

## Tobramycin의 각막내 침투에 미치는 Collagen Shield의 효과에 관한 연구

백종민 · 김기산 · 오준섭

### = 국문초록 =

돈 공막 조직으로 만든 collagen shield (Bio-Cor<sup>®</sup>)가 tobramycin의 각막내침투에 미치는 효과를 알아 보고 다른 투여 방법과 비교하였다. Tobramycin용액(40mg/ml)에 5분간 적신 collagen shield를 가토 각막위에 얹은 후 1, 4, 8시간 후에 각막을 6mm크기로 trephination하여 agar diffusion bioassay방법으로 각막내 tobramycin농도를 측정하였다. 비교군으로는 tobramycin 20mg을 결막하 주사한 군과 tobramycin용액(40mg/ml)에 역시 5분간 적신 치료용 soft contact lens(T-lens) 군과 tobramycin점안액(3mg/ml)을 5분간격으로 1방울씩 6번 투여한 점안군으로 하였으며 역시 각각 1, 4, 8시간 후에 각막내 농도를 측정하였으며 점안군에서는 점안이 끝난 직후에도 그 농도를 측정하였다. 이때 collagen shield 자체에 남아있는 tobramycin의 농도도 아울러 시간별로 측정하였다. Collagen shield 군의 경우 1시간 후의 각막내 농도는  $73.90 \pm 3.32 \mu\text{g/g}$  wet weight으로 결막하 주사한 경우의  $64.32 \pm 2.57 \mu\text{g/g}$ , T-lens 군의  $19.02 \pm 10.64 \mu\text{g/g}$  보다 의의있게 높았으며 4시간 후의 농도도  $39.74 \pm 1.73 \mu\text{g/g}$ 으로 결막하 주사군의  $13.65 \pm 2.27 \mu\text{g/g}$  보다 의의있게 높았다. 8시간 후의 농도는  $12.84 \pm 1.01 \mu\text{g/g}$ 으로 결막하 주사군의  $12.51 \pm 1.61 \mu\text{g/g}$ 과 유사하게 낮은 농도였지만 tobramycin의 녹농균에 대한 minimal inhibitory concentration 보다는 높게 유지되었다. T-lens 군에서는 투여후 4, 8시간에서, 국소 점안한 경우는 점안이 끝난 즉시 측정한 경우외에는 그 농도를 측정할 수 없었다. 항생제를 함유한 collagen shield는 다른 투여 방법보다 그 농도를 높게 그리고 오래 유지함을 알 수 있었으며 그 투여방법이 다른 방법보다 훨씬 간편하며 세균성 각막염 치료에 보다 좋은 결과를 기대할 수 있다고 생각된다.

### = Abstract =

#### The Effect of a Collagen Shield on Concentrations of Tobramycin in Corneas

Jong Min Baik, M.D., Ki-San Kim, M.D., Joon Sup Oh, M.D.

Collagen shields made of porcine scleral collagen were immersed in a solution containing tobramycin sulfate (40 mg/ml) for five minutes, then applied to rabbit

<심사통과일 : 1989년 12월 23일>

계명대학교의과대학 안과학교실

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

\*본 논문의 요지는 1989년도 제 63회 대한안과학회 추계학술대회에서 발표되었음.

\*본 논문은 1989년도 계명대학교 윤종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어진 것임.

corneas. One, four and eight hours after application, the corneas were assayed for antibiotics by agar diffusion bioassay.

We divided study groups as 4 groups, that is, collagen shield, subconjunctival, therapeutic soft contact lens and topical group, and compared the corneal concentration of tobramycin in each group.

Shields immersed in 40mg/ml tobramycin produced significantly higher concentrations of tobramycin in the cornea at one and four hours than those of the other groups. Tobramycin concentrations in cornea eight hours after application became lower than those of one and four hours after application but, higher than minimal inhibitory concentration of *Pseudomonas aeruginosa*.

Collagen shield containing antibiotics can serve as a vehicle for drug delivery and may prove superior to current methods for the initial treatment of bacterial keratitis, and preoperative and postoperative antibiotic prophylaxis.

