(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0111098
(43) 공개일자 2011년10월10일

(51) Int. Cl.
A61B 5/20 (2006.01) *A61B 5/0476* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-0030496
(22) 출원일자 2010년04월02일
심사청구일자 없음

(71) 출원인
한림대학교 산학협력단
강원 춘천시 한림대학길 39 한림대학교
(72) 발명자
신형철
강원도 춘천시 후평동 극동아파트 103동 102호
이현주
서울특별시 송파구 송파동 131-17
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 천지

전체 청구항 수 : 총 5 항

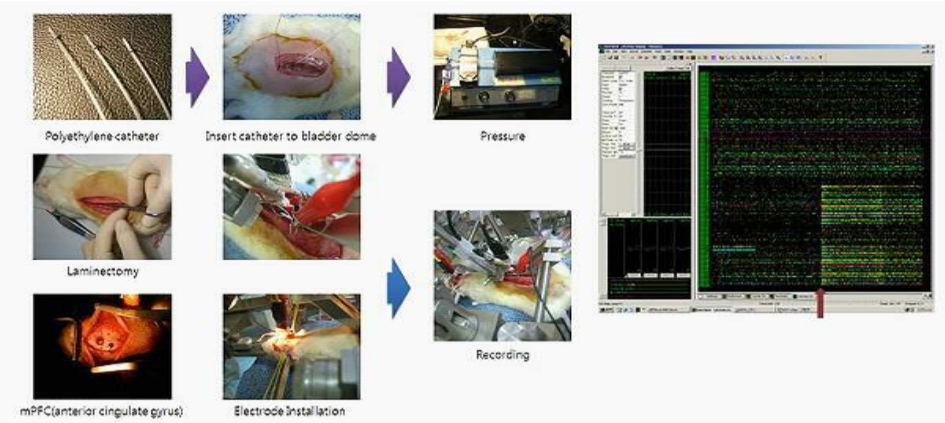
(54) 배뇨 조절 신경 신호 측정방법

(57) 요 약

본 발명은 방광을 자극하며 척수에 위치한 배뇨 조절 신경부위 및 대뇌피질에 위치한 배뇨 조절 신경부위에서 동시에 신경 신호를 측정하는 단계를 포함하는 배뇨 조절 신경 신호 측정방법, 구체적으로, 방광에 방광 자극기를 삽입하는 단계; 척수에 전극을 삽입하는 단계; 대뇌피질에 전극을 삽입하는 단계; 및 상기 방광 자극기를 이용하여 방광을 자극하면서, 상기 척수에 삽입된 전극 및 상기 대뇌피질에 삽입된 전극을 통하여 배뇨 조절 신경 신호를 측정하는 단계를 포함하는 배뇨 조절 신경 신호 측정방법에 관한 것이다.

상기 배뇨 조절 신경 신호 측정방법에 의하면 정상 동물에서 방광을 자극하고, 배뇨중추인 척수 및 대뇌피질 모두에서 배뇨 조절 신경 신호를 측정함으로써, 보다 상세하고 구체적인 배뇨 조절 신호를 측정하여, 향후 다양한 원인에 의한 배뇨 장애를 치료하기 위한 기본 자료를 제공할 수 있다.

대 표 도 - 도17



(72) 발명자

임창균

울산광역시 남구 무거동 옥현주공2단지아파트 206동 803호

고진수

강원도 춘천시 퇴계동 퇴계뜨란채아파트 1005동 1202호

함형걸

강원도 홍천군 동면 덕치리 1반 399번지

원무호

강원도 춘천시 신북읍 용산리 147-2

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10033634-2009-11

부처명 지식경제부

연구관리전문기관

연구사업명 산업원천기술사업

연구과제명 자기제어형 신경조절 기술개발

기여율

주관기관 한림대학교 산학협력단

연구기간 2009년 06월 01일 ~ 2010년 05월 31일

특허청구의 범위

청구항 1

방광을 자극하며 척수에 위치한 배뇨 조절 신경부위 및 대뇌피질에 위치한 배뇨 조절 신경부위에서 동시에 신경 신호를 측정하는 단계

를 포함하는 배뇨 조절 신경 신호 측정방법.

청구항 2

방광에 방광 자극기를 삽입하는 단계;

척수에 전극을 삽입하는 단계;

대뇌피질에 전극을 삽입하는 단계; 및

상기 방광 자극기를 이용하여 방광을 자극하면서, 상기 척수에 삽입된 전극 및 상기 대뇌피질에 삽입된 전극을 통하여 배뇨 조절 신경 신호를 측정하는 단계

를 포함하는 배뇨 조절 신경 신호 측정방법.

청구항 3

실험동물의 방광에 방광 자극기를 삽입하는 단계;

상기 실험동물의 척수에 전극을 삽입하는 단계; 및

상기 실험동물의 대뇌피질에 전극을 삽입하는 단계

를 포함하는 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델 제조방법

청구항 4

상기 방광 자극기는 배뇨관 또는 풍선 자극기이고, 상기 실험동물의 척수는 실험동물의 6번 요추 및 1번 천수 사이의 척수 분절이며, 상기 대뇌피질은 전전두엽인 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델 제조방법.

청구항 5

제4항의 방법에 의해 제조된 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 배뇨 조절 신경 신호 측정 방법, 상기 방법에 의해 이용되는 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델 제조방법 및 상기 제조방법에 의해 제조된 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 21세기 급속한 경제발전과 과학기술의 발달로 인한 생명공학기술과 보건의료기술의 발달은 평균수명의 연장이라는 결과를 불러왔고, 이는 인구의 고령화 현상을 낳았다. 빠른 노령화 속도는 대표적인 노인성 질환인 파킨슨병, 치매, 중풍 등의 퇴행성 질환의 증가를 유발하였고 이로 말미암아 배뇨 장애 등의 삶의 질과 연관된 질환에 대한 관심이 급속히 증가되었다.

[0003] 구체적으로, 뇌졸중과 뇌종양 등으로 유발되는 양측 대뇌전엽의 손상과 상부 척수의 수막종 그리고 다발성 경화증 등의 질환으로 배뇨반사 억제충동이 천골배뇨중추에 전달되지 못하게 되고 반사적으로 방광이 수축하여 무의식적인 배뇨를 하는 요실금, 빈뇨, 요의절박 증상이 나타나게 된다.

[0004] 상기와 같은 다양한 원인에 의한 배뇨장애는 사회적으로 많은 불편함을 발생시키고 있다. 가장 일반적인 예로 요실금을 들 수 있는데, 이는 자신의 의지와는 상관없이 불수의적으로 요(urine) 누출이 나타나는 현상이다.

[0005] 현재, 선진국의 경우 경제적 발달과 더불어 확대된 첨단의료서비스와 양질의 삶에 대한 기대 등으로 인해 상기 배뇨 장애의 발병기전에 대한 연구 및 이를 이용한 정확한 진단 및 새로운 치료법의 개발에 대한 요구가 더욱 강조되고 있는 실정이다.

[0006] 일 예로, 2,000만 명의 미국인이 방광조절 장애를 가지고 있으며 그 대부분은 여성으로 30세 내지 59세에 걸리는 것으로 보고되고 있다. 또한, 미국에서 약 170만 명이 요폐에 걸려 있고, 미국에서는 절박성요실금 및 요의 촉박빈뇨증후군 등 2가지 질환에 약 1,700만 명이 걸려 있다.

