

망막 내 노인성 형광색소의 광산화에 미치는 Brown 착색렌즈와 UV-A 차단 안경렌즈의 영향

박 상 일

경희대학교 약학대학

투고일(2012년 1월 31일), 수정일(2012년 3월 6일), 게재확정일(2012년 3월 17일)

목적: 본 연구는 노인성 황반변성(age-related macular degeneration, AMD)의 병인으로 잘 알려진 A2E의 광산화가 자외선 차단렌즈나 brown 착색렌즈에 의해 억제되는지를 알아보려고 하였다. **방법:** 두 분자의 all-trans-retinal과 한 분자의 ethanolamine을 합성하여 만든 A2E에 청색광(420~470 nm, 94 mW/cm²)을 3분 동안 조사하여 광산화를 유도하였다. UV 차단 및 brown 착색 안경렌즈의 A2E의 광산화 저해 효과는 광산화되지 않고 남아있는 A2E의 흡광도와 HPLC chromatogram 분석을 통하여 확인하였다. **결과:** 자외선 차단렌즈는 청색광 조사로 유발되는 A2E의 광산화를 억제하지 못하였다. 반면 Brown 착색렌즈에서는 가시광선 차단율이 15%인 경우 A2E의 광산화율에는 별 차이가 없었지만, 55%와 86% 차단된 렌즈에서는 각각 9.98%, 16.55%의 A2E 광산화 억제 효과를 보였다. HPLC로 분석한 잔존 A2E량을 확인해 보면 렌즈로 차단하지 않은 A2E의 잔존량은 199.29±26.53 μM이었으나, 55% 차단율을 가진 brown 렌즈는 264.58±31.91 μM, 86% 차단율을 가진 렌즈에서는 402.93±26.68 μM의 A2E 잔존량을 보여 A2E 광산화 억제효과가 있음을 확인하였다. 반면, 자외선 차단렌즈의 경우에는 잔존량 분석에서도 광산화 억제효과가 없는 것으로 나타났다. **결론:** 본 연구결과를 통하여 brown 착색 안경렌즈는 노인성 황반변성의 원인물질인 A2E의 광산화를 억제하는 효과가 있는 것으로 알 수 있었다.

주제어: 노인성 황반변성, 노인성 형광색소, A2E, 망막색소상피세포, 자외선차단렌즈, Brown 착색렌즈

서 론

노인성 황반변성(age-related macular degeneration, AMD)은 노년기 시력상실의 주 원인으로 황반기능이 저하되어 중심시야가 흐릿하거나 사물이 왜곡되어 보이는 등 시력이 저하되거나 상실되는 질병이다. 이 질병은 60세 이상의 노인에서 가장 큰 실명의 원인이며, 영국에서는 50세 이상에서는 50명당 한명, 85세 이상에서는 다섯 명당 한명이 앓고 있는 질환이다¹⁾. 우리나라에서 중장년층 이상에서 저시력의 원인질환이 과거에는 시신경위축이 가장 많았고, 황반변성, 망막색소변성 순이었으나, 최근 보고에 따르면 노인인구의 증가와 함께 황반변성이 저시력 유발의 가장 큰 원인이 되고 있다²⁾. 황반변성은 크게 황반부의 아래층을 구성하는 맥락막에 혈관이 비정상적으로 생성되고 팽창, 파괴되어 출혈을 일으켜 발생하는 습성(exudative, wet-type)황반변성과 노화에 따른 형광색소물질들의 망막상피세포 내 축적에 따른 세포 위축으로 나타

나는 건성(atrophic, dry-type)황반변성으로 나뉜다. 노인성 황반변성의 90%는 건성 황반변성이며 건성 황반변성은 습성으로 악화되어 실명에 이르게 된다³⁾. 하지만 노인성 황반변성에 대한 정확한 원인이 밝혀져 있지 않으며 대표적인 원인은 노령이며 환경적요인과 유전적 요인이 주요한 원인이라고 알려져 있다⁴⁾. 노인성 황반변성에 대한 치료법은 전무한 실정이라서 현재까지는 예방이 최우선으로 여겨지고 있다. 이렇듯 노인성 황반변성의 대부분인 건성 황반변성의 정확한 발병기전은 밝혀지지 않았지만, 이와 밀접한 관련을 맺고 있는 것이 노인성 형광색소로 알려져 있으며 이는 연령에 따라 망막색소상피세포 내 침착량이 증가되는 것으로 알려져 있다⁵⁾. 사람의 눈에 침착된 노인성 형광색소의 대표적인 성분은 A2E로 두 분자의 all-trans-retinal과 한 분자의 ethanolamine이 축합된 형광물질이다⁶⁾(Fig. 1).

