

렌즈 보존액 SOLOCARE™에 대한 안점막자극성시험

장우영, 박은규, 김기홍*

대구보건대학 안경광학과

경운대학교 안경광학과*

(2006년 8월 12일 받음, 2006년 9월 25일 수정본 받음)

시판중인 렌즈 보존액 중 가장 흔히 사용 또는 유통되고 있는 SOLOCARE™에 대한 안점막자극성시험을 식품의약품 안전청 고시에 따라 Draize법을 이용하여 그 자극성의 정도를 평가하고, 눈에 가해질 수 있는 잠재적인 독성을 평가하기 위하여, 배출물에 대한 도말표본 상에서 염증세포 및 비염증성 유상피세포가 차지하는 비율과 함께 점안 후 안구 중, 각막, 홍채, 망막 및 공막의 조직병리학적 관찰을 실시한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다. 비세척군에서는 점안 후 1, 2 및 3일에 국한하여, 각막과 결막에 경미한 자극이 관찰되어, 이 기간 동안의 평균 안점막 자극지수(Mean Index of Ocular Irritation; MIOI)가 각각 4.33, 3.33 및 2.00으로 관찰되었으며, 세척군에서는 점안 후 1 및 2일에 국한하여, 결막에서 경미한 자극성이 인정되었고, 이때 MIOI는 각각 3.00과 1.33으로 관찰되었다. 따라서 SOLOCARE™는 세척군 및 비세척군 모두에서 MIOI가 모든 관찰 기간에서 5.00 이하로 관찰되었으며, 관찰기간 중 MIOI의 최대값인 IAOI(The Index of Acute Ocular Irritation) 역시 점안 1일 후 4.33로 관찰되어 무자극성 물질로 관찰되었다. 한편 배출물에 대한 염증성 세포의 비율은 무처리 대조군과 비교하여 점안 초기 유의성은 인정되지 않았으나, 다소 증가된 경향을 나타낸 이외 의미 있는 변화는 인정되지 않았다. 또한 안구의 조직병리학적 검사에서 각막, 홍채, 망막 및 공막 모두에서 무처리 대조군과 비교하여 의미 있는 변화는 인정되지 않았다.

주제어: 드레이즈, 안구자극시험, 솔로케어, 토끼, 조직병리학, 도말표본

I. 서 론

콘택트렌즈는 대부분 병에 렌즈 보존액과 함께 들어있다. 이 렌즈 보존액은 유통과정에서 발생할 수 있는 열에 의한 변형 및 세균 감염 등을 막아준다. 최근에 들어 콘택트렌즈 등의 발달로 인하여 렌즈 보존액의 사용이 증가되고 있으며, 다양한 종류의 렌즈 보존액이 시판되고 있다.

그러나 이들 렌즈 보존액의 렌즈 내 잔류에 의한 점막 자극성에 대한 연구는 생산자의 제시 자료에만 의존하고 있는 실정이다. 따라서 이들 렌즈 세척액의 안점막자극성 평가는 반드시 수행되어야 할 것으로 생각된다. 현재 식품의약품 안전청에 의하면 안 점막 및 점막에 접촉할 우려가 있는 물질에 대한 자극성 시험법으로 Draize 방법^[1]

으로 시험동물로는 백색 토끼를 사용한다. 즉 토끼의 한 쪽 눈에 시험물질을 1회 처리하여 시험군으로 사용하고 처리하지 않은 눈을 대조군으로 하며, 각막, 홍채 및 결막의 손상정도에 따라 점막의 자극성을 판정한다. Draize 법은 1950년대부터 사용되어져 오고 있는 전형적인 안 및 피부 점막 자극성 평가방법으로 가장 흔히 사용되고 있으며^[7,30], 대부분의 눈 또는 피부 점막과 접촉 가능성이 있는 화장품 및 의약품에 대한 국소자극성 평가 방법으로 활용되고 있다. 한편 Draize 방법에서는 수많은 토끼의 사용에 따른 윤리적인 문제로 인하여 현재에는 안구 유래의 세포를 이용한 In vitro 실험으로의 교체가 계속해서 주장되고 있다^[31]. 현재 이러한 이유로 cho-rioallantonic membrane test^[3] 및 haemoglobin de-

naturation test^[15] 등 여러 가지 방법이 제기되고 있으나, 아직까지 적당한 대체 방법에 대한 완전한 평가가 이루어지지 않아^[5], 한국 식품의약품 안전청을 비롯하여, 대부분의 국가에 국소자극성 평가 방법으로 Draize 방법이 사용되고 있다^[4,23,32].

현재까지 수많은 물질들이 Draize 법에 의한 안점막 자극시험이 실시되어져 왔으며, 그 중 대표적인 것으로 일부 살충제^[3], 다양한 화장품 류^[6,15], arginine 기초 gemini 계면활성제^[19], 60여종의 안약 원료^[2], 화장품의 기초 원료^[8], 안약에 사용되는 기재 Eudragit RS 100 및 RL100^[22], 액체 세정제^[24], 음이온 계면활성제류^[21], 계면활성제가 포함된 기제들^[10], oil/water emulsions^[11], hydroalcoholic formulation^[9], sertaconazole gel^[25] 및 여러 가지 약물의 중간 대사물질^[26] 등을 들 수 있다. 그러나 대부분 성분 각각에 대한 안점막 자극성 실험을 실시한 보고들로 완제품에 대한 보고는 매우 드물고, 특히 렌즈 보존액에 대한 안점막 자극성 실험은 찾아볼 수 없다.

