

Multivesicular liposome 포장 cytarabine이 녹내장 여과 창상 치유에 미치는 영향

성공제 · 홍영재 · 김홍복

= 요 약 =

녹내장 여과수술의 성공률을 높이기 위해서 항대사제를 수술후에 결막하 주사하는 방법이 쓰이고 있으나 이 방법이 수술의 성공률을 높일 수는 있어도 여러가지 부작용과 잦은 결막하주사로 인한 환자의 불편함이 큰 단점으로 알려지고 있다. 따라서 부작용을 줄이고 결막하 주사 횟수를 줄일 수 있는 운반체계가 필요하게 되었다. Liposome은 중앙의 액체핵을 주변의 지질이 둘러싼 형태의 지질소포체로서 지질막이 파괴된 후에야 중앙의 액체가 배출될 수 있다. 본 실험에서는 강력한 항대사제로 알려진 cytarabine을 multivesicular liposome에 포장하여 이를 녹내장 여과수술후에 결막하주사하여서 녹내장 여과수술의 창상치유에 미치는 영향과 부작용 그리고 결막하 주사 횟수를 줄일 수 있는지를 알아보려고 하였다.

백색가토에서 녹내장 여과수술을 시행한 후에 생리식염수 또는 cytarabine 2.5mg를 매일 1회씩 7일간 결막주사하였고, cytarabine 2.5mg과 multivesicular liposome 포장 cytarabine (cytarabine 2.5mg을 포함)을 수술직후와 수술후 3일째에 결막주사하고 수술후 1주, 2주, 4주, 8주에 안압 측정과 수술부위 조직의 광학 및 전자현미경 검사 그리고 부작용을 관찰하였다.

1. 생리식염수를 수술후 매일 1회씩 7일간 결막하 주사한 군은 수술후 1주만에 수술부위가 막혔으며 안압의 유의한 하강이 없었다.

2. Cytarabine을 수술후 매일 1회씩 7일간 결막하 주사한 군은 수술후 2주까지는 수술부위가 막히지 않았으며 안압의 유의한 하강이 없었다.

3. Cytarabine을 수술직후와 수술후 3일째에 결막하 주사한 군에서는 수술후 1주만에 수술부위가 막혔으며 안압의 유의한 하강이 없었다.

4. Multivesicular liposome 포장 cytarabine을 수술직후와 수술후 3일째에 결막하 주사한 군에서는 섬유아세포의 증식이 억제되어서 수술후 2주까지는 수술부위가 막히지 않았으며 안압의 유의한 하강이 있었다.

5. 모든 실험군에서 전신적인 부작용은 없었으며 눈에 나타나는 부작용은 결막하 주사 횟수가 적을수록 적었다.

이상의 성적으로 미루어보아서 cytarabine을 multivesicular liposome에 포장하여서 주사하면 약물이 수술부위에 오래동안 남아 있어서 수술부위의 창상치유를 지연시키고, 결막하 주사 횟수를 줄

〈접수일 : 1993년 9월 27일, 심사통과일 : 1993년 12월 5일〉

연세대학교 의과대학 안과학교실
Department of Ophthalmology Yonsei University College of Medicine

이며, 부작용을 줄여서 multivesicular liposome이 항대사제의 운반체제로 좋은 방법임을 알 수 있었다(한안지 35 : 309~325, 1994).

= Abstract =

The Effect of Multivesicular Liposome-encapsulated Cytarabine on Wound Healing of the Glaucoma Filtering Surgery

Gong Je Seong, M.D., Young Jae Hong, M.D., Hong Bok Kim, M.D.

In this study, multivesicular liposome-encapsulated cytarabine was injected subconjunctivally to observe the effects on wound healing, its complications, and the possibility of this method for decreasing frequency of injections.

In normal rabbit eyes, subconjunctival injections of normal saline were administered daily for 7 days after filtering surgery in the control group. In the next group(group I), 2.5mg of cytarabine was given in the same manner as the control group. In another group(group II) 2.5mg of cytarabine was given immediately after surgery and 3 days after surgery. The final group (group III) was given multivesicular liposome-encapsulated cytarabine containing 2.5mg of cytarabine in the same manner as Group II. The IOP and histological change of the filtering site were evaluated at postoperative 1, 2, 4, and 8 weeks. Complications were evaluated and recorded as follows :

1. In the control group, the filtering site became occluded within a week and the IOP was not significantly decreased.
2. In group I, the filtering site remained open and the IOP was significantly decreased for two weeks.
3. In group II, the filtering site became occluded within a week, and the IOP was not significantly decreased.
4. In group III, the filtering site remained open, and the IOP was significantly decreased for two weeks
5. There were no systemic complications, and intraocular complications were decreased with decreasing frequency of subconjunctival injection.

In summary, the above results suggest that subconjunctival injection of multivesicular liposome-encapsulated cytarabine delays the frequency of injections and complications(J Korean Ophthalmol Soc 35 : 309~325, 1994).

Key Words : Glaucoma filtering surgery, Antimetabolite, Delivery system, Multivesicular liposome, Fibroblast.

녹내장은 안압이 상승하여서 시신경이 손상을 받고 이에 따른 시야 장애를 초래하는 질환으로 치료가 되지 않으면 시력을 상실하게 되는 질환이다. 상승된 안압을 적절한 수준까지 하강 유지시키는 것이 녹내장의 치료 원칙이며 그 방법에는 약물요법, 레이저요법, 수술요법이 있다.

녹내장 여과수술은 수술요법중의 하나로서 전방과 결막하 공간 사이에 새로운 통로를 만들어 여과포를 형성하여 좁으로써 여과포에 고인 방수가 결막상피 세포를 통하여 눈물막으로 빠져 나가거나 상피하 결체조직에 있는 혈관에 흡수되게 하여서 안압을 낮추어 주는 것이다¹⁻³. 근래의 여과수술은 현미경하 미세수술을 통하여 높은 성공률을 보이고 있으나 무수정체안^{4,5}, 신생혈관녹내장^{6,7}, 이전에 눈수술을 받았던 경우^{8,9}, 흑인^{10,11}이나 젊은 연령층^{12,13}에서는 성공률이 매우 낮은 것으로 알려져 있다. 여과수술이 실패한 여과수포의 조직에서는 심한 염증반응과 방추형의 활성화된 섬유아세포가 나타나며 교원섬유가 침착하여 여과창 부위를 막고 있으며 이로 인해서 방수가 빠져 나가지 못하는 것으로 알려져 있다¹⁴. 따라서 녹내장 여과수술후에 염증반응을 줄이고 섬유아세포의 증식과 교원질의 침착을 억제하는 약물을 사용함으로써 여과수포 형성을 높이려는 노력이 관심을 끌게 되었다.

염증반응을 억제할 목적으로 steroid 제제가 쓰이고 있는데 수술전후에 투여된 steroid는 급성 염증반응을 억제하고 섬유소 침착과 모세혈관 투과성, 백혈구 및 대식세포의 이동을 억제하기 때문에 여과수포의 형성에는 좋은 효과가 있으나 주사부위의 결막이 얇아지고 용해되는 부작용이 나타난다고 보고되고 있다¹⁵⁻¹⁹. 교원질의 침착을 억제하는 목적으로 β -aminopropionitrile(BAPN)과 D-penicillamine이 쓰이고 있으며 이들은 tropocollagen의 교차결합을 억제하여 미숙형의 교원질로 계속 남게 하여 수술의 성공률을 높게하나 부작용으로 안검부종, 각막상피손상 등이 나타난다고 알려지고 있다^{20,21}.

