



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년06월17일
(11) 등록번호 10-1990250
(24) 등록일자 2019년06월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01K 67/027 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01K 67/027 (2013.01)

A01K 2207/20 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-0121799

(22) 출원일자 2018년10월12일

심사청구일자 2018년10월12일

(30) 우선권주장

1020180078044 2018년07월05일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌

JP2018157809 A

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 6 항

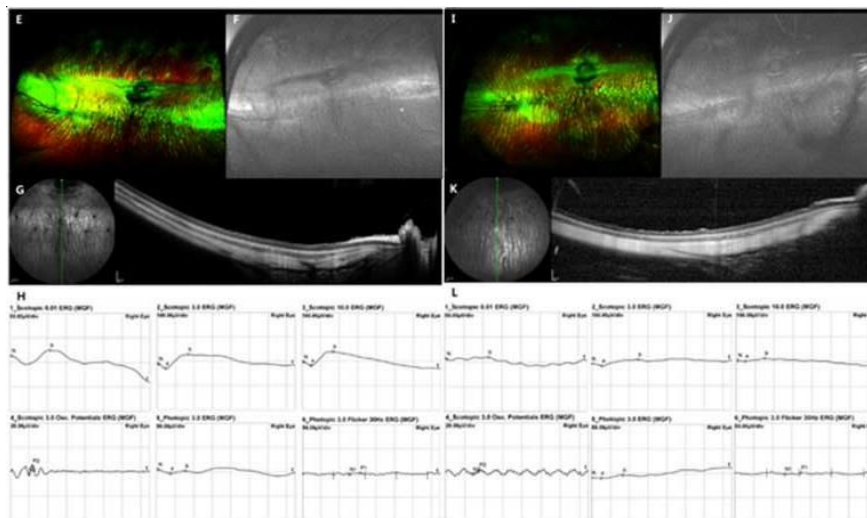
심사관 : 박영관

(54) 발명의 명칭 SI를 이용한 망막 변성 동물 모델의 제조방법 및 이를 이용한 망막 변성 동물 모델

(57) 요약

본 발명은 a) 포유동물 안구 내 유리체 절제술을 수행하는 단계; 및b) 상기 포유동물 안구 내에 SI(Sodium Iodate)을 주입하는 단계; 를 포함하는, 망막 변성 동물 모델의 제조방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A01K 2207/30 (2013.01)
A01K 2227/107 (2013.01)
A01K 2267/03 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌

Michael Koss et al., ARVO Annual Meeting Abstract(2014년 4월 공개)*
Bum-Joo Cho et al., Jpn J Ophthalmol vol.60, pp.226-237(2016.02.23. 공개)*
Kawasaki Medical Journal, vol.42(2), pp.85-93(2016)
JNIOSH-SRR, vol.44, pp.67-70(2014)
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711070511
부처명	과학기술정보통신부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	바이오·의료기술개발사업
연구과제명	망막변성모사 중대형 동물 모델 개발 및 인공망막시스템의 장기 안전성 및 유효성 평가
기 여 율	1/1
주관기관	고려대학교
연구기간	2017.06.30 ~ 2022.06.29

명세서

청구범위

청구항 1

망막 전체에 균일한 변성이 유발된 망막 변성 동물 모델의 제조방법으로서,

- a) 인간을 제외하는 포유동물 안구 내 유리체 절제술을 수행하는 단계; 및
- b) 유리체 절제술을 수행한 상기 포유동물의 각막 운부 주변으로 25 ~ 30 게이지 사이의 바늘을 이용하여 안구 내에 SI(Sodium Iodate)을 주입하는 단계; 를 포함하고,

상기 단계 b)는, 상기 단계 a)로부터 6일 이후에 수행되는 것인, 망막 변성 동물 모델의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 SI는 4mg/ml 내지 9mg/ml의 농도인, 망막 변성 동물 모델의 제조방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 SI는 0.05ml의 주사액에 0.2mg 내지 0.45mg 용량의 SI가 희석된 것인, 망막 변성 동물 모델의 제조방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 포유동물은 토끼인, 망막 변성 동물 모델의 제조방법.