[0007] 또한, 국내 연구결과에 의하면, 05년 4월부터 6월까지 표본추출을 통해 선택된 전국 1만3345가구에서 19세 이상의 1만 3484명의 여성을 상대로 요실금 실태조사를 실시한 결과, 총 응답자 중24.3%에 해당하는 여성이 설문 전 30일 안에 요실금을 경험했다고 답했고, 나이가 많을수록 유병률이 증가했으며, 복압성 요실금이 약 48.8% 및 혼합성 요실금이 약 41.6%로 대부분을 차지하는 것으로 조사되었다.

[0008] 또한, 요실금으로 인해 현재 패드를 사용하는 사람은 8.3% 정도이고, 의사와 요실금에 대해 상담을 한 경험이 있는 경우도 약 12.6%에 해당하는 것으로 확인되었다. 특히, 요실금이 있는 여성(37.7%)이 요실금이 없는 여성(19.1%)보다 우울증세를 더 많이 경험한 것으로 조사되었다.

[0009] 또한, 2007년 발표된 자료에 의하면 국내에서 2006년 한해 동안 과민성방광으로 인한 진료비용만 216억원, 약제비용 297억원, 간접비용 383억원을 포함하여 총 896억원이 사회적 비용으로 소모되고 있다. 또한, 복압성 요실금으로 인한 사회적 비용은 진료비용이 입원·외래 비용으로 약 1,014억원, 생산성 손실비용이 약 80억원, 교통비용이 16억원이 소요되어, 총 1,110억원의 사회적 비용이 소요되고 있다. 따라서, 2006년 한 해에만 요실금으로 인한 총 사회적 비용이 약 2,000억원에 달하는 것으로 밝혀졌다.

[0010] 상기와 같이 과민성 방광 및 요실금으로 인한 사회적 비용의 손실 및 배뇨 장애를 가지 환자들의 어려움을 고려하면, 배뇨 장애를 치료하기 위한 치료제 또는 치료기기의 개발은 시급한 과제이다.

[0011] 이와 관련하여, 기존 배뇨 장애를 해결하기 위한 방법으로 요도나 질에 특수 테입을 삽입시켜 근육과 인대의 긴장도를 테입이 보완해주는 Transvaginal tape insertion(TVT) 수술이 제안되었다. 상기 TVT 수술은 85% 내지 90%의 높은 수술 성공률을 보이고 있으나, 유도침이 후치골을 통과함에 따라 방광이나 장, 요도, 혈관, 신경손상을 가져 올 수 있는 문제점이 있으며, 이러한 문제점으로 인해 합병증이 유발될 수 있다.

[0012] 상기 합병증을 피하기 위한 시술로 폐쇄공(obturator foramen)으로 테이프를 통과시키는 수술법이 제안되었으나, 이 또한 상기 TVT 수술과 마찬가지로 수술 후 여전히 요절박, 절박요실금, 급성요폐 등의 배뇨장애 등의 합병증이 나타나는 것으로 보고되고 있다.

[0013] 특히, 연령이 높거나 복합성요실금이나 골반수술의 과거력 동반이 있는 환자의 경우에는 TVT 수술의 수술 성공률 상대적으로 낮은 것으로 보고 되고 있다.

[0014] 따라서, 상기 종래 제안된 치료법의 문제점을 해결하기 위하여, 신경조절을 통해 배뇨장애를 해결하는 기술의 개발이 요구되고 있다. 이러한 신경조절을 통해 배뇨장애를 해결하는 기술은 요폐나 배뇨기능 장애의 합병증 발병 가능성이 현저하게 감소될 것으로 기대되고 있으며, 상기 수술성공률이 상대적으로 낮은 환자군에도 치료가 효과적일 것으로 예상되고 있다.

[0015] 이러한 신경조절을 통한 치료법을 개발하기 위해서는 배뇨중추로부터 신경신호가 어떤 경로를 통해 진행되고, 어떠한 신경신호가 배뇨를 조절하는지에 대한 연구가 선행되어야 하며, 이를 위한 실험동물 모델이 제공되어야 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 상기 종래기술의 문제점을 해결하기, 본 발명은 배뇨 조절 신경 신호 측정 방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0017] 보다 구체적으로, 본 발명은 동물의 배뇨 관련 중추에서 배뇨 조절을 위한 신경 신호를 측정함으로써, 배뇨 조절 관련 신경 신호를 확인하기 위한 배뇨 조절 신경 신호 측정 방법에 관한 것이다.

[0018] 또한, 인간의 배뇨 관련된 메커니즘을 의태할 수 있는 동물에 대하여 배뇨 조절, 구체적으로 방광을 자극하는 경우, 어떤 종류의 배뇨 관련된 신경 신호가 발생되고, 방광 자극의 종류 또는 세기에 따라 배뇨 관련된 신경

신호가 어떤 식으로 변화하는지를 측정할 수 있는 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델을 제조하는 방법 및 상기 제조방법에 의해 제조된 동물 모델을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0019] 상기 종래기술의 문제점을 해결하기, 본 발명은 배뇨 조절 신경 신호 측정 방법을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 동물의 배뇨 관련 중추에서 배뇨 조절을 위한 신경 신호를 측정함으로써, 배뇨 조절 관련 신경 신호를 확인하기 위한 배뇨 조절 신경 신호 측정 방법에 관한 것이다.

[0020] 또한, 본 발명은 상기 목적을 위하여, 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델을 제조하는 방법을 제공한다.

[0021] 인간의 배뇨 관련된 메커니즘을 의태할 수 있는 동물에 대하여 배뇨 조절, 구체적으로 방광을 자극하는 경우, 어떤 종류의 배뇨 관련된 신경 신호가 발생되고, 방광 자극의 종류 또는 세기에 따라 배뇨 관련된 신경 신호가 어떤 식으로 변화하는지를 측정할 수 있는 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0022] 또한, 본 발명은 상기 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델 제조방법에 의해 제조된 동물 모델을 제공한다.

[0023] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0024] 본 발명자들은 기존 배뇨 조절 신호의 측정이 방광 또는 배뇨와 관련된 배뇨 중추 중에서 척수와 관련된 배뇨 중추에서만 수행되는 경우에는 배뇨 조절 관련된 메커니즘을 확인하는 것이 제한될 수 있음을 확인하고, 방광 자극에 의한 배뇨 조절 관련 신경 신호를 보다 효율적으로 측정하고 분석하기 위하여 연구하던 중, 배뇨 조절 신경 신호를 두 종류의 배뇨 중추에서 측정, 즉 다채널 신경신호 측정을 통하여 기존의 문제점을 해결할 수 있음을 확인하였다. 또한, 다채널 신경신호 측정과 관련하여, 신경신호 측정 관련된 잡음을 제거하여, 자극기의 자극패턴을 확인할 수 있는 신호가 분리될 수 있는 조건을 확인하여 실험 모델을 정립하였으며, 이를 통하여 본 발명을 완성하였다.

[0025] 상기 실험 모델의 정립이란 획득된 신경신호에 측정 잡음이 과도하게 들어간 부분을 제거하고, 잡음에 노출된 해당 데이터를 분리 가공함으로써 자극기의 자극패턴을 창출하는 것을 의미한다.

[0026] 본 발명은 배뇨 조절 신경 신호 측정 방법에 관한 것이다.

[0027] 본 명세서에 있어서, 실험동물이란 말초 동맥 질환 증상을 갖지 않은 동물을 의미한다. 상기 실험동물은 특별히 한정되는 것은 아니고, 인간을 제외한 어떠한 동물도 가능하며, 바람직하게는 포유동물일 수 있으며, 일 예로 설치류 동물일 수 있고, 보다 구체적으로 쥐(rat), 마우스, 모르모트, 햄스터, 토끼, 고양이, 개 등일 수 있다.

