



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0090813
(43) 공개일자 2013년08월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01K 67/027 (2006.01) A61D 1/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0011204
(22) 출원일자 2013년01월31일
심사청구일자 2013년01월31일
(30) 우선권주장
1020120011819 2012년02월06일 대한민국(KR)

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)
(72) 발명자
김범수
인천광역시 연수구 송도동 풍림아이원아파트 106동 801호
박소라
서울특별시 서초구 서초1동 1436-14 I'PARK아파트 101동 201호
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법 및 상기 제조방법에 따라 제조된 동물 모형

(57) 요약

본 발명은 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법 및 상기 제조방법에 따라 제조된 동물 모형에 관한 것으로, 보다 상세하게는 아킬레스 건에 손상을 주어 급성 염증을 유발하는 단계; 및 상기 급성 염증이 유발된 동물을 강제로 운동시켜 아킬레스 건의 치유를 방해하는 단계를 포함하며, 이러한 동물 모형의 제조방법은 매우 간단하고 단기간 내에 건병증 유발율이 거의 100%에 이르며, 상기 제조방법에 따라 제조된 동물 모형은 종래의 모형보다 인간의 만성 건병증의 발생 기전에 더욱 가깝다는 장점이 있다.

대표도 - 도1b



특허청구의 범위

청구항 1

아킬레스 건에 손상을 주어 급성 염증을 유발하는 단계; 및

상기 급성 염증이 유발된 동물을 자유로운 운동(cage activity) 또는 강제로 운동시켜 아킬레스 건의 치유를 방해하는 단계를 포함하는 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 급성 염증은 아킬레스 건을 축지한 후, 주사기를 이용하여 천공을 실시하여 유발한 것인, 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 급성 염증은 아킬레스 건을 축지한 후, 건을 부분 절제 또는 완전 절제하여 유발한 것인, 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 급성 염증은 콜라겐 분해효소를 아킬레스 건에 주입하여 유발한 것인, 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 운동은 사육 우리 내에서의 자유로운 운동(cage activity)이나 강제 달리기인, 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 달리기는 오르막 경사, 내리막 경사 또는 평지를 분당 10 내지 30미터 속도로 달리게 하는 것인, 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법.

청구항 7

제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항의 제조방법에 의해 제조된 아킬레스 건병증 동물 모형.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 만성 아킬레스 건병증 동물모형의 제조방법 및 이에 의해 제조된 동물모형을 제공한다.

배경기술

[0002] 건 질환은 운동과 관련된 손상의 30~ 50%를 차지한다. 그 중 만성 퇴행성 건 질환은 흔히 발생하지만 치료가 어렵다. 만성 퇴행성 건 질환을 과거에는 만성 건염(chronic tendinitis) 또는 염증보다는 퇴행성 변화의 의미를 강조한 건증(tendinosis)이라고 하였으나, 최근에는 건병증(tendinopathy)이라는 명칭으로 대체되고 있다. 만성 아킬레스 건병증은 아킬레스 건에 만성 염증 및 퇴행성 변화가 발생한 질환으로, 테니스 엘보우(외상과염, lateral epicondylitis)나 족저근막염(plantar fasciitis), 어깨의 회전근개 건병증(rotator cuff tendinopathy)과 함께 대표적인 만성 건 질환에 속한다. 만성 아킬레스 건병증을 가진 환자는 발뒤꿈치나 아킬레스 건 자체의 만성 통증으로 인해 오랜 기간 보행이나 운동에 많은 지장을 겪는다. 건은 콜라겐 섬유의 정상적인 조밀한 정렬을 잃게 되고, 콜라겐의 섬유소양 또는 점액양 변성(fibrinoid or myxoid degeneration), 섬유화 등이 진행되면서 굵어지고 뼈가 자라기도 하며, 변성되어 약해진 건은 파열되기도 한다.

[0003] 아킬레스 건병증을 포함한 만성 건 질환이 중요한 이유는 임상적으로 매우 흔하게 발생하지만 아직까지 확실한 치료 방법이 없기 때문이다. 현재 치료법은 활동 감소, 깔창, 깁스, 스트레칭, 물리치료, 소염제 복용, 스테로

이드 주사, 체외충격파치료(extracorporeal shock wave therapy), 자가 혈소판 풍부 혈장 (platelet-rich plasma) 주사 등의 보존적 치료가 있는데, 대부분 확실한 과학적 근거가 거의 없다. 보존적 치료에 실패할 경우에는 수술적 치료를 할 수 있지만, 수술은 변성된 부분을 제거하고 남은 부분을 봉합하거나 주변의 다른 건을 이식하는 수준의 증상 경감을 위한 치료이며 근본적인 해결방법은 아니다.