섬유아세포의 증식을 억제할 목적으로 항대사제가 쓰이고 있는데 이의 작용 기전은 세포 분열주기에 선택적으로 작용하여 DNA와 RNA의 합성을 방해하는 것이다. 동물에서 후공막절제술을 시행한 후에 5-fluorouracil (5-FU)의 결막하주사를 시도한 이

래 여러사람들에 의해서 좋은 결과 보고가 있었으나 부작용으로 각막상피손상, 결막창상누출, 상맥락막출혈등이 발생했다고 하며 또한 수술 후 처음 일주일간은 매일 두번씩, 그 다음 일주일엔 매일 한번씩 결막하주사해야 하기 때문에 잦은 결막하주사에 따른 환자의 불편함과 고통이 제일 큰 단점으로 알려지고 있다²²⁻²⁶. 따라서 약물의 농도를 낮추면서 약물이 천천히 유리되게 하는 새로운 운반체계(delivery system)가 필요하게 되었다.

중양의 액체핵을 주변의 지질이 이중막성 구조로 둘러싼 형태의 지질소포체인 Liposome은 주변 지질막이 파괴된 후에야 중양의 액체가 밖으로 배출될 수 있다²⁷⁻²⁹. Liposome의 지질막은 생체내에서 서서히 파괴되므로 중양의 액체핵을 약물로한 Liposome을 제조하여 생체내에 주입하면 약물을 생체내에 장시간 존재하게 할 수 있다고 알려져 있다³⁰⁻³². Kim 등³³은 포장율이 높으며 크기가 커서 광학현미경으로도 관찰이 용이하며 제조 방법이 비교적 간단한 multivesicular liposome을 처음으로 제조하여 발표하였다.

이에 저자는 체내에서 arabinosylcytosine triphosphate로 전환되어 DNA의 입체구조에 결합함으로써 나선형 회전이 불가능하게 하여 세포의 증식을 억제하는 약물로^{34,35} 결막섬유아세포의 배양실험에서 5-FU보다 10~20배 정도 강력하게 세포성장 억제력을 보이는 것으로 알려진³⁶⁻⁴¹ cytarabine을 핵으로 하는 multivesicular liposome을 제조하여 가토안에서 녹내장 여과수술을 시행한 후에 결막하주사하여서 multivesicular liposome 포장 cytarabine이 녹내장 여과수술의 창상 치유에 미치는 영향, 부작용 유무 그리고 결막하주사 횟수를 줄일 수 있는지를 알아보려고 하였으며 항대사제의 결막하주사 횟수와 부작용을 줄일 수 있는 보다 안전한 방법을 개발하고자 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 재료

가. 동물

외안부 및 안내 이상 소견이 없는 체중 2.0~3.

0kg의 백색 수컷 가토 60마리를 사용하였다.

대조군 : 15마리 15안

제1실험군 : 15마리 15안

제2실험군 : 15마리 15안

제3실험군 : 15마리 15안

나. 약물

Diolyl phosphatidyl choline, Dimyristoyl phosphatidyl glycerol, Triolein, Cholesterol (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, U.S. A.)

Chloroform (E. Merck, Darmstadt, F.R. Germany)

Glucose (Junsei Chemical Co., Tokyo, Japan)

삼중수소 cytarabine (Amersham International plc., Buckinghamshire, England)

Cytarabine 주사액 (중외제약제제)

2. 방법

가. Liposome 제조

Liposome은 많은 양의 약물을 포장하며 크기가 커서 광학 현미경으로 관찰이 가능하며 비교적 제조가 용이한 multivesicular liposome을 Kim등³³⁾의 방법에 따라서 제조하였다.

(1) 30cc 유리 시험관에 diolyl phosphatidyl choline 7.5mg, dimyristoyl phosphatidyl glycerol 1.5mg, triolein 1.68mg, cholesterol 5.81mg을 1ml chloroform에 녹여서 chloroform-lipid mixture를 만들었다.

(2) 삼중수소 cytarabine 용액 (specific activity, 20Ci/mmol)과 cytarabine 용액을 섞어서 radioactivity가 3.80×10^7 cpm per 10mg/ml인 용액을 만들었다.

(3) 이 용액 1ml를 (1)에서 만든 1ml의 chloroform-lipid mixture에 들어있는 유리 시험관에 한방울씩 떨어뜨린 다음에 밀봉하고 10분간 vortex mix 하였다.

(4) 위에서 형성된 용액 1ml를 240mmol/L glucose 2.5ml가 들어있는 시험관에 넣고 5초간 vortex mix한 후에 8L/min 속도로 N₂ gas를 통

과시켜 chloroform을 전부 증발시킨 다음 500 g에서 10분간 원심 분리하였다.

(5) 이렇게 하여서 형성된 침전물에는 liposome에 포장된 cytarabine과 포장되지 않은 cytarabine이 섞여 있으므로, 포장되지 않은 cytarabine을 제거하기 위하여 phosphate-buffered saline (PBS : 137mM NaCl, 2.6mM KCl, 6.4mM Na₂HPO₄, 1.4mM KH₂PO₄, pH 7.4)을 사용하여 이들을 resuspension과 recentrifuge을 5차례 시행하였다.

(6) 최종적으로 형성된 liposome내의 약물의 농도를 측정하기 위하여 liposome 0.25ml를 radiation counting glass vial에 넣고 5ml의 radiation counting cocktail (toluene 667ml, Triton X-100 333ml, 2, 5-diphenyloxazole 7.0g, 1,4-bis [5-phenyl-2-oxazolyl] benzene 0.3g)과 잘 섞은 후 LS 5000 TA liquid scintillation counter (Beckman Instruments Inc., Fullerton, CA, U.S.A.)로 농도를 측정하였다.

나. 녹내장 여과수술

수술 전 실험 대상 가토에 atropine을 전처치한 후 kilogram당 30mg의 pentobarbital sodium을 이연정맥내에 주사하고 2% lidocaine 0.5ml를 구 후주사하여 마취를 시행하고 고정틀에 실험 동물을 고정시킨 후 수술현미경하에서 녹내장 여과수술의 한가지 방법인 후공막절제술을 시행 하였다. 수술방법은 상비측 각막윤부 후방 8mm에서 결막을 절개하여 limbus based 결막편을 만들고 난 다음에 #15 Bard Parker knife로 각공막을 절개하였다. 절개된 각공막 부위를 1.5mm Gass sclerectomy punch로 후공막을 1×3mm되게 절개한 후 10-0 Nylon 봉합사로 결막을 연속 봉합하고 1% atropine 점안액과 Oxymycin 안연고를 넣었다.

다. 약물 투여

수술 부위로부터 180° 떨어진 부위의 결막에 제1실험군에서는 cytarabine 용액 2.5mg을 수술 직후부터 수술 후 6일째까지 매일 1회씩 7일간 결막하

주사하였으며 제2실험군에서는 cytarabine 용액 2.5 mg을 수술 직후와 수술 후 3일째에 결막하 주사하였으며, 제3실험군에서는 cytarabine 2.5mg을 포함하는 multivesicular liposome 포장 cytarabine을 수술 직후와 수술 후 3일째에 결막하 주사하였다. 대조군에서는 생리식염수 0.25ml를 수술 직후부터 수술 후 6일째까지 매일 1회씩 7일간 결막하 주사하였다. 결막하 주사시에는 26gauge 주사침을 사용하였으며 주사후에 약물의 역류를 막기 위하여서 면봉을 이용하여 주사 부위를 3분간 눌렀다.

