

## 초자체강내에 주입된 동종 섬유아세포 및 동종 혈장 Fibronectin에 의한 실험적 증식성 초자체망막증의 발생

남문진 · 김광수 · 김기산 · 오준섭

### = 국문초록 =

저자들은 증식성 초자체망막증을 실험적으로 유발시켜 보기 위해 유색토끼 17마리, 34안을 4개 군으로 나눈뒤 배양된 동종 섬유아세포와 분리정제한 동종 혈장 fibronectin을 단독 혹은 동시에 초자체강내로 주입하였으며 이후 28일간의 경과관찰을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

임상적으로 증식성 초자체망막증은 동종 섬유아세포만을 주입한 군(I군)과 동종 섬유아세포와 fibronectin을 동시에 주입한 군(III군)에서 발생하였다. 형성된 초자체 인대나 막 그리고 시간경과에 따른 진행정도가 두군(I, III군)에서 서로 유사하였으며 최종 28일째의 견인성망막바리의 빈도는 1군에서 90%(9/10), III군에서는 85.7%(6/7)이었다. 그러나 동종 혈장 fibronectin만을 주입한 군(II군)과 PBS만을 주입한 대조군(IV군)에서는 전 관찰기간을 통하여 증식성초자체망막증이 발생된 흔적을 관찰할 수 없었다. 전자현미경검사상 I군과 III군의 증식조직은 서로 유사한 소견을 보였는데 이들은 주로 섬유아세포와 교원섬유로 구성되어 있었고 교세포와 근섬유아세포도 형성에 일부 관여하였다. 이러한 결과로 미루어 보아 본 실험에서 유발된 증식성 초자체망막증은 섬유아세포에 의해 주로 발생된 것으로서 fibronectin은 관여하지 않았던 것으로 사료되었다.

### = Abstract =

#### Experimental Proliferative Vitreoretinopathy after Intravitreal Injection of Homologous Fibroblasts and Fibronectin

Moon-Jin Nam, M.D., Kwang-Soo Kim, M.D.,  
Ki-San Kim, M.D., Joon-Sup Oh, M.D.

The authors performed an experimental study to induce proliferative vitreoretinopathy(PVR) by intravitreal injection of homologous fibroblasts and fibronectin

<심사통과일 : 1990년 7월 일>  
계명대학교 의과대학 안과학교실

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

in pigmented rabbits. Thirty-four eyes of 17 rabbits were assigned to four groups. Homologous fibroblasts( $1.5-2.0 \times 10^5$  cells/0.1ml) were injected into the vitreous cavity in group I(10 eyes), homologous plasma fibronectin(50ug/0.1ml) in group II(10 eyes), the same amount of both homologous fibroblasts and fibronectin in group III(7 eyes), and phosphate-buffered saline(0.1 or 0.2 ml) in group IV(7 eyes). All eyes were clinically examined with an indirect ophthalmoscope for 28 days and two eyes of each group were enucleated for histopathologic examination on day 28 after injection.

Clinically, PVR was produced at a high rate in group I and group III. The character of the membranes or strands and the time course in development of traction retinal detachment were similar for both groups and the final traction retinal detachment rate was 90%(9/10) in group I and 85.7%(6/7) in group III. Group II and group IV, however, demonstrated no evidence of developed PVR throughout the whole observation period. Electron microscopy disclosed that the traction bands of group I and III were formed mainly by fibroblasts and intercellular collagen fibrils, and in part by Müller's cells and myofibroblasts without significant difference between the two groups.

On the other hand, there was no pathologic finding in both groups II and IV. From the above results, this experimental PVR was produced mainly by fibroblasts but fibronectin had no influence on the development of PVR.

**Key Words:** fibroblast, fibronectin, proliferative vitreoretinopathy, rabbit, traction retinal detachment

## 서 론

증식성 초자체망막증은 망막박리수술후 드물지 않게 볼 수 있는 합병증으로서 망막의 양쪽면과 초자체내에 세포성 섬유막이 증식되어 발생하며 망막박리수술의 주된 실패원인종의 하나로 알려져 있다<sup>1, 2)</sup>. 이외에 외상을 비롯한 안내감염증, 망막혈관질환 등 여러원인에 의해서도 발생할 수가 있으며 이들에 대한 치료에 큰 어려움을 주고 있다<sup>3, 4)</sup>.

증식성 초자체망막증의 병인으로서 현재까지 알려진 바로는 망막색소상피세포<sup>5, 6)</sup>, 교세포<sup>7)</sup>, 탐식세포<sup>8)</sup> 및 섬유아세포<sup>9)</sup>들이 주구성세포성분이 되어 그들의 정상 해부학적 위치를 벗어나 초자체와 같은 새로운 장소로 이동한 후 여기서 증식하고 위축하여 발생된다고 하고 있으나 그 형성과정과 병리학적인 기전은 아직도 정확히 밝혀지지 않고 있다<sup>5, 6)</sup>.

치료는 현재 거의 수술에 의존하고 있는 실정이고 예방적으로 재발이나 발생을 억제시킬 목적으로 약물요법도 시도해 보고는 있지만 아직까지 만

좋할만한 결과를 얻지 못하고 있으며 현재도 많은 연구자들이 임상적으로나 동물실험을 통하여 이에 대한 연구를 계속 진행하고 있다.

이에 저자들은 일차적으로 동종 섬유아세포와 섬유아세포의 이동에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 혈장 fibronectin을 유색토끼의 초자체강내에 각기 단독으로 주입하거나 함께 주입하여 증식성 초자체망막증을 유발시켜 본 후 그 발생이 섬유아세포를 단독으로 주입한 군에서 보다 fibronectin을 동시에 주입한 군에서 보다 용이한지를 알아보았으며 동시에 병리조직검사를 시행하여 항후 치료약제를 포함한 증식성 초자체 망막증에 대한 연구에 도움을 얻는데 그 목적을 두었다.

