



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0072311
(43) 공개일자 2023년05월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01K 67/027 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A01K 67/027 (2013.01)
A01K 2207/30 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0158916

(22) 출원일자 2021년11월17일

심사청구일자 2021년11월17일

(71) 출원인

재단법인 아산사회복지재단

서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)

울산대학교 산학협력단

울산광역시 남구 대학로 93(무거동)

(72) 발명자

서현석

서울특별시 송파구 잠실로 62, 337동 2602호(잠실동, 트리지움)

천화영

서울특별시 송파구 백제고분로17길 10, 101호(잠실동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인더웨이브

전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 후천성 림프부종 동물 모델 및 이의 제조방법

(57) 요약

후천성 림프부종 동물 모델 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 구체적으로는 암 치료 수술에 의한 합병증인 상지 림프부종 동물 모델의 제조방법 및 이로부터 제조된 상지 림프부종 동물 모델의 용도에 관한 것으로, 상기 상지 림프부종 동물 모델은 인체와 유사한 림프부종 특성을 나타내면서도 16주 이상 지속적으로 림프부종이 유지되므로, 밝혀지지 않은 림프부종 발생 메커니즘에 대한 연구 및 암 치료 수술에 의한 합병증인 상지 림프부종의 효과적인 예방 또는 치료용 약물 개발에 널리 활용될 것이다.

대표도 - 도9



(52) CPC특허분류

A01K 2227/105 (2013.01)
A01K 2227/107 (2013.01)
A01K 2267/0368 (2013.01)
A01K 2267/0393 (2013.01)

(72) 발명자

박창식

서울특별시 강남구 압구정로29길 23, 208동 801호
(압구정동, 현대아파트)

김형배

서울특별시 송파구 백제고분로50길 7-4, 402호(방
이동)

홍준표

서울특별시 강남구 선릉로 120, 9동 502호(대치동,
개포1차 우성아파트)

권진근

경기도 용인시 수지구 진산로 90, 508동 404호(풍
덕천동, 진산마을삼성래미안5차아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711113442
과제번호	2019R1C1C1008451
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명	림프부종 치료를 위한 혈관문합 림프절 이식술 복합 치료법 확립
기 여 율	1/1
과제수행기관명	서울아산병원
연구기간	2019.03.01 ~ 2022.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

인간을 제외한 포유동물의 상완 림프절(brachial lymph node) 및 액와부 림프절(axillary lymph node)을 포함하는 피부를 절개하는 단계;

상기 상완 림프절 및 액와부 림프절을 절제하는 단계;

상기 절개된 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 단계를 포함하는 후천성 림프부종 동물 모델의 제조방법.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 절개된 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 단계는 상기 절개된 피부 양 끝을 소작한 후, 소작한 피부 양 끝을 간격을 두고 주변 근육 조직에 고정하는 것인, 후천성 림프부종 동물 모델의 제조방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 절개된 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 단계는 상기 절개된 피부 양 끝을 접은 후, 접힌 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 것인, 후천성 림프부종 동물 모델의 제조방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서,

상기 절개된 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정한 부위에 방사선을 조사하는 단계를 추가로 포함하는, 후천성 림프부종 동물 모델의 제조방법.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 림프부종은 상지 림프부종인, 후천성 림프부종 동물 모델의 제조방법.

청구항 6

청구항 1에 있어서,

상기 포유동물은 설치류 또는 토끼류인, 후천성 림프부종 동물 모델의 제조방법.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 6 중 어느 하나의 청구항에 기재된 방법으로 제조된 후천성 림프부종 동물 모델.

청구항 8

청구항 7에 기재된 후천성 림프부종 동물 모델에 후보 물질을 처리하는 단계; 및

상기 후보 물질을 처리한 동물 모델과 피검 물질을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 부종의 크기가 감소한 피검 물질을 선별하는 단계를 포함하는 림프부종의 예방 또는 치료용 후보 물질 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

후천성 림프부종 동물 모델 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 구체적으로는 암 치료 수술에 의한 합병증인 상지