라. 안압측정

Ketamine hydrochloride를 이용하여 근육주사하여 마취시킨 후에 Perkins 안압계를 이용하여 안압을 측정하였다. 수술 전 기준 안압을 측정하였고 수술 후 1주, 2주, 4주, 8주에 각각 측정하였으며 매 측정시 연속 2회 측정하여 평균값을 취하였다. 측정된 안압의 유의성 검정은 Kruskal-Wallis 검정을 먼저 시행하고 영가설이 기각된 경우에는 Mann-Whitney U 검정을 시행하였다.

마. 약물 투여후 시간에 따른 조직 검사

(1) 광학현미경 검사

Cytarabine 투여 후의 수술부위 조직의 변화를 보기 위하여 수술 후 1주, 2주, 4주, 8주에 각 군에서 1안씩을 적출하여 10% 포르말린으로 고정시킨 후에 여과창 부위를 통하여 조직편을 만들어 paraffin에 포매한 후에 hematoxyline-eosin 염색과 Masson trichrome 염색을 하여 관찰하였다.

(2) 전자현미경 검사

실험군과 대조군에서 각각 1안씩을 수술 후 2주, 4주에 적출하여 0.1M cacodylate 완충액(pH 7.2)으로 조정된 2% glutaraldehyde와 2% paraformaldehyde에서 2시간 동안 전고정한 후에 동일 완충액으로 30분씩 2회 세척한 다음 1.33% osmium tetroxide(0.1M cacodylate 완충액, pH 7.2)에 1시간 후고정하였다. 후고정한 표본을 동일 완충액으로 세척한 다음에 알코올 농도 상승순으로 무수알코올까지 완전 탈수한 후 propylene oxide로 치환하여 epoxy resin에 포매하였다. 포매

한 표본을 37℃에서 24시간, 67℃에서 48시간 방치하여 중합시킨 후에 1 μ m 두께로 박절하여 toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰 부위를 선정한 후, 50~60nm의 초박 절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자 염색하여 Hitachi H-500 투과전자현미경으로 관찰하였다.

바. 부작용 검사

Cytarabine에 의한 눈에 나타나는 부작용을 알아보기 위하여 수술 후 10일간 매일 세극 등 검사를 시행하여 결막 및 각막의 이상 유무를 관찰하였으며 cytarabine이 전신적으로도 영향을 미치는가를 알아보기 위하여서 수술 후 4주에 각군에서 1마리씩을 선택하여서 골수와 간장을 적출하여서 Wright-Giemsa와 hematoxyline-eosin 염색을 시행하여 대조군과 비교하여 관찰하였다.

결 과

1. Liposome 제조 결과

제조한 liposome은 액체핵과 액체핵의 경계가 지질막으로 되어 있었으며 전체적으로 다시 지질막으로 둘러싸여 마치 포도송이 모양을 하고 있었으며 포장률은 50%이었다(Fig. 1).

Fig. 1. Phase contrast micrograph of multivesicular Liposome-encapsulated cytarabine suspended in phosphate buffered saline solution($\times 100$).

2. 녹내장 여과수술 후 안압

가. 생리식염수를 매일 1회씩 7일간 결막하 주사한 군(대조군)

수술 전 안압이 $19.17 \pm 0.86 \text{mmHg}$, 수술 후 1주, 2주, 4주, 8주에 안압이 각각 $18.97 \pm 1.32 \text{mmHg}$, $19.11 \pm 0.98 \text{mmHg}$, $19.23 \pm 0.73 \text{mmHg}$, $19.08 \pm 0.90 \text{mmHg}$ 로 수술 전에 비하여 수술 후 1주, 2주, 4주, 8주에 안압하강의 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$) (Fig. 2).

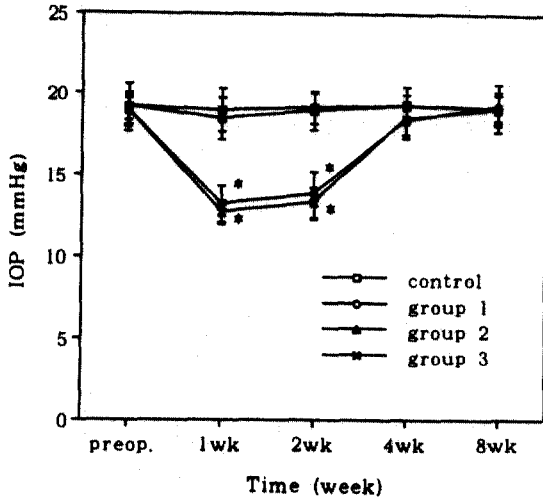


Fig. 2. Intraocular pressure changes. * : Statistically significant decrease of postoperative intraocular pressure compared to preoperative intraocular pressure ($p < 0.05$).

나. Cytarabine을 매일 1회씩 7일간 결막하 주사한군(제1실험군)

수술 전 안압이 $18.97 \pm 1.01 \text{mmHg}$ 이었으며 수술 후 1주에 $13.23 \pm 1.08 \text{mmHg}$, 수술 후 2주에 $13.82 \pm 1.38 \text{mmHg}$ 로 수술 전에 비하여 안압하강이 유의하였으나($p < 0.05$), 수술 후 4주와 8주에는 $18.39 \pm 1.08 \text{mmHg}$, $19.25 \pm 0.92 \text{mmHg}$ 로 안압하강의 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$) (Fig. 2).

다. Cytarabine을 수술 직후와 수술 후 3일째에 결막하 주사한군(제2실험군)

수술 전 안압이 $19.13 \pm 1.48 \text{mmHg}$ 이었으며 수술 후 1주, 2주, 4주, 8주에 각각 $18.43 \pm 1.29 \text{mmHg}$, $18.93 \pm 1.14 \text{mmHg}$, $19.27 \pm 1.22 \text{mmHg}$, $19.17 \pm 1.47 \text{mmHg}$ 로 수술 전에 비하여 수술 후 1주, 2주, 4주, 8주에 안압하강의 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$) (Fig. 2).

라. Multivesicular liposome 포장 cytarabine을 수술 직후와 수술 후 3일째에 결막하주사한군(제3실험군)

수술 전 안압이 $18.90 \pm 0.87 \text{mmHg}$ 이었으며 수술 후 1주에 $12.70 \pm 0.70 \text{mmHg}$, 수술 후 2주에 $13.25 \pm 0.92 \text{mmHg}$ 로 수술 전에 비하여 안압의 유의한 하강이 있었으나($p < 0.05$), 수술 후 4주와 8주에는 $18.50 \pm 1.08 \text{mmHg}$, $19.08 \pm 1.04 \text{mmHg}$ 를 나타내어 안압하강의 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$) (Fig. 2).

마. 각 군간의 비교

수술 전 안압은 대조군 $19.17 \pm 0.86 \text{mmHg}$, 제1실험군 $18.97 \pm 1.01 \text{mmHg}$, 제2실험군 $19.31 \pm 1.48 \text{mmHg}$, 제3실험군 $18.90 \pm 0.87 \text{mmHg}$ 로 각 군간에 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$). 각 실험군간의 수술 전후의 안압을 비교해보면 수술 후 1주와 2주에서는 제1군과 제3군이 대조군과 제2군에 비하여 안압하강이 유의한 차이가 있었으며($p < 0.05$), 수술 후 4주와 8주에는 각 군간에 유의한 차이가 없었고($p > 0.05$), 제1군과 제3군간에는 수술 후에 안압하강의 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$) (Fig. 2).

