

보툴리눔 A 독소 테논낭하 주사가
가토 외안근에 미치는 영향

연세대학교 대학원
의 학 과
권 현 석

보툴리눔 A 독소 테논낭하 주사가
가토 외안근에 미치는 영향

지도 한 승 한 교수

이 논문을 석사 학위 논문으로 제출함

2005 년 6 월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

권 현 석

권현석 의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

연세대학교 대학원

2005 년 6 월 일

감사의 글

논문이 완성되기까지 지도해 주시고 많은 관심을 가져주신 한승한 교수님께 감사 드리며 많은 가르침을 주신 신경과 이명식 교수님, 아주의대 장윤희 교수님께도 감사 드립니다.

실험에 도움을 주신 병리과 김태승 교수님, 김세훈 교수님, 신은아 선생님과 안과 하병진 선생님께 감사 드립니다.

연구가 진행되는 동안 격려해 주신 실로암 안과병원 김선태 목사님과 선후배 동료 선생님께 감사 드립니다.

관심을 가져주신 부모님께 감사 드리며 항상 옆에서 도와준 아내와 기중, 성중, 예중 삼남매에게 고맙다는 말을 전하며 지금까지 항상 보살펴 주신 하나님의 은혜에 감사 드립니다.

저자 씀

<차례>

국문요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	7
III. 결과	9
IV. 고찰	12
V. 결론	18
참고문헌	18
영문요약	23

그림 차례

그림 1. 가토 상직근 근섬유의 단면	9
그림 2. 가토에서 테논낭하 주사 3 주 후 상직근 안와층 단면	11
그림 3. 가토에서 테논낭하 주사 3 주 후 상직근 안와층 근섬유 직경의 분포	12

표 차례

표 1. 가토에서 보툴리눔 A 독소 테논낭하 주사에 따른 안와층 근섬유 직경의 변화	10
---	----

국문요약

보툴리눔 A 독소 테논낭하 주사가 가토 외안근에 미치는 영향

안과 영역에서 널리 사용되는 보툴리눔 A 독소는 시냅스전 콜린축삭종말에 결합하여 아세틸콜린합유소포의 유리를 억제하여 근육의 마비를 유발시키며, 근육은 신경제거 근위축이 일어난다. 일반적으로 보툴리눔 A 독소를 주사시 외안근에 정확히 주사하고 있는지 알기 위해서 근전도검사를 이용하고 있는데 시간이 오래 걸리고 안구천공, 출혈 등의 합병증, 환자의 불안감 등의 단점이 있다. 본 연구는 근전도검사의 도움 없이 보툴리눔 A 독소 테논낭하 주사가 외안근 섬유에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

연구는 뉴질랜드산 백색 가토 10마리, 20안을 대상으로 주사바늘 (28 gauge needle) 을 이용하여 실험군으로 보툴리눔 A 독소 (Botox[®], Allergan Pharmaceuticals, Irvine, Ca, USA)를 근시작부위에서 5mm 뒤쪽의 상직근 주위 테논낭하에 각각 0.1ml 생리 식염수와 섞은 10 unit를 주사하고 반대편 눈의 같은 부위에 각각 0.1ml 생리식염수를 대조군으로 주사하였다. 3주간 사육하고 안구로부터 상직근을 분리하여 masson trichrome으로 염색하여 근시작부위로부터 5mm 뒤쪽의 부위를 5 μ m 두께의 단층으로 잘라 광학 현미경으로 안와층의

근섬유의 직경을 Image-Pro Plus software를 이용하여 측정하였다. 측정된 근섬유 직경을 Kruskal-Wallis test 프로그램을 이용하여 실험군과 대조군을 비교하였다.

보툴리눔 A 독소를 주사한 근육의 경우 근섬유의 직경은 $11.5 \pm 2.26 \mu\text{m}$ 였으며 대조군의 경우 $14.4 \pm 3.77 \mu\text{m}$ 였다. 이는 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.01$).

이번 연구에서 보툴리눔 A 독소 테논낭하 주사 후에 가토의 외안근에서 안와층의 근섬유의 크기가 감소됨을 알 수 있었다. 앞으로 더 많은 연구가 필요하겠지만 테논낭하 독소 주입술도 임상에서 유용하게 사용할 수 있음을 알 수 있었다.

앞으로는 보툴리눔 A 독소의 테논낭하 주입술시 독소의 영향이 어느 시기까지 지속되는지, 독소 용량에 따른 근섬유의 크기 변화 등에 대한 연구가 필요하며 임상실험을 통해 환자에게 주사할 용량에 대한 연구, 지속 시간에 대한 연구 등이 필요할 것으로 생각된다.

