

(뒷면)

(앞면)

<p style="text-align: center;">↑ (15 포인트 고딕계열) ↓ 6cm</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: 80px; text-align: center;"> 주 의 (편집순서 8) </div>	K G M 0 6 9 1 1 1 4 영 장 류 뇌 졸 중 모 델 개 발 한 국 생 명 공 학 연 구 원 ↑ 3cm ↓	<p style="text-align: right;">↑ KM0691114 5cm ↓</p> <p style="text-align: center;">미래기술연구사업</p> <p style="text-align: center;">영장류 뇌졸중 모델 개발</p> <p style="text-align: center;">Development of Stroke Model with non-human Primates</p> <p style="text-align: center;">국가영장류센터</p> <p style="text-align: right;">9cm</p> <p style="text-align: center;">한국생명공학연구원 (17포인트 명조계열)</p> <p style="text-align: center;">↓ 4cm ↑</p>
--	--	--

제 출 문

한국생명공학연구원장 귀하

본 보고서를 “영장류 뇌졸중 모델 개발”과제의 보고서로 제출합니다.

2012. 03.

연구부서명 : 국가영장류센터
주관연구책임자 : 이 상 래

연구원 : 장 규 태
" : 허 재 원
" : 정 강 진
" : 김 경 민
" : 김 성 우
" : 이 영 전
" : 이 상 일

보고서 초록

계정번호	KGM0301123	해당단계 연구기간	2009-2011년	단계 구분	(1단계) / (1단계)
연구사업명	단위사업명	창의연구사업			
연구과제명	중과제명	미래기술연구사업			
	세부(단위)과제명	영장류 뇌졸중 모델 개발			
연구책임자	이상래	해당단계 참여연구원수	총 : 18 명 내부 : 7 명 외부 : 11 명	해당단계 연구비	정부: 150,000 천원 기업: 천원 계: 천원
연구기관명 및 소속부서명	한국생명공학연구원 국가영장류센터		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :	상대국연구기관명 :			
위탁연구	연구기관명 :	연구책임자 :			
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)				보고서 면수	1
<p>1. 연구용 영장류 자원 확보</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 원숭이 확보: 자원 희소성, 윤리성 등을 고려하여 본 실험에 영향이 없는 실험에 이용된 원숭이를 재사용 - Cynomolgus monkey 6마리, Rhesus monkey 6마리 <p>2. Macaque (Rhesus & Cynomolgus) 이용 뇌졸중 모델 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Cynomolgus : PVA particle 이용 permanent infarction model 개발 ○ Rhesus : 신경중재술 (Neurointervention technique) 이용 temporary infarction model 개발 (기존 PVA 이용 모델의 단점 개선) <p>3. 뇌졸중 유발 모델 관리 체계 구축</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 뇌졸중 유발후 장기적인 관리를 위한 사육시설 (Conventional room) 운용 ○ 공동연구기관과의 원활한 연구 수행 위한 차량 이동용 케이지 시스템 개발 ○ 원격생체모니터링 및 영상모니터링 시스템 활용 체계 개발 <p>4. 영장류 뇌졸중 평가 기술 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Cynomolgus monkey 뇌 MRI 및 뇌혈관조영 기술 확립 ○ Rhesus monkey 뇌 MRI 및 뇌혈관 평가 기술 개발 					
색인어 (각 5개 이상)	한글	영장류, 뇌졸중, 질환모델, 신경중재술, 뇌혈관조영, 자기공명영상장치			
	영어	Non-human primate, Stroke, Disease model, Neurointervention, Brain angiography, MRI			

요 약 문

I. 제 목 : 영장류 뇌졸중 모델 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

: 뇌의 해부학적 구조, 뇌혈관 상태와 뇌대사, 뇌허혈 손상의 기전이 인간과 가장 유사한 영장류를 이용하여 뇌졸중 질환모델을 개발함으로써, 뇌졸중 발병 기전 연구와 치료제 개발 연구를 지원할 수 있는 인프라 구축

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 연구용 영장류 자원의 확보
2. 영장류 이용 뇌졸중 모델 개발
3. 뇌졸중 유발 모델 관리 체계 확립
4. 영장류 뇌졸중 평가 기술 개발

IV. 연구개발결과 (2009년-2011년)

1. 연구용 영장류 자원 확보

○ 원숭이 확보: 자원 희소성, 윤리성 등을 고려하여 본 실험에 영향이 없는 실험에 이용된 원숭이를 재사용

- Cynomolgus monkey 6마리, Rhesus monkey 6마리

2. Macaque (Rhesus & Cynomolgus) 이용 뇌졸중 모델 개발

○ Cynomolgus : PVA particle 이용 permanent infarction model 개발

○ Rhesus : 신경중재술 (Neurointervention technique) 이용 temporary infarction model 개발 (기존 PVA 이용 모델의 단점 개선)

3. 뇌졸중 유발 모델 관리 체계 구축

○ 뇌졸중 유발후 장기적인 관리를 위한 사육시설 (Conventional room) 운용

- 공동연구기관과의 원활한 연구 수행 위한 차량 이동용 케이지 시스템 개발
- 원격생체모니터링 및 영상모니터링 시스템 활용 체계 개발
- 4. 영장류 뇌졸중 평가 기술 개발
 - Cynomolgus monkey 뇌 MRI 및 뇌혈관조영 기술 확립
 - Rhesus monkey 뇌 MRI 및 뇌혈관 평가 기술 개발

V. 연구개발결과의 활용계획

1. 영장류 뇌졸중 모델 개발을 통한 향후 재생의학 및 신약개발 연구에 기술적 우위 선점 가능
2. 인간과 유사한 뇌질환 모델 연구를 통해 질병의 병태생리를 이해하고 신약 타겟 연구에도 큰 영향을 미치게 될 것임
3. 뇌졸중 등 영장류 질환모델 개발 기반 구축으로 뇌질환연구, 신약개발, 행동연구 등 지원 가능한 연구 영역의 확대 및 연구용 영장류 지원 분야의 다양화를 통한 인프라 기능 활성화

S U M M A R Y

I. Title: Establishment of stroke model with non-human primates

II. Research Purpose and Necessity

: Anatomical structure of the brain, cerebrovascular conditions and cerebral mechanism, cerebral ischemia, and most of the damage mechanisms that humans use a similar non-primate model, developed by a stroke disease, stroke pathogenesis research and drug development to support research infrastructure.