청구항 7

삭제

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 동물 모델은 망막의 원뿔세포가 소실된 것인, 망막 변성 동물 모델의 제조방법.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 동물 모델은 망막의 원뿔세포와 막대세포를 포함하는 시세포층이 소실된 것인, 망막 변성 동물 모델의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 SI(Sodium Iodate)를 이용한 망막 변성 동물 모델의 제조방법 및 이를 이용한 망막 변성 동물 모델에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 망막 변성은 시세포의 변성으로 시력이 저하되어 결국 실명되는 질환으로, 아직 효과적인 치료법이 없다. 유전성 망막 변성, 망막색소변성증(retinitis pigmentosa, RP) 등 망막의 시세포가 손상되어 실명에 이르는 질환들의 치료를 위하여 개발되는 유전자 치료, 줄기세포 치료, 나아가 인공망막 등 여러 치료방법을 적용하기 위해서는 망막 변성 질환을 가진 실험동물의 개발이 필수적이다.

[0004] 이와 같이 여러 치료방법을 적용하기 위해 유전자 변성 동물 모델이나 약물로 변성을 유발하는 모델 등이 개발되고 있다. 약물로 망막 변성을 유발한 동물 모델의 경우, 일단 약물 변성 프로토콜이 확립되면 유전자 변성 동물 모델보다 가격이 저렴하며, 변성 유발기간이 짧아 대량으로 변성을 유발할 수 있고, 연구자가 각종 규제로부터 자유로울 수 있는 장점이 있다.

[0005] 현재 망막 변성 동물 모델을 만들기 위해 사용되는 약제 중 하나인 요오드산 나트륨(Sodium Iodate, SI)는 망막 독성물질로, 망막색소상피를 일차적으로 손상시키며 이차적으로 망막의 다른 층까지 손상시켜 시력저하를 일으킨다. 이러한 SI의 독성작용이 망막 변성과 유사한 병리생태학적 변성을 보이면서 다양한 질환에 대한 모델유발물질로 사용되었다. 이러한 질환들에는 연령관련 황반변성 (Age-related Macular Degeneration; AMD), 선천성 망막 변성 그리고 망막색소변성증(Pigmentosa retinitis)이 있다.

[0006] 한편, 토끼는 생리적인 망막구조와 약동학적인 세포단위 기전이 사람과 유사하여 전임상실험 단계에서 독성모델 동물로 널리 사용되어 왔다. 그러나, 요오드산 유발 망막 변성 동물 모델로서 토끼보다는 주로 랫트 나 마우스가 이용되어 왔으며, 기초연구 또한 이 동물에 집중되어 토끼에서의 망막 변성 유발 이후 변화에 대한 기초자료가 부족한 실정이다.

[0007] 과거 토끼에서 염화 요오드산 (NaIO_3)을 체중 당 10 mg 전신 투여한 군과 체중 당 20 mg 전신 투여한 군에서의 망막 변성을 전기생리학적, 해부학적, 그리고 조직병리학적 변화를 관찰하여 요오드산염에 의해 망막색소 상피와 광수용체 세포의 변성과 전반적인 망막 퇴축을 일으켜 시력 저하가 나타나는 것을 확인한 연구도 있었다. 그러나, 이는 요오드산 염의 전신 주사를 수행한 것으로, 이 경우 전신적으로 투여된 약물은 두 눈의 시세포에 모두 영향을 미쳐 실험 개체의 양안 실명을 유발 이는 장기간 실험개체를 사육하며 치료효과를 보아야 하는 연구에서 부적절한 면이 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 이러한 배경 하에, 본 발명자는 안구 내로 SI를 주입하기 전 유리체 절제술을 수행함으로써 한쪽 눈에만 망막 변성이 유발되고, 망막의 원뿔세포만 소실되거나, 원뿔세포와 막대세포 모두를 포함하는 시세포층만이 선택적으로 소실된 동물 모델을 제조할 수 있다는 사실을 발견함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

[0010] 본 발명은 종래 기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 본 발명의 목적은 한쪽 눈에 국한되며, 원뿔세포나 원뿔세포와 막대세포 모두를 포함하는 시세포층이 선택적으로 소실된 망막 변성 동물 모델의 제조방법 및 이를 이용한 동물 모델을 제공하는 것이다.