림프부종 동물 모델의 제조방법 및 이로부터 제조된 상지 림프부종 동물 모델의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 림프부종(lymphedema)은 림프계 손상에 의해 림프계의 단절이 발생하고 조직액에서 유래된 다량의 림프액이 혈류로 흡수되지 못하고 조직 내에 국부적으로 축적되어 부종이 발생하는 질환이다. 후천성 림프부종은 수술요법, 화학요법, 방사선 조사법 등 암에 대한 강도 높은 수술적 치료 과정 중 림프절 절제에 의해 발생한다. 후천성 림프부종은 둔통, 피부 이상 감각, 무게감과 같은 증상을 유발하고 비정상적인 크기의 부종을 형성시켜 암 환자들의 정상적인 사회 활동을 불가능하게 하는 것으로 알려져 있다. 특히, 유방암을 치료하는 경우에 암 세포의 전이를 막기 위해 액와부의 림프절을 절제하는 액와부 림프절 절제술(axillary lymph node dissection, ALND) 또는 감시 림프절 절제술(sentinel lymph node dissection, SLND)을 수행하는데, 시술 이후에 팔과 가슴쪽 림프액이 절제된 액와부 림프절로 모이게 되면서 많은 환자의 팔에서 합병증인 상지 림프부종이 발생하게 된다.
- [0003] 림프부종은 병변의 생리학적, 분자생물학적 특징과 발병 메커니즘이 정확하게 밝혀지지 않았기 때문에 종양 치료 후 림프부종 유발의 예측과 초기 치료가 어렵다. 또한, 림프부종이 발생하면 그 정도에 따라 비수술적 치료 또는 수술적 치료 등 다양한 치료 방법이 시도되는데 그 효과에 대해서는 아직 이견이 많은 상황이다. 즉, 림프부종은 진행되면 완치가 어려운 만성 질환으로 평생을 두고 지속적인 관리가 필요한 것으로 알려져 있다.
- [0004] 한편, 아직까지 명확하게 밝혀지지 않은 림프부종 증상에 대한 규명과 림프부종 형성 과정에서의 분자생물학적 메커니즘에 대한 이해는 림프부종 완화 또는 완치에 대한 새로운 치료법을 제시하기 위해 필수적이며, 이러한 연구를 수행하기 위해서는 인체와 높은 재현성을 나타내는 림프부종 동물 모델이 필요하다.
- [0005] 기존에 림프부종 동물 모델들은 주로 설치류의 꼬리 또는 뒷다리, 토끼귀를 사용하여 림프부종을 재현해 왔으나, 유도된 림프부종의 크기가 정상군과 현격한 차이를 보이지 않고, 높은 내인성 림프 재생으로 인하여 형성된 부종이 실제 환자만큼 오래 유지되지 않은 한계를 나타냈다. 또한, 유방암 수술 후 발생하는 합병증인 상지 림프부종을 재현하는 동물 모델은 개발되지 않은 실정이다.
- [0006] 이에, 본 발명자들은 유방암 수술 후 많은 환자에게 발생하는 합병증인 상지 림프부종의 효과적인 진단 및 치료제 개발에 이용될 수 있는 동물 모델을 개발하기 위하여, 랫(rat)의 상지쪽 림프절을 절제 후 표피 림프계를 단절시키고 방사선을 조사하여 랫의 상지 림프부종을 유도한 경우에 실제 림프부종의 주요한 특성을 유지하면서도 16주 이상 부종이 지속되는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은, 인체와 유사한 림프부종 특성을 나타내면서도 지속적으로 림프부종이 유지되는 상지 림프부종 동물 모델을 제조하는 방법을 제공하는데 있다.
- [0008] 다른 목적은, 상기 제조방법에 의해 제조된 상지 림프부종 동물 모델을 제공하는데 있다.
- [0009] 또 다른 목적은, 상기 동물 모델을 이용하여 상지 림프부종을 예방 또는 치료하기 위한 후보 물질을 스크리닝하는 방법을 제공하는데 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 일 양상은 인간을 제외한 포유동물의 상완 림프절(brachial lymph node) 및 액와부 림프절(axillary lymph node)을 포함하는 피부를 절개하는 단계; 상기 상완 림프절 및 액와부 림프절을 절제하는 단계; 상기 절개된 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 단계를 포함하는 후천성 림프부종 동물 모델의 제조방법을 제공한다.
- [0011] 상기 절개된 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 단계는 상기 절개된 피부 양 끝을 소작한 후, 소작한 피부 양 끝을 간격을 두고 주변 근육 조직에 고정하는 것일 수 있다.
- [0012] 상기 절개된 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 단계는 상기 절개된 피부 양 끝을 접은 후, 접힌 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 것일 수 있다.
- [0013] 용어 "림프부종(lymphedema)"은 림프관의 기능 장애 중 하나에 해당하고, 림프관이 손상되거나 막혀서 단백질이 비정상적으로 축적되어 부종과 염증을 유발시키는 것으로서, 림프관의 폐색으로 인해 림프액이 피하에 저류한

