

결막하주사한 Cytarabine의 외안부내 농도

성공제 · 함창훈 · 장재우

= 요 약 =

5-FU보다 10-20배 강력한 항대사제로 알려진 cytarabine의 약물역동을 알아보기 위하여 cytarabine 5mg을 결막하주사한 후에 시간 경과에 따른 외안 부내에서의 농도를 방사선 동위원소를 이용하여 측정하였다. 결막하주사 1시간 후에 cytarabine의 농도는 주사부위의 결막, 공막, 주사부위로 부터 180° 떨어진 결막, 공막이 각각 1217, 612, 36.1, 31.6 $\mu\text{g/g}$ 이었으며 5시간 후에는 주사부위의 결막, 공막, 주사부위에서 180° 떨어진 결막, 공막의 농도와 비슷하게 되었다. 10시간 후에는 주사부위의 결막, 공막, 주사부위로 부터 180° 떨어진 부위의 결막 그리고 공막의 농도가 각각 2.7 ± 0.3 , 2.3 ± 0.2 , 1.9 ± 0.1 , $1.1 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ 이었고, 24시간 후에는 각각 1.9 ± 0.4 , 1.7 ± 0.2 , 1.2 ± 0.2 , $0.9 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 이었다. cytarabine의 각막과 전방내의 농도는 결막하주사 1시간 후에 10.3, 10.1 $\mu\text{g/g}$ 이었으며 24시간이 후에는 0.9, 0.9 $\mu\text{g/g}$ 이었다. 결막하주사 후 24시간이 지나서도 주사부위에서 180° 떨어진 결막과 공막의 cytarabine의 농도는 결막섬유아세포의 증식을 50% 억제하는데 필요한 농도보다는 높은 것임을 알 수 있었다(한안지 35 : 235~240, 1994).

= Abstract =

The Concentration of Cytarabine in the External Segment of the Eye After Subconjunctival Injection

Gong Je Seong, M.D., Chang Hoon Ham, M.D., Jai Woo Jang, M.D.

Five milligram of cytarabine was injected subconjunctivally in the rabbit eye, and its concentration changes in the cornea, aqueous humor, and conjunctiva and sclera (both at the injection site and 180° away from it) were determined by radioassay. The cytarabine concentrations in the conjunctiva and the sclera at

<접수일 : 1993년 8월 23일, 심사통과일 : 1993년 9월 27일>

연세대학교 의과대학 안과학교실

Department of Ophthalmology, College of Medicine Yonsei University

본 논문은 1992년 69차 대한안과학회 추계학술대회에서 발표되었음.

the injection site were 1217, 612 $\mu\text{g/g}$ at one hour. The cytarabine concentrations in the conjunctiva and the sclera at 180° away from the injection site were 36.1, 31.6 $\mu\text{g/g}$ at one hour. At five hours, the cytarabine concentrations in the conjunctiva and the sclera at the injection site were similar to those 180° away from it, both averaging about 6.2 $\mu\text{g/g}$. They decreased to 0.9 through 1.9 $\mu\text{g/g}$, while the latter was 0.09mg/L at one hour, the former decreased to 0.9 $\mu\text{g/g}$, while the latter was 0.9mg/L at 24 hours. The cytarabine concentrations in the conjunctiva and the sclera at 24 hours were still above the reported 50% inhibition levels(ID₅₀) for the cultured conjunctival fibroblast. These findings have potential clinical implications for the safe use of cytarabine(J Korean Ophthalmol Soc 35 : 235~240, 1994).

Key Word : Subconjunctival injection, Cytarabine, ID₅₀, Fbroblast

최근에는 섬유아세포의 증식을 억제하는 항대사제를 녹내장 여과수술 후에 결막하주사하여서 수술의 성공률을 높이려는 연구가 진행되고 있다.

Gressel등¹⁾이 처음으로 동물에서 후공막절제술 후에 Fluorouracil(5-FU)를 결막하주사하여 사용을 시도한 이래 여러사람들에 의해서 수술의 성공률을 높일 수는 있었으나 부작용으로 각막상피손상, 결막창상누출, 상맥락막출혈등이 발생했다고 하며 잦은 결막하주사로 인하여 환자의 불편함과 고통이 문제점으로 알려지고 있다. 따라서 적은 용량으로도 결막섬유아세포에 대해서 강력한 증식억제력을 나타내는 새로운 약제가 필요하게 되었다. Pyrimidine 유도체인 cytarabine은 강력한 결막섬유아세포의 성장억제력을 보이는 항대사제로서 녹내장 여과수술 후에 쓸 수 있는 좋은 약물로 알려지고 있다. 그러나 아직까지 cytarabine의 안조직내에서의 약물역동에 대해서는 알려진 바가 없다. 이에 본 연구자들은 가토에 cytarabine을 결막하주사하여 시간에 따른 외안부의 농도를 측정하여 이를 토대로 녹내장 여과수술 후에 cytarabine을 결막하주사할 때의 기초 자료로 삼고자 한다.