[0011] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 본 발명의 일 실시예에 따르면, a) 포유동물 안구 내 유리체 절제술을 수행하는 단계; 및 b) 상기 포유동물 안구 내에 SI(Sodium Iodate)를 주입하는 단계; 를 포함하는, 망막 변성 동물 모델의 제조방법이 제공된다.
- [0014] 일 측에 따르면, 상기 SI는 4mg/ml 내지 9mg/ml의 농도일 수 있다.
- [0015] 일 측에 따르면, 상기 SI는 0.05ml의 주사액에 0.2mg 내지 0.45mg 용량의 SI가 희석된 것 일 수 있다.
- [0016] 삭제
- [0017] 일 측에 따르면, 상기 단계 b)는, 상기 단계 a)로부터 6일 내지 10일 이후에 수행되는 것일 수 있다.
- [0018] 일 측에 따르면, 상기 포유동물은 토끼일 수 있다.
- [0019] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 의해 제조된 망막 변성 동물 모델이 제공된다.
- [0020] 일 측에 따르면, 상기 동물 모델은 망막의 원뿔세포가 변성될 수 있다.
- [0021] 일 측에 따르면, 상기 동물 모델은 망막의 원뿔세포와 막대세포를 포함하는 시세포층이 소실될 수 있다.

발명의 효과

- [0023] 본 발명의 망막 변성 동물 모델의 제조방법은 SI의 주입 전에 먼저 유리체 절제술을 수행함으로써, 유리체 절제술을 수행하지 않은 경우에 비해 망막 전체에 균일한 변성을 유발하고, 원뿔세포나 원뿔세포와 막대세포를 포함하는 시세포층을 선택적으로 소실시킬 수 있다.
- [0024] 또한, 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 동물 모델은 인공망막의 개발, 줄기세포 치료 연구 등에 이용될 수 있으며, 사육의 편리함도 제공할 수 있다.
- [0025] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 유리체 절제술 유무 및 SI 농도에 따른 토끼 안구의 광시야 안저영상 및 자가 형광 영상 사진이다.
- 도 2는 토끼 안구 내로 SI 주사 1달 후 근적외선(IR) 사진, 빛 간섭 단층촬영(OCT) 사진 및 H&E 조직염색사진이다.
- 도 3은 유리체 절제술 후 SI 0.4mg/0.05ml를 주사한 경우 토끼 안구의 광시야 안저영상 사진과 자가 형광 영상 사진, 근적외선 사진, 빛 간섭 단층촬영(OCT) 사진 및 EGR 검사 결과를 나타내는 것이다.
- 도 4는 유리체 절제술을 수행하지 않고 SI를 안구 내 주사한 토끼 안구의 광시야 안저영상 및 자가 형광 영상 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 그러나, 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있어서 특허출원의 권리 범위가 이러한 실시예들에 의해 제한되거나 한정되는 것은 아니다. 실시예들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물이 권리 범위에 포함되는 것으로 이해되어야 한다.
- [0029] 실시예에서 사용한 용어는 단지 설명을 목적으로 사용된 것으로, 한정하려는 의도로 해석되어서는 안된다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.
- [0030] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적

인 의미로 해석되지 않는다.