3. 수술 부위의 광학현미경 소견

가. 대조군

수술 후 1주의 여과창 부위에는 임파구가 주종을 이루는 염증세포의 침윤을 관찰할 수 있었으며 적혈구들과 혈관의 증식을 볼 수가 있었다. 또한 섬유아세포와 새로운 교원섬유들이 나타나서 여과창 부위가 이들에 의해서 막혀 있었다(Fig. 3). 수술 후 2주에는 혈관의 수와 크기가 줄어드는 양상을 보이는 반면 섬유아세포의 수가 증가되고 새로운 교원섬유가 많이 증식되어서 여과창 부위를 막고 있었다

가 비교적 일정하게 배열되어 있었다(Fig. 4). 수술 후 8주에는 섬유아세포의 숫자가 감소하였으며 교원 섬유는 일정한 배열을 하고 있으며 이들이 완전히 여과창 부위를 막고 있었다(Fig. 4).

나. 제1실험군

수술 후 1주에는 여과창 부위에 임파구들의 침윤이 나타나는 염증반응을 보이며 적혈구들이 나타나나 섬유아세포는 별로 관찰되지 않았고 조직이 전체적으로 부종이 있는 소견을 보였다(Fig. 5). 수술 후 2주에는 염증세포들이 별로 나타나지 않고 있었으며 조직 사이에 부종을 나타내며 섬유아세포와 미약하나마 미세한 신생 교원섬유가 나타나기 시작하여서 대조군의 2주 때보다 여과창 부위의 창상치유가 늦어지고 있음을 알 수 있었다(Fig. 5). 수술 후 4주에는 섬유아세포와 교원섬유의 증식으로 인하여 여과창 부위가 막혀 있었으며(Fig. 6), 수술 후 8주에는 섬유아세포는 감소하는 양상을 보이나 교원 섬유는 더욱 증가하며 배열이 일정해지는 형태를 보이면서 여과창 부위를 막고 있었다(Fig. 6).

다. 제2실험군

Fig. 3. Photomicrographs of histologic section from the sclerectomy site of control group($\times 100$). Top left: postoperative trichrome stain. Total replacement of the sclerectomy site by fibroblasts and collagen was seen. Top right: postoperative 2 week, Masson trichrome stain. Marked deposition of collagen was seen.

(Fig. 3). 수술 후 4주에는 혈관들은 거의 나타나지 않고 염증세포의 수가 많이 줄어들어 있었으며 여과창 부위는 섬유아세포와 교원섬유가 증가되어 완전히 막혀 있었으나 수술 후 2주보다는 교원섬유

Fig. 4. Photomicrographs of histologic section from the sclerectomy site of control group ($\times 100$). Top left: postoperative 4 week, H-E stain. Bottom left: postoperative 4 week, Masson trichrome stain. Top right: postoperative 8 week, H-E stain. Bottom right: postoperative 8 week, Masson trichrome stain. Total replacement of the sclerectomy site by newly formed, regularly arranged collagen was seen at postoperative 4 and 8 week.

Fig. 5. Photomicrographs of histologic section from the sclerectomy site of group I ($\times 100$). Top left: postoperative 1 week, H-E stain. Bottom left: postoperative 1 week, Masson trichrome stain. Infiltration of inflammatory cells were seen. Top right: postoperative 2 week, H-E stain. Bottom right: postoperative 2 week, Masson trichrome stain. Fibroblasts and newly formed collagen were seen.

Fig. 6. Photomicrographs of histologic section from the sclerectomy site of group I ($\times 100$). Top left: postoperative 4 week, H-E stain. Bottom left: postoperative 4 week, Masson trichrome stain. Top right: postoperative 8 week, H-E stain. Bottom right: postoperative 8 week, Masson trichrome stain. Total replacement of the sclerectomy site by newly formed, regularly arranged collagen was seen at postoperative 4 and 8 week.

Fig. 7. Photomicrographs of histologic section from the sclerectomy site of group II ($\times 100$). Top left: postoperative 1 week, H-E stain. Bottom left: postoperative 1 week, Masson trichrome stain. The sclerectomy site was occluded by increased fibroblasts and newly formed collagen. Top right: postoperative 2 week, H-E stain. Bottom right: postoperative 2 week, Masson trichrome stain. The sclerectomy site was occluded by irregularly arranged collagen.

수술 후 1주의 여과창 부위에는 심한 염증세포의 침윤을 관찰할 수 있었으며 적혈구들과 혈관의 증식을 볼 수가 있었으며 섬유아세포와 새로운 교원섬유들이 여과창 부위를 막고 있었다(Fig. 7). 수술 후 2주에는 염증세포들이 조직구(histocyte)가 주종을 이루며 나타나서 수술 후 1주군 보다 염증이 오래된 것임을 알 수 있었으며 섬유아세포의 수가 증가되고 새로운 교원섬유가 많이 증식되어서 여과창 부위를 막고 있었으나 아직까지 교원섬유의 배열 방향은 일정하지 않고 서로 뒤엉켜 있는 양상을 나타내고 있었다(Fig. 7). 수술 후 4주에는 염증세포들이 많이 줄어들고 있었으며 여과창 부위는 섬유아세포와 교원섬유로 완전히 막혀 있으나 수술 후 2주보다는 교원섬유가 비교적 일정하게 배열되어 있었다(Fig. 8). 수술 후 8주에는 대조군의 수술 후 8주와 비슷한 양상을 보였다(Fig. 8).

Fig. 8. Photomicrographs of histologic section from the sclerectomy site of group II ($\times 100$). Top left: postoperative 4 week, H-E stain. Bottom left: postoperative 4 week, Masson trichrome stain. Top right: postoperative 8 week, H-E stain. Bottom right: postoperative 8 week, Masson trichrome stain. Total replacement of the sclerectomy site by newly formed, regularly arranged collagen was seen at postoperative 4 and 8 week.

라. 제3실험군

수술 후 1주에는 염증세포의 침윤이 나타나고 혈관이 약간 증가되는 양상을 보이나 섬유아세포의 증식은 별로 관찰되지 않고 있었으며(Fig. 9), 수술

후 2주에는 염증세포의 침윤이 약간 증가된 양상을 보이나 혈관의 증식은 나타나지 않고 있으며 섬유아

Fig. 9. Photomicrographs of histologic section from the sclerectomy site of group III ($\times 100$). Top left : postoperative 1 week, H-E stain. Bottom left : postoperative 1 week, Masson trichrome stain. Infiltration of inflammatory cells were seen. Top right : postoperative 2 week, H-E stain. Bottom right : postoperative 2 week, Masson trichrome stain. Fibroblasts and newly formed collagen were seen.

세포가 군데군데 관찰이 되며 미세한 신생 교원섬유가 나타나고 있어서 투여한 항대사제로 인하여서 대조군의 수술 후 2주때보다 창상치유가 늦어짐을 알 수 있었다(Fig. 9). 이에 반하여서 수술 후 4주와 8주에는 대조군의 경우와 비슷하게 섬유아세포와 교원섬유가 나타나서 여과창 부위를 막고 있었다(Fig. 10).

4. 수술부위의 전자현미경 소견

가. 대조군

수술 후 2주의 수술 부위는 조면내형질세망(rough endoplasmic reticulum)의 현저한 확장을 보이며 수조(cisternae) 속에는 중등도의 전자밀도를 가진 섬유양물질(fibrillar material)들이 차 있으며 세포질의 주변부에는 미세사상체(microfilament)가 묽음을 이루며 나타나고 밀집체(dense body)가 빈번히 관찰되는 특징적인 근섬유아세포가 관찰되었다(Fig. 11). 수술 후 4주에는 조면내형질세망의 확장이 있으며 근섬유 아세포 사이의 교원섬유들이 현저히 증가되어 있으며 수술 후 2주에 비하여 비교적 교원섬유의 배열이 일정한 형태를 취하고

Fig. 10. Photomicrographs of histologic section from the sclerectomy site of group III ($\times 100$). Top left : postoperative 4 week, Masson trichrome stain. Top right : postoperative 8 week, H-E stain. Bottom right : postoperative 8 week, Masson trichrome stain. Total replacement of the sclerectomy site by newly formed, regularly arranged collagen was seen at postoperative 4 and 8 week.