핵심 되는 말: 보툴리눔 A 독소, 화학적 신경제거술, 테논낭하 보툴리눔 A 독소 주사, 외안근

보툴리눔 A 독소 테논낭하 주사가
가토 외안근에 미치는 영향

<지도 한 승 한 교수>

연세대학교 대학원 의학과

권 현 석

I. 서론

1973년 Scott가 사시치료에 있어서 수술적 방법 이외에 보툴리눔 A 독소를 이용한 화학적 신경제거술의 개념을 처음 도입한 후, 보툴리눔 A 독소는 1989년 성인 및 12세 이상의 사시치료에 있어서 미국 식품의약청(FDA)의 승인을 받았다.^{1,2,3,4}

*Clostridium botulinum*은 토양에 널리 분포하는 흔한 세균으로, 건조나 열 등의 환경에서도 수년간 견딜 수 있는 불활성의 포자형태로 존재하기도 하며, 이 균의 생성물인 보툴리눔 독소는 안과 영역에서 뿐만 아니라 의학의 여러 분야에서 널리 사용되고 있다.³ 안과 영역에서는 일치사시, 급성 및 만성 마비사시, 갑상선

질환에 의한 제한사시, 망막박리 수술 후에 생긴 사시, 감각사시 등 다양한 종류의 사시와 눈떨림에서, 또한 안검경련, 안면경련 등의 치료에 사용되고 있다.^{4,5} 보툴리눔 A 독소는 시냅스전 콜린축삭종말에 강력하고 빠르게 결합하여 아세틸콜린합유소포의 유리를 억제하여 근육마비를 유발시키며, 투입 6시간 후에 중판전위가 최고로 억제되나, 임상적 근육마비의 효과는 독소 주입 후 5일에서 7일 후에 최고조로 나타난다.^{3,5} 결과적으로 근육은 신경제거 근위축이 일어난다.^{3,5} 독소에 의한 근육마비 효과는 화학적으로 신경제거된 축삭종말이 새로운 신경의 발아를 형성하여 주변 다른 근육에 접합되면서 근육의 기능이 돌아오는데 최장 6개월이 걸리며, 이러한 한시적인 근육마비효과를 이용한 급성 마비사시환자에서 치료효과가 탁월하다고 인정되어 있다.³ 보툴리눔 독소의 주사는 이와 같이 일시적이고 가역적인 근육마비를 유발시키며 마비기간은 주사량에 비례한다.³

원숭이에서 외안근에 보툴리눔 독소를 주입하면 선택적이고 일시적인 근섬유의 변화를 가져 온다.⁶ 또한 Okano등은 가토에서 외안근에 보툴리눔 독소 주입 후 외안근의 장력변화를 측정하였는데 주사 후 1주에는 장력이 감소하였고 주사 후 5주에는 장력이 증가함을 보고 하였다.^{7,8} 장력 감소의 원인으로는 근섬유 크기의 변화와 근섬유 위축이 동반되어 일어난다고 주장하였으며 장력의

증가는 근육마비 회복 후 나타나는 근섬유의 비대에 의해 일어난다고 주장하였다.^{7,8} Ohtsuki 등은 외안근의 안와층이 안구층에 비하여 보툴리눔 A 독소 주사에 영향을 더 받는다고 하였고, 이는 안구층이 에너지 대사과정에서 해당과정에 대한 의존도가 높기 때문이라고 하였다.⁷

급성 마비사시에서 보툴리눔 독소의 치료효과는 일시적 근육마비에 의한 대항근의 수축 예방에 의한다고 알려져 있다.^{9,10,11} 그러나 이러한 사실만으로는 만성 마비사시에서의 치료효과를 설명하기는 힘들다. 최근 연구에 의하면 보툴리눔 독소가 영구적인 사시 치료효과를 나타낸다고 하며 이러한 사실을 설명할 수 있는 두 가지 가설이 있다.^{5,12} 첫번째는 보툴리눔 독소가 말초근육 뿐 아니라 운동신경중추에도 작용한다는 것이다. 근육에 주사된 보툴리눔 독소가 중추신경계의 운동신경세포로 전달되어 인접한 다른 신경세포에 영향을 주게 된다는 것이다.¹³ 외안근에 보툴리눔 독소를 투여한 쥐의 뇌에서 신경전달물질의 분비가 특이적으로 감소하는 사실이 보고되었고, Moreno 등은 의식이 깨어있는 고양이에서 외직근에 보툴리눔 독소를 주입한 후 뇌의 외직근 핵에서의 방전형태가 변화함을 보고하여 위의 가설을 뒷받침하고 있다.^{13,14} 두번째는 보툴리눔 독소 주입 후 일정기간이 지나도 독소가 주입된 근육에 영구적인 근위축 현상을 초래할 수 있다는 것이다.¹²

McNeer 등은 원숭이 외안근에 보툴리눔 독소를 주입한 후에 근육의 절단면에서 영구적으로 근섬유의 수가 감소한다고 보고하였다.⁶ 이러한 현상에 의해 근육의 길이, 장력, 피로도에 영향을 주어 작용근과 대항근이 영구적인 균형을 이루게 된다.¹²