상태를 의미한다. 림프관의 기능 장애가 생기면 세포외액과 거대 분자 물질의 이동이 어려워지면서 결국 조직의 부종, 면역 기능 장애 및 간질 조직의 섬유화가 발생할 수 있다. 림프부종은 유전성 또는 이차성 원인으로 발생하고, 이차성 원인으로 발생하는 후천성 림프부종은 수술, 방사선 치료 등을 동반하는 악성 종양의 치료 후에 자주 발생할 수 있다. 후천성 림프부종은 여성암 발생률 1위인 유방암 환자의 45% 이상에게 발생하고, 전체 암 환자의 10% 이상에게 발생하는 것으로 보고되어 있다.

[0014] 인간을 제외한 포유동물에의 상완 림프절 및 액와부 림프절을 절제하는 단계는 인체에서 상지쪽 림프계의 단절을 재연하기 위한 것일 수 있다. 실제 인체에서는 이러한 림프절 절제로 인한 주요 림프계 단절이 발생하게 되면, 부수적인 주변 림프계로 우회적인 림프액 순환 통로가 생성되어 림프부종이 발생하지 않을 수 있다. 한편, 림프절과 연결된 주요 림프관 이외에 미세한 표피 림프계는 주로 근막 위 피부에 존재하므로 절제된 림프절을 포함하는 상지 원위부와 근위부의 피부 단절을 통하여 우회적인 림프액 순환 통로의 생성을 차단할 수 있다.

[0015] 일 구현예에서는, 랫(rat)의 상완 림프절 및 액와부 림프절을 포함하는 원위부와 근위부의 피부를 절개한 후 상완 림프절과 액와부 림프절을 절제한 후 피부 단절을 통하여 표피 림프계의 단절을 유도할 수 있다. 구체적으로, 랫의 절개된 피부 양 끝을 소작하여 피부의 재연결을 차단하고, 소작한 피부 양 끝을 약 2 ~ 3 mm의 간격을 두고 봉합술을 통해 근육에 고정하는 갭수차(gap suture) 및/또는 랫의 절개된 피부 소작하여 피부의 재연결을 차단하고, 접힌 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정하는 폴딩수차(folding suture)를 수행할 수 있다. 이를 통하여, 랫의 상지쪽 림프절 절제 후에 우회적인 표피 림프 경로의 생성을 미리 차단함으로써, 원위부와 근위부의 완전한 단절을 야기하고 원위부에서 발생하는 림프액을 원위부 조직 주변에 가두어 효과적인 상지 림프부종이 발생할 수 있다. 이 경우, 2 ~ 3주 경과하면 고정된 피부 간격 사이에 흉터가 생기면서 회복할 수 있으나, 이러한 흉터는 림프계 조직을 가지고 있지 않으므로 원위부와 근위부 사이에 존재하는 장벽과 같은 역할을 하여 지속적으로 림프부종을 유지할 수 있다.

[0016] 상기 후천성 림프부종 동물 모델의 제조방법은 절개한 피부 양 끝을 주변 근육 조직에 고정된 부위에 방사선을 조사하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 이러한 방사선 조사는 동물 모델의 손상된 림프계 회복을 느리게 하고 주변 조직의 섬유화를 통하여 원위부와 근위부의 단절을 유지하여 장기적인 림프부종을 유도할 수 있다. 또한, 실제 유방암 환자들의 수술적인 치료 이외에도 방사선 치료 결과를 모사할 수 있으며, 조직의 섬유화를 유도하고 이를 통하여 심층 림프 경로를 차단할 수 있다.

[0017] 일 구현예에서는, 랫의 림프절 절제 및 간격을 두고 피부 고정을 통한 표피 림프계의 단절을 유도한 후에 수술 부위에 20 Gy 이상의 방사선을 조사할 수 있다.

[0018] 상기 후천성 림프부종은 상지 림프부종일 수 있다.

[0019] 용어 "상지"는 어깨에서 손에 이르는 부분으로 상지대(견대), 상완(上腕), 전완(前腕), 손의 4부분으로 이루어지는 신체의 일부분을 의미한다. 상지 림프부종은 상지 부분에 발생한 림프부종을 의미한다.