- [0004] 향후 레저 문화의 확산으로 인한 스포츠 손상의 증가와 고령 인구의 증가 등으로 만성 건병증 환자 수는 크게 늘어날 전망이고, 근본적인 치료방법이 없는 상태에서 치료기간의 장기화 및 이에 따른 의료비 지출의 증가도 불가피하다. 따라서 만성 건병증에 대한 기초 연구 및 근본적 치료방법의 개발이 필요하다.
- [0005] 만성 건병증에 대한 근본적인 치료 방법이 없는 것은 그 병태 생리가 명확히 밝혀지지 않았기 때문이며, 특히 적합한 동물 모형의 부재가 크게 기여하고 있다.
- [0006] 종래의 만성 건병증 동물 모형은 질환이 유발될 때까지 물리적으로 과사용시키는 방법이 선호되고 있는데, 이에 는 트레드밀(treadmill, 달리기용 운동기구)에서 강제로 뛰게 하는 방법 (forced treadmill running)과 마취 후 근육에 지속적인 전기 자극을 주거나 (artificial muscle stimulation), 기계로 수동적 운동을 반복시키는 방법 (direct repetitive tendon stretching) 등이 있다.
- [0007] 전기 자극을 주는 방법은 건의 염증을 발생시키나 건병증을 유발하지는 못하였고, 기계로 반복적 수동운동을 시키는 방법은 슬개 건에서만 건병증 유발이 가능하였고 아킬레스 건 등에서는 건병증 유발이 불가능하였다. 또한, 이러한 두가지 방법은 인위적이고, 비체중부하 상태이며, 매일 동물을 마취시켜야 하는 단점이 있다.
- [0008] 달리기용 운동기구에서 강제로 뛰게 하는 방법은 매일 1시간씩 2 내지 3개월을 운동시켜야 하므로 비효율적이고 노동집약적이며, 질환 유발이 일관되게 되지 않고, 유발된 질환이 2주 정도의 휴식으로 저절로 회복되기도 하는 단점이 있지만, 현재로서는 가장 많이 사용되고 있는 방법이다. 이러한 강제로 운동시키는 방법은 2000년에 Soslowsky 등에 의해서 처음 발표되었다. Soslowsky 등은 10도 내리막 경사를 분당 17미터의 속도로 매일 1시간씩 8주 내지 16주간 뛰게 함으로써 쥐의 극상건(supraspinatus tendon, 사람 어깨의 극상건에 해당하는 앞다리 근육)에 건병증을 유발하는 데 성공했다. 하지만 같은 방법으로 아킬레스 건의 건병증을 유발하는 데에는 실패했다. 극상건의 경우, 아킬레스건보다 더 가늘고, 구조상 건감골의 빠와 지속적인 마찰이 유발되므로 건병증이 더 잘 유발되지만, 건이 가늘고 어깨 관절 속 깊히 위치해 있기 때문에 향후 여러 가지 치료를 시도하기에 부적합하다는 단점이 있다. 또한, 만성 건병증의 범주에 포함되는 여러 질환의 발병 기전이 부위마다 다를 수 있으므로 각 질환에 해당하는 동물 모형이 필요하다.
- [0009] 따라서, 근본적인 치료 방법이 없는 만성 아킬레스 건병증의 병태생리를 연구하고 이를 효과적으로 치료할 수 있는 방법을 연구 개발하기 위해서는 만성 아킬레스 건병증 동물 모형의 개발이 절실한 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0010] 이에, 본 발명의 목적은 만성 아킬레스 건병증을 간편하면서도 효과적으로 유발할 수 있는 동물 모형 및 이의 제조방법을 제공하는 데에 있다.

과제의 해결 수단

- [0011] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 아킬레스 건에 손상을 주어 급성 염증을 유발하는 단계; 및 상기 급성 염증이 유발된 동물을 강제로 운동시켜 아킬레스 건의 치유를 방해하는 단계를 포함하는 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법을 제공한다.
- [0012] 상기 급성 염증은 물리적으로 손상을 주는 방법 즉, 아킬레스 건을 축지한 후, 주사기를 이용하여 천공을 실시하거나, 건을 부분 또는 완전 절제하는 방법으로 유발할 수 있다.
- [0013] 또한, 상기 급성 염증은 화학적으로 손상을 주는 방법 즉, 콜라겐 분해효소를 아킬레스 건에 주입하는 방법으로 유발할 수 있다.
- [0014] 상기 운동은 케이지(cage)에서의 자유로운 운동일 수도 있고, 달리기일 수도 있으며, 상기 달리기는 오르막 경사, 내리막 경사 또는 평지를 분당 10 내지 30미터 속도로 달리게 하는 것일 수 있다.
- [0015] 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조된 아킬레스 건병증 동물 모형을 제공한다.

