



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0046559
(43) 공개일자 2018년05월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01K 67/027 (2006.01) G01N 33/50 (2017.01)
(52) CPC특허분류
A01K 67/027 (2013.01)
G01N 33/5088 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0141856
(22) 출원일자 2016년10월28일
심사청구일자 2016년10월28일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
부경대학교 산학협력단
부산광역시 남구 신선로 365 (용당동,
부경대학교)
(72) 발명자
안예찬
부산광역시 남구 용소로 45, 부경대학교 대연캠퍼스
응비관 의공학과(대연동)
김성원
부산광역시 서구 감천로 262, 고신대복음병원 3
동 1층 이비인후과(암남동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인충정

전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 **종양 동물모델 제작방법과 이에 의한 종양 동물모델 및 이를 이용한 스크리닝 방법**

(57) 요약

본 발명은 인간을 제외한 동물의 갑상선, 후두 점막, 흉벽 중피 및 고환의 중피 중 하나 이상의 부위에 종양세포를 접종하여 접종 부위에 종양을 발생시키는 단계를 포함하는, 종양 동물모델 제작방법, 이에 의해 제작된 종양 동물모델, 및 이를 이용한 항암제 스크리닝 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A01K 2207/12 (2013.01)
A01K 2227/107 (2013.01)
A01K 2267/0331 (2013.01)

(72) 발명자

육철호

부산광역시 서구 감천로 262 , 고신대복음병원 3동
1층 내과(암남동)

이형신

부산광역시 서구 감천로 262 , 고신대복음병원 3동
1층 이비인후과(암남동)

박은기

부산광역시 서구 감천로 262, 고신대학교 의과대학
인문사회의학교실(암남동)

강현욱

부산광역시 남구 분포로 111, 103동 304호(용호동,
엘지메트로시티)

이강대

부산광역시 서구 감천로 262 , 고신대복음병원 3동
1층 이비인후과(암남동)

이해영

부산광역시 서구 감천로 262 , 고신대복음병원 6동
1층 흉부외과(암남동)

유준식

미국, 캘리포니아 92677, 라구나 니구엘, 예저 드
라이브 28631

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1525004400
부처명	해양수산부
연구관리전문기관	한국해양과학기술진흥원
연구사업명	해양수산생명공학기술개발사업
연구과제명	해양 융복합 바이오닉스 소재 상용화 기술 개발
기 여 율	1/1
주관기관	부경대학교산학협력단
연구기간	2015.05.01 ~ 2019.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

인간을 제외한 동물의 갑상선, 후두 점막, 흉벽 중피 및 고환의 중피 중 하나 이상의 부위에 종양세포를 접종하여 접종 부위에 종양을 발생시키는 단계를 포함하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 인간을 제외한 동물의 갑상선에 종양세포를 접종하는 경우, 상기 종양세포는 VX2 종양세포인 것인 종양 동물모델 제작방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 종양세포를 접종하는 것은 초음파 유도하에 이루어지는 것을 특징으로 하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 4

제 2 항에 있어서, 상기 VX2 종양세포 1×10^7 cfu 를 갑상선에 접종하는 것을 특징으로 하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 인간을 제외한 동물의 후두 점막에 종양세포를 접종하는 경우, 상기 종양세포는 VX2 종양세포인 것을 특징으로 하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 상기 접종은,

인간을 제외한 동물을 양와위(supine position)로 눕히고, 구강을 통해 후두 내시경을 삽입하고, 상기 내시경을 이용하여 모니터링을 하면서 갑상선골막을 촉진한 후, 주사바늘을 피부에서 후두 공간으로 삽입하고, 상기 주사바늘을 확인한 후, 후두 점막에 VX2 종양세포를 접종하는 것인, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 7

제 5 항에 있어서, 상기 VX2 종양세포 1×10^7 cfu를 후두 점막에 접종하는 것을 특징으로 하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 8

제 1 항에 있어서, 인간을 제외한 동물의 흉벽 중피에 종양세포를 접종하는 경우, 상기 종양세포는 VX2 종양세포인 종양 동물모델 제작방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 상기 접종은,

항생제를 인간을 제외한 동물에 투여한 후, 상기 동물의 흉벽 늑골 6 내지 7번의 중간겨드랑이선(mid axillary line)에 흉강경을 삽입하여, 흉벽의 벽측 중피를 가시화시킨 후, 세침을 피부를 통해 주입하여 벽측 흉막의 전위(displacement)를 확인한 후, 흉벽 중피에 VX2 종양세포를 접종한 것을 특징으로 하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 10

