. revised ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co, 1982:407-10.
40) Blumenkranz MS, Hartzer MK, Hajek AS. Selection of therapeutic agents for intraocular proliferative disease. II. Differing antiproliferative activity of the fluoropyrimidines. Arch Ophthalmol 1987;105:396-9.
41) Jampel HD, McGuigan LJB, Dunkelberger GR, et al. Celular proliferation after experimental glaucoma filteration surgery. Arch Ophthalmol 1988;106:89-94.
42) Yamamoto T, Varani J, Kaz Soong H, Licher PR. Effects of 5-fluorouracil and mitomycin-c on cultured rabbit subconjunctival fibroblasts. Ophthalmology 1990; 97:1204-10.
43) Occleston NL, Alexander RA, Mazure A, et al. Effects of single exposures to antiproliferative agents on ocular fibroblast-mediated collagen contraction. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994;35:3681-90.
44) Smith S, D'Amore PA, Dreyer EB. Comparative toxicity of mitomycin-C and 5-fluorouracil in vitro. Am J Ophthalmol 1994;118:332-7.
45) Wohlhueter RM, McIvor RS, Plagemann PGW. Facilitated transport of uracil and 5-fluorouracil, and permeation of orotic acid into cultured mammalian cells. J Cell Physiol 1980;104:209-19.
46) Kon CH, Occleston NL, Foss A, et al. Effects of single, short term exposures of human retinal pigment epithelial cells to thiotepa or 5-fluorouracil: implications for the treatment of proliferative vitreoretinopathy. Br J Ophthal-

mol 1998;82:554-60.
47) Hoon CM, Wagner JG, Petry TW, Roth RA. Toxicity of mitomycin-C toward cultured pulmonary artery endothelium. Toxicol Appl Pharmacol 1995;130:87-94.
48) Coomber BL. Influene of mitomycin-C on endothelial monolayer regeneration in vitro. J Cell Biochem 1992;50:293-300.
49) Lee DA, Lee TC, Cortes AE, Kitada S. Effects of mithramycin, mitomycin, daunorubicin, and bleomycin on human subconjunctival fibroblast attachment and proliferation. Invest Ophthalmol Vis Sci 1990;31:2136-44.

= ABSTRACT =

The inhibitory Effects of Mitomycin-C on the Development of Proliferative Vitreoretinopathy

Kwang Soo Kim, M.D., Se Yup Lee, M.D., Jong Hyun Kim, M.D.

Department of Ophthalmology, Keimyung University School of Medicine

Purpose : To investigate the inhibitory effect of MMC on experimental PVR.
Methods : The cultured rabbit fibroblasts were pretreated with 3 μg/L and 300 μg/L concentration of MMC for 30 minutes. MMC-treated and -untreated fibroblasts were injected into vitreous cavity of pigmented rabbits and the development of PVR was compared each other. The retinal toxicity of MMC was evaluated histopathologically after 30 minutes-intravitreal infusion with the same concentration of MMC.
Results : On the final examination 8 weeks after intravitreal injection, the rate of PVR was 90%, 67%, and 20% in control group without MMC treatment, 3.0 μg/L MMC-treated group, and 300 μg/L MMC-treated group, respectively. The severity of PVR was milder in treatment groups than in non-treatment group in general, and the rate of PVR between control group and 300 μg/L MMC-treated group was statistically significant ($p<0.01$). At 1 and 4 weeks of histopathologic study using the light and electromicroscopy to evaluate the retinal toxicity to MMC, the retina and retinal pigment epithelium showed similar findings in MMC-treated groups compared to non-MMC-treated control group.
Conclusions : These results show that pharmacologic therapy with MMC may be useful in the prevention of development and recurrence of PVR in the management of complex retinal detachment.
J Korean Ophthalmol Soc 43(1):204-212, 2002

Key Wards : Fibroblast, Mitomycin-C, Proliferative Vitreoretinopathy

Address reprint requests to **Kwang Soo Kim, M.D.**
Department of Ophthalmology, Dongsan Medical Center, Keimyung University School of Medicine
#194 Dongsan-dong, Jung-gu, Taegu 700-712, Korea
Tel : 82-53-250-7706, 7707, Fax : 82-53-250-7705, E-mail : kimks@dsmc.or.kr