SOLOCARETM(Ciba Vision, USA)는 Polyhexanide 0.0001%, Poloxamer 407 Surfactant, Tri-Klens, EDTA 및 Phosphate Buffer로 구성되어져 있으며, 현재 시중에서 가장 많이 유통되고 있으며, 가장 흔히 사용되는 렌즈 보존액이다. 본 연구에서는 시판중인 렌즈 보존액 중 가장 흔히 사용 또는 유통되고 있는 SOLOCARETM에 대한 안점막자극성시험을 식품의약품 안전청 고시^[32]에 따라 Draize법^[7]을 이용하여 그 자극성의 정도를 평가하고, 눈에 가해질 수 있는 잠재적인 독성을 평가하기 위하여, 배출물에 대한 도말표본 상에서 염증세포 및 비염증성 유상피세포가 차지하는 비율과 함께 점안 14일 후 안구 중, 각막, 홍채, 망막 및 공막의 조직병리학적 관찰을 실시하였다.

II. 재료 및 방법

본 실험은 식품의약품안전청^[7]에 준하여 실험을 실시하였으며, 모든 실험동물은 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Department of Health, Education, and Welfare Publication (National Institute of Health) 85-23, 1985]에 준하여 취급하였다.

1. 실험동물

성숙한 백색토끼(2.0~3.0kg), New Zealand White Rabbit(Charles River, Japan)를 사료(삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 2주일간 적응시킨 후, 한 실험군 당 9마리씩 총 45마리를 사용하였다. 실험동물은 온도(20~25°C)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 사육하였으며, 환기횟수는 11~12회/hr, 조명은 12hr/day를 유지하였다. 사료는 고품사료를 자유롭게 공급하였으며, 물은 수도수를 자유롭게 공급하였다. 실험동물은 개별 cage에 수용하여 개체 구분을 실시하였다. 모든 실험동물은 실험물질의 점안 하루 전 안저 검사기로 안구를 검사하여 이상이 없는 실험동물만 선별하여 사용하였다.

2. 실험물질

SOLOCARETM(Ciba Vision, USA)를 시중에서 구입하여 사용하였다.

3. 실험군 분리

실험군은 식품의약품안전청고시^[32]에 따라, 세척안과 비세척군으로 세분하였으며, 비세척군에서는 6마리의 실험동물, 세척군에서는 3마리의 실험동물을 각각 사용하였다.

4. 실험물질의 투여

SOLOCARETM를 각각 0.1ml씩 좌측 안구에 점안하였다. 세척군에서는 점안 20~30초 후 양쪽 눈을 미온 무균 생리식염수(중외제약, Korea)를 이용하여 1분간 세척하였고, 비세척군에서는 세척을 실시하지 않았다. 우측 안구에는 미온 무균생리식염수를 0.1ml를 동일한 방법으로 점안하고 무처리 대조군으로 설정하였다.

5. 안구 자극지수의 관찰

모든 실험동물에 대하여, 시험물질을 점안하지 않은 다른 쪽 눈을 대조로 하여, 시험물질을 투여 후 1, 2, 3,

Table 1. Scale of weighted scores for grading the severity of ocular lesions 1. Cornea

A. Opacity - Degree of density (area which is most dense is taken for reading)	
Scattered or diffuse area - details of iris clearly visible	[1]
Easily discernible translucent areas details of iris slightly obscured	[2]
Opalescent area no details of iris visible, size of pupil barely discernible	[3]
Opaque. Iris invisible	[4]
B. Area of cornea involved	
One quarter (or less) but not zero	[1]
Greater than one-quarter ~ less than one-half	[2]
Greater than one-half less than three quarters	[3]
Greater than three quarters up to whole area	[4]
Score equals $A \times B \times 5$	Total maximum = 80

4, 7, 13일에 Table 1~Table 4에 의해 안구 자극 지수를 평가하였다. 각막, 홍채 및 결막으로 구분하여 각막은 혼탁 및 혼탁된 범위를 점수화 하였으며, 홍채는 빛에 대한 반응성의 유무를 점수화 하였고, 결막은 발적, 부종 및 배출물로 구분하여 점수화 하였다. 또한 각막, 홍채 및 결막에 대한 자극지수의 총점인 The Individual Index of Ocular Irritation(IIOI)의 합을 마리 수로 나눈 평균값인 Mean Index of Ocular Irritation(MIOI)과 관찰기간동안 중 MIOI의 최대값인 The Index of Acute Ocular Irritation(IAOI)을 구하여 Table 5에 기록되어 있는 기준에 따라 안구 자극성 정도를 판정하였다.

6. 안구 배출물의 관찰

각각의 시험물질을 투여 후 1, 2, 3, 4, 7, 13일에 양쪽 안구의 결막 및 순막 주위에 형성되는 안구 배출물을 멸균 면봉으로 채취하여, slide glass에 도말하여 Giemsa 염색을 실시한 후 현미경하에서 100개 세포 당 관찰되는 염증세포 및 비 염증성 유사피세포의 비율을 계산하였다.

7. 안구의 조직병리학적 관찰

각각의 시험물질을 투여 후 14일에 양쪽 안구를 적출하여 Kanovsky액에 24시간 이상고정하고 일반적인 방법으로 안구 표본을 제작하였다. 이후 Hematoxylin & Eosin 염색을 실시하여 각막, 공막, 홍채 및 망막을 분리 관찰하여 각각의 이상 유무를 평가하였다.