발명의 효과

- [0016] 본 발명에 따라 제조된 동물 모형은 종래 동물 모형에 비해 인간의 만성 건병증의 발병 기전에 더욱 근접한 동물 모형일 뿐만 아니라, 제조방법이 간단하고, 만성 건병증 유발율이 거의 100%에 가까우며, 단기간에 만성 건병증을 유발시킬 수 있다는 장점이 있어, 아킬레스 건병증을 포함한 만성 건병증에 관한 향후 기초 연구나, 신약 또는 새로운 치료방법을 위한 동물실험을 위해 쉽게 대량 생산할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0017] 도 1a는 본 발명의 동물모형 제조과정의 개요로서, 주사바늘 또는 칼 등의 다른 기구를 이용하여 건에 초기 미세 손상을 가한 뒤, 랫트용 트레드밀에서 10도 오르막 경사를 17 미터/분의 속도로 하루에 1시간씩 운동시키는 사진이다. 운동 4주후 육안사진으로 초기손상을 가한 쪽(화살표)이 반대쪽에 비해 굵어져 있는 것이 관찰된다.
- 도 1b는 대조군(control), 외상만 가한 군(needling), 4주간 운동만 시킨 군(treadmill), 초기 외상을 가한 뒤 4주간 운동을 시킨 군(needling & treadmill)의 해부 소견이다. 외상을 가한 뒤 운동을 시킨 아킬레스건이 육안적으로 가장 굵어져 있다.
- 도 1c는 본 모형의 조직학적 사진을 나타낸 것이다. 정상적인 건(A)에 비해 외상 후 운동을 시킨 건(B, C)의 경우 건섬유의 정렬이 흐트러져 있고 염증세포의 침윤이 심하다.
- 도 1d는 초기 외상 후 4주간 운동을 시킨 랫의 아킬레스 건에서 건의 일부가 연골(보라색으로 염색)로 변성된 소견이 관찰된다.
- 도 1e는 건의 단면적을 비교한 것으로, 외상(N)만 가한 군은 초기 염증으로 굵어졌다가 2주째부터 회복되면서 다시 가늘어지는 양상이나, 외상 후 운동을 시킨 군에서는 급성 염증으로 굵어진 건의 두께가 시간이 지나도 크게 회복되지 않는 양상을 나타낸다.
- 도 1f는 건의 최대인장력 시험 결과를 비교한 것으로, 외상(N)만 가한 군과 외상 후 운동을 시킨 군 모두 대조군(control)에 비해 약해져 있는 양상을 나타낸다.
- 도 2는 경피적 절제술 후 강제운동법을 이용한 모형으로, 도 2a는 경피적 절제술 후 4주 운동시킨 랫트의 아킬레스 건을 해부한 사진이며, 도 2b는 본 모형의 조직학적 사진을 나타낸 것이다.
- 도 3은 약물 주입 후 강제운동법을 이용한 모형으로, 도 3a는 콜라겐 분해효소 주입 후 4주 운동시킨 랫트의 아킬레스 건을 해부한 사진이며, 도 3b는 콜라겐 분해효소 주입 후 강제운동법을 이용한 모형의 조직학적 사진을 나타낸 것이며, 도 3c는 스테로이드 주입 후 4주 운동시킨 랫트의 아킬레스 건을 해부한 사진이며, 도 3d는 스테로이드 주입 후 강제운동법을 이용한 모형의 조직학적 사진을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0018] 본 발명은 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법 및 상기 제조방법에 따라 제조된 아킬레스 건병증 동물 모형을 제공한다.
- [0019] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- [0020] 종래 문헌에 발표된 아킬레스 건병증의 동물 모형은 트레드밀 러닝 (treadmill running)으로 아킬레스 건의 과사용을 통하여 건병증을 유도하는 방법이었으나 아킬레스 건병증 유발 성공률의 편차가 크고 최소 2 내지 3개월이 소요된다는 단점이 있었기에, 아킬레스 건병증 유발율이 높고 단기간에 생산될 수 있는 새로운 동물 모형을 개발하고자 노력하던 중 본 발명의 제조방법에 의할 때 상기 문제점이 해결됨을 확인하고 본 발명을 완성하였다.
- [0021] 즉, 본 발명은 아킬레스 건에 손상을 주어 급성 염증을 유발하는 단계; 및 상기 급성 염증이 유발된 동물을 강제로 운동시켜 아킬레스 건의 치유를 방해하는 단계를 포함하는 아킬레스 건병증 동물 모형의 제조방법을 제공한다.
- [0022] 상기 동물 모형에 사용가능한 동물은 마우스 (mouse), 랫트 (rat), 토끼, 돼지, 소, 개 또는 원숭이 등을 포함할 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