- [0031] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0032] 본 발명은 유리체 절제술을 수행하지 않고 SI를 주입하는 경우 망막 전체에 변성이 유발되지 않거나 불규칙적으로 생기는 반면, SI를 주입하기 전 유리체 절제술을 수행하면 망막 전체에 균일한 변성을 유발할 수 있음을 발견하여 완성된 것이다.
- [0033] 본 발명의 일 실시예에 따르면,
- [0034] a) 포유동물 안구 내 유리체 절제술을 수행하는 단계; 및
- [0035] b) 상기 포유동물 안구 내에 SI(Sodium Iodate)를 주입하는 단계; 를 포함하는, 망막 변성 동물 모델의 제조방법이 제공된다. "유리체 절제술(Pars Plana Vitrectomy, PPV)"은 유리체 절제침(vitreor)라 불리는 외과장치를 통해 유리체 체액을 기계적으로 절단 및 흡입함으로써 유리체의 액체를 기계적으로 제거하는 것으로 이루어지는 외과 시술이다. 유리체 절제술은 유리체 절제침의 굵기(gauge)에 따라서 분류될 수 있는데, 현재 사용되고 있는 유리체 절제침의 종류는 27 게이지, 25 게이지, 23 게이지, 20 게이지가 있으며, 23게이지 유리체 절제술(23G vitrectomy)과 25 게이지 유리체 절제술(25G vitrectomy)이 가장 많이 사용된다.
- [0036] 본 발명의 동물 모델 제조방법에서 유리체 절제술은 공막 절개(trocar insertion), 주입관 삽입(insertion of infusion cannula), 평형염액(balanced salt solution)을 이용한 관류 압력의 조절, PVD(Posterior vitreous detachment, 후유리체박리) induction, 망막건인막 처치 단계를 포함할 수 있으며, 필요에 따라 일부 단계가 생략될 수 있다.
- [0037] SI는 4mg/ml 내지 9mg/ml의 농도로 주입되는 것이 바람직하며, 8mg/ml의 농도로 주입되는 것이 보다 바람직하다. SI를 4mg/ml 미만으로 주입하는 경우 망막 변성이 유발되지 않으며, 9mg/ml 를 초과하여 주입하는 경우 독성이 커서 망막 전체에서 시세포층이 소실되고 망막 전층이 위축되는 등의 문제가 발생하여 망막 변성 동물 모델로서 사용하기 어려우므로 바람직하지 않다(실시예 3-1, 3-2 및 도 1 내지 3 참조). 또한, 토끼 안구의 용적은 2ml 정도로 일정하므로, 0.05ml의 주사액에 0.2mg 내지 0.45mg 용량의 SI를 희석하여 주입하는 것이 바람직하다.
- [0038] 또한, SI는, 예를 들어, SI는 각막 윤부(limbal) 주변으로 주사 될 수 있다. 이를 통해 복강 내 투여 등 전신 주사하는 경우 발생하는 양안 실명, 약물 독성 등의 문제를 해결할 수 있으며, SI를 직접 안구에 주입하므로 한 쪽 눈에만 망막 변성을 유발할 수 있는 장점이 있다.
- [0039] 한편, 단계 b)의 SI 주입은 단계 a)의 유리체 절제술 수행으로부터 6일 내지 10일 이후에 수행되는 것이 바람직하며, 7일 내지 9일 이후에 수행되는 것이 보다 바람직하다. 유리체 절제술 수행으로부터 6일 경과 이전에 SI를 주입하는 경우 유리체 손상 후 회복 기간이 지나치게 짧아 SI가 균일하게 주입되지 않을 수 있다. 유리체 절제술 수행으로부터 10일을 초과하여 SI를 주입하는 경우에는 동물 모델의 제조에 장기간이 소요되어 효율성 측면에서 바람직하지 않다.
- [0040] 본 발명의 동물 모델 제조방법에 사용되는 포유동물은 토끼, 개, 고양이와 같이 안구가 큰 동물이 바람직하다. 그 중에서도, 토끼는 비용면에서 효율적이고, 개나 고양이보다 다루기 수월하므로 가장 바람직하다.
- [0041] 본 발명의 다른 일 실시예에 따르면, 본 발명의 일 실시예에 의해 제조된 망막 변성 동물 모델이 제공된다.
- [0042] 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 망막 변성 동물 모델은 망막의 원뿔세포가 변성되거나, 망막의 원뿔세포와 막대세포를 포함하는 시세포층이 소실될 수 있다.
- [0043] 또한, 본 발명의 망막 변성 동물 모델은 SI 주사 이후 나타나는 망막 변성의 패턴을 광학 안저 카메라나 OCT로 확인하여 연구 목적에 부합하는 경우 실험에 이용될 수 있다.
- [0044] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하기로 한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 목적으로 기술된 것으로서, 본 발명의 범위가 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0045] 이하의 실시 예는 Ophthalmic and Vision Research를 위한 동물의 사용법에 대하여 규제하고 있는 ARVO 선언의 규제에 따라 실시한 것이다.