## 재료 및 방법

체중 2~3kg의 유색토끼 20마리 40안을 10안씩 4개군으로 나누어 I군은 동종 섬유아세포, II군은 동종 혈장 fibronectin, III군은 동종 섬유아세포 및

- 남분진 외 : 초자체강내에 주입된 동종 섬유아세포 및 동종 혈장 Fibronectin에 의한  
실험적 증식성 초자체망막증의 발생 -

동종 혈장 fibronectin, IV 군은 phosphate-buffered saline(PBS)을 초자체강내에 각각 주입하였다.

**동종 섬유아세포의 배양 및 분리** : 유색토끼를 염산케타민 근주(20mg/kg)로 전신마취시킨 후에 둔부의 털을 깎고 70% isopropyl alcohol로 피부를 깨끗히 소독하였으며 1% 염산리도카인으로 다시 국소마취한 다음 외과용메스로 전파적하부까지 절개하여 배양할 피부조직을 얻었다. 얻어진 조직을 약 1mm의 입방체로 잘게 썬 후 조직배양액(Dulbecco's Modified Eagle Medium + 25mg HEPES buffer + 10% fetal bovine serum + penicillin(50unit/ml), streptomycin(50 $\mu$ g/ml), amphotericin B(2.5 $\mu$ g/ml)에 넣어 37°C, 5% CO<sub>2</sub>의 조건하에서 배양하였으며 섬유아세포가 배양기 바닥에 고르게 부착할때까지 주 2회씩 배양액을 갈아 주었다. 이렇게 배양된 섬유아세포는 PBS(-)로 두번 씻은 다음 0.25% trypsin과 0.02% ethylenediamine tetra-acetic acid를 첨가하여 섬유아세포를 분리시켰으며 다시 5분간 원심분리(800rpm/min)하여 세포를 수확하였다. 수확된 섬유아세포는 PBS로 재현탁시킨 후 앞에서와 동일한 방법으로 4회 계대배양하였다. 초자체강내에 주입시는 혈구계를 이용하여 섬유아세포의 세포수가 1.5~2.0×10<sup>6</sup> cells/ml가 되도록 하였으며 trypan blue로 exclusion test를 시행하여 섬유아세포의 생육성(viability)이 99% 이상임을 확인하였다.

**동종 혈장 fibronectin의 분리 정제** : 혈장 fibronectin의 분리정제는 김 등<sup>[10]</sup>에 의한 방법에 준하였으며 그 방법을 간단히 기술하면 다음과 같다.

유색토끼의 경동맥으로부터 혈액 40cc를 채취하여 3.8% citrate 용액과 부피비가 9:1이 되게끔 혼합한 다음 원심분리하여 그 상층액을 분리한 후 다시 20,000G로 1시간 동안 원심분리하여 상층을 얻었다. 이렇게 얻어진 상층액을 sepharose 4B chromatography 및 gelatin-sepharose 4B affinity chromatography를 시행하여 fibronectin을 분리하였으며 PBS에 48시간에 걸쳐 투석하여 분리정제하였다. 이렇게 분리정제된 혈장 fibronectin은 PBS로 회색하여 초자체강내에 주입시 농도가 500 $\mu$ g/ml가 되도록 하였다.

I 군은 10마리의 우측 10안으로 각각 마취 1시간 전에 1% tropicamide와 2.5% 염산 neosynephrine 을 점안하여 동공을 충분히 산대시킨 후 염산케타

민의 근주(20mg/kg)로 전신마취시켰으며 다시 0.5% proparacaine을 점안하여 국소마취하였다. 도상검안경하에서 배양된 동종 섬유아세포 0.1ml(세포수 1.5~2.0×10<sup>5</sup>)를 각공막윤부 상이측 4~5mm 후방의 공막에 26게이지 주사침으로 초자체강내에 주입하였다.

II 군은 I 군의 좌측 10안으로 I 군에서와 동일한 방법으로 마취하였다. 분리 정제한 동종 혈장 fibronectin 0.1ml(50 $\mu$ g)을 I 군에서와 같은 방법으로 초자체강내에 주입하였다.

III 군은 다른 10마리의 우측 10안으로서 I 군에서와 동일한 방법으로 마취하였다. 동종 섬유아세포 0.1ml를 상이측에, 동종 혈장 fibronectin 0.1ml를 상비측에 I 군에서와 같은 방법으로 초자체강내에 주입하였으며 주입으로 인한 심한 안압의 상승을 막기 위해 전방천자술을 시행하였다.

IV 군은 대조군으로서 III 군의 좌측 10안을 이용하였으며 I 군에서와 동일한 방법으로 마취하였다. 이 중 5안은 PBS 0.1ml, 5안은 PBS 0.2ml를 각각 I 군 및 III 군에서와 같은 방법으로 초자체강내에 주입하였다.

초자체강내에 주입시는 주사침이 망막의 손상을 일으키지 않도록 조심하였고 섬유아세포의 손상을 최소화하기 위해 천천히 주입하였으며 주사침을 제거할 때 초자체탈출을 방지하기 위해 면봉으로 주입구를 얼마동안 압박하였다.

실험직전에 도상검안경을 사용하여 망막의 이상이 없음을 확인하였고 실험직후, 실험후 1, 3, 7, 14, 21 및 28일째에 도상검안경을 사용하여 안저검사 및 안저그림을 그렸으며 선택된 대상에서 안저사진을 찍었다.