[0028] 본 명세서에 있어서, 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델이란 방광 자극에 의한 배뇨 조절 신경 신호를 다채널 신경신호 측정방법으로 측정할 수 있는 동물 모델을 의미한다.

[0029] 본 명세서에 있어서, 자극기란 방광을 자극할 수 있는 장치를 의미하고, 방광 자극기라고도 하며, 일 예로 도뇨관 또는 풍선 자극기일 수 있다.

[0030] 상기 도뇨관(Catheter)은 카테터 또는 카테테르라고도 하며, 체내, 구체적으로 체강(늑막강, 복막강), 관상, 낭상기관(소화관, 방광 등)에 삽입하여 소변 등의 내용액을 배출시키기 위해 주로 사용되는 고무 또는 금속제의 가는 관 즉, 도관을 의미한다. 상기 도뇨관은 상기 체내에 약제나 세정액 등을 주입하기 위해 사용되기도 한다. 상기 도뇨관의 모양이나 굵기는 쓰이는 부위나 상기 도뇨관은 튜브형 카테터 또는 요도를 통해 삽입하기 위해 사용되는 도뇨관 등의 목적에 따라서 다양하다.

[0031] 상기 풍선 자극기란 주사기를 이용하여 공기를 주입할 수 있는 도관 및 풍선으로 구성된 방광 팽창을 일으켜 배뇨 신호를 유발할 수 있는 장치를 의미한다.

[0032] 본 명세서에 있어서, 배뇨장애란 정상적인 배뇨형태를 벗어난 일체의 배뇨행위를 의미한다. 일반적으로 신장에서 만들어진 소변은 일단 방광에 모이며, 방광이 가득 차게 되면 몸 밖으로 배출하게 된다. 이와 같이 소변을 방광에 모이게 하거나 몸 밖으로 배출하게 되는 것에 어떤 장애가 생기면 소변의 횟수가 많아지고, 소변이 새며 잘 나오지 않거나 전혀 나오지 않는 등의 다양한 증상이 나타나게 되는데, 이러한 일체의 행위, 현상 또는 증상을 배뇨장애라 한다.

[0033] 상기 배뇨장애가 발생되면, 배뇨를 조절할 수 없어, 장시간이 요구되는 활동을 포함한 일상생활에서 필요한 행

위를 수행할 수 없으므로, 사회적 삶이 매우 어려워진다. 상기 배뇨장애의 일 예로 요실금이 있다.

[0034] 상기 요실금은 직접적으로 생명을 위협하는 질병은 아니지만, 최근 평균 수명이 연장됨에 따라 노령층이 증가하면서 요실금의 유병률이 급증하여 그 중요성이 부각되고 있다. 국제요실금학회(ICS; International Continence Society)의 정의에 의하면 요실금은 절박성 요실금(Urge incontinence), 복압성 요실금(Stress incontinence), 무의식 요실금(Unconscious incontinence), 지속성 요실금(Continuous leakage), 야간뇨(Nocturnal enuresis), 배뇨후 점적(Post-void dribble)으로 구분될 수 있다.

[0035] 본 발명은 방광을 자극하며 척수에 위치한 배뇨 조절 신경부위 및 대뇌피질에 위치한 배뇨 조절 신경부위에서 동시에 신경 신호를 측정하는 단계를 포함하는 배뇨 조절 신경 신호 측정방법에 관한 것이다.

[0036] 보다 구체적으로 본 발명은, 방광에 방광 자극기를 삽입하는 단계; 척수에 전극을 삽입하는 단계; 대뇌피질에 전극을 삽입하는 단계; 및 상기 방광 자극기를 이용하여 방광을 자극하면서, 상기 척수에 삽입된 전극 및 상기 대뇌피질에 삽입된 전극을 통하여 배뇨 조절 신경 신호를 측정하는 단계를 포함하는 배뇨 조절 신경 신호 측정방법일 수 있다.

[0037] 상기 방광 자극기는 풍선 자극기 또는 도뇨관일 수 있고, 상기 풍선 자극기의 경우 외과 절개 수술을 통하여 삽입되어야 하나, 상기 도뇨관의 경우 외과 절개 수술 없이도 뇨관 등을 통하여 삽입이 가능하다.

[0038] 상기 척수에 전극을 삽입하는 단계는 측정 대상 동물의 6번 요추와 3번 천수 사이 또는 6번 요추와 1번 천수 사이의 척수 분절에 삽입하는 것일 수 있다.

[0039] 상기 대뇌피질에 전극을 삽입하는 단계는 전전두엽, 구체적으로 전전두엽의 띠이랑일 수 있다.

[0040] 상기 방광 자극기를 이용하여 방광을 자극하는 과정은 상기 방광 자극기가 풍선 자극기인 경우 풍선에 연결된 도관의 다른 일측에 결합된 주사기를 통하여 공기를 주입하는 방식 또는 공기를 배출하는 방식으로 수행할 수 있고, 상기 방광 자극기가 도뇨관인 경우에는 상기 도뇨관을 통하여 식염수를 주입하거나 배출시키는 방법으로 수행할 수 있다.

[0041] 또한, 본 발명은 상기 제조방법에 의해 제조된, 배뇨 조절 신경 신호 측정 동물 모델일 수 있다.

[0042] 상기 동물 모델은 방광에 방광 자극기가 삽입 또는 연결되어 있고, 상기 척수, 구체적으로 실험동물의 6번 요추 및 1번 천수 사이의 척수 분절 및 대뇌피질의 전전두엽에 전극이 삽입되어 있는 동물 모델일 수 있다.

발명의 효과

[0043] 이상 살펴본 바와 같이, 본 발명을 통한 배뇨 조절 신경 신호 측정방법에 의하면 정상 동물에서 방광을 자극하고, 배뇨중추인 척수 및 대뇌피질 모두에서 배뇨 조절 신경 신호를 측정함으로써, 보다 상세하고 구체적인 배뇨 조절 신호를 측정하여, 향후 다양한 원인에 의한 배뇨 장애를 치료하기 위한 기본 자료를 제공할 수 있다.

[0044] 또한, 상기 배뇨 조절 신경 신호 측정 방법의 수행에 적합한 본 발명의 동물 모델을 이용하는 경우 상기와 같이 다채널 신경신호의 측정이 가능하고, 이의 분석도 가능하므로 본 발명의 제조방법에 의해 제조된 실험동물 모델은 배뇨 관련 신경 신호 및 배뇨조절에 관한 메커니즘, 배뇨 장애의 치료제 또는 치료방법의 연구 등과 관련하여 다양한 산업에 응용될 수 있으므로, 그 산업적 효과가 매우 크다 할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 새로운 배뇨 장애의 치료를 위한 자기 제어형 신경조절 기술 시스템에 대한 간략도이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 쥐(rat)의 척수 신경절 분포를 나타낸 사진이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 토끼의 척수 신경절 분포를 나타낸 사진이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 방광자극을 위해 토끼의 복강을 절개한 후 풍선 카테터를 주입한 것을 촬영한 사진이다.

도 5는 본 발명의 일 실시예에 따른 방광자극을 위해 사용한 복강 내 삽입용 도뇨관을 촬영한 사진이다.