[0020] 일 구현예에서 상지는 랫의 앞다리를 의미하며, 상지쪽 림프계의 단절 및 방사선 조사를 통하여 랫 앞다리의 림프부종을 유발할 수 있다.

[0021] 상기 인간을 제외한 포유동물은 설치류(rodent) 또는 토끼류일 수 있다. 구체적으로, 설치류는 들쥐, 다람쥐, 햄스터, 청설모, 기니피그, 비버, 호저, 우드척, 마우스 또는 랫트(rat)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0022] 용어 "설치류(rodent)"는 척삭동물 포유강의 한 목을 이루는 동물군을 의미하며, 쥐류라고도 한다.

[0023] 다른 양상은, 상기 제조방법에 의해 제조된 후천성 림프부종 동물 모델을 제공한다.

[0024] 상기 림프부종은 상지 림프부종일 수 있다.

[0025] 유방암 환자에서 액와 림프절 전이 여부는 가장 중요한 예후 인자 중의 하나이다. 액와부 림프절 절제술(axillary lymph node dissection, ALND)을 시행하는 가장 큰 목적은 병기(stage)를 결정하기 위함이며, 병기 결정을 통해 이차적으로 예후를 예측하고 수술 후 보조 치료 방법을 결정할 수 있다. 한편, 이러한 액와부 림프절의 절제술을 받은 많은 환자들에게서 상지 림프부종의 합병증이 발생하며, 특히 액와부 방사선 치료를 병행한 환자에서 발생률이 높아지는 것으로 알려져 있다. 한편, 임상에서 관찰되는 이차성 상지 림프부종과 유사한 실험 동물 모델은 병태생리 확인 및 상지 림프부종 치료 방법의 효용성 검증에 이용될 수 있다. 또한, 외과적 수술과 방사선 국부 조사를 통해 제작된 동물 모델은 병용 요법을 통한 후천성 상지 림프부종 치료 연구뿐만 아니라

라, 방사선 노출 시 발생할 수 있는 조직 내 영향 및 관련 유전자들의 기능 구명에도 활용될 수 있다.

- [0026] 일 구현예에서 제조된 상지 림프부종 랫 모델은 이러한 연구에 활용될 수 있다.
- [0027] 일 구현예에서, 상기 제조된 후천성 림프부종 랫 모델은 16주 이상 림프부종이 지속되고, 앞다리에 발생한 부종의 부피가 정상군과 비교하여 25% 이상 증가한 것을 확인할 수 있다. 또한, ICG 림프조영술을 통하여 림프부종의 주요한 특성을 유지하고 있는 것을 확인할 수 있다.
- [0028] 또 다른 양상은, 상기 후천성 림프부종 동물 모델에 후보 물질을 처리하는 단계; 및 상기 후보 물질을 처리한 동물 모델과 피검 물질을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 부종의 크기가 감소한 후보 물질을 선별하는 단계를 포함하는 림프부종의 예방 또는 치료용 후보 물질 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0029] 상기 림프부종은 상지 림프부종일 수 있다.
- [0030] 용어 "림프부종의 예방 또는 치료용 후보 물질"은 통상적인 선정 방식에 따라 림프부종의 예방 또는 치료의 가능성을 지닌 것으로 추정되거나 또는 무작위적으로 선정된 개별적인 핵산, 단백질, 기타 추출물 또는 천연물, 또는 화합물 등이 될 수 있다.
- [0031] 용어 "대조군"은 림프부종의 예방 또는 치료용 후보 물질을 처리하지 않은 후천성 림프부종 동물 모델을 포함하는 군으로, 상기 후보 물질을 처리한 군과 병렬 관계에 속하는 동물 모델을 포함하는 군을 의미한다.
- [0032] 상기 림프부종의 예방 또는 치료용 후보 물질 스크리닝 방법은 후천성 림프부종 동물 모델에 상기 후보 물질들을 처리하여, 후보 물질을 처리하지 않은 대조군과 비교하는 방식일 수 있다.
- [0033] 상기 림프부종의 예방 또는 치료용 후보 물질을 처리하는 경우에, 후보 물질을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 부종의 크기가 감소하면, 해당 후보 물질을 림프부종의 예방 또는 치료제로 판단하는 단계를 추가적으로 포함할 수 있다.
- [0034] 이러한 스크리닝 방법에 의하여 선택된 물질은 이후의 후천성 림프부종의 예방 또는 치료제 개발 과정에서 선도 물질(leading compound)로 작용하게 되며, 선도 물질을 변형시키고 최적화함으로써, 새로운 후천성 림프부종 예방 또는 치료제를 개발할 수 있다.
- [0035] 중복되는 내용은 본 명세서의 복잡성을 고려하여 생략하며, 본 명세서에서 달리 정의되지 않은 용어들은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 의미를 갖는 것이다.