관찰기간중 III, IV 군의 유색토끼중에서 3마리가 폐사하여 실험대상에서 제외시켰으며 28일동안 총 17마리(34안)에 대하여 관찰을 시행하였다(I 군 및 II 군은 각 10안, III 군 및 IV 군은 각 7안). 실험후 28일째 각군에서 2안씩 안구를 적출하여 병리조직학적 소견을 관찰하였다. 적출된 안구는 각공막윤부를 통한 절개로 전반부를 제거한 뒤 즉시 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1M, phosphate buffer, pH 7.4, 4°C)에 2시간 동안 전고정하였으며 다시 1% O,O'-용액(0.1M, phosphate buffer, pH 7.4, 실온)에 2시간 동안 후고정하였다. 고정된 조직은 계열 ethanol 용액으로 탈수하여 propylene oxide로 침투시

쳤다. 그후 epon 혼합물로 포매하였고 관찰할 부위를 1μm의 두께로 박절한 후 alkaline toluidine blue로 염색해서 광학현미경으로 관찰하였다. 전자현미경으로 관찰할 부위가 선정되면 diatome knife를 사용, Porter-Blum MT-2B ultramicrotome으로 두께 40~60nm로 초박절한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 한 다음 Jeol JEM-1000CX 전자현미경으로 가속전압 80KV에서 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 임상적 안저소견

유발된 증식성 초자체망막증의 정도를 Fastenberg 등<sup>[16]</sup>에서와 같은 방법으로 5단계로 나누어 각군 토끼의 안저소견을 비교 관찰하였다(Table 1).

Table 1. The five stages of proliferative vitreoretinopathy

Stage	Characteristics
1	Intravitreal membrane & /or strand
2	Focal traction ; localized vascular changes- hyperemia, dilation, elevation
3	Localized detachment of medullary ray
4	Extensive retinal detachment ; total medullary ray detachment peripapillary retinal detachment
5	Total retinal detachment ; retinal folds and holes

동종 섬유아세포만을 주입한 I 군의 경우 주입직후 전안에서 초자체 중앙부에 경계가 불분명한 초자체흔탁을 관찰할 수 있었으며 이는 주입구와 연결되어 있었다. 1일째에는 초자체흔탁이 전안에서 증가된 양상을 보였으며 비교적 경계가 분명한 초자체인대(vitreous strand)와 초자체막(vitreous membrane)이 10안중 8안에서 형성되었다. 이후 초자체인대와 막은 점차 초자체뒤쪽으로 신장되어 유수신경섬유(medullary ray) 혹은 시신경유두와 연결되었으며 3일째에는 2안에서 망막견인대(Fig. 1-a)를 형성하였고 4안에서 유수신경섬유의 국소망막바리(Fig. 1-b)를 일으켰다. 주입후 7일째에는 증식성 초자체망막증이 더욱 진행되어 망막견인대 3안, 국소망막바리 4안, 유수신경섬유와 시신경유두

주변의 광범위망막바리(Fig. 1-c)가 2안에서 각각 관찰되었다. 주입후 14일째에는 1안에서 전망막바리(Fig. 1-d)를 보였으며 광범위망막바리와 국소망막바리는 각각 3안, 5안이었다. 이외에 3안에서 수정체 후면으로 초자체막이 증식된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1-e). 21일째에는 2안에서 전망막바리를 보였고 광범위 망막바리와 국소망막바리는 각각 3안, 4안에서 관찰되었으며 3안에서 망막열공(Fig. 1-f)을 관찰할 수 있었다. 주입후 28일째 검사에서는 전망막바리가 3안으로 증가되었고 겹인성 망막바리를 일으킨 총 안수는 10안중 9안(90%)으로 14일, 21일째와 동일하였으나 바리된 망막의 범위와 높이는 시간이 경과됨에 따라 증가됨을 알 수 있었다(Fig. 2).

동종 혈장 fibronectin만을 주입한 II 군의 경우 주입직후 경미한 초자체 혼탁을 전안에서 관찰할 수 있었으며 I 군에서는 관찰되지 않았던 황백색 망막병변이 유수신경섬유와 시신경유두 하방의 망막에 10안중 6안에서 관찰되었다. 주입후 1일째에는 1안을 제외하고 대부분에서 초자체 혼탁은 소실되었으며 황백색 망막병변은 9안으로 증가되었으나 3일째에는 거의 흡수되어 4안에서만 경미하게 관찰되었고 병변이 흡수된 부위의 망막에 색소반점(pigment mottling)의 소견을 관찰할 수 있었다. 주입후 7일째 초자체흔탁과 망막병변은 완전히 소실되었으며 28일까지의 경과 관찰기간동안 색소반점이외의 다른 망막이상 소견은 보이지 않았다.

동종 섬유아세포와 동종 혈장 fibronectin을 동시에 주입한 III 군의 경우 주입직후 I 군에서와 같은 경계가 불분명한 초자체 혼탁이 전안에서 관찰되었으며 II 군에서와 같은 황백색망막병변이 7안중 5안에서 관찰되었다. 1일째에는 초자체 혼탁이 증가되었고 초자체 인대와 막이 5안에서 형성되었으며 6안에서 황백색망막 병변을 관찰할 수 있었다. 주입후 3일째에는 2안에서 망막견인대가 형성되었고 황백색망막 병변은 거의 흡수되어 2안에서만 관찰되었으며 흡수된 부위는 II 군에서와 같이 색소반점을 보였다. 주입후 7일째는 망막견인대 3안, 국소망막바리 2안, 광범위망막바리 1안으로 3일째보다 진행된 소견을 보였으며 황백색망막병변은 완전히 흡수되어 색소반점만을 관찰할 수 있었다. 주입후 14일째에는 증식성 초자체망막증이 더욱 진행되어 국소망막바리와 광범위망막바리를 각각 4안, 2안에

- 남문진 외 : 초자체강내에 주입된 동종 섬유아세포 및 동종 혈장 Fibronectin에 의한  
실험적 종식성 초자체망막증의 발생 -

**Fig. 1.** Fundus photographs of PVR in various stages after injection of homologous fibroblasts and fibronectin. a. Vitreous strand attached to medullary ray. b. Traction with focal elevation of medullary ray. c. Extensive retinal detachment. d. Total retinal detachment, e. Fibrovascular membrane along posterior lens surface. f. Retinal holes secondary to marked retinal traction.