도 6은 본 발명의 일 실시예에 따른 방광자극에 따른 방광의 압력 변화 등을 측정하기 위해 사용한 외부요도 삽입용 도뇨관을 촬영한 사진이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 쥐(rat)를 이용한 방광자극 시술과정 및 척수 내 신경신호 기록 과정을 촬영한 사진이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 토끼를 이용한 방광자극 시술과정 및 척수 내 신경신호 기록 과정을 촬영한 사진이다.

도 9는 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물의 척수에 삽입된 기록전극의 위치를 확인한 척수 절편 염색 사진이다.

도 10은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물의 척수에 삽입된 기록전극을 통하여 확인한 자극의 세기에 따른 신경세포 발화율을 나타낸 사진이다.

도 11은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물의 척수에 삽입된 기록전극을 통하여 10초간 방광을 자극하고 50초간 정상상태를 유지하는 방식으로 방광을 자극한 방광자극에 따른 신경신호의 변화를 나타낸 사진이다.

도 12는 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물의 척수에 삽입된 기록전극을 통하여 10초간 방광을 자극하고 50초간 정상상태를 유지하는 방식으로 방광을 자극한 방광자극에 따른 신경신호의 발화율의 변화를 분석한 그래프이다.

도 13은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물의 척수에 삽입된 기록전극을 통하여 1분간 방광을 자극하고 1분간 정상상태를 유지하는 방식으로 방광을 자극한 방광자극에 따른 신경신호의 변화를 나타낸 사진이다.

도 14는 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물의 척수에 삽입된 기록전극을 통하여 1분간 방광을 자극하고 1분간 정상상태를 유지하는 방식으로 방광을 자극한 방광자극에 따른 신경신호의 발화율의 변화를 분석한 그래프이다.

도 15는 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물의 대뇌피질(전전두엽)에 삽입된 기록전극을 통하여 배뇨 조절 관련 대뇌피질에서의 신경신호를 기록한 과정을 나타낸 사진이다.

도 16은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물에 대한 방광 내 식염수를 주입하여 배뇨가 발생되는 상황 유지, 정상상태유지 및 배뇨직전 상황 유지시점에서 다양한 방광의 자극방법에 따른 배뇨 상태에서의 뇌 신경세포 활동성을 측정한 그래프로, 도 16a는 방광 상기 각 상황에서 각 신경세포 별 활성도를 비교한 그래프(히스토그램)이고, 도 16b는 상기 각 상황에 따른 신경세포 별 평균 활성도를 비교한 그래프이며, 도 16c는 상기 실험 진행을 간단히 나타낸 모식도이다.

도 17은 본 발명의 일 실시예에 따른 실험동물(rat)의 척수와 대뇌피질(전전두엽)에서 배뇨자극 시 신경세포활동성의 변화를 동시에 측정하는 과정을 나타낸 사진으로, 상기 도 17의 좌측은 방광 내 도뇨관을 삽입하여, 방광에 자극을 주고, 척수 및 대뇌피질에서 신경신호를 측정하는 과정을 나타낸 사진이고, 도 17의 우측은 총 32채널(channael)에서 측정한 결과를 1ch 내지 16ch(mPFC) 및 17ch 내지 32ch(spinal cord)로 구분하여 나타낸 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046] 이하, 본 발명의 바람직한 실시예를 기재한다. 하기의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0047] **실시예 1: 실험동물 및 사육방법**

[0048] 실험에 사용된 실험동물은 생후 15 내지 20주령된 성숙한 암컷 토끼(체중 2.0 내지 2.5 kg, New Zealand White rabbits) 및 300~350g의 Sprague Dawley 쥐(rat)를 사용하였으며, 동물실험 수험과정은 한림대학교 실험동물센터법령에 명시되어 있는 동물관리보호법을 준수하였다.

[0049] 상기 실험동물 각각 40 마리를 오전 7시부터 오후 7시까지 빛을 가하는 일정한 명암주기 조건, 21℃ 내지 25℃의 온도 조건 및 45% 내지 65%의 상대습도 조건에서 사육하였다. 실험동물의 사료는 일반적인 펠렛 건조 사료(대한실험동물, 대한민국)를 사용하였고, 사료와 물은 상시로 섭취할 수 있게 하였다.

[0050] **실시예 2: 동물 모델의 제작**

[0051] 상기 실시예 1에서 사육한 실험동물인 토끼와 쥐를 마취시켜 방광에 도뇨관을 삽입하였다. 보다 구체적으로, Zoletil 50®(20mg/kg, IM)과 근육이완제(xylanzine, 10mg/kg, IM)를 혼합하여 상기 실험동물을 마취시킨 후, 상기 마취된 실험동물에서 방광의 팽창 정도를 기록하기 위해 배근을 절개하여 방광을 노출시켰다. 상기 노출된 방광에 자극기 및 외부 도뇨관를 삽입하고 동여맨 후, 배근과 피부를 봉합하였다. 상기 자극기는 풍선 자극기(Ballon catheter) 및 도뇨관(Catheter)를 삽입하였다. 상기 자극기의 삽입과정은 구체적으로 하기와 같다.

[0052] 상기 풍선 자극기는 정확도가 다소 떨어진다는 단점은 있으나, 방광 내 압력의 자유로운 조절이 용이하여 주로 인위적인 방광자극(풍선의 팽창과 이완)에 따른 척수 내 신경절의 위치를 확인하여 신경신호측정을 측정하는 실험 등과 같은 초기 실험에 주로 사용하였고, 삽입된 도뇨관을 이용한 자극의 경우, 식염수에 의한 방광의 손상이라는 문제점은 있으나 방광 내 정확한 압력의 측정이 가능하고 배뇨 상황을 확인할 수 있어 추가 실험에 주로 사용하였다. 상기 도뇨관을 통한 자극은 도뇨관을 통해 식염수를 삽입(팽창) 또는 배출(이완)하는 방식으로 수행하였다.

[0053] 상기 풍선 자극기의 삽입은 도 4에 나타낸 바와 같이, 상기 마취된 실험동물의 배근을 절개하여 방광을 노출시킨 후, 노출된 방광의 천장(bladder dome)에 상기 풍선 자극기를 삽입하고 방광에 동여매었다. 상기 풍선 자극기를 삽입한 후, 배근과 피부를 잘 봉합하였다.

[0054] 상기 도뇨관의 삽입은 상기 마취된 실험동물의 배근을 절개하여 방광을 노출 시킨 후, 노출된 방광의 복강에 도뇨관을 삽입하는 방법으로 수행하였다. 상기 도뇨관을 삽입한 후, 배근과 피부를 잘 봉합하였다. 복강 내 삽입된 도뇨관은 도 5와 같고, 외부요도 삽입용 도뇨관은 도 6과 같다.

[0055] 상기 자극기가 삽입된 실험동물은 수술이 끝남과 동시에 뒤로 돌려 등 부분을 전체적으로 제모하고 상처소독제(povidone iodine)로 소독한 후, 척추후궁절제술(laminectomy)을 진행하였다. 상기 척추후궁절제술은 다음과 같은 방법으로 수행하였다.

[0056] 먼저, 흉추(Thoracic vertebrae) 중, 12번째 흉추(T12)에서 요추(lumbar vertebrae) 중 4번 요추(L4)를 둘러싸고 있는 근육 조직(muscle tissue)을 척추 관절(vertebral joint)이 명백히 보일 때까지 제거한 후, 미세전극 고정을 위해 13번 흉추(T13)와 3번 요추(L3)의 척추 배근 돌기(vertebral dorsal spinal process)에 약 1mm 지름의 구멍을 뚫고 6번 요추(L6)와 1번 천수(S1) 사이의 척수 분절(spinal segments)이 노출되도록 뼈 절단 가위(bone scissors)를 이용하여 2번 요추(L2) 및 1번 요추(L1) 사이의 척추골에 대해 척추후궁절제술을 진행하였다.