A2E는 망막색소상피세포 내의 리소솜에 축적되는 비타민 A의 유도체로 시각회로(visual cycle)에서 부산물로 생

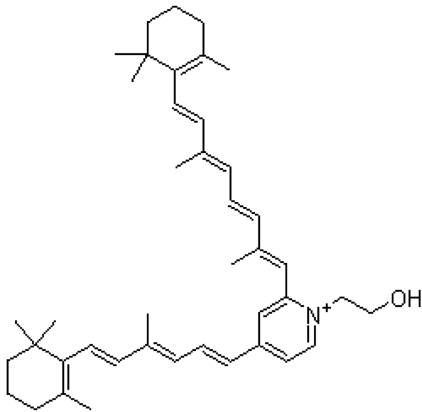


Fig. 1. The Structure of A2E.

성되어 A2E 및 이의 다양한 이성질체 형태로 존재한다⁷⁾. 이렇게 축적된 A2E는 세포 내에서 계면활성제와 같은 역할을 한다^{8,9)}. 특히 A2E는 자외선이나 청색광선을 조사하면 광산화되어 반응성이 높아지게 되며, 이는 결과적으로 망막색소상피세포의 사멸을 일으킨다. A2E에 빛을 조사하면 일중항산소(singlet oxygen)와 과산화물(superoxide)이 발생하는데 이는 A2E의 구조를 산화형 A2E로 바꾸게 되는 역할을 한다. 광산화 형태의 A2E는 반응성이 높아 세포 내 미토콘드리아에서 apoptosis를 유도하여 최종적으로 망막색소상피세포의 사멸을 일으키며¹⁰⁾, 이는 광수용체 세포의 2차적 사멸로 이어져 결국에는 실명을 유발하게 된다. 이러한 기전으로 발생하는 노인성 황반변성은 특별히 개발된 치료약이 없고 예방을 최우선으로 하고 있다.

본 연구에서는 자외선(UV-A) 또는 가시광선의 차단율을 가진 안경렌즈를 이용하여 A2E의 광산화가 어느 정도 차단되는지를 알아보았다. 즉, A2E 산화에 가장 큰 영향을 미치는 청색광선을 A2E에 조사하면서 1) 다양한 자외선 차단율을 가지는 안경렌즈를 사용하여 A2E의 산화에 어떠한 영향을 미치는 지를 확인해 보았으며, 2) 가시광선 차단율이 다른 갈색 착색렌즈를 사용하여 A2E의 광산화에 미치는 영향을 알아봄으로써 노인성 황반변성 예방의 가능성 여부를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

노인성 형광색소인 A2E 합성 및 항광산화 스크리닝에 필요한 시료인 인산완충용액(pH 7.4), all-trans-retinal, ethanolamine, acetic acid 및 trifluoroacetic acid(TFA)는 Sigma Chemical Company(St. Louis, Mo, USA)의 제품을 사용하였다. UV-A 차단 안경렌즈는 현재 국내 안경원에서 유통되고 있는 렌즈 가운데 UV 차단 코팅 정도에 따라 UV-A의 차단율이 20%, 44%, 63%, 81% 및 99%가 되

는 렌즈를 사용하였으며, brown 착색렌즈는 착색 농도에 따라 가시광선 차단율이 15%, 55% 및 86%인 렌즈(대명광학, 대전)를 사용하였다. A2E 정량을 위한 HPLC 분석에서는 acetonitrile HPLC grade(Fisher Scientific Korea Ltd., Korea)를 사용하였다.

2. A2E 합성

A2E 합성은 all-trans-retinal(30 mg, 105.6 μmol) 및 ethanolamine(2.85 mg, 46.5 μmol)을 acetic acid(2.79 μL , 46.5 μmol)를 첨가한 ethanol(3 ml)에 녹여 암실에서 3일동안 교반하면서 합성하였다³⁾. 합성 후 진공으로 농축한 후 이온교환수지를 이용하여 정제하였다. 정제된 A2E는 HPLC 분석을 이용하여 A2E와 iso-A2E의 순도 95% 이상을 확인하고 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 20 mM로 희석하여 사용 전까지 -20°C 에 보관하였다.

3. 청색광 조사

DMSO 20 mM 농도로 저장된 A2E를 인산완충용액에 최종농도가 500 μM 가 되도록 희석하였다. 96 well micro plate를 두 군으로 나누어 500 μM A2E를 100 μL 씩 분주하고 안경렌즈로 차단하지 않은 군을 대조군으로, 자외선 차단 및 brown 착색렌즈로 차단한 군을 실험군으로 한 후 청색광(420~470 nm, 94 mW/cm^2)을 3분간 조사하여 A2E의 광산화를 유도하였다. 안경렌즈의 광산화 차단효과를 확인하기 위해 microplate reader(Bio-Tek instrument, Korea)를 이용하여 청색광 조사 전과 조사 후의 440 nm에서 흡광도를 측정함으로써 광산화로 인한 A2E의 흡광도 감소를 확인하였으며, 안경렌즈 사용하였을 때에는 A2E 흡광도의 감소가 어느 정도 약해지는 가를 측정하였다. 모든 실험은 동일하게 3회 반복 실시하였으며 실험결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다.