있었다(Fig. 11).

나. 제1실험군

수술 후 2주에는 조면내형질세망의 중등도 확장과 수조속에 섬유양물질이 차있고 세포질의 주변부에는 미세사상체들과 밀집체가 가끔 출현하여 근섬유아세포로 변화되는 형태를 보였다(Fig. 12). 수술 후 4주에는 조면내형질세망의 확장이 현저한 특징적인 근섬유아세포가 관찰되었다(Fig. 12).

다. 제2실험군

수술 후 2주에는 대조군의 경우와 비슷하게 조면내형질세망의 확장과 섬유양 물질들이 수조내에 차 있는 양상을 보이며 많은 미세사상체와 밀집체가 나타나는 특징적인 근섬유아세포들이 전반적으로 나타났다(Fig. 13). 수술 후 4주에는 근섬유아세포질내의 미세사상체가 더욱 굵어지는 양상을 보였다(Fig. 13).

라. 제3실험군

수술 후 2주에는 중등도의 조면내형질세망의 확장을 보이며 세포질내에 미세사상체가 나타나고 밀집

Fig. 11. Myofibroblast of control group. Top : postoperative 2 week, Bottom : postoperative 4 week, Increased numbers of dilated rough endoplasmic reticulum(RER) and fibrillar materials pooled in the cisternae of RER were noted. Bundles of microfilaments (small arrows) and dense bodies (large arrows) were in the peripheral cytoplasm. M : mitochondria, N : nucleus. ($\times 18,000$)

Fig. 12. Fibroblast of group. I postoperative 2 week (top). Slightly dilated RER and some microfilaments and dense bodies were noted. Myofibroblast of group I postoperative 4 week (bottom). RER was markedly dilated. Microfilaments (small arrows) and thick dense bodies (large arrows) were diffusely distributed in cytoplasm. M : mitochondria, N : nucleus. ($\times 18,000$)

체가 다소 출현하여서 어느 정도 근섬유아세포의 양상을 나타내기 시작하였으나 대조군의 수술 후 2주에서와 같이 활성을 띤 세포들로 이루어지지 않는 세포의 활성화가 지연되고 있음을 알 수 있다 (Fig. 14). 수술 후 4주의 수술 부위는 조면내형질 세포의 확장이 있으며 미세사상체와 밀집체가 세포질의 주변부에서 관찰되며 교원섬유들이 증가되어 있으나 교원섬유들의 배열이 대조군 수술 후 4주에 비해서 불규칙한 형태를 취하고 있었다 (Fig. 14).

5. 부작용

Cytarabine이 눈에 부작용을 일으키는지 알아보기 위하여 수술 후 10일간 매일 세극등 검사를 시행한 결과 대조군에서는 4안에서 결막하출혈을 보였으며 제1실험군에서는 2안에서 결막하출혈과 1안에서 각막미란이 발생했으며, 제2실험군에서는 별다른 부작용이 없었으며 제3실험군에서는 1안에서 결막하출혈이 발생하였다 (Table 1). 또한 cytarabine이 전신적인 부작용을 일으키는지 알아보기 위하여 수술

Fig. 13. Myofibroblast of group II. Top : postoperative 2 week, Bottom : postoperative 4 week. Increased numbers of dilated rough endoplasmic reticulum(RER) and fibrillar materials pooled in the cisternae of RER were noted. Bundles of microfilaments (small arrows) and dense bodies (large arrows) were in the peripheral cytoplasm. M : mitochondria, N : nucleus. ($\times 22,500$)

Fig. 14. Fibroblast of group III postoperative 2 week (top). Slightly dilated RER and some microfilaments and dense bodies were noted. Myofibroblast of group III postoperative 4 week (bottom). RER was markedly dilated. Microfilaments (small arrows) and thick dense bodies (large arrows) were diffusely distributed in cytoplasm. M : mitochondria, N : nucleus. ($\times 22,500$)

후 4주에 각군에서 1마리씩 선택하여서 간장과 골수를 적출하여 대조군과 실험군을 비교한 결과 간장세포의 파괴나 골수에 대한 억제작용은 나타나지 않아 별다른 차이가 없음을 알 수 있었다(Fig. 15, 16).

고 찰

녹내장 여과수술의 목적은 방수가 빠져나가는 새로운 통로를 형성하여 이를 통해 방수를 계속적으로

여과시킴으로써 안압을 낮추어서 시신경의 손상을 방지하는데 있다. 근래에는 미세수술 기법의 발달로 인하여 80~90%의 성공률을 보이는 것으로 알려지고 있으나⁴²⁾ 무수정체안, 신생혈관녹내장, 이전에 눈수술을 받았던 경우, 흑인이나 젊은 연령층에서는 성공률이 낮은 것으로 알려지고 있다. 여과수술의 실패 원인을 Maumenee⁴³⁾는 혈액이나 섬유소등이 여과창을 막거나 안내조직이 끼어드는 등의 안내요인, 수술부위 선정의 잘못이나 부적절한 수술창 등

Table 1. Ocular complications(No. of eyes)

	Control	Group I	Group II	Group III
Subconjunctival hemorrhage	4	2	-	1
Corneal erosion	-	1	-	-

Control : Subconjunctival injections of normal saline was given daily for 7 days after surgery

Group I : Subconjunctival injections of cytarabine 2.5mg was given daily for 7days after surgery

Group II : Subconjunctival injections of cytarabine 2.5mg was given immediately and 3 days after surgery

Group III : Subconjunctival injections of multivesicular liposome-encapsulated cytarabine containing 2.5mg of cytarabine was given immediately and 3 days after surgery

Fig. 15. Photomicrographs of histologic section from the liver of each group postoperative 4 week (H-E stain, $\times 100$). Top left : control group, Bottom left : group I, Top right : group II, Bottom right : group III. No evidence of hepatocellular toxicity was found.

Fig. 16. Photomicrographs of histologic section from the bone marrow of each group postoperative 4 week (Wright-Giemsa stain, $\times 100$). Top left : control group, Bottom left : group I, Top right : group II, Bottom right : group III. No evidence of bone marrow depression was found.

에 의한 공막요인 그리고 수술부위에 형성되는 반흔에 의한 외안부 요인으로 분류하였으며 이중에 외안부요인이 제일 주된 실패원인이라 하였다. 여과수술에 실패한 경우의 안구를 조직병리학적으로 관찰한 결과 수술부위에서 활성화된 섬유아세포가 증식하고 교원질이 침착하고⁴⁴⁻⁴⁸⁾, 변형된 수축성 섬유아세포가 창상의 수축을 일으켜서⁴⁹⁾ 방수의 유출 경로가 차