재료 및 방법

외안부에 이상이 없는 체중 2.5-3.0kg 백색 가토 50마리를 실험 대상으로 하였다. 실험 대상 가토에

kg당 30mg의 pyrimidinetrione¹⁵-ethyl-5 monosodium salt (Entobar[®], 한림제약)를 이개정 맥내에 주사하여 마취를 시행한 후 고정틀에 실험동물을 고정시킨 후 수술현미경하에서 가토안의 상이측 결막에 [5-³H] Cytosine β -D-Arabinoside (specific activity 32 Ci/mmol, AMERSHAM)와 cytosine β -D-Arabinoside(Cytarabine, 중외제약)을 섞어서 radioactivity가 3.8 $\times 10^7$ cpm per 20mg/ml 되게 만든 용액 0.25ml를 30 gauge 주사침을 이용하여 각막 윤부로부터 4mm 떨어진 곳에 결막하주사 하였다. 결막하주사 후 3분간 약물의 역류를 막기 위하여 면봉으로 주사부위를 누른 다음에 결막낭을 생리식염수로 씻어 내었다. 결막하주사 후 1, 3, 5, 10, 24시간에 각각 10마리의 가토에서 전방을 천자하여 100 μl 의 전방수를 채취한 다음 실험동물을 죽이고 각막, 주사부위의 결막과 공막, 주사부위에서 180° 떨어진 결막과 공막을 도려내서 (5mm \times 5mm) 무게를 측정한 후 조직들을 glass scintillation vial에 넣었다. 여기에 Beckman Tissue Solubilizer를 1ml씩 넣고 50°C에서 24시간 놓아두어서 조직을 완전히 녹인 후 10ml의 radiation counting cocktail (toluene 667ml, Triton X-100 333 ml, 2,5-diphenyloxazole 7.0g, 1,4-bis [5-phenyl-2-oxazolyl] benzene 0.3g)을 섞고 LS 500 TA liquid scintillation counter(Beckman 사)로 조직내의 약물의 농도를

측정하였으며 방수는 바로 radiation counting cocktail과 섞은 후에 농도를 측정하였다.

결 과

결막하주사 1시간 후에 각 부위에서의 cytarabine의 농도는 주사부위의 결막과 공막이 각각 1217 ± 361 , $612 \pm 185 \mu\text{g/g}$, 주사부위에서 180° 떨어진 부위의 결막과 공막이 각각 36.1 ± 17.5 , $31.6 \pm 4.7 \mu\text{g/g}$ 으로서 비교적 많은 양의 cytarabine이 주사 후 1시간만에 주사부위로 부터 180° 떨어진 결막과 공막에 도달하였으며, 3시간 후에는 주사부위의 결막, 공막, 주사부위로 부터 180° 떨어진 부위의 결막 그리고 공막의 농도가 각각 49.2 ± 10.4 , 24.3 ± 3.7 , 9.7 ± 0.9 , $8.5 \pm 0.7 \mu\text{g/g}$ 이었다. 5시간 후에는 주사부위의 결막과 공막이 각각 6.9 ± 0.9 , $5.7 \pm 0.6 \mu\text{g/g}$, 주사부위에서 180° 떨어진 부위의 결막과 공막이 각각 6.3 ± 0.2 , $5.9 \pm 0.4 \mu\text{g/g}$ 으로서 주사부위의 결막, 공막, 주사부위와 180° 떨어진 결막 및 공막의 농도와 비슷하게 되었다. 10시간 후에는 주사부위의 결막, 공막, 주사부위로 부터 180° 떨어진 부위의 결막 그리고 공막의 농도가 각각 2.7 ± 0.3 , 2.3 ± 0.2 , 1.9 ± 0.1 , $1.1 \pm 0.2 \mu\text{g/g}$ 이었고, 24시간 후에는 더 낮아져서 각각 1.9 ± 0.4 , 1.7 ± 0.2 , 1.2 ± 0.2 , $0.9 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 이었다. cytarabine의 각 막내 농도는 결막하주사 1시간 후에 $10.3 \pm 3.1 \mu\text{g/g}$ 이었으며 이후로 점차 감소하여 24시간후에는 $0.9 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ 이었다. 전방내의 cytarabine 농도는 결막

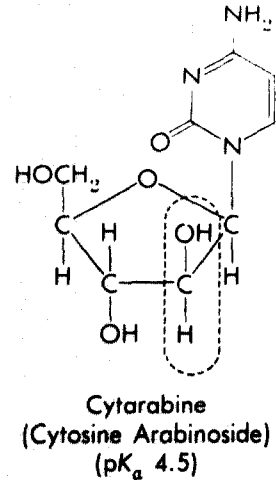


Fig. 1. Structural formula of cytarabine

하주사 후 1시간과 3시간은 비슷하였으나 10시간과 24시간에는 각막내 농도의 10% 정도였다 (Table 1).