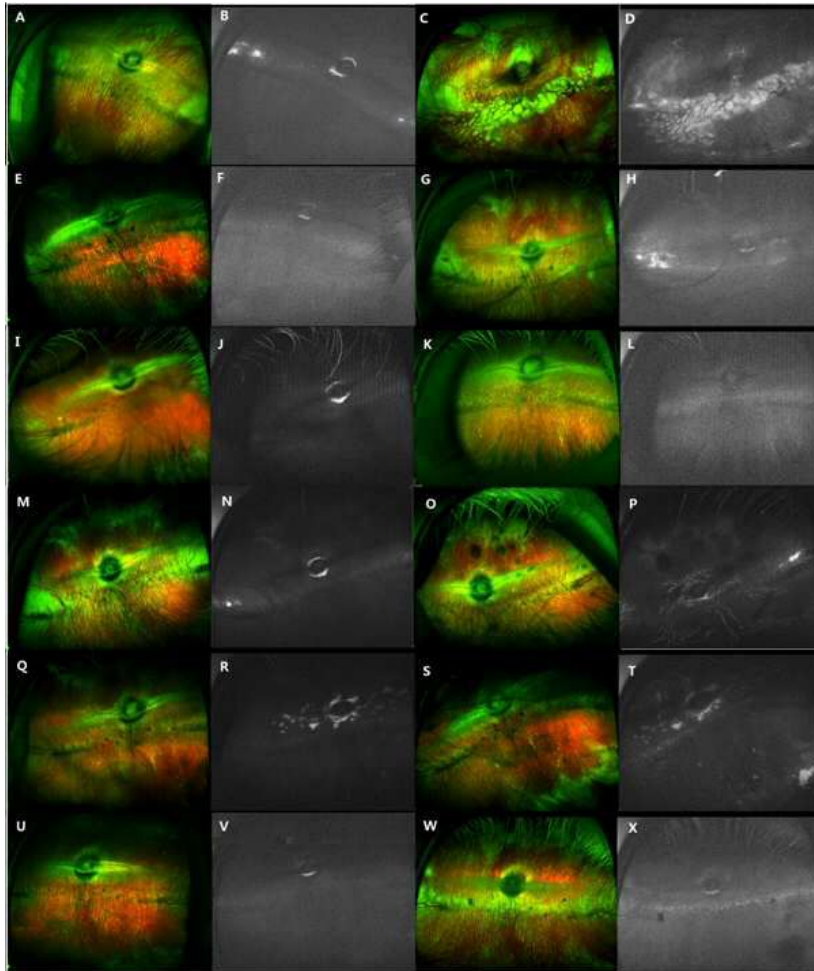
- [0047] 실시예 1: 유리체 절제술의 시행
- [0048] 2.5 내지 3.5 kg 범위의 뉴질랜드 흰토끼를 준비한다. A-scan을 이용하여 측정된 토끼의 안구 길이는 평균 15.75 mm (범위: 15.0~16.5 mm)이었다.
- [0049] 준비한 토끼를 alfaxalone (5 mg/kg; Alfaxan®Vetoquinol, West Sussex, UK) 과 xylazine (4 mg/kg; Rompun®Bayer Corp., Shawnee Mission, KA, USA)을 이용하여 마취를 시행했다. 두 가지 약을 각각 1cc 근육 주사하였다. 마취가 부족한 경우 0.5cc씩 추가로 근육 주사하였다. 토끼의 동공은 tropicamide 0.5%와 phenylephrine HCl 2.5% eye drops (Mydrin-P®)에 의해 확장되었고, proparacaine HCl 0.5% (Alcaine®) 국부 안약 마취제를 처리하였다.
- [0050] 먼저 토끼 안구에 23게이지 크기의 유리체 절제침을 이용하여 토끼 각막 윤부에서 약 4mm 지점에 두개의 트로카를 삽입한 후 트로카 한 곳으로는 평형 염기액을 주입하여 부피를 유지하면서 나머지 하나의 트로카를 이용하여 유리체 절제술을 시행했다. 이 때, 수술현미경의 조명을 이용하고, 수술 시야의 확보를 위해 direct concave lens를 이용하여 안구내 구조물을 확인하면서 수술을 진행하였다.
- [0052] 실시예 2: SI 약물의 준비
- [0053] 분자량 191.89g/mol의 sodium iodate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 phosphate buffered saline (PBS) 0.05 ml 당 SI가 각각 0.05mg, 0.1mg, 0.3mg, 0.5mg의 양이 되도록 희석하여 준비한다.
- [0055] 실시예 3: SI 농도에 따른 망막 변성 패턴의 평가
- [0056] 실시예 3-1
- [0057] 상기 실시예 1의 유리체 절제술로부터 1주일 이후, 준비된 약물들을30 게이지 바늘을 이용하여 토끼 각막 윤부로부터 약 4mm 지점에 주사하였다. 주입된 SI의 농도에 따라 실험예 1(0.05mg/0.05ml), 실험예 2(0.1mg/0.05ml), 실험예 3(0.3mg/0.05ml), 실험예 4(0.5mg/0.05ml)로 하고, 유리체 절제술 없이 SI 0.5mg/0.05ml를 주사한 군을 비교예 1, 유리체 절제술만 시행한 군을 비교예 2로 하였다.
- [0058] SI 주사 1달 이후, 망막 변성의 패턴을 광시야 안저 촬영 및 자가 형광 안저 촬영하여 도 1에 나타내고, 자가 형광 빛 간섭 단층촬영(OCT), 근적외선(IR), H&E 조직염색 사진은 도 2에 나타냈다.
- [0059] 도 1에서 좌측 두 열은 주사 전 사진, 우측 두 열은 주사 1달 이후 사진이다. a ~ d는 유리체 절제술 없이 SI 0.5mg/0.05ml를 주사한 군(비교예 1)으로, 수술 후 안저 사진에서 매우 심한 paving stone(보도블록) 모양의 흰색의 기다란 병변이 안저의 visual streak부위를 중심으로 확인되었다. 자가 형광 사진에서도 해당부위에 paving stone(보도블록) 모양의 매우 증가된 자가 형광 병변을 관찰할 수 있었다.
- [0060] e ~ h는 유리체 절제술만 시행한 군(비교예 2)으로, 변화가 없음을 확인할 수 있다.
- [0061] i ~ l은 유리체 절제술 후 SI 0.05mg/0.05ml를 주사한 군(실험예 1)으로, 안저사진과 자가 형광 사진 모두 큰 변화가 관찰되지 않았다.
- [0062] m ~ p는 유리체 절제술 후 SI 0.1mg/0.05ml를 주사한 군(실험예 2)으로 안저사진과 자가 형광 사진 모두 큰 변화가 관찰되지 않았다.
- [0063] q ~ t는 유리체 절제술 후 SI 0.3mg/0.05ml를 주사한 군(실험예 3) 으로 안저사진과 자가 형광 사진 모두 큰 변화가 관찰되지 않았다.
- [0064] u ~ x는 유리체 절제술 후 SI 0.5mg/0.05ml를 주사한 군(실험예 4)으로 수술 후 안저 사진에서 visual streak 부위를 따라 띠모양으로 밝게 보이는 부위가 관찰되었고, 자가 형광 사진에서 해당부위의 가늘고 길게 증가된 자가 형광 병변이 관찰되었다.
- [0065] 도 2에서는 좌측부터 순서대로 근적외선(IR) 사진, 빛 간섭 단층촬영(OCT) 사진, H&E 조직염색 사진을 나타낸다.
- [0066] a, b는 유리체 절제술 없이 SI 0.5mg/0.05ml를 주사한 군(비교예 1)으로, 근적외선 (IR) 사진에서 visual streak 부위에 paving stone 모양의 하얀 병변들이 관찰되었다. 해당 paving stone 부위의 OCT 사진에서는 증가된 반사 물질들이 망막의 내층과 외층 사이에 침착 된 것을 확인할 수 있었으며, 그 주변 조직도 전층이 심하게 위축된 것이 관찰되었다.

