



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0098859
(43) 공개일자 2020년08월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A01K 67/027 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A01K 67/027 (2013.01)

A01K 2207/30 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-0016496

(22) 출원일자 2019년02월13일

심사청구일자 2019년02월13일

(71) 출원인

연세대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)

(72) 발명자

조성래

서울특별시 용산구 이촌로 347, 신동아아파트 11-103

신윤경

서울특별시 동작구 만양로 19, 703-1413

(74) 대리인

특허법인인벤싱크

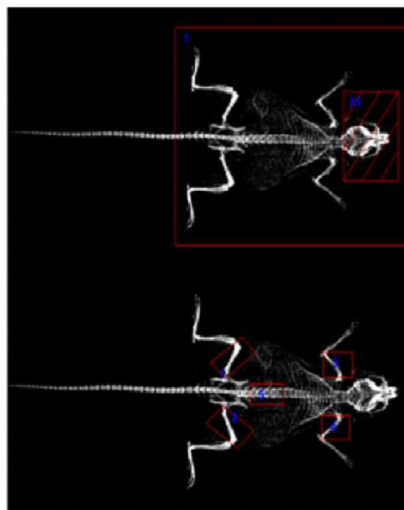
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 뇌 병변 장애를 갖는 골다공증 동물 및 이의 제작 방법

(57) 요약

본 명세서에서는, 인간을 제외한 동물에 대하여 뇌성마비, 뇌졸중 및 뇌 손상 중 적어도 하나의 뇌 병변 장애를 유도하는 단계, 동물에 대한 뇌 병변 장애의 중증도를 기초로 동물을 필터링하는 단계, 및 동물에 대한 체중을 기초로 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물을 결정하는 단계를 포함하고, 동물이 뇌 병변 장애가 발생하지 않은 정상의 동물에 대하여 80 내지 90 % 이하의 골 밀도를 갖는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법이 제공된다.

대표도 - 도2b



(52) CPC특허분류

A01K 2207/35 (2013.01)

A01K 2227/105 (2013.01)

A01K 2267/03 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2017R1D1A1B03028855

부처명 교육부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 이공분야기초연구사업

연구과제명 뇌성마비 골다공증에 대한 신규 치료약제 효능검증

기 여 율 1/1

주관기관 연세대학교 산학협력단

연구기간 2017.06.01 ~ 2020.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

인간을 제외한 동물에 대하여 뇌성마비, 뇌졸중 및 뇌 손상 중 적어도 하나의 뇌 병변 장애 (brain lesions) 를 유도하는 단계;

상기 동물에 대한 뇌 병변 장애의 중증도를 기초로, 상기 동물을 필터링하는 단계, 및

상기 동물에 대한 체중을 기초로, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물을 결정하는 단계를 포함하고,

상기 동물은, 상기 뇌 병변 장애가 발생하지 않은 정상의 동물에 대하여 80 내지 90 % 이하의 골 밀도를 갖는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 뇌 병변 장애를 유도하는 단계는,

상기 동물에 대하여 허혈성-저산소성의 뇌 손상을 유도하는 단계를 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 허혈성-저산소성의 뇌 손상을 유도하는 단계는,

상기 동물의 경동맥을 결찰하여 허혈성 뇌 손상을 유도하는 단계, 및

5 내지 10 % 산소 농도의 저산소 환경에서 저산소성의 뇌 손상을 유도하는 단계를 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 저산소성의 뇌 손상을 유도하는 단계는,

상기 저산소 환경에서 상기 동물을 60 내지 90 분 노출시키는 단계를 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 동물을 필터링하는 단계는,

상기 허혈성-저산소성의 뇌 손상이 유도된 상기 동물 중, 중증의 뇌 손상을 갖는 동물을 선별하는 단계를 포함하고,

상기 중증의 뇌 손상은, 뇌의 50 % 부분 이상이 손상된 것으로 정의되는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물을 결정하는 단계는,

상기 동물 중, 저체중의 동물을 상기 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물로 결정하는 단계를 포함하고,
상기 저체중은, 상기 정상의 동물의 체중의 평균에 대하여, 상기 정상의 동물의 체중의 표준편차를 감산한 값 미만으로 정의되는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 7

제1항에 있어서,
상기 뇌 병변 장애를 유도하는 단계는,
상기 동물에 대하여 상기 뇌성마비 또는 상기 뇌졸중을 유도하는 단계를 포함하고,
상기 동물을 필터링하는 단계는,
상기 뇌성마비 또는 상기 뇌졸중이 유도된 동물 중, 중증의 뇌성마비 또는 중증의 뇌졸중을 갖는 동물을 선별하는 단계를 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 8

제1항에 있어서,
상기 뇌 병변 장애를 유도하는 단계는,
주산기 마우스에 뇌 병변 장애를 유도하는 단계를 포함하고,
상기 주산기 마우스는,
생후 7 내지 10일차 마우스로 정의되는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 9

제1항에 있어서,
상기 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계 이후에,
상기 동물 중, 활동 과잉성 (Hyperactive behavior) 의 동물을 필터링하는 단계를 더 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 10

제1항에 있어서,
상기 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계는,
상기 동물을 모체로부터 이유 분리하는 단계;
이유 분리된 상기 동물을 성별별로 사육하는 단계, 및
성별별로 사육된 상기 동물의 체중을 기초로, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계를 더 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 11

제1항에 있어서,
상기 골다공증은,
상기 뇌 병변 장애에 의해 유도된 골 감소증을 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법.

청구항 12

뇌성마비, 뇌졸중 및 뇌 손상 중 적어도 하나의 뇌 병변 장애를 갖고,
상기 뇌 병변 장애에 의해 골 감소가 유도된 인간을 제외한 동물로서,
상기 동물은, 상기 뇌 병변 장애가 발생하지 않은 정상의 동물에 대하여 80 내지 90 % 이하의 골 밀도를 갖는,

뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물.

청구항 13

제12항에 있어서,
상기 동물은,
주산기에 상기 뇌 병변 장애가 발생된 마우스이고,
상기 주산기는,
생후 7 내지 10일차로 정의되는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물.

청구항 14

제12항에 있어서,
상기 동물의 체중은, 상기 정상의 동물의 체중의 평균에 대하여, 상기 정상의 동물의 체중의 표준편차를 감산한 값 미만인, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물.

청구항 15

제12항에 있어서,
상기 뇌 병변 장애는,
중증의 뇌 손상이고,
상기 중증의 뇌 손상은, 허혈성-저산소성 유도된, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물.

청구항 16

제12항에 있어서,
상기 골다공증은,
상기 뇌 병변 장애에 의해 유도되는 골 감소증을 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물.

청구항 17

제12항 내지 제16항 중 어느 한 항의 동물에 대하여 뇌 병변 장애에 따른 골다공증에 대한 치료용 후보 물질을 투여하는 단계; 및
상기 후보 물질을 투여한 상기 동물에 대한 골 밀도를 측정하는 단계를 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 치료용 조성물의 스크리닝 방법.