**Key Words:** agar diffusion bioassay, collagen shield, corneal concentration, tobramycin

## 서 론

전안부 감염시 사용되어온 약제 투여 방법으로는 점안용액 및 안연고, 강화된 점안용액(13.6mg/ml), 결막하 주사, 안구내 주사, 치료용 contact lens, ocular inserts, liposomal system<sup>1,2)</sup>, 그리고 이온 삼투요법등이 소개되어 있는데, 각막내 항생제를 고농도로 유지하기가 어렵거나 각막자체에 대한 독성 또는 안구자체의 손상 및 안통등의 부작용이 따르기 쉽고 또 임상적으로 편리하게 사용하기 힘든 단점들이 있다.

이에 저자들은 최근 개발된 collagen shield를 이용하여 tobramycin의 각막내 농도를 측정하여 국소점안, 결막하 주사, 치료용 contact lens 등의 경우와 비교 연구하였다.

## 재료 및 방법

외안부가 정상인 2~2.5kg의 유색가토 13마리 26안을 4군으로 나눠서 collagen shield군 6안, 결막하 주사군 6안, 치료용 contact lens군 6안, 국소점안군 8안을 대상으로 하였다.

Collagen shield군은 collagen shield (Bio-Cor<sup>®</sup> 12 hours Baush & Lomb Pharmaceuticals)를 40mg/ml tobramycin용액(황산 토브라マイ신 주사액, 대웅제약제제)에 5분간 적신뒤 국소점안 마취제 (Alcaine<sup>®</sup>; proparacaine hydrochloride 0.5%,

Alcon회사제제)로 마취후 착용 시켰으며, 결막하 주사군은 20mg tobramycin을 점안마취제로 마취 후 가토 상이축 구결막하에 주사하였고, 치료용 contact lens군은 collagen shield군과 같은 방법인 40mg/ml tobramycin용액에 5분간 적신뒤 국소점안 마취제로 마취후 착용시켰으며, 국소점안군은 3mg/ml의 tobramycin 점안용액을 5분 간격으로 2방울 씩 6회 점안하였다.

투여후 1시간, 4시간 및 8시간에 가토를 회생시킨뒤 각막연을 따라 각막을 절제한 후 Trehpine을 사용하여 직경 6mm 크기의 각막절편을 채취하여 생리식염수로 깨끗이 세척하고 각막표면 위에 남아있는 수분을 제거한 후 E.T.L. (Electronic Top Loading) Balance (Sartorius제제)를 사용하여 각막절편의 무게를 측정한 뒤 원판화산법(Agar diffusion bioassay)으로 각막내 tobramycin농도를 측정하였다. 이때 남아있던 collagen shield 역시 직경 6mm 크기로 잘라서 표면의 수분을 제거후 무게를 측정한 뒤 shield 내 tobramycin농도를 측정하였다.

원판화산법은 N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards)의 방법에 따랐으며 18시간 T.S.B. (Trypticase Soy Broth)에서 배양한 E. Coli (ATCC 25922)를 0.5 McFarland Turbidity로 회색한 균액을 면봉으로 Müller-Hinton agar배지에 도말한 후 절제한 각막절편 및 collagen shield를 배지의 중앙에 놓고 37°C 배양기에

## - 백종민 외 : Tobramycin의 각막내 침투에 미치는 Collagen Shield의 효과에 관한 연구 -

서 18-24시간 배양한 후 억제력을 측정하였다. 정 도관리를 위하여 B.B.L.제 tobramycin ( $10\ \mu\text{g}$ ) 원 판을 함께 실시 하였다.

### 결 과

각 군의 tobramycin 투여후 1시간, 4시간 및 8시간의 tobramycin 각막내 농도는 다음과 같다(Table 1, Fig. 1).

Tobramycin 투여후 1시간의 농도를 보면, collagen shield군에서는  $73.90 \pm 3.32\ \mu\text{g/g}$  wet weight로

**Table 1.** Corneal concentrations of tobramycin ( $\mu\text{g/g}$  wet weight)

Time after application	SC injection	Collagen shield	T-lens	Topical
1 hour	$64.32 \pm 2.57$	$73.90 \pm 3.32^1$	$19.02 \pm 10.64$	— <sup>3</sup>
4 hours	$13.65 \pm 2.27$	$39.74 \pm 1.73^2$	—	—
8 hours	$12.51 \pm 1.61$	$12.84 \pm 1.01$	—	—