고 찰

방수가 빠져나가는 새로운 통로를 형성하여 이를 통해 방수를 계속적으로 여과시킴으로써 안압을 낮추어서 시신경의 손상을 방지하는 것이 녹내장 여과수술의 목적이다. 최근에 미세수술 기법의 발달로 인하여 80~90%의 성공률을 보이는 것으로 알려지고 있으나²⁾, 무수정체인^{3),4)}, 신생혈관녹내장^{5),6)}, 이전에 눈수술을 받았던 경우^{7),8)}, 흑인^{9),10)}이나 젊은

Table 1. Mean concentration of cytarabine after subconjunctival injection (5mg)

	Hours After Injection				
	1	3	5	10	24
Conjunctiva _{inj}					
$\mu\text{g/g}$	1217 ± 361	49.2 ± 10.4	6.9 ± 0.9	2.7 ± 0.3	1.9 ± 0.4
Sclera _{inj} $\mu\text{g/g}$	612 ± 185	24.3 ± 3.7	5.7 ± 0.6	2.3 ± 0.2	1.7 ± 0.2
Conjunctiva 180°					
$\mu\text{g/g}$	36.1 ± 17.5	9.7 ± 0.9	6.3 ± 0.2	1.9 ± 0.1	1.2 ± 0.2
Sclera 180° $\mu\text{g/g}$	31.6 ± 4.7	8.5 ± 0.7	5.9 ± 0.4	1.1 ± 0.2	0.9 ± 0.1
Cornea $\mu\text{g/g}$	10.3 ± 3.1	1.7 ± 1.1	1.8 ± 0.5	1.2 ± 0.2	0.9 ± 0.1
Aqueous Humor					
mg/L	10.1 ± 2.5	1.8 ± 0.3	1.0 ± 0.1	0.1 ± 0.04	0.09 ± 0.02

연령층^{11), 12)}에서는 성공률이 낮은 것으로 알려지고 있다. 여과수술에 실패한 경우의 안구를 조직병리학적으로 관찰한 결과 수술부위에서 활성화된 섬유아세포가 증식하고 교원질이 침착하고^{13) 17)}, 변형된 수축성 섬유아세포가 창상의 수축을 일으켜서¹⁸⁾ 방수의 유출경로가 차단되기 때문이라 하였다. 따라서 최근에는 섬유아세포의 증식을 억제하는 항대사제를 녹내장 여과수술 후에 결막하주사하여서 수술의 성공률을 높이려는 연구가 진행되고 있으며 이들중에 많이 쓰이는 약물이 5-FU이다. 5-FU는 pyrimidine 유도체로서 세포분열주기의 합성기에 선택적으로 작용하여 thymidylate synthetase의 작용을 억제함으로써 DNA의 합성을 못하게 하는 약제로서^{19), 22)}, Gressel등¹¹⁾이 처음으로 동물에서 후공막절제술후에 5-FU를 결막하주사하여 사용을 시도한 이래 여러 사람들에 의해서 수술의 성공률을 높일 수는 있었다고 하나 부작용으로 각막상피손상, 결막창상누출, 상맥락막출혈등이 발생했다고 하였다. 또한 수술 후 처음 일주일간은 매일 두번씩, 그 다음 일주일만은 매일 한번씩 결막하주사해야 하기 때문에 잦은 결막하주사에 따른 환자의 불편함과 고통이 문제가 되고 있다. 따라서 적은 용량으로도 섬유아세포에 대해서 강력한 증식억제력을 나타내는 새로운 약제가 필요하게 되었다.

