

연축성 발성장애 환자에서 냉동 보관한 보툴리눔 독소 주입술의 효과

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 이비인후과학교실
박신흥 · 소윤경 · 정한신 · 손영익

= Abstract =

Efficacy of Frozen Reconstituted Botulinum Toxin Type A for the Treatment of Spasmodic Dysphonia

Shin Hong Park, MD, Yoon Kyoung So, MD, Han-Sin Jeong, MD and Young-Ik Son, MD
Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Samsung Medical Center,
Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Objectives : The aim of this study is to compare the efficacy of fresh versus frozen reconstituted botulinum toxin type A (BTX-A) for the treatment of adductor type spasmodic dysphonia.

Materials and Methods : After reconstitution with normal saline, BTX-A was used within 4 hours or it was kept frozen in a consumer grade freezer at about -25°C for up to 4 months. Thirty patients with spasmodic dysphonia were randomly assigned and treated with the either fresh or frozen BTX-A. About 83% of injections resulted in a satisfactory outcome with 5.3 months of mean action duration. Treatment outcomes and side effects of total 161 injections were compared along the duration of keeping BTX-A frozen.

Results : There were no statistical differences in the duration of action, self-rated satisfaction score, and the duration of hoarseness and/or aspiration between fresh and frozen BTX-A treated groups. No significant side effects were observed and the frozen BTX-A were proved to be free of bacterial contamination.

Conclusion : After being reconstituted and kept frozen, BTX-A may be safely used for more than 4 months without significant loss of its effectiveness or additional side effects.

KEY WORDS : Spastic dysphonia · Botulium toxin type A · Drug storage · Freezing.

서 론

연축성 발성장애는 성대 내근의 불수의적인 과도한 수축으로 인하여 수시로 음성단절이 일어나거나 목을 조이는 듯한 목소리를 특징으로 하는 질환으로 대뇌 기저핵과 연결부의 중심부 운동 처리 장애의 일종으로 알려져 있다. 정신치료, 언어치료, 약물요법, 수술 등의 다양한 치료가 시도되고 있으나 그 효과 및 안전성에는 아직 논란이 있는 실정이며,¹⁾²⁾ 근전도 모니터링 하에 후두근 내 보툴리눔 독소 주입술은 1984년 Blitzer 등에 의해 소개된 이후로 연축성

발성장애의 가장 표준적인 치료로 인정되고 있다.³⁻⁷⁾

국내에서 유통되는 보툴리눔 독소는 1vial에 100unit 용량의 동결건조 분말의 형태로 판매되고 있는데, 제조사(Botox®, Botulinum Toxin Type A, Allergan, Irvine, CA, USA)의 안내서에 의하면 사용 전 0.9% 생리식염수로 부드럽게 희석하고, 희석 후 4시간 이내에 사용해야 하며 그 보관 시간 동안에는 냉장 보관을 권장하고 있다.⁸⁾ 하지만 연축성 발성장애의 대부분을 차지하는 내전형 연축성 발성장애 환자의 경우 1회 주사 시 일반적으로 10unit 이하의 용량만이 필요하기 때문에, 환자의 의료비 부담을 줄이기 위하여 대상 환자를 여러 명 모아서 시술하거나 신경과나 재활의학과 등 보툴리눔 독소 사용이 상대적으로 많은 타과의 일정에 맞추어 시술을 계획하게 되는데 이 경우 환자가 부족하거나 병원이나 환자 개인 사정 상 적절한 치료시점을 놓치는 경우가 적지 않게 발생하게 되어 개선이 요구된다.