8. 통계처리

MIOI 및 IAOI는 식품의약품안전청 고시[7]에 따라 평가하였으며, 혈액 도말 수치는 무처치 대조군과 비교하여 Mann-Whitney Wilcoxon's Rank Sum (MW) test로 유의성을 검증하였다. Probit test 및 모든 통계처리는 SPSS for Windows (Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 이용하였다.

III. 결 과

각막, 홍채 및 결막의 안점막 자극지수는 Table 5에

Table 2. Scale of weighted scores for grading the severity of ocular lesions 2. Iris

A. Values	
Folds above normal, congestion, swelling, circumcorneal injection (any one or all of these or combination of any thereof), iris still reacting to light	[1]
No reaction to light, hemorrhage, gross destruction (any one or all of these)	[2]
Score equals $A \times 5$	Total maximum = 80

Table 3. Scale of weighted scores for grading the severity of ocular lesions 3. Conjunctiva

A. Redness (refers to palpebral conjunctiva only)	
Vessels definitely injected above normal	[1]
More diffuse deeper crimson red (individual vessels not easily discernible)	[2]
Diffused beefy red	[3]
B. Chemosis	
Any swelling above normal (included nictitating membrane)	[1]
Obvious swelling with partial eversion of lids	[2]
Swelling with lids about half closed	[3]
Swelling with lids about half closed to SOLOCAREly closed	[4]
C. Discharge	
Any amount different from normal (does not include small amount observed in inner canthus of normal animals)	[1]
Discharge with moistening of the lids and hairs just adjacent to the lids	[2]
Discharge with moistening of the lids and considerable area around the eye	[3]
Score equals (A+B+C)×2	Total maximum = 20

요약하였다. 또한 안구 배출물 도말 표본의 염증세포 및 비염증성 상피세포의 비율은 Table 6 및 7에 각각 나타내었고, 각막, 홍채, 망막 및 공막의 조직병리학적 소견은 Table 8 및 9와 Fig. 1 및 2에 요약하였다.

1. 각막에 미치는 영향

1) 비세척군

점안 1 및 2일 후에 각각 각막혼탁 지수 1을 나타내는 실험동물이 2례 인정되었고, 각각 1 정도의 혼탁범위를 나타내어, 각막 자극지수가 5를 나타내는 실험동물이 각

각 2례 관찰된 이외 점안 3일 후부터 각막에 대한 자극 지수는 인정되지 않았다.

2) 세척군

점안 1일 후에 국한하여, 각막혼탁 지수 1을 나타내는 실험동물이 1례 인정되었고, 각각 1 정도의 혼탁범위를 나타내어, 각막 자극지수가 5를 나타내는 실험동물이 각각 1례 관찰된 이외각막에 대한 자극은 실험 전 기간동안 인정되지 않았다.

Table 4. Tentative ocular irritation rating used in this study.

M.I.O.I. ¹⁾	Tentative ocular irritation rating	I.A.O.I. ²⁾	Tentative ocular irritation rating
0 to 5 points	Non irritating	0 points (after 48hrs of Dropping)	Non irritating
5~15 points	Mildly irritating	< 5 points (after 48hrs of Dropping)	Mildly irritating
15~30 points	Moderately irritating	< 5 points (after 4 days of Dropping)	Moderately irritating
30~60 points	Severely irritating	< 20 points (after 7 days of Dropping)	Severely irritating
60~80 points	Extremely irritating	< 40 points (after 7 days of Dropping)	Extremely irritating
80~110 points	Maximally irritating		

¹⁾ M.I.O.I.: Mean Index of Ocular Irritation

²⁾ I.A.O.I.: the Index of Acute Ocular Irritation

Table 5. Results of MIOI and IAOI in SOLOCARE™

MIOI	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 7	Day 13
Non-washing group	4.33	3.33	2.00	0.00	0.00	0.00
Washing group	3.00	1.33	0.00	0.00	0.00	0.00
IAOI						
Non-washing group	4.33					
Washing group	3.00					

Tentative ocular irritation rating are listed in Table 4.

2. 홍채에 미치는 영향

실험 전 기간 동안 비세척군 및 세척군에서 홍채에 대한 자극지수는 인정되지 않았다.

는 실험동물이 각각 2레 인정되어, 결막 자극지수가 2 및 4를 나타내는 실험동물이 각각 2 레 관찰된 이외 점안 4일 후부터 결막에 대한 자극 지수는 인정되지 않았다.

3. 결막에 미치는 영향

1) 비세척군

점안 1일 후에 결막 발적 지수 1을 나타내는 실험동물이 2레 인정되었고, 안구 배출물 지수 2 또는 1을 나타내는 실험동물이 각각 1 및 3레 인정되어, 결막 자극지수가 6 또는 2를 나타내는 실험동물이 각각 2 레 관찰되었으며, 점안 2일 후에는 안구 배출물 지수 1 또는 2를 나타내는 실험동물이 각각 3 및 1레 인정되어, 결막 자극지수 2 또는 4를 나타내는 실험동물이 각각 3 또는 1 레 관찰되었고, 점안 3일 후에는 안구 배출물 지수 2 및 1을 나타내

2) 세척군

점안 1일 후에 결막 발적 지수 및 안구 배출물 지수 1을 나타내는 실험동물이 1레 인정되어 결막자극 지수 4를 나타내는 동물이 1레 관찰되었고, 점안 2일 후에는 안구 배출물 지수 1을 나타내는 실험동물이 2레 인정되어 결막 자극 지수 2를 나타내는 동물이 2레 관찰된 이외 점안 3 일 후부터 실험 전 기간 동안 결막에 대한 자극은 관찰되지 않았다.

