

자가혈청 안약 제조

김현수¹ · 이제광² · 이은경² · 나현진² · 김현옥²

국립경찰병원 진단검사의학과¹, 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실²

Preparation of Autologous Serum Eye Drops

Hyunsoo Kim¹, Jekwang Lee², Eun Kyung Lee², Hyunjin Nah², Hyun Ok Kim²

Department of Laboratory Medicine, National Police Hospital¹, Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine², Seoul, Korea

In Korea, demand for autologous serum eye drops (ASEs) is increasing for treatment of severe dry eye diseases. However, since the MFDS (Ministry of Food and Drug Safety) does not have guidelines for use of ASEs, they are manufactured according to their own protocols by each medical institution. ASEs should be taken with caution to avoid contamination during the manufacturing process since blood must be used as a raw material and must be prepared in an open space. In this paper, we briefly review reports on ASEs and share our experience with the introduction of ASE manufacturing protocols at Severance hospital. (*Korean J Blood Transfus* 2018;29:68-72)

Key words: Autologous serum eye drop, Manufacturing protocol

서론

자신의 혈액으로 제조된 자가혈청 안약은 혈청 내에 있는 상피세포성장인자(EGF, Epithelial Growth Factor), vitamin A, 조직성장인자(TGF- β , Tissue Growth Factor), fibronectin, α -1,2-macroglobulin 및 β -globulin 등이 풍부하여, 눈물 결핍으로 이러한 성분이 부족한 환자 즉 난치성각막 환자, 건성각막 환자, 신경이영양증 환자에 치료효과가 있으며, 눈물 기능은 정상이지만, 기저막 손상으로 인한 창상치유 지연의 경우에도

성장인자 및 fibronectin을 보충할 수 있어 시판되는 인공 눈물에 비해 치료효과가 우수한 것으로 보고되고 있다[1]. 이에 자가혈청 안약에 대한 요구가 늘어나고 있지만 국내에서는 아직 이에 대한 규제기관의 정해진 가이드라인이 없어 기관마다 각각의 protocol을 적용하여 제조되고 있는 실정이다. 그러나 이는 개방된 공간에서 혈액을 원료로하여 제조되는 의약품이기 때문에 오염을 방지하기 위한 각별한 주의가 필요하다. 이에 본 원고에서는 외국의 자가혈청 안약 제조의 사례를 살펴보고 세브란스병원의 자가혈청 안약 제조 방

Received on February 5, 2018. Revised on March 10, 2018. Accepted on March 11, 2018

Correspondence to: Hyun Ok Kim

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea

Tel: 82-2-2228-2444, Fax: 82-2-364-1583, E-mail: hyunok1019@yuhs.ac, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4964-1963>

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Copyright ©2018 The Korean Society of Blood Transfusion

법을 소개하면서 그 경험을 공유하고자 한다.

본 론

1. 자가혈청 안약 사용의 역사

1984년 Fox 등[2]이 심한 안구건조증을 보이는 쇼그렌 증후군의 치료에 자가혈청을 사용하여 효과가 있다고 처음으로 발표하였지만 과학적 근거를 가지고 사용하게 된 것은 1999년 이후이다. Tsubota 등[3]이 눈물의 조성이 혈청과 거의 유사하다는 점과 혈청 내에는 각막 상피세포의 이동, 증식, 분화 등을 돕는 영양소들이 풍부하여 시판되는 인공눈물에 비해 효과가 좋다는 것을 보고하여 전세계적으로 자가혈청 안약이 광범위하게 퍼지게 되었다[4]. 현재는 2004년 독일의 Geerling 연구팀[5]이 발표한 자가혈청 안약 제조 표준지침에 따라 각 기관마다 조금씩 방법을 변형하여 의료기관 또는 제조를 위탁 받은 혈액원, 연구소 등에서 제조하여 사용하고 있다.

