

뉴질랜드 흰 토끼의 각막 두께, 내피세포 및 안압에 관한 조사

장화석** · 이대엽 · 강은희 · 이재훈 · 조양경* · 김만수** · 김휘율¹

건국대학교 수의과대학, *가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원, **가톨릭대학교 의과대학 서울성모병원

(게재승인: 2010년 2월 9일)

Survey of Corneal Thickness, Endothelial Cell and Intraocular Pressure in New Zealand White Rabbits

Hwa-Seok Chang**, Dae-Yeoup Lee, Eun-Hee Kang, Jae-Hoon Lee,
Yang-Kyeong Cho*, Man-Soo Kim** and Hwi-Yool Kim¹

Department of Veterinary Surgery, College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul, 143-701, Korea

* Department of Ophthalmology, St. Vincent's Hospital, College of Medicine,
The Catholic University of Korea, Suwon, 442-723, Korea

** Department of Ophthalmology, Seoul St. Mary's Hospital, College of Medicine,
The Catholic University of Korea, Seoul, 137-040, Korea

Abstract : Rabbit's cornea is the most common thing that used for researches in ophthalmology, so many experiments have done. The purpose of this study was to survey the corneal pachymetry, tonometry and specular microscopy in New Zealand white rabbits. Three months old male rabbits (2.9 ± 0.2 kg) were examined with contact the specular microscope to evaluate the endothelial cell density, coefficient of variation and the percentage of hexagonal cells in the central cornea. For the pachymetry, ultrasonic pachymeter was used for central cornea in each twenty rabbits, and tonometry was performed forty rabbit's eyes to evaluate the intraocular pressure. Corneal endothelial cell density in New Zealand white rabbit was 3304 ± 354 cell/mm². Coefficient of variation was 45.8 ± 2 and the percentage of hexagonal cells in the central cornea was $44.4 \pm 11\%$. The pachymetry of cornea was 346.1 ± 21 μ m and tonometry of eye was 14.3 ± 2 mmHg. It is considered that normal New Zealand white rabbit's pachymetry, specular microscopy and tonometry were useful basic data of rabbit's cornea for research and clinic in veterinary ophthalmology.

Key words : New Zealand white rabbit, pachymetry, specular microscopy, tonometry.

서 론

토끼는 여러 가지 실험 분야의 많은 연구에서 사용되고 있으며, 특히 안과 계통의 연구에서 사용 빈도가 많다. 안과 계통에서 각결막 질환의 연구, 안약의 약리, 그리고 독성 효과 등 다방면에서 활발한 연구가 진행되고 있다(12,13,16).

수의 임상에서 각막 두께의 측정은 각막의 상태나 질환의 진단을 파악하는데 중요한 자료로 지시될 뿐 아니라, 최근에 널리 행해지고 있는 각막 케양에 관한 외과적 처치나 백내장 수술의 전검사로도 아주 유용하게 사용되고 있다(17). 또한, 수의 안과 임상 및 연구에 있어서 각막의 내피 형태나 펌프 기능, 투과성의 특성 등을 측정하는 것은 상당히 중요한 부분이다. 그리고 안압의 측정은 가장 기본적인 안과 검사 중

의 하나로서, 질병의 진단 및 예후 그리고 치료에 큰 도움을 준다(8). 그러나 실제적으로 토끼의 각막에 관한 기본적인 통계 조사는 그렇게 많은 보고가 없을 뿐 아니라, 정상 각막 내피 세포에 관한 조사 또한 그다지 충분하지 않다. 또한, 국내 수의 임상에서의 토끼의 안과적 질병에 관한 정상 토끼의 기본적인 연구 및 조사도 부족한 실정이다(7,23).

본 연구는 뉴질랜드산 흰 토끼의 정상 각막에 대한 두께와 각막 내피 세포의 밀도와 세포 면적의 변이계수, 그리고 육각형 세포의 비율에 대한 평균적인 조사와 정상 평균 안압의 측정을 통해 수의 임상 및 연구에 있어서 기준점을 마련하고자 함이다.

재료 및 방법

실험동물

안과적 질병이 없는 정상 3 개월령 뉴질랜드 흰 토끼 (2.9 ± 0.2 Kg) 수컷 20 마리를 중앙실험동물(주)에서 공급 받

¹Corresponding author.
E-mail : hykim@konkuk.ac.kr

아 일주일간의 순화 기간을 거쳐서 실험을 실시하였다.