Table 6. Results of smear cytology of ocular discharges of SOLOCARE™ in non-washing group

Group: non-washing tested sides		Materials: SOLOCARE Observation Day: 1~13				
Smear Cytology	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 7	Day 13
Inflammatory cells	8.33±2.73	7.17±2.40	8.00±3.41	8.67±2.34	7.67±3.56	8.83±3.13
Non-inflammatory epitheloid cells	91.67±2.73	92.83±2.40	92.00±3.41	91.33±2.34	92.33±3.56	91.17±3.13

Group: Non-treated intact sides		Materials: SOLOCARE Observation Day: 1~13				
Smear Cytology	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 7	Day 13
Inflammatory cells	7.83±3.71	7.50±3.21	8.50±2.95	9.50±3.56	7.00±4.69	9.33±2.66
Non-inflammatory epitheloid cells	92.17±3.71	92.50±3.21	91.50±2.95	90.50±3.56	93.00±4.69	90.67±2.66

All Mean ± S.D., % n=6

Table 7. Results of smear cytology of ocular discharges of SOLOCARETM in washing group

Group: washing tested sides		Materials: SOLOCARE Observation Day: 1 ~ 13				
Smear Cytology	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 7	Day 13
Inflammatory cells	6.00±2.65	5.67±0.58	5.67±2.31	6.67±2.31	5.67±2.89	5.33±3.21
Non-inflammatory epitheloid cells	94.00±2.65	94.33±0.58	94.33±2.31	93.33±2.31	94.33±2.89	94.67±3.21

Group: Non-treated intact sides		Materials: SOLOCARE Observation Day: 1 - 13				
Smear Cytology	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 7	Day 13
Inflammatory cells	6.33±3.21	6.67±4.51	6.00±1.00	8.67±2.08	7.00±1.00	5.67±3.06
Non-inflammatory epitheloid cells	93.67±3.21	93.33±4.51	94.00±1.00	91.33±2.08	93.00±1.00	94.33±3.06

All Mean ± S.D., % n=3.

4. 안구 배출물의 도말표본 검사

1) 비세척군

실험 전 기간 동안 무처치 대조군과 유사한 염증세포 비율을 나타내었다.

2) 세척군

처리군의 경우, 무처치 대조군에 비해 의미 있는 변화는 인정되지 않았다.

5. 조직병리학적 관찰

세척군 및 비세척군 모두 무처치 대조군과 비교하여

의미 있는 조직병리학적 변화는 인정되지 않았으며, 모든 실험동물이 정상적인 각막, 홍채, 망막 및 공막의 조직학적 소견을 나타내었다.

6. MIOI 및 IAOI

1) 비세척군

점안 후 1, 2 및 3일에 국한하여, MIOI가 각각 4.33, 3.33 및 2.00으로 관찰되어, IAOI는 점안 1일 후의 4.33으로 인정되었다.

2) 세척군

점안 후 1 및 2일에 국한하여, MIOI는 3.00 및 1.33으로

Table 8. Results of Histopathology of eyeball of SOLOCARETM in non-washing group

Group: non-washing tested sides		Materials: SOLOCARE Observation Day: 14			
Remarks	Cornea	Iris	Retina	Sclera	
Normal	6/6 (100%)	6/6 (100%)	6/6 (100%)	6/6 (100%)	
Abnormal	0/6 (0%)	0/6 (0%)	0/6 (0%)	0/6 (0%)	

Group: Non-treated intact sides		Materials: SOLOCARE Observation Day: 14			
Remarks	Cornea	Iris	Retina	Sclera	
Normal	6/6 (100%)	6/6 (100%)	6/6 (100%)	6/6 (100%)	
Abnormal	0/6 (0%)	0/6 (0%)	0/6 (0%)	0/6 (0%)	

Number of animals showing histological remarks/total observed animals (Percentages)

Table 9. Results of Histopathology of eyeball of SOLOCARE™ in washing group

Group: washing tested sides		Materials: SOLOCARE Observation Day: 14		
Remarks	Cornea	Iris	Retina	Sclera
Normal	3/3 (100%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)
Abnormal	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)

Group: Non-treated intact sides		Materials: SOLOCARE Observation Day: 14		
Remarks	Cornea	Iris	Retina	Sclera
Normal	3/3 (100%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)	3/3 (100%)
Abnormal	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)	0/3 (0%)

Number of animals showing histological remarks/total observed animals (Percentages)

로 관찰되었다. 따라서 IAOI는 점안 1일 후의 3.00으로 인정되었다.