2. 자가혈청 안약 제조에 대한 국제 설문조사 결과

유럽에서는 Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) 협의체에서 회원 국가를 대상으로 자가혈청 안약의 제조 및 사용여부에 대한 설문조사를 시행하여 보고하였다[6]. 설문에서는 자가혈청 제조를 위해 헌혈자의 선별, 채혈방법, 제조방법, 감염표지자 검사 실시, 유효기간, 동종 및 자가혈청 안약 제조의 규제요건 등에 관해 질문하였다. 37개 기관이 설문문에 응답하였는데 이중 21개 기관에서 자가혈청 안약을 사용하고 있었으며 그 중 12개 기관은 국가 또는 지역 혈액센터에서, 9개 기관은 의료기관에서 제조한다고 회신하였다. 설문 참여 국가는 미국, 일본, 네덜란

드, 뉴질랜드, 호주, 이탈리아, 영국, 체코, 캐나다, 스페인, 아일랜드, 독일로 총 12개국이었다. 자료를 분석한 결과 채혈방법과 제조방법은 기관마다 상당한 차이를 보였지만 환자가 집에서 보관하면서 점안할 수 있도록 소량 포장된다는 것은 동일한 것으로 조사되었다. 다만 앞으로 자가혈청 안약을 동종혈청 점안액으로 전환하고자 하는 노력이 보였으며, 이런 방향으로 간다면 제조방법이 좀더 표준화 될 것으로 기대한다고 결론지었다.

3. 국내의 자가혈청 안약 제조 현황 조사

국내에서 자가혈청 안약은 심한 안구건조증 환자에게 사용되는 의약품이나 식품의약품안전처의 허가가 요구되는 제품은 아니어서 안과에서 쉽게 제조하여 사용할 수 있다. 또한 건강보험심사평가원이 자가혈청 안약에 대해 2005년 8월 1일(복지부고시 2005-50호)부터 공식적 비급여를 받을 수 있도록 인정하면서 안과에서 그 사용량이 증가하고 있다. 그러나 이에 대한 보고는 안과를 중심으로 치료 효과에 대한 논문으로 보고되었으며[7,8] 국내에서 자가혈청 안약 제조 현황의 조사는 2014년 이 등[9]에 의해 처음으로 시행되었다. 혈액매개감염성 질환 검사 시행 여부, 채혈량, 제조 점안 용기의 종류, 제조 방법, 제조 담당 부서, 보관방법, 유효기간 등과 관련된 31개의 문항으로 설문조사를 실시하였다. 상급종합의료기관을 중심으로 32개의 의료기관에 e-mail 로 설문을 보내 13개 기관으로부터 회신을 받았으며, 그 결과는 국내에서도 각 기관에 따라 제조 방법이 달랐으며, 이에 대한 표준화가 필요함을 제시하면서 외국의 제조 방법과 비교하여 GMP 기준에 따른 표준화 가이드라인을 제안하였다.

4. 세브란스병원의 자가혈청 안약 제조 및 공급 현황

세브란스병원에서 자가혈청 안약은 안과에서 자체적으로 채혈하고 제조하는 방식에서 2014년부터는 진단검사의학과 혈액은행에서 제조하여 환자에게 제공하고 있다. 혈액은행에서 자가혈청

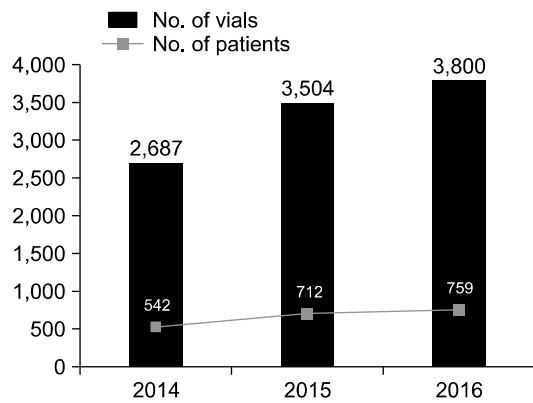


Fig. 1. Number of patients with autologous serum eye drops at Severance Hospital.

안약을 제조 공급한 환자수는 2014년 542명, 2015년 712명, 2016년 759명으로 꾸준히 증가하고 있다(Fig. 1).