현재 일반적으로 보툴리눔 A 독소를 외안근에 정확히 주사하고 있는지 알기 위해서 테프론 코팅 주사바늘을 사용한 근전도검사(Electromyography)를 이용하고 있다.^{1,3,11} 이러한 방법은 긴 시술시간이 소요되며 근전도 증폭기에서의 소음과 환자 안면부에 위치하게 되는 바늘 등으로 환자의 불안을 증가시킨다. 또한 전신마취수술시 할로탄 등의 약제에 의한 근전도 활성의 감소를 가져올 수 있으며, 수술 중 안구천공이나 출혈의 가능성이 있다.^{11,15} 지금까지 보툴리눔 A 독소를 이용한 대부분의 임상과 실험 보고들은 근전도검사를 이용한 근육내 독소주입에 관한 것이었다. 그러나, 보툴리눔 A 독소를 이용하여 안면부 주름제거시술을 할 경우, 안면근육에 직접 주사하지 않고 피하주사를 하여도 안면부 근육마비효과를 나타내는 것에 착안하여 테논낭하 보툴리눔 A 독소 주사가 외안근섬유에 미치는 영향에 대하여 조직학적으로 연구해 보고자 하였다. 본 연구에서는 가토 외안근 주위 테논낭아래에 보툴리눔 A 독소를 주사한 후에 근육의 절단면에서 보툴리눔 A 독소 주사에 영향을 더 받는다고 알려진 안와층 근섬유의 단면적의 변화를

알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

연구는 외안부 및 안내 이상소견이 없는 체중 3.5에서 4.0kg의 뉴질랜드산 백색 가토 10마리, 20안을 대상으로 실험기간 중 동일한 배합사료 (신촌사료주식회사, 김포군, 경기도)로 사육하고 각각 우안은 대조군으로, 좌안을 실험군으로 시행하였다.

실험은 연세대학교 의과대학 실험동물윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee)의 방침 및 동물실험 관련 법규를 따랐다.

수술전 실험대상가토에 키로그램당 50mg의 ketamine hydrochloride (케타라[®], 유한양행, 군포시, 경기도)를 근육주사 후 키로그램당 50mg의 pentobarbital sodium (Entobar[®], 한림제약, 용인군, 경기도)을 이개 정맥에 주사하여 전신마취 하였다. 수술대 위의 고정틀에 실험동물을 고정하고 멸균 소독 상태하에서 소아용 Barraquer 개검기로 안검을 개방하고 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine[®], Alcon, Puurs, Belgium)로 점안마취를 하였다. 주사바늘 (28 guage needle)을 이용하여 10마리의 가토에 있어서 실험군으로 보툴리눔 A 독소 (Botox[®], Allergan

Pharmaceuticals, Irvine, Ca, USA)를 근부착부위에서 5mm 뒤쪽의 상직근 주위 테논낭아래에 각각 0.1ml 생리 식염수와 섞은 10 unit를 주사하였다. 반대편 눈의 같은 부위에 각각 0.1ml 생리식염수를 대조군으로 주사하였다. 보툴리눔 A 독소는 섭씨 영하 20도에서 냉동 보관하였으며 주사직전 희석하고 희석시 부드럽게 흔들여 독소파괴를 최대한 방지하였다. 시술 종료 후 젠타마이신 주사액 (황산 젠타마이신®, 동화약품, 안양시, 경기도) 5mg 을 가토의 대퇴부에 근육주사한 후 수술을 마감하고 항생제나 스테로이드 점안약은 투여하지 않았다.

3주간 사육한 가토를 희생시키고 두 눈을 안구적출하여 안구로부터 조심스럽게 상직근을 분리하였다. 분리된 상직근을 여과 종이에 조심스럽게 펼쳐 구부러짐을 방지하고 포르말린에 고정시키고 탈수시킨 후 파라핀에 묻었다. 근부착부위로부터 5mm 뒤쪽의 부위를 5 μ m 두께의 단층으로 잘라 Masson trichrome으로 조직을 염색하고 광학 현미경으로 관찰하였다.

안와층 단면의 근섬유의 직경을 Image-Pro Plus software를 이용하여 측정하였다. 측정된 근섬유 직경을 Kruskal-Wallis test 를 시행하여 실험군과 대조군을 비교하였다.

III. 결과

상직근을 Masson trichrome 염색 후 광학 현미경으로 관찰하였을 때 두 개의 뚜렷한 층을 확인할 수 있었다(그림 1). 안와쪽의 안와층은 근섬유가 직경이 작고 원형이며 밀도가 높고 상직근의 바깥쪽을 둘러싸고 있었다. 또한 안와층은 Masson trichrome으로 염색시 안구층의 근육보다 진하게 염색되는 특징이 있었다.