제 8 항에 있어서, 상기 VX2 종양세포 1×10^6 cfu 내지 1×10^8 cfu를 흉벽 중피에 접종하는 것을 특징으로 하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 11

제 1 항에 있어서, 인간을 제외한 동물의 고환 중피에 종양세포를 접종하는 경우, 상기 종양세포는 VX2 종양세포인 종양 동물모델 제작 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 접종은, 항생제 투여 후, 고환 피부를 절개하여 고환 부위의 점막하 조직을 노출시킨 후, VX2 종양세포를 접종하는 것을 특징으로 하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 13

제 11 항에 있어서, 상기 VX2 종양세포 1×10^6 cfu 내지 1×10^8 cfu를 고환 중피에 접종하는 것을 특징으로 하는, 종양 동물모델 제작방법.

청구항 14

제 1 항에 있어서, 상기 인간을 제외한 동물은 토끼인 것인 종양 동물모델 제작방법.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항의 방법에 의하여 제작된 종양 동물모델.

청구항 16

제 15 항의 종양 동물모델에 항암제 후보 물질을 투여하는 단계; 및
종양의 변화를 관찰하는 단계를 포함하는, 항암제 스크리닝 방법.

청구항 17

제 16 항에 있어서,

항암제 후보 물질의 투여는 경구, 비경구, 혈관내, 피내, 경피, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하 또는 비내 투여인 것인, 항암제 스크리닝 방법.

청구항 18

제 16 항에 있어서,

항암제 후보 물질의 투여는 경구, 비경구, 혈관내, 피내, 경피, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하 또는 비내 투여인 것인, 항암제 스크리닝 방법.

청구항 19

제 16 항에 있어서,

상기 종양의 변화를 관찰하는 단계는, 육안 관찰, 내시경, 또는 초음파, 컴퓨터단층촬영, 자기공명영상 등을 이용하여 수행되는 것인, 항암제 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 종양 동물모델 제작방법, 이에 의해 제작된 종양 동물모델, 및 이를 이용한 약물 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0001]