청구항 18

제17항에 있어서,
상기 측정하는 단계는,
대측성 악력 (contralateral grip strength) 측정 또는 마비 정도 측정의 행동 평가를 수행하는 단계를 더 포함하는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 치료용 조성물의 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 뇌 병변 장애를 갖는 골다공증 동물 및 이의 제작 방법에 관한 것으로, 보다 구체적으로는 뇌 병변 장애에 의해 골다공증이 발생된 인간을 제외한 동물 및 이의 제작 방법과, 상기 동물을 이용한 치료 약물의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 뇌 병변 장애는, 뇌의 기질적 병변으로 인한 뇌 기능의 손상과 관련되거나 그에 따라 야기되는 신체적 장애를 의미한다. 이러한 뇌 병변 장애는 뇌성마비, 외상성 뇌 손상, 뇌졸중과 같은 뇌 병변에 의한 발달 장애로 구분될 수 있다.
- [0003] 보다 구체적으로, 뇌성마비는 출산 전, 출산 시, 그리고 출산 직후 또는 24 개월 이전에 생기는 뇌의 비진행적인 병변으로 인하여 미성숙한 뇌가 정상적으로 발달하는 것이 방해되는 것이다. 뇌성마비로 인해 자세와 균형을 유지하는 능력이 저하되고 정상적인 움직임과 기술 수행이 어렵게 된다. 일반적으로 뇌성마비는 신경운동형 증상에 따라 경직형, 무정위운동형, 강직형, 진전형, 운동실조형, 이완형, 혼합형으로 분류하며 감각결핍, 언어 능력저하, 감각통합 능력의 결핍 등의 신경학적 비정상적인 증상을 동반한다.
- [0004] 외상성 뇌 손상은 외부의 힘에 의해서 두개골 내부에 손상이 일어나는 것으로 교통사고, 산업재해, 스포츠 손상 등 각종 사고로 인해 외상성 뇌 손상이 동반될 수 있다. 이때, 외상성 뇌 손상의 장애양상으로는, 의식 장애, 인지 장애, 감각 장애 및 운동 기능의 손상이 있을 수 있다.
- [0005] 뇌졸중은 뇌혈관이 막혀서 발생하는 뇌경색과 뇌혈관의 파열로 인해 뇌 조직 내부의 혈액 유출로 발생하는 뇌출혈을 통틀어 일컫는 뇌혈관 질환이다. 이때, 뇌졸중의 장애양상은 손상된 부위와 정도에 따라 다르나 일반적으로 인지 장애, 언어 장애, 시지각 장애 및 연하 장애와 함께, 감각 손상, 편마비, 운동 기능의 손상 등으로 나타난다.
- [0006] 한편, 이러한 뇌 병변 장애를 갖는 대부분의 환자들, 특히 뇌성마비, 소아 뇌졸중, 소아 뇌 손상의 환자들은, 운동 기능 손실에 따른 장시간의 신체활동의 부족에 의해 골 감소의 문제를 동반하는 것으로 나타난다.
- [0007] 뇌 병변 장애에 의한 골 감소는, 학술적으로 정확하게 규명되지 않았음에 따라, 이의 치료를 위한 적합한 치료 약에 대한 개발 또한 어려운 실정이다.
- [0008] 현재, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 치료를 위해, 다른 원인으로 인한 골다공증 치료 약제, 예를 들어 폐경기 골다공증 약제, 노인성 골다공증 치료 약제가 차선택으로 사용되고 있는 실정이다.
- [0009] 이에, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 치료하고 예방할 수 있는, 새로운 약학 조성물에 대한 연구 및 개발이 지속적으로 요구되고 있다.
- [0010] 발명의 배경이 되는 기술은 본 발명에 대한 이해를 보다 용이하게 하기 위해 작성되었다. 발명의 배경이 되는 기술에 기재된 사항들이 선행기술로 존재한다고 인정하는 것으로 이해되어서는 안 된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 뇌 병변 장애에 따른 골다공증에 대한 치료제의 개발에 있어서, 동물 모델은 치료 후보 물질에 대한 효과를 입증하는, 전 임상단계에서 매우 중요할 수 있다.
- [0012] 이에, 본 발명의 발명자들은 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델의 개발에 대한 중요성을 인지하여, 뇌 병변 장애를 갖고 이에 따라 골다공증이 발병한 인간 환자와 동일한 증상을 나타내는, 인간을 제외한 동물의 동물 모델을 제작하고자 하였다.
- [0013] 특히, 본 발명의 발명자들은, 종래의 뇌 손상을 유도하여 뇌성마비, 뇌졸중, 또는 뇌 손상의 동물 모델과 구별되는 임상적 증상을 갖고, 골다공증 동물 모델의 획득이 용이한 동물 모델의 제작 방법을 개발하고자 하였다.
- [0014] 한편, 본 발명의 발명자들은, 뇌 병변 장애가 일어날 경우, 운동 손상이 나타나고, 발달 장애의 주요 현상인 저체중 소견이 나타나, 결과적으로 골다공증 문제를 일으킬 수 있음을 인지할 수 있었다.
- [0015] 보다 구체적으로, 본 발명의 발명자들은, 뇌 손상과 같은 뇌 병변 장애가 저체중 및 체중 부하의 감소를 야기하고, 이와 함께 근력 저하가 동반되고, 결과적으로 골 감소로 이어질 수 있음을 인지할 수 있었다.
- [0016] 그 결과, 본 발명의 발명자들은, 골 감소, 나아가 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 발병에 영향을 미치는 복합적 요인으로서, 뇌 손상 정도, 체중, 체중 부하, 및 근력을 결정할 수 있었다.
- [0017] 특히, 본 발명의 발명자들은, 복합적 요인들 중 뇌 손상 정도, 및/또는 체중이 동물 모델 제작에 있어서 핵심적

인 요인임을 인지할 수 있었다.

- [0018] 관련하여, 본 발명의 발명자들은, 심각한 뇌 손상 같은 중증 (severe) 의 뇌 병변 장애가 발생된 동물에 대하여, 그렇지 않은 동물, 예를 들어 경증 (mild) 의 뇌 병변 장애가 발생한 동물보다 골 밀도가 낮은 것을 확인할 수 있었다.
- [0019] 또한, 본 발명의 발명자들은, 중증의 뇌 병변 장애가 발생한 동물 중, 저체중을 갖는 동물의 골 밀도가, 다른 동물 (정상 또는 경증의 뇌 병변 장애를 갖는 동물) 의 골 밀도에 비하여 큰 폭으로 감소한 것을 발견하였다.
- [0020] 즉, 본 발명의 발명자들은 중증의 뇌 병변 장애를 갖고, 저체중의 동물이, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델에 적합하다는 것을 인지할 수 있었다.
- [0021] 결과적으로, 본 발명의 발명자들은, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델을 확보하기에 유리한 뇌 병변 장애 유도 조건과 함께, 뇌 병변 장애를 갖고 이에 따라 골다공증이 발병한 인간 환자와 유사한 동물 모델을 선별할 수 있는 조건을 결정할 수 있었다.
- [0022] 이에, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는, 인간을 제외한 동물에 대하여 뇌 병변 장애를 유도하고, 뇌 병변 장애의 중증도 및 동물의 체중을 기초로 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물을 결정하도록 구성된, 뇌 병변 장애를 갖는 골다공증 동물의 제작 방법을 제공하는 것이다.
- [0023] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는, 뇌 병변 장애를 갖고, 뇌 병변 장애에 의해 골 감소가 유도된, 인간을 제외한 동물로서, 뇌 병변 장애가 발생하지 않은 정상의 동물에 대하여 80 내지 90 % 이하의 골 밀도를 갖는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 제공하는 것이다.
- [0024] 본 발명이 해결하고자 하는 또 다른 과제는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물에 대하여, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증에 대한 치료용 후보 물질을 투여하고, 후보 물질을 투여한 동물에 대한 골밀도를 측정하도록 구성된, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 치료용 조성물의 스크리닝 방법을 제공하는 것이다.
- [0025] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0026] 진술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법이 제공된다. 상기 제작 방법은, 인간을 제외한 동물에 대하여 뇌성마비, 뇌졸중 및 뇌 손상 중 적어도 하나의 뇌 병변 장애를 유도하는 단계, 동물에 대한 뇌 병변 장애의 중증도를 기초로, 동물을 필터링하는 단계, 및 동물에 대한 체중을 기초로, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물을 결정하는 단계를 포함한다.
- [0027] 이때, 동물은, 뇌 병변 장애가 발생하지 않은 정상의 동물에 대하여 80 내지 90 % 이하의 골 밀도를 갖는다.
- [0028] 본 명세서에서 사용되는 용어, "동물"은 질환 동물 모델을 의미한다. 구체적으로, 동물 모델은 인간의 질병과 유사한 상태의 질병에 걸리거나 선천적으로 그 질병에 걸리도록 만들어진 동물 모델일 수 있다. 본 명세서에서 동물 모델은, 뇌 병변 장애를 갖고 이에 따른 골다공증이 발병된 인간 환자에 대응하는 동물 모델일 수 있다.
- [0029] 또한, 본 발명의 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 모델로 이용될 수 있는 동물은 마우스, 원숭이, 개, 고양이, 토끼, 모르모트, 랫트, 소, 양, 돼지 또는 염소 등의 비인간 동물일 수 있다. 바람직하게 상기 동물은 마우스일 수 있고, 보다 바람직하게 상기 동물은 임신기에 뇌 병변 장애가 발생된 마우스일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0030] 이때, 본 명세서에서 사용되는 용어, "임신기의 마우스"는, 생후 7일 내지 10일차의 마우스를 의미할 수 있다. 바람직하게, 상기 임신기 마우스는, 생후 7일차 마우스일 수 있다.
- [0031] 예를 들어, 임신기에 뇌 병변 장애가 발생된 마우스는 뇌성마비 또는 소아 뇌졸중을 갖는 인간 환자에 대응하는 동물 모델로 이용될 수 있다.
- [0032] 본 발명의 동물은 뇌성마비, 뇌졸중 및 뇌 손상 중 적어도 하나의 뇌 병변 장애에 따른 골다공증, 나아가 골 감소증에 대한 치료제, 치료법 개발에 있어서, 뇌 손상에 의해 골 감소가 정상의 동물보다 80 내지 90 % 이하인

동물이 바람직할 수 있다.