4. HPLC 분석을 통한 A2E 정량

청색광에 의한 A2E의 산화량은 산화되지 않고 남아있는 A2E 잔존량을 HPLC 분석을 실시하여 정량한 후 계산하였다. 이 때 청색광을 3분 조사한 후 대조군과 실험군의 A2E 잔존량을 비교하여 UV-A 차단 및 brown 착색 안경렌즈의 사용에 따른 A2E의 광산화 차단 정도를 확인하였다. HPLC system 구성은 Waters(Milford, MA, USA)사의 515 pump, 717 autosampler, 996 photodiode array detector를 사용하여 waters empower software를 이용하여 분석하였다. HPLC분석에 사용된 column은 Waters Atlantis T-3 C18 column(4.6 mm \times 150 mm, 3 μm)이었다. 이동상은 acetonitrile과 증류수(0.1% TFA 함유)를 사용하였으며 gradient비율은 80-100%(0-17 min), 100% acetonitrile(17-

20 min)으로 하였고, flow rate는 0.8 ml/min으로 하였다. 한 번의 시료 주입량은 10 µL로 하여 430 nm에서 흡광도를 확인하였다¹¹⁾. A2E 정량을 위하여 50 µM, 100 µM, 250 µM 및 500 µM의 A2E로 HPLC 분석을 시행하여 R² 값이 0.99이상인 표준방정식을 얻었으며 이를 이용하여 청색광 조사 후 남아있는 A2E양을 확인하였다. 모든 실험은 동일하게 3회 반복 실시하였으며 실험결과는 평균±표준편차로 나타내었다.

5. 통계처리

본 실험에서는 청색광 조사 전후의 A2E양과 다양한 자외선 차단율과 가시광선 차단율의 안경렌즈를 사용하였을 때의 차이를 A2E 흡광도와 HPLC를 이용한 정량분석을 통하여 확인하였으며, 각각의 실험을 3회 반복 실험하였다. 청색광 조사 전후의 두 개의 변수에 대하여 paired t-test(Prism, Graphpad soft-ware, San Diego, C.A.)를 실시하였다. Paried t-test에서 신뢰도 95%를 기준으로 할 때, 유의수준(p-value)이 0.05 이하이면 유의한 차이가 있는 것으로 판단하였다¹²⁾.

결 과

1. A2E 항산화에 미치는 brown 착색 및 UV-A 차단 렌즈의 효과

본 실험에서는 가시광선을 차단하는 brown 착색 안경렌즈나 UV-A를 차단하는 안경렌즈를 사용하여 A2E가 청색광에 의해 산화될 때 어떠한 영향을 미치는 가를 알아보았다. A2E는 336 nm와 439 nm에서 최대 흡광도를 나타내는데¹³⁾ 산화된 A2E는 최대파장이 단파장 쪽으로 이동하는 청색이동(hypsochromic shift)이 일어나 336 nm 및 439 nm에서의 최대흡광도가 감소되게 된다¹⁴⁾. 청색광을 3분간 조사하고 microplate reader를 이용하여 청색광 조사 전후의 A2E 흡광도를 비교한 결과 청색이동이 일어나 440 nm에서의 A2E 흡광도가 감소하여 자외선 차단렌즈를 사용하지 않았을 때에는 21.30±0.42%의 광산화율을 보임을 확인하였다. UV-A 차단율이 다른 안경렌즈로 청색광을 차단하였을 때의 A2E 산화율은 UV-A의 차단율이 20%인 안경렌즈의 경우는 20.16±1.58%, 44% 차단렌즈의 경우는 22.03±1.33%, 63% 차단렌즈는 20.74±1.77%, 81% 차단렌즈는 21.13±1.92%, 99% 차단렌즈는 21.80±1.87%로 나타났다. 즉, 자외선 차단이 거의 완벽하게 이루어졌다 하더라도 A2E 산화율에는 크게 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다(Fig. 2).