- [0002] 갑상선암(甲状腺癌, 영어: thyroid neoplasm, thyroid cancer)은 갑상선호르몬을 생산하여 인체의 대사를 조절하는 장기인 갑상선에서 생기는 악성종양이다. 갑상선암의 종류는 유두상암, 여포암, 수질암등이 있으며, 유두상암 및 여포암을 분화암이라고 부른다. 갑상선에 혹이 생긴 것을 갑상선 결절이라 하는데, 양성과 악성이 있는데, 이중 악성을 갑상선암이라 하며 비정상적인 세포들이 통제되지 않고 성장하는 것이다. 전 세계적으로 한 해에 123,000명이 갑상선암에 걸리고, 이 수치는 앞으로 더 늘어날 것으로 보이며, 전체 종양 중에서 가장 발생빈도가 높은 악성종양이기 때문에 임상적으로 매우 중요하다.
- [0003] 한편, 후두(larynx)는 목 앞쪽에 위치하는 기관으로 흔히 울림통이라고도 하며, 말을 하고 숨을 쉬는데 가장 중요한 기능을 한다. 또한, 음식물을 삼킬 때 기도로 흡입되지 않도록 폐를 보호해 주는 역할을 한다. 코를 통해 들어온 공기는 후두를 통과해서 기도로 내려가 폐에 도달하며, 내쉬는 공기가 후두를 통과할 때 목소리를 내게 된다. 입을 통해 들어온 음식물은 인두를 거쳐 후두 뒤를 지나 식도로 내려가게 된다. 후두는 갑상연골, 윤상연골, 피열연골 등으로 이루어져 있으며 그 중 갑상 연골은 목의 정중앙에서 앞쪽으로 볼록하게 튀어나와 쉽게 손으로 만질 수 있다. 이 외에 후두는 성대에서 목소리를 발생시키는 아주 중요한 역할을 담당한다. 후두암이란 이러한 후두에 암 조직이 발생하는 질병을 말하는데, 두경부(머리와 목 부위)에 발생하는 암의 25% 내지 30%를 차지할 만큼 많은 빈도로, 50~60대 남자에게 주로 발생하며, 전체 두경부 암 중에서는 갑상선암 다음으로 발생빈도가 높고, 두경부의 상피세포암 중에서는 가장 흔한 암종이기 때문에 임상적으로 매우 중요하다.
- [0004] 다른 한편, 종피는 체내의 닫힌 공간의 내강을 싸는 얇은 막으로 구성되어 있다. 흉막 종피, 복강 종피, 고환강 종피가 있다. 종피종은 종피에 장기간의 석면노출에 의해 발생하는 악성종양이다. 종피종은 흉막, 복강 및 고환 종피에서 발생하는 것으로 알려져 있고, 악성 종양으로 조기 진단이 어렵고 암이 발생하면 약물, 방사선에 반응이 적어 생존율이 지극히 짧은 악성 종양에 속한다. 따라서, 종피종의 조기 진단이 환자의 생존율을 결정하는 결정적 요인이 된다. 그러나, 흉막은 흉벽의 내측에 위치하여 영상적 진단이나 치료의 경과 관찰에 용이하지 못한 문제가 있다. 고환 종피는 흉막 종피와는 달리 심부에 위치하지 않고 외부장기인 고환의 피부하 1 내지 2 mm 깊이 내에 존재하여 접근이 용이한 종피이다. 석면에 노출된 환자의 고환 종피에서도 종피종이 발생하는 것으로 알려져 있으나, 실제로 조기진단이나 종양발생 모델에 연구된 적이 없었다.
- [0005] 악성 종양을 연구할 때 동물 모델을 이용한 연구는 병인을 연구하고, 치료 계획을 적절하게 수립하고 평가할 수 있는 좋은 방법으로 여겨진다. 특히 토끼 모델은 초음파 검사가 가능하고, 침습적 내시경, 광학영상 진단을 통해 병리학적 기전과 이미징 진단이 가능하여, 실제 인체에서 발생하는 종양과 유사한 소견을 보인다는 장점이 있다. 따라서, 상기와 같은 동물모델의 개발이 필요한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 이에, 본원은 다양한 종양 동물모델을 개발함으로써 종양의 양상을 용이하게 관찰할 수 있고, 종양으로부터 종양세포를 추출, 배양 및 동정하여 병리학적 종양 모델 개발이 가능한 기술을 제공하고자 한다.
- [0007] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0008] 상기한 기술적 과제를 달성하기 위한 기술적 수단으로서, 본원의 제 1 측면은 인간을 제외한 동물의 갑상선, 후두 점막, 흉벽 종피 및 고환의 종피 중 하나 이상의 부위에 종양세포를 접종하여 접종 부위에 종양을 발생시키는 단계를 포함하는, 종양 동물모델 제작방법을 제공한다.
- [0009] 본원의 일 구현예에 따르면, 인간을 제외한 동물의 갑상선에 종양세포를 접종하는 경우, 상기 종양세포는 VX2 종양세포일 수 있다.
- [0010] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 종양세포를 접종하는 것은 초음파 유도하에 이루어지는 것일 수 있다.
- [0011] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 VX2 종양세포 1×10^6 cfu 내지 1×10^8 cfu를 갑상선에 접종하는 것 일 수 있다.
- [0012] 본원의 일 구현예에 따르면, 인간을 제외한 동물의 후두 점막에 종양세포를 접종하는 경우, 상기 종양세포는

VX2 종양세포일 수 있다.

- [0013] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 접종은, 인간을 제외한 동물을 양와위(supine position)로 눕히고, 구강을 통해 후두 내시경을 삽입하고, 상기 내시경을 이용하여 모니터링을 하면서 갑상선결막을 촉진한 후, 주사바늘을 피부에서 후두 공간으로 삽입하고, 상기 주사바늘을 확인한 후, 후두 점막에 VX2 종양세포를 접종하는 것일 수 있다.
- [0014] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 VX2 종양세포 1×10^6 cfu 내지 1×10^8 cfu를 후두 점막에 접종하는 것일 수 있다.
- [0015] 본원의 일 구현예에 따르면, 인간을 제외한 동물의 흉벽 중피에 종양세포를 접종하는 것일 수 있다.
- [0016] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 접종은, 항생제를 인간을 제외한 동물에 투여한 후, 상기 동물의 흉벽 늑골 6 내지 7번의 중간겨드랑이선(mid axillary line)에 흉강경을 삽입하여, 흉벽의 벽측 중피를 가시화시킨 후, 세침을 피부를 통해 주입하여 벽측 흉막의 전위(displacement)를 확인한 후, 흉벽 중피에 VX2 종양세포를 접종한 것일 수 있다.
- [0017] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 VX2 종양세포를 1×10^6 cfu 내지 1×10^8 cfu를 흉벽 중피에 접종하는 것일 수 있다.
- [0018] 본원의 일 구현예에 따르면, 인간을 제외한 동물의 고환 중피에 종양세포를 접종하는 경우, 상기 종양세포는 VX2 종양세포일 수 있다.
- [0019] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 접종은, 항생제 투여 후, 고환 피부를 절개하여 고환 부위의 점막하 조직을 노출시킨 후, VX2 종양세포를 접종하는 것일 수 있다.
- [0020] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 VX2 종양세포 1×10^6 cfu 내지 1×10^8 cfu를 고환 중피에 접종한 것일 수 있다.
- [0021] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 인간을 제외한 동물은 토끼일 수 있다.
- [0022] 본원의 제 2 측면으로는 상기의 방법들로 제작된 종양 동물모델일 수 있다.
- [0023] 본원의 제 3 측면으로는 종양 동물모델에 항암제 후보 물질을 투여하는 단계; 및 종양의 변화를 관찰하는 단계를 포함하는, 항암제 스크리닝 방법일 수 있다.
- [0024] 본원의 일 구현예에 따르면, 항암제 후보 물질의 투여는 경구, 비경구, 동맥내, 피내, 경피, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하 또는 비내 투여일 수 있다.
- [0025] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 종양의 변화를 관찰하는 단계는, 육안 관찰, 내시경, 또는 초음파를 이용해 수행될 수 있다.