- [0023] 상기 아킬레스 건병증은 특별히 제한된 것은 아니나, 바람직하게는 만성 아킬레스 건병증일 수 있다.
- [0024] 상기 급성 염증의 유발 방법은 특별히 제한된 것은 아니며, 물리적 또는 외과적으로 건에 손상을 주는 방법과 화학적으로 약물을 건에 주입하는 방법 등을 모두 포함할 수 있다.
- [0025] 상기 외과적으로 건에 손상을 주는 방법은 특별히 제한된 것은 아니나, 바람직하게는 경피적 아킬레스 건 절제술 및 경피적 다발성 천공술로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 방법에 의할 수 있으며, 보다 바람직하게는 주사기를 이용한 경피적 다발성 천공술에 의해 수행할 수 있다.
- [0026] 상기 경피적 아킬레스 건 절제술은 아킬레스 건을 축지한 후, 건을 부분 절제 또는 완전 절제하여 유발한 것일 수 있다.
- [0027] 일 실시 예로, 경피적 아킬레스 건 반 절제술은 발목 관절을 족배굴곡 시킨 상태에서 아킬레스 건을 축지한 후, 11번 수술용 칼을 경피적으로 삽입한 뒤 내측 또는 외측 절반을 절제함으로써 이루어질 수 있다.
- [0028] 상기 주사기를 이용한 경피적 다발성 천공술은 아킬레스 건을 축지한 후, 주사기를 이용하여 천공을 실시하여 유발한 것일 수 있다.
- [0029] 일 실시 예로, 경피적 다발성 천공술은 발목관절을 족배굴곡 시킨 상태에서 아킬레스 건을 축지한 후, 18G 주사기를 이용하여 5 내지 20회 천공을 실시함으로써 이루어질 수 있다.
- [0030] 상기 건에 약물을 주입하는 방법은 특별히 한정된 것은 아니나, 바람직하게는 콜라겐 분해효소, 스테로이드, 싸이토카인 (cell-activating factor, CAF), 프로스타글란딘 (PGE) 및 일부 항생제 (Fluoroquinolone)로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상의 약물을 주입하는 방법에 의해 수행할 수 있으며, 바람직하게는 콜라겐 분해효소를 주입하는 방법일 수 있다.
- [0031] 일 실시 예로, 콜라겐 분해효소 (Collagenase)를 아킬레스 건에 주입할 수 있는데, 상기 콜라겐 분해효소는 건의 주 성분인 콜라겐을 분해함으로써 건에 급성 염증을 유발시킬 수 있다.
- [0032] 아킬레스 건병증 동물 모형 제조 시, 상기 외과적으로 건에 손상을 주는 방법과 약물을 건에 주입하는 방법에 의해 급성 염증 유발을 거친 동물 모형 모두에서 아킬레스 건병증이 유도되었다. 콜라겐 분해효소 주입 방법은 매우 효과적이지만 건에 약물을 주입하기 때문에 인간의 발병기전과 차이가 있는 반면, 경피적 다발성 천공술은 인간의 발병 기전 중 초기 미세파열이 발생하는 것을 모방한 것으로, 콜라겐 분해효소 주입 방법보다 실제 발병 기전과 더 유사하며, 기존의 미세파열이 발생될 때까지 달리기를 하는 방법에 비해 기간을 단축시키면서 성공률을 높일 수 있는 장점이 있다.
- [0033] 상기 아킬레스 건에 손상을 주어 급성 염증을 유발하는 단계는 동물 모형의 아킬레스 건병증 유도 기간을 단축시키는 역할을 할 수 있다.
- [0034] 상기 급성 염증이 유발된 동물을 강제로 운동시킬 때, 운동의 종류는 특별히 제한된 것은 아니며, 달리기용 운동기구에서 강제로 뛰게 하거나 기계로 수동적 운동을 반복시키는 방법, 전기 자극을 통해 반복적 수동 운동을시키는 방법 등을 포함할 수 있다.
- [0035] 일 실시 예로, 강제로 달리기를 실시할 경우 상기 달리기는 오르막 경사, 내리막 경사 또는 평지를 분당 10 내지 30미터 속도로 달리게 할 수 있다.
- [0036] 상기 급성 염증이 유발된 동물을 강제로 운동시킴으로써 아킬레스 건의 치유를 방해하고 초기 염증이 만성화되면서 조직의 변성 또는 퇴행성 변화를 동반할 수 있다.
- [0037] 종래의 아킬레스 건병증 유도에 가장 많이 사용되는 달리기용 운동기구에서 강제로 뛰게 하는 방법은 매일 1시간씩 2 내지 3개월을 운동시켜야 하므로 비효율적이고 노동집약적이며, 건병증 유발이 일관되게 되지 않고, 유발된 질환이 2주 정도의 휴식으로 저절로 회복되기도 하는 단점이 있었지만, 본 발명에서는 상기 급성 염증 유발 단계를 도입함으로써 건병증 유발이 2 내지 4주 만에 일어날 수 있으며, 종래의 비효율적이고 노동집약적 과정을 단축시킬 수 있을 뿐만 아니라, 건병증 유발율이 거의 100%에 근접할 수 있고, 유발된 질환이 장기간 유지될 수 있다.
- [0038] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 따라 제조된 아킬레스 건병증 동물 모형을 제공한다.