자가혈청 안약은 점안 용기 플라스틱 병에 5 mL로 소분하고 (단안으로 사용하는 경우 약 50회 사용이 가능), 일일 3~5회 넣은 경우 약 1주일 사용할 수 있도록 제조하고 있다. 항응고제가 없는 튜브(Becton Dickinson Vacutainer®, 10 mL plastic tube, Fraklin Lakes, NJ USA)에 정맥혈을 10 mL를 채혈하는 경우 점안 용기 한 병에 약 5 mL의 혈청 원액(100%)으로 제조가 가능하다. 자가혈청 안약을 100% 원액으로 4개의 점안용기를 만들기 위해서는 튜브 4개를 채혈하며, 생리 식염수와 1:1 비율로 희석하는 50% 자가혈청 안약을 제조해야 하는 경우에는 2 튜브, 20%를 제조해야 하는 경우는 튜브 한 개를 채혈한다. 일반적으로 한달 사용할 수 있도록 4 병을 제조하는 것을 원칙으로 하지만, 안과에서 요청이 있을 경우 최대 3개월 사용량까지 제조하고 있다(12 병). 모든 조작은 Class II의 생물학적 안전상자 내에서 시행하고 있으며, 사용하는 모든 소모품은 멸

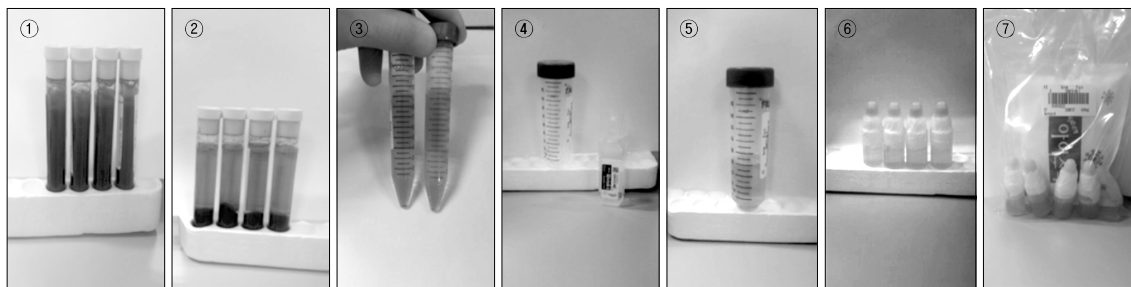


Fig. 2. Production of autologous serum eye drops. ① Phlebotomy (10~20 mL whole blood) into a sterile tube (no additive). ② Allow whole blood to clot for 30 minutes at room temperature. ③ Centrifuge at 4000 rpm for 15 minutes and transfer serum into a 10 mL conical tube. ④ 50 mL conical tube and 0.9% NaCl 20 mL ampule. ⑤ Dilute 20% or 50% with 0.9% NaCl. ⑥ Aliquot to labeled dropper bottle with name. ⑦ Wrap the dropper bottles into the bag with ice pack.

균 처리된 1회용을 사용한다. 혈청을 점안 용기로 소분할 때는 멸균된 주사기를 사용한다. 자가혈청을 사용하기 때문에 혈액매개감염성 질환 검사는 따로 시행하지 않고 있으며, 안약을 출고 할 때 가족간에 서로 상호 사용을 해서는 안 된다는 것을 환자에게 따로 설명하고 있다. 혈청 내의 vitamin A는 자외선 노출 시 빠르게 감소하므로 이의 손실을 줄이기 위해 차광을 권장하기도 하는데 본원에서는 특별히 차광에 대한 조치를 하지 않는다. 실제 제조하는 사진은 Fig. 2에 정리하였으며, 다른 기관[1,9]과의 비교는 Table 1에 요약하였다.

결론

자가혈청 안약의 제조과정은 전 세계적으로 표준화 되어 있지 않고 여러 방식이 존재하고 있다. 그러나 기본적으로 세 단계로 나뉘어 제조된

다. 즉 항응고제가 없는 튜브에 환자의 정맥혈을 채혈하고(1단계), 이를 실온에서 천천히 응고시킨 후에 원심 분리한다(2단계). 마지막 세번째 단계에서 Class II의 생물학적 안전상자 내에서 상층액인 혈청을 무균적으로 점안용기에 소분한다. 이 때, 일반적으로는 생리식염수로 혈청을 희석하여 주로 20% 혈청 점안액을 만들지만, 각막의 건조 정도, 각막 손상 여부에 따라 안과의 요청에 의해 50%, 100%의 세가지로 제조된다[8].