한편, brown 착색 안경렌즈의 착색 농도에 따른 A2E의 산화 정도를 microplate reader를 이용한 흡광도 측정을 통

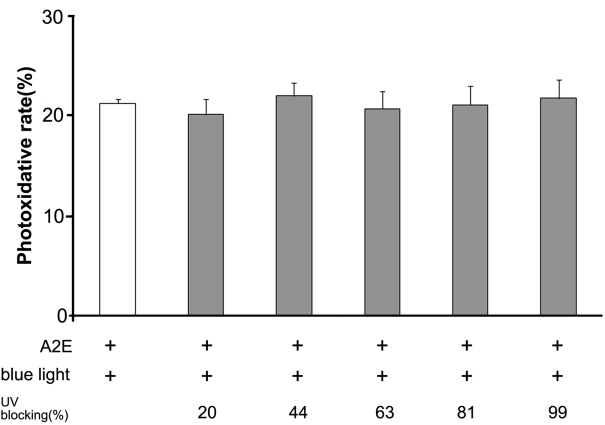


Fig. 2. The effect of UV-A blocking ophthalmic lens against A2E photooxidation induced by blue light irradiation.

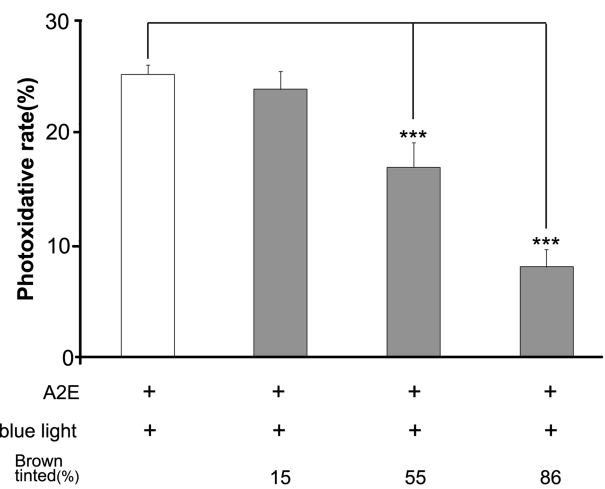


Fig. 3. The inhibitory effect of brown-tinted ophthalmic lens against A2E photooxidation induced by blue light irradiation.

하여 알아보았다. 안경렌즈로 차단하지 않았을 경우 A2E의 광산화율은 24.30±0.84%이었으나 가시광선 차단율이 15%인 brown 착색렌즈를 사용하였을 때의 A2E 산화율은 23.02±1.55%이었다. 가시광선 차단율이 55%일 경우에는 A2E 산화율이 16.32±2.14%로 둔화되었으며, 가시광선 차단율 86% 렌즈를 사용하였을 때에는 A2E의 산화율이 7.75±1.50%로 크게 감소됨을 알 수 있었다(Fig. 3). 안경렌즈로 차단하지 않았을 때의 A2E 산화율을 100%로 환산하여 상대적인 값으로 비교하여 보면 15% 차단된 렌즈를 사용하였을 때의 A2E 산화율은 96.21%, 55% 차단된 렌즈의 경우에는 68.83%, 86% 차단된 렌즈에서는 30.69%의 산화율을 보여 가시광선의 차단율이 높아질수록 청색광 조사에 의한 A2E 광산화가 크게 감소됨을 알 수 있었다. 특히, 55%와 86%의 가시광선 차단율을 보인 brown착색 렌즈를 사용하였을 때에는 통계적으로 유의한 A2E 항광산화 효과를 보였다(p<0.001).

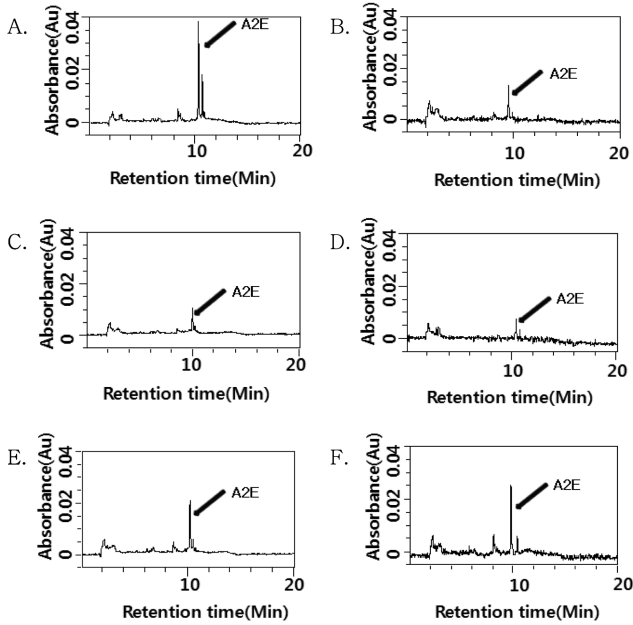


Fig. 4. The representative HPLC chromatogram of A2E remained after blue light irradiation. A. A2E, B. A2E irradiated by blue light, C. 99% UV-blocking lenses, D. Brown-tinted lenses to block 15% of visible ray, E. Brown-tinted lenses to block 55% of visible ray, F. Brown-tinted lenses to block 86% of visible ray.