Cytarabine은 임상에서는 백혈병과 임파종의 치료에 주로 사용되는 약물로, 화학명이 1-β-L-arabinofuranosyl cytosine인 2'-deoxycytidine의 유도체이다. 체내에서 인산화(phosphorylation)에 의해 활성화되어 arabinosylcytosine triphosphate로 되어서 정상 기질인 deoxycytidine triphosphate와 경쟁적으로 DNA에 결합하게 되는데, 약물의 구조에서 보면 5탄당의 2번 위치의 OH기가 3번 위치의 OH기와 trans상으로 결합되어 있어서 (Fig 1) 이들이 정상적인 DNA의 나선형 회전을 불가능하게 하여서 세포에 독작용을 나타내는 것으로 알려지고 있으며^{19), 23)}, 주로 간장에서 cytarabine deaminase에 의해서 빠르게 대사되어서 비활성 물질인 uridine arabinoside로 되며 cytarabine deaminase는 간장을 제외하고는 콩팥, 소화기점막, 과립구등에서만 소량이 있고 다른 조직 특히 안조직에는 거의 없었기 때문에 안조직에

투여할 경우에는 대사되는 속도가 느려서 적은 용량만 투여하여도 좋은 효과를 볼 수 있다고 한다²⁴⁾. Mallick등²⁵⁾은 토끼의 결막섬유아세포의 배양실험에서 결막섬유아세포의 증식을 50% 억제하는데 필요한 cytarabine의 농도(ID₅₀)는 50μg/L(2.0×10⁻⁷M)이며 5-FU는 0.5mg/L(38×10⁻⁶M)이기 때문에 cytarabine이 5-FU보다 세포성장억제력에 있어서 20배 정도의 molar potency를 보인다고 하였다. Lee등²⁵⁾은 사람의 Tenon낭 섬유아세포를 배양한 후 이들의 증식에 미치는 cytarabine과 5-FU 영향을 조사한 결과 배양 후 3일에는 cytarabine의 ID₅₀이 Coulter counter 방법에 의한 경우에는 0.01μg/ml이며 hexosaminidase 방법에 의하면 0.1μg/ml이고 그 이후에는 일정한 농도를 나타낸다고 하며 이에 반하여서 5-FU는 배양후 5일째에 ID₅₀이 Coulter counter방법에 의한 경우에는 0.2μg/ml이며 hexosaminidase 방법에 의하면 0.4μg/ml이고 그 이후에는 급격한 농도의 감소를 나타냈다고 하였으며 이는 cytarabine이 5-FU보다 빨리 활성화된 물질로 되어서 결막섬유아세포에 대한 증식억제작용을 나타내며 결막섬유아세포에 대한 증식억제력이 더욱 강력한 것을 의미하고 따라서 녹내장 여과수술 후에 쓸 수 있는 좋은 약물이라고 하였다. 본 실험에서 보면 결막하주사 후 1시간이 지나면 비교적 많은 양의 cytarabine이 주사부위로부터 180° 떨어진 부위에 도달하며 5시간이 지나면 주사부위나 주사부위로부터 180° 떨어진 부위나 약물의 농도가 비슷해진 것을 알 수 있었다. 또한 cytarabine 5mg을 결막하주사 후 24시간이 지나면 주사부위로부터 180° 떨어진 부위의 결막 및 공막의 cytarabine 농도가 Mallick등²⁵⁾이나 Lee등²⁶⁾이 보고한 cytarabine의 ID₅₀ 보다 훨씬 높기 때문에 결막하 주사하는 cytarabine의 용량을 많이 줄여도 될 것으로 생각이 된다. 그러나 Heuer등²⁷⁾은 임상적으로 결막하주사의 cytarabine의 용량은 In vivo에서는 cytarabine이 확산(diffuse away) 되기 때문에 세포배양실험에서 얻은 결막 섬유아세포를 억제하는데 필요한 cytarabine의 용량보다는 많은 용량을 주사하여야 한다고 하였다. 따라서 향후에 in vivo에서 cytarabine의 결막하주사 하는데 필요한 적절한 용량을 알아보는 연구가 필요하리라 생각이 된다.