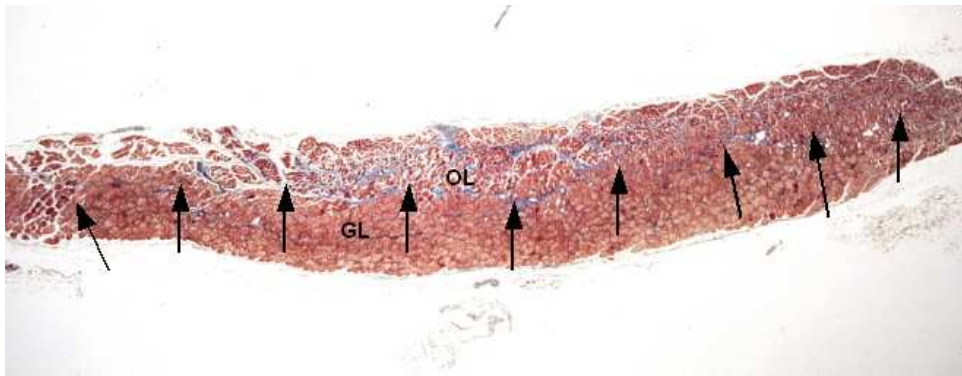


그림 1. 가토 상직근 근섬유의 단면. 안와층 근섬유의 직경이 안구층 근섬유의 직경보다 작다. 화살표는 안와층과 안구층의 경계를 나타낸다. GL: 안구층, OL: 안와층 (Masson trichrome 염색, $\times 32$)

주사 3주 후에 Image-Pro Plus software를 이용하여 안와층의 근섬유의 직경을 측정하였다. 보툴리눔 A 독소 테논양하 주사군의 경우 주사 3주 후 근섬유의 평균 직경은 $11.5 \pm 2.26 \mu\text{m}$ 였으며

대조군의 경우 근섬유의 평균 직경은 $14.4 \pm 3.77 \mu\text{m}$ 였다. 이 차이는 통계적으로 유의하였다 ($p < 0.01$). (표 1) (그림 2)

표 1. 가토에서 보툴리눔 A 독소 테논낭하 주사에 따른 안와층 근섬유의 직경¹의 변화.

실험군 ²	독소 주사군	대조군	P value
근섬유 직경 ¹	11.5 ± 2.26	14.4 ± 3.77	$P < 0.01^*$

¹ 단위는 μm 이고 그 값은 평균 \pm 표준편차로 나타냄.

² 독소주사군은 보툴리눔 A 독소를 10 unit를 주사하였고 대조군은 반대편 눈의 같은 부위에 0.1ml 생리식염수를 주사하였고 Masson trichrome으로 염색하고 안와층 단면의 근섬유의 직경을 측정하였다.

* Kruskal-Wallis test

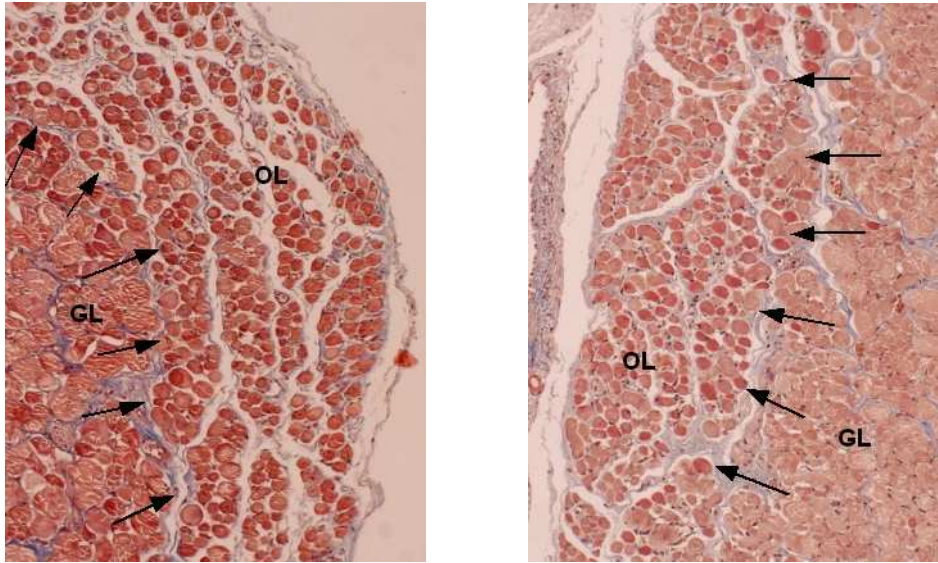


그림 2. 가토에서 테논낭하 주사 3주 후 상직근 안와층 단면. 보툴리눔 A 독소를 테논낭하 주사한 경우(좌측)에 안와층 근섬유의 직경이 대조군(우측)에 비하여 작았다. GL: 안구층, OL: 안와층 (Masson trichrome 염색, $\times 200$)