2. HPLC 분석을 통한 UV-A차단 및 brown 착색 안경렌즈의 A2E 항광산화 평가

UV-A 및 가시광선을 차단한 안경렌즈의 A2E의 광산화 억제효과를 확인해보기 위해 HPLC를 이용하여 A2E 정량을 실시하였다. 청색광 조사에 의해 A2E가 빛에 의해 산화되면 A2E의 양이 줄어들면 HPLC chromatogram상에서 A2E peak의 크기가 줄어들게 되는데 이는 산화되지 않고 남은 A2E의 잔존량이 적어짐을 뜻한다. 이에 본 연구에서는 청색광을 조사하지 않은 A2E, 청색광을 조사한 후의 A2E, 이와 동시에 안경렌즈로 차단한 후 남아있는 A2E의 양을 HPLC chromatogram에서의 peak area 분석을 통하여 확인해 보았다(Fig. 4).

청색광 조사 전의 A2E양은 $508.82 \pm 39.06 \mu\text{M}$ 이었으나 청색광을 3분간 조사하고 난 후 산화되지 않고 남은 A2E의 잔존량은 $206.94 \pm 50.33 \mu\text{M}$ 이었다. UV-A의 차단율이 20%인 안경렌즈에서의 A2E 잔존량은 청색광 조사 후 $204.93 \pm 71.33 \mu\text{M}$ 이었으며, 44% 차단렌즈에서는 청색광 조사 후 $204.36 \pm 49.36 \mu\text{M}$ 로 나타났다. 63%의 UV-A 차단렌즈에서는 A2E 잔존량이 청색광 조사 후 $200.04 \pm 33.55 \mu\text{M}$ 나타났으며, 차단율이 81%인 렌즈에서는 청색광 조사 후 $186.24 \pm 31.09 \mu\text{M}$, 99% 차단렌즈에서는 $190.46 \pm 22.24 \mu\text{M}$ 나타나 각각의 UV-A 차단율 별로 실험군과 대조군에서 남아있는 A2E의 양은 $20 \mu\text{M}$ 내외로 큰 차이가 없었

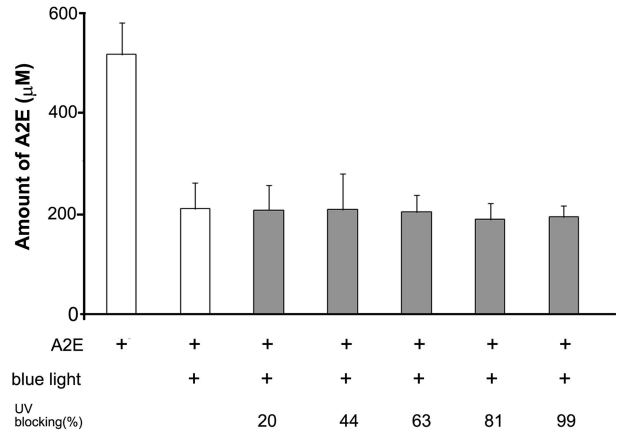


Fig. 5. The effect of UV blocking ophthalmic lens on A2E photooxidation induced by blue light irradiation.

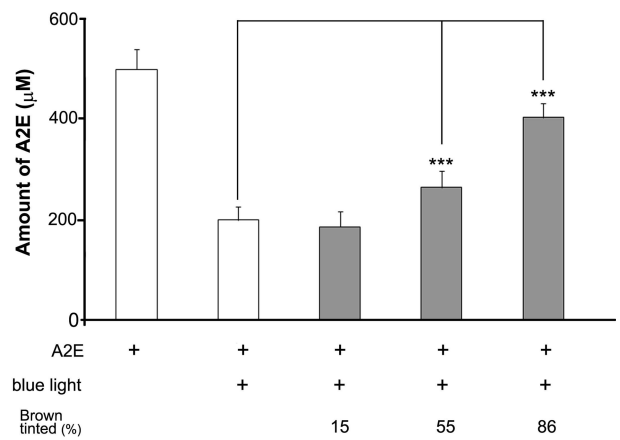


Fig. 6. Protective effect of brown-tinted ophthalmic lens on A2E photooxidation induced by blue light irradiation. ***P<0.001, Significantly different from each group compared

고 통계적으로도 유의하지 않았다(Fig. 5). 이러한 결과는 microplate reader를 이용한 흡광도 분석에 따른 결과와도 잘 부합되었다.