- [0039] 상기 동물 모형에 사용가능한 동물은 마우스 (mouse), 랫트 (rat), 토끼, 돼지, 소, 개 또는 원숭이 등을 포함할 수 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0040] 상기 건병증은 아킬레스 건병증, 극상건 건병증, 슬개건 건병증 등을 포함할 수 있고 아킬레스 건에 한정되는 것은 아니나, 바람직하게는 만성 아킬레스 건병증일 수 있다.
- [0041] 본 발명은 기본적으로 달리기용 운동기구에서 강제로 뛰게 하는 방법 (forced treadmill running)에 기반하지만, 질병이 유발될 때까지 2 내지 3개월을 계속 뛰게 하는 것이 아니라, 초기에 다양한 방법으로 건에 손상을 주어 급성 염증을 유발시킨 뒤에 그 상태에서 강제 운동을 시킴으로써 급성 염증을 통한 건의 치유를 억제시키고 만성 건병증을 유도하는 제조방법에 의해 제조된 동물 모형일 수 있다.
- [0042] 이는 단순히 약물 주입이나 수동적 반복 운동을 시키는 기존의 동물 모형에 비하여 과사용 (overuse)으로 건 섬유의 미세파열이 발생하거나 급성 손상으로 인해 염증이 발생한 상태에서 쉬지 않고 계속 과사용 하여 만성 건병증에 이르는 인간의 만성 건병증의 발병 이전에 보다 가까운 동물 모형이라는 점에서 가장 큰 의의가 있다.
- [0043]
- [0044] 이하, 하기 실시예에 의해 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 다만, 이러한 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 이러한 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0045] <실시예>
- [0046] **실시예 1: 경피적 다발성 천공술 (percutaneous multiple needling) 후 강제운동법을 이용한 동물 모형**
- [0047] 본 실시예는 랫트(Sprague-Dawley Rat, 300g $\pm$ 20%, 90 일령 내의, 구입업체: 오리엔트 바이오) 10 마리를 이용하였다.
- [0048] 사전 훈련은 동물로 하여금 트레드밀 (Dual-treadmill, (주) 정도비엔피)에서 뛰는 것에 적응하고 학습할 수 있는 기간을 주는 것으로, 첫 날은 15분, 둘째 날은 30분, 셋째 날은 45분, 넷째 날은 60분으로 매일 15분씩 점진적으로 시간을 늘려가며 4일간 시행하였다. 상기와 같은 사전 훈련은 보다 윤리적인 뿐만 아니라 이탈하는 개체수를 줄일 수 있는 방법이다.
- [0049] 초기 손상은 랫트를 마취시킨 후, 발목을 신전시켜 아킬레스 건이 팽팽해지도록 한 다음 주사 바늘 (18G)을 이용하여 경피적으로 아킬레스 건을 10회 천공하는 방법으로 시행되었다.
- [0050] 경피적 다발성 천공술로 초기 손상을 준 다음 날부터 10도 오르막 경사에서 분당 17미터의 속도로 강제운동을 시켰다. 운동시간은 하루 1시간씩 주 5일을 시행하였으며, 운동기간은 2 내지 4주 동안 지속하였다. 도 1a에서는 운동 4주후 육안사진으로 초기손상을 가한 쪽(화살표)이 반대쪽에 비해 굵어져 있는 것이 관찰된다.
- [0051] 대조군(control), 외상만 가한 군(needling), 4주간 운동만 시킨 군(treadmill), 초기 외상을 가한 뒤 4주간 운동을 시킨 군(needling & treadmill)의 해부 소견으로서, 외상을 가한 뒤 운동을 시킨 아킬레스건이 육안적으로 가장 굵어져 있다는 것을 도 1b에서 확인할 수 있으며, 상기 시행 결과로 얻어진 다리 조직의 현미경 사진은 도 1c에서 확인할 수 있다.
- [0052] 도 1c는 운동만 시킨 왼쪽 다리의 조직으로 콜라겐 섬유의 정렬이 정상에 가까운 정도로 평행하고 조밀하게 배치되어 있으며 콜라겐 섬유 사이에 섬유모세포가 약간 증가해 있는데 반해, 경피적 다발성 천공술을 시행한 오른쪽 아킬레스 건 조직 (x100)으로 왼쪽에 비해 섬유모세포 및 염증세포가 증가되어 있으며 콜라겐 섬유의 정렬이 흐트러져 있고, 바늘로 뚫렸던 미세 구멍 주위로 염증 세포가 밀집되어 있고, 콜라겐 섬유의 정렬이 심하게 흐트러져 있음을 확인할 수 있었다.
- [0053] 도 1d는 초기 외상 후 4주간 운동을 시킨 랫의 아킬레스 건에서 건 실질 내에 발생한 보라색으로 염색되는 연골 조직이 관찰된다.
- [0054] 도 1e는 건의 단면적을 비교한 것으로, 외상(N)만 가한 군은 초기 염증으로 굵어졌다가 2주째부터 회복되면서 다시 가늘어지는 양상이나, 외상 후 운동을 시킨 군에서는 급성 염증으로 굵어진 건의 두께가 시간이 지나도 크게 회복되지 않는 양상을 나타낸다.
- [0055] 도 1f는 건의 최대인장력 시험 결과를 비교한 것으로, 외상(N)만 가한 군과 외상 후 운동을 시킨 군 모두 대조

군(control)에 비해 약해져 있는 양상을 나타낸다.

실시예 2: 부분절제술(부분파열)/ 완전 절제술(완전파열) 후 강제운동법을 이용한 모형

본 실시예는 랫트(Sprague-Dawley Rat, 300g $\pm$ 20%, 90 일령 내외, 구입업체: 오리엔트 바이오) 10 마리를 이용하였다.

사전 훈련은 랫트로 하여금 트레드밀 (Dual-treadmill, (주) 정도비앤피)에서 뛰는 것에 적응하고 학습할 수 있는 시간을 주는 것으로, 첫 날은 15분, 둘째 날은 30분, 셋째 날은 45분, 넷째 날은 60분으로 매일 15분씩 점진적으로 시간을 늘려가며 4일간 시행하였다.

초기 손상은 랫트를 마취시킨 후, 발목을 신전시켜 아킬레스 건이 팽팽해지도록 한 다음 수술 칼(11번)을 이용하여 경피적으로 아킬레스 건을 필요에 따라 반 또는 완전 절제시키는 방법으로 수행하였다.