- [0033] 본 명세서에서 사용되는 용어, "뇌 병변 장애"는 뇌의 기질적 병변으로 인한 뇌 기능의 손상과 관련되거나 그에 따라 야기되는 신체적 장애를 의미한다. 이러한 뇌 병변 장애는 뇌성마비, 외상성 뇌 손상, 뇌졸중과 같은 뇌 병변에 의한 발달 장애로 구분될 수 있다. 바람직하게, 본 명세서에 개시된 뇌 병변 장애는 뇌 손상일 수 있다. 보다 바람직하게, 상기 뇌 병변 장애는 중증의 뇌 손상일 수 있다. 그러나, 뇌 병변 장애는 뇌 병변에 의해 운동 장애를 일으키는 한, 다양한 뇌 질환을 포함할 수 있다.
- [0034] 본 명세서에서 사용되는 용어, "중증도"는 어떤 질환의 증세 및 뇌 병변의 정도에 대한 중증 또는 경증의 정도를 의미할 수 있다.
- [0035] 본 명세서에서 사용되는 용어, "골다공증"은 골다공증은 뼈의 강도가 약해져서 쉽게 골절되는 골격계 질환을 의미한다. 이때, 골다공증은, 폐경기 골다공증, 또는 노인성 골다공증과 상이한, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 의미할 수 있다. 바람직하게, 골다공증은 중증의 뇌 병변 장애에 의해 야기되는 골다공증일 수 있다.
- [0036] 예를 들어, 중증의 뇌 손상이 야기된 동물은, 경증의 뇌 손상이 야기된 동물 보다 낮은 골 밀도를 가질 수 있다. 즉, 중증의 뇌 손상이 야기된 동물은, 뇌 병변 장애를 갖고 이에 따라 골다공증이 발병한 인간 환자와 동일한 증상을 나타낼 수 있어, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델로서 적합할 수 있다.
- [0037] 이에, 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물은, 중증의 뇌 손상에 의해 낮은 골 밀도를 갖는 골다공증 동물일 수 있다.
- [0038] 한편, 본 명세서에 개시된 골다공증은, 뇌 병변 장애에 의해 유도된 골 감소증을 포함할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애를 유도하는 단계는, 동물에 대하여 허혈성-저산소성의 뇌 손상을 유도하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0040] 본 명세서에서 사용되는 용어, "허혈성-저산소성의 뇌 손상"은 혈류의 정지를 유도하는 허혈 및 저 농도의 산소 조건에 따른 뇌의 손상을 의미한다.
- [0041] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애를 유도하는 단계는, 상기 동물의 경동맥을 결찰하여 허혈성 뇌 손상을 유도하는 단계, 및 5 내지 10 % 산소 농도의 저산소 환경에서 저산소성의 뇌 손상을 유도하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0042] 한편, 저산소성의 뇌 손상을 유도하는 단계에서, 경동맥이 결찰된 동물은 5 내지 10 % 산소 농도의 저산소 환경에서 60 분 내지 90 분 동안 노출될 수 있다. 결과적으로, 허혈성-저산소성의 뇌 손상이 유도된 동물이 획득될 수 있다.
- [0043] 이때, 저산소성의 뇌 손상을 유도하는 단계에서, 경동맥의 결찰된 동물에 대하여, 5 내지 10 % 산소 농도에서 유도되는 저산소성의 뇌 손상은, 바람직하게 70 분 내지 90 분 동안 진행될 수 있다. 보다 바람직하게, 상기 저산소성의 뇌 손상은 80 분 내지 90 분 동안 진행될 수 있다.
- [0044] 예를 들어, 80 분 내지 90 분의 저산소 환경 유도가 진행된 동물은, 중증의 뇌 손상이 일어날 수 있다. 나아가, 80 분 내지 90 분의 저산소 환경 유도될 경우, 골 밀도가 정상의 동물에 비하여 낮은 개체를 확보하기 용이할 수 있다. 한편, 60 분 미만의 저산소 환경 유도가 진행된 동물은, 경증의 뇌 손상이 일어날 수 있다. 그러나, 60 분 미만의 저산소 환경이 유도될 경우, 골 밀도가 낮은 개체를 확보하기에 어려움이 있을 수 있다.
- [0045] 즉, 전술한 조건에서 허혈성-저산소성의 뇌 손상이 진행된 동물은, 뇌 병변 장애를 갖고 이에 따라 골다공증이 발병한 인간 환자에 대응하는 동물 모델로서 적합할 수 있다.
- [0046] 이에, 본 발명의 특징에 따르면, 동물을 필터링하는 단계는, 허혈성-저산소성의 뇌 손상이 유도된 상기 동물 중, 중증의 뇌 손상을 갖는 동물을 선별하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0047] 이때, 본 명세서에서 사용되는 용어, "중증의 뇌 손상"은, 정상의 대뇌반구에 비하여 50 % 이상의 영역이 손상된 상태를 의미할 수 있다.
- [0048] 한편, 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애를 유도하는 단계는, 동물에 대하여 뇌성마비 또는 뇌졸중을 유도하는 단계를 포함하고, 동물을 필터링하는 단계는, 뇌성마비 또는 뇌졸중이 유도된 동물 중, 중증의 뇌성마비 또는 중증의 뇌졸중을 갖는 동물을 선별하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0049] 즉, 본 발명의 동물 모델은 허혈성-저산소성의 뇌 손상의 뇌 병변 장애에 제한되지 않고, 보다 다양한 뇌 병변

장애가 유도될 수 있다.

- [0050] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애를 유도하는 단계는, 주산기 마우스에 뇌 병변 장애를 유도하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0051] 이때, 주산기 마우스는, 생후 7 내지 10일차 마우스로 정의될 수 있다. 전술한 바와 같이, 뇌성마비 또는 소아 뇌졸중을 갖는 인간 환자에 대응할 수 있다.
- [0052] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물을 결정하는 단계는, 뇌 병변 장애가 일어난 동물 중, 저체중의 동물을 상기 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물로 결정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0053] 이때, 저체중은, 상기 정상의 동물의 체중의 평균에 대하여, 상기 정상의 동물의 체중의 표준편차를 감산한 값 미만으로 정의될 수 있다.
- [0054] 예를 들어, 중증의 뇌 손상이 일어난 동물 중, 저체중의 동물은, 체중 부하가 감소되고, 근력 저하가 일어나, 골 밀도의 감소가 나타날 수 있다. 이때, 중증의 뇌 손상이 일어나고, 정상의 동물과 유사한 정상 체중 (예를 들어, 체중의 평균에 대하여, 상기 체중의 표준편차를 감산한 값 이상의 체중) 을 갖는 동물은 골 밀도의 수준이 상기 저체중의 동물보다 높을 수 있다.
- [0055] 이에, 뇌 손상이 일어난 동물 중 저체중의 동물이, 뇌 병변 장애를 갖고 뇌 병변 장애에 의해 골다공증이 발병한 인간 환자에 대응하는 동물 모델로서 선별될 수 있다.
- [0056] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계 이후에, 활동 과잉성 (Hyperactive behavior) 의 동물을 추가적으로 필터링하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0057] 이때, 본 명세서에서 사용되는 용어, "활동 과잉성"은, 정상의 동물에 비하여 과도한 행동을 보이는 양상을 의미할 수 있다. 예를 들어, 활동 과잉성 동물은, 반복적으로 원형으로 돌거나, 앉았다 일어났다를 반복적으로 행동하는 동물일 수 있다.
- [0058] 이때, 활동 과잉성의 동물은, 체중 부하가 높은 동물일 수 있어, 중증의 뇌 병변 장애와 함께 저 체중을 가지고 있을 지라도, 본 발명의 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물에서 제외될 수 있다.
- [0059] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계는, 동물을 모체로부터 이유 분리하는 단계, 이유 분리된 동물을 성별별로 사육하는 단계, 및 성별별로 사육된 동물의 체중을 기초로, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0060] 본 명세서에서 사용되는 용어, "이유 분리"는 모유를 떼기 위한 모체로부터의 분리를 의미할 수 있다.
- [0061] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 다른 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물이 제공된다. 상기 동물은, 뇌 병변 장애에 의해 골 감소가 유도된 인간을 제외한 동물로서, 뇌 병변 장애가 발생하지 않은 정상의 동물에 대하여 80 내지 90 % 이하의 골 밀도를 갖는다.
- [0062] 본 발명의 특징에 따르면, 동물은, 주산기에 상기 뇌 병변 장애가 발생된 마우스이고, 주산기는 생후 7 내지 10일차로 정의될 수 있다.
- [0063] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 동물의 체중은, 상기 정상의 동물의 체중의 평균에 대하여, 정상의 동물의 체중의 표준편차를 감산한 값 미만일 수 있다.
- [0064] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애는, 중증의 뇌 손상이고, 이때, 중증의 뇌 손상은, 허혈성-저산소성 뇌 손상으로 유도될 수 있다.
- [0065] 전술한 바와 같은 과제를 해결하기 위해, 본 발명의 또 다른 실시예에 따른 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 치료용 조성물의 스크리닝 방법이 제공된다.
- [0066] 본 명세서에서 사용되는 용어, "스크리닝"은 약물 스크리닝을 의미할 수 있으며, 골다공증의 증상, 바람직하게 뇌 병변 장애에 따른 골다공증에 대하여 개선 효과를 갖는 치료용 조성물의 후보 물질을 탐색하는 것 일 수 있지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0067] 나아가, 본 명세서에서 사용되는 용어, "후보 물질"은 골다공증의 증상, 바람직하게 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 증상에 대하여 개선 효과를 기대할 수 있는 모든 물질을 의미할 수 있고, 이의 형태, 종류가 제한된 것은