GL

보툴리눔 A 독소를 테논낭하 주사한 경우 근섬유의 직경이 $15\mu\text{m}$ 보다 작은 경우가 95%였으며 이에 비해 대조군에서는 근섬유 직경이 $15\mu\text{m}$ 보다 작은 경우가 59%였다. (그림 3)

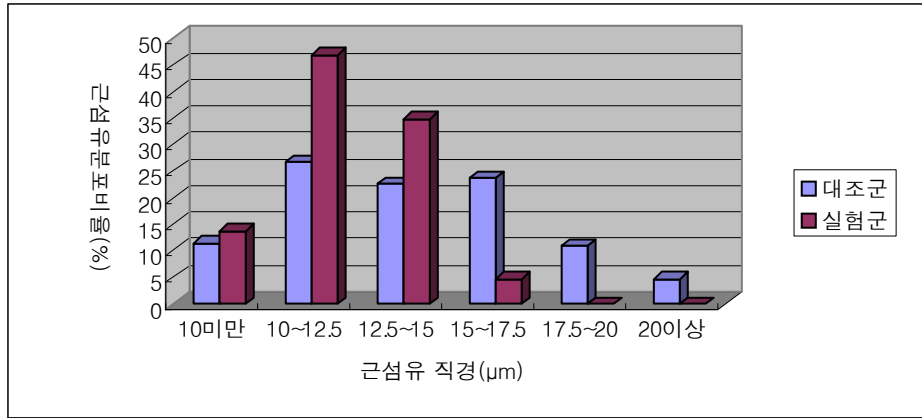


그림 3. 가토에서 테논낭하 주사 3주 후 상직근 안와층 근섬유 직경의 분포. 보툴리눔 A 독소를 주사한 경우에는 근섬유 직경이 15 μ m 보다 작은 경우가 95%였으며 대조군의 경우에는 15 μ m 보다 작은 경우가 59%였다.

IV. 고찰

보툴리눔 독소는 혐기성 박테리아인 *Clostridium botulinum*에 의해서 생산이 된다. 8가지 (A, B, C1, C2, D, E, F, G)의 항원형이 존재하며 이 중 신경독소는 C2를 제외한 7가지가 있다.^{16,17,18,19} 현재 A, B, E형이 임상에 사용되고 있다.¹⁹ 1989년 12월 보툴리눔 A 독소 (Botox[®], Allergan pharmaceuticals, Irvine, CA, USA), 2000년 12월 보툴리눔 B 독소 (Myobloc[®], Elan pharmaceuticals, San Diego, CA, USA)가 미국 식품의약청의 승인을 얻었다.¹⁹ 보툴리눔 A 독소는 약

900,000Da(Dalton)의 고분자량으로 각각 450,000Da의 2개 subunit으로 구성되며 이 subunit은 또 다시 150,000Da의 독성을 갖는 부분과 300,000Da의 독성이 없는 부분으로 나뉘어진다.¹⁹

독소의 작용기전은 운동신경, 교감신경 절전신경, 부교감신경 절후의 축삭말단에서 아세틸콜린의 분비를 저해한다.^{20,21} 이 과정은 3단계로 나누어지는 것으로 알려져 있다. 먼저 신경말단 부위의 콜린성 수용체에 결합되고 말단부위에서 세포 내로 이동되어 아세틸콜린 분비에 필수적인 SNARE (soluble N-ethyl-maleinide-sensitive factor attachment protein receptor)복합체를 단백분해 시킴으로써 근육을 일시 혹은 영구적으로 마비시키는 것으로 알려져 있다.²¹ 하지만 보툴리눔 신경독소는 신경전달을 방해하지 않으며 아세틸콜린의 저장, 합성에 영향을 주지도 않고 신경 말단내로 칼슘이온의 이동 역시 방해하지 않는 것으로 알려져 있다.¹⁶ 보툴리눔 신경독소에 의해 화학적 신경제거된 근육을 조사해 보면 근위축, 탈수초화 변화가 보이며 시간이 흐르면서 신경-근 접합부에서 새로운 신경이 자라나 6~9개월 뒤에는 완전히 회복된다.²² 쥐의 LD⁵⁰ (Lethal dose/50)은 1unit이며 사람에서의 LD⁵⁰은 약 키로그램당 39unit로 일상 치료용량에서는 안전한 약제이다.¹⁹