각막의 두께 측정

모든 개체에 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine®, Alcon, USA)를 점안하여 국소 마취 시킨 후 40개의 뉴질랜드 흰 토끼의 눈에 ultrasonic corneal pachymeter (SP-3000®, tomey corporation, USA)를 이용하여 소독된 probe를 각막의 중심에 대고 각각의 눈에 10회 반복 측정하여 그 평균값을 구하였다.

안압 측정

접촉식 안압계인 Tonopen (TONO-PEN XL®, Mentor, USA)를 이용하여 토끼의 양안의 중심에서 각막에 접촉을 하여 1안당 5회간 측정하여 그 평균값을 기록하였다.

각막 내피 세포에 관한 조사

Thiopental sodium (Thionyl®, Daehan Pharm, Korea)의 과량 혈관 주사로 실험 동물을 희생시킨 뒤 각막 윤부에서 약 3 mm 정도 남겨 각막 중심부를 기준으로 하여 무균적으로 각막 가위를 이용하여 각막을 분리하였다. 각막 절편은 각막 보존 용액(Optizol®, Bausch & lomb, USA)에 즉시 넣어서 영상 4°C에서 보관하였다.

접촉 현미경의 조명계와 촬영계 쪽으로 각막 절편이 담긴 전용 용기를 장착한 후 각막 내피세포를 접촉식 경면 현미경 (EYE BANK KERATOANALYZER®, Konan, Japan)으로 측정하였으며 그 후 Pigatto 등(18)이 사용한 center method를 이용하여 세포 하나에 점을 찍고, 그 주변으로 6개의 점을 찍은 후 그 사이의 거리의 차이를 이용하여 각막내피세포의 밀도, 변이계수 그리고 육각형 비율을 구하였다(Fig 1).

결 과

정상 뉴질랜드 흰 토끼의 각막 중심부 평균 두께는 346.1±

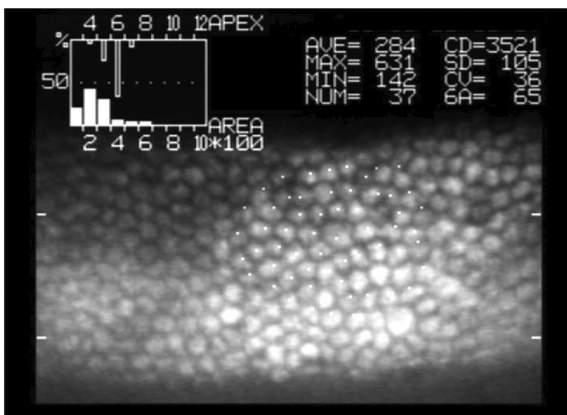


Fig 1. An example of examination of corneal endothelial cell morphology of New Zealand White Rabbit. Cell density (CD), coefficient variation (CV), hexagonality (6A), cell size (AVE) were measured by center method.

21.6 μm로. 좌안은 321.4~365.8 μm의 범위를 나타냈으며 중심부 평균 두께는 343.6±22.2 μm로 나타났다. 그리고 우안은 327.6~369.8 μm의 범위를 나타냈으며 중심부 평균두께는 348.7±21.1 μm로 나타났다(Table 1).

정상 뉴질랜드 흰 토끼의 접촉식 안압계를 이용하여 측정 한 평균 안압은 14.3±2 mmHg(Table 2)으로 측정이 되었다.

정상 뉴질랜드 흰 토끼의 각막 내피 세포의 수는 3304±354 cell/mm²개로 측정되었으며, 세포 면적에 대한 변이 계수는 45.8±2로 나타났다. 그리고 중심부 각막에 대한 세포의 육각형 비율은 44.4±11%로 측정되었다(Table 3).

본 연구에서 양안에 대한 각막 중심부 평균 두께, 안압의 차이, 내피 세포의 수와 세포 면적에 대한 변이 계수에 대한 통계학적인 유의성은 나타나지 않았다.

고 찰

토끼는 여러 가지 장점으로 인하여 실험 동물 중 가장 많이 사용되고 있는 동물들 중의 하나이다. 안과 실험에 있어서 성격의 유순함과 핸들링에 대한 편의성으로 많이 사용되며 눈의 관찰 또한 용이하다(13). 그러나 토끼에 있어서 기본적인 안구에 대한 조사는 많이 이루어져 있지 않는 실정이며 임상적으로 연관된 질병에 따른 조사도 많이 행해지고 있지 않다(23). 나이와 연관된 각막 중심부에서의 내피 세포에 대한 연구는 여러 포유류에서는 조사되었는데, 고양이, 원숭이, 그리고 사람에서 특히 잘 알려져 있다(14,20,21).