III. Contents

1. Supply of specific pathogen-free (SPF) monkeys for research
2. Development of stroke models using macaque monkeys
3. Equipment development for stroke primate mode management system
4. Development of evaluation methods in non-human primates

IV. Results

- 1. Supply of specific pathogen-free (SPF) monkeys for research**
 - Supply of SPF monkeys which were used to other studies
- 2. Development of stroke models using macaque monkeys**
 - Cynomolgus: Permanent cerebral infarction model by embolism with PVA apticle in the cynomolgus monkey
 - Rhesus: Acute ischemic stroke model in non-human primates using temporary middle cerebral artery occlusion and reperfusion

method with endovascular approach

3. Equipment development for stroke primate mode management system

- Long-term observation and management of non-primate model by cerebral stroke for conventional room management
- Application of the Telemetry and Video monitoring system for research

4. Development of evaluation methods in non-human primates

- System development for MRI, PET, and Angiography with cynomolgus and rhesus monkeys

V. Expected contribution

1. Development of stroke model using non-human primate will bring us many opportunities for discovering new drugs.
2. Similar to human studies encephalopathy model to understand the pathophysiology of the disease through drug-targeted research will be even greater impact
3. Non-primate disease models, such as stroke, encephalopathy development based on building research, drug development, including action research can support the expansion of research areas and research in the field of non-primate diversification through support infrastructure, enabling

C O N T E N T S

Chapter 1 Introduction

Chapter 2 Current Status of Technology

Chapter 3 Contents and Results of the Research

Chapter 4 Achievements and Contributions in the Related Area

Chapter 5 Application Plans

Chapter 6 Collected International Information during Research

Chapter 7 References

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	1
제 1 절	연구개발의 목적	1
제 2 절	연구개발의 필요성	1
제 2 장	국내외 기술 개발 현황	3
제 1 절	국내 연구개발 환경	3
제 2 절	국외 연구개발 환경	3
제 3 절	국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치	4
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	5
제 1 절	1차년도 및 2차년도 연구수행 결과	5
제 2 절	3차년도 연구수행 결과	11
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	17
제 1 절	목표 달성도	17
제 2 절	관련분야 기여도	17
제 5 장	연구 개발결과의 활용계획	18
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	19
제 7 장	참고문헌	20

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

: 뇌의 해부학적 구조, 뇌혈관 상태와 뇌대사, 뇌허혈 손상의 기전이 인간과 가장 유사한 영장류를 이용하여 뇌졸중 질환모델을 개발함으로써, 뇌졸중 발병기전 연구와 치료제 개발 연구를 지원할 수 있는 인프라 구축

제 2 절 연구개발의 필요성

1. 기술적 측면

가. 뇌졸중은 신약 개발의 필요성이 절실하나, 안전성 및 장기적인 예후 등에 대한 예측이 불가능한 점 등이 있는 분야임. 이에 인간과 가장 유사한 영장류에서의 뇌졸중 모델 개발, 평가 기술의 확립은 이러한 시행 착오와 불신을 최소화 할 수 있는 가장 중요한 방법으로 사료됨.

나. 영장류는 인간과 뇌혈관계 시스템, 뇌대사, 백색질과 회색질의 비율이 유사하고, 풍부한 행동 평가 기술이 있어서, 뇌졸중 모델이 개발되어 활용될 경우 인간의 뇌졸중의 기전 및 치료를 연구하기 위한 좋은 수단임.

다. 특히 설치류 등이 소동물이 인간과 뇌구조, 대사상태, 면역학적 특성에서 많은 차이를 보이므로 신경계 질환에서의 영장류 실험(non-human Primate)은 전임상 실험의 마지막 단계로서 꼭 거쳐야 할 중요한 과정임.

2. 경제/산업적 측면

가. 해외에서와 마찬가지로 국내에서 생명공학산업의 대부분을 바이오보건 분야가 차지하고 있어서, 지난 10년간 국내생명공학분야 시장성장률은 세계 평균성장률보다 높은 30%를 상회하고 있고, 2000년부터 생명공학산업에 대한 정부의 연구개발투자비도 대폭 증가하여 1994년 첫째 536억원이었던 연구비가 2000년도 2,462억원, 2003년 5,393억원으로 2배 이상 증가하였으며, 국민경제에 대한 기여도가 지속적으로 향상되는 등 바이오보건산업에 대한 제반여건이 향상되고 있음.

나. 영장류 뇌졸중 모델 개발을 통한 향후 재생의학 및 신약개발 연구에 기술

적 우위 선점 가능성.

다. 인간과 유사한 뇌질환 모델 연구를 통해 질병의 병태생리를 이해하고 신약 타겟 연구에도 큰 영향을 미치게 될 것임.

3. 사회 문화적 측면

가. 최근 새로운 약물 및 여러 치료 방법들은 임상에 적용되고 상용화한 수년 뒤에 기형이나 심장 질환의 발병 증가 등의 예상치 못한 합병증, 후유증 발생의 위험성이 상존하며 실제 최근에 그러한 사고가 빈발해 지는 추세임. 특히 다른 업종과 달리 의료 분야에서 그러한 합병증 등은 인간의 생명을 앗아 갈 수 있으며 따라서 커다란 사회적 문제를 야기시키며, 문화적으로도 의료진이나 환자 등이 실제 임상 적용에 있어 불안감으로 치료를 거부할 수 있음. 따라서 영장류 실험을 통하여 발생할 수 있는 부작용을 최소화 하고 특히 치료의 최적화를 통한 비용의 절감 등을 통하여 치료의 혜택 범위를 확장해야 함.