단되기 때문이라 하였다. 변형된 수축성 섬유아세포를 근섬유아세포라고 하며⁵⁰⁾, 이 세포를 전자현미경으로 본 구조적인 특징은 첫째로 세포질내에 미세사상체(microfilament)가 많이 있으며 이들이 합쳐져서 묶음(bundle)을 형성하고 묶음내에는 밀집체(dense body)가 존재한다. 둘째로 핵은 세포의 수축에 의한 함입과 주름을 보이며 한개 또는 몇 개의 핵소체를 갖고 있다. 셋째로 세포표면이 분화되어 접착반(macula adherens)이나 간극결합(gap junction)으로 세포간의 연결이 빈번한 것으로 알려지고 있다⁵¹⁻⁵³⁾. 실험동물에서 녹내장 여과수술 후의 창상치유를 관찰한 보고에 의하면 대부분이 7~14일 정도면 섬유아세포가 증식하여서 수술 부위를 막아서 수술이 실패된다고 하는데 저자의 실험에서도 가토안에 녹내장 여과수술 후에 생리식염수를 결막하주사한 경우(대조군)에는 수술 후 1주일만에 수술 부위가 섬유아세포의 증식으로 인하여 막혀 있음을 알 수 있었다. 최근에는 섬유아세포의 증식을 억제하는 항대사제를 녹내장 여과수술 후에 결막하 주사하여서 수술의 성공률을 높이려는 연구가 진행되고 있으며 이들중에 대표적인 약물이 5-FU이다. 5-FU는 pyrimidine analogue로서 세포분열주기의 합성기에 선택적으로 작용하여 thymidylate synthetase의 작용을 억제함으로써 DNA의 합성을 못하게 하는 약제이다^{35, 54-56)}. Gressel 등⁵⁷⁾이 처음으

로 동물에서 후공막절제술 후에 5-FU를 결막하주사하여 사용을 시도한 이래 여러사람들에 의해서 수술의 성공률을 높일 수는 있었다고 하나 부작용으로 각막상피손상, 결막창상누출, 상맥락막출혈등이 발생했다고 하였다. 또한 수술 후 처음 일주일간은 매일 두번씩, 그 다음 일주일엔 매일 한번씩 결막하주사해야 하기 때문에 잦은 결막하주사에 따른 환자의 불편함과 고통이 문제가 되고 있다. 따라서 적은 용량으로도 섬유아세포에 대해서 강력한 증식억제력을 나타내는 새로운 약제와 또한 이들을 보다 안전하고 그러면서도 투여 횟수를 줄일 수 있는 새로운 운반체계가 필요하게 되었다. Cytarabine은 화학명이 1-β-L-arabinofuranosyl cytosine인 2'-deoxycytidine 유도체인 약물로서 임상에서는 백혈병과 임파종의 치료에 주로 사용되는데, 체내에서 인산화(phosphorylation)에 의해 활성화되어 rabinosylcytosine triphosphate로 되어서 정상기질인 deoxycytidine triphosphate와 경쟁적으로 DNA에 결합하여 정상적인 DNA의 나선형 회전을 불가능하게 하여서 세포에 독작용을 나타내는 것으로 알려지고 있으며, 그 활성화 과정이 매우 빨라서 투여 즉시 효과가 나타나며, 주로 간장에서 cytarabine deaminase에 의해서 빠르게 대사되어서 비활성 물질인 uridine arabinoside로 되는데 cytarabine deaminase는 간장을 제외하고는 콩팥, 소화기점막, 과립구등에서만 소량이 있고 다른 조직 특히 안조직에는 거의 없기 때문에 안조직에 투여할 경우에는 대사되는 속도가 느려서 적은 용량만 투여하여도 좋은 효과를 볼 수 있다고 한다. 또한 cytarabine은 토끼의 결막섬유아세포의 배양실험에서 5-FU보다 10~20배의 강력한 세포성장억제력을 보인다고 보고 되고 있으며 Lee 등⁴¹⁾은 사람의 Tenon낭 섬유아세포에 대해 5-FU보다 빠르고 직접적이며 강력한 세포성장억제력을 보이기 때문에 녹내장 여과수술 후에 쓸 수 있는 좋은 약물이라고 하였다.

Liposome은 중앙의 액체핵을 주변의 지질이 이중막성 구조로 둘러싼 형태의 지질소포체로서 형태에 따라서 중앙의 액체핵을 지질막이 한겹으로 둘러싼 형태의 unilamellar liposome, 액체핵과 지질막이 동심원을 이루면서 번갈아 있는 형태의

multilamellar liposome, 액체핵과 액체핵의 경계는 지질막으로 되어 있으며 전체적으로 다시 지질막이 둘러싼 형태의 multivesicular liposome이 있다. 이들은 주변의 지질막이 생체내에서 천천히 파괴된 후에야 액체핵이 밖으로 배출되기 때문에 액체핵을 약물로한 liposome을 제조하여 생체내에 주사하면 약물이 오랜 시간 생체내에 남아 있기 때문에 약물의 주사 횟수를 줄일 수 있으며 이에 따라서 조직이 약물의 높은 농도에 노출되는 횟수가 적어져서 조직의 손상을 줄여줄 수 있게 된다. Multivesicular liposome은 특징은 다른 liposome에 비해서 단위 용적당 많은 양의 약물을 포장할 수 있으며, 물이 배출되려면 많은 지질막을 지나야 하며, 크기가 커서 광학현미경으로도 관찰이 가능하며 주사부위에 국소적으로 남아 있다. 또한 multivesicular liposome은 지질막이 안정되어 있어서 변형 능력이 탁월하고 이에 따라서 구경이 작은 주사침을 사용해도 liposome이 파괴되지 않으며, liposome 자체가 임파계나 다른 배출구를 막아서 유리약물의 제거를 지연시키는 장점이 있다고 알려지고 있다^{28,32,58-62)}. Assil 및 Weinreb⁶³⁾은 강력한 항대사제인 cytarabine을 중앙의 핵으로 한 multivesicular liposome을 제조한 결과 50%이상의 약물이 multivesicular liposome에 포장되었으며 이를 가토안에 결막하주사한 후에 약물역동을 알아보니 반감기는 52.5시간이며 주사후 72시간이 지나면 결막 및 상공막조직에 30%의 약물이 남아 있었다고 하였다. Cytarabine을 직접 결막하주사한 경우에는 약물의 조직내 반감기가 0.2시간이므로 녹내장 여과수술후에 multivesicular liposome 포장 cytarabine을 주사하면 약물의 조직내 반감기가 훨씬 길어져서 결막하주사의 횟수를 줄일 수 있으리라고 하였다.

본 실험에서 저자는 cytarabine을 핵으로하는 multivesicular liposome을 제조한 후에 광학현미경으로 관찰하여서 액체핵의 경계가 지질막으로 되어 있으며 전체적으로 지질막이 다시 둘러싼 형태를 하고 있는 마치 포도송이 모양의 multivesicular liposome을 확인할 수 있었으며 포장률은 50%이었음을 알 수 있었다. 본 실험에서 cytarabine 2.5mg을 가토안에서 녹내장 여과수술 후에 매일 1회씩 7