아니다. 예를 들어, 후보 물질은 골 감소를 억제하거나, 골 밀도의 수준을 높일 수 있는 화학 합성물, 제조합 단백질, 천연물 등이 될 수 있다.

[0068] 본 명세서에서 사용되는 용어, "치료"는 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 치료용 후보 물질을 본 발명의 일 실시예에 따른 동물에 투여했을 때, 상기 골다공증에 따른 증세가 호전되도록 하거나 이롭게 되도록 하는 모든 행위를 의미한다. 예를 들어, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증에 대한 치료 효과를 갖는 치료용 후보 물질을 본 발명의 일 실시예에 따른 동물에 투여했을 때, 동물은 투여 전보다 골 밀도가 증가된 양상을 보일 수 있다.

[0069] 또한, 치료용 후보 물질에 대한 골다공증의 개선 효과를 확인하기 위해, 골 밀도를 측정하거나, 대측성 악력 (contralateral grip strength)을 측정하거나, 마비 정도를 측정하는 등의 행동 평가가 수행될 수 있다.

[0070] 그러나, 치료용 후보 물질의 평가는, 전술한 것에 제한되지 않고, 치료용 후보 물질에 대한 효과를 확인할 수 있는 다양한 방법이 적용될 수 있다.

[0071] 발명의 특징에 따르면, 후보 물질의 투여는 복강내 투여, 비강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 경피 투여, 피하 투여, 흡입 투여, 경구 투여일 수 있다. 그러나, 이에 제한되지 않고 치료용 후보 물질이 목적하는 부위에 도달 할 수 있다면, 다양한 방법으로 투여될 수 있다.

[0072] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명한다. 다만, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것에 불과하므로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 한정되는 것으로 해석되어서는 아니된다.

발명의 효과

[0073] 본 발명은, 종래의 뇌 손상을 유도하여 뇌졸중, 뇌성마비, 또는 외상 뇌 손상의 동물 모델과 구별되는 임상적 증상, 예를 들어 골다공증을 갖고, 골다공증 동물 모델의 획득이 용이한 동물 모델의 제작 방법을 제공할 수 있는 효과가 있다.

[0074] 따라서, 본 발명은 학술적으로도 명확하게 규명되지 않은, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증에 대하여, 연구 및 치료약의 개발에 기여할 수 있는 동물 모델의 제작 방법 및 동물 모델을 제공할 수 있는 효과가 있다.

[0075] 보다 구체적으로, 본 발명은, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델을 확보하기에 유리한 뇌 병변 장애 유도 조건과 함께, 뇌 병변 장애를 갖고 이에 따라 골다공증이 발병한 인간 환자와 유사한 동물 모델을 선별할 수 있는 조건을 제공할 수 있는 효과가 있다.

[0076] 이에, 본 발명은 동물 모델 제작에 있어서 상기와 같은 조건을 제공함으로써, 재현성 높게 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 임상적 증상을 갖는 동물 모델을 제공할 수 있는 효과가 있다.

[0077] 나아가, 본 발명은, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델에 기초하여, 새로운 약물을 스크리닝할 수 있는 효과가 있다.

[0078] 본 발명은, 에 따른 효과는 이상에서 예시된 내용에 의해 제한되지 않으며, 더욱 다양한 효과들이 본 명세서 내에 포함되어 있다.

도면의 간단한 설명

[0079] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따른 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법을 나타내는 개략적인 순서도이다.

도 1b 내지 1e는 본 발명의 일 실시예에 따른 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법의 절차를 예시적으로 나타낸 개략도들이다.

도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 이용한 약물 스크리닝 방법을 나타내는 개략적인 순서도이다.

도 2b 내지 2e는, 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 이용한 약물 스크리닝 방법에서 후보 약물의 평가 방법을 나타낸 개략도들이다.

도 3a는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에 있어서, 중증 뇌손상 동물 유도율을 도시한 것이다.

도 3b는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에 있어서, 뇌 손상 정도에

따른 편측 운동손상 분석 결과를 도시한 것이다.

도 3c는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에 있어서, 뇌 손상 여부에 따른 골 밀도 분석 결과를 도시한 것이다.

도 3d는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에 있어서, 뇌 손상 정도 및 체중에 따른, 골 밀도 분석 결과를 도시한 것이다.

도 3e는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법에 있어서, 뇌 손상 동물 모델에 대한 골 감소에 영향을 주는 인자를 검증한 결과를 도시한 것이다.

도 3f는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에서, 동물 모델의 결정을 위한 선별 조건을 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0080] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나, 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.
- [0081] 이하에서는, 도 1a 내지 1e를 참조하여, 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법에 대하여 구체적으로 설명한다.
- [0082] 도 1a는 본 발명의 일 실시예에 따른 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법을 나타내는 개략적인 순서도이다.
- [0083] 도 1b 내지 1e는 본 발명의 일 실시예에 따른 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법의 절차를 예시적으로 나타낸 개략도들이다.
- [0084] 먼저, 도 1a를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델을 제작하는 방법은, 먼저 인간을 제외한 동물에 대하여 뇌 병변 장애를 유도하고 (S110), 중증도를 기초로 동물을 필터링하고 (S120), 동물의 체중을 기초로, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하도록 구성된다 (S130).
- [0085] 보다 구체적으로, 동물에 대하여 뇌 병변 장애를 유도하는 단계 (S110) 에서, 동물에 대한 뇌 손상이 유도될 수 있다.
- [0086] 본 발명의 특징에 따르면, 동물에 대하여 뇌 병변 장애를 유도하는 단계 (S110) 에서, 동물의 경동맥 결찰에 따라 허혈성 뇌 손상이 유도되고, 5 내지 10 % 산소 농도의 저산소 환경에 동물을 노출함에 따라 저산소성의 뇌 손상이 유도된다.
- [0087] 이때, 본 발명의 다른 특징에 따르면, 동물에 대하여 뇌 병변 장애를 유도하는 단계 (S110) 에서, 동물은 저산소 환경에서 60 내지 90 분 동안 노출될 수 있다.
- [0088] 예를 들어, 도 1b를 참조하면, 동물에 대하여 뇌 병변 장애를 유도하는 단계 (S110) 에서, 생후 7일차의 주산기 마우스는 경동맥이 결찰되어 허혈성 뇌 손상이 일어날 수 있다. 그 다음, 도 1c를 참조하면, 경동맥의 결찰에 의해 허혈성 뇌 손상이 일어난 마우스는 8 %의 저산소 환경에 노출되어 저산소성의 뇌 손상이 추가적으로 유도될 수 있다.
- [0089] 한편, 동물에 대하여 뇌 병변 장애를 유도하는 단계 (S110) 에서, 뇌 손상의 종류 및 순서는 이에 제한되는 것이 아니다.
- [0090] 본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 동물에 대하여 뇌 병변 장애를 유도하는 단계 (S110) 에서, 동물에 대하여 뇌성마비 또는 뇌졸중이 유도된다.
- [0091] 다음으로, 중증도를 기초로 동물을 필터링하는 단계 (S120) 에서, 동물에 대한 뇌 병변 장애의 중증도를 기초로, 중증의 뇌 병변 장애를 갖는 동물이 후보 동물로서 선택된다.
- [0092] 본 발명의 특징에 따르면, 중증도를 기초로 동물을 필터링하는 단계 (S120) 에서, 허혈성-저산소성의 뇌 손상이 유도된 상기 동물 중, 중증의 뇌 손상을 갖는 동물이 후보 동물로서 선별된다.