나. 기존의 뇌 질환은 원인 치료가 되지 않는다는 paradigm은 이제 바뀔 필요성이 있으며, 영장류 모델 개발을 통한 연구 기반의 확립은 기존의 난치성 신경계 질환을 연구할 수 있는 획기적인 방법이 될 수 있음. 평균 수명이 연장되면서, 노인성 질환인 뇌졸중과 퇴행성 질환 이 증가되고, 이로 인한 사회적 문제가 대두되고 있음.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절. 국내 연구 개발 환경

- 가. 국내 연구 기관에 의한 영장류 뇌손상 모델의 사용은 주로 배아 줄기 세포를 통한 척수 손상의 치료에 초점이 맞추어져 왔음. 이에 국내에서 이 분야에 대한 많은 연구와 지원이 이루어 졌으나 실제 논문이나 구체적 실적이 발표된 적은 매우 드뭄. 이는 척수 손상의 모델 자체가 일정하게 재현하기 힘들며 또한 주로 연구되어온 개 등의 동물에서의 경험 부족에 의한 것임.
- 나. 약물 등의 유효 농도와 치사량, 부작용 등을 알기 위한 영장류 실험이 국내에서 일부 행해져 왔음. 특히 충북 청원군 오창과학산업단지에 있는 한국생명공학연구원 국가영장류센터가 SPF 영장류 6종 240여 마리가 사육되고 있음. 2008년까지 단계적으로 2015년에 500여 마리까지 늘릴 계획으로 운영중이며 이러한 인프라를 활용해 뇌졸중 및 뇌질환의 영장류 실험 가능성이 매우 높아졌다고 사료됨.

제 2 절 국외 연구 개발 환경

- 가. 많은 연구에 의하여 rhesus에서 마취제 등의 pharmacokinetics 등은 확립되어 있는 단계임. 뇌졸중 분야에서는 2000년도 초반의 경우, 뇌막을 절제하여 직접 중대뇌동맥을 결찰하는 방법을 사용하였으나 2000년대 중반 이후에 설치류와 같이 long thread occlusion방법이 개발됨으로써 설치류와 같이 실험이 용이해 졌으며 consistent한 stroke model을 얻을 수 있게 되었음. 2001년에 marmoset의 뇌졸중 모델에서 NXY 059 의 효능을 본 연구에서 기능 평가 척도에 대한 제시가 있었음. NXY 059 사용이후에 부위별 손상을 측정할 graph, cortex, white matter 등에서의 손상을 자세히 측정할 수 있음.
- 나. 뇌졸중 모델에서 중요한 전두엽 등의 부위가 설치류에 비하여 훨씬 발달되어 있는 등 뇌신경계 질환의 연구에 매우 적합한 것으로 알려지게 되었음. 또한 간질 등의 모델에 있어서도 약물에 의한 유도 방법과 Kindling model 방법 등이 이미 자세히 연구되어 있으며 간질이후의 protein의 변화와 혈류의 변화 등에 대한 연구도 활발히 진행되고 있는 중임. 또한 MPTP

injection을 통한 parkinsonism 등 neurodegenerative disease model에서도 좋은 연구 성과가 발표되고 있는 중임.

다. 기타 다른 동물 : 개 중에서 돌연변이가 알려져 있는 Golden retriever muscular dystrophy 등에서 cell transplantation model 등이 시도되었으나 (Nature, Vol 444(30): 574. 2006) 아직 전반적으로 세포 이식 치료에 있어 영장류 연구는 제한적으로 이루어지고 있음.

제 3 절 국내외 기술개발현황에서 차지하는 위치

가. 뇌질환 중 뇌졸중은 단일 질환 국내 사망률 1위, 미국 2위의 중요 질환이며 회복 시에도 장애유발 가능성이 매우 높아 엄청난 사회적 의료비용 발생.

나. 사람에서와 같은 뇌졸중 질병 양상을 보이는 질환 모델의 부재로 신약 개발 실적 부진.

다. 기존 설치류 뇌졸중 모델에서의 시험 결과를 사람 대상의 임상에 응용시 제기되었던 부작용을 해결할 수 있는 유일한 대안으로, 뇌대사, 뇌혈관 구조 등이 사람과 매우 유사한 영장류가 부각되고 있음.

라. 전세계적으로 영장류를 이용한 뇌졸중 모델 개발을 시도하고 있으나, 수술 부작용 발생과 재현성 있는 모델 생산에 한계를 보이고 있음.

마. 최근 국가영장류센터와 충북대병원이 공동연구를 통해 뇌졸중 질환 모델 개발에 성공하였고, 뇌졸중 치료제/신약 개발을 위해서 영장류 뇌졸중 질환 모델 대량 생산 및 신약 유효성 평가체계 구축이 시급함.

사. 나아가, 알츠하이머성 치매, 파킨슨씨병 및 뇌종양 등에 대한 영장류 질환 모델 개발을 통한 신약개발 지원 확대 필요함.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 1차년도 및 2차년도 연구수행 결과

1. 연구용 SPF 영장류 자원 확보

- 영장류 자원의 희소성, 윤리성 등을 고려하여 본 실험에 영향이 없는 실험에 이용된 원숭이를 재사용하여 실험을 진행하였음 (표 1).