서 관찰할 수 있었고 I 군에서와 같은 수정체 후면 막증식을 1안에서 볼 수 있었다. 주입후 21일째에는 전망막박리 1안, 광범위 망막박리 2안, 국소망막박리 3안을 각각 관찰할 수 있었으며 1안에서 망막 열공형성을 볼 수 있었다. 주입후 28일째 검사에서는 국소망막박리 2안, 광범위망막박리 2안, 전망막박리 2안으로서 견인성망막박리의 총 안수는 7안중

6안(85.7%)으로 14일, 21일째와 동일하였으나 망막 박리의 범위와 높이는 I 군에서와 같이 시간이 경과됨에 따라 증가되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

대조군으로서 PBS를 주입한 IV 군의 경우 주입 직후 전안에서 매우 경미한 초자체혼탁을 보였으나 주입후 3일째에는 완전히 소실되었으며 28일까

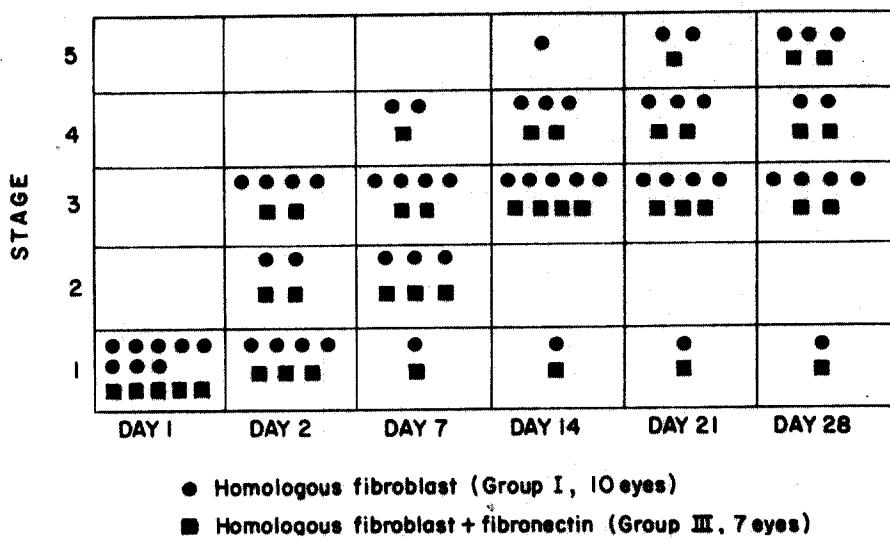


Fig. 2. The five stages of PVR at days 1, 3, 7, 14, 21 and 28 in the two groups (I, III).

지의 경과 관찰기간 동안 망막의 이상소견은 관찰되지 않았다.

## 2. 병리조직학적 소견

### 1) 광학현미경 소견

PBS를 주입한 대조군(IV군)에서와 같이 fibronectin을 주입한 군(II군)의 경우 망막의 전층은 잘 보존되어 있었고 초자체에도 이상소견이 없었다(Fig. 3). 섬유아세포를 주입한 군(I군)에서는 결절성 혹은 떠 모양의 증식조직이 겹인대를 형성하여 망막

에 연결되어 있었는데 이를 구성하고 있는 세포는 섬유아세포가 대부분이었고 이들 사이에는 미세한 섬유들이 불규칙적으로 엉성하게 분포되어 있었으며 주변의 망막은 박리되어 있었다(Fig. 4). 섬유아세포와 fibronectin을 동시에 주입한 군(III군)에서는 I군의 소견과 유사하였다. 즉 망막위의 증식조직은 결절모양으로 형성되었고 그 첨단부는 섬유성띠의 형태로 초자체강 쪽으로 연결되어 있었다. 이들을 구성하고 있는 세포는 대부분 방추형을 띠어 섬유아세포로 보였고 세포사이에는 미세한 섬유가 엉성하게 분포되어 있었다(Fig. 5).

Fig. 3. Light micrograph of the retina after intravitreal injection of fibronectin. The retina was well preserved including retinal pigment epithelial cells and inner and outer segments of visual cells(toluidine blue,  $\times 100$ ).

Fig. 4. Light micrograph showing proliferative vitreoretinopathy(\*) after intravitreal injection of fibroblasts. The traction band was composed of spindle cells(toluidine blue,  $\times 100$ ).

· 남문진 외 : 초자체강내에 주입된 동종 섬유아세포 및 동종 혈장 Fibronectin에 의한  
실험적 증식성 초자체망막증의 발생 ·

## 고찰

여러가지 원인으로 초래될 수 있는 증식성 초자체망막증은 망막의 표면과 초자체강내로 세포성막이 자라 이것이 수축됨으로서 발생하며 특히 망막바리의 경우 성공적인 수술적 치료에 큰 장애물이 되고 있다<sup>1, 2)</sup>. 증식성 초자체망막증의 치료로는 수술이 유일한 방법이지만 수술시 망막으로부터 증식막을 완전히 분리하여 제거하기가 어렵고 제거되더라도 흔히 새로운 막이 형성되기 때문에 많은 경우 망막바리가 재발될 수 있다<sup>6, 10)</sup>. 그래서 최근에는 일련의 동물실험을 통하여 증식성 초자체망막증의 발생을 약물로 억제시켜 보려는 노력이 활발히 진행되고 있다<sup>12~15)</sup>.