발명의 효과

- [0026] 본 발명의 토끼 종양 동물모델은 초음파 검사가 가능하고, 침습적 내시경 및 광학영상 진단을 통해 병리학적 기전과 이미징 진단이 가능하여, 실제 인체에서 발생하는 종양과 유사한 소견, 병태생리, 조기발견, 예방 및 치료 등에 유용하게 사용할 수 있어, 향후 맞춤형 의료 진단 및 치료기기 등의 개발에 필수적이다.

도면의 간단한 설명

- [0027] 도 1은 본원 일실시예에 따른 초음파로 갑상선을 관찰하면서 종양세포를 주입하는 과정을 나타낸 도이다.
- 도 2는 본원 일실시예에 따라 제작된 토끼 갑상선 종양의 초음파 소견을 나타낸 도이다.
- 도 3은 본원 일실시예에 따라 제작된 토끼 갑상선 종양 모델에서 광음향단층촬영 소견을 나타낸 도이다.
- 도 4는 본원 일실시예에 따라 제작된 토끼 갑상선 종양 모델에서 광간섭단층촬영 소견을 나타낸 도이다.
- 도 5는 본원 일실시예에 따라 제작된 토끼 갑상선 종양 모델에서 조직병리학적 진단을 나타낸 도이다.
- 도 6은 본원 일실시예에 따라 경피적 성대성형술을 응용한 경피적 후두주입술을 이용하여 토끼 후두 종양 모델

을 제작하는 과정을 나타낸 도이다.

도 7은 본원 일실시예에 따라 제작된 토끼 후두 종양 모델의 좌측 성대내 종양을 병리학적 및 내시경적 소견을 나타낸 도로써, 도 7a는 조기 후두암, 도 7b는 진행 후두암을 나타낸 도이다. 도 7c는 병리학적 소견에 덧붙여 시간에 따른 내시경 소견을 나타낸 도이다.

도 8은 경피적 성대성형술을 나타낸 도이다.

도 9는 본원 일실시예에 따라 제작된 토끼 종피 종양 모델의 흉벽 종피 종양의 생성 및 변화과정을 나타낸 도이다.