발명의 효과

- [0036] 일 양상에 따른 상지 림프부종 동물 모델 제조방법 및 이에 의해 제조된 동물 모델은 인체와 유사한 림프부종 특성을 나타내면서도 16주 이상 지속적으로 림프부종이 유지되므로, 밝혀지지 않은 림프부종 발생 메커니즘에 대한 연구에서 널리 활용될 것이다.
- [0037] 또한, 일 양상에 따른 상기 상지 림프부종 동물 모델을 이용한 상지 림프부종 예방 또는 치료용 후보 물질 스크리닝 방법은 암 치료 수술에 의한 합병증인 상지 림프부종의 효과적인 예방 또는 치료용 약물 개발에 널리 활용될 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0038] 도 1은 일 양상에 의한 상지 림프부종 랫(rat) 모델 제조에 있어서, 마취한 후 수술하기 전 사진이다.
- 도 2는 일 양상에 의한 상지 림프부종 랫 모델 제조에 있어서, 림프절 및 림프관의 위치를 확인하기 위하여 랫의 손바닥에 메틸렌블루를 피하 주사하는 사진이다.
- 도 3은 일 양상에 의한 상지 림프부종 랫 모델 제조에 있어서, 염색을 통하여 림프절 및 림프관의 위치를 확인한 사진이다.
- 도 4는 일 양상에 의한 상지 림프부종 랫 모델 제조에 있어서, 랫의 앞다리의 피부를 절개하여 림프관을 노출시킨 사진이다.
- 도 5는 일 양상에 의한 상지 림프부종 랫 모델 제조에 있어서, 상완 림프절(화살표)과 주변 림프조직의 모습 및 절제한 상완 림프절의 모습을 나타내는 사진이다.
- 도 6은 일 양상에 의한 상지 림프부종 랫 모델 제조에 있어서, 액와부 림프절(화살표)과 주변 림프조직의 모습

및 절제한 액와부 림프절의 모습을 나타내는 사진이다.

도 7은 일 양상에 의한 상지 림프부종 랫 모델 제조에 있어서, 표피 림프 경로의 생성을 차단하기 위하여 깎수차 및 폴딩수차를 수행하는 방법 및 수행한 후의 모습을 나타내는 사진이다.

도 8은 일 양상에 의하여 제조된 상지 림프부종 랫 모델과 정상 대조군의 상지 부위를 육안으로 비교한 사진이다.

도 9는 일 양상에 의하여 제조된 상지 림프부종 랫 모델과 정상 대조군의 상지 부피를 16주 동안 측정하여 비교한 결과이다.

도 10은 일 양상에 의하여 제조된 상지 림프부종 랫 모델(왼쪽)과 정상 대조군(오른쪽)의 상지 부피를 측정하기 위하여 촬영한 micro CT 사진이다.

도 11은 일 양상에 의하여 제조된 상지 림프부종 랫 모델과 정상 대조군의 림프 배액 패턴을 확인하기 위하여 ICG 림프조영술로 촬영한 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0039] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 보다 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

[0040] 실시예 1. 상지 림프부종 동물 모델 제조

[0041] 흡입용 전신 마취제인 아이소 플루레인(Isoflurane) 1~4%를 사용하여 Sprague Dawley Rat을 호흡 마취한 후, Zoletil™(50mg/kg)과 Xylazine(Rompun; 5~10mg/kg)를 혼합하여 복강내 주사(intraperitoneal injection, IP)하고, 0.05% 클로르헥시딘(chlorhexidine)을 이용하여 시술 부위인 겨드랑이와 앞다리를 멸균하였다(도 1).