- [0093] 즉, 중증도를 기초로 동물을 필터링하는 단계 (S120) 에서, 경증의 뇌 손상이 일어난 동물은 제외될 수 있다.
- [0094] 예를 들어, 중증도를 기초로 동물을 필터링하는 단계 (S120) 에서, 허혈성-저산소성의 뇌 손상이 일어난 마우스에 대하여, 생후 2 주차에 뇌 손상 정도에 따라 경증의 뇌 손상을 갖는 마우스와 중증의 뇌 손상을 갖는 마우스가 분류될 수 있다. 그 다음, 중증의 뇌 손상을 갖는 마우스는, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 후보 동물로서 채택될 수 있다.
- [0095] 보다 구체적으로, 도 1d를 참조하면, 중증 (severe) 의 뇌 손상을 갖는 마우스는, 정상 (normal) 의 마우스에 비하여 50 % 이상의 뇌 부위가 손상된 마우스일 수 있다. 즉, 정상의 마우스에 비하여 50 % 미만의 뇌 부위가 손상된 경증 (mild) 의 뇌 손상 마우스는, 중증도를 기초로 동물을 필터링하는 단계 (S120) 에서 제외될 수 있다.
- [0096] 한편, 본 발명의 다른 특징에 따르면, 중증도를 기초로 동물을 필터링하는 단계 (S120) 에서, 반 투명 두개골에 대한 투사 정도에 따라, 뇌 병변 장애의 중증도가 판별된다.
- [0097] 보다 구체적으로, 도 1e를 참조하면, 경증의 뇌 병변 장애를 갖는 동물과 중증의 뇌 병변 장애를 갖는 동물이 두개골의 투사 정도에 따라 구별한 것을 뇌 자기공명영상으로 다시 한번 입증할 수 있다.
- [0098] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 중증도를 기초로 동물을 필터링하는 단계 (S120) 에서, 뇌성마비 또는 뇌졸중이 유도된 동물 중, 중증의 뇌성마비 또는 중증의 뇌졸중을 갖는 동물이 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 동물의 후보로서 채택된다.
- [0099] 마지막으로, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계 (S130) 에서, 중증의 뇌 병변 장애가 일어난 동물의 체중을 기초로 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물이 결정될 수 있다.
- [0100] 본 발명의 특징에 따르면, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계 (S130) 에서, 중증의 뇌 병변 장애가 일어난 동물 중, 저체중의 동물은 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물로 결정된다.
- [0101] 이때, 저체중은, 정상의 동물의 체중의 평균에 대하여, 정상의 동물의 체중의 표준편차를 감산한 값 미만의 값으로 정의될 수 있다.
- [0102] 예를 들어, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계 (S130) 에서, 중증 뇌 병변 장애를 갖는 마우스는 생후 6주차에 저체중이 관찰될 경우, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물로 선별될 수 있다. 나아가, 생후 8주차의 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 마우스는, 뇌 병변 장애에 따라 골다공증이 나타나는 성인기의 환자에 부합할 수 있어, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물로서 다양한 전임상 연구에 이용될 수 있다.
- [0103] 본 발명의 다른 특징에 따르면, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계 (S130) 에서, 뇌 손상이 일어난 동물이 모체로부터 이유 분리되고, 이유 분리된 동물이 성별별로 사육되고, 성별별로 사육된 동물의 체중을 기초로, 뇌 병변 장애를 갖는 골다공증 동물이 결정된다.
- [0104] 예를 들어, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계 (S130) 에서, 중증의 뇌 병변 장애를 갖는 마우스는 생후 3주차 말 내지 4주차에 모체로부터 이유 분리된 후 성별별로 추가 분류되어 사육될 수 있다. 그 다음, 성별별로 분류된 마우스의 체중에 기초하여 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물이 결정될 수 있다.
- [0105] 한편, 본 발명의 특징에 따르면, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 결정하는 단계 (S130) 이후에, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 중, 활동 과잉성의 동물이 필터링하는 과정이 더 수행될 수 있다.
- [0106] 이때, 활동 과잉성의 동물은, 체중 부하가 높은 동물일 수 있어, 중증의 뇌 병변 장애와 함께 저 체중을 가지고 있을 지라도, 본 발명의 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물에서 제외될 수 있다.
- [0107] 예를 들어, 필터링하는 단계에서, 반복적으로 원형으로 돌거나, 앉았다 일어났다를 반복적으로 행동하는 마우스는, 골다공증 동물에서 제외될 수 있다.
- [0108] 이상의 본 발명의 다양한 실시예에 따른, 제작 방법에 따라, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물 모델이 획득될 수 있다.
- [0109] 이하에서는, 도 2a 내지 2e를 참조하여, 본 발명의 다른 실시예에 따른 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 이용한 치료용 약물 스크리닝 방법에 대하여 구체적으로 설명한다.

- [0110] 도 2a는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 이용한 약물 스크리닝 방법을 나타내는 개략적인 순서도이다.
- [0111] 도 2b 내지 2e는, 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물을 이용한 약물 스크리닝 방법에서 후보 약물의 평가 방법을 나타낸 개략도들이다.
- [0112] 먼저, 도 2a를 참조하면, 본 발명의 다른 실시예에 따른, 치료용 약물 스크리닝 방법은, 먼저 전술한 도 1a의 방법에 따라 제작된 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물에, 치료용 후보 물질을 투여하고 (S210), 후보 물질을 투여한 동물에 대한 골 밀도를 측정하도록 구성된다 (S220).
- [0113] 보다 구체적으로, 치료용 후보 물질을 투여하는 단계 (S210) 에서, 동물에 대하여 골다공증의 증상, 바람직하게 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 증상에 대하여 개선 효과를 기대할 수 있는 치료용 후보 물질이 투여된다.
- [0114] 예를 들어, 치료용 후보 물질을 투여하는 단계 (S210) 에서, 치료용 후보 물질은, 상기 동물에 대하여 복강내 투여, 비강내 투여, 정맥내 투여, 근육내 투여, 경피 투여, 피하 투여, 흡입 투여, 경구 투여될 수 있다. 그러나, 이에 제한되지 않고, 치료용 후보 물질을 투여하는 단계 (S210) 에서, 치료용 후보 물질이 목적하는 부위에 도달 할 수 있다면, 다양한 방법으로 투여될 수 있다.
- [0115] 다음으로, 후보 물질을 투여한 동물에 대한 골 밀도를 측정하는 단계 (S220) 에서, 후보 물질 투여에 의해 변화된 동물의 양상이 평가될 수 있다.
- [0116] 예를 들어, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증에 대한 치료 효과를 갖는 치료용 후보 물질을 본 발명의 일 실시예에 따른 동물에 투여했을 때, 동물은 투여 전보다 골 밀도가 증가된 양상을 나타낼 수 있다.
- [0117] 본 발명의 특징에 따르면, 후보 물질을 투여한 동물에 대한 골 밀도를 측정하는 단계 (S220) 에서, 치료용 후보 물질에 대한 골다공증의 개선효과를 확인하기 위해, 대측성 약력이 측정되거나, 마비 정도가 측정되는 등의 행동 평가가 더욱 수행될 수 있다.
- [0118] 예를 들어, 도 2b 및 2c를 참조하면, 후보 물질을 투여한 동물에 대한 골 밀도를 측정하는 단계 (S220) 에서, 후보 물질이 투약된, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 마우스에 대한 골 밀도 측정 (도 2b 참조) 과 함께, 대측성 약력의 측정 (도 2c 참조) 등이 수행될 수 있다.
- [0119] 나아가, 도 2d를 참조하면, 뇌 손상 정도 (예를 들어, 피질 하부층 손상 (subcortical injury), 경증 손상 (mild injury) 또는 중증 손상 (severe injury)) 에 따라 안면 마비 수준이 달라짐에 따라, 후보 물질을 투여한 동물에 대한 골 밀도를 측정하는 단계 (S220) 에서, 후보 물질 투여 여부에 따른 마비의 정도가 평가될 수 있다.
- [0120] 도 2e의 (a) 및 (b)를 더욱 참조하면, 후보 물질을 투여한 동물에 대한 골 밀도를 측정하는 단계 (S220) 에서, 후보 물질이 투약된, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 마우스에 대하여, 오픈 필드 평가 (open-field test) 및 실린더 평가 (cylinder test) 등의 행동 평가가 더욱 수행될 수 있다.
- [0121] 치료용 후보 물질의 평가는, 전술한 것에 제한되지 않고, 치료용 후보 물질에 대한 효과를 확인할 수 있는 다양한 방법이 적용될 수 있다.
- [0122] 이상의 본 발명의 다양한 실시예에 따른 동물을 이용한 스크리닝 방법에 따라, 골다공증, 특히 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 개선할 수 있는 치료용 물질이 스크리닝될 수 있다.
- [0123] **실시예 1: 중증 뇌 손상 동물 유도율**
- [0124] 이하의 실시예 1에서는, 도 3a를 참조하여 중증 뇌 손상 동물 유도율의 평가 결과를 설명한다.
- [0125] 도 3a는 본 발명의 일 실시예에 따른 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에서, 중증 뇌 손상 동물 유도율을 도식한 것이다.
- [0126] 도 3a를 참조하면, 5 내지 10 % 산소 농도의 저산소 환경에 60 분 동안 노출된 동물은, 경증의 뇌 손상이 일어날 수 있고 중증 뇌손상 동물이 유도율은 30 % 미만일 수 있다. 나아가, 60 분 미만의 저산소 환경이 유도될 경우, 골 밀도가 낮은 개체를 확보하기에 어려움이 있을 수 있다.
- [0127] 이와 대조적으로, 5 내지 10 % 산소 농도의 저산소 환경에 90 분 동안 노출된 동물은, 중증의 뇌 손상이 일어날 수 있고, 이의 유도율은 40 % 이상일 수 있다. 즉, 90 분의 저산소 환경 유도될 경우, 골 밀도가 정상의 동물