IV. 고찰

현재 식품의약품 안전청에 의하면 안 점막 및 점막에

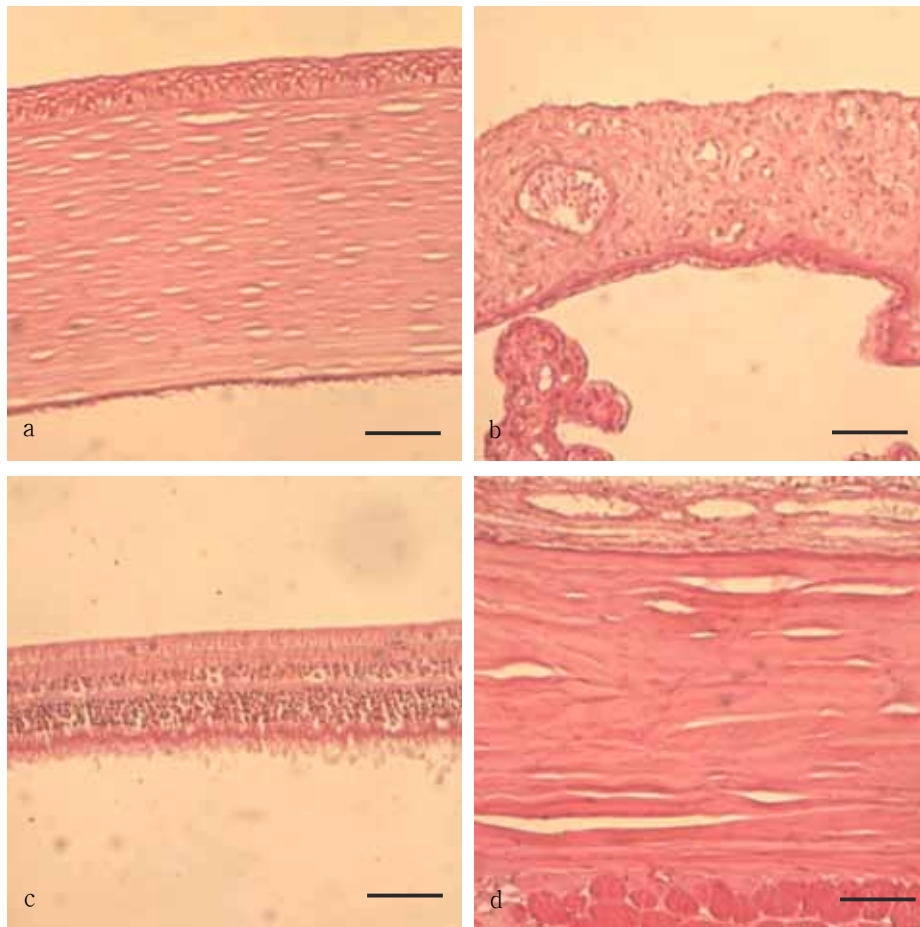


Fig 1. Histological profiles of SOLOCARE™-treated eyeballs in non-washing group. Note that all normal histological profiles of Cornea (a), Iris (b), Retina (c) and Sclera (d) were observed in this group. All Hematoxylin & Eosin stain; Scale bars = μm .

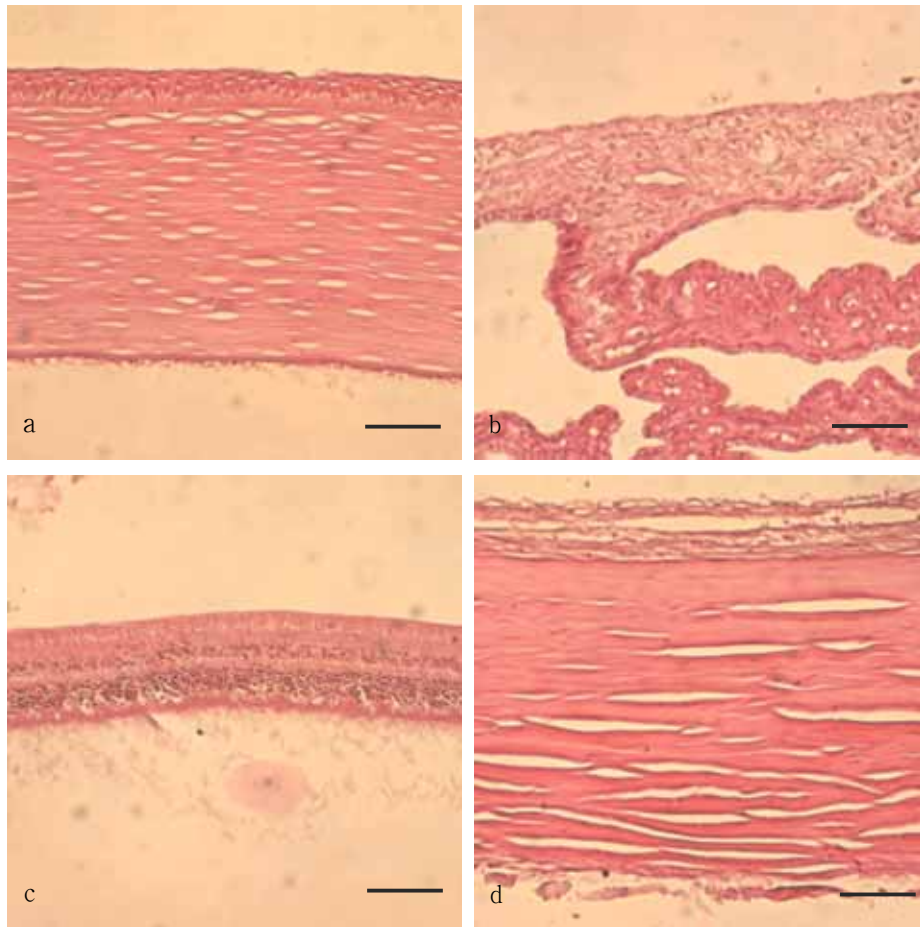


Fig 2. Histological profiles of SOLOCARE^{LM}-treated eyeballs in washing group. Note that all normal histological profiles of Cornea (a), Iris (b), Retina (c) and Sclera (d) were observed in this group. All Hematoxylin & Eosin stain; Scale bars = μm .