경면 현미경의 임상학적 적용은 안구내 술전 검사나 나이, 약물, 감염, 수술 등에 의한 각막 내피 세포의 변화와 상태를

Table 1. Central corneal thickness of New Zealand white rabbit by ultrasonic pachymeter (n = 20)

| Corneal Thickness (μm) | OD | OS |
|------------------------|--------------|--------------|
| | 348.7 ± 21.1 | 343.6 ± 22.2 |

OD: Right eye, OS: Left eye.

Table 2. Intraocular pressure by contact tonometer in New Zealand white rabbit (n = 20)

| IOP (mmHg) | OD | OS |
|------------|------------|----------|
| | 13.9 ± 2.5 | 14 ± 2.8 |

IOP: Intraocular pressure, OD: Right eye, OS: Left eye.

Table 3. Survey of corneal endothelial cell in New Zealand white rabbit by contact specular microscopy (n=20)

| | OD | OS |
|----------------------------|------------|------------|
| CD (cell/mm ²) | 3240 ± 454 | 3388 ± 335 |
| CV | 44 ± 2 | 47.5 ± 1 |
| Hexa (%) | 47.2 ± 9.1 | 42 ± 15.9 |

CD: Corneal endothelial cell density, CV: Coefficient of variation Hexa: Hexagonality of corneal endothelial cell, OD: Right eye, OS: Left eye.

언제든지 쉽게 알 수 있을 뿐 아니라 각막 내피 세포의 질병이나 손상을 다른 검사 이전에 쉽게 알 수 있다(5,11). 그러므로 안과적 질병 발생시 병의 예후를 판단하는데 상당한 도움이 되며, 치료의 효과를 빨리 알 수 있는 장점이 있다. 그러므로 경면 현미경을 이용한 각막의 내피 세포에 대한 평가는 안과 영역에 있어서 반드시 이루어져야 하는 평가 항목 중의 하나이다(15).

각막의 내피 세포는 각막 구조에서 육각형의 세포들이 모인 단층으로 구성되어 있다. 각막 내피 세포는 각막의 투명도 유지와 수분 공급에 중요한 역할을 한다(15,22). 그리하여 각막은 투명도를 유지하기 위해서는 여러 가지 요소가 필요하며, 특히 중요하게 여겨지는 것이 각막 내피 세포의 펌프 기능이다. 그러나 각막 내피 세포는 한번 손상되면 재생이 되지 않고, 결손 부위 주위의 내피 세포들이 이동, 재배열 및 확대에 의해 손상 부위가 치유되게 된다. 내피 세포의 특성은 생체 에서는 세포 분열은 거의 또는 전혀 하지 않으며, 나이에 따라 점차적인 세포의 탈락이 일어나고 탈락된 세포의 빈 공간은 그 주위 세포들이 이주(migration) 또는 확장이 된다는 점이다(14,22). 새로운 세포간 연결(junction)이 만들어지고 내피 세포의 기능을 회복하게 된다. 그러면서 원래의 내피 세포의 특징적인 모양인 육각형 형태가 여러 가지 형태로 변화하게 되고, 이렇게 형태가 변한 각막 내피 세포는 그 기능이 감소되었음을 짐작할 수 있다. 그러므로 각막 내피 세포의 형태학적 분석으로 연령의 증가나 안구 수술 또한 안 질환으로 인한 각막 내피 세포의 변화에 대한 정보를 알 수 있다(6,9,18). 이러한 기전으로 각막 내피 세포의 분석은 가장 필요한 부분으로 생각되어지나, 토끼에 있어서 각막 내피 세포에 대한 총체적인 분석은 거의 이루어지지 않았기 때문에 이 실험을 실시하였다. 정상 3개월령의 뉴질랜드 흰 토끼의 각막 내피 세포의 수는 $3304 \pm 354 \text{ cell/mm}^2$ 개로 나타났으며, 세포 면적에 대한 변이 계수는 45.8 ± 2 였으며 중심부 각막에 대한 세포의 육각형 비율은 $44.4 \pm 11\%$ 로 측정되었다. 앞으로 개체 수와 다른 토끼 품종에서의 비교 연구 결과가 이루어진다면 더 나은 기초 통계학적 자료가 되지 않을까 한다. 그러므로 향후 추가적인 토끼의 각막 내피 세포에 대한 분석이 필요하다. 또한 새로운 기술의 변화로 사람에서의 각막 단층 촬영(1)과 각막 자기 공명 영상(24)이 도입되어 각막의 내피 세포 이상의 수준으로 각막 실질과 데스메막(descemet's membrane)까지의 분석(3)이 가능해졌기에 동물들에 대한 적용 및 분석을 위한 후속적인 연구가 필요하며 비접촉식 경면현미경을 이용한다면 비 침습적인 방법이므로 수의 임상에서의 안과적 검사의 활용이 기대 된다.