경피적 부분/완전 절제술로 초기 손상을 준 다음 날부터 10도 오르막 경사에서 분당 17미터의 속도로 강제운동을 시켰다. 운동시간은 하루 1시간씩 주 5일을 시행하였으며, 운동기간은 2 내지 4주 동안 지속하였다.

절제술의 효과를 확인하기 위해, 랫트의 오른쪽 다리는 반절제술을 시행한 후 강제운동을 시키고, 왼쪽 다리는 대조군으로서 반절제술을 시행하지 않고 강제운동만 시킨 결과를 도 2a에서 확인할 수 있으며, 상기 시행 결과로 얻어진 다리 조직의 현미경 사진은 도 2b에서 확인할 수 있다.

도 2a에 도시된 바와 같이, 육안으로도 왼쪽 다리에 비해 오른쪽 아킬레스 건이 약간 비대해지고, 절제되었던 부위의 흔적이 관찰되며, 절제되었던 부위 중심으로 조직 변성 소견이 관찰되었고, 도 2b에서 확인할 수 있는 바와 같이, 반절제술을 시행했던 경계선을 중심으로 절제되었던 부위는 심한 세포수 증가, 콜라겐 섬유 정렬 흐트러짐 등의 특징적인 건변증 소견이 관찰되며, 절제되지 않았던 부위는 상대적으로 정상에 가까운 건 조직 소견을 유지하고 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 변화는 10마리 모두에서 확인되었다.

실시예 3: 약물 (콜라겐 분해효소, 스테로이드, PGE 등) 주입 후 강제운동법을 이용한 모형

3-1. 콜라겐 분해효소 주입 후 강제운동법을 이용한 모형

본 실시예는 랫트(Sprague-Dawley Rat, 300g $\pm$ 20%, 90 일령 내외, 구입업체: 오리엔트 바이오) 10 마리를 이용하였다.

사전 훈련은 랫트로 하여금 트레드밀 (Dual-treadmill, (주) 정도비앤피)에서 뛰는 것에 적응하고 학습할 수 있는 시간을 주는 것으로, 첫 날은 15분, 둘째 날은 30분, 셋째 날은 45분, 넷째날은 60분으로 매일 15분씩 점진적으로 시간을 늘려가며 4일간 시행하였다.

초기 손상 (건 내 약물 주입법)은 랫트를 마취시킨 후, 발목을 신전시켜 아킬레스 건이 팽팽해지도록 한 다음, 필요에 따라 다양한 콜라겐분해효소, 스테로이드, PGE 등 약물을 주사기를 이용하여 건 내에 주입하는 방법으로 이루어졌다.

초기 손상을 준 다음 날부터 10도 오르막 경사에서 분당 17미터의 속도로 강제운동을 시켰다. 운동시간은 하루 1시간씩 주 5일을 시행하였으며, 운동기간은 2 내지 4주 동안 지속하였다.

콜라겐 분해효소 주입 효과를 확인하기 위해, 랫트의 오른쪽 다리는 콜라겐 분해효소를 주입한 후 강제운동을 시키고, 왼쪽 다리는 대조군으로서 콜라겐 분해효소를 주입하지 않고 강제운동만 시킨 결과를 도 3a에서 확인할 수 있으며, 상기 시행 결과 얻어진 건 조직의 현미경 사진은 도 3b에서 확인할 수 있다.

도 3a에 도시된 바와 같이, 왼쪽에 비해 오른쪽 다리의 건의 굵기가 매우 심하게 비대해져 있으며, 조직 변성 소견이 관찰되었고, 도 3b에 나타난 바와 같이 콜라겐 분해효소 주입 후 4주 운동시킨 아킬레스 건의 세포밀도가 증가되었고, 콜라겐 섬유의 변성 및 부분적 파열이 관찰되었다.

3-2. 스테로이드 주입 후 강제운동법을 이용한 모형

콜라겐 분해효소 대신 스테로이드를 주입한 것으로, 약물의 차이 외에는 실험방법은 3-1과 동일하게

진행하였다.

[0073] 스테로이드 주입 효과를 확인하기 위해, 랫트의 오른쪽 다리는 스테로이드를 주입한 후 강제운동 시키고, 왼쪽 다리는 대조군으로서 스테로이드를 주입하지 않고 강제운동만 시킨 결과를 도 3c에서 확인할 수 있으며, 상기 시행 결과 얻어진 건 조직의 현미경 사진은 도 3d에서 확인할 수 있다.

[0074] 도 3c에 도시된 바와 같이, 스테로이드를 주입한 오른쪽 다리와 대조군인 왼쪽 다리의 육안소견 상 차이가 없고, 도 3d에 나타난 바와 같이 조직 소견도 정상에 가까운 콜라겐 섬유 조직의 조밀하고 평행한 정렬과 콜라겐 섬유 사이에 틈성 틈성 있는 섬유세포를 확인할 수 있다.