에 비하여 현저하게 낮은 개체를 확보하기 용이할 수 있다.

[0128] 이상의 실시예 1의 결과로, 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법에서, 저산소성의 뇌 손상의 유도는 5 내지 10 % 산소 농도에서 70 분 내지 90 분 동안 수행될 수 있다. 바람직하게, 저산소성의 뇌 손상의 유도는 5 내지 10 % 산소 농도에서 80 분 내지 90 분 동안 수행될 수 있다.

[0129] **실시예 2: 뇌 손상 정도에 따른 동물의 운동 손상 정도**

[0130] 이하의 실시예 2에서는, 도 3b를 참조하여 동물의 뇌 손상 조건에 따른 운동 손상 정도의 평가 결과를 설명한다.

[0131] 도 3b는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에 있어서, 뇌 손상 정도에 따른 편측 운동손상 분석 결과를 도시한 것이다.

[0132] 도 3b를 참조하면, 마우스에 대한 약력을 측정함으로써, 동측성 (ipsilateral), 대측성 (contralateral) 및 양측의 운동 손상 정도가 평가되었다.

[0133] 보다 구체적으로, 중증의 뇌 손상을 갖는 마우스는, 경증의 뇌 손상, 또는 정상의 마우스에 비하여 낮은 약력을 갖는 것으로 나타난다.

[0134] 즉, 중증의 뇌 손상을 갖는 마우스는, 운동 손상의 정도가 다른 마우스에 비하여 큰 것으로 나타난다.

[0135] 이때, 중증의 뇌 손상을 갖는 마우스는, 체중 부하 감소, 근력 감소가 나타남에 따라, 운동 손상이 다른 마우스에 비하여 클 수 있다.

[0136] 따라서, 중증의 뇌 손상을 갖는 마우스는, 정상의 마우스 또는 경증의 뇌 손상을 갖는 마우스에 비하여 골 감소가 높은 확률로 나타날 수 있어, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델로서 적합할 수 있다.

[0137] **실시예 3: 뇌 손상 정도 및 저체중 여부에 따른 골 밀도 정도**

[0138] 이하의 실시예 3에서는, 도 3c 및 도 3d를 참조하여 동물의 뇌 손상 정도와 체중에 따른 골 밀도의 평가 결과를 설명한다.

[0139] 도 3c는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에 있어서, 뇌 손상 여부에 따른 골 밀도 분석 결과를 도시한 것이다. 도 3d는 본 발명의 일 실시예에 따른 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에 있어서, 뇌 손상 정도 및 체중에 따른, 골 밀도 분석 결과를 도시한 것이다.

[0140] 먼저, 도 3c를 참조하면, 중증의 허혈성-저산소성의 (hypoxic-ischemic, HI) 뇌 손상 마우스의 골밀도는 정상의 마우스에 비하여 약 90 % 이하인 것으로 나타난다.

[0141] 즉, 이러한 결과는, 중증의 뇌 손상이 골 밀도의 감소와 연관이 있음을 의미할 수 있다.

[0142] 보다 구체적으로, 도 3d의 (a), (b), (c) 및 (d)를 참조하면, 전체 골격의 (whole skeletal) 골 밀도 (bone mineral density, BMD), 대퇴골 (Lt. femur) 골 밀도, 요추 (L1-L5) 골 밀도, 및 상완골 (Lt. humerus) 골 밀도가 도시된다.

[0143] 이때, 중증의 뇌 손상을 갖는 정상 체중 및 저체중 마우스 (severe x normal body weight & severe x low body weight) 는, 경증의 뇌 손상을 갖는 마우스 (mild) 보다, 전체 골격의 골 밀도, 대퇴골 골 밀도, 요추 골 밀도 및 상완골 골 밀도가 낮은 것으로 나타난다.

[0144] 특히, 중증의 뇌 손상을 갖는 저체중 마우스의 경우, 중증의 뇌 손상을 갖는 정상 체중의 마우스보다, 전체 골격의 골 밀도, 대퇴골 골 밀도, 요추 골 밀도 및 상완골 골 밀도가 낮은 것으로 나타난다.

[0145] 이상의 실시예 3의 결과에서, 중증의 뇌 손상을 갖고, 나아가 저체중을 갖는 마우스는, 정상의 마우스 또는 경증의 뇌 손상 마우스보다 골 밀도가 낮은 것으로 나타남에 따라, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물로서 선택될 수 있다.

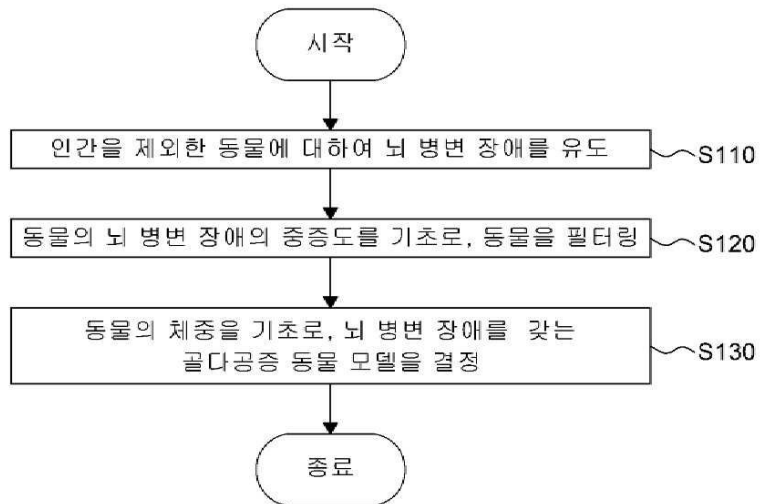
[0146] **실시예 4: 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 조건의 설정**

[0147] 이하의 실시예 4에서는, 도 3e 및 도 3f를 참조하여, 재현성있는 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작을 위한 조건에 대하여 구체적으로 설명한다.