각막 두께의 측정은 각막의 이상을 알아볼 수 있는 가장 유용한 진단 중의 하나이며 각막의 부종 및 원추 각막 등을 검사하는데 아주 유용하다. 비 침습적인 초음파를 이용하여 각막에 단시간 접촉으로 측정이 가능하다. 또한 초음파 각막 두께 측정법의 장점 중의 하나는 각막이 불투명하여 육안으로도 진단이 어려운 경우에도 각막 이상의 진행 여부를 빠르게 평가 할 수 있을 뿐 아니라, 녹내장 의심 환자에게도

무리 없이 검사를 실시할 수 있다(2,17). 또한 각막 변성 질환 및 이영양증 등에 대한 병증의 진행과 예후를 판단하는 것에서도 아주 유용할 것으로 사료된다. 본 실험에서 뉴질랜드 흰 토끼의 각막 중심부 평균 두께는 $346.1 \pm 21 \mu\text{m}$ 로 나타났는데, 이것은 다른 동물인 고양이와 원숭이와 비교했을 때, 상당히 각막의 두께가 작은 것을 알 수 있었다(4,20).

본 실험에서도 뉴질랜드 흰 토끼의 각막 두께의 측정은 국소 점안 마취제의 투여만으로도 다른 보조가 필요 없이 각막 두께의 측정이 가능하였다. 그러므로 토끼의 정상적 각막 두께의 측정은 향후 토끼의 세균성 각막염 등 안과 진료에 있어서 유용한 자료로 사용될 것으로 사료된다.

안압의 측정은 안구의 이상을 판단하는 가장 중요한 검사 중의 하나이다. 그러므로 많은 질병 및 연구에 있어서 안압 측정은 기본적으로 이루지고 있으며, 특히 녹내장이나 포도막염 등에서 치료 및 예후를 판단하기 위해 사용되고 있다(19). 뉴질랜드 토끼의 평균 안압은 $14.3 \pm 2 \text{ mmHg}$ 로 측정되었는데, 이 결과는 다른 동물들과 비교했을 때 큰 차이를 보이지 않았다(8,10). 이번에 실시한 접촉식 안압 측정법은 상당히 간소하고 비침습적이며 편리한 안압 측정 방법 중의 하나이다. 공기의 압력을 이용하여 측정하거나 물리적인 추를 이용한 수동식 측정법과 비교하여 동물에 있어서 전신 마취를 실시하지 않고 적당한 보정만으로도 실제 임상적으로 적용하기에 좋은 방법이다(10).

이와 같이 정상 뉴질랜드 흰 토끼의 각막에 대한 두께, 내피 세포의 평가 및 안압의 측정은 안과질환의 연구에서 실험 동물로써 많이 이용되는 토끼에 대한 기본적인 연구자료가 될 것이며 앞으로 늘어 나고 있는 특수 애완 동물인 토끼의 기초 연구 자료 및 임상 자료로서 활용 될 수 있을 것이다.

감사의 글

이 논문은 2009년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임.[NRF-2009-351-E00068].