표 1. 연도별 영장류 사용 수 및 연구비(직접비)

(단위: 천원)

연도	2009	2010	2011	합계
Cynomolgus	4	4		8
Rhesus			6	6
총연구비	50,000	50,000	50,000	150,000
주관연구비	40,000	20,000	50,000	110,000
위탁연구비	10,000 (서울대병원)	30,000 (원광대의대)	-	40,000

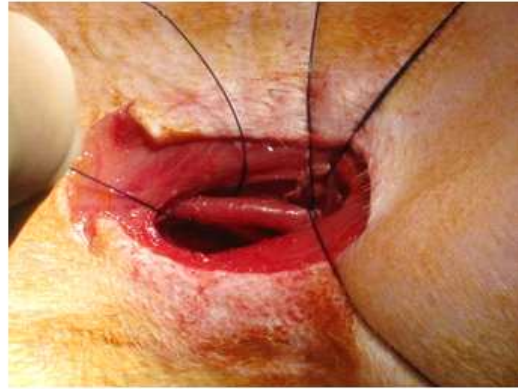
2. Cynomolgus 원숭이 이용 뇌졸중 모델 개발

- Cynomolgus 이용 뇌혈관 infarction 유도를 통한 뇌졸중 유발: 암의 증식억제를 위하여 암 부위에 영양과 산소를 공급하는 혈관을 막는 물질인 PVA particle (150~250 um)을 이용하여 cynomolgus 뇌 국소부위에 infarction을 유발하는 기술을 개발하였음 (그림 1, 2, 3 & 4).

A) Anesthesia & restraining



B) CCA exposure



C) Catheter installation

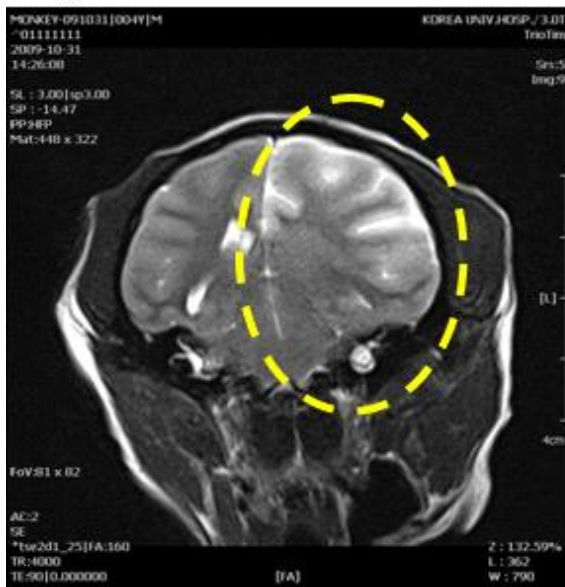


D) PVA particle injection



그림 1. Cynomolgus 원숭이에서 PVA particle를 이용한 뇌졸중 유발 과정

A) Stroke MRI



B) Stroke Angiography



그림 2. Cynomolgus에서 고용량 PVA particle 주입을 통한 뇌졸중 유발 결과

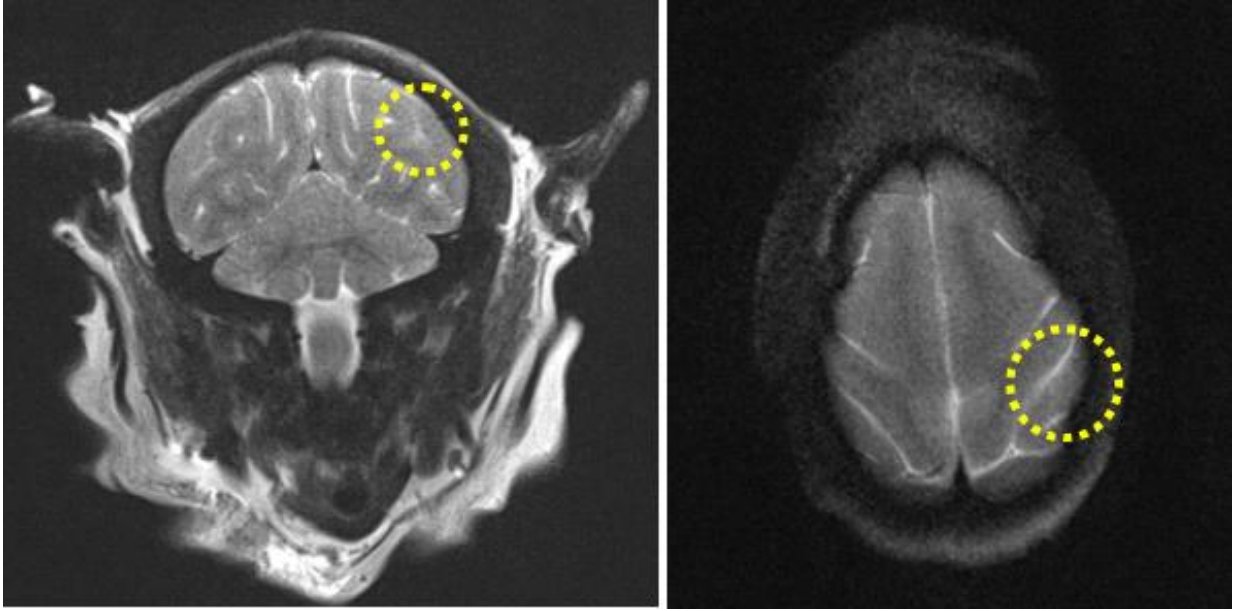
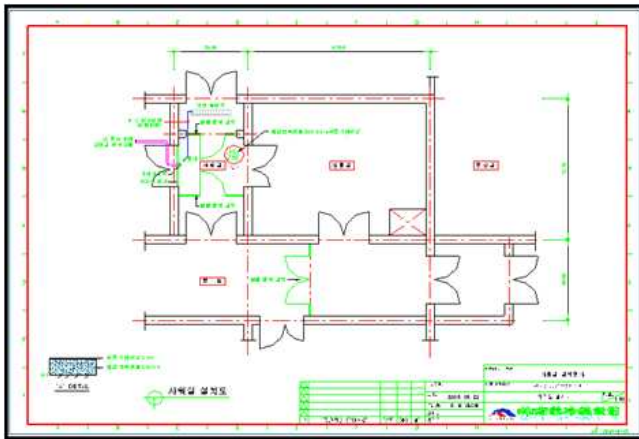


그림 3. Cynomolgus에서 저용량 PVA particle 주입을 통한 뇌졸중 유발후 MRI 결과

3. 뇌졸중 모델 유발 모델의 관리 체계 구축

- 뇌졸중이 유발된 cynomolgus 원숭이의 장기적인 관찰 및 관리와 MRI 등의 촬영을 위하여 외부기관 방문 실험시 출입 관리를 위하여 독립적인 사육시설 (conventional room)을 설치하고 운영하였음 (그림 4).