도 10은 일실시예에 따라 제작된 토끼 종피 종양 모델의 고환 종피 종양의 생성을 나타낸 도이다(도 10a: 육안, 도 10b: 광간섭단층촬영, 도 10c: 병리조직소견).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0028] 아래에서는 첨부한 도면을 참조하여 본원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본원을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.
- [0029] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부제가 다른 부제 “상에” 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부제가 다른 부제에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부제 사이에 또 다른 부제가 존재하는 경우도 포함한다.
- [0030] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 “포함” 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0031] 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “약”, “실질적으로” 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용 오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다.
- [0032] 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “~(하는) 단계” 또는 “~의 단계”는 “~를 위한 단계”를 의미하지 않는다.
- [0033] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 “이들의 조합”의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.
- [0034] 본원 명세서 전체에서, “A 및/또는 B”의 기재는, “A, B, 또는, A 및 B”를 의미한다.
- [0035] 이하, 종양 동물모델 제작방법, 이에 의해 제작된 종양 동물모델 및 이를 이용한 항암제 스크리닝 방법에 대하여 구현예 및 실시예와 도면을 참조하여 구체적으로 설명하도록 한다. 그러나, 본원이 이러한 구현예 및 실시예와 도면에 제한되는 것은 아니다.
- [0036] 본원의 제 1 측면은 인간을 제외한 동물의 갑상선, 후두 점막, 흉벽 종피 및 고환의 종피 중 하나 이상의 부위에 종양세포를 접종하여 접종 부위에 종양을 발생시키는 단계를 포함하는, 종양 동물모델 제작방법을 제공할 수 있다.
- [0037] 종래에는 종양 모델로서 주로 쥐를 이용하였는데, 이 경우 방사선학적 진단이 용이하지 않았으며, 그 크기로 인해 생체바이오마커에 치우친 연구만이 진행되었다. 특히 내시경이나 광학장비를 통한 추적연구가 불가능하였으며, 동물을 희생한 후 사후 검체를 가지고 연구를 진행해야 하는 한계점이 있었다.
- [0038] 본원의 토끼 모델은 이러한 쥐 모델의 한계를 극복하기 위한 것으로, 침습적 내시경, 초음파 또는 광학 장비 등을 통해 종양을 관찰할 수 있도록 갑상선, 후두, 흉막 종피 또는 고환 종피에 종양세포를 주사하여 종양을 발생시킨 것이다.
- [0039] 갑상선 종양 모델은 초음파 유도하에 갑상선에 VX2 종양세포를 접종한 동물 모델로써, 종양의 시작, 진행, 및 약물의 치료효과에 대한 반응을 쉽고 간편하게, 그리고 재현가능하게 관찰할 수 있다는 점에서 유용할 수 있다.
- [0040] 후두암 종양 모델의 경우 인간을 제외한 동물을 양와위(supine position)로 눕히고, 구강을 통해 후두 내시경을 삽입하고, 상기 내시경을 이용하여 모니터링을 하면서 갑상선결막을 촉지한 후, 주사바늘을 피부에서 후두 공간

으로 삽입하고, 상기 주사바늘을 확인한 후, 후두 점막에 VX2 종양세포를 접종하는 기술을 사용하여 종양세포를 접종한 것일 수 있으며, 후두 내시경을 이용하여 종양의 생성 및 경과 관찰이 가능하다는 점에서 유용할 수 있다.

[0041] 종피종 모델의 경우, 항생제를 인간을 제외한 동물에 투여한 후, 상기 동물의 흉벽 늑골 6 내지 7번의 중간겨드랑이선(mid axillary line)에 흉강경을 삽입하여, 흉벽의 벽측 종피를 가시화시킨 후, 세침을 피부를 통해 주입하여 벽측 흉막의 전위(displacement)를 확인한 후, 흉벽 종피에 VX2 종양세포를 접종할 수 있다. 또한, 항생제 투여 후, 고환 피부를 절개하여 고환 부위의 점막하 조직을 노출시킨 후, VX2 종양세포를 접종할 수 있다.

[0042] 예를 들어, 종양세포를 접종하기 전에 동물을 마취시키는 단계를 더 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 상기 마취는 당업계에서 통상적으로 수행되는 방법에 따라 행해질 수 있다.

[0043] 예를 들어, 상기 인간을 제외한 동물은 기니아 피그, 햄스터, 쥐를 제외한 설치류, 고양이, 개, 돼지, 토끼, 양, 염소, 사슴, 말, 소, 비비, 침팬지 및 원숭이와 같은 비-인간 영장류를 포함할 수 있고, 쥐보다 몸집이 커 내시경 등으로 병변을 관찰할 수 있는 정도의 중소동물이 더욱 바람직할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0044] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 종양세포는 동물 개체당 1×10^6 내지 1×10^9 개 접종될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있으며, 동물의 종류, 크기 및 체중을 고려하여 당업자가 적절하게 판단할 수 있다. 체중이 3 내지 4 kg인 뉴질랜드 백색 토끼의 경우, 바람직하게는 3×10^7 개의 종양세포가 접종될 수 있다.

[0045] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 인간을 제외한 동물은 토끼일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0046] 본원의 제 2 측면은, 본원의 제 1 측면에 의해 제작된 종양 동물모델을 제공할 수 있다.

[0047] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 종양 동물모델은 동물의 희생, 외과 수술, 또는 침습적 처치 없이 종양의 진행과정 관찰이 가능한 것일 수 있다.

[0048] 본원의 제 3 측면은, 본원의 제 2 측면에 따른 종양 동물모델에 항암제 후보 물질을 투여하는 단계; 및 종양의 변화를 관찰하는 단계를 포함하는 항암제 스크리닝 방법을 제공할 수 있다.

[0049] 상기 항암제 후보 물질은 특별히 제한되지 않으며, 항암제 효능을 나타낼 가능성이 있거나 나타낼 것으로 기대되는 화합물, 조성물 및 천연물을 포함하는 물질일 수 있다.