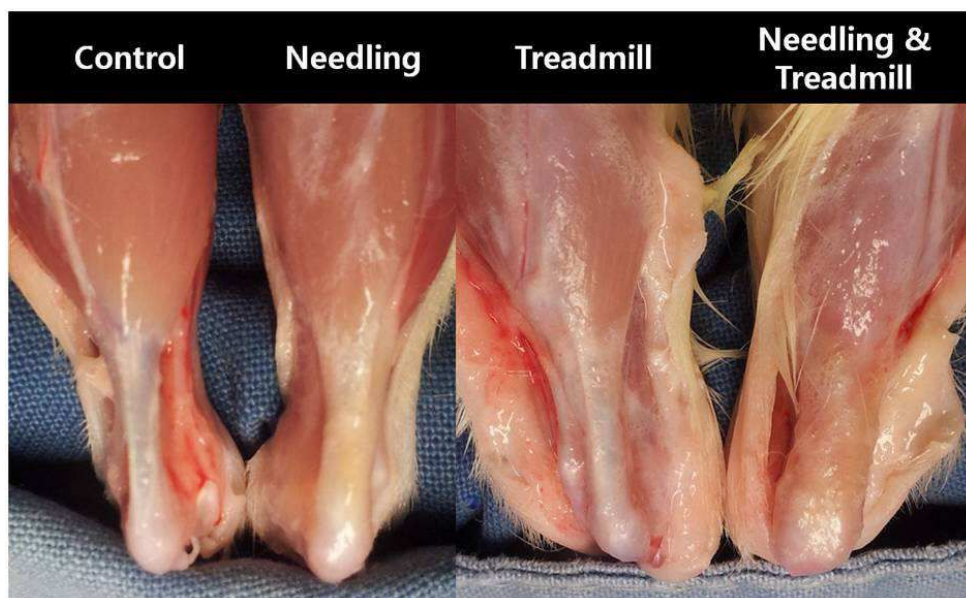
[0075] 이상과 같이, 본 발명은 비록 한정된 실시예에 의해 설명되었으나, 본 발명은 이것에 의해 한정되지 않으며 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 본 발명의 기술 사상과 아래에 기재될 청구범위의 균등 범위 내에서 다양한 수정 및 변형이 가능함은 물론이다.