(A)도면



[B]사육실 내부 전경

그림 4. 뇌졸중 유발 모델 개체 전용 Conventional room 설치

- 뇌졸중 유발 실험을 위한 영장류 이송을 위하여 차량 장착가능한 이동용 케이지 시스템을 제작하여 안전한 제반 여건을 제공하였음 (그림 5).

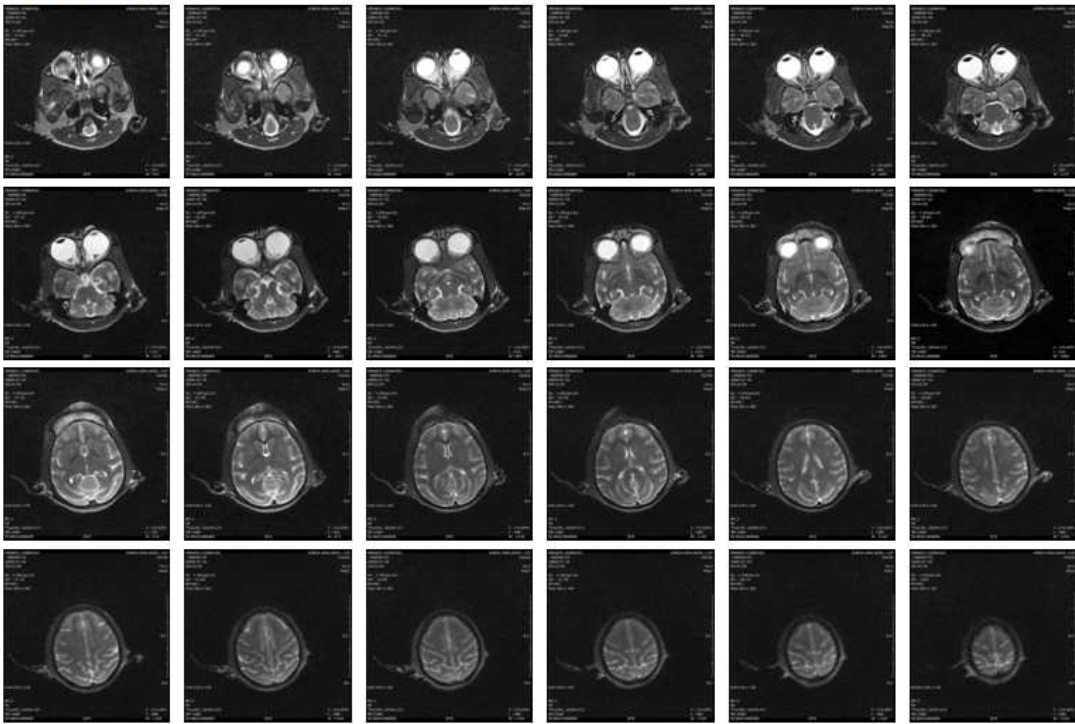


그림 5. 안전한 영장류 이송을 위한 차량장착 가능한 이동용 케이지시스템 개발

4. 영장류 뇌졸중 평가 기술 개발

- MRI map of cynomolgus brain: 가천의대 뇌과학연구소와 공동연구를 통하여 cynomolgus 원숭이의 뇌 MRI 맵을 작성하고 이를 뇌질환 모델 개발시 평가 기반으로 활용 (그림 6)