동물에 실험적으로 증식성 초자체망막증을 유발시키는 방법으로는 초자체강내에 배양된 세포 즉 망막색소상피세포<sup>6, 16)</sup>, 섬유아세포<sup>16, 17, 20)</sup>, 대식세포<sup>21)</sup>, 연골세포<sup>16)</sup> 등을 주입하는 방법과 정제된 혈장 fibronectin 및 platelet derived growth factor(PDGF)를 주입하는 방법<sup>22)</sup>, 탄소입자를 주입하는 방법<sup>23)</sup> 등 여러가지가 보고되고 있다. 1976년 Algvere와 Kock<sup>24)</sup>는 최초로 배양된 자가 섬유아세포를 유색토끼의 초자체강내에 주입하여 견인성 망막바리를 유발시켰으나 주입된 세포수가 너무 많아(100만) 심한 안내염증과 함께 심한 망막바리가 발생되어 그 결과를 판정하기가 어려웠으며, 1980년 Sugita 등<sup>18)</sup>은 유색토끼의 초자체강내에 각기 수가 다른 자가 섬유아세포를 주입한 결과 증식성 초자체망막증을 일으키는데 차이가 없었고 다른 종류의 세포들 사이에서도 유발된 양상이 서로 유사하여 증식성 초자체망막증이 발생되는데는 세포의 종류보다도 주입된 세포의 양이 중요하다고 하였다. 또한 Fastenberg 등<sup>17)</sup>에 의하면 증식막의 형성초기에는 일정한 세포수에 도달하기 위해 세포증식이 중요한 역할을 하지만 세포증식이 일어나지 않더라도 수축성을 가진 세포가 일정양 이상 있으면 증식성 초자체망막증이 유발될 수 있기 때문에 일정한 양의 세포수는 세포증식 및 세포수축과 더불어 증식성 초자체망막증의 발생에 필요한 중요한 요소라고 하였다.

저자들은 본 실험에서 배양된 동종 피부 섬유아세포와 정제된 동종 혈장 fibronectin을 사용하여 이들은 단독으로 혹은 동시에 초자체강내로 주입한

Fig. 5. The PVR after intravitreal injection of fibroblasts and fibronectin. Note the traction band composed of spindle cells(toluidine blue,  $\times 100$ ).

### 2) 전자현미경 소견

II 군과 IV 군에서 망막의 전층은 퇴행성 변화가 없이 정상적인 구조를 나타내었다(Fig. 6). I 군의 경우 견인대주위의 망막은 내경계막이 소실되었고 Müller세포의 초자체강쪽면에는 수많은 미용모(microvilli)가 형성되어 있었으며 Müller 세포들 사이에도 많은 미용모를 관찰할 수 있었다(Fig. 7).

견인대를 형성한 떠오양의 증식조직에는 방추형 혹은 장원형의 섬유아세포가 다수 분포하였는데 이들은 과립형내혈질세망(rough endoplasmic reticulum)이 풍부하였고 그외 시립체(mitochondria), 리보솜, 지방적(fat droplet)들을 함유하고 있었으며 핵의 윤곽은 매우 불규칙하였다. 섬유아세포사이에는 이들과 비슷하나 세포막으로 미세섬유(microfilament)가 풍부하게 있고 dense body가 나타나 근섬유아세포(myofibroblast)로 인정되는 세포들도 다수있었다. 그리고 망막에 접한 견인대부위에는 Müller 세포들이 다수 분포하고 있었고 세포들사이에는 교원섬유가 채워져 있었으며 그속에는 미세한 무정형의 과립이 분포되어 있었다(Fig. 8, 9). III 군에서는 I 군의 소견과 유사하였다. 즉 견인대를 구성하는 세포는 방추형 혹은 장원형의 섬유아세포가 대부분이었고 그 사이에는 미세섬유를 풍부하게 가진 근섬유아세포들로 분포되어 있었으며 견인대 주위의 망막에는 Müller세포가 다수 증식되었다. 세포사이의 기질조직은 교원섬유와 무정형의 미세과립이 풍부하였다(Fig. 10, 11).

— 대한안과학회지 : 제 31 권 제 8 호 1990년 —

- 남문진 외 : 초자체강내에 주입된 동종 섬유아세포 및 동종 혈장 Fibronectin에 의한  
실험적 종식성 초자체망막증의 발생 -

— 대한안과학회지 : 제 3 권 제 8 호 1990년 —

- 남문진 외 : 초자체강내에 주입된 동종 섬유아세포 및 동종 혈장 Fibronectin에 의한  
실험적 증식성 초자체망막증의 발생 -

**Legend for Figures**

**Fig. 6.** Electron micrograph of the retina after intravitreal injection of fibronectin. Pigment epithelium(PE) and inner(IS) and outer(OS) segment were intact. Bar=1 $\mu$ m.

**Fig. 7.** Electron micrograph of the retina after intravitreal injection of fibroblasts. The Müllers cells(Mu) vicinity to the traction band demonstrated numerous microvilli(open arrows) on vitreal surfaces and lateral surfaces. Bar=1 $\mu$ m.

**Fig. 8.** Electron micrograph showing the PVR after intravitreal injection of fibroblasts. The fibroblasts(Fb) were well recognized. They contained abundant RER and occasional fat droplets. Bar=1 $\mu$ m.

**Fig. 9.** The PVR after intravitreal injection of fibroblasts. A large spindle cell(Mf) showed intracytoplasmic bundles of microfilaments and dense bodies(arrows) which were similar to myofibroblasts. Bar=1 $\mu$ m.

**Fig. 10.** Transitional area between the traction band and retina after intravitreal injection of fibroblasts and fibronectin. Fibroblast(Fb) was well demonstrated. Adjacent Müller's cells(\*) were proliferated. Bar=1 $\mu$ m.

**Fig. 11.** The PVR after intravitreal injection of fibroblasts and fibronectin. Myofibroblast-like cell(MF) showed dense bodies(arrows) and bundles of microfilaments. Surrounding collagen fibers were abundant. Bar=1 $\mu$ m.

후 각군에서 관찰된 임상 및 조직병리학적 소견을 비교 검토하여 보았으며 섬유아세포에 대한 fibronectin의 효과를 판정하는데 도움이 되도록 주입한 섬유아세포의 농도를 Tano 등<sup>[19]</sup>의 경우에서보다 낮은 15~20만으로 만들어 사용하였다.