REFERENCES

- 1) Gressel MG, Parrish RK II, Folberg R : 5-Fluorouracil and glaucoma filtering surgery : I. An animal model. *Ophthalmology* 91 : 378-383, 1984
- 2) Kolker AE, Hetherington J Jr : Surgery to relieve outflow block : external filtering procedure. In Hoskins HD Jr, Kass MA, eds. *Becker-Shaffer's Diagnosis and Therapy of the Glaucomas*, St Louis, CV Mosby, 1989, pp559-560
- 3) Herschler J : Medically uncontrolled glaucoma in the aphakic eye. *Ann ophthalmol* 13 : 909-913, 1981
- 4) Heuer DK, Gressel MG, Parrish RK II, Anderson DR, Hodapp E, Palmberg PF : Trabeculectomy in aphakic eyes. *ophthalmology* 91 : 1045-1051, 1984
- 5) Parrish R, Herschler J : Eye with end stage neovascular glaucoma : natural history and following successful modified filtering operation. *Arch Ophthalmol* 101, 745-746, 1983
- 6) Heuer DK, Parrish RK II, Gressel MG, Hodapp E, Desjardins DC, Skuta GL, Palmberg PF, Nevarez JA, Rockwood EJ : 5-fluorouracil and glaucoma filtering surgery : III. Intermediate follow-up of a pilot study : *Ophthalmology* 93 : 1537-1546, 1986
- 7) Schwartz PL, Anderson DR : Trabecular surgery. *Arch Ophthalmol* 92 : 134-138, 1974
- 8) Inabe Z : Long-term results of trabeculectomy in the Japanese : an analysis by life-table method. *Jpn J Ophthalmol* 26 : 361-373, 1982
- 9) Merritt JC : Filtering procedures in American blacks. *Ophthalmic surg* 11 : 91-94, 1980
- 10) Miller RD, Barber JC : Trabeculectomy in black patients. *Ophthalmic Surg* 12 : 46-50, 1981
- 11) Beauchamp GR, Parks MM : Filtering surgery in children : abarriers to success. *Ophthalmology* 86 : 170-180, 1979
- 12) Cadera W, Pachtman MA, Cantor LB, Ellis FD, Helveston EM : Filtering surgery in childhood glaucoma. *Ophthalmic Surg* 15 : 319-322, 1984
- 13) Cohen Js, Shaffer RN, Hetherington J Jr, Hoskins D : Revision of filtration surgery. *Arch Ophthalmol* 95 : 1612-1618, 1977
- 14) Peiffer RL, Lipper S, Merritt JC, Wright W, Jones B : Myofibroblasts in the healing of wounds in rabbit, dog and cat. *Glaucoma* 277-280, 1981
- 15) Van Buskirk EM : Cysts of Tenon's capsule following filtration surgery. *Am J Ophthalmol* 94 : 522-527, 1982
- 16) Desjardins DC, Parrish RK II, Folberg R, Nevarez J, Heuer DK, Gressel MG : Wound healing after filtering Surgery in owl monkeys. *Arch ophthalmol* 104 : 1835-1839, 1986
- 17) Jampel H, McGuigan L, Pepos JS, Quigley H : Biology of experimental glaucoma: filtering surgery failure. *Invest ophthalmol Vis Sci (Suppl)* 28 : 378, 1987
- 18) Reddick R, Merritt JC, Ross G, Avery A, Peiffer RL : Myofibroblasts in filtration operations. *Ann ophthalmol* 17 : 200-203, 1985
- 19) Calabresi P, Charbner BA : Antineoplastic agents. In Gilmann AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P, eds. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. New York, Pergamon Press, 1990, pp 1209-1263
- 20) Heidelberger C : Fluorinated pyrimidine and their nucleosides. In Sartorelli AC, Johns DG, eds. *Handbook of experimental pharmacology, Vol 38*. New York, Springer-Verlag, 1975, pp 193-231
- 21) Evans RM, Laskin JD, Hakala MT : Assessment of growth-limiting events caused by 5-fluorouracil in mouse cells and in human cells. *Cancer Res* 40 : 4113-4122, 1980
- 22) Charbner BA : Pyrimidine antagonists. In Chabner BA, ed. *Pharmacologic principles of cancer treatment*. Philadelphia, WB Saunders, 1982a, pp 183-209
- 23) Charbner AB : Cytosine arabinoside. In Chabner BA, ed. *Pharmacologic principles of cancer*

- treatment. Philadelphia, WB Saunders, 1982a, pp 387-399
- 24) Assil KK, Winreb RN : *Multivesicular liposome sustained release of the antimetabolite cytarabine in the eye.* Arch Ophthalmol 105 : 400-404, 1987
- 25) Mallick KS, Hajek AS, Parrish RK II : *Fluorouracil(5-FU) and cytarabine (Ara -C) inhibition of corneal epithelial cell and conjunctival fibroblast proliferation.* Arch Ophthalmol 103 : 1398-1402, 1985
- 26) Lee DA, Shapourifar-Tehrani S, Kitada S : *The effect of 5-fluorouracil and cytarabine on human fibroblasts from Tenon's capsule.* Invest ophthalmol Vis Sci 31 : 1848-1855, 1990
- 27) Heuer DK, Parrish RK II, Gressel MG, Hodapp E, Palmberg PF, Anderson DR : *5-fluorouracil and glaucoma filtering surgery : II. A pilot study.* Ophthalmology 91 : 384-394, 1984