(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0091486
(43) 공개일자 2018년08월16일

(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 10-2017-0016744
(22) 출원일자 2017년02월07일
심사청구일자 2017년02월07일

(71) 출원인
인하대학교 산학협력단
인천광역시 남구 인하로 100, 인하대학교 (용현동)
(72) 발명자
이운규
경기도 부천시 신상로 45, 2813동 1005호(상동, 목련마을)
(74) 대리인
김순웅

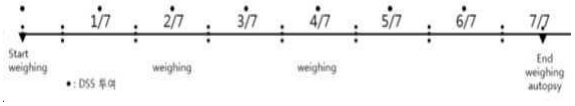
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 **미니돼지를 이용한 대장염 동물모델 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 미니돼지를 이용한 대장염 동물모델의 제조방법에 관한 것으로, 구체적으로는 DSS의 투여 농도를 조절함으로써 대장염의 병증 정도를 조절하는 것을 특징으로 하는 대장염 동물모델의 제조방법, 상기 제조방법에 의해 제조된 대장염 동물모델 및 이를 이용한 대장염 예방 또는 치료 물질의 스크리닝 방법에 관한 것이다. 본 발명의 제조방법에 따르면 현재까지 개발되어 활용되고 있는 대장염 동물모델보다 인간과 유사한 미니돼지를 이용할 수 있고, 대장염의 병증 정도를 조절할 수 있으므로 대장염에 대한 후보 치료제, 건강식품 및 천연물에 대한 정확한 평가가 가능하며, 내시경을 통해 대장염의 병태를 지속적으로 모니터링할 수 있는 장점이 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A01K 2207/20 (2013.01)
A01K 2227/108 (2013.01)
A01K 2267/03 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 PJ01109301
부처명 농림수산식품부
연구관리전문기관 동물분자유전육종사업단
연구사업명 차세대바이오그린21사업
연구과제명 가축 체내 시스템을 이용한 항병성 및 스트레스 대응 조절소재 및 유용유전자 활용방법 개발
기 여 율 1/1
주관기관 인하대학교 산학협력단
연구기간 2015.01.15 ~ 2017.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

DSS(dextran sulfate sodium)를 식이와 함께 0.1 내지 1 g/kg의 농도로 투여하는 단계;를 포함하는, 대장염 미니돼지 모델의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제조방법은 0.1 내지 0.3 g/kg의 DSS를 투여할 경우 경증 대장염을 유발하고, 0.3 내지 0.5 g/kg의 DSS를 투여할 경우 경중증 대장염을 유발하고, 0.6 내지 1.0 g/kg의 DSS를 투여할 경우 중증 대장염을 유발하는 것을 특징으로 하는, 대장염 미니돼지 모델의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 DSS는 5일 내지 10일 동안 1일 1회 이상 투여하는 것을 특징으로 하는, 대장염 미니돼지 모델의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 대장은 직장, S상결장, 하행결장, 횡행결장, 및 상행결장으로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 대장염 미니돼지 모델의 제조방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 방법에 의해 제조되고, 대장염의 병증 정도가 조절된, 대장염 미니돼지 모델.

청구항 6

(a) 제5항의 대장염 미니돼지 모델에 후보물질을 처리하는 단계; 및

(b) 상기 후보물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델에서 대장염의 병증 정도에 따라 대장염의 치료 효과를 확인하는 단계;를 포함하는, 대장염 예방 또는 치료 물질의 스크리닝 방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 (b) 단계에서 대장염 치료 효과 확인은 내시경을 통해 수행되는 것인, 대장염 예방 또는 치료 물질의 스크리닝 방법.