논문접수일 : 2007년 4월 28일
심사완료일 : 2007년 6월 5일
책임저자 : 손영익, 135-710 서울 강남구 일원동 50번지
성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 이비인후과학교실
전화 : (02) 3410-3579 · 전송 : (02) 3410-3879
E-mail : young-ik.son@samsung.com

이러한 불편을 해결하고자 하는 노력의 일환으로 보툴리눔 독소의 희석 이후 냉동 또는 냉장 보관에 따른 약제의 효과 및 안정성에 대한 연구가 동물 실험 및 다양한 분야의 임상 실험을 통하여 보고된 바 있으며⁹⁻¹²⁾ 최근 Thomas 등¹³⁾은 연속성 발성장애 환자에서 보툴리눔 독소를 희석 후 바로 주사한 군과 8주까지 냉동 보관 후 사용한 군을 비교하여 약제의 효과 및 부작용의 발생에 차이가 없었음을 보고한 바 있다. 하지만 현재까지 8주 이상의 장기간 보관된 약제사용의 효과 및 안정성에 대한 보고는 찾아 보기 힘들며, 저자들이 파악하는 한 국내에서는 연속성 발성장애 환자에서 4시간 이상 보관된 보툴리눔 독소의 사용에 관한 어떠한 보고도 없는 상태이다. 이에 저자들은 내전형 연속성 발성장애 환자에서 보툴리눔 독소 주입술의 치료 효과를 평가한 후, 희석 후 4시간 이내에 사용된 보툴리눔 독소와 비교하여 희석 후 4개월까지 냉동 보관된 보툴리눔 독소의 효과와 안전성을 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

1995~2006년까지 본원에서 내전형 연속성 발성장애로 진단 받고 적어도 2회 이상 보툴리눔 독소 주사 후 경과 관찰을 시행한 30명의 환자 전체 171예 중 주사 효과가 없다고 답한 10예를 제외한 161회 증례를 대상으로 후향적 연구를 진행하였다. 내전형 연속성 발성장애의 진단은 병력, 음성검사, 후두내시경 검사에 기초하여 이비인후과 전문의가 판단하였으며, 환자군 중 시술 후 추적 관찰이 불충분하여 치료 효과 및 부작용을 평가할 수 없는 경우와 환자의 주관적인 평가 상 시술 효과가 없는 경우는 기술적인 주사 실패로 평가하고 대상군에서 제외하였다.

환자군 중 남성은 3명(10%)이었으며 여성은 27명(90%)의 분포를 보였으며 시술 당시 22~69세까지의 연령 분포를 보였다. 치료 전 주관적인 증상 기간은 2개월~15년까지 다양하였으며, 주사 횟수는 2회에서 25회까지 이었으며, 최초 치료 후 외래 경과관찰 기간은 10개월~8년 6개월까지 분포하였다. 보툴리눔 독소를 생리식염수와 희석한 후 냉동 보관 없이 바로 주사한 증례가 116예, 희석 후 냉동 보관 1개월 이내에 주사한 증례가 14예, 2개월 이내에 주사한 증례가 13예, 3개월 이내에 주사한 증례가 13예, 4개월 이내에 주사한 증례가 5예이었다. 이 다섯 환자군들 사이에는 성별, 나이, 환자당 주사횟수, 주사 전 증상의 기간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 1).

환자를 양와위로 눕힌 상태에서 피부에 2% 리도케인으로 마취 후 근전도(Multimode Program-Plus, Viking IV,

Table 1. Patients' characteristics

	Fresh botox	Frozen botox	P value
Sex (male : female)	14 : 102	3 : 42	0.318
Age (years)	44.51 ± 13.61	43.53 ± 12.59	0.866
Injection number per patient	11.11 ± 6.89	9.13 ± 6.47	0.084
Preinjection symptom duration (months)	58.48 ± 61.09	47.20 ± 50.08	0.797

Nicolet, USA)를 이용하여 윤상감상공간을 통하여 갑상피 열근을 확인 후 보툴리눔 독소를 양측 성대에 주사하였다. 주사용량은 일측 2.5unit을 기준으로 환자의 증상 정도 및 이전 주사 용량에 따른 효과 기간이나 부작용을 고려하여 가감하였으며 3~7unit까지의 용량을 양측에 이등분하여 주입하였다. 환자는 주사 후 출혈, 발적, 호흡곤란 등의 부작용이 없는 지 확인 후 귀가 하였고, 귀가 후 부작용 발생 시 즉시 병원으로 연락하도록 교육하였다. 또한 시술 1주일 후 본원 음성검사실에서 전화연락을 시행하여 애성의 정도 및 흡인의 여부를 확인하여 주사 효과를 평가하였으며 의미 있는 효과가 없을 경우 기술적인 주사 실패로 판단하였고 특별한 문제가 없는 경우 시술 1개월 후 다시 음성검사를 시행하여 호전 여부와 부작용 정도를 재확인하였다.