일간 결막하주사한 경우(제1실험군)에 수술 후 2주까지는 광학현미경 관찰에서 보면 수술 부위에 섬유아세포의 증식이 억제되어서 수술 부위가 막히지 않았음을 알 수 있었으며 이로 인하여서 안압하강이 있었던 것으로 생각된다. 전자현미경 관찰에서는 수술 후 2주에서도 아직까지 섬유아세포가 특징적인 근섬유아세포로의 변형을 나타내지 않아서 섬유아세포의 활성도가 cytarabine에 의해서 지연되어 있음을 알 수 있었다. 이는 결막하주사한 cytarabine이 섬유아세포의 증식을 억제했기 때문이라 생각이 된다. 그러나 cytarabine 2.5mg을 가토안에서 녹내장 여과수술 직후와 수술 후 3일째에 결막하 주사한 경우(제2실험군)에는 결막하주사 후 하루만 지나면 cytarabine이 대사가 되어 조직내에는 거의 남아있지 않아서 수술 후 1주만에 수술 부위에 섬유아세포가 증식되어서 수술 부위가 막혔음을 알 수 있었고 이로 인하여 안압이 수술전의 수준으로 다시 올랐던 것으로 생각이 된다. 전자현미경관찰에서 수술 후 2주에 특징적인 근섬유아세포의 출현이 많은 것으로 보아서 섬유아세포의 활성도가 왕성한 것임을 알 수 있었다. 이에 반해서 multivesicular liposome 포장 cytarabine(cytarabine 2.5mg포함)을 가토안에서 녹내장 여과수술 직후와 수술 후 3일째에 결막하 주사한 경우(제3실험군)에는 수술 후 2주까지 섬유아세포의 증식을 억제하였으며 안압의 하강도 유의하였으며 전자현미경적 관찰에서 섬유아세포의 활성도가 지연되어 있었다. 임과 김⁶⁴⁾은 liposome이 가토의 조직에 미치는 실험을 시행하여서 약물이 들어있지 않은 빈 liposome을 투여한 경우에는 조직에 아무런 손상을 주지 않아서 liposome을 제조하는데 들어간 lipid가 조직에는 아무런 영향을 미치지 않는다 하였다. 따라서 제3실험군에서는 cytarabine이 천천히 유리되어서 결막하주사 후 3일이 지나서도 조직내에 cytarabine이 남아 있어서 섬유아세포의 증식을 억제한 것으로 생각이 된다. 또한 각 실험군에서 눈에 나타난 부작용을 관찰한 결과 결막하주사 횡수가 적을수록 부작용이 적에 나타나는 경향을 보였으며 cytarabine에 의한 간장이나 골수에 대한 부작용은 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 보아서 multivesicular liposome 포장 cytarabine을 녹내장 여과수술 후에 결막하주사하면 창상치유

를 지연시키고 결막하주사 횡수를 줄이며 부작용을 줄이는 것을 알 수 있었고 아울러서 multivesicular liposome이 항대사제의 운반체제로 좋은 방법임을 알 수 있었다. 그러나 본 실험은 정상가토를 대상으로 실험을 하였기에 이전에 수술을 받아서 결막이 정상이 아니거나 무수정체안인 경우등에서는 결과가 다르게 나타날 수도 있으리라 생각이 되며 향후 이에 대한 연구가 필요하리라 생각된다.

REFERENCES

- 1) Kronfeld PC : *The mechanism of filtering operations. Trans Pacific Coast Oto-Ophthalmol Soc* 30 : 38-45, 1952.
- 2) Teng CC, Chi HH, Katzin HM : *Histology and mechanism of filtering operations. Am J Ophthalmol* 47 : 16-24, 1959.
- 3) Addicks EM, Quigley HA, Green WR, Robin AL : *Histologic characteristics of blebs in glaucomatous eyes. Arch Ophthalmol* 101 : 795-798, 1983.
- 4) Herschler J : *Medically uncontrolled glaucoma in the aphakic eye. Ann Ophthalmol* 13 : 909-913, 1981.
- 5) Heuer DK, Gressel MG, Parrish RK II, Anderson DR, Hodapp E, Palmberg PF : *Trabeculectomy in aphakic eyes. Ophthalmology* 91 : 1045-1051, 1984.
- 6) Parrish R, Herschler J : *Eye with end stage neovascular glaucoma ; natural history and following successful modified filtering operation. Arch Ophthalmol* 101, 745-746, 1983.
- 7) Heuer DK, Parrish RK II, Gressel MG, Hodapp E, Desjardins DC, Skuta GL, Palmberg PF, Nevarez JA, Rockwood EJ : *5-fluorouracil and glaucoma filtering surgery : III. Intermediate follow-up of a pilot study. Ophthalmology* 93 : 1537-1546, 1986.
- 8) Schwartz PL, Anderson DR : *Trabecular surgery. Arch Ophthalmol* 92 : 134-138, 1974.
- 9) Inabe Z : *Long-term results of trabeculectomy in the Japanese : an analysis by life-table method.*

- Jpn J Ophthalmol* 26 : 361-373, 1982.
- 10) Meritt JC : *Filtering procedures in American blacks. Ophthalmic surg* 11 : 91-94, 1980.
 - 11) Miller RD, Barber JC : *Trabeculectomy in black patients. Ophthalmic Surg* 12 : 46-50, 1981.
 - 12) Beauchamp GR, Parks MM : *Filtering surgery in children : Barriers to success. Ophthalmology* 86 : 170-180, 1979.
 - 13) Cadera W, Pachtman MA, Cantor LB, Ellis FD, helveston EM : *Filtering surgery in childhood glaucoma. Ophthalmic Surg* 15 : 319-322, 1984.
 - 14) Skuta GL, Parrish RK II : *Wound healing in glaucoma filtering surgery. Survey Ophthalmol* 32 : 149-170, 1987.
 - 15) Uitto J, Tan EML, Ryhanen L : *Inhibition of collagen accumulation in fibrotic process : Review of pharmacological agents and new approaches with amino acids and their analogues. J Invest Dermatol* 79 : 113-120, 1982.
 - 16) Giangiacomo J, Adelstein EH, Dueker DK, : *The effect of preoperative subconjunctival triamcinolone on glaucoma filtration. Invest Ophthalmol Vis Sci* 26(suppl) : 126, 1984.
 - 17) Striata RJ, Spaeth GL, Poryzees EM, Greenidge KC, Traverso CE : *Short and long term effects of postoperative corticosteroids on trabeculectomy. Ophthalmology* 92 : 938-945, 1985.
 - 18) Giangiacomo J, Dueker DK, Adelstein E : *The effect of preoperative subconjunctival triamcinolone administration on glaucoma filtration. I. Trabeculectomy following subconjunctival triamcinolone. Arch Ophthalmol* 104 : 838-841, 1986.
 - 19) McGuigan LJB, Quigley HA, Young E, Luttly GA : *Drug effects on proliferation and collagen synthesis of conjunctival fibroblasts. Invest Ophthalmol Vis Sci (Suppl)* 26 : 125, 1985.
 - 20) Moorhead LC, Smith J, Steward R, Kimbrough R : *The effect of beta-aminopropionitrile after glaucoma filtration surgery : pilot human study. Ann Ophthalmol* 19 : 223-225, 1987.
 - 21) Heath TD, Lopez NG, Lewis GP, Stern WH : *Fluoropyrimidine treatment of ocular cicatrical disease. Invest Ophthalmol Vis Sci* 27 : 940-945, 1986.
 - 22) Kay JS, Fryczkowski AW, Litin BS, Chvapil M, Jones MA, Herschler J : *Delivery of antifibroblast agents as adjuncts to filtration surgery. Part I. Delivery of 5-fluorouracil and bleomycin in a collagen implant : pilot study in the rabbit. Ophthalmic Surg* 17 : 796-801, 1986.
 - 23) Knapp A, Heuer DK, Stern G, Driebe WT : *Serious corneal complications of glaucoma filtering surgery with postoperative 5-fluorouracil. Am J Ophthalmol* 103 : 183-187, 1987.
 - 24) Rockwood EJ, Parrish RK, Heuer DK, Skuta GL, Hodapp E, Pamberg PF, Gressel MG, Feuer W : *Glaucoma filtering surgery with 5-fluorouracil. Ophthalmol* 94 : 1071-1078, 1987.
 - 25) Ruderman JM, Welch DB, Smith MF, Shoch DE : *A randomized study of 5-fluorouracil and filtration surgery. Am J Ophthalmol* 104 : 218-224, 1987.
 - 26) Szoka F, Papahadjopoulos : *Comparative properties and methods of preparation of lipid vesicles(liposomes). Ann Rev Biophys Bioeng* 9 : 467-508, 1980.
 - 27) Barza M, Stuart M, Szoka F : *Effect of size and lipid composition on the pharmacokinetics of intravitreal liposomes. Invest Ophthalmol Vis Sci* 28 : 893-900, 1987.
 - 28) Smolin G, Okumoto M, Feiler S, Condon D : *Idoxuridine-liposome therapy for Herpes simplex keratitis. Am J Ophthalmol* 91 : 220-225, 1981.
 - 29) Juliano RL, Tamp D : *Pharmacokinetics of liposome encapsulated anti-tumor drugs. Biochem Pharmacol* 27 : 21-27, 1978.
 - 30) Morgan JR, Williams KE : *Preparation and properties of liposome-associated gentamicin. Antimicrob Agents Chemother* 17 : 544-548, 1980.
 - 31) Skuta GL, Assil K, Parrish RK II, Folberg R, Weinreb R : *Filtering surgery in owl monkey treated with the antimetabolite 5-fluorouridine 5'-monophosphate entrapped in multivesicular*