증식성 초자체망막증을 유발시키는데 있어서 동종 섬유아세포는 자가 섬유아세포와 비교할 때 임상적으로나 조직학적으로 별 차이가 없고 많은 장점을 가지기 때문에 실험적인 연구에 보다 많이 이용되고 있다<sup>[16, 17, 20]</sup>. 즉 자가 섬유아세포에서처럼 여러번 생검할 필요가 없고 세포의 배양시간을 줄일 수 있으며 배양된 세포를 냉동보관할 수 있어서 필요할 때는 언제든지 짧은 시간내에 재 이용할 수 있다. 또한 한번에 많은 동물에 시술할 수 있으며 약물에 대한 연구시에는 동일한 세포선에서 이루어지기 때문에 훨씬 신빙성이 있는 결과를 얻을 수

있다. 그리고 동종 섬유아세포를 초자체강내에 주입함으로서 생길 수 있는 면역반응이 증식성 초자체망막증의 발생에 미치는 영향을 고려해야 하는데 Hong<sup>[25]</sup>에 의하면 세포배양과정 동안 동종항원은 변하지 않지만 숙주에 거부현상을 일으키는데 필요한 공여자의 단핵세포가 소실되기 때문에 면역반응은 일어나지 않는다고 하는 점으로 미루어 이로 인한 영향을 배제시킬 수 있다. 실제의 실험에서 Fastenberg 등<sup>[16]</sup>은 초기에 염증반응으로 경도의 혼탁이 있었으나 더 이상 진행되지 않았으며 5~7일내에 모두 소실되었다고 하였다.

본 저자들의 실험에서도 초기에 경도의 초자체 혼탁이 있었으나 7일내에 모두 소실되어 증식성 초자체망막증의 형성과정에는 동종 면역반응이 관여하지 않았을 것으로 사료되었다.

배양된 섬유아세포를 초자체강내에 주입하면 짧은 시간내에 일부 섬유아세포는 죽거나 손상을 받는다. 나머지 생존한 세포들은 주입시 둥근 모양이지만 즉시 원래의 방추체모양으로 형태를 바꾸게 되고 초자체섬유를 따라 그들의 위치를 정하여 인대를 형성하게 된다. 시간이 경과됨에 따라 섬유아세포들은 점점 치밀해지는데 이것은 아마 세포들이 서로를 견인하기 때문이지 새로운 세포가 형성됨으로서 생기는 결과가 아닌것으로 생각되고 있다<sup>[18]</sup>. 이후 점차 초자체인대는 초자체 뒤쪽으로 신장하여 망막의 혈관성부위인 유수신경섬유와 시신경유두부에 도달되며 여기서 망막혈관 및 망막을 견인하여 국소망막박리를 야기시킨다(Fig. 1-a, b). 이때 초자체막이나 인대가 망막의 다른부위 대신 혈관성 망막부위로 자라들어 가는 것은 아마도 이부위가 세포증식에 필요한 영양의 주된 공급원이기 때문일 것으로 생각하고 있다<sup>[16, 18]</sup>. 일단 견인성망막박리가 발생되면 시간경과에 따라 그 정도가 점차 심해지고 전망막박리까지 이를 수 있으며 일부 안에서는 망막열공을 동반할 수 있다(Fig. 1-d, f). 경과중 일부 초자체인대가 수정체쪽으로 신장되어 수정체 후면을 따라 혈관성 증식막이 자라기도 한다(Fig. 1-e).

본 실험에서 이러한 증식성 초자체망막증의 형성과정과 시간경과에 따른 진행정도는 섬유아세포만을 주입한 I 군과 fibronectin을 동시에 주입한 III 군에서 서로 유사하였고 fibronectin으로 인해 증식성 초자체망막증의 발생이 더 조장된 것 같지 않

있으며 전 경과과정을 통해 발생된 견인성망막박리의 비율도 I 군에서는 10안중 9안(90%), III 군은 7안중 6안(85.7%)으로 별 차이를 보이지 않았다. 저자들은 본 실험에서 15만내지 20만 농도의 동종 섬유아세포를 초자체강내로 주입하여 상기한 바와 같이 높은 비율로 견인성망막박리를 유발시킬 수 있었는데 다른 연구자들의 경우를 보면 자가 섬유아세포(25만)를 주입한 Sugita 등<sup>18)</sup>과 Tano 등<sup>19)</sup>은 각각 63%와 83%에서 자가 및 동종 섬유아세포(각 25만)를 주입한 Fastenberg 등<sup>16)</sup>은 모두 100%에서 역시 자가 및 동종 섬유아세포(각 25만)를 주입한 Ophir 등<sup>20)</sup>은 각각 90%와 100%로 정도에는 차이가 있지만 저자들에서와 같이 모두 높은 비율로 망막박리를 보고하였다.

혈청에는 망막상피세포<sup>26, 27)</sup>, 섬유아세포<sup>28)</sup>를 비롯한 많은 다른 세포들에 대한 Chemoattractants가 함유되어 있으며 이중 fibronectin과 PDGF가 세포 이동에 영향을 주는 주요 성분으로 알려져 있다<sup>22, 27 ~29)</sup>. Fibronectin은 일종의 당단백으로서 세포의 유착 및 운동성을 증가시키고 변형된 섬유아세포를 정상으로 복원시키는 역할 등 다양한 기능을 가지고 있다<sup>28)</sup>. Postlethwaite 등<sup>28)</sup>에 의하면 혈장 혹은 세포내의 fibronectin은 시험관검사상 섬유아세포 이동에 chemotactic factor로 작용하며 fibronectin의 chemotactic activity에 중요한 부위는 non-gelatin binding fragment로서 그 분자량은 14,000이라고 하였다. Cleary와 Ryan<sup>30, 31)</sup>은 토끼 안구의 뒤쪽에 천공상을 만든 후 초자체강내와 망막면에 종식막을 유발시킴으로서 이러한 막과 견인성망막박리가 발생되는 데는 혈청내의 성분이 중요한 역할을 한다고 하였으며 Yeo 등<sup>22)</sup>은 유색 토끼의 평면부에 8mm 절개후 초자체강내에 fibronectin과 PDGF를 주입하여 72%에서 종식성 초자체망막증을 유발시킬 수 있었는데 이들에 의하면 fibronectin과 PDGF가 망막색소상피, 섬유아세포, 교세포 등을 초자체강내로 이동시키고 이들 세포는 여기서 종식되어 막형성과 함께 수축이 일어나 견인성망막박리가 발생된다고 하였다.