치료 받은 환자는 연속성 발성장애가 뚜렷이 다시 나타날 때 외래를 방문하여 재치료를 받도록 권유하였고 외래 방문 시 마다 보툴리눔 독소의 치료 효과 및 부작용 정도와 기간을 평가하였다. 치료 효과는 환자의 주관적인 치료의 만족도를 5단계(1 : 효과 없음, 2 : 약간 부족, 3 : 보통, 4 : 만족, 5 : 매우 만족)로 구분하여 평가하였으며 4점 이상일 경우 성공적인 치료로 판단하였다. 효과 기간은 약제 주사 후 연속성 음성의 호전이 지속된 시간으로 평가하였고 애성과 흡인의 지속기간을 부작용의 기간으로 평가하였다.

보관된 약제의 안전성 평가를 위하여 주사 후 피부 및 성대의 발적, 감염, 통증, 출혈, 발열 등의 부작용 유무를 조사하였고, 냉동 보관된 보툴리눔 독소를 무작위로 선택하여 세균 도말 및 배양 검사를 시행하였다.

사용된 보툴리눔 독소(Botox®, Botulinum Toxin Type A, Allergan, USA)는 0.9% 생리식염수 10ml를 혼합하여 1unit/0.1ml 농도로 거품을 일으키지 않도록 조심스럽게 혼합하였다. 이후 1ml 주사기에 7unit씩 나누어 담은 후 주사기 캡으로 봉합하여 영하 20~25℃의 서리체거 기능이 없는 일반 식품용 냉장고의 냉동고(Samsung SR4133, Suwon, Korea)에 보관하였다. 보툴리눔 독소를 희석 후 냉동 보관 하지 않고 4시간 이내에 사용한 증례와 비교하여 희석 후 보툴리눔 독소를 냉동 보관한 증례를 보관기간에 따라 1개월 이내, 2개월 이내, 3개월 이내, 4개월 이내

Table 2. Comparisons of clinical outcomes and side effects of fresh versus frozen reconstituted botulinum toxin type A in the treatment of adductor type spasmodic dysphonia

	Fresh botox	Frozen botox (duration of storage)				P value
		<1 mo	<2 mo	<3 mo	<4 mo	
Case number	116	14	13	13	5	
Injection dosage (unit)	4.83± 0.61	4.65± 0.68	4.55±0.62	4.74±0.67	4.54± 0.55	0.321
Effect duration (months)	5.21± 2.76	5.21± 1.81	6.08±2.14	5.46±1.85	4.40± 1.82	0.572
Subjective satisfaction score	3.91± 0.48	4.07± 0.47	3.92±0.73	3.92±0.28	3.80± 0.84	0.941
Hoarseness duration (days)	17.10±10.94	23.57±17.44	20.00±7.38	15.23±5.28	10.20±12.50	0.101
Aspiration duration (days)	8.63± 8.32	4.71± 6.64	5.92±6.29	5.38±6.49	2.80± 6.26	0.116

Table 3. Subjective satisfaction score after being treated with either fresh or frozen reconstituted botulinum toxin

Subjective satisfaction score	Fresh botox N (%)	Frozen botox N (%)	P value	Total cases N (%)
1	8 (6.45%)	2 (4.26%)	N.S.	10 (5.85%)
2	2 (1.61%)	1 (2.18%)	N.S.	3 (1.75%)
3	12 (9.68%)	4 (8.51%)	N.S.	16 (9.36%)
4	96 (77.42%)	37 (78.72%)	N.S.	133 (77.78%)
5	6 (4.84%)	3 (6.38%)	N.S.	9 (5.26%)
Total	124	47		171

N.S. : not significant

로 구분하여 보툴리눔 독소의 보관기간에 따른 증상 호전 기간, 만족도, 애성 및 흡인의 지속 기간을 비교 평가하였다. Kruskal-Wallis test를 이용하여 유의수준 0.05% 미만일 경우 통계적으로 유의한 것으로 평가하였고 통계 프로그램은 SPSS Version 13.0(USA)을 사용하였다.