- liposome*. : *Am J Ophthalmol* 103 : 714-716, 1987.
- 32) Kim SI, Turker MS, Chi EY, Sela S, Martin GM : *Preparation of multivesicular liposomes*. *Biochimica et Biophysica Acta* 728 : 339-348, 1983.
- 33) Charbner BA : *Cytosine arabinoside*. In Chabner BA, ed. *Pharmacologic principles of cancer treatment*. Philadelphia, WB Saunders, 1982a, pp 387-399.
- 34) Calabresi P, Charbner BA : *Antineoplastic agents*. In Gilmann AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, eds. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. New York, Pergamon Press, 1990, pp 1209-1263.
- 35) Fiscella R, elvart J, Peyman Ga, Yue B : *In vitro evaluation of cellular inhibitory potential of various antineoplastic drugs and dexamethasone*. *Ophthalmic Surg* 16 : 247~249, 1985.
- 36) Kim S, Hajek AS, Parrish RK II : *Fluorouracil (5-FU) and cytarabine (Ara -C) inhibition of corneal epithelial cell and conjunctival fibroblast proliferation*. *Arch Ophthalmol* 103 : 1398-1402, 1985.
- 37) Litin BS, Jones MA, Kwong EM, Herschler J : *Effect of antineoplastic drugs on cell proliferation : Individually and in combination*. *Ophthalmic Surg* 16 : 34-39, 1985.
- 38) 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* 103 : 1398-1402, 1985.
- 39) Hajek AS, Parrish RK, Mallick KS, Gressel M : *In vitro inhibition of ocular cell proliferation with Ara-C : Blockage of the antiproliferative effect with 2'-deoxycytidine*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27 : 1010-1012, 1986.
- 40) Lee DA, Shapourifar-Tehrani S, Kitada S : *The effect of 5-fluorouracil and cytarabine on human fibroblasts from Tenon's capsule*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31 : 1848-1855, 1990.
- 41) Kolker AE, Hetherington J Jr : *Surgery to relieve outflow block : external filtering procedure*. In Hoskins HD Jr, Kass MA, eds, *Becker-Shaffer's Diagnosis and Therapy of the Glaucomas*, St Louis, CV Mosby, 1989, pp 559-560.
- 42) Maumenee AE : *External filtering operation for glaucoma : the mechanism of function and failure*. *Trans Am Ophth Soc* 58 : 319-328, 1960.
- 43) Cohen JS, Shaffer RN, Hetherington J Jr, Hoskins D : *Revision of filtration surgery*. *Arch Ophthalmol* 95 : 1612-1618, 1977.
- 44) Peiffer RL, Lipper S, Merritt JC, Wright W, Jones B : *Myofibroblasts in the healing of filtering wounds in rabbit, dog and cat*. *Glaucoma* 277-280, 1981.
- 45) Van Buskirk EM : *Cysts of Tenon's capsule following filtration surgery*. *Am J Ophthalmol* 94 : 522-527, 1982.
- 46) Desjardins DC, Parrish RK II, Folberg R, Nevarez J, Heuer DK, Gressel MG : *Wound healing after filtering surgery in owl monkeys*. *Arch Ophthalmol* 104 : 1835-1839, 1986.
- 47) Jampel H, McGuigan L, Pepos JS, Quigley H : *Biology of experimental glaucoma filtering surgery failure*. *Invest Ophthalmol Vis Sci (Suppl)* 28 : 378, 1987.
- 48) Reddick R, Merritt JC, Ross G, Avery A, Peiffer RL : *Myofibroblasts in filtration operations*. *Ann Ophthalmol* 17 : 200-203, 1985.
- 49) Ryan GB, Cliff WJ, Gabbiani G, Irle C, Montandon D, Statkov PR, Majno G : *Myofibroblasts in human granulation tissue*. *Human Pathol* 5 : 55-67, 1974.
- 50) Gabbiani G, Hirschel BJ, Ryan GB, Statkov PR, Majno G : *Granulation tissue as a contractile organ*. *J Exp Med* 135 : 719-734, 1972.
- 51) Rudolph R, Guber S, Suzuki M, Woodward M : *The life cycle of the myofibroblast*. *Surg Gynecol Obstet* 145 : 389-394, 1977.
- 52) Seemayer TA, Lagace R, Schurch W, Thelmo WL : *The myofibroblast : biologic, pathologic and theoretical considerations*. *Pathol Ann* 15 :

- 443-470, 1980.
- 53) Heidelberger C : Fluorinated pyrimidine and their nucleosides. In Sartorelli AC, Johns DG, eds. *Handbook of experimental pharmacology*, Vol 38. New York, Springer-Verlag, 1975, pp 193-231.
- 54) Evans RM, Laskin JD, Hakala MT ; *Assessment of growth-limiting events caused by 5-fluorouracil in mouse cells and in human cells. Cancer Res* 40 ; 4113-4122, 1980.
- 55) Chabner BA : *Pyrimidine antagonists*. In Chabner BA, ed. *Pharmacologic principles of cancer treatment*. Philadelphia, WB Saunders, 1982b, pp 183-209.
- 56) Gressel MG, Parrish RK I, Folberg R : *5-Fluorouracil and glaucoma filtering surgery : I. An animal model. Ophthalmology* 91 : 378-383, 1984.
- 57) Fitzgerald P, Hadgraft J, Wilson CG : *A gamma scintigraphic evaluation of the precorneal residence of liposomal formulation in the rabbit. J Pharmacol* 39 : 487-490, 1987.
- 58) Kim S, Kim D, Howell S : *Modulation of the peritoneal clearance of liposome cytosine arabinoside by blank liposomes. Cancer Chemother Pharmacol* 19 : 307-311, 1987.
- 59) Assil KK, Pharm JL, Weinreb RN : *Sustained release of the antimetabolite 5-fluorouridine-5'-mono phosphate by multivesicular liposome. Ophthalmic surg* 19 : 408-413, 1988.
- 60) Gariano R, Assil K, Svendsen P, Munguia D, Lynn G, Heckenlively J, Weinreb R, Freeman W : *Retinal toxicity of intravitreal injection of FUMP using multivesicular liposomes. Invest Ophthalmol Vis Sci* 31(Suppl). 306, 1990.
- 61) Assil KK, Hartzler M, Weinreb RN, Nehorayan M, Ward T, Blumenkranz M : *Liposome suppression of proliferative vitreoretinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci* 32 : 2891-2897, 1991.
- 62) Assil KK, Weinreb RN : *Multivesicular liposome sustained release of the antimetabolite cytarabine in the eye. Arch Ophthalmol* 105 : 400-404, 1987.
- 63) 임승정, 김홍복 : Liposome-포장 tobramycin이 정상가로 망막손상에 미치는 효과 : 대한안과학회지 33 : 356-374, 1992.