도면

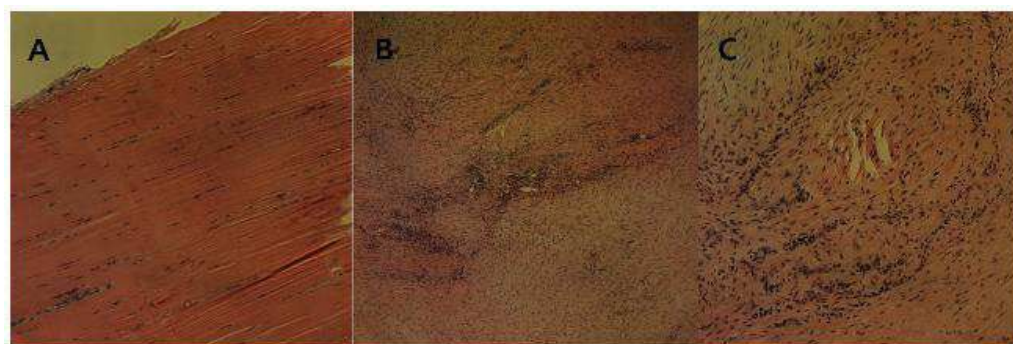
도면1a



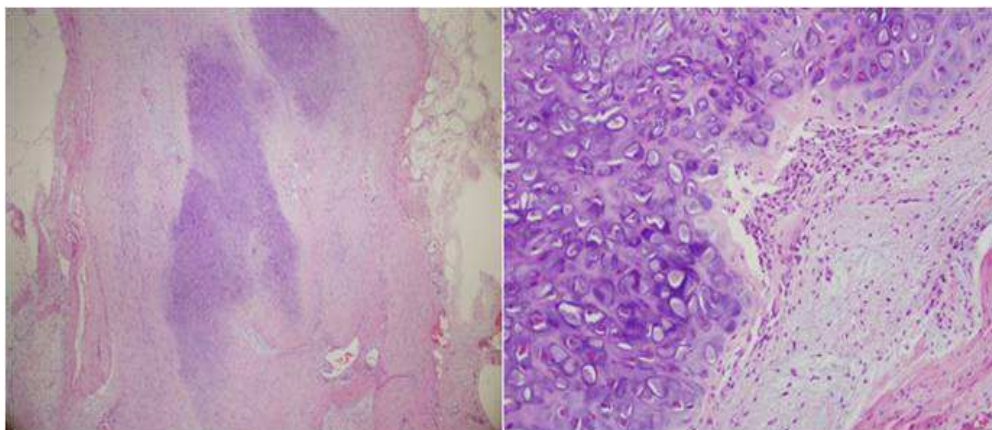
도면1b



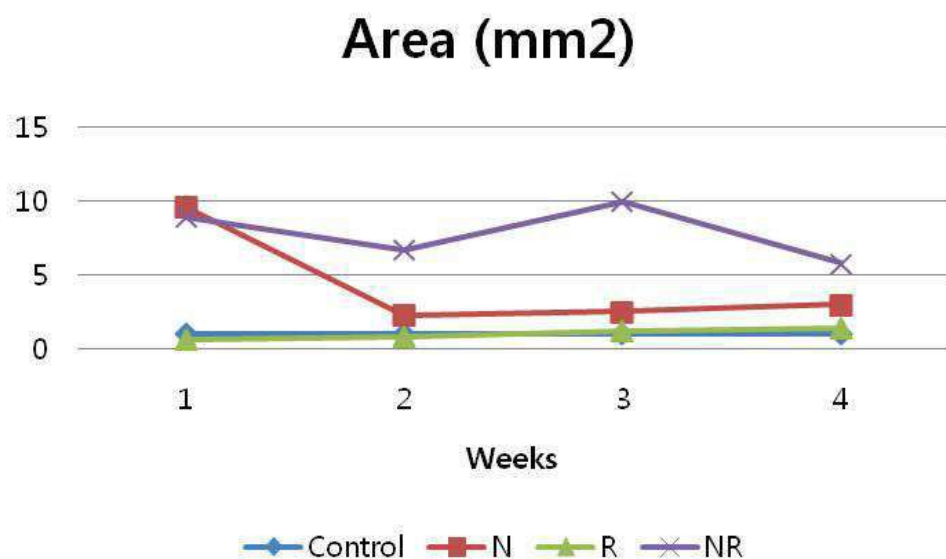
도면1c



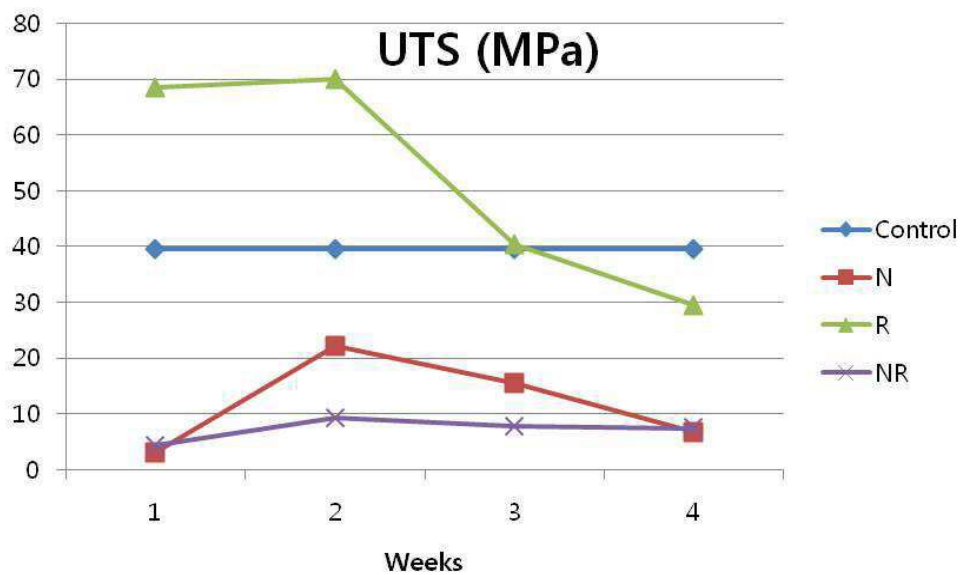
도면1d



도면1e



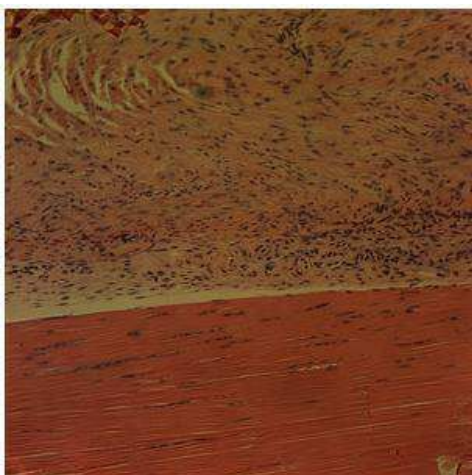
도면1f



도면2a



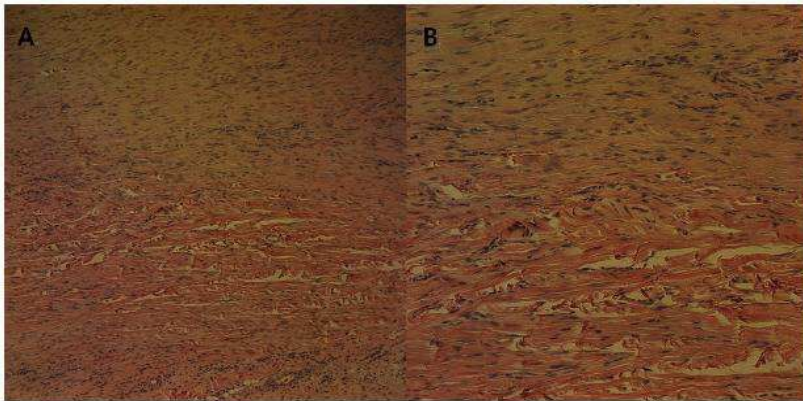
도면2b



도면3a



도면3b



도면3c



도면3d