[0050] 상기 항암제 후보 물질을 투여하는 것은 경구 또는 비경구적으로 투여될 수 있으며, 투여량은, 이에 제한되지는 않으나 물질의 성질, 독성, 투여 대상의 종류, 연령, 체중 및 건강 등의 조건을 기초로 당업자가 판단하여 적절하게 결정할 수 있다.

[0051] 상기 종양의 변화를 관찰하는 단계는 육안, 현미경 또는 내시경을 이용한 관찰, 초음파, 외과적 수술, 조직 검사 또는 조직 염색을 포함하여 당업계에서 통상적으로 사용되는 방법에 의해 수행될 수 있으며, 구체적인 목적에 따라 당업자가 판단하여 적절하게 결정할 수 있다.

[0052] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 종양의 변화를 관찰하는 단계는 바람직하게는 육안 관찰, 내시경, 또는 초음파를 이용해 수행될 수 있다.

[0053] 본원의 일 구현예에 따르면, 상기 항암제의 투여는 경구, 비경구, 동맥내, 피내, 경피, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하 또는 비내 투여될 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

[0054] 이하 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 하나, 하기의 실시예는 단지 설명의 목적을 위한 것이며 본원의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다.

[0055] 1. 갑상선암 토끼 모델의 제작 및 종양 관찰

[0056] 마취제로서 케타민 (100 mg/ml)과 자일라진 (20 mg/ml)을 2:1 비율로 혼합한 후 뉴질랜드 백색 토끼 (3-4 kg)에 0.75 ml/kg 용량으로 1 ml, 24 게이지 주사기를 사용하여 대퇴부에 근육 주사하여 토끼를 마취시켰다. 다음으로, 토끼의 턱, 전경부, 상흉부 피부를 제모하여 피부를 노출한 후에 도 1에 나타난 바와 같이, 초음파 가이드 하에 갑상선 실질내에 VX2 종양세포 0.5-1.0 ml를 주입하였다. 다음으로, 종양세포를 주입 후, 1 주간격으로 병변을 관찰하였다. 보다 구체적으로, 도 2와 같이, 주 1회 간격으로 초음파를 이용하여 갑상선에 생긴 결절을 갑상선 조직 내에서의 크기, 위치, 모양, 갑상선 피막과의 관계, 갑상선 주위조직침범, 주변 림프절 조직

으로의 전이 등을 평가하였다.

[0057] 이 종양 모델을 이용하여 도 3과 같이 광음향 단층촬영을 하였다. 갑상선 종양에 가시광선 또는 근적외선 나노초 펄스레이저를 가하고 종양 신생혈관 내의 흡광물질 (헤모글로빈 또는 Indocyanine Green)이 빛을 흡수하면 팽창하면서 초음파를 생성하는 것을 초음파 센서로 영상화시킨 결과이다. 밝은 노란색이 신생혈관이 많은 영역을 나타낸다. 이를 통해 종양의 형성과정에서 중요한 신생혈관의 유무와 그 생성 양상을 비침습적이면서 실시간으로 시각화할 수 있었다. 또한 헤모글로빈을 타겟으로 할 때, 종양조직의 비정상적인 산소대사를 밝혀낼 수 있어, 조영제가 불필요한 조기경보 진단 검사법을 제공할 수 있다.

[0058] 도 4와 같이 광간섭단층촬영을 하였다. 광대역 근적외선 광원 (예를 들어 중심파장 850 nm, 대역폭 100 nm)을 갑상선 피막에 입사하고 반사되는 빛을 광결맞음 간섭계를 이용하여 영상화시킨 결과이다. 도 4 상단부에 갑상선 피막에 미세한 침습을 보여주고 있다. 광간섭단층촬영은 공간해상도가 수 마이크로미터이므로 종양이 갑상선 피막에 미세한 침습이 있는지를 비침습적이면서 실시간으로 시각화할 수 있어서, T-병기 설정을 하는데 기존의 병리검사를 대체할 수 있다.

[0059] 도 5와 같이 확인된 종양이 포함된 갑상선 조직을 적출하여 조직병리학적인 검사를 통해 이 조직이 갑상선 종양임을 확인하였다.