A) T2WI Axial View



B) T2WI Coronal View

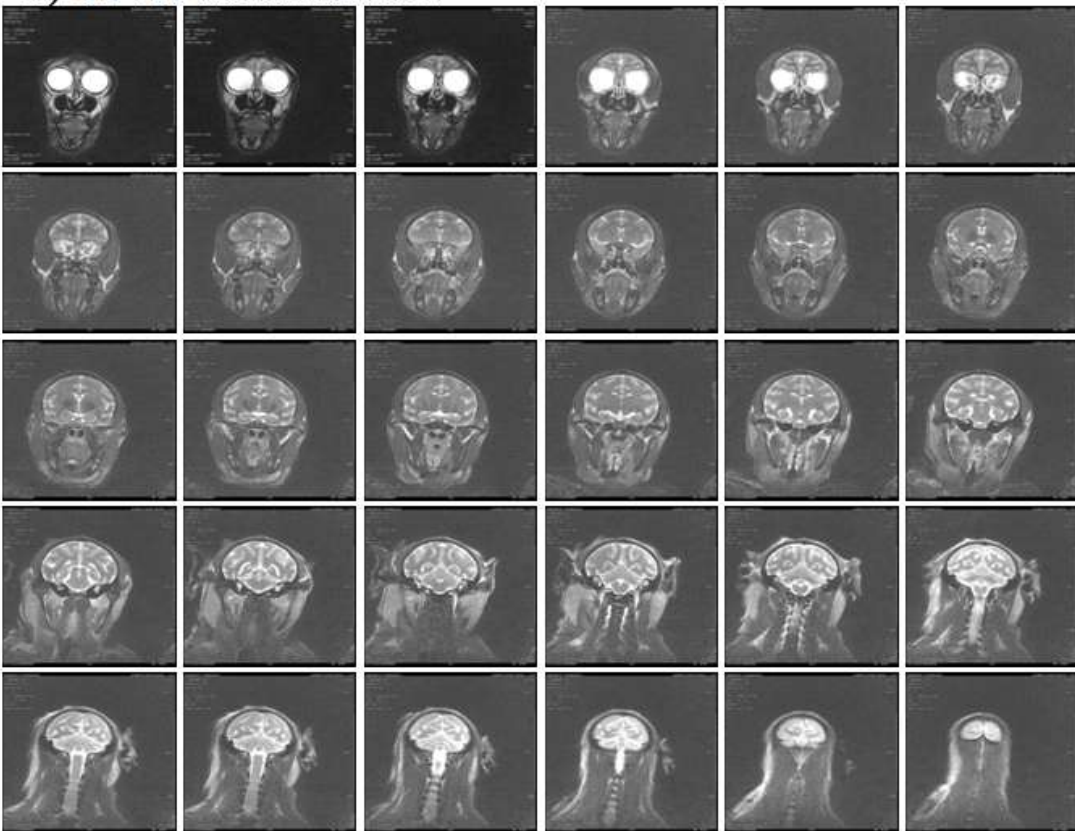


그림 5. Cynomolgus 원숭이에서 뇌 MRI 지도 작성

- 혈관조영기술 개발: Cynomolgus에서 뇌혈관 구조의 관독과 뇌졸중 유발 전후의 혈관 폐색 유무를 확인하기 위한 기초 자료 획득을 위하여 뇌 혈관조영 (Angiography) 기술을 확립함 (그림 7).

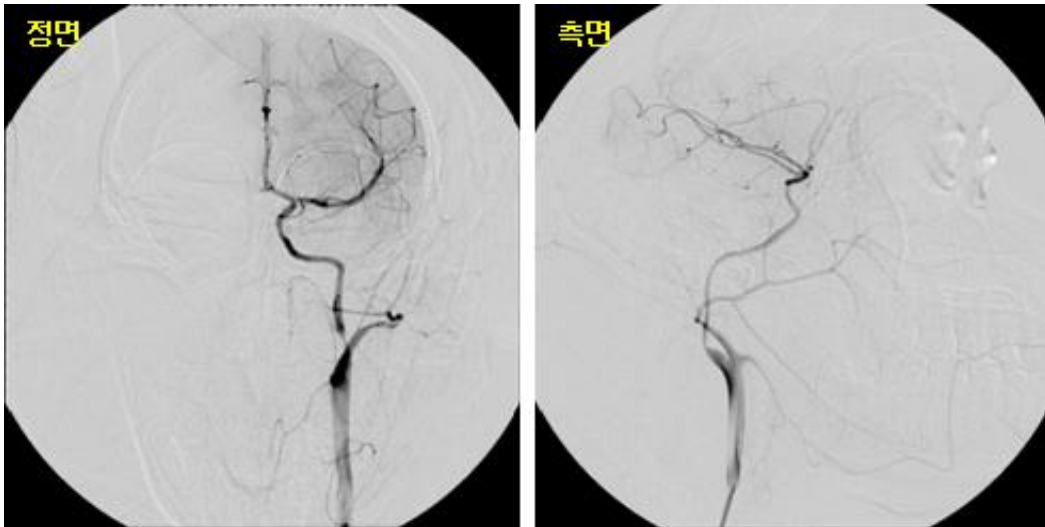


그림 7. Cynomolgus에서 뇌혈관조영 결과

- PET 영상 진단 기술 개발: Micro-PET을 이용한 cynomolgus brain에 대한 PET 영상 촬영시 나타나는 문제점 등을 보완하여 뇌졸중 등 뇌질환 평가를 위한 PET 진단 기술을 개발함 (그림 8).