본 실험에서는 동종 혈장 fibronectin을 사용하였는데 단독으로 초자체강내에 주입한 군(II 군)에서는 전혀 종식성 초자체망막증의 발생소견이 없었으며 섬유아세포와 동시에 주입한 경우(II 군)는 섬유아세포만을 주입한 I 군과 비교해 볼 때 임상

및 조직병리학적 측면에서 서로 유사한 소견을 보였으므로 III 군에서 발생된 종식성 초자체망막증은 섬유아세포에 의해 발생된 것으로서 fibronectin은 관여하지 않았던 것으로 사료되었다. 저자들은 Yeo<sup>22)</sup>의 실험에서와 같이 절개창을 만들지 않았고 26 게이지 주사침으로 만들어진 창상밖에 없어서 섬유아세포를 비롯한 여러 세포들이 초자체내로 이동하기에는 그 창상이 너무 작았으며 주입된 fibronectin 양도 Yeo 등<sup>22)</sup>의 경우에서 ( $50\mu\text{g} \times 2$ 회)보다도 적었기 때문( $50\mu\text{g} \times 1$ 회)으로 생각되었다. 그리고 III 군의 실험에서 fibronectin이 동시에 주입된 섬유아세포에 대해 별 영향을 주지 않았던 것은 본 실험만을 통해서는 그 이유를 알 수가 없었고 이러한 사실을 좀더 확실히 알기 위해서는 더 많은 양의 fibronectin을 주입해 본다거나 섬유아세포의 농도를 낮게 해보는 등의 추가적인 실험이 필요할 것으로 사료된다. 그리고 PBS만을 주입한 대조군(IV 군)에서는 전 관찰기간을 통하여 안저에 이상소견이 관찰되지 않았는데 이것은 주입으로 생기는 안구의 관통상이 종식성 초자체망막증의 발생에는 영향을 주지 않았음을 보여준다.

조직병리학적으로 초자체인대나 망막면위에 발생되는 종식막은 망막색소상피세포, 교세포, 섬유아세포, 혹은 이들로부터 유래된 세포들로 구성된다<sup>32)</sup>. 섬유아세포내의 microfilament는 주입초기에는 극소수이지만 주입후 시간이 경과하면서 그 수가 풍부해지고 세포내에 dense bodies, convoluted nuclei 및 세포접합부 등이 나타나면서 근섬유아세포로 변형이 일어나게 된다<sup>18)</sup>. 이렇게 형성된 근섬유아세포는 수축하여 종식막을 위축시키고 망막에 주름이 생기게 하며 더 심하면 견인성망막박리를 유발시킨다. 본 실험 후 28일째의 조직병리학적 검사에서 초자체인대나 망막의 종식막은 전자현미경검사상 대부분 섬유아세포와 교원섬유로 구성되어 있었고 일부는 근섬유아세포와 교세포로 이루어져 있었다. 초자체인대가 부착된 부위의 망막은 박리되어 시세포의 외절부가 심한 변성과 함께 위축되어 있었으며 교세포들이 초자체 쪽 면과 측면으로 수많은 미용모를 형성하면서 종식되어 있었다.

저자들은 본 실험에서 배양이 비교적 용이한 동종 섬유아세포를 유색토끼의 초자체강내에 단독으로 주입해서도 비교적 높은 비율로 종식성 초자체망막증을 유발시킬 수 있음으로서 향후 다른 각도

- 남문진 외 : 초자체강내에 주입된 동종 섬유아세포 및 동종 혈장 Fibronectin에 의한  
실험적 증식성 초자체망막증의 발생 -

에서의 증식성 초자체망막증에 대한 연구와 이것을 약물로 억제시켜 보려는 시도에 유용하게 이용할 수 있는 실험적 유형을 제시하는데 큰 의의가 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

증식성 초자체망막증을 실험적으로 유발시켜 보기 위해 유색토끼 17마리, 34안을 4개군으로 나눈 뒤 배양된 동종 섬유아세포와 분리정제한 동종 혈장 fibronectin을 단독 혹은 동시에 초자체강내로 주입하였으며 이후 28일간의 경과 관찰을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 동종 섬유아세포만을 주입한 I군과 동종 섬유아세포와 fibronectin을 동시에 주입한 III군에서 증식성 초자체망막증이 유발되었으며 형성된 초자체인 대나 막 그리고 시간경과에 따른 진행정도가 두군(I, III군)에서 서로 유사하였고 최종 28일째의 견인성망막박리의 빈도는 I군에서 90%(9/10), III군에서는 85.7%(6/7)이었다.

2. 동종 혈장 fibronectin만을 주입한 II군과 PBS만을 주입한 IV군에서는 전 관찰기간을 통하여 증식성 초자체망막증이 발생된 흔적을 관찰할 수 없었다.

3. 전자현미경검사상 I군과 III군의 증식조직은 서로 유사한 소견을 보였으며 이들은 주로 섬유아세포와 교원섬유로 구성되어 있었고 교세포와 근섬유아세포도 형성에 일부 관여하였다. 이러한 결과로 미루어보아 본 실험에서 유발된 증식성 초자체망막증은 섬유아세포에 의해 주로 발생된 것으로서 fibronectin은 관여하지 않았던 것으로 사료되었다.