포유류의 외안근은 다른 골격근과 비교하여 구조적 및 기능적으로 매우 다른 특징을 지닌다.^{23,24,25} 구조적으로 외안근은 다른 골격근에

비해 구성하고 있는 근섬유들의 직경이 작고, 하나의 신경 세포가 지배하는 근섬유수가 적으며, 심장근을 제외하고는 어떠한 근육보다 혈류량이 풍부하며 대사활동도가 매우 높다.²⁶ 이러한 구조적인 특징은 기능적인 특이성을 나타나게 하는데 외안근은 다른 골격근보다 수축속도가 매우 빠르며, 운동 피로에 대한 저항이 강하고, 섬세한 운동을 잘 조절하고 있다.²⁷ 또한 외안근은 다른 근육에서 관찰할 수 없는 특이한 구조를 지니고 있는데, 모든 근육들은 빠른 운동 또는 느린 운동 중 한 종류 운동에만 관여하며, 구성하고 있는 근섬유들은 조직학적으로 구별하기 힘든 단일층으로 되어 있는데 반해 외안근은 최고속도가 600°/sec 이상인 신속운동 뿐만 아니라 한 물체에 지속적인 주시를 유지하기 위한 느린 추종운동까지 눈운동계가 요구하는 역동적이고 다양한 범위의 운동에 관여한다.¹² 외안근은 조직학적으로도 두 개의 뚜렷이 구별되는 층으로 이루어져 있는데, 골막과 안와골에 근접해 있는 바깥의 안와층과 시신경과 안구에 근접해 있는 안쪽의 안구층으로 이루어져 있다.^{23,26} 건으로 구별되는 근육의 부착부까지 근육 길이 전체에 걸쳐 뻗어 있는 안구층과는 달리 안와층은 근육이 건으로 바뀌기 전에 소실된다.^{23,26} 안와층은 풍부한 사립체와 혈관을 포함하는 직경이 작은 근섬유로 이루어져 있고, 안구층은 사립체의 수가 다양하고 혈관이 적고 직경이 큰 근섬유로 이루어져 있다.^{23,26}

보툴리눔 독소 주사에 의한 안와층의 변화는 몇몇 연구에 의해 보고되었지만 지금까지의 대부분의 보툴리눔 독소에 대한 연구는 근육내 주사를 통한 연구였다.²⁸ 임상에서 근전도검사를 이용하여 보툴리눔 A 독소 화학적 신경제거술을 시행할 때 먼저 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine[®], Alcon, Puurs, Belgium)로 점안마취를 한 후, 주사바늘 (27 guage monopolar needle electrode)과 환자의 이마에 부착시킨 접지 전극을 근전도 증폭기에 연결시키고 주사하려는 외안근의 운동방향과 반대방향으로 안구를 돌린 후 각막윤부에서 8~10 mm 떨어진 외안근 부착부에 주사바늘을 꽂고, 안구를 외안근의 운동방향으로 천천히 돌리면서 외안근을 따라 약 25~30 mm 후방으로 주사바늘을 삽입시켜 주사바늘 끝이 신경근 연결부 부위에 도달하여 근전도 증폭기에서 심한 호도까는 소리가 들릴 때 정량의 보툴리눔 A 독소를 주입하고 있다.^{1,3,11} 근전도검사를 이용하면 주사기 침부의 위치를 외안근의 정확한 부위에 위치시킬 수 있으나 결막하 출혈, 안구천공, 구후출혈 등의 위험성이 있으며 근전도의 이용은 외안근에 정확한 주사가 될 수 있도록 도와주지만 주사바늘에 의한 합병증을 막는 데는 도움을 주지는 못한다고 알려져 있다.^{11,15,29} 사시 환자에서 보툴리눔 독소 주사는 1세 이하 그리고 6세 이상에서는 국소마취만으로도 시행할 수 있으나 전신 마취하에서 시행할 때 질산 산화물 (nitric oxide), 플루오테인 (fluothane),

바르비투르산염(barbiturate)등을 사용하면 근전도 활성을 감소 혹은 억제 시킬 수가 있어서 술자가 전극 주사바늘을 적절히 유지시켰는지 알기가 어렵다.¹⁹ 케타민의 경우 마취동안에도 근전도의 반응이 유지되기 때문에 가장 적절한 약제로 생각되고 있지만 케타민은 복시를 유발하고 안운동을 증가시키며 안검연축, 환각, 악몽, 공포감 등을 유발할 위험이 있어 안과적 수술의 전신마취에 적절한 마취제는 아니다.^{19,29}

이번 연구에서 보틀리눔 A 독소 테논낭하 주사 3주 후에 가토의 외안근에서 안와층의 근섬유의 크기가 감소함을 알 수 있었다. 보틀리눔 독소를 테논낭 아래에 주사하게 되면 보틀리눔 독소는 주사한 지점 주위로 자유롭게 퍼져나가게 되며 퍼져나간 독소가 외안근 아래쪽으로 들어가게 되어 이에 화학절단 효과가 나타난 것으로 생각된다. 외안근 안와층 근섬유의 위축은 보틀리눔 독소에 의해 신경근접합부의 접합부 단절의 결과로, 반응에 산소가 필요한 위치인 근섬유의 종관 부위의 활동이 감소되었기 때문으로 생각된다. 반면 이번 연구에서 관찰하지는 않았지만 안구층은 해당 과정을 에너지 생산과정에 사용할 수 있으므로 보틀리눔 독소에 덜 영향을 받지 않을까 생각된다.⁷

이번 연구에서는 좌안 상직근을 실험군으로 하여 보틀리눔 A 독소를 주사하였고 우안 상직근을 대조군으로 하여 생리식염수를

주사하였는데 이는 동일 가토에서 양쪽 외안근 사이에 근섬유의 크기가 가장 비슷하리라는 생각에 이런 방법으로 실험을 진행하였다.