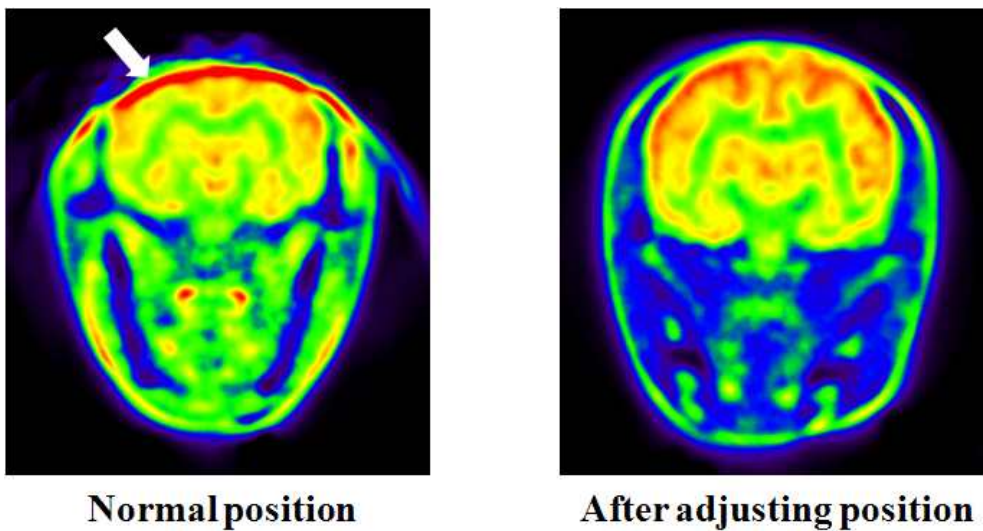


그림 8. Cynomolgus 원숭이의 FDG이용 PET 촬영 기술 개발

제 2 절 3차년도 연구수행 결과

1. 연구용 SPF 영장류 자원 확보

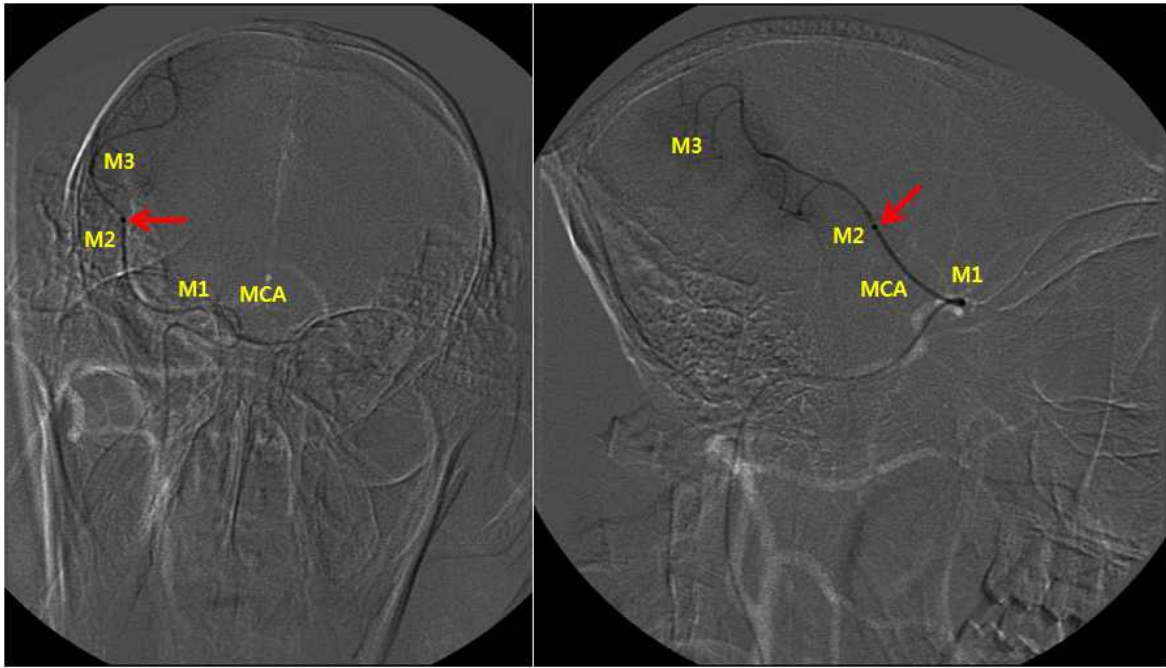
- 영장류 자원의 희소성, 윤리성 등을 고려하여 본 실험에 영향이 없는 실험에 이용된 rhesus 원숭이 6마리를 재사용하여 실험을 진행하였음 (표 1 참조).

2. Rhesus 원숭이 이용 뇌졸중 모델 개발

- Rhesus 원숭이를 사용하여 신경중재술 (Neurointervention technique)을 이용 temporary infarction model 개발하였음 (기존 PVA 이용 cynomolgus 뇌졸중 모델의 단점인 뇌 특정부위 infarction 유발의 어려움을 극복하였음).

○ 뇌졸중 유발 실험방법 및 결과

- 1) 실험동물: Rhesus monkey, 4 - 6kg, 6마리
- 2) 전신마취: 1.5 - 3% Isoflurane 호흡마취
- 3) 뇌졸중 유발 방법: 뇌혈관 신경중재술 (Neurointerventional technique)을 이용하여 뇌졸중을 유발하였으며, 그 과정을 간략히 요약하면 다음과 같음.
 - ① 대퇴동맥에 catheter를 삽입하고 혈관조영을 통하여 뇌혈관까지 접근함.
 - ② Catheter를 중뇌동맥(MCA)의 M2 branch까지 삽입하여 혈관조영술로 혈관이 막힌 것을 확인함(그림 9).
 - ③ Catheter가 삽입된 상태로 뇌 MRI 촬영을 연속적으로 실시하여(그림 10) 뇌졸중이 유발된 것을 확인 후 catheter를 제거함.
 - ④ 뇌졸중의 유발 정도와 병변부 변화상을 확인하기 위하여 Catheter 제거후, 24시간, 1주, 2주, 3주, 4주 동안 뇌 MRI 촬영을 실시함 (그림 11, 12 & 13).



A. 정면

B. 측면

그림 9. 신경중재술(Neurointervention technique)으로 중뇌동맥(MCA) M2 branch 타겟팅 및 폐색 확인. Catheter 말단 (적색화살표)이 MCA M2 branch에 도달한 다음 혈관조영제를 주입하여 목적혈관이 타겟팅되었는지 확인함과 동시에 폐색을 확인함.

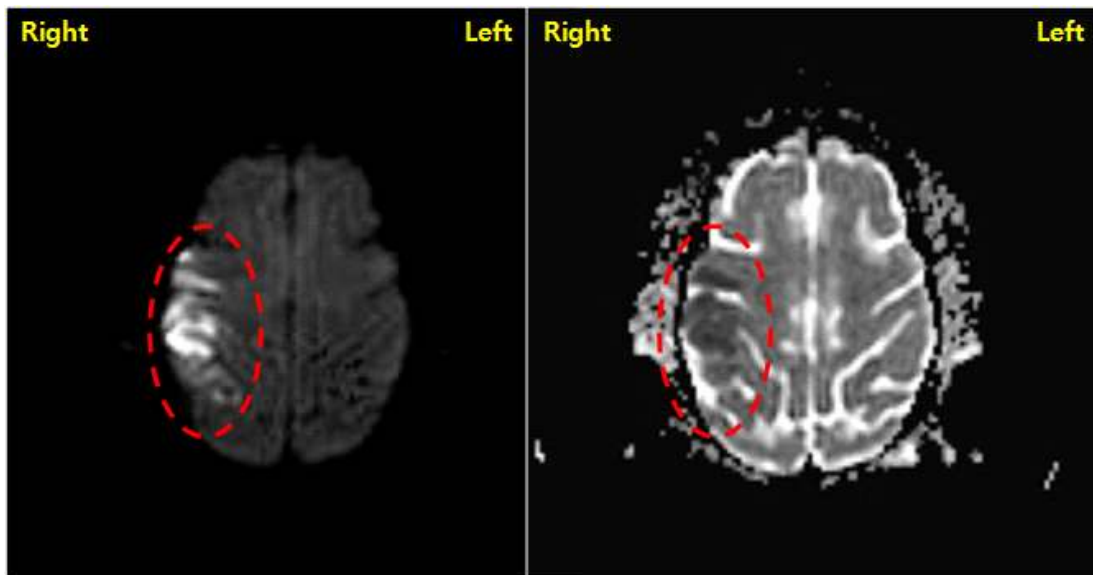


그림 10. 뇌 MRI 촬영을 통한 뇌졸중 유발 확인. Catheter를 삽입한 상태에서 연속적으로 뇌 MRI 촬영을 실시하여 뇌졸중이 유발됨을 확인함.