[0057] 이 때, 기록을 하기 위해 경막(dura mater)을 중앙혈관(central vessel)으로부터 좌우 방향으로 1mm간격까지 제거하고, 돌기 클램프(process clamp)를 이전에 뚫었던 구멍에 고정을 시켰다. 척추후궁절제술이 끝난 모델은 척추고정기(spinal adapter)를 통해 정위고정기(stereotaxic)에 고정시킨 후, 척수(spinal cord)가 손상되지 않게 미네랄오일을 적당량 도포해줌으로써 척수가 마르거나 기록되는 신호가 간섭되지 않도록 한다.

[0058] 상기 미세전극은 8-32채널(8-32 channel array)로 배열된 전극(75㎛/coated diameter 100㎛-Teflon insulated tungsten wire; A-M Systems, Inc. Cat No. 795500)을 사용하며, 전극간의 간격은 100㎛로 일정하게 떨어지게 설치하여, 척수의 신경절의 위치에 따른 변화를 전극의 정확한 위치를 반영하여 확인하고자 하였다. 상기 미세전극은 하나의 스테인리스 접지선(stainless steel ground wire)를 가지고 있으며 이는 후부 요수(lumbar cord) 동축에 1mm 내지 2mm 깊이로 삽입되어진다. 기록용 미세전극은 정위방법 조정기(stereotaxic manipulator)에 고정된 미세전극을 척수 내로 진입시키면서 동시에 방광을 식염수 반복 주입으로 자극함으로써 척수의 회백질(grey mater)에 분포해 있는 운동영역과 감각영역의 단일 신경세포를 찾아, 신경신호를 확인하였다. 상기 신경세포를 확인하는 과정을 도 7 및 도 8에 나타내었다. 상기 도 7은 쥐로부터 제작된 동물 모델의 방광자극에 따른 신경신호를 기록하는 과정을 나타낸 사진이고, 상기 도 8은 토끼로부터 제작된 동물 모델의 방광자극에 따른 신경신호를 기록하는 과정을 나타낸 사진이다.

[0059] 상기 신경신호 확인과 관련된 실험을 수행한 후, 신경세포에 대한 항체를 이용하여 면역화학염색법을 통해 신경기록전극의 위치를 확인하였고, 그 결과를 도 9에 나타내었다. 상기 도 9의 좌측 사진은 감각영역에 대한 면역화학염색법을 수행한 사진이고, 도 9의 우측 사진은 운동영역에 대한 면역화학염색법을 수행한 사진이다.

[0060] 상기 실험동물을 이용하여, 각 자극 패턴에 따른 신경발화율의 변화는 다채널 신경신호 기록 및 수집장치(Plexon Multi-channel Acquisition Processor System, Plexon Inc., USA)를 활용하여 확인을 하였고, 그 결과

를 도 10에 나타내었다. 상기 도 10은 풍선 자극기를 이용하여 자극한 후, 신경기록을 측정한 것으로, 자극이 강하여짐에 따라 신경발화율이 증가하는 것이 확인된다. 상기 전극은 클램프와 함께 치과용 시멘트(dental cement)로 고정하였다.

[0061] 상기 기록된 자료는 Neuroexplorer(Plexon Inc,)로 불리는 software를 통해 분석하였고, 그 결과를 도 11 내지 도 14에 나타내었다. 상기 도 11 및 12는 10초간 방광의 자극 후, 50초간 정상상태를 유지시키는 방법을 5회 반복적으로 실시하였을 때 기록되는 신경세포의 변화(도 11) 및 자극의 크기에 따른 신경신호의 발화율 변화(도 12)를 나타낸 것이고, 상기 도 11 및 12는 1분간 방광의 자극 후, 1분간 정상상태를 유지시키는 방법을 5회 반복적으로 실시하였을 때 기록되는 신경세포의 변화(도 13) 및 자극의 크기에 따른 신경신호의 발화율 변화(도 14)를 나타낸 것이다.

[0062] 상기 도 11 내지 도 14에 나타낸 바와 같이, 1단계 자극(0.5ml, 10mmHg)에서 4단계 자극(2.0ml, 30mmHg)으로 진행 되어질수록 각 신경세포의 활성도가 증가됨이 확인되었다. 각 자극 시점에서의 신경세포의 활성도는 휴식기(정상)와 비교하여 확연히 증가함을 볼 수 있었다. 또한, 도 13 및 도 14에 나타낸 1분간 자극을 준 경우, 자극초기에서 자극평균 활성도 보다 높은 활성도를 보이는 것이 확인되었다. 상기 실험을 통해 배뇨관련 방광 자극의 기간과 세기에 따라 신경신호가 변화됨이 확인되었다.

[0063] 상기 실험결과를 바탕으로, 뇌에 위치한 배뇨 중추에서의 신경신호를 측정하였다. 상기 신경신호 측정은 다채널 신경신호 측정기(Neural signal Recorder)를 이용하여 배뇨 전, 배뇨 중 및 배뇨 후의 신경신호를 측정하는 방법으로 수행하였다. 상기 척수에서 신경신호를 기록한 것과 같이 방광자극 동물모델을 사용하여 측정하였고, 상기 쥐(rat)의 대뇌피질, 구체적으로 전전두엽(medial Prefontal cortex; mPFC, AP: 2.2mm, ML:0.5mm, DV:2.0)에 기록전극을 삽입하여 신경 신호 기록 측정을 수행하였고, 상기 전극의 위치 즉, 신경 신호를 기록한 위치가 정확한지와 관련하여, 신경신호 측정 실험을 종료한 후, 실험동물을 희생하고, 뇌를 적출하여 신경세포에 대한 항체를 이용한 면역화학적 염색을 통하여 확인 하였다. 상기 방광 자극기의 삽입은 상기 척수에서의 방법으로 수행하였고, 상기 전극의 삽입은 상기 척수에서의 방법을 응용하였으며, 보다 구체적으로 상기 실험동물에 방광 자극기를 삽입한 후, 해당 부위를 봉합하고, 머리 부위를 제모하였다. 상기 머리부위를 제모한 후, 메스를 이용해 두피를 절개하고, 드릴을 이용해 두개골을 절개한 후, 경막(dura matter)을 제거하였다. 상기 경막 제거 후, 전극을 삽입하고, 신호를 측정하였다.

[0064] 상기 실험동물에서 신호의 측정은 상기 실험동물의 방광에 일정한 속도로 식염수를 주입하여, 배뇨가 이루어 지는 상황(storage to out), 방광의 식염수를 배출시킨 뒤 정상상태(normal)를 유지하는 상황 및 식염수를 배뇨가 이루어지기 직전의 상태로 유지(full sotraging)하는 상황에서 전두엽에서의 신경세포 활동성을 확인하는 방법으로 수행하였고, 그 결과를 도 16에 나타내었다.

[0065] 상기 신경세포 활동성의 확인은 신경 신호를 측정하는 방법으로 수행하였다.

[0066] 보다 구체적으로, 각 자극 패턴에 따른 신경발화율의 변화는 다채널 신경신호 기록 및 수집장치(Plexon Multi-channel Acquisition Processor Sytem, Plexon Inc., USA)를 활용하였고, 세포 밖 활동 전위(extracellular action potential)의 파형(waveform)은 선택된 역치 값(threshold)에 의해 유발(trigger)되어 검출되었으며, 상기 검출된 자료, 구체적으로 상기 기록 및 수집장치를 통해 기록된 자료는 상기와 같이 Neuroexplorer(Plexon Inc,)로 불리는 software를 통해 분석하였다.