청구항 8

(a) 제5항의 대장염 미니돼지 모델에 시험물질을 처리하는 단계; 및

(b) 상기 시험물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델을 내시경을 통해 관찰하는 단계;를 포함하는, 대장염 미니돼

지 모델에서 대장염의 유발, 진행 또는 치료 효과에 대한 정보를 제공하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 미니돼지를 이용한 대장염 동물모델의 제조방법에 관한 것으로, 구체적으로는 DSS의 투여 농도를 조절함으로써 대장염의 병증 정도를 조절하는 것을 특징으로 하는 대장염 동물모델의 제조방법, 상기 제조방법에 의해 제조된 대장염 동물모델 및 이를 이용한 대장염 예방 또는 치료 물질의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 대장에 염증이 발생한 상태로 다양한 원인에 의해 염증이 발생할 수 있다. 원인에 따라 크게 감염성 장염과 비감염성 장염으로 분류한다. 급성 감염성 대장염은 전세계적으로 많이 발생되며 발열, 오심, 구토, 점액성 또는 혈성 설사와 복통이 주 증상이다. 궤양성 대장염 및 크론병은 모두 일시적으로 증상이 좋아지다가, 재발이 반복하는 만성 난치성 질환으로, 통칭하여 염증성 장질환(inflammatory bowel disease)으로 칭해지기도 한다. 이들 질환의 병인은 유전적 요인이나 면역 이상, 식사 등의 환경인자라는 지적이 있지만, 정확한 원인은 아직 불분명하다.

[0003] 종래, 궤양성 대장의 발생율은 서양인에게 높다고 알려져 있었지만, 최근, 식습관 등의 생활습관의 변화로 인해 우리나라 등 동양에서도 환자수가 급증하고 있다. 그렇지만, 원인이 불분명한 이유도 있어 근본적 치료법은 확립되어 있지 않다. 이 때문에 완전한 치료를 목표로 하는 것이 아니라, 증상을 완화시키고, 이러한 상태를 가능한 한 장기간 유지하는 약제가 사용되고 있는 실정이다. 이러한 대증요법을 위한 약제로서, 주로 아미노살리실산제제, 부신피질 스테로이드제, 면역억제제 등이 사용되지만, 다양한 부작용이 보고되고 있다. 예를 들어, 아미노살리실산제제로서 자주 사용되는 살라조설파피리딘은 구역질, 구토, 식욕부진, 발진, 두통, 간장해, 백혈구 감소, 이상 적혈구, 단백뇨, 설사 등의 부작용을 유발한다고 보고되었다. 또한 부신피질스테로이드제는 일반적으로는 프레드니솔론의 경구투여, 관장, 좌약, 정맥 주사 등으로 사용되지만, 위궤양이나 장기사용에 의한 대퇴골두 괴사 등 부작용이 강하다. 따라서 효과가 우수하면서도 안전하고 부작용을 일으키지 않는 대장염 등의 장질환 치료제에 대한 개발이 요구되고 있다.

[0004] 한편, 질환 동물 모델(animal model for human diseases)이란 인간에게 나타나는 각종 질환을 지닌 동물로서 몇 세대를 요하는 장기간의 유전 연구나 직접 인간을 대상으로 한 실험이 어려운 인체질환 규명과 치료법 개발에 쓰이는 동물 모델을 지칭한다.

[0005] 그 대표적인 예로서 고혈압쥐·당뇨병쥐·치매쥐 등이 있으며, 이들은 주로 유전자의 변형 또는 결손 등의 돌연변이, 화학물질의 주입 등에 의해 제조된다. 이렇게 제조된 동물 모델은 사람을 직접 모델로 할 수 없는 질병의 연구에 매우 유용하다. 이러한 동물들은 1980년대 이후 다양한 인체 질환과 거의 같은 수 또는 그 이상으로 개발되었으며 특수한 형질을 유지보존, 보급하여 응용함으로써 생명과학 분야의 발전에 크게 기여하여 왔다. 주로 계통발생학적으로 사람과 가까운 동물을 이용하며, 특히 번식능력·발육능력·환경 적응능력이 좋고 성질이 온순하며 사람의 유전자와 유사한 동물을 이용한다.

[0006] 현재까지 대장염 동물모델이 다양한 방법을 통해 제작되어 왔으나, 그 대상은 주로 설치류였다. 설치류 모델의 경우, 대장염의 발병이 잘 되는 것으로 알려져 있으나 개체간 차이나 병변의 유발 및 진행상황을 예측하기 어렵고, 개체마다 갖는 변이가 많아 군당 최소 10마리 이상의 설치류를 사용하는 것이 일반적인 실정이다.