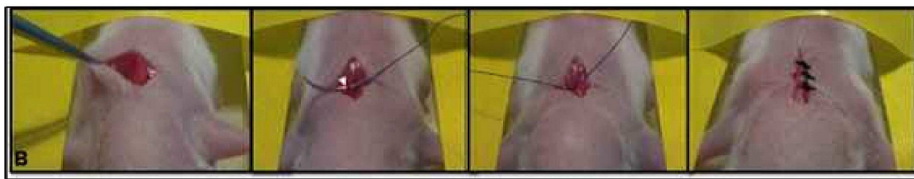
- [0148] 도 3e는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 제작 방법에 있어서, 뇌 손상 동물 모델에 대한 골 감소에 영향을 주는 인자를 검증한 결과를 도시한 것이다.
- [0149] 이때, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물로서, 중증의 뇌 손상이 유도된 저체중을 갖는 마우스가 평가에 이용되었다.
- [0150] 보다 구체적으로, 도 3e를 참조하면, 체중 부하에 영향을 미칠 것으로 예상되는 중요한 인자로서, 성별 (sex), 중증도 (severity), 안면 마비 (facial palsy), 체중 (body weight), 대측성 악력 (contralateral grip strength), 및 일어서기 활동 (rearing activity) 이 선택되었다.
- [0151] 이때, 이상의 인자들은, 단변량 및 다변량 회귀 모형에서 독립 변수로 포함되었다.
- [0152] 일변량 분석 (univariate analysis) 결과에 따르면, 다양한 인자들 중, 뇌 병변 장애의 중증도, 예를 들어 뇌 손상의 중증도 및 체중의 p-value 값이 0.001 미만으로 나타난다. 나아가, 다변량 분석 (multivariate analysis) 결과에 따르면, 중증도 및 체중에 대한 p-value 값은 각각 0.002 및 0.008로 나타난다.
- [0153] 이러한 통계적 회귀 분석 결과는, 중증도 및 체중이 골 감소와 관련하여 유의한 인자임을 의미할 수 있다.
- [0154] 이상의 도 3e의 결과에 따라, 본 발명의 다양한 실시예에 이용되는 뇌 병변 장애에 따른 골다공증을 갖는 동물 제작에 있어서, 뇌 병변 장애의 중증도 및 체중은 중요 인자로 설정될 수 있다.
- [0155] 도 3f는 본 발명의 일 실시예에 따른, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 제작 방법에서, 동물 모델의 결정을 위한 선별 조건을 도시한 것이다.
- [0156] 도 3f를 참조하면, 전술한 통계적 회귀 분석에 따라, 체중 부하에 영향을 미치는 인자로 설정된 중증도 및 체중을 기초로한, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물의 선별 조건이 나타난다.
- [0157] 보다 구체적으로, 뇌 병변 장애 및/또는 골다공증을 갖지 않는 정상의 마우스의 뇌 영역에 대하여 50 % 초과 손상이 나타난 중증 (severe) 의 뇌 손상을 갖고, 상기 정상의 마우스의 체중의 평균에 대하여, 정상의 마우스의 체중의 표준편차를 감산한 값 미만의 저체중 (low BW) 을 가지며, 행동 과잉을 보이지 않는 마우스가 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 모델로서 채택될 수 있다.
- [0158] 나아가, 상기 정상의 마우스의 뇌 영역에 대하여 50 % 미만의 손상이 나타난 경증 (mild) 의 뇌 손상을 갖고, 상기 정상의 마우스의 체중의 평균에 대하여, 정상의 마우스의 체중의 표준편차를 감산한 값 이상의 값인 정상 체중 (normal BW) 을 가지며, 체중 부하가 높을 것으로 예측되는 행동 과잉의 마우스는 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 모델로 제외될 수 있다.
- [0159] 이상의 실시예 에 따르면, 본 발명은, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증 동물 모델을 확보하기에 유리한 뇌 병변 장애 유도 조건과 함께, 뇌 병변 장애에 따라 골다공증이 발병한 인간 환자와 유사한 동물 모델을 선별할 수 있는 조건을 제공할 수 있다.
- [0160] 또한, 본 발명은 동물 모델 제작에 있어서 상기와 같은 선별 조건을 제공함으로써, 재현성 높게 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 임상적 증상을 갖는 동물 모델을 제공할 수 있다.
- [0161] 특히, 본 발명은 상기와 같은 선별 조건을 제공함으로써, 종래의 뇌 손상을 유도하여 뇌졸중, 뇌성마비, 또는 외상 뇌 손상의 동물 모델과 구별되는 임상적 증상, 예를 들어 골다공증을 갖는 동물 모델을 제공할 수 있다.
- [0162] 한편, 상기 선별 조건은, 마우스의 동물 또는 뇌 손상의 뇌 병변 장애에 제한되는 것이 아니다. 예를 들어, 상기 선별 조건에 따라, 마우스 이외의 인간을 제외한 동물에 대한 뇌졸중, 뇌성마비의 중증도 및 체중을 기초로, 뇌 병변 장애에 따른 골다공증의 임상적 증상을 갖는 동물 모델을 제작할 수 있다.
- [0163] 이상 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시 예들을 더욱 상세하게 설명하였으나, 본 발명은 반드시 이러한 실시 예로 국한되는 것은 아니고, 본 발명의 기술사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 다양하게 변형 실시될 수 있다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시 예들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이고, 이러한 실시 예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가 한정되는 것은 아니다. 그러므로, 이상에서 기술한 실시 예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 보호 범위는 아래의 청구범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 기술 사상은 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