[0067] 상기 도 17에 나타낸 바와 같이, 전체적으로 방광압력이 증가하여 배뇨의 욕구가 생성되는 경우, 배뇨에 관련된 전두엽의 신경세포들도 반응됨이 확인되었다.

[0068] 상기한 결과를 바탕으로, 정상동물의 배뇨 조절 관련 신경신호를 척수와 대뇌피질에서의 동시에 측정할 수 있는 동물 모델을 제작하였다.

[0069] 상기 방법에 의해 방광 자극기를 설치하고, 상기 척수 및 대뇌피질의 확인된 위치에 대해 전극을 심은 후에, 방광에 자극을 주면서 척수 및 대뇌피질에 대해 동시에 신경자극을 측정하였다.

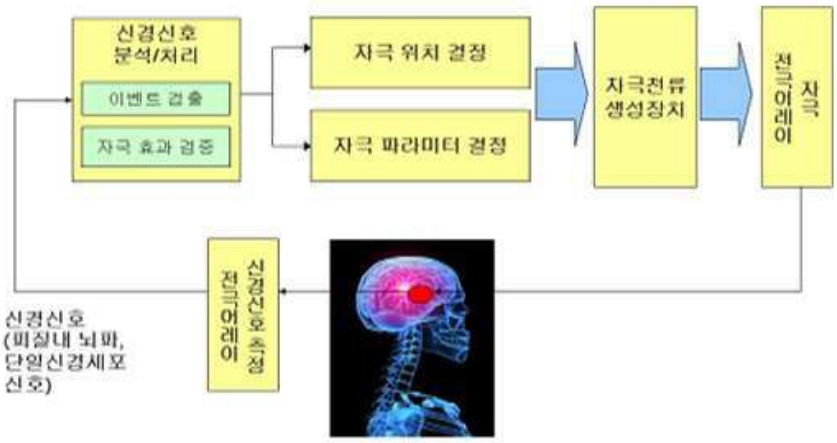
[0070] 상기 신경 신호는 실험동물(rat) 의 배뇨 조절 관련 척수 및 대뇌피질에서의 신경신호를 32채널에서 동시에 기록하는 방법으로 진행하였다. 구체적으로, 척수와 대뇌피질 전전두엽영역에서 각각 16개의 채널에서 64개의 신경세포를 기록하여, 총 32채널에서 128개의 신경세포를 기록하였다.

[0071] 상기 실험결과에 의하면, 방광 자극에 의한 척수에서의 신경신호기록과 전전두엽에서의 신경신호기록의 변화를 동시에 측정할 수 있어, 배뇨자극에 따른 신경망의 전달 과정을 좀 더 구체적이고 세밀하게 분석할 수 있는 것

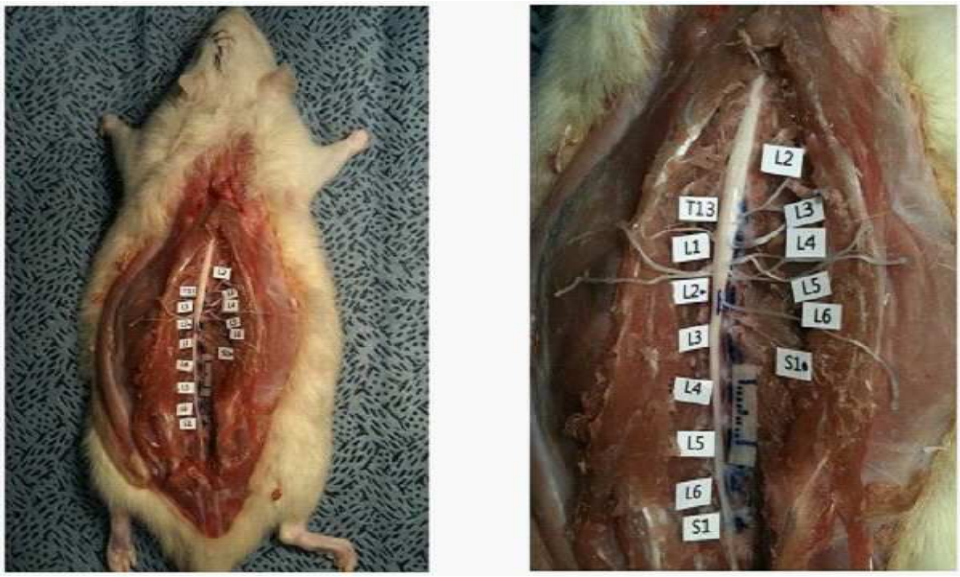
으로 평가되었다.