[0060]

[0061] 2. 후두 종양 토끼 모델의 제작 및 종양관찰

[0062] 마취제로서 케타민 (100 mg/ml)과 자일라진 (20 mg/ml)을 2:1 비율로 혼합한 후 뉴질랜드 백색 토끼 (3-4 kg)에 0.75 ml/kg 용량으로 근육 주사하여 토끼를 마취시켰다. 다음으로, 도 6에 나타난 방법에 따라, 수술대에 양과 위(supine position)로 눕히고, 구강을 통해 후두 내시경을 삽입하여 비디오 모니터를 보면서 후두를 관찰하고 (도 6a), 수술자는 왼손 검지로 갑상선골막을 촉지한 후, 정중면에서 주사바늘을 피부에서 후두 공간으로 삽입하였다 (도 6b). 후두 내시경으로 후두 내 공간을 보면서 화살표로 표시한 주사바늘을 확인한 후 (도 6c), 후두 (성대) 점막하에 VX2 종양세포(1×10^6 CFU)를 0.5 ml를 주입하고 (도 6d), 주 2회 간격으로 후두내시경으로 후두를 관찰하였다. 그리고, 최종적으로 조직검사를 확인하여 종양의 모양을 평가하였다(도 7). 초기 후두암을 도 7a에, 진행 후두암은 도 7b에 나타내었고, 이는 종양이 후두 골격까지 파급된 상태를 의미한다. 도 7c는 시간에 따른 종양세포를 나타낸 것으로, 종양세포는 성대 조직에 생착을 하여 1주일 후에는 점막이 용기되어 성문의 중간선(middleline)을 넘지않는 크기로, 2주일 후에는 반대쪽 성대에 닿아 기도를 손상시키는 크기의 종양을 관찰할 수 있었다.

[0063]

[0064] 3. 흉벽 중피 종양 동물모델 및 종양관찰

[0065] 마취제로서 케타민 (100 mg/ml)과 자일라진 (20 mg/ml)을 2:1 비율로 혼합한 후 뉴질랜드 백색 토끼 (3-4 kg)에 0.75 ml/kg 용량으로 근육 주사하여 토끼를 마취시키고, 항생제로 cefazolin sodium(15 mg/kg)을 수술 15분 전에 1회 근육 주사하였다. 마취된 토끼의 흉벽 늑골 6-7번의 중간겨드랑이선(mid axillary line)에서 흉강경을 삽입하여 흉벽의 벽측 중피를 가시화 시킨 후, 24 gauze needle을 피부를 통해 주입하여 벽측 흉막의 전위(displacement)를 확인한 뒤 VX2 종양세포를 주입하였다(도 9a). 이 후, 흉벽 중피 종양의 생성을 육안 및 병리로 확인하였다(도 9b). 한편 근적외선 투과영상법을 사용하여 종양이 있는 흉벽 (상)과 정상흉벽 (하)에서의 차이를 관찰하였다(도 9c). 근적외선 투과영상법은 근적외선을 조직에 입사하고 근적외선 카메라를 이용하여 조직을 투과하여 나오는 빛을 영상화하는 기법으로서 종양이 근적외선을 흡수함에 의하여 검은 음영이 발생함을 알 수 있다.

[0066] 4. 고환 중피 종양 동물모델 및 종양관찰

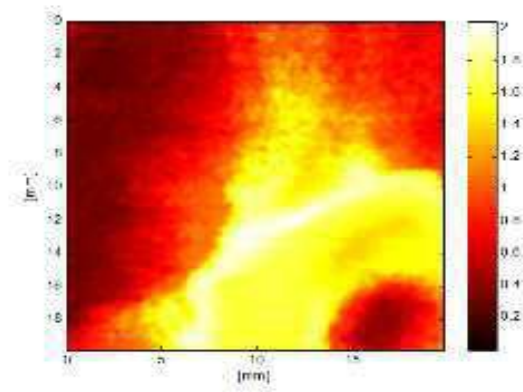
[0067] 마취제로서 케타민 (100 mg/ml)과 자일라진 (20 mg/ml)을 2:1 비율로 혼합한 후 뉴질랜드 백색 토끼 (3-4 kg)에 0.75 ml/kg 용량으로 근육 주사하여 토끼를 마취시키고, 항생제로 cefazolin sodium(15 mg/kg)을 수술 15분 전에 1회 근육 주사하였다. 마취된 토끼의 고환 피부를 절개하여 고환 부위의 점막하 조직(중피)이 노출되도록 한 다음 면봉으로 미란을 형성하고, VX2 종양세포를 마리 당 1×10^6 cfu 내지 1×10^7 cfu를 주입하고, 2주 후 주변을 육안 또는 확대경을 통해 관찰하여 종양 발생을 확인하고 (도 10a), 조직학적 침윤 정도 (도 10c)를 확인하였다. 도 10b는 광간섭단층촬영을 이용하여 고환을 단층촬영한 결과이다(PL: Parietal Layer 벽측중피, VL:

이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면1



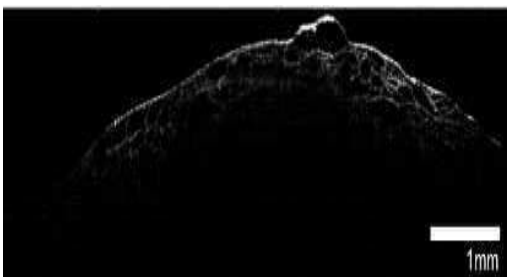
도면3



도면4a



도면4b



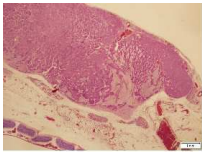
도면5a



도면5b



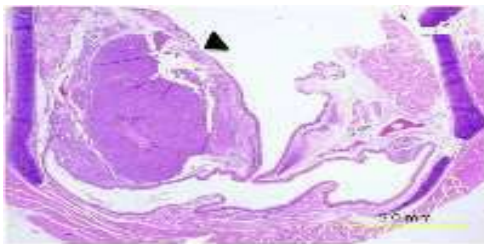
도면5c



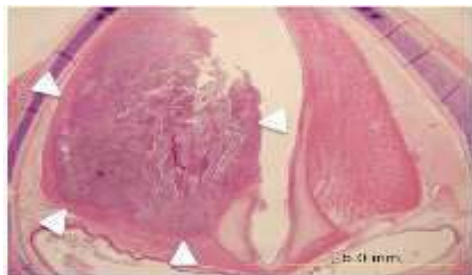
도면6



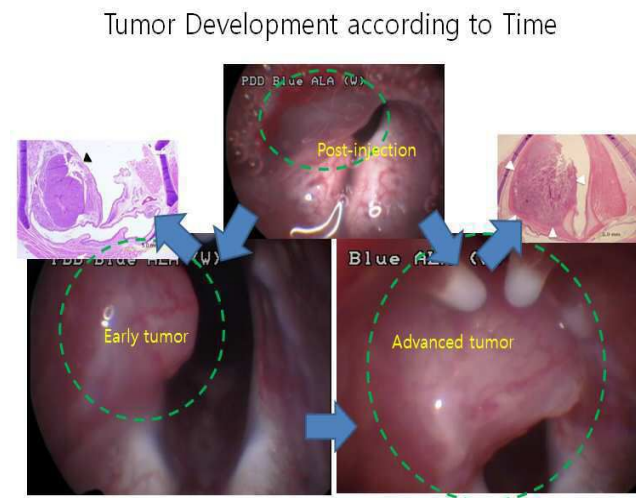
도면7a



도면7b



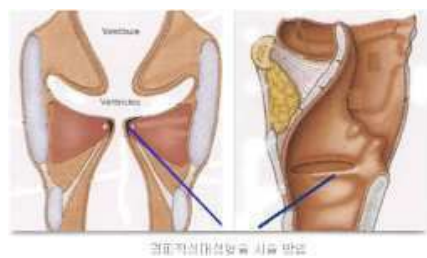
도면7c



도면8a



도면8b

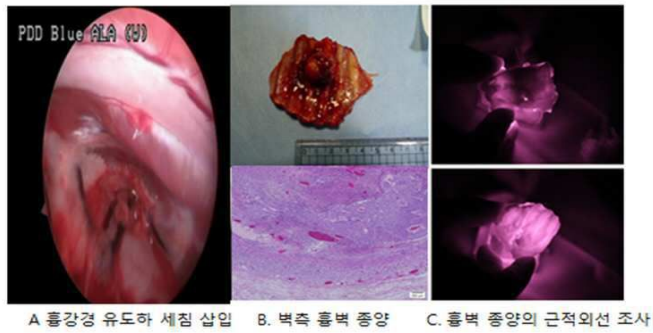


도면8c



도면9

중피 종양 생성 과정과 활용

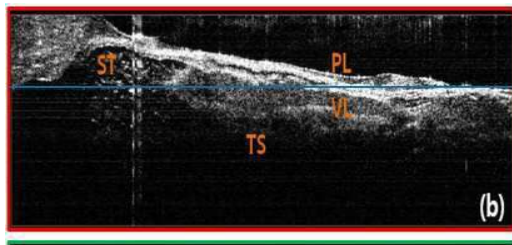


A. 흉강경 유도하 세침 삽입 B. 벽측 흉벽 종양 C. 흉벽 종양의 근적외선 조사

도면10a



도면10b



도면10c