- [0067] c, d는 유리체 절제술만 시행한 군(비교예 2)으로 IR 사진, OCT 사진 및 조직 소견 모두 정상으로 나타났다.
- [0068] e, f는 유리체 절제술 후 SI 0.05mg/0.05ml를 주사한 군(실험예 1)으로 IR 사진, OCT 사진 및 조직 소견 모두 정상으로 나타났다.
- [0069] g, h는 유리체 절제술 후 SI 0.1mg/0.05ml를 주사한 군(실험예 2)으로 IR 사진, OCT 사진 및 조직 소견 모두 정상으로 나타났다.
- [0070] i, j는 유리체 절제술 후 SI 0.3mg/0.05ml를 주사한 군(실험예 3)으로 IR 사진, OCT 사진 및 조직 소견 모두 정상으로 나타났다.
- [0071] k, l은 유리체 절제술 후 SI 0.5mg/0.05ml를 주사한 군(실험예 4)으로 근적외선 (IR) 사진에서 visual streak 부위에 띠처럼 길게 증가된 반사소견의 병변이 나타났고, 해당 부위의 OCT 영상에서 망막 전층이 위축된 것으로 관찰되었다. 조직검사에서도 전층이 심하게 위축된 것이 확인되었다.
- [0072] m은 SI의 농도에 따른 살아있는 세포와 죽은 세포의 패턴을 도식화한 것이다. 0.05mg/0.05ml를 주사한 군에서는 SI를 주사하지 않은 군과 유사한 패턴을 나타내어 망막 변성이 유발되지 않은 것을 확인할 수 있고, 0.5mg/0.05ml를 주사한 군에서는 대부분의 시세포가 소실된 것을 확인할 수 있다.
- [0073] 이상의 결과를 통해 SI를 너무 많이 투여하는 경우(비교예 1, 실험예 4) 망막 전층이 소실되고, SI를 너무 적게 투여하는 경우(실험예 1 ~ 3) 망막 변성이 유발되지 않아 망막 변성 동물 모델에 적합하지 않다는 것을 알 수 있다.
- [0075] 실시예 3-2
- [0076] 두 마리의 토끼를 준비하고, 상기 실시예 1에 기재된 바와 같이 유리체 절제술을 시행한 다음 1주일 이후에 0.4mg/0.05ml 농도의 SI를 30 게이지 바늘을 이용하여 토끼 각막 윤부로부터 약 4mm 지점에 주사하고, 그 결과를 도 3에 나타냈다.
- [0077] 도 3을 참고하면, 첫 번째 타입(좌측)은 e 안저 사진과 f visual streak 부위에 띠처럼 긴 증가된 반사소견의 병변이 관찰되고, 해당 부위의 OCT 사진에서는 visual streak 부위에서만 시세포 외층이 소실된 반면 나머지 부위에서는 정상적인 망막 구조가 유지되는 것이 관찰되었다. 특히, h ERG 검사에서 암순응 반응인 rod 반응이 현저히 감소하고, 양순응 반응에서는 빛 반응이 소실된 것을 통해 망막의 원뿔세포가 소실된 경우임을 확인할 수 있다. 이는 망막에서 원뿔세포 수가 막대세포보다 적기 때문에 먼저 소실되기 때문인 것으로 보인다.
- [0078] 두 번째 타입(우측)은 ERG 검사에서 i 안저 사진과 j visual streak 부위에 띠처럼 길게 증가된 반사소견의 병변이 관찰되고, k 해당 부위의 OCT 사진에서는 visual streak 부위 뿐만 아니라 망막 전체에서 시세포 외층이 소실된 반면, 나머지 부위는 정상적인 망막 구조가 유지되는 것이 관찰되었다. 특히, h ERG 검사에서 암순응 반응인 rod 반응과 양순응 반응에서 빛 반응이 모두 소실된 것을 통해 망막 전체에서 시세포 외층이 소실된 경우임을 확인할 수 있다.
- [0080] 실시예 4: 유리체 절제술을 수행하지 않는 경우의 망막 변성
- [0081] 두 마리의 토끼를 준비하고, 유리체 절제술 없이 0.3mg/0.05ml, 0.4mg/0.05ml 농도의 SI를 각각 30 게이지 바늘을 이용하여 토끼 각막 윤부로부터 약 4mm 지점에 주사하였다. SI 주입으로부터 4주 후, 망막 변성 발생여부를 확인하여 도 4에 나타냈다.
- [0082] 도 4에 나타난 바와 같이, 0.3mg/0.05ml, 0.4mg/0.05ml 농도 모두에서 망막 변성이 유발되었으나, 망막 변성이 안구 전체에 균일하게 유발되지 않고 정상으로 변성이 유발되지 않은 부분이 남아 있는 것을 확인할 수 있었다.
- [0083] 상기의 실험결과를 통해 SI 주사 전 유리체 절제술을 수행하지 않는 경우에는 불규칙적인 망막 변성이 유발되어, 안구 전체에 균일한 망막 변성을 유발할 수 없는 문제점이 발생하게 된다는 것을 알 수 있다.
- [0084] 결론적으로, 상기 실시예 3-1 및 실시예 4에서 나타난 결과는 안구 전체에 고른 망막 변성이 유발되도록 하기 위해서는 SI를 주사하기 전 유리체 절제술이 필수적임을 시사한다.
- [0086] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기를 기초로 다양한 기술적 수정 및 변형을 적용할 수 있다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