도면

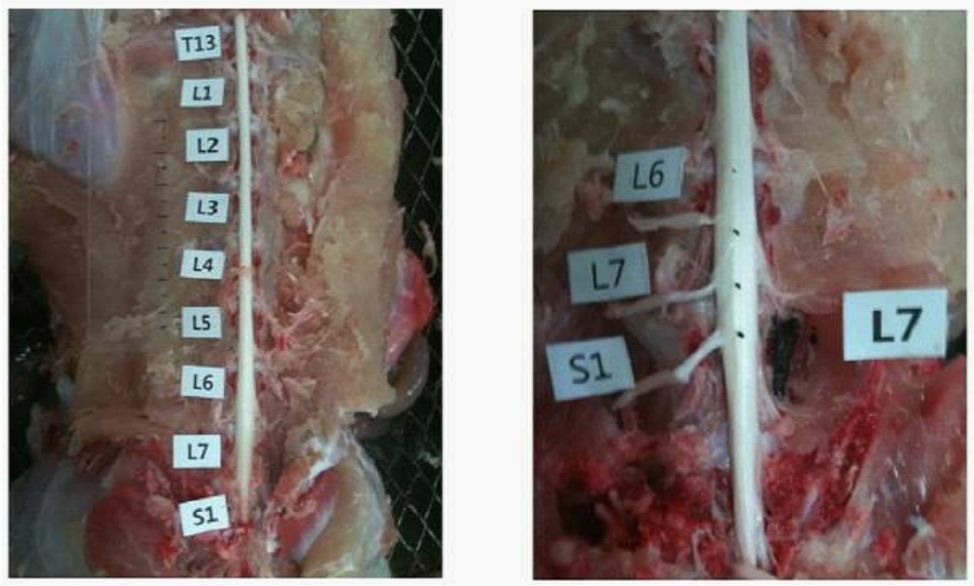
도면1



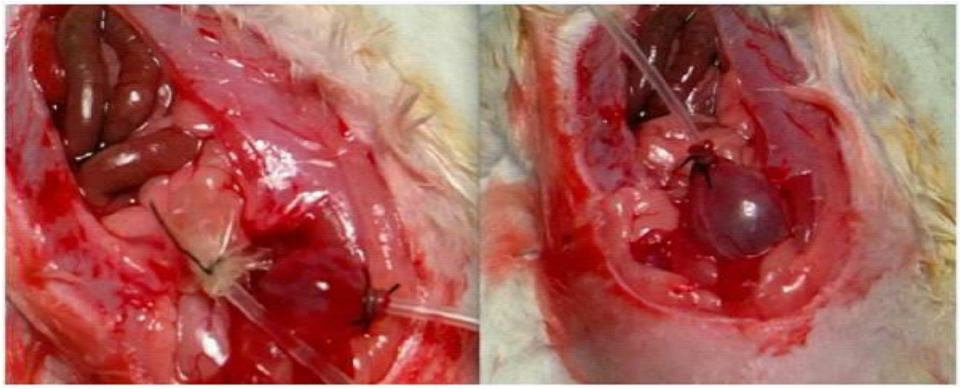
도면2



도면3



도면4



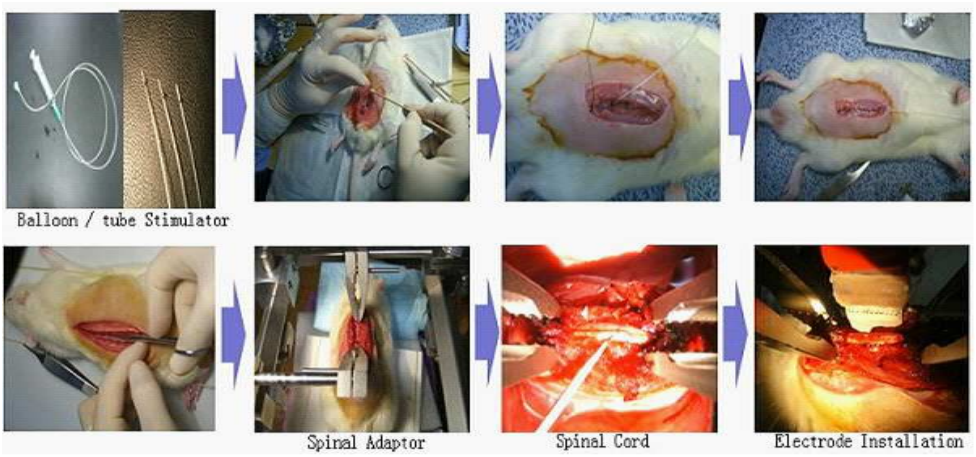
도면5



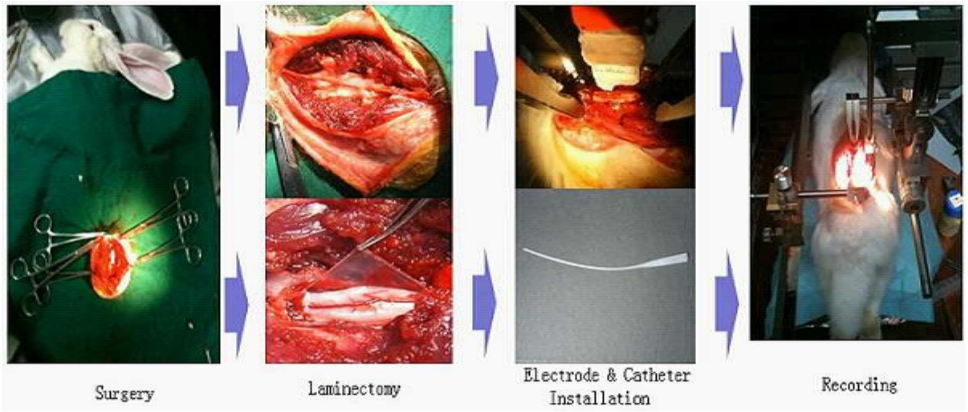
도면6



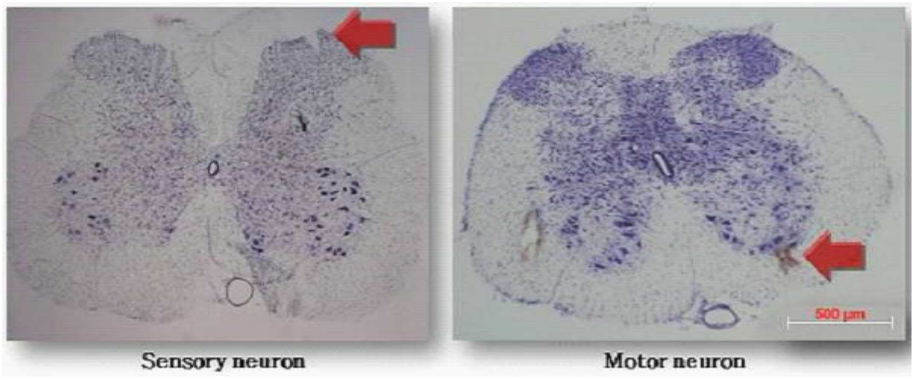
도면7


Balloon / tube Stimulator
Spinal Adaptor
Spinal Cord
Electrode Installation

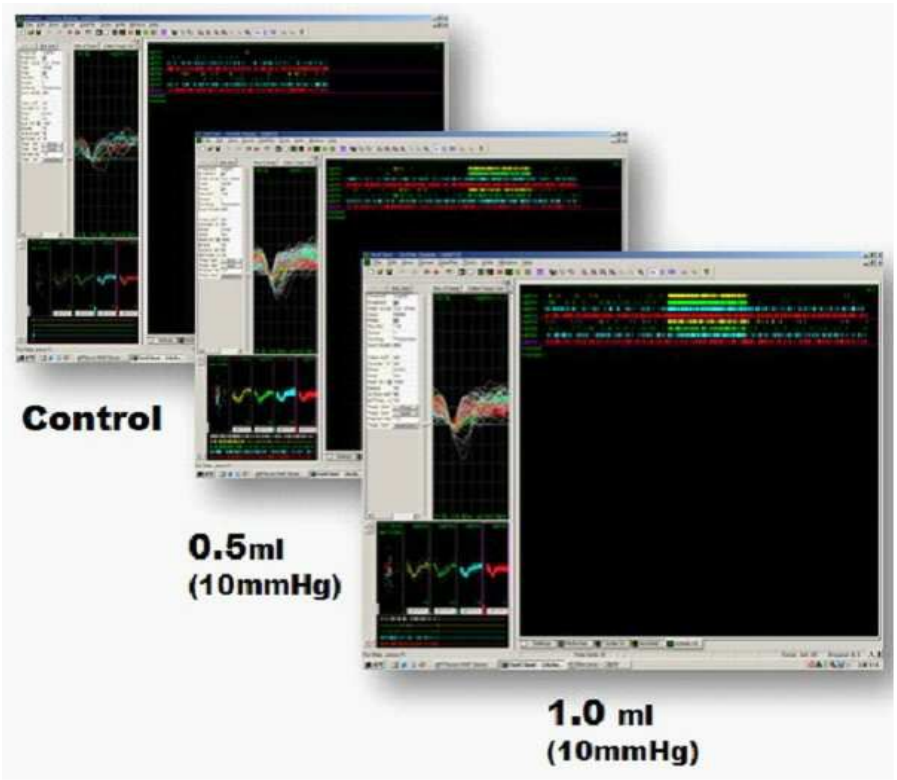
도면8


Surgery
Laminectomy
Electrode & Catheter Installation
Recording