Brown 착색 안경렌즈를 가시광선 차단율에 따라 15%, 55% 및 86%로 분류한 후 A2E에 청색광을 조사할 때 사용하여 청색광 조사 후 남아있는 A2E의 양에 어떠한 영향을 미치는가를 HPLC 분석을 통하여 확인해 보았다. 청색광 조사 전의 A2E양은 $499.53 \pm 39.06 \mu\text{M}$ 이었으나 청색광을 3분간 조사하고 난 후 산화되지 않고 남은 A2E의 잔존량은 $199.29 \pm 26.53 \mu\text{M}$ 이었다. 가시광선 차단율이 15%인 brown 착색렌즈를 사용하였을 경우는 청색광을 3분간 조사하고 난 후 A2E 잔존량은 $185.82 \pm 30.86 \mu\text{M}$ 이었다. 55% 차단렌즈에서는 청색광을 3분간 조사하고 난 후 A2E 잔존량은 $264.58 \pm 31.91 \mu\text{M}$ 이었다. 가시광선 차단율이 86% 렌즈에서는 청색광을 3분간 조사하고 난 후 A2E 잔존량은 $402.94 \pm 28.68 \mu\text{M}$ 이었다. 즉, 55%와 86%의 가

시광선 차단률을 가진 brown 착색 렌즈에서는 통계적으로 유의한 A2E 잔존량의 차이를 보였다($p < 0.001$) (Fig. 6). 특히 86% 차단렌즈에서는 차단된 경우에서 산화되지 않고 남아있는 비교하였을 때 2배 많은 A2E 잔존량을 보여 A2E 광산화를 차단하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

고 찰

A2E의 산화는 청색광과 자외선을 포함하는 UV-A/가시광선 영역의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 자외선은 사람의 눈에 많은 영향을 미친다. 자외선으로 인해 각막에서는 각막염이 생기며, 수정체 내에 단백질 침착을 일으키기도 한다. 특히 UV-B는 젊은 사람의 망막에서도 광산화작용에 의해 망막염이 일으킨다¹⁵⁾. 하지만, 망막에서는 UV-A가 미치는 영향에 대해서는 정확하게 밝혀지지 않았다. UV-A의 대부분은 수정체에 의해 차단된다. 하지만 나이가 들수록 수정체 내에 UV-A를 차단하는 효소인 3-hydroxykynurenine, kynurenine, 3-hydroxykynurenine glucoside는 UV filter 능력이 떨어지게 된다. 이렇게 자외선의 차단 능력이 떨어지게 되면 망막에도 UV-A의 영향이 나타날 수 있다¹⁶⁾. 또한 사람의 수정체는 나이가 들수록 노란색으로 착색이 되어 청색광을 포함한 단색파장을 차단하는 역할을 한다^{17,18)}. 이러한 영향은 나이가 들수록 망막에는 청색광의 투과도는 떨어지고 자외선의 투과도는 증가하게 된다. 본 연구에서는 노인성 황반변성을 일으키는 A2E의 산화를 자외선의 차단정도와 brown 착색렌즈를 이용하여 청색광 차단하여 A2E의 산화량의 차단정도를 알아보았다. 연구 결과 자외선의 차단에 따른 A2E의 산화율에는 산화를 억제해주는 효과는 모든 차단렌즈에서 차단하기 전과 동일한 수치의 산화율이 나타나는 것으로 보아 자외선의 차단이 A2E의 산화에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며 청색광 조사 후 남아있는 A2E양 또한 UV 차단 렌즈를 사용한다 하더라도 차단율에 상관없이 A2E의 산화를 차단하지 못하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 A2E의 광산화가 자외선보다는 청색광에 의해 더 큰 영향을 받기 때문에 나타나는 결과라 생각되어졌다¹⁹⁾.

Brown 계열로 착색된 3가지 다른 농도의 렌즈를 이용해 청색광 조사 실험을 실시한 결과 brown 착색렌즈의 A2E 항산화 효과는 가시광선 차단률이 86%인 렌즈에서는 96%의 산화 차단율을, 55%인 렌즈에서는 50%의 A2E 산화 차단율을, 15%인 렌즈에서는 20%의 A2E 산화 차단율을 보여 brown 계열의 특성상 단파장인 청색광 파장을 차단하는 비율이 높을수록 A2E 광산화 차단효과가 높은 것을 알 수 있었다. Ham 등²⁰⁾의 보고에 의하면 자외선의 장파장 중 425 nm파장은 망막을 손상시키는데, 이는 망막색