결 과

전체 환자의 보툴리눔 독소 주사용량은 4.79±0.61(평균±표준편차)unit 이었으며, 냉동 보관하지 않은 군과 2개월 또는 3개월 동안 보관된 군에서 주사용량이 약간 많았지만 각 군 간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 2). 증상 호전의 지속기간은 전체적으로 5.28±2.55개월이었고, 4개월간 보관한 군에서 4.40±1.82개월로 가장 짧았으나 역시 통계적 유의성은 없었다. 술 후 환자의 주관적인 만족도는 전체적으로 3.91±0.48점이었고 4점 이상으로 시술에 만족할 만한 효과가 있었던 경우는 142예로 전혀 효과가 없었다고 답한 10예를 포함한 전체 171예 중 83.04%의 성공률을 보였으며, 냉동 보관하지 않은 군에서는 82.26%, 냉동 보관한 군에서는 87.23%로 역시 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3).

보툴리눔 독소 주입의 부작용 중 하나인 애성의 지속기간은 전체적으로 17.53±11.26일이었으며 냉동 보관하지 않은 군에서 17.10±10.94일, 냉동 보관한 네 군에서 10.20

±12.50일에서 23.57±17.44일의 분포를 보였으나 각 군 간에 유의한 차이는 없었다. 또한 흡인의 지속기간은 전체적으로 7.63±7.96일이었고, 냉동 보관하지 않은 군에서 가장 길었으나 역시 통계적인 유의성은 없었다(Table 2).

연구기간 중 주사 후 피부나 성대의 발적, 감염, 통증, 출혈 등의 부작용은 보고되거나 관찰되지 않았다. 또한 냉동고에 보관된 보툴리눔 독소에 대한 세균 도말 및 배양 검사 상에서 어떠한 세균도 관찰되거나 배양되지 않았다.

고 찰

내전형 연축성 발성장애는 환자에게 감성적, 기능적, 사회적으로 큰 문제를 일으킬 수 있으므로 적극적인 치료가 요구된다. Blitzer 등³⁾은 901 증례의 연구를 통해 양측 갑상피열근에 보툴리눔 독소를 주사함으로써 89.7%의 환자에서 정상적인 음성을 회복하였으며 그 효과는 15.1주간 지속됨을 보고한 바 있다. Tisch 등⁶⁾도 169명의 환자에서 81.9%에서 음성의 호전이 평균 4.04개월 동안 지속됨을 보고하였다. 본원에서 시술 받은 환자의 83.04%의 환자에서 주관적으로 “만족” 또는 “매우 만족”한 음성의 호전을 보였으며 그 효과는 평균 5.28개월 동안 지속됨이 관찰되어 이전의 보고들과 큰 차이가 없음을 알 수 있었다.

현재 보툴리눔 독소는 100unit가 1vial로 판매되고 있는데 제조회사 관계자에 따르면 50unit 미만의 작은 단위로의 제조는 보툴리눔 독소 제재의 특성 상 쉽지 않은 것으로 파악된다. 임상적으로 소량의 보툴리눔 독소만이 필요한 경우에는 희석 후 권장되는 4시간 이내에 약제를 모두 사용하기가 쉽지 않아 아이의 불편을 해소하고자 하는 노력으로 보툴리눔 독소를 희석 후 냉장 또는 냉동 보관 하였을 경우 발생하는 효과 감소 및 부작용에 관한 연구들이 진행되어 왔다.¹⁰⁻¹³⁾ Gartlan 등⁹⁾은 생쥐에서 보툴리눔 독소의 50% 복강 내 치사용량 연구를 통해 희석 후 영상 6℃에서 12시간 냉장 보관 시 43.9%의 효과가 감소되며 영상 70℃에서 2주동안 냉동 보관할 경우 69.8%의 효과가 감소한다고 보고하였