[0007] 그러나 설치류는 사람과의 유사성이 낮으며 소화기관도 그 형태나 해부/생리학적 측면에서 많이 다르다. 또한, 질병의 유발, 진행 및 테스트 물질의 효과 정도를 확인하는 데 있어 매우 제한적인 정보만을 제공해 준다는 한계점이 있다. 질병의 유발 측면에서 볼 때, 설치류는 확립된 방법의 처치를 한 후 오직 동물실험의 종료시점인 부검(autopsy)을 통해서만 확인할 수 있다. 질병의 진행 측면에서도 서로 다른 여러 군(group)에 대해 동물실험의 종료시점에 부검을 통해서만 확인이 가능하며, 이는 테스트 물질의 효과 정도를 확인함에 있어서도 마찬가지이다. 따라서, 사람의 소화기관과 보다 유사하며 질병의 유발, 진행 및 테스트 물질의 효과 정도를 실시간으로 확인 및 제어할 수 있는 동물모델에 대한 요구가 지속되고 있다. 이와 관련하여, 미니돼지는 체구가 사람과 비슷하며 해부 및 생리학적으로도 또한 유사성이 높은 것으로 보고되고 있으므로, 미니돼지를 이용하여 원하는 병증의 정도로 대장염이 유발된 동물모델의 제조에 대한 필요성이 절실하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 이에 본 발명자들은 미니돼지를 이용한 대장염 동물모델을 제조하기 위해 노력한 결과, DSS(dextran sulfate sodium)의 투여 농도를 조절함으로써 대장염의 병증 정도를 원하는 수준으로 유발할 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0009] 이에 본 발명의 목적은 DSS(dextran sulfate sodium)를 식이와 함께 제공하는 단계;를 포함하는 대장염 미니돼지 모델의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 다른 목적은 상기 방법에 의해 제조되고, 대장염의 병증 정도 조절된, 대장염 미니돼지 모델을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 (a) 상기 대장염 미니돼지 모델에 후보물질을 처리하는 단계; 및 (b) 상기 후보물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델에서 대장염의 병증 정도에 따라 대장염의 치료 효과를 확인하는 단계;를 포함하는, 대장염 예방 또는 치료 물질의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.

[0012] 본 발명의 또 다른 목적은 (a) 대장염 미니돼지 모델에 시험물질을 처리하는 단계; 및 (b) 상기 시험물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델을 내시경을 통해 관찰하는 단계;를 포함하는, 대장염 미니돼지 모델에서 대장염의 유발, 진행 또는 치료 효과에 대한 정보를 제공하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 DSS(dextran sulfate sodium)를 식이와 함께 0.1 내지 1 g/kg의 농도로 투여하는 단계;를 포함하는, 대장염 미니돼지 모델의 제조방법을 제공한다.

[0014] 또한, 본 발명은 상기 방법에 의해 제조되고, 대장염의 병증 정도가 조절된, 대장염 미니돼지 모델을 제공한다.

[0015] 또한, 본 발명은 (a) 대장염 미니돼지 모델에 후보물질을 처리하는 단계; 및 (b) 상기 후보물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델에서 대장염의 병증 정도에 따라 대장염의 치료 효과를 확인하는 단계;를 포함하는, 대장염 예방 또는 치료 물질의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0016] 또한, 본 발명은 (a) 대장염 미니돼지 모델에 시험물질을 처리하는 단계; 및 (b) 상기 시험물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델을 내시경을 통해 관찰하는 단계;를 포함하는, 대장염 미니돼지 모델에서 대장염의 유발, 진행 또는 치료 효과에 대한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명의 제조방법에 따르면 현재까지 개발되어 활용되고 있는 대장염 동물모델보다 인간과 유사한 미니돼지를 이용할 수 있고, 대장염의 병증 정도를 조절할 수 있으므로 대장염에 대한 후보 치료제, 건강식품 및 천연물에 대한 정확한 평가가 가능하며, 내시경을 통해 대장염의 병태를 지속적으로 모니터링할 수 있는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 대장염 미니돼지 동물모델 제조방법의 모식도이다.

도 2는 대장염 미니돼지 모델의 제조 후 실험 종류 시점에서 내시경을 통해 대장 내를 관찰한 결과를 나타낸 도이다.