앞으로 더 많은 연구가 필요하겠지만 이번 연구에서 테논낭하 독소 주입술도 임상에서 유용하게 사용할 수 있음을 알 수 있었다. 테논낭하 보틀리눔 독소 주입술의 장점을 생각해 보면 안구 천공의 위험성이 감소되며 수술 시간이 단축되고 소음이나 긴 주사바늘등에 의한 환자의 공포감을 감소시킬 수 있으며 수술 비용을 감소시킬 수 있고 전신 마취가 필요한 어린이에서 케타민을 사용하지 않는 안전한 방법으로 전신 마취 수술이 가능하므로 유용한 시술 방법으로 사용될 수 있겠다. 그러나, 하사근이나 하직근에 보틀리눔 독소 주입이 필요한 경우와 같이 주사 시 정확한 근육 위치에 대한 확신이 필요한 경우에는 근전도의 사용이 필요할 것이다.

앞으로는 보틀리눔 독소의 테논낭하 주입술시 독소의 영향이 어느 시기까지 지속되는지, 독소 용량에 따른 근섬유의 크기 변화 등에 대한 연구가 필요하며 임상실험을 통해 테논낭하 주입술시 환자에게 주사할 용량에 대한 연구, 지속 시간에 대한 연구 등이 필요할 것으로 생각된다.

V. 결론

이번 연구에서 가토에서 안와층의 근섬유가 선택적으로 보툴리눔 독소 테논낭하 주사에 영향을 받아 근섬유의 직경이 감소함을 알 수 있었다. 그 기전은 보툴리눔 독소의 테논낭하 주사 후 퍼져나간 독소가 외안근 아래쪽으로 이동하여 화학절단 효과를 가져와 외안근섬유의 위축을 가져왔다고 생각된다. 이번 연구는 보툴리눔 독소의 테논낭하 주사가 근진도를 이용한 보툴리눔 독소 주입술에 대신하여 이용될 수 있는 근거를 마련하였으며 이 영향이 어느 정도 지속되는지, 어느 정도 용량이 필요한지 추가적 연구가 필요하며 또한 인체에서 어느 정도의 지속성과 용량이 필요한지 연구되어야 할 것이다.

참고문헌

1. 한국사시,소아안과학회. 최신사시학. 1st ed. 서울: 도서출판 내외학술: 2004;323-336.
2. Scott AB. Botulinum toxin injection into extraocular muscles as an alternative to strabismus surgery. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 1980;17:21-25.

3. 한승한. 보툴리눔 A 독소 외안근 화학절단술의 치료 효과. 대한의사협회지 1997;40:654-660.
4. EG Buckley. Chemodenervation of extraocular muscles. In Tasman W, eds. Duane's Clinical Ophthalmology. 3rd ed, Philadelphia: J.B.Lippincott, 1993;1-14.
5. 이성호, 한승한, 이종복. 한국인 사시환자에서 보툴리눔 A독소 화학절단술의 임상적 고찰. 대한안과학회지 2003;44:1592-1599.
6. Spencer RF, McNeer KW. Botulinum toxin paralysis of adult monkey extraocular muscle. Structural alteration in orbital, singly innervated muscle fibers. Arch Ophthalmol 1987;105:1703-1711.
7. Ohtsuki H, Hasebe S, Okano M, Furuse T. Morphological changes in the orbital surface layer muscle of the rabbit eye produced by botulinum toxin. Ophthalmologica 1998;212:53-60.
8. Okano M, Passive length-tension curves of extraocular muscles after botulinum toxin injection. Nippon Ganka Zasshi 1993;97:150-155.
9. Han SH, Lew H, Jeong CW, Lee JB. Effect of botulinum toxin A chemodenervation in sensory strabismus. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 2001;38:68-71.

10. Fitzsimons R, Lee J, Elston J. The role of botulinum toxin in the management of sixth nerve palsy. *Eye* 1989;3:391-400.
11. 임찬영, 한승한, 이종복. 반복적인 보툴리눔 독소 화학 절단술 시행 후 발생한 합병증의 고찰. *대한안과학회지* 2002;43:2489-2493.
12. 한승한, 정준균, 유혜린. 만성마비사시에서 보툴리눔 독소 화학절단술의 효과. *대한안과학회지* 2000;41:751-758.
13. Ashton AC, Dolly JO. Characterization of the inhibitory action of botulinum neurotoxin type A on the release of several transmitters from rat cerebrocortical synaptosomes. *J Neurochem* 1988;50:1808-1816.
14. Moreno-Lopez B, Cruz RR, Poster AM, Delgado-Garcia JM. Botulinum neurotoxin alters the discharge characteristics of abducens motoneurons in the alert cat. *J Neurophysiol* 1994;72:2041-2044.
15. 김재성, 한승한, 유혜린. 사시환자에서의 보툴리눔 A 독소 화학절단술의 합병증 고찰. *대한안과학회지* 2000;41:1585-1591.
16. Melling J, Hamblelin P, Shone CC. Clostridium botulinum toxin: nature and preparation for clinical use. *Eye* 1988;2:16-23.
17. Simpson LL. The origin, structure, and pharmacologic activity of botulinum toxin. *Pharmacol Rev* 1981;33:155-188.