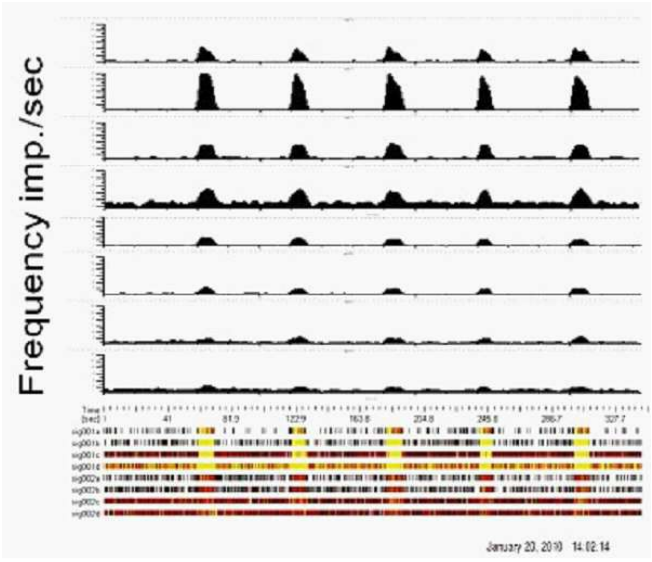
도면9


500 μm
Sensory neuron
Motor neuron

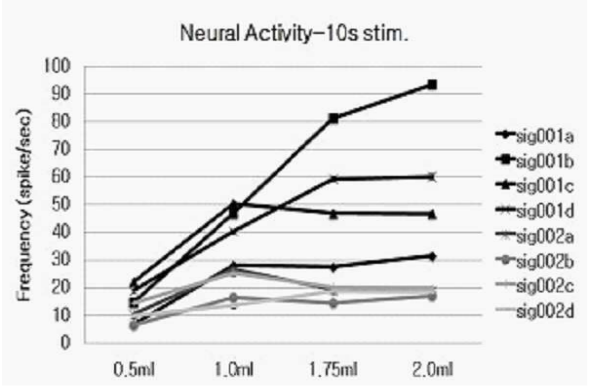
도면10


Control
0.5ml
(10mmHg)
1.0 ml
(10mmHg)

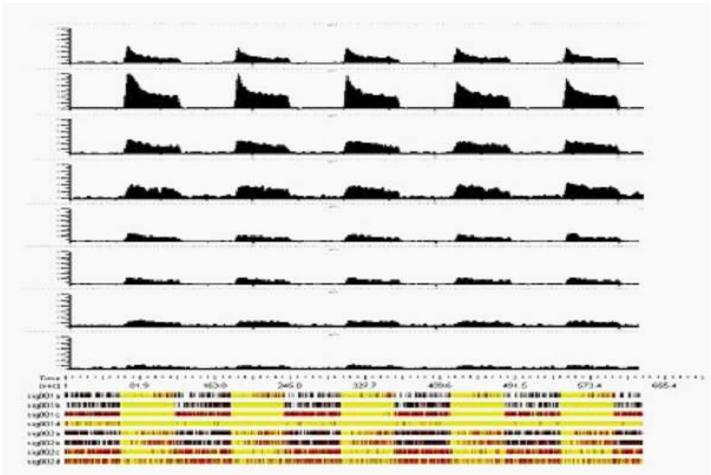
도면11



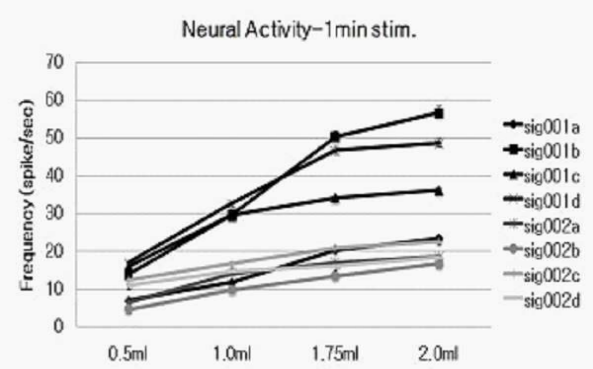
도면12



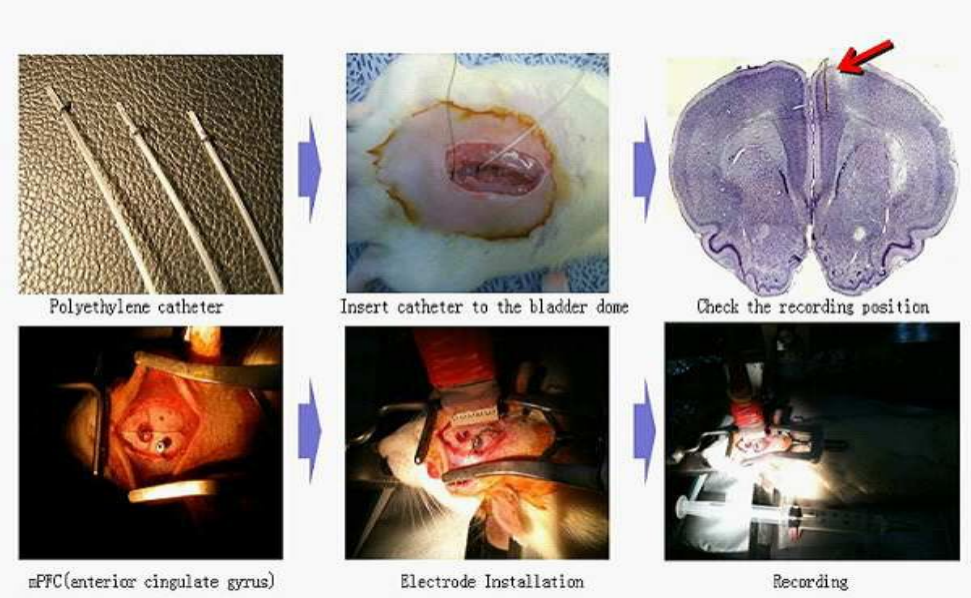
도면13



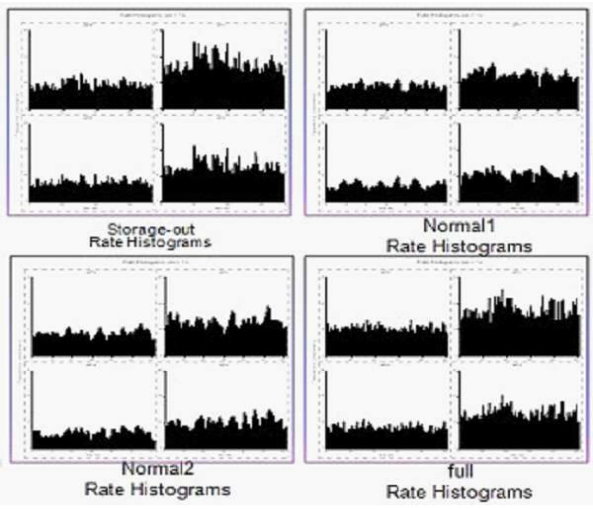
도면14



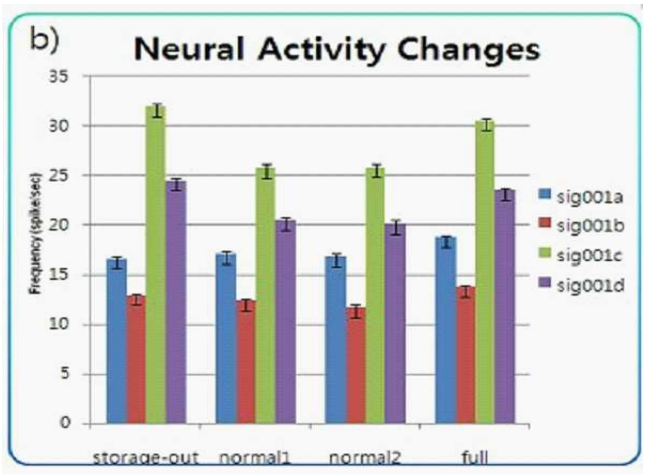
도면15



도면16a



도면16b



도면16c



도면17