도 3은 대장염 미니돼지 모델의 제조 후 실험 종류 시점에서 각 군별 대장 길이를 관찰한 결과를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하, 본 발명에 대해 상세히 설명한다.

[0020] 본 발명은 DSS(dextran sulfate sodium)를 식이와 함께 0.1 내지 1 g/kg의 농도로 투여하는 단계;를 포함하는, 대장염 미니돼지 모델의 제조방법을 제공한다.

[0021] 본 발명에서 DSS(dextran sulfate sodium)는 대장염을 유발하기 위한 것으로서, 병증정도의 유발목적에 따라 적

절한 범위를 선택할 수 있다. 예를 들어, 경증 대장염 유발의 경우 0.1 내지 0.3 g/kg, 경중증 대장염 유발의 경우 0.3 내지 0.5 g/kg, 중증 대장염 유발의 경우 0.6 내지 1.0 g/kg의 DSS를 이용하는 것이 바람직하며, 효과적인 병증 유발을 위해 미니돼지는 10 kg 이하의 개체를 이용하는 것이 바람직하다.

[0022] 본 발명의 대장염 미니돼지 모델의 제조방법은 기존의 설치류 동물모델과는 다르게 DSS를 경구 직접 투여나 물에 녹여 투여하는 것이 아니라, 식이와 함께 혼합하여 섭취하게 함으로써, 마취나 기타 기구의 도움없이도 정량의 약물을 투여할 수 있어 매우 효과적이다.

[0023] 본 발명의 대장염 미니돼지 모델의 제조를 위하여, DSS는 5일 내지 10일 동안 매일, 하루 한번 이상 투여하는 것이 바람직하다.

[0024] 상기 "경증"은 염증이 소화관의 점막과 점막하 이외의 모든 층을 침범하되 궤양덩어리의 형성이 소화관 점막을 기준으로 0.5cm 미만일 때를 지칭한다.

[0025] 상기 "중증"은 염증이 소화관의 점막과 점막하 이외의 모든 층을 침범하되 궤양덩어리의 형성이 소화관 점막을 기준으로 0.5cm 이상일 때를 지칭한다.

[0026] 본 발명에서 대장은 직장, S상결장, 하행결장, 횡행결장, 및 상행결장으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상일 수 있으며, 상기 부위를 모두 포함할 수 있고, 이에 제한되지 않는다.

[0028] 또한, 본 발명은 상기 대장염 미니돼지 모델의 제조방법에 의해 제조되고, 대장염의 병증 정도가 조절된, 대장염 미니돼지 모델을 제공한다.

[0029] 대장염 동물모델의 제조에 가장 많이 사용되는 설치류는 인간과 형태, 해부학적, 생리학적 특징이 전혀 상이하여 인간을 대상으로 한 질병을 위한 연구에 적합하지 않은 반면, 본 발명의 미니돼지는 인간과 체구, 해부학적, 생리학적 특징이 매우 유사한 것으로 알려져 있으므로, 인간의 대장염에 대한 연구에 적합하다는 장점이 있다.

[0030] 따라서, 본 발명의 대장염 미니돼지 모델을 통해 대장염에 대한 치료제, 건강식품 및 천연물에 대해 정확한 평가가 가능함과 동시에 그 결과에 대한 실효성이 높다고 평가된다.

[0032] 또한, 본 발명은 (a) 대장염 미니돼지 모델에 후보물질을 처리하는 단계; 및 (b) 상기 후보물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델에서 대장염의 병증 정도에 따라 대장염의 치료 효과를 확인하는 단계;를 포함하는, 대장염 예방 또는 치료 물질의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0033] 이하, 본 발명의 방법 중 각 단계에 대해 구체적으로 설명한다.

[0034] 본 발명의 (a) 단계는, 대장염 미니돼지 모델에 후보물질을 처리하는 단계이다.

[0035] 본 발명에서 "후보물질"은 대장염을 치료, 예방 또는 개선할 수 있는 물질로서 화학물질, 올리고뉴클레오타이드, 펩티드, 유전자, 단백질, 식품, 제형, 화합물, 조성물, 의약, 영양보조제, 건강관리제품 또는 음료 등의 물질을 제한 없이 포함한다.