다. 이에 반해 Sloop 등¹¹⁾은 인체 손가락 편근(Extensor Digitorum Brevis)의 근전도 파형 연구를 통해 냉장 또는 냉동 보관된 보툴리눔 독소가 2주까지 효과가 감소하지 않는다고 보고 하였으며, Hexel 등¹²⁾은 미간 주름에 대한 보툴리눔 독소의 치료 연구에서 희석 후 6주간 냉장 보관하여도 그 치료 효과가 감소하지 않았다고 보고하였으며, Thomas 등¹³⁾은 연축성 음성장애 환자에서 8주까지 냉동 보관 후 사용하여도 약제의 효과 및 부작용의 발생에 차이가 없었다고 보고하여 Gartlan 등⁹⁾의 동물실험과는 상이한 결과를 보이고 있다.

본 연구에서는 희석 후 영하 25℃에서 4개월까지 냉동 보관한 보툴리눔 독소를 사용하여 이제까지 보고된 어느 연구보다도 장기간의 냉동 보관 관찰이 이루어 졌으며, 보관 기간을 1개월 단위로 나누어 비교한 특징이 있다. 그 결과 희석 후 보관 기간 없이 바로 사용한 경우나 1~4개월 간 냉동 보관된 보툴리눔 독소를 사용한 군 간에 효과나 부작용 등에서 의미 있는 차이를 발견할 수 없었다. 이는 희석한 보툴리눔 독소의 보관 온도 및 사용기간에 대한 추가적인 자료를 보여주는 것이고 비용 대비 치료 효과를 고려할 때 이비인후과 영역뿐 아니라 다양한 임상 분야에서 가치 있는 자료로 이용될 수 있을 것이다.

4개월간 냉동 보관된 보툴리눔 독소를 사용할 때에는 항상 세균 오염의 가능성이 존재한다. Jabor 등¹⁰⁾은 vial 내에 생리식염수를 희석 후 영하 4℃에서 냉동보관 하였을 때 12주까지 세균 오염이 없었으며 주사 시 감염의 증거도 없음을 보고 하였다. Hexel 등¹²⁾은 vial 내에 생리식염수 희석 후 영하 4℃에서 6주간 냉장 보관을 시행하였으며 주사 후 부작용이 거의 없음을 보고하였다. Thomas 등¹³⁾은 vial 내에 희석 후 영하 4℃에서 8주간 냉장 보관한 약제를 사용할 경우에 감염 증상이 발생하지 않음을 보고하였다. 본 연구에서는 멸균적인 방법으로 희석후 1cc 주사기에 나누어 담은 뒤 즉시 냉동보관을 시행하였다. 이 약제를 호기성, 혐기성 균에 대해 7일간 세균배양을 시행한 결과 세균 아무런 균이 배양되지 않음을 확인할 수 있었다. 임상적으로도 주사 후 감염의 증거가 없음을 확인할 수 있어 보툴리눔 독소의 희석 후 보관방법으로 고려해 볼 수 있을 것이다.

본 연구에서는 희석 후 보관 기간 없이 바로 사용한 군이 116례로 대부분을 차지하고 상대적으로 냉동 보관된 증례의 수가 적다는 한계점이 있다. 또한 음성의 호전 정도를 평가할 때, 환자의 주관적인 만족도와 함께 음성검사 등의 객관적 지표들을 포함하여 분석할 수 있었다면 더 객관적이고 설득력 있는 결과를 얻을 수 있었을 것이다. 보툴리눔 독소를 장기간 보관하면서 안심하고 사용하기 위하여는

향후 이러한 제한점을 보완하고, 세균배양 검사뿐만 아니라 인체에 해가 되는 기타 독소의 발생 유무 등 안정성에 관한 연구의 보충이 필요하리라 사료된다. 또한 본 연구에서 사용된 영하 25℃ 냉동 보관뿐만 아니라 냉장 보관~영하 70℃ 냉동 보관 등 다양한 온도에서 체계적이고도 전향적인 비교 연구가 필요할 것으로 생각된다. 마지막으로 보툴리눔 독소의 저장기간에 따른 자연변화과정 및 대사과정에 대한 문헌 고찰상 정확한 보고가 없어 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