소상피층의 A2E의 광산화작용이 일어나 망막색소상피세포의 위축이 일어난다. Sparrow 등²¹⁾은 안내 수정체렌즈가 노란색으로 착색되었을 경우 청색광 조사 후 A2E에 의한 망막색소상피세포의 사멸율이 일반 수정체렌즈에 비해 80%가 줄어드는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 또한 440 nm파장의 빛을 brown 계열로 차단했을 경우 A2E의 산화율이 차단농도에 따라 산화율이 줄어드는 것으로 나타났다. 특히, 가시광선을 86% 차단하는 렌즈의 경우 A2E의 산화율이 54.31% 감소하였고, 55% 차단렌즈의 경우 산화율이 9.14% 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

결 론

노인성 황반변성은 아직까지 적절한 치료법이나 치료약물이 밝혀져 있지 않고, 예방이 최우선의 방법으로 나타나 있다. 이러한 예방을 위해 본 연구에서는 약물의 복용이 아닌 안경 및 선글라스 착용을 통한 자외선 및 청색광을 차단하여 예방에 도움이 되는지는 확인해 보았다. 문명의 발전으로 인해 현대인은 태양을 통한 청색광의 노출이 아닌 수많은 IT 기기의 사용으로 인해 청색광의 노출이 더 많아진다. 본 연구를 통해 노인성 황반변성에 예방을 위해서는 자외선 차단렌즈 뿐 아니라 청색광을 차단하거나 저해시키는 선글라스 및 착색렌즈의 착용이 필요할 것으로 생각된다. 본 연구에서 실시한 brown 계열의 착색렌즈 뿐 아니라 시중에 다양하게 사용되는 선글라스 및 다양한 농도의 착색렌즈를 이용하여 노인성 황반변성을 억제할 수 있는 청색광의 차단 정도와 최소한의 차단율에 대한 연구가 지속적으로 행하여져야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- [1] Kaneko H., Dridi S., Tarallo V., Gelfand B. D., Fowler B. J., Cho W. G., Kleinman M. E., Ponicsan S. L., Hauswirth W. W., Chiodo V. A., Karikó K., Yoo J. W., Lee D. K., Hadziahmetovic M., Song Y., Misra S., Chaudhuri G., Buaas F. W., Braun R. E., Hinton D. R., Zhang Q., Grossniklaus H. E., Provis J. M., Madigan M. C., Milam A. H., Justice N. L., Albuquerque R. J. C., Blandford A. D., Bogdanovich S., Hirano Y., Witta J., Fuchs E., Littman D. R., Ambati B. K., Rudin C. M., Chong M. M. W., Provost P., Kugel J. F., Goodrich J. A., Dunaief J. L., Baffi J. Z., and Ambati J., "DICER1 deficit induces Alu RNA toxicity in age-related macular degeneration", *Nature*, 7338(471):325-330(2011).
- [2] 한상범, 권지원, 한영근, 위원량, 이진학, "황반변성에 의한 저시력 환자의 임상양상", *대한안과학회지*, 50(2):280-284(2009).
- [3] Ben-Shabat S., Parish C. A., Hashimoto M., Liu J., Nakanishi