도면1a



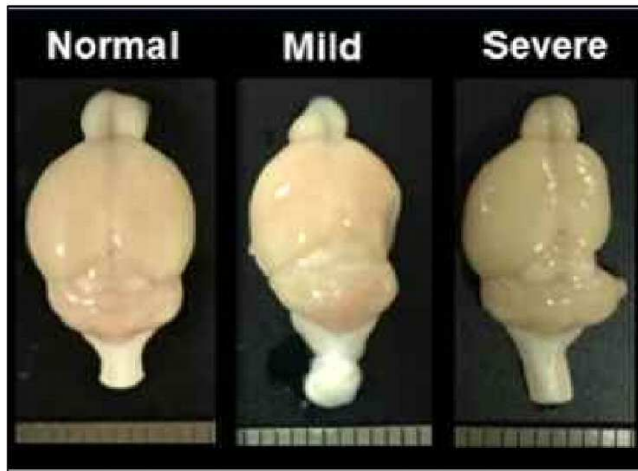
도면1b



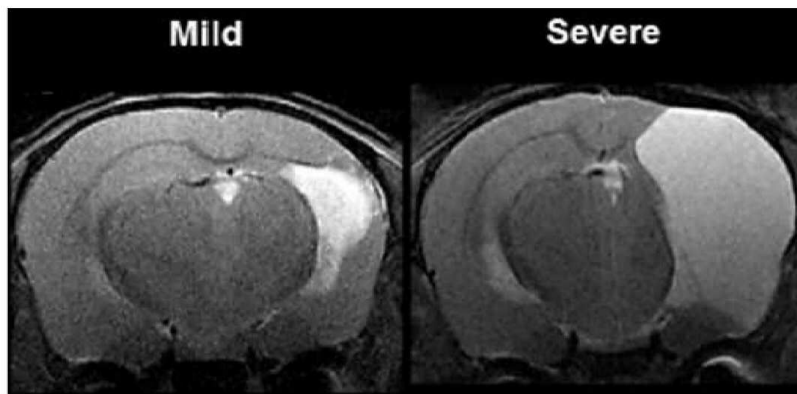
도면1c



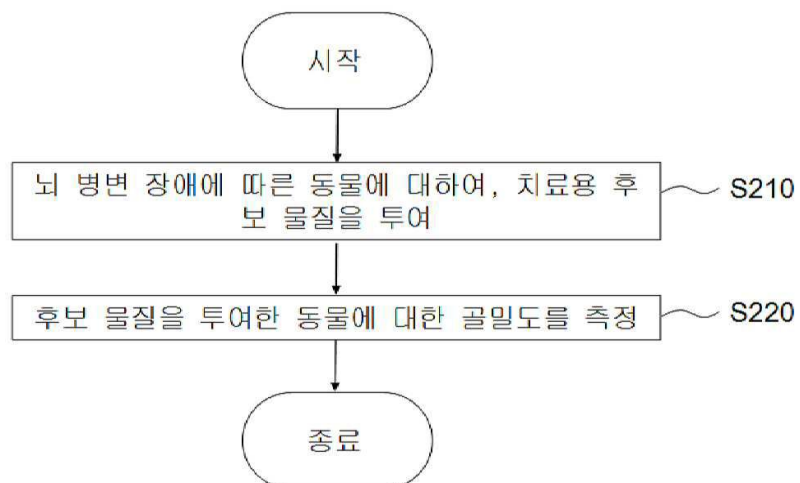
도면1d



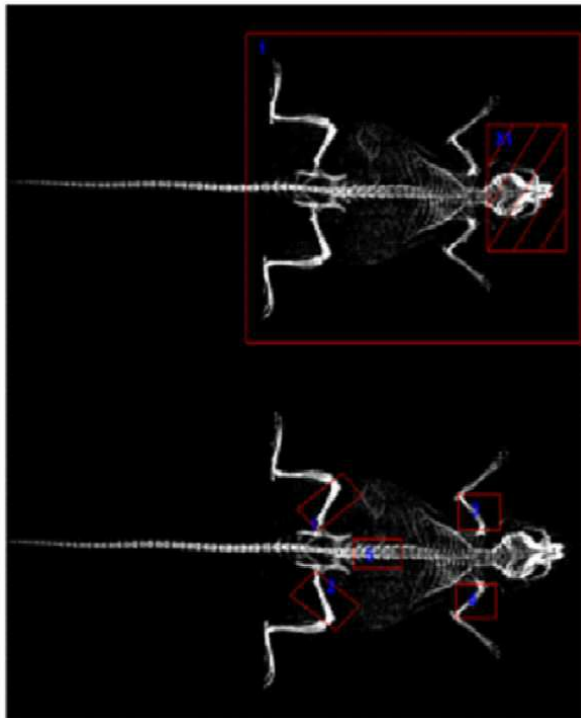
도면1e



도면2a



도면2b



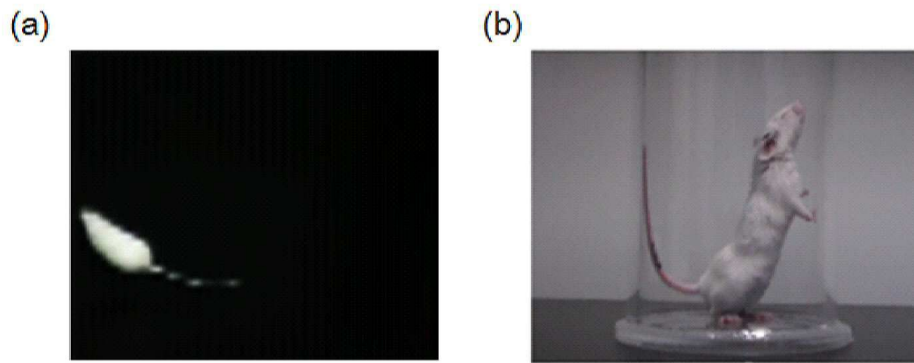
도면2c



도면2d



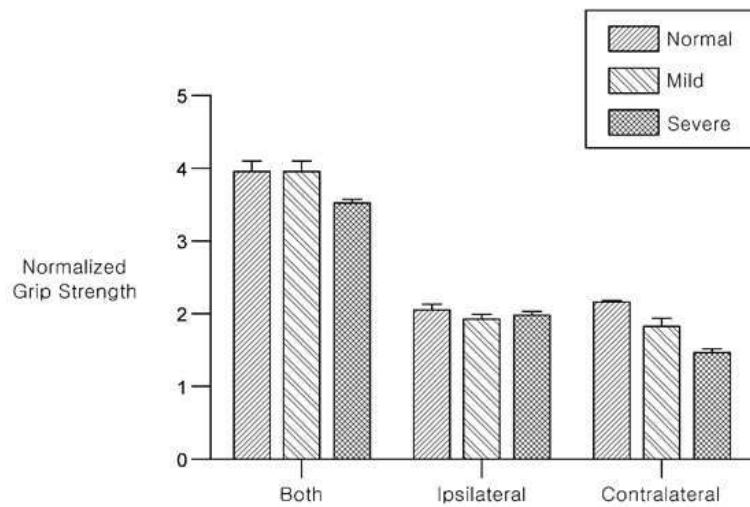
도면2e



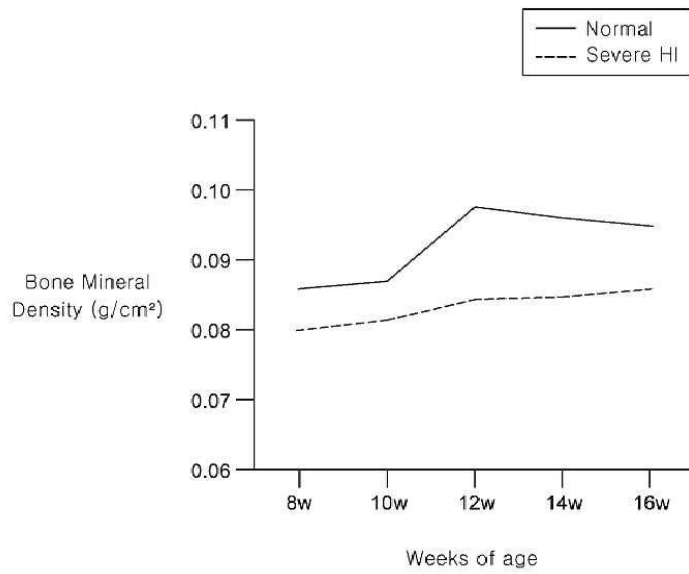
도면3a

저산소 환경 유도시간 (min)	중증 뇌손상 개체 유도율 (%)
60	< 30%
90	≥ 40%

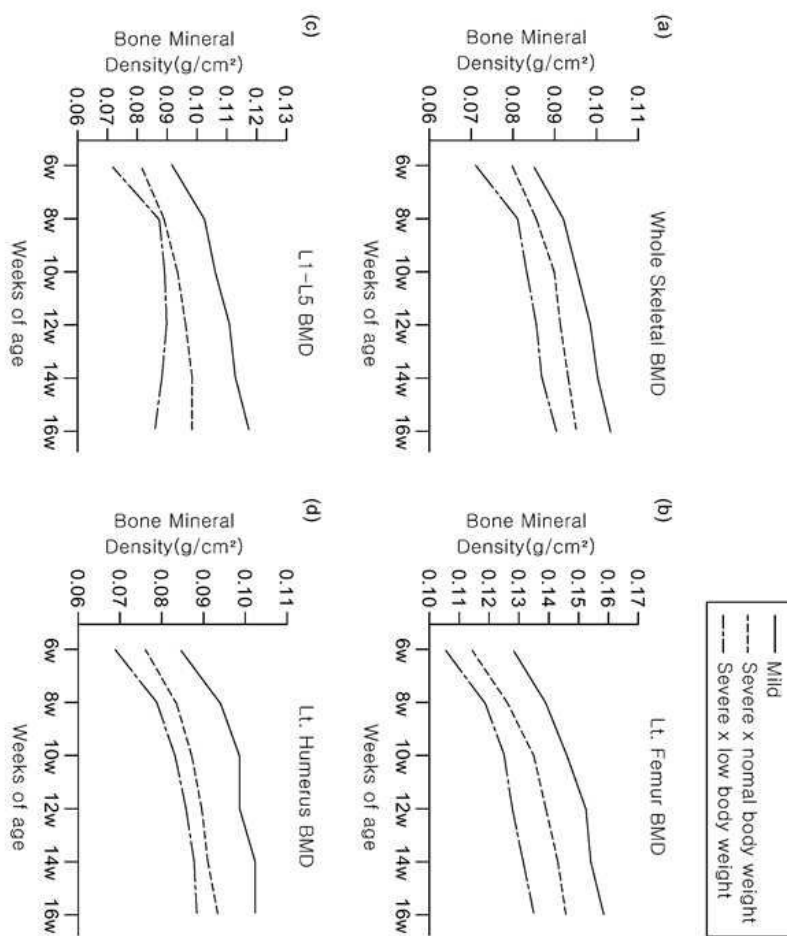
도면3b



도면3c



도면3d



도면3e

Model	Univariate analysis		Multivariate analysis	
Variables (Reference)	Coefficient (SE)	p-value	Coefficient (SE)	p-value
Sex (Female)	< - 0.001 (0.003)	0.905	-	-
Severity (Mild)	- 0.011 (0.002)	< 0.001*	- 0.007 (0.002)	0.002*
Facial palsy	- 0.004 (0.001)	0.001*	-	-
Body weight	0.001 (< 0.001)	< 0.001*	0.001 (<0.001)	0.008*
Contralateral grip strength	< 0.001 (< 0.001)	0.011*	-	-
Rearing activity	< 0.001 (< 0.001)	0.020*	-	-

도면3f

Criteria	Exclusion	Inclusion
Severity of brain injury (The extent of hemisphere)	Mild (< 50% injury)	Severe (> 50% injury)
Body weight (Definition)	Normal BW (≥ Normal mean - 1 SD)	Low BW (< Normal mean -1SD)
Hyperactive behavior	Turning around or rearing, repetitively	Not observed