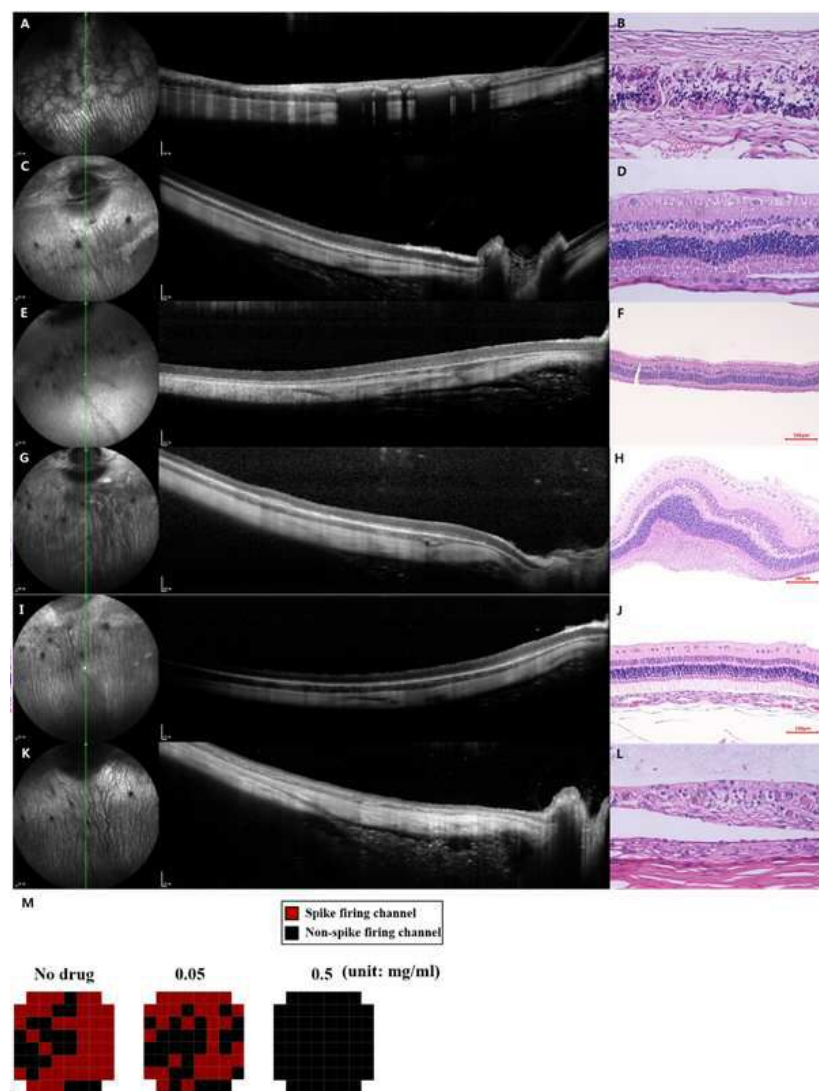
[0087] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 청구범위의 범위에 속한다.