결 론

내전형 연축성 발성장애 환자에서 근전도 모니터링 하에 A형 보툴리눔 독소의 양측 감상피열근 내 주사 치료는 약 83%의 만족스러운 치료성적을 보였으며 그 효과는 약 5개월 이상 지속됨을 알 수 있었다. 생리식염수로 보툴리눔 독소의 희석 후 바로 주사한 경우와 희석 후 4개월까지 냉동 보관된 경우를 1개월 단위로 비교하였을 때, 효과 및 부작용과 그 지속기간은 각 군 간에 의미 있는 차이가 없었다. 본 연구에서 냉동보관 보툴리눔 독소에서는 세균이 배양되지 않았지만 약제를 장기 보관할 경우 항상 세균 오염의 가능성이 있음을 숙지해야 할 것이다. 향후 추가적인 연구가 필요하겠지만, 보툴리눔 독소의 희석 후 영하 25℃ 냉동 보관은 치료 효과를 유지하면서 비용절감 효과를 가져올 수 있는 한 방법이 될 수 있을 것이다.

중심 단어 : 연축성 발성장애 · A형 보툴리눔 독소 · 약물보관 · 냉동.

REFERENCES

- 1) Dedo HH. Recurrent laryngeal nerve section for spastic dysphonia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1976;85:451-9.
- 2) Aminoff MJ, Dedo HH, Izdebski K. Clinical aspects of spasmodic dysphonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1978;41:361-5.
- 3) Blitzer A, Brin MF, Stewart CF. Botulinum toxin management of spasmodic dysphonia (laryngeal dystonia): a 12-year experience in more than 900 patients. *Laryngoscope* 1998;108:1435-41.
- 4) Blitzer A, Brin MF. Laryngeal dystonia: a series with botulinum toxin therapy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1991;100:85-9.
- 5) Damrose JF, Goldman SN, Grossl EJ, Orloff LA. The impact of long-term botulinum toxin injections on symptom severity in patients with spasmodic dysphonia. *J Voice* 2004;18:415-22.
- 6) Tisch SH, Brake HM, Law M, Cole IE, Darveniza P. Spasmodic dysphonia: clinical features and effects of botulinum toxin therapy in 169 patients-an Australian experience. *J Clin Neurosci* 2003;10:434-8.
- 7) HS Choi HM, HY Kim. Effect of Botulinum Toxin Injection in Patients with Adductor Spasmodic Dysphonia. *Korean J Otolaryngol* 1997;40(4):475-80.
- 8) Anderson ER, Jr. Proper dose, preparation, and storage of botulinum neurotoxin serotype A. *Am J Health Syst Pharm* 2004;61:S24-9.

- 9) Gartlan MG, Hoffman HT. *Crystalline preparation of botulinum toxin type A (Botox): degradation in potency with storage. Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;108:135-40.
- 10) Jabor MA, Kaushik R, Shayani P, Ruiz-Razura A, Smith BK, Morimoto KW, et al. *Efficacy of reconstituted and stored botulinum toxin type A: an electrophysiologic and visual study in the auricular muscle of the rabbit. Plast Reconstr Surg* 2003;111:2419-26: discussion 27-31.
- 11) Sloop RR, Cole BA, Escutin RO. *Reconstituted botulinum toxin type A does not lose potency in humans if it is refrozen or refrigerated for 2 weeks before use. Neurology* 1997;48:249-53.
- 12) Hexsel DM, De Almeida AT, Rutowitsch M, De Castro IA, Silveira VL, Gobatto DO, et al. *Multicenter, double-blind study of the efficacy of injections with botulinum toxin type A reconstituted up to six consecutive weeks before application. Dermatol Surg* 2003;29:523-9:discussion 9.
- 13) Thomas JP, Siupsinskiene N. *Frozen versus fresh reconstituted botox for laryngeal dystonia. Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;135:204-8.