[0036] 본 발명에서 후보물질의 처리는 대장 내 투여, 경구투여, 정맥주사, 피하투여, 복강내 투여 등 종래 시료의 처리 또는 투여 방법 중 적절한 방법을 선택할 수 있으며, 후보물질의 처리양은 처리 방법이나 사전 실험 결과 등에 따라 적절히 선택할 수 있다.

[0037] 본 발명의 (b) 단계는, 상기 후보물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델에서 대장염의 병증 정도에 따라 대장염의 치료 효과를 확인하는 단계이다.

[0038] 본 발명에서 대장염 치료 효과 확인은 부검에 의하지 않고도 내시경을 통해 육안으로 관찰함으로써 수행될 수 있다. 내시경을 통해 대장염 병변의 정도를 측정함으로써 기존의 설치류 동물모델에서는 오직 부검을 통해서만 확인할 수 있었던 한계점을 극복하였고, 시간의 흐름에 따른 대장염 병증 정도의 관찰이 가능하다.

[0039] 본 발명의 스크리닝 방법은 (c) 상기 (b) 단계의 측정 결과, 대장염 병증의 정도를 감소시킨 후보물질을 선별하는 단계;를 더 포함할 수 있다.

[0040] 상기 선별은, 후보물질의 처리 전 대장염 동물모델의 대장 상태와 (b) 단계의 대장 상태를 비교한 결과, 후보물질의 처리에 의해 대장염의 병증 정도를 감소시킨 후보물질을 선택함으로써 이루어질 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명은 (a) 대장염 미니돼지 모델에 시험물질을 처리하는 단계; 및 (b) 상기 시험물질이 처리된 대장염 미니돼지 모델을 내시경을 통해 관찰하는 단계;를 포함하는, 대장염 미니돼지 모델에서 대장염의 유발, 진행 또는 치료 효과에 대한 정보를 제공하는 방법을 제공한다.

[0043] 본 발명에서 "시험물질"은 대장염을 유발, 진행 또는 치료할 수 있는 물질로, 화학물질, 올리고뉴클레오타이드, 펩티드, 유전자, 단백질, 식품, 제형, 화합물, 조성물, 의약, 영양보조제, 건강관리제품 또는 음료 등의 물질을 제한 없이 포함한다.

[0044] 본 발명의 (b) 단계에서 대장염의 유발, 진행 또는 치료 효과는 내시경을 통해 관찰하는 것을 특징으로 한다. 부검을 하지 않고도 내시경을 통해 시간의 흐름에 따라 병변의 상태를 관찰함으로써 (a) 단계에서 처리한 시험물질이 대장염의 유발, 진행 또는 치료에 미치는 영향에 대한 정보를 제공한다.

[0046] 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.

[0048] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 내용이 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0050] **실시예 1: 대장염 동물모델의 확립**

[0051] 대장염 동물모델을 확립하기 위하여, 도 1에 나타낸 바와 같이 실험을 수행하였다.

[0052] 구체적으로, 10kg 이하의 수컷 미니돼지를 선별한 후, 총 7일동안 7번에 걸쳐서 특정 용량의 DSS(MP biomedicals 사)를 투여하였으며, 기간 동안 총 3번의 미니돼지 중량을 측정하였다. 이때 DSS는 전량을 안정적으로 투입하면서도 구강투여에 따른 마취나 스트레스를 없애주기 위하여 먹이와 함께 섞어서 죽처럼 제공하였으며, 먹이와 함께 전량이 모두 섭취되는 것을 매번 확인하였다. 이러한 방법은 마취나 특별한 기구의 도움 없이 매우 효과적으로 미니돼지에 약물을 전달할 수 있다. 마지막 7일째에 내시경을 통해 대장염의 발병 정도를 영상과 사진을 통해서 확보하였다.

[0053] 군 구성은 하기 표 1과 같이 설계하였다.