[0042] 림프관 및 림프절의 위치를 확인하기 위하여, 0.1 ml 해밀턴 주사기로 염색약인 0.1% 메틸렌블루(또는 에반스 블루) 용액을 랫의 오른쪽 손바닥에 피하 주사하였다(도 2). 푸른색으로 염색되는 것을 통하여 한쪽 상지의 상완(brachial) 및 액와부(axillary)의 림프관과 림프절 위치를 확인하였다(도 3). 그리고 나서, 앞다리의 진피층과 피하층을 근막층 이전까지 절개하여 림프관 노출시켰다(도 4). 염색된 상완 림프절(brachial lymph node) 및 액와부 림프절(axillary lymph node)를 확인한 후 림프절을 중심으로 0.5 mm 떨어진 림프관 근위부와 원위부를 각각 묶은 후, 열소작기를 사용하여 상완 림프절(도 5)과 액와부 림프절(도 6)을 절제하였다.

[0043] 다음으로, 림프부종을 발생시킬 상지 피부를 절개하여 원위부(몸통 쪽으로)로 연결되는 모든 표피 림프 경로 생성을 차단하고 경로 재생이 불가능하도록 단절을 고정시키는 봉합(깎수차, 폴딩수차)을 수행하였다. 구체적으로, 절개된 피부 양 끝을 소작하여 피부의 재연결을 차단하고, 소작한 피부 양 끝을 약 2 ~ 3 mm의 간격을 두고 봉합술을 통해 근육에 고정하는 깎수차(gap suture)와 절개된 피부 양 끝을 접어서 피부의 재연결을 차단하고, 피부가 접힌 상태로 봉합술을 통해 고정하는 폴딩수차(folding suture)를 수행하였다(도 7).

[0044] 수술 후 1주일 이내에 Digital R/F X-ray system을 사용하여 20 gy의 방사선 수술 부위에 선택적으로 조사하였다. 이는, 암 환자의 방사선 치료와 유사한 방법으로 조직의 섬유화를 유도하기 위한 것으로, 이를 통하여 심층 림프 경로 생성을 차단하였다.

[0045] 실시예 2. 유도된 림프부종의 특성 확인

[0046] 대조군으로 건강한 rat 8마리와 실험군으로 실시예 1에서 제조한 상지 림프부종 rat 모델 8마리를 선별하여, 육안적인 림프부종 발생 여부를 평가하고 촉진(palpation)을 통하여 림프부종에 의한 피부 변화를 확인하였다.

[0047] 육안적인 평가를 통하여 상지 부위에 림프액이 저류되어 부종이 발생한 것을 확인하였으며, 촉진을 통하여 피부 탄력도가 떨어짐을 확인하였다(도 8). 또한, 실험군 중에서 몇몇 개체는 시간이 지남에 따라 림프부종의 대표적인 증상 중 하나인 붓와직염(피부 염증)이 발생하는 것을 확인하였다.

[0048] 또한, 대조군 8마리와 실험군 8마리를 각각 16주 동안 매주 micro CT 촬영을 시행하여 시간 변화에 따른 양쪽 팔의 부피 변화를 측정하였다. micro CT를 통하여 상지의 직접적인 부피 변화를 확인한 결과, 대조군 대비 실험군의 상지에서 25% 부피가 증가하여 부종이 생긴 것을 확인할 수 있었고(도 10), 16주간 안정적으로 부종이 유지되는 것을 확인하였다(도 9).

[0049] 추가로, 인도시아닌그린(ICG) 형광 림프조영술을 사용하여 매주마다 대조군 8마리와 실험군 8마리 각각의 림프

배액을 확인하였다. 구체적으로, ICG 시약(0.03 mL)를 양쪽 앞다리 손바닥에 피하 주입한 후, 양쪽 림프액의 배액 양상을 측정하였다.

[0050]

그 결과, 대조군은 일반적인 선형 형태의 림프 분포 패턴을 보이며 제거되지 않은 림프절로 정상적으로 림프 배액이 이루어지는 것을 확인하였다. 반면에, 실험군인 상지 림프부종 rat 모델은 림프액이 림프 경로를 차단시킨 영역을 따라 저류되어 퍼져있으며, 시간이 지남에 따라 대표적인 림프부종 환자의 ICG 림프조영술 분포 패턴인 splash, stardust 또는 diffuse의 패턴을 나타내는 것을 확인하였다(도 11).