접촉할 우려가 있는 물질에 대한 자극성 시험법으로 Draize 방법⁷⁾으로 시험동물로는 백색 토끼를 사용한다. 즉 토끼의 한쪽 눈에 시험물질을 1회 처치하여 시험군으로 사용하고 처치하지 않은 눈을 대조군으로 하며, 각막, 홍채 및 결막의 손상정도에 따라 점막의 자극성을 판정한다. Draize법은 1950년대부터 사용되어져 오고 있는 전형적인 안 및 피부 점막 자극성 평가방법으로 가장 흔히 사용되고 있으며^{7,30)}, 대부분의 눈 또는 피부 점막과 접촉 가능성이 있는 화장품 및 의약품에 대한 국소자극성 평가 방법으로 활용되고 있다. 한편 Draize 방법에서는 수많은 토끼의 사용에 따른 윤리적인 문제로 인하여 현재에는 안구 유래의 세포를 이용한 In vitro 실험으로의 교체가 계속해서 주장되어지고 있다³¹⁾. 현재 이러한 이유로 chorioallantoic membrane test 및 haemoglobin denaturation test 등 여러 가지 방법^{3,15,31)}이 제기되고

있으나, 아직까지 적당한 대체 방법에 대한 완전한 평가가 이루어지지 않아⁵⁾, 한국 식품의약품 안전청을 비롯하여, 대부분의 국가에 국소자극성 평가 방법으로 Draize 방법이 사용되고 있다^{4,23,32)}. 그러나 유럽 ECVAM (European center for the validation of alternative methods; 유럽대체시험법유효성평가센터), 미국 CAAT (Johns Hopkins Center for Alternative to Animal Testing), 일본 JSAAE (Japanese Society of Alternative to Animal Experimentation) 등을 중심으로 Draize법에 대한 대체 연구가 진행되고 있으며, 이들의 대안으로 HET-CAM (hen's egg chorioallantoic membrane) 방법, NRU (neutral red uptake assay) 및 fluorescent leakage test 등이 가능성이 높다고 알려져 있다³²⁾. 한편 식품의약품안전청³²⁾ 및 Draize법⁷⁾에 따르면, 안점막 자극실험은 액체의 경우 0.1ml을 단회 점안

하고 고체 또는 반고체 입자상의 경우에는 0.1ml 또는 0.1g을 점안한 다음, 점안 1, 2, 3, 4, 7일에 각막, 홍채 및 결막에서의 자극성을 점수화하여 판정하고, 약간의 자극성이라도 검출되면 13일 이상 관찰하여야 한다. 본 실험에서는 이들 guideline을 충족시키기 위해, 5종 각각의 렌즈 보존액 0.1ml을 단회 점안하고, 점안 1, 2, 3, 4, 7 및 13일에 자극성을 점수화하였다. 또한 각막의 경우, 혼탁의 정도 (A)와 혼탁된 범위 (B)를 점수화하여 $A \times B \times 5$ (최대치 80)를 하여 각막에 대한 자극성을 최종 점수화한다. 홍채의 경우에는 빛에 대한 반응성 (A)을 점수화하여 $A \times 5$ (최대치 10)를 하여 홍채에 대한 자극성을 점수화하며, 결막의 경우에는 발적 (A), 결막부종 (B) 및 배출물의 양 (C)을 점수화하여 $(A+B+C) \times 2$ (최대치 20)를 계산하여 결막에 대한 자극성을 평가한다. 한편 본 실험의 결과 5종의 렌즈 보존액 모두, 점안 3일까지 국한하여 각막과 결막의 경미한 자극성을 초래하다. 실험물질의 최종 안점막 자극성 여부는 각각의 판정일 각 실험동물의 총점[0~110점 범위; The Individual Index of Ocular Irritation(IIOI)]의 합을 마리 수로 나눈 평균값인 MIOI와 관찰기간 중의 MIOI의 최대값인 IAOI를 구하여 평가한다. 즉 일반적으로 MIOI 값이 5 또는 5 이하의 경우 무자극성 물질로 분류하며, IAOI의 값이 0~5 사이의 물질을 무자극성 물질로 분류한다. 본 실험의 결과, SOLOCARE™의 경우 실험 전 기간 동안의 MIOI 값이 5 또는 5 이하로 관찰되어 무자극성 물질로 판단되었다.

한편 안구 배출물의 도말 표본에서 염증세포 비율은 안점막 자극성을 평가하는 중요한 기준이 되는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 즉 Abelson¹¹⁾은 안약인 epinastine의 자극성을 도말 표본에서 염증세포 비율의 변화로 평가하였으며, Martin¹⁶⁾은 ketotifen의 독성을 역시 안구 배출물에서 염증세포 비율의 변화로 평가하였다. 또한 Hingorani와 Lightman¹³⁾은 알레르기성 안염시에도 이들 염증세포의 비율 증가가 인정된다고 하였다. 본 실험의 결과, SOLOCARE™ 염증세포의 비율 증가가 실험 전 기간 동안 인정되지 않았다. 안구의 조직병리학적 소견은 안구에 영구적인 변화를 줄 수 있는 화학물질 및 여러 가지 자극원을 평가하는 데 필수적인 지표로 알려져 있다^{14,27,28)}. 최근 들어, Draize법의 대안으로 저용량 안점막 자극 실험(low volume eye test)의 일환으로 안구의 조직병리학적 변화를 평가하는 방법이 제시되기도 하였고¹⁸⁾, 안구

의 감염성 질환 등의 염증반응을 평가하기 위해 사용되기도 하였다²⁹⁾. 한편 본 실험에 사용된 렌즈 보존액 SOLOCARE™는 각막, 홍채, 망막 및 결막의 조직병리학적 변화는 초래하지 않는 것으로 판단되었다.