<sup>1</sup>p<0.1

<sup>2</sup>p<0.01

<sup>3</sup> $4.66 \pm 6.58\ \mu\text{g/g}$  immediately after topical application

SC : subconjunctival

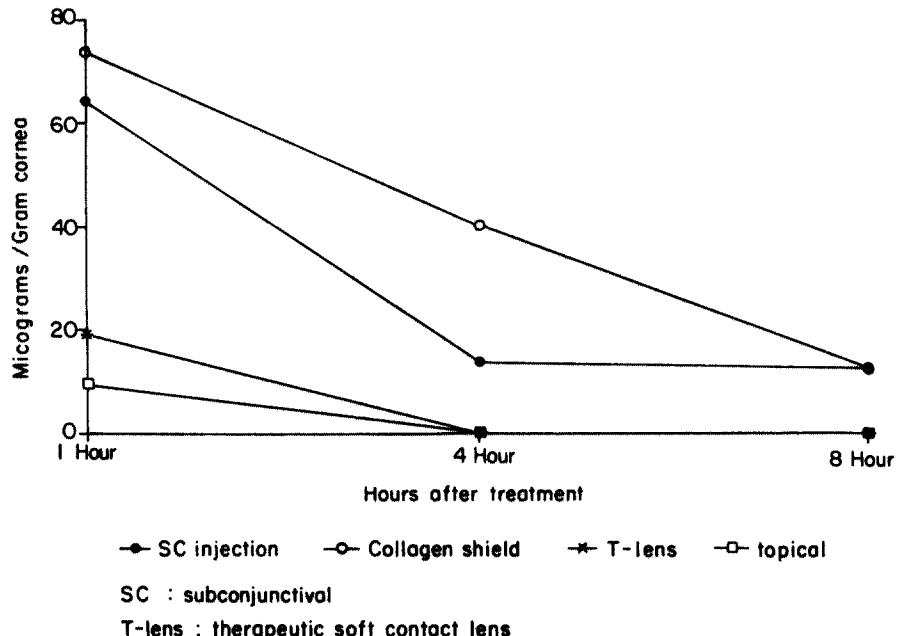
conc. in shield :  $298.70 \pm 68.87\ \mu\text{g/g}$  at 1 hour

$32.36 \pm 5.23\ \mu\text{g/g}$  at 4 hours

서,  $64.32 \pm 2.57\ \mu\text{g}$ 의 결막하 주사군과  $19.02 \pm 10.64\ \mu\text{g}$ 의 치료용 contact lens군 보다 의의있게 높았으며 국소점안군에서는 투여후 1시간의 농도는 측정할 수 없었으나 국소점안이 끝난후 즉시 측정해 본 결과  $4.66 \pm 6.58\ \mu\text{g}$ 의 낮은 농도를 보였다. Collagen Shield 자체의 농도는  $298.70 \pm 68.87\ \mu\text{g}$ 이었다. 투여 후 4시간에 collagen shield군은  $39.74 \pm 1.73\ \mu\text{g}$ 으로서 결막하 주사군의  $13.65 \pm 2.27\ \mu\text{g}$ 보다 의의있게 높았으며 치료용 contact lens군 및 국소점안군에서는 농도를 측정할 수 없었다. 또한 투여후 1시간과 비교해 볼때 collagen shield군은 그 농도가 약 50% 감소한 반면, 결막하 주사군은 약 80% 정도나 감소되었다. 이때 collagen shield내의 농도는  $32.36 \pm 5.23\ \mu\text{g}$ 이었다. 투여 후 8시간에서는 collagen shield 군은  $12.84 \pm 1.01\ \mu\text{g}$ 으로서  $12.51 \pm 1.61\ \mu\text{g}$ 의 결막하 주사군과 비슷한 농도를 보였고 치료용 contact lens 군과 국소점안군에서는 농도를 측정할 수 없었으며 collagen shield는 거의 다 용해되어 측정할 수 없다.