자가혈청 안약은 안과 환자들을 위한 치료제로서의 요구도는 증가하고 있지만, 실제 제조를 하고자 하면 몇가지 문제가 제기될 수 있다. 안과에서 직접 수행하기에는 술기의 전문성과 청결환경 유지의 문제가 있고, 진단검사의학과에서는 개방환경에서 혈액을 원료로 한 치료제를 제조하는 것에 대한 부담감이 있다. 약국에서 제조할 경우, 무균환경의 확보라는 장점은 있으나 의약품이 아닌 혈액을 치료제로 제조하는 과정은 부서

Table 1. Parameters that have to be defined in the production of autologous serum eye drops

Product factor	Severance Hospital	Published variations*
Clotting phase	30 min	0~2 days
Centrifugal force	4000 rpm	1500 rpm to 4000 rpm
Duration of centrifugation	15 min	5~20 min
Dilution	20%, 50%, or 100%	20%, 33%, 50% or 100%
Serum transference	Disposable syringes	Disposable syringes Sterile pipette
Diluent	0.9% NaCl	0.9% NaCl, BSS Chloramphenicol eye drop
Filtering	NA	NA~0.2 μm
Container	dropper bottle	1~6 mL Insulin syringe or dropper bottle
Opened eye drop bottle		
Storage temp. Shelf life	4°C, 14 days	4°C, 3 hours~30 days
Unopened eye drop bottle		
Storage temp. Shelf life	-20°C, 3 months	-20°C~4°C, 7 days~3 months
UV light protection	NA	NA~application
Number of daily applications	1~3 times	3 times to hourly

Abbreviations: rpm, rounds per minute; BSS, balanced salt solution; temp, temperature; NA, not applicable.

의 거부감을 초래할 수도 있어 실제로 업무를 수행하기가 쉽지 않다. 따라서 실제적으로 가장 적합한 제조 부서는 혈액관리업무에 익숙한 혈액은행이라 생각한다. 다만 100% 자가혈청 안약의 경우 혈액안구장벽 기능으로 안구표면 감염(ocular surface infection)이 발생되지 않았으나, 검사실의 세균배양 검사에서는 세균이 검출된 예가 보고된 바 있어[10] 제조시 오염에 대해 특별한 주의가 필요하다. 그러나 무엇보다도 환자가 집에서 냉장고에 보관하면서 여러 번 사용할 때의 오염 가능성과 냉장보관이 아닌 실온 방치 후 재사용 등에 따른 오염 문제에 대해 환자에게 철저한 사전 교육이 강조되어야 할 것이며, 냉동보존 후 해동하여 사용하는 경우 그 유효기간을 1일로 제한하는 외국의 규정[5]도 우리가 참고해 볼만하다.

References

1. Yamada C, King KE, Ness PM. Autologous serum eyedrops: literature review and implications for transfusion medicine specialists. *Transfusion* 2008;48:1245-55
2. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum* 1984;27:459-61
3. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology* 1999;106:1984-9
4. Noble BA, Loh RS, MacLennan S, Pesudovs K, Reynolds A, Bridges LR, et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol* 2004;88:647-52
5. Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1467-74
6. Marks DC, van der Meer PF; Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Serum eye drops: a survey of international production methods. *Vox Sang* 2017; 112:310-7
7. Yoon KC, Heo H, Im SK, You IC, Kim YH, Park YG. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007;144: 86-92
8. Cho YK, Huang W, Kim GY, Lim BS. Comparison of autologous serum eye drops with different diluents. *Curr Eye Res* 2013;38: 9-17
9. Lee HR, Hong YJ, Chung S, Hwang SM, Kim TS, Song EY, et al. Proposal of standardized guidelines for the production and quality control of autologous serum eye drops in Korea: based on a nationwide survey. *Transfusion* 2014;54:1864-70
10. Thanathanee O, Phanphruk W, Anutara-pongpan O, Romphruk A, Suwan-Apichon O. Contamination risk of 100% autologous serum eye drops in management of ocular surface diseases. *Cornea* 2013;32:1116-9