표 1

GROUPING

Group	Animals	DSS dose(g/kg)	Number	Sex
G1 (Vehicle con)	MicroPig®	-	2	Male
G2		0.2	2	Male
G3		0.4	2	Male
G4		0.8	2	Male

[0054] • 매일 7일동안 2% DSS 100ml(G2), 2% DSS 200ml(G3), 2% DSS 400ml(G4) 를 먹이에 넣어 먹임

[0055] 보다 구체적으로, 대장염을 유발하지 않은 미니돼지를 1군(G1-1, G1-2)으로 하고, DSS로 경증 대장염을 유발한 미니돼지를 2 군(G2-1, G2-2), 경중증 대장염을 유발한 미니돼지를 3 군(G3-1, G3-2), 중증 대장염을 유발한 미니돼지를 4 군(G4-1, G4-2)으로 하였다.

[0057] **실험예 1: 체중 변화 측정**

[0058] 체중은 실험 시작 전과 종료 후, 실험 중간에 2회를 더해 총 4회에 걸쳐 측정하였다. 그 결과를 표 2에 나타내

었다.

표 2

[0059]

Group	0 day	2 day	4 day	7 day
G1-1	9.8	10.2	9.8	9.6
G1-2	9.9	9.8	9.95	9.7
G2-1	9.6	10.1	10.7	9.8
G2-2	9.7	10.2	10.4	10
G3-1	8.5	9.0	9.1	9.2
G3-2	9.9	10.6	10.8	10.5
G4-1	9.4	9.8	9.9	9.9
G4-2	9.6	10	10	9.3

[0060] 표 2에 나타낸 바와 같이, DSS 투여에 따르는 몸무게의 변화는 거의 없었으며, 투여 농도에 따른 차이도 관찰되지 않았다.

[0062] **실험예 2: 내시경을 이용한 대장 관찰**

[0063] 실험 종료 후, 내시경을 이용하여 대장 내를 관찰하였다. 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0064] 도 2에 나타낸 바와 같이, 물만 함께 먹인 G1 군은 염증이 전혀 없는 깨끗한 대장내막이 관찰되었다. 이에 반해, DSS를 함께 먹인 군에서는 대장내피에 염증과 함께 출혈이 관찰되었으며, 이는 DSS의 투여 농도에 따라서 경증부터 중증까지 식별 가능하게 다른 증상을 보임을 확인하였다. 즉, 목적한 바와 같이, G2군은 경증, G3 군은 경중증, G4 군은 중증 대장염 증상을 보임을 확인하였다.

[0066] **실험예 3: 임상 관찰**

[0067] 실험 기간 동안, 각 군별로 임상 관찰을 기록하였다. 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

[0068]

Group	I.D.	Clinical signs	Autopsy gross examination
G1-1	E8-75	Looks fine	Normal
G1-2	E9-36	Looks fine	Normal
G2-1	E10-32	Started dark feces(hard) on day 7	· Round nodules(2~3mm diameter) & some patches of hemorrhages appear on mucosal surface of distal colon
G2-2	E10-7	Started dark feces(hard) on day 7	Round nodules(2~3mm diameter) & some patches of hemorrhages appear on mucosal surface of distal colon
G3-1	E10-10	Started inappetence and bloody diarrhea on day 6. Weakness	· Fresh dark blood and soft feces at the rectum-anal area · Discontinuous patches of slightly dark bloated large intestines especially at the distal part; small round nodules(2~3mm) can be seen from several surface of the colon.
G3-2	E10-2	Started inappetence & dark feces on day 7. Weakness	· Dark soft to hard feces at the rectal/anal area · Slightly dark blue colon especially at the spiral and distal part
G4-1	E9-45	Started inappetence & dark bloody feces on day 6. Severe weakness	· Fresh dark blood and soft feces at the rectum-anal area · Dark areas in large intestines especially at the distal part; small round nodules (2~3mm) can be seen from serosal surface of the colon
G4-2	E10-25	Started inappetence and bloody diarrhea on day 5. Severe weakness	· Fresh dark blood and soft feces at the rectum-anal area · dark bloated large intestines especially at the distal part; small round nodules(2~3mm) can be seen from several surface of the colon.

[0069] 표 3에 나타낸 바와 같이, G2에서는 마지막 날에 변의 색이 검게 되는 증상을 나타냈으며, G3에서는 마지막날이나 그 하루 전에 혈변, 설사, 식욕부진 및 병색을 나타내었다. 특히, G4에서는 G3에서와 같은 임상증상을 조금 더 일찍 나타냄을 확인하였다.