18. Kao I, Drachman DB. Botulinum toxin: mechanism of presynaptic blockade. *Science* 1976;193:1256-1258.
19. 오상윤, 손미아, 이주연, 신민철. 내사시에서 보툴리눔 A 독소 화학절단술의 효과. *대한안과학회지* 2004;45:112-116.
20. Sellin LC. The pharmacological mechanism of botulinum. *Trends Pharmacol Sci* 1985;6:80-82.
21. Setler PE. Therapeutic use of botulinum toxins: background and history. *Clin J Pain*. 2002;18:119-124.
22. Pamphlett R. Early terminal and nodal sprouting of motor axons after botulinum toxin. *J Neurol Sci* 1989;92:181-192.
23. Poter JD, Baker RS, Ragusa RJ, Brueckner JK, Extraocular muscles: Basic and clinical aspects of structure and function, major review. *Surv Ophthalmol* 1995;39:451-484.
24. Poter JD, Baker RS. Muscles of a different 'color' : The unusual properties of the extraocular muscles may predispose or protect them in neurogenic and myogenic disease. *Neurology* 1996;46:30-37.
25. Durston JH. Histochemistry of primate extraocular muscles and the changes of denervation. *Br J Ophthalmol* 1974;58:193-216.
26. Oh SY, Poukens V, Demer JL. Quantitative analysis of rectus

- extraocular muscle layers in monkey and humans. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001;42:10-16.
27. Spencer RF, Potter JD. Structural organization of the extraocular muscles. Rev Oculomot Res 1988:33-79.
28. Kranjc BS, Sketelj J, D'Albis A, Erzen I. Long-term changes in myosin heavy chain composition after botulinum toxin A injection into rat medial rectus muscle. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001;42:3158-3164.
29. E.C. Benabent, P.G. Hermosa, M.T. Arrazola. Botulinum toxin injection without electromyographic assistance. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 2002;39:231-234.

Abstract

Morphological changes
after subtenon botulinum toxin A injection
into rabbit extraocular muscles

Hyun Seok Kwon

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Sueng-Han Han)

Botulinum toxin has been used to treat strabismus and other neuromuscular diseases. Botulinum toxin A is a potent presynaptic neuromuscular blocking agent, which induces denervation-like alterations in the motor innervation of skeletal muscle fibers. Currently, when injecting botulinum toxin A into the extraocular muscle, EMG(Electromyography) is used for accurate location. Because EMG guidance is a prolonged procedure, is noisy, and involves the placement of a long needle in front of the patient, patients invariably feel anxious. In

this study, we examined the effects of subtenon botulinum toxin injection without EMG guidance by quantifying the morphological changes of the rabbit extraocular muscle fibers.

Experiments were performed with 10 New zealand white rabbits. Ten units of botulinum toxin A in 0.1ml of sterile saline was injected into the subtenon space of the ipsilateral superior rectus muscles 5mm from the muscle insertion. 0.1 ml of normal saline, as a control, was injected into subtenon space of contralateral superior rectus muscles. At 3 weeks after injections, the bilateral superior rectus muscles of each rabbit were carefully disinserted from the globe. Cross-sections with 5 μ m thickness were obtained at a site 5mm from the insertion of each superior rectus muscle. Sections were stained with Masson' s trichrome and observed by light microscopy. Using an Image-Pro Plus software, the diameter of the orbital layer myofibers was measured. The statistical analysis was done with Kruskal-Wallis test.

Quantitative changes were noted in the muscle fibers of the orbital layer following the injection of 10 units of botulinum toxin. The average diameter of the orbital layer fiber cells

after botulinum toxin injection was $11.5 \pm 2.26 \mu\text{m}$ at 3 weeks, whereas that of the control was $14.4 \pm 3.77 \mu\text{m}$. The difference was statistically significant ($p < 0.01$).

Three weeks after subtenon botulinum injection, the diameter of myofibers in the orbital layer of the rabbit superior rectus muscle was reduced significantly compared with that of the control. The effects of subtenon botulinum toxin injection may be comparable to that of intramuscular injection. However further studies about long-term changes would be needed.

Key words: Botulinum toxin A, Chemodeneration, Subtenon injection, Extraocular Muscle,