참 고 문 헌

1. Brugin E, Ghirlando A, Gambato C, Midena E. Central corneal thickness: z-ring corneal confocal microscopy versus ultrasound pachymetry. *Cornea* 2007; 26: 303-307.
2. Diaz-valle D, Sanchez JMBC, Castillo A, Sayagues O, Moriche M. Endothelial damage with cataract surgery techniques. *J. Cataract of Refract. Surg.* 1998; 24: 951-955.
3. Gilger BC, Wright JC, Whitley RD, McLaughlin SA. Corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry in cats. *Am J Vet Res* 1993; 52: 228-230.
4. Gilger BC, Whitley RD, McLaughlin SA, Wright JC and Drane JW. Canine corneal thickness measured by ultrasonic pachymetry. *Am J Vet Res* 1991; 52: 1570-1572.
5. Gwin RM, Lerner I, Warren JK, Gum G. Decrease in canine corneal endothelial cell density and increase in corneal thickness as functions of age. *Invest Ophthalmol Vis Sci*

- 1982; 22: 267-271.
6. Jeong BW, Park CK, Han HJ. Endothelial cell density changes in the normal Korean cornea during life. *J Kor Ophthal Soci* 1988; 29: 27-32.
 7. Jeong MB, Kim NR, Yi NY, Park SA, Kim MS, Park JH, Jeong SM, Seo KD, Nam TC, Oh Ys, Won MW, Seo KM. Spontaneous ophthalmic diseases in 586 New Zealand White Rabbits. *Exp Anim* 2005; 54: 395-403.
 8. Kim BK, Yun YM, Seong JK, Seo KM. Spontaneous ophthalmic diseases of Beagles in Korea. *J Vet Sci* 2001; 41: 113-121.
 9. Kim KS, Park SY, Oh JS. Morphometric analysis of the corneal endothelial cells in normal Korean. *J Kor Ophthal Soci* 1992; 33: 24-29.
 10. Kim WH, Kweon OK. Diurnal change of intraocular pressure and comparison of Tono-penXL and Schiøtz Tonometer in normal dogs. *J Vet Clin* 2002; 19: 415-417.
 11. Labbe A, Liang H, Martin C, Brignole-Baudouin F, Warnet JM, Baudouin C. Comparative anatomy of laboratory animal corneas with a new-generation high-resolution in vivo confocal microscope. *Curr Eye Res* 2006; 31: 501-509.
 12. Lee SW, Na HK. Change of the corneal endothelial cell density in postoperative cataract extraction cases. *J Kor Ophthal Soci* 1981; 22: 17-42.
 13. Lee YS. Rabbit. In: *Introduction of Lab animal*, 1st eds. Seoul: Sharon. 2000: 163-172.
 14. MacCallum DK, Bahn CF, Lillie JH, Meyer RF, Martonyi CL. Evidence for corneal endothelial cell hypertrophy during postnatal growth of the cat cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983; 24: 247-250.
 15. Mishima S. Clinical investigation on the corneal endothelium. *Am J Ophthalmol* 1982; 93: 1-29.
 16. Oh JY, Wee WR, Lee JH, Kim MK. Short-term effect of intracameral triamcinolone acetonide on corneal endothelium using the rabbit model. *Eye* 2007; 21: 812-818.
 17. Park SO, Cho BJ. Central corneal thickness measured by ultrasonic pachymeter in normal Koreans. *J Kor Ophthal Soci* 2000; 41: 2332-2336.
 18. Piggatto JAT, Freire CD, Abib FC, Barros PSM, Quinze R, Ortiz JPD, Santos JM, Laus JL. Cell size shape relationships in corneal endothelium of dogs. *Vet Oph* 2004; 7: 440-453.
 19. Reitsmer HA, Kiel JW, Harrison JM, Ransom NL, McKinnon SJ. Tonopen measurement of intraocular pressure in mice. *Exp Eye Res* 2005; 80: 295-296.
 20. Robert MG, Irving LJ, Kay W, Glenwood G. Decrease canine corneal endothelial cell density and increase in corneal thickness as function of age. *Assoc for Res In Vis And Ophthal* 1982; 22: 267-271.
 21. Ronald AL, Marita MS, Amado RB, Howard ML. Change in the corneal endothelium as a function of age. *Exp Eye Res* 1976; 22: 587-594.
 22. Rupert RB. Effect of cataract surgery on the corneal endothelium. *Am Oph* 2004; 111: 679-685.
 23. Schulz D, Iliev ME, Frueh BE, Goldblum D. In vivo pachymetry in normal eyes of rats, mice and rabbits with the optical low coherence reflectometer. *Vision Res* 2003; 43: 723-728.
 24. Szaflik JP. Comparison of in vivo confocal microscopy of human cornea by white light scanning slit and laser scanning systems. *Cornea* 2007; 26: 438-445.