### 고 칠

약제 투여방법들 중 국소점안방법은 본 실험의 결과에서처럼 각막내 농도유지가 되지않고<sup>3,5)</sup>, 자주



**Fig. 1.** Corneal concentrations of tobramycin.

점안해야하는 불편함이 있으며, 결막하 주사는 환자에게 통증을 주며 안구내 손상 및 결막하 출혈등을 일으킬 수 있고 각막부위에 따라 약제 농도가 달라질 수 있다<sup>4,5,9)</sup>. 치료용 contact lens를 사용해도 각막내 지속적 농도 유지가 역시 미약하며 치료용 contact lens 자체로 인한 부작용이 발생할 수 있다<sup>8~8)</sup>. 그외 강화된 점안용액은 각막자체에 독성, 결막출혈 및 부종들을 일으킬 수 있으며 ocular inserts, liposomal system, 이온삼투요법 등은 고가이기에 널리 사용하기가 힘들다. 그러나 collagen shield의 경우 이러한 단점을 보완하여 각막내 약제 농도를 지속적으로 높게 유지시킬 수 있다<sup>9,10)</sup>.

Collagen shield는 돼지 공막의 collagen 조직으로 만든 구형 contact lens 형태의 film으로써 두께 0.027~0.071mm, Base curve 9.0mm, 직경 14.5mm으로서 용해 시간에 따라 12시간, 24시간, 72시간의 3종류가 있다.

Collagen shield는 Bandage lens로의 작용과 약물 전달 체계의 작용이 있는데, 첫번째 Bandage lens로 작용하여 안구표면에 윤활작용을 하고 안검에 의한 각막상피 손상을 적게하며 각막상피 치유를 촉진시킨다<sup>15)</sup>. 두번째 약물 전달 체계로 작용하여 약제와 각막사이의 접촉을 오랫동안 유지시키고 shield가 용해되면서 약제가 눈물내로 방출되어 각막내 약제 농도를 높게 지속적으로 유지시키고 약제의 각막내 침투를 높인다<sup>9~11,14)</sup>.

Collagen shield는 1985년 Fyodorov가 처음으로 collagen을 lens의 재질로 사용할 것을 제안하였고, 실제로 임상에 사용하여 근시수술과 다른 전안부수술후 각막상피를 보호하고 치유를 촉진시켰다고 보고했으며<sup>13)</sup>, 1988년 Kaufman 등은 백내장 적출, 전총각막이식술, epikeratophakia, 비수술적 각막상피 치유에 어려움이 있는 경우에 collagen shield를 사용하여 각막상피 치유에 높은 효과를 얻었고<sup>11)</sup>, Marmer는 근시수술후 collagen shield를 사용해서 1D이상의 더 높은 효과를 얻었으며 현회(glare)도 감소되었다고 보고했으며<sup>14)</sup>, Brien 등은 collagen shield와 soft contact lens를 비교하여서 collagen shield 사용시 각막내 약제 농도가 더 높게 유지된다고 하였으며<sup>10)</sup>, Unterman 등은 collagen shield가 결막하 주사 및 국소점안보다 항생제의 각막 및 방수내 농도를 높게 유지시킨다고 보고했다<sup>9)</sup>. 본 실험에서도 collagen shield군은 tobramycin 투여

후 1시간, 4시간에서 타군보다 의의있게 높았으며 투여후 8시간에서는 결막하 주사군과 비슷한 농도를 보였으나 pseudomonas에 대한 최저발육저지 농도 보다는 높게 유지되었다.

Collagen shield는 전총각막이식술, refractive corneal surgery 그리고 백내장 적출후 각막상피의 보호와 각막손상시 치유를 촉진시킬 목적으로 이용할 수 있으며<sup>12)</sup>, 각막궤양, 재발성 각막미란, 각막박리등의 각막상피 결손이 있는 질환에서는 다 적용이 된다.

Collagen shield는 현재까지 뚜렷한 부작용은 보고되지 않고 있으나 다만 주의해야 될 사항으로는 pilocarpine, 교감신경홍분체와 같은 약제와 사용시 pilocarpine은 많은 양의 약제가 침투되어 모양체 경련을 일으켜 환자에게 통증을 주며, 교감신경홍분체의 경우 전신적 흡수로 전신적 부작용이 나타나기에 가급적 사용을 피하는 것이 좋으며, 토안과 같이 안검을 감는 것이 불완전한 경우 collagen shield가 항상 노출되므로 노출된 부위가 일찍 용해되기 때문에 주의해서 사용해야 하고 한쪽 눈만 있는 경우, collagen shield에 allergy가 있는 경우, 누비관폐쇄, 안검염등에서 사용에 주의해야 한다.