## REFERENCES

- 1) Rachal WF, Burton TC : *Changing concepts of failure after retinal detachment surgery.* Arch Ophthalmol 97 : 480-483, 1979.
- 2) Stern WH, Fisher SK, Anderson DH, O'Donnell JJ, Erickson PA, Lewis GP, Guerin CJ, Borgula GA, McDermott MA : *Epiretinal membrane formation after vitrectomy.* Am J Ophthalmol 93 : 757-772, 1982.
- 3) Lagua H, Machemer R : *Clinical-pathological correlation in massive periretinal proliferation.* Am J Ophthalmol 80 : 913-929, 1975.
- 4) Retina Society Terminology Committee : *The classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy.* Ophthalmology 90 : 121-125, 1983.
- 5) Machemer R, Van Horn DL, Aaberg T : *Pigment epithelial proliferation in human retinal detachment with massive periretinal proliferation.* Am J Ophthalmol 85 : 181-191, 1978.
- 6) Radtke ND, Tano Y, Chandler D, Machemer R : *Stimulation of massive periretinal proliferation by autotransplantation of retinal pigment epithelial cells in rabbits.* Am J Ophthalmol 91 : 76-87, 1981.
- 7) Van Horn DL, Aaberg T, Machemer R, Fenzi R : *Glial cell proliferation in human retinal detachment with massive periretinal proliferation.* Am J Ophthalmol 84 : 383-393, 1977.
- 8) Johnson NE, Foulds LOS : *Observation on retinal pigment epithelium and retinal macrophages in experimental retinal detachment.* Br J Ophthalmol 1 : 564-572, 1977.
- 9) Newsome DA, Rodrigues MM, Machemer R : *Human massive periretinal proliferation : In vitro characteristics of cellular components.* Arch Ophthalmol 99 : 873-880, 1981.
- 10) 김기산, 남문진, 오준섭, 박낭운, 김인산, 조준성 : 지속성 각막상피결손 환자에서 autologous fibronectin 국소접안의 효과. 대한안과학회지 30 : 29-36, 1989.
- 11) Machemer R : *Massive periretinal proliferation : A logical approach to therapy.* Trans Am Acad Ophthalmol 75 : 556-586, 1977.
- 12) Chandler DB, Rozakis G, de Juan E, Machemer R : *The effect of triamcinolone acetone on a refined experimental model of proliferative vitreoretinopathy.* Am J Ophthalmol 99 : 686-690, 1985.
- 13) Blumenkranz MS, Ophir A, Claflin AJ, Hajek AS : *Fluorouracil for the treatment of mas-*

- sive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol* 94 : 458–467, 1982.
- 14) Lemor M, Yeo JH, Glaser BM : Oral colchicine for the treatment of experimental traction retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 104 : 1226–1229, 1986.
- 15) Blumenkranz MS, Clflin A, Hajek AS : Selection of therapeutic agents for intraocular proliferative disease : Cell culture evaluation. *Arch Ophthalmol* 102 : 598–604, 1984.
- 16) Fastenberg DM, Diddie KR, Sorgente N, Ryan SJ : A comparison of different cellular inocula in an experimental model of massive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol* 93 : 559–564, 1982.
- 17) Fastenberg DM, Diddie KR, Dorey K, Ryan SJ : The role of cellular proliferation in an experimental model of massive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol* 93 : 565–572, 1980.
- 18) Sugita G, Tano Y, Machemer R : Intravitreal autotransplantation of fibroblasts. *Am J Ophthalmol* 89 : 121–130, 1980.
- 19) Tano Y, Chandler DB, Machemer R : Retinal neovascularization after intravitreal fibroblast injection. *Am J Ophthalmol* 92 : 103–109, 1981.
- 20) Ophir A, Blumenkranz MS, Claflin AJ : Experimental intraocular proliferation and neovascularization. *Am J Ophthalmol* 94 : 450–457, 1982.
- 21) Hui Y, Goodnight R, Sorgente N, Ryan SJ : Fibrovascular proliferation and retinal detachment after intravitreal injection of activated macrophage in the rabbit eye. *Am J Ophthalmol* 108 : 176–184, 1989.
- 22) Yeo JH, Sadeghi J, Campochiaro PA, Green BM : Intravitreal fibronectin and platelet-derived growth factor : New model for traction retinal detachment. *Arch Ophthalmol* 104 : 417–421, 1986.
- 23) Algvere D, Kock E : Experimental epiretinal membranes induced by intravitreal carbon particles. *Am J Ophthalmol* 96 : 345–353, 1983.
- 24) Algvere D, Kock E : Experimental fibroplasia in the rabbit vitreous. Retinal detachment induced by autologous fibroblast. *Albrecht von Graefes Arch Klin Ophthalmol* 199 : 215, 1976.
- 25) Hong R : Allografts of cultured organs. A special supplement to immunology abstracts. Bethesda, National Eye Institute 1981, pp. 103–104.
- 26) Campochiaro PA, Jerdan J, Glaser BM : Serum contains chemoattractants for human retinal pigment epithelial cells. *Arch Ophthalmol* 102 : 1830–1833, 1984.
- 27) Campochiaro PA, Glaser BM : Platelet-derived growth factor is chemotactic for human retinal pigment epithelial cells. *Arch Ophthalmol* 103 : 576–579, 1985.
- 28) Postlethwaite AE, Keski-Oja J, Balian G, Kang AH : Induction of fibroblast chemotaxis by fibronectin. *J Exp Med* 153 : 494–499, 1981.
- 29) Campochiaro PA, Glaser BM : A retina-derived stimulator(s) of retinal pigment epithelial cell and astrocyte proliferation. *Exp Eye Res* 43 : 449–457, 1986.
- 30) Cleary PE, Ryan SJ : Experimental posterior penetrating eye injury in the rabbit. II. Histology of wound, vitreous, and retina. *Br J Ophthalmol* 63 : 312–321, 1979.
- 31) Cleary PE, Ryan SJ : Histology of wound, vitreous, and retina in experimental posterior penetrating eye injury in the rhesus monkey. *Am J Ophthalmol* 88 : 221–223, 1979.
- 32) Spencer WH : *Ophthalmic pathology*, ed. 2, vol 2. Philadelphia, WB Saunders 1985, pp. 710–730.