이상에서 시판중인 렌즈 보존액 중 가장 흔히 사용 또는 유통되고 있는 SOLOCARE™에 대한 안점막자극성시험 결과 무자극성 물질로 판단되었다. 그러나 렌즈 보존액의 경우, 매일 빈번히 사용되며, 반복해서 안 점막에 노출될 가능성이 있기 때문에 지속적인 안점막 자극성 시험 등을 통해 모니터링 되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- [1] Abelson, M.B., Gomes, P., Crampton, H.J., Schiffman, R.M., Bradford, R.R. and Whitcup, S.M., Efficacy and tolerability of ophthalmic epinastine assessed using the conjunctival antigen challenge model in patients with a history of allergic conjunctivitis. *Clin. Ther.*, 26, 35-47(2004).
- [2] Abraham, M.H., Hassanisadi, M., Jalali-Heravi, M., Ghafourian, T., Cain, W.S. and Cometto-Muniz, J.E., Draize rabbit eye test compatibility with eye irritation thresholds in humans: a quantitative structure-activity relationship analysis. *Toxicol. Sci.*, 76, 384-391(2003).
- [3] Budai, P., Varnagy, L., Fejes, S., Somlyay, I.M., Linczmayer, K., Pongracz, A., Irritative effects of some pesticides and a technical component on tissue structure of the chorioallantoic membrane. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.*, 69, 807-809(2004).
- [4] Chu, I.H. and Toft, P., Recent progress in the eye irritation test. *Toxicol. Ind. Health*, 9, 1017-1025(1993).
- [5] de Silva, O., Cottin, M., Dami, N., Roguet, R., Catroux, P., Toufic, A., Sicard, C., Dossou, K.G., Gerner, I., Schleder, E., Spielmann, H., Gupta, K.C. and Hills, R.N. Evaluation of eye

- irritation potential: statistical analysis and tier testing strategies. *Food Chem. Toxicol.*, 35, 159–164(1997).
- [6] Debbasch, C., Ebenhahn, C., Dami, N., Pericoi, M., Van den Berghe, C., Cottin, M. and Nohynek, G.J., Eye irritation of low-irritant cosmetic formulations: correlation of in vitro results with clinical data and product composition. *Food Chem. Toxicol.*, 43, 155–165(2005).
- [7] Draize, J.H., *Drug and Cosmetics: In Appraisal of the Safety of Cosmetics in Foods* (T.X. Ausin, Ed.). Assoc Food and Drug Officials of the US, pp. 46–48(1959).
- [8] Elmore, A.R., *Cosmetic Ingredient Review Expert Panel. Final report on the safety assessment of aluminum silicate, calcium silicate, magnesium aluminum silicate, magnesium silicate, magnesium trisilicate, sodium magnesium silicate, zirconium silicate, attapulgite, bentonite, Fuller's earth, hectorite, kaolin, lithium magnesium silicate, lithium magnesium sodium silicate, montmorillonite, pyrophyllite, and zeolite.* *Int. J. Toxicol.*, 22, 37–102(2003).
- [9] Gettings, S.D., Lordo, R.A., Demetrulias, J., Feder, P.I. and Hintze, K.L., Comparison of low-volume, Draize and in vitro eye irritation test data. I. Hydroalcoholic formulations. *Food Chem. Toxicol.*, 34, 737–749(1996).
- [10] Gettings, S.D., Lordo, R.A., Feder, P.I. and Hintze, K.L., A comparison of low volume, Draize and in vitro eye irritation test data. III. Surfactant-based formulations. *Food Chem. Toxicol.*, 36, 209–231(1998a).
- [11] Gettings, S.D., Lordo, R.A., Feder, P.I. and Hintze, K.L., A comparison of low volume, draize and in vitro eye irritation test data. II. Oil/water emulsions. *Food Chem. Toxicol.*, 36, 47–59(1998b).
- [12] Greiner, J.V., Leahy, C.D., Glonek, T., Hearn, S.L., Auerbach, D. and Davies, L., Effects of eyelid scrubbing on the lid margin. *CLAO J.*, 25, 109–113(1999).
- [13] Hingorani, M. and Lightman, S., Therapeutic options in ocular allergic disease. *Drugs*, 50, 208–221 (1995).
- [14] Holopainen, J.M., Moilanen, J.A., Hack, T. and Tervo, T.M., Toxic carriers in pepper sprays may cause corneal erosion. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 186, 155–162 (2003).
- [15] Liao, Y., Wang, X., Zhang, L.S., Li, G.M. and Zhang, B.X., Study on the use of haemoglobin denaturation test as an alternative to Draize eye irritation test. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 35, 654–657(2004).
- [16] Martin, A.P., Urrets-Zavalía, J., Berra, A., Mariani, A.L., Gallino, N., Gomez Demel, E., Gagliardi, J., Baena-Cagnani, C.E., Urrets-Zavalía, E. and Serra, H.M. The effect of ketotifen on inflammatory markers in allergic conjunctivitis: an open, uncontrolled study. *BMC Ophthalmol.*, 3, 2(2003).
- [17] Maurer, J.K., Molai, A., Parker, R.D., Li, L., Carr, G.J., Petroll, W.M., Cavanagh, H.D. and Jester, J.V., Pathology of ocular irritation with bleaching agents in the rabbit low-volume eye test. *Toxicol. Pathol.*, 29, 308–319(2001a).
- [18] Maurer, J.K., Molai, A., Parker, R.D., Li, L.I., Carr, G.J., Petroll, W.M., Cavanagh, H.D. and Jester, J.V., Pathology of ocular irritation with acetone, cyclohexanol, parafluoroaniline, and formaldehyde in the rabbit low-volume eye test. *Toxicol. Pathol.*, 29, 187–199(2001b).
- [19] Mitjans, M., Martinez, V., Clapes, P., Perez, L., Infante, M.R. and Vinardell, M.P. Low potential ocular irritation of arginine-based gemini surfactants and their mixtures with nonionic and zwitterionic surfactants. *Pharm. Res.*, 20, 1697–1701(2003).
- [20] Nell, B., Walde, I., Billich, A., Vit, P. and