- K., and Sparrow J. R., "Fluorescent pigments of the retinal pigment epithelium and age-related macular degeneration", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 11(12):1533-1540(2001).
- [4] Cavallotti C., and Cerulli L., "Age-related changes of the human eye", 1st Ed., Humana Press, USA, pp. 239-256 (2008).
- [5] Eldred G. E., and Katz M. L., "Fluorophores of the human retinal pigment epithelium: separation and spectral characterization", *Exp. Eye Res.*, 47(1): 71-86(1988).
- [6] Sakai N., Decatur J., and Nakanishi K., "Ocular age pigment "A2-E": an unprecedented pyridinium bisretinoid", *J. Am. Chem. Soc.*, 118:1559-1560(1996).
- [7] Wu Y., Yanase E., Feng X., Siegel M. M., and Sparrow J. R., "Structural characterization of bisretinoid A2E photocleavage products and implications for age-related macular degeneration", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(16): 7275-7280(2010).
- [8] Holz F. G., Schütt F., Kopitz J., Eldred G. E., Kruse F. E., Völcker H. E., and Cantz M., "Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 40(3): 737-743(1999).
- [9] Sparrow J. R., Nakanishi K., and Parish C. A., "The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigmented epithelial cells", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 41(7):1981-1989(2000).
- [10] Kim S. R., Nakanishi K., Itagaki Y., and Sparrow J. R., "Photooxidation of A2-PE, a photoreceptor outer segment fluorophore, and protection by lutein and zeaxanthin", *Exp. Eye Res.*, 82(5):828-839(2006).
- [11] Fishkin N. E., Sparrow J. R., Allikmets R., and Nakanishi K., "Isolation and characterization of a retinal pigment epithelial cell fluorophore: An all-trans-retinal dimer conjugate", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102(20): 7091-7096(2005).
- [12] 박미라, 이재원, "EXCEL을 이용한 의학 데이터의 통계 분석", 개정판, 자유 아카데미, pp. 159-165(2006).
- [13] Parish C. A., Hashimoto M., Nakanishi K., Dillon J., and Sparrow J., "Isolation and one step preparation of A2E and iso-A2E, fluorophores from human retinal pigment epithelium", *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 95(25): 14609-14613(1998).
- [14] Jang Y. P., Matsuda H., Itagaki Y., Nakanishi K., and Sparrow J. R., "Characterization of peroxy-A2E and furan-A2E photooxidation products and detection in human and mouse retinal pigment epithelial cell lipofuscin", *J. Biol. Chem.*, 280(48):32732-32739(2005).
- [15] Mainster M. A., and Turner P. L., "Ultraviolet-B phototoxicity and hypothetical photomelanogenesis: intraocular and crystalline lens photoprotection", *Am. J. Ophthalmol.*, 149(4):543-549(2010).
- [16] Bova L. M., Sweeney M. H., Jamie J. F., and Truscott R. J., "Major changes in human ocular UV protection with age", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 42(1):200-205(2001).
- [17] Rezaei K. A., Gasyna E., Seagle B. L., Norris J. R. Jr., and Rezaei K. A., "AcrySof Natural filter decreases blue light-induced apoptosis in human retinal pigment epithelium", *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 246(5):671-676(2008).
- [18] Sparrow J. R., Zhou J., Ben-Shabat S., Vollmer H., Itagaki Y., and Nakanishi K., "Involvement of oxidative mechanisms in blue-light-induced damage to A2E-laden RPE", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 43(4):1222-1227(2002).
- [19] Sparrow J. R., Kim S. R., and Wu Y., "Experimental approaches to the study of A2E, a bisretinoid lipofuscin chromophore of retinal pigment epithelium", *Methods Mol. Biol.*, 652:315-327(2010).
- [20] Ham W. T. Jr., Mueller H. A., Ruffolo J. J. Jr., Millen J. E., Cleary S. F., Guerry R. K., and Guerry D. 3rd., "Basic mechanisms underlying the production of photochemical lesions in the mammalian retina", *Curr. Eye Res.*, 3(1):165-174(1984).
- [21] Sparrow J. R., Miller A. S., and Zhou J., "Blue light-absorbing intraocular lens and retinal pigment epithelium protection in vitro", *J. Cataract Refract. Surg.*, 30(4):873-878(2004).

The Effect of Brown Tinted or UV-A blocking Ophthalmic Lens Against the Photooxidation of A2E, a Lipofuscin in Retina

Sang-il Park

College of Pharmacy, Kyunghee University

(Received January 31, 2012; Revised March 6, 2012; Accepted March 17, 2012)

Purpose: This purpose of study is to investigate the effect of UV-A-blocking or brown-tinted ophthalmic lens against A2E photooxidation which known as one of the etiologies of AMD(Age-related macular degeneration). **Methods:** The photooxidation of A2E, synthetic product of two molecules of all-*trans*-retinal and ethanolamine, was induced by the exposure to blue light (420~470 nm, 94 mW/cm²) for 3 minutes. The inhibitory effect of UV-blocking or brown-tinted ophthalmic lens against A2E photooxidation was evaluated by UV absorbance and HPLC analysis of remained A2E after the exposure to blue light. **Results:** UV-blocking ophthalmic lens could not inhibit A2E photooxidation induced by blue light irradiation. There was no difference in A2E photooxidation in the presence of brown-tinted ophthalmic lens to block 15% of visible ray, however, those lenses blocking 55% or 86% of visible ray showed the inhibitory effect of A2E photooxidation as 9.98% and 16.55%, respectively. By HPLC analysis, the amount of residual A2E which was not blocked by any lens was $199.29 \pm 26.53 \mu\text{M}$, however, the inhibitory effect against A2E photooxidation was shown in the presence of brown-tinted lens. The remained A2Es were $264.58 \pm 31.91 \mu\text{M}$ and $402.93 \pm 28.68 \mu\text{M}$ in brown-tinted lenses of 55% and 86% blocking visible ray, respectively. However, there was no inhibitory effect against A2E photooxidation in the case of UV-blocking lens by HPLC analysis. **Conclusions:** In this study, brown-tinted ophthalmic lens was confirmed to have the inhibitory effect against the photooxidation of A2E, a causing substance of AMD onset.

Key words: Age-related Macular Degeneration (AMD), Age-related Fluorescent Pigments, A2E, Retinal Pigment Epithelial cells, UV-blocking lens, Brown-tinted lens