## 결 롬

저자들은 가토 13마리, 26안을 대상으로 collagen shield, 결막하 주사, 치료용 contact lens, 국소점안등의 방법으로 가토안에 tobramycin을 투여한 후 1시간, 4시간 및 8시간의 각막내 tobramycin의 농도를 측정하였다.

1. 각막내 tobramycin의 농도는 tobramycin 투여후 1시간, 4시간에 collagen shield군에서 타군에서 보다 의의있게 높은 농도를 보였다. 투여후 4시간에 collagen shield군은 1시간 후 농도의 50%가 감소하였고, 결막하 주사군은 80%가 감소하였다.

2. 투여후 8시간에서 collagen shield군과 결막하 주사군은 낮은 농도를 보였지만 pseudomonas에 대한 최저발육저지 농도보다는 높았다.

결론적으로 항생제를 함유한 collagen shield는 다른 투여 방법보다 각막내의 tobramycin의 농도를 지속적으로 그리고 높게 유지시킬 수 있어 세균성 각막염의 치료에 새로운 유용한 방법으로 생각된다.

## REFERENCES

- 1) Schaefer HE, Krohn DL : *Liposomes in topical drug delivery. Invest Ophthalmol Vis Sci* 22 : 220-227, 1982.
- 2) Smolin G, Okumoto M, MA, Feiler S, Condon D, MS : *Iodoxuridine-liposome therapy for herpes simplex keratitis, Am J Ophthalmol* 91 : 220-225, 1981.
- 3) Baum J, Barza M : *Topical versus subconjunctival treatment of bacterial corneal ulcer. Ophthalmol* 90 : 162-168, 1983.
- 4) Oakley DE, Weeks RD, Ellis PP : *Corneal distribution of subconjunctival antibiotics. Am J Ophthalmol* 81 : 307-312, 1976.
- 5) Davis SD, Sarff LD, Hyndiuk RA : *Comparison of therapeutic routes in experimental pseudomonas keratitis. Am J Ophthalmol* 87 : 710-716, 1979.
- 6) Busin M, Spitznas M : *Sustained gentamycin release by presoaked medicated bandage contact lens. Ophthalmol* 95 : 796-798, 1988.
- 7) Matoha AY, McCulley JP : *The effect of therapeutic soft contact lenses in antibiotic delivery to the cornea. Ophthalmol* 92 : 97-99, 1985.
- 8) Lemp MA : *The effect of extended wear apakic hydrophilic contact lenses after penetrating keratoplasty. Am J Ophthalmol* 90 : 331-335, 1980.
- 9) Unterman SR, Rootman DS, Hills JM, Parelman JJ, Thompson HW, Kaufman HE : *Collagen shield drug delivery : Therapeutic concentrations of tobramycin in the rabbit cornea and aqueous humor. J Cataract Refract Surg* 14 : 500-504, 1988.
- 10) O'Brien TP, Sawusch MP, Dick JP, Hamburg TR, Gottsch JD : *Use of collagen shields versus soft contact lenses to enhance penetration of topical tobramycin. J Cataract Refract Surg* 14 : 505-507, 1988.
- 11) Poland DE, Kaufman HE : *Clinical uses of collagen shields. J Cataract Refract Surg* 14 : 489-491, 1988.
- 12) Aquavella JV, Ruffini JJ, Locascio JA : *Use of collagen shield as a surgical adjunct, J Cataract Refract Surg* 14 : 492-495, 1988.
- 13) Fyodorov SN, Moroz ZI, Kramskaya ZI, Bagrov SN, et al : *Complex medicamenta treatment of endothelial-epithelial dystrophy with the use of therapeutic collagen bandage. Vestnik Oftalmogit* 6 : 33-36, 1985. (cited from Marmer RH : *Therapeutic and protective properties of the corneal collagen shield. J Cataract Refract Surg* 14 : 496-499, 1988.)
- 14) Marmer RH : *Therapeutic and protective properties of the corneal collagen shield. J Cataract Refract Surg* 14 : 496-499, 1988.
- 15) Shaker GJ, Ueda S, Locascio JA, Aquavella JV : *Effect of a collagen shield on cat corneal epithelial wound healing. Invest Ophthalmol Vis Sci* 30 : 1565-1568, 1989.