[0071] **실험예 4: 부검 결과**

[0072] 실험 종료 후, 대장을 분리하고 대장 길이를 측정하였다. 그 결과를 표 4 및 도 3에 나타내었다.

표 4

[0073]

Group	I.D.	Colon length
G1-1	E8-75	175
G1-2	E9-36	174
G2-1	E10-32	170
G2-2	E10-7	165
G3-1	E9-45	160
G3-2	E10-2	165
G4-1	E10-10	110
G4-2	E10-25	120

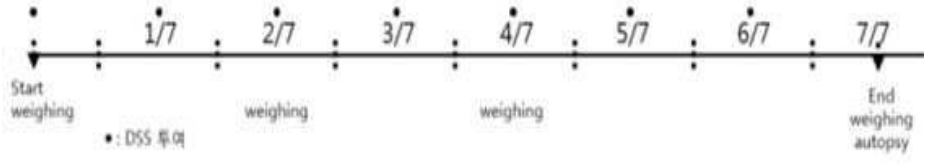
[0074] 표 4 및 도 3에 나타낸 바와 같이, 중증 대장염이 유발된 G4군에서 현격하게 대장의 길이가 감소함을 확인하였으며 G2와 G3에서도 대장의 길이가 줄어드는 경향을 보여주었다.

[0076] 이상의 실험 결과를 통하여, 본 발명의 제조방법에 의해 DSS의 투여 농도/용량을 조절함으로써 경증부터 중증까지 원하는 병증의 수준의 대장염을 갖는 미니돼지 동물모델을 제조할 수 있음을 확인하였다.

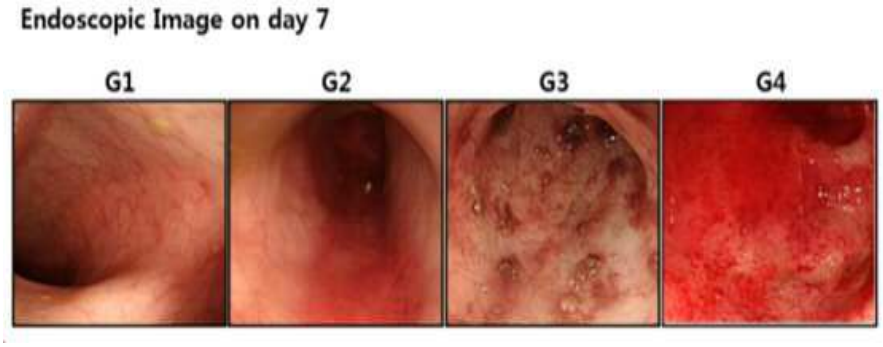
[0078] 비록 본 발명이 상기에 언급된 바람직한 실시예로서 설명되었으나, 발명의 요지와 범위로부터 벗어남이 없이 다양한 수정이나 변형을 하는 것이 가능하다. 또한 첨부된 청구 범위는 본 발명의 요지에 속하는 이러한 수정이나 변형을 포함한다.

도면

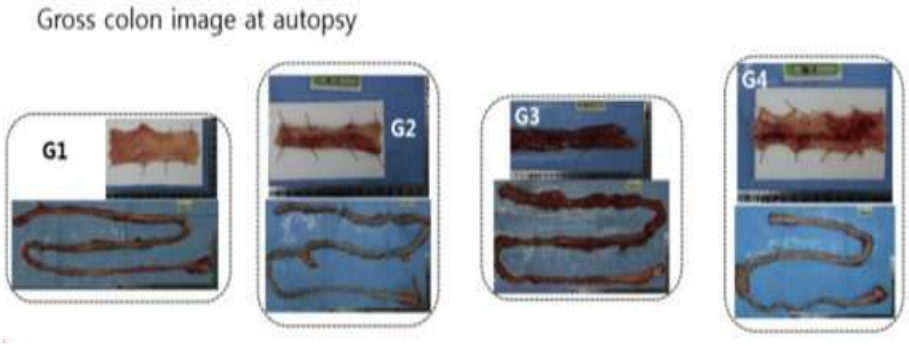
도면1



도면2


Endoscopic Image on day 7
G1
G2
G3
G4

도면3


Gross colon image at autopsy
G1
G2
G3
G4