도면

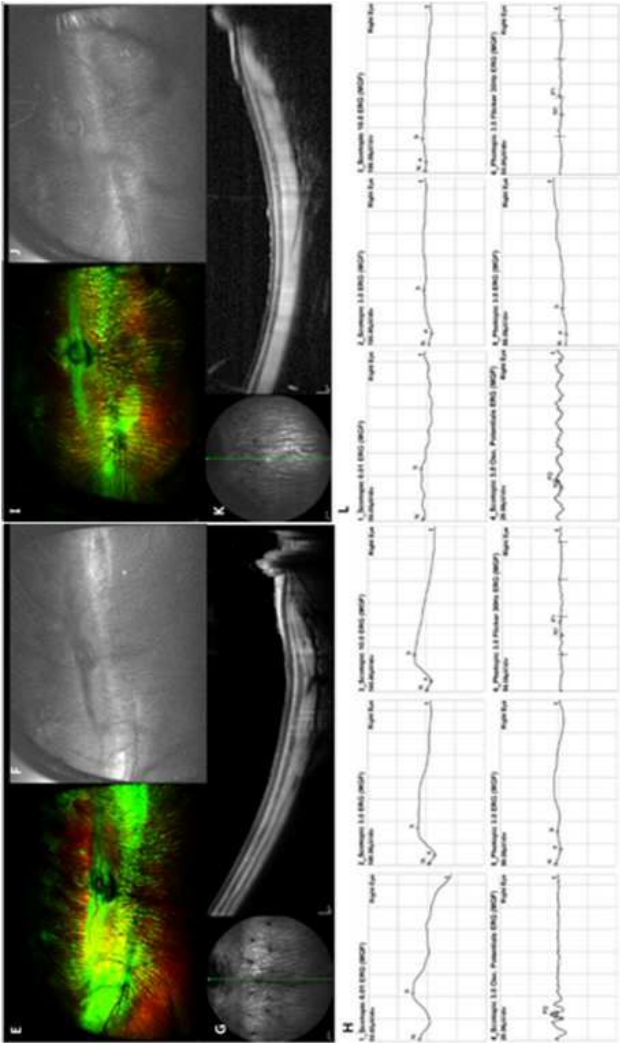
도면1



도면2



도면3



도면4