- Meingassner, J.G., The effect of topical pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from an exploratory study., *Vet. Ophthalmol.*, 8, 39-46(2005).
- [21] Patlewicz, G.Y., Rodford, R.A., Ellis, G. and Barratt, M.D., A QSAR model for the eye irritation of cationic surfactants. *Toxicol. In Vitro*, 14, 79-84(2000).
- [22] Pignatello, R., Bucolo, C. and Puglisi, G., Ocular tolerability of Eudragit RS100 and RL100 nanosuspensions as carriers for ophthalmic controlled drug delivery. *J. Pharm. Sci.*, 91, 2636-2641(2002).
- [23] Pospisil, H. and Holzhutter, H.G., A compartment model to calculate time-dependent concentration profiles of topically applied chemical compounds in the anterior compartments of the rabbit eye. *Altern. Lab. Anim.*, 29, 347-365 (2001).
- [24] Roggeband, R., York, M., Pericoi, M. and Braun, W., Eye irritation responses in rabbit and man after single applications of equal volumes of undiluted model liquid detergent products. *Food. Chem. Toxicol.*, 38, 727-734 (2000).
- [25] Romero, A., Grau, M.T., Villamayor, F., Zapatero, J., Mayordomo, L., Tortajada, A., Sacristan, A. and Ortiz, J.A., Ocular tolerance of sertaconazole gel. *Mycoses*, 39, 57-60 (1996).
- [26] Sina, J.F., Galer, D.M., Sussman, R.G., Gautheron, P.D., Sargent, E.V., Leong, B., Shah, P.V., Curren, R.D. and Miller, K., A collaborative evaluation of seven alternatives to the Draize eye irritation test using pharmaceutical intermediates. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 26, 20-31(1995).
- [27] Stewart, W.C., Stewart, J.A., Holmes, K.T. and Leech, J.N., Differences in ocular surface irritation between timolol hemihydrate and timolol maleate. *Am. J. Ophthalmol.*, 130, 712-716(2000).
- [28] Ubels, J.L., Pruis, R.M., Sybesma, J.T. and Casterton, P.L., Corneal opacity, hydration and endothelial morphology in the bovine cornea opacity and permeability assay using reduced treatment times. *Toxicol. In Vitro*, 14, 379-386(2000).
- [29] Villena, C., Vivas, J.M. and Villar, A.M., Ocular inflammation models by topical application: croton-oil induced uveitis. *Curr. Eye Res.*, 18, 3-9(1999).
- [30] Wilhelmus, K.R., The Draize eye test. *Surv. Ophthalmol.*, 45, 493-515(2001).
- [31] York, M. and Steiling, W., A critical review of the assessment of eye irritation potential using the Draize rabbit eye test. *J. Appl. Toxicol.*, 18, 233-240(1998).
- [32] 식품의약품안전청, 의약품등의 독성시험 기준 해설서. 식품의약품안전청: 서울, pp.155-165(1999).

Eye Irritation Test of Lens Washing Agents SOLOCARE™ on New Zealand White Rabbits

Woo-Yeong Jang, Eun-Kyu Park, and Ki-Hong Kim*

Department of Ophthalmic Optics, Daegu Health College

Department of Ophthalmic Optics, Kyungwoon University*

(Received August 12, 2006 : Revised manuscript received September 25, 2006)

The eye irritant test of lens washing agent, SOLOCARE™ was conducted using Draize methods according to KFDA Guidelines 1999-61. In addition, to test the potential toxicity of test articles the ratio of inflammatory cells and non-inflammatory epitheloid cells were also observed using smear cytology methods against ocular discharge. At sacrifice, the histopathological changes on Cornea, Iris, Retina and Sclera were also observed in all animals. Slight (1~2 degrees) irritancy of cornea and conjunctiva were observed at 1, 2 and 3 days after dropping in non-washing group. The MIOI of these points are detected as 4.33, 3.33 and 2.00, respectively. In washing group, slight irritancy of cornea and conjunctiva were restricted to 1 and 2 days after dropping with MIOI as 3.00 and 1.33, respectively. Therefore, SOLOCARE™ was also considered as non-irritating materials because the MIOI is detected below 5.00 throughout the whole experimental periods in both washing and non-washing groups and the IAOI is also detected as 4.33 (1 day after dropping). No meaningful changes on smear cytology of ocular discharges are observed in this study compared to that of non-treated intact eyes. In addition, no abnormal histopathological changes on the cornea, iris, retina and sclera were also detected in SOLOCARE™ dropping group compared to that of non-treated intact eyes.

Key words: Draize, eye irritancy test, SOLOCARE™, rabbit, histopathology, cytology