도면

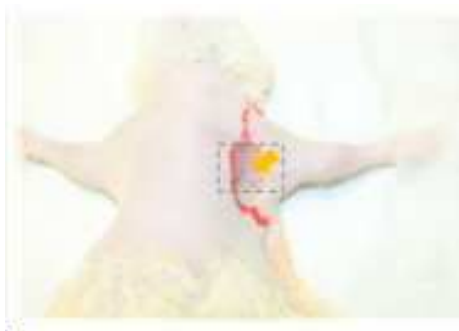
도면1



도면2



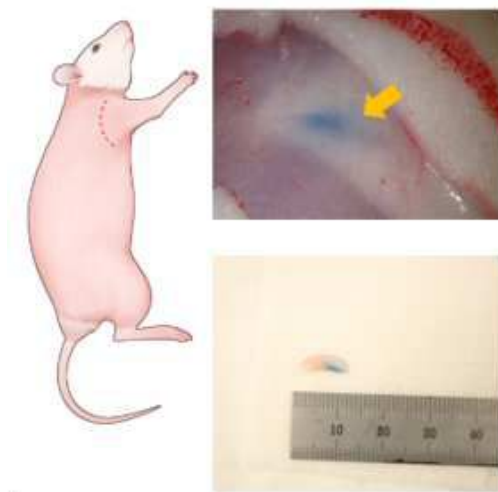
도면3



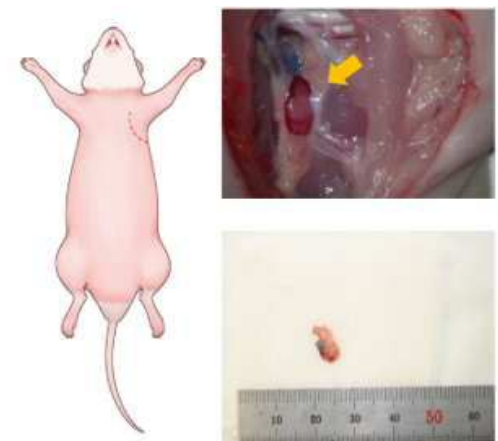
도면4



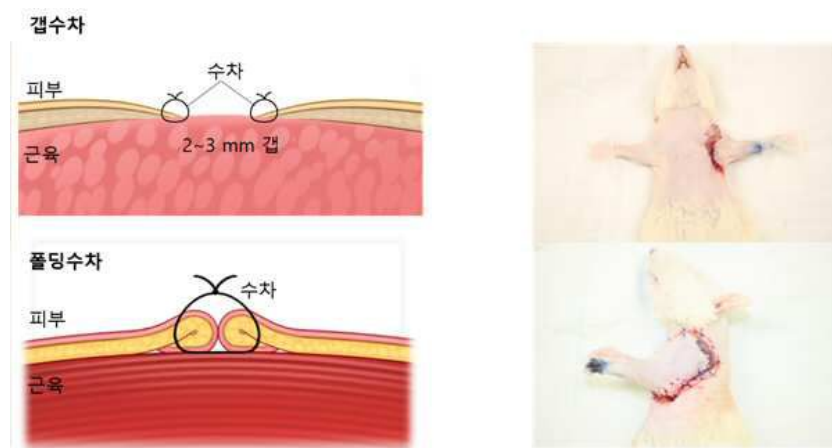
도면5



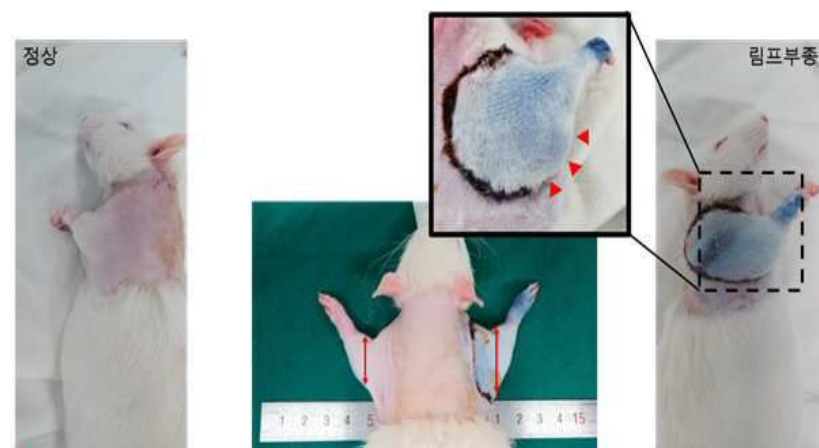
도면6



도면7



도면8



도면9



도면10



도면11