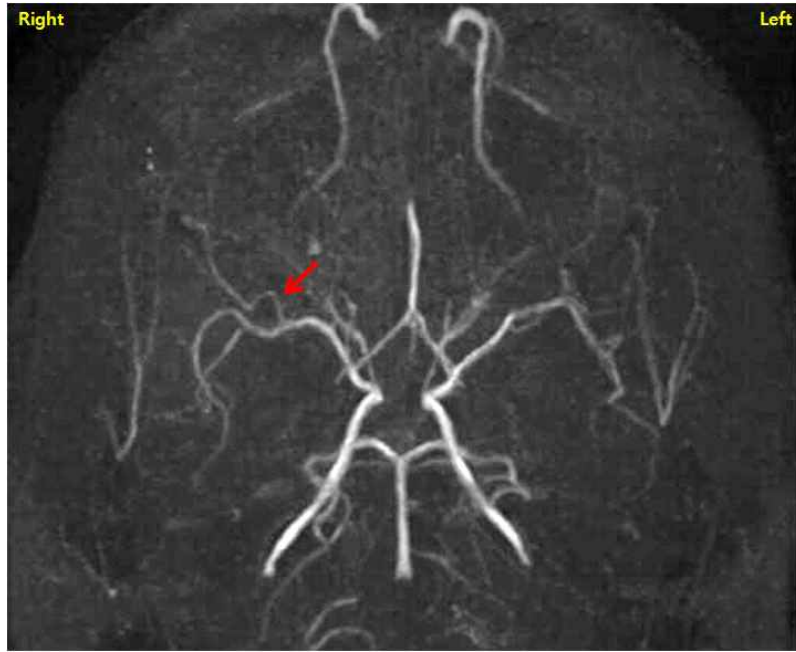


그림 11. 뇌졸중 유발개체에서 재관류 확인. 뇌 MRA 촬영을 통하여 일시적으로 폐쇄시켰던 MCA M2 branch(적색화살표)가 재관류 되었음을 확인함.

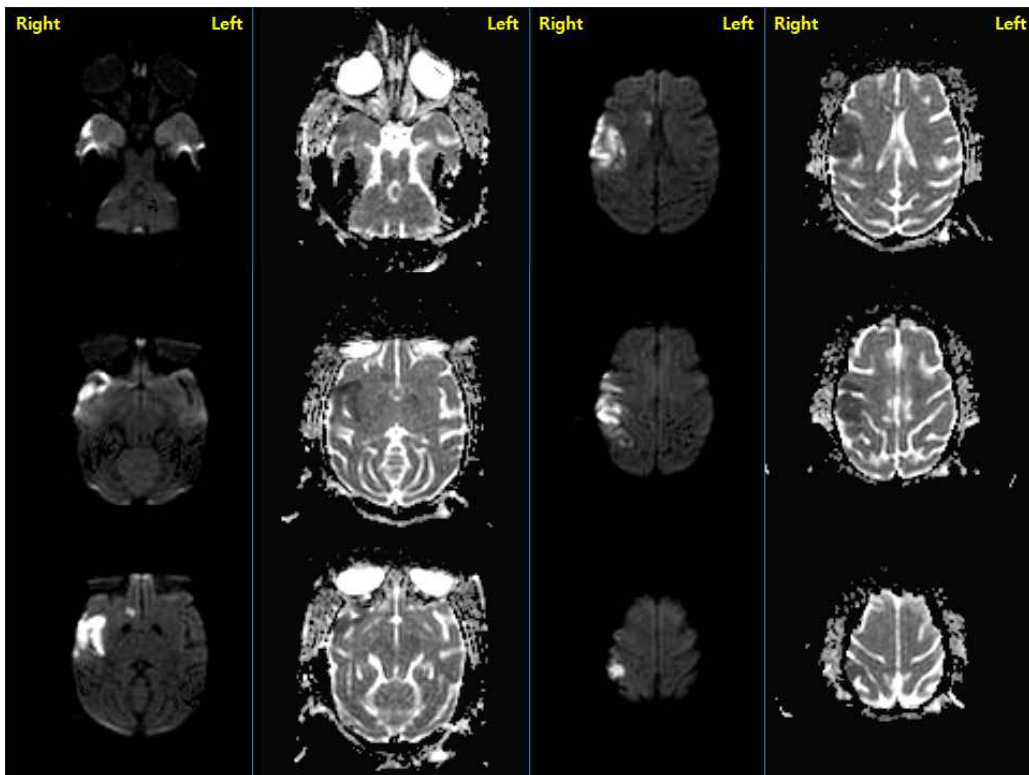


그림 12. 뇌졸중 유발개체 뇌 MRI 영상



그림 13. 뇌졸중 유발 개체. 우측 뇌에 뇌졸중이 유발됨에 따라 반대측 좌측 앞다리의 마비 증상을 보임.

3. 종래 기술 대비 신규성 및 진보성

- 기존 영장류 뇌졸중 동물모델의 경우, 중뇌동맥 (middle cerebral artery, MCA)를 막는 방법을 이용하는데 주로 thread technique, transorbital technique 등이 알려져 있으나, 수술휴유증 등의 부작용과 뇌졸중 유발 정도의 재현성이 낮아 실패율이 매우 높았음. 또한 일부 연구팀에서 angio-intervention technique을 이용한 MCAo (middle cerebral artery occlusion) 모델도 보고가 되었으나 뇌졸중 유발 재현성이 현저히 떨어지나,
- 본 연구팀에서는 신경중재술 (neurointervention technique)을 이용하여 MCA의 하위 동맥가지인 M2 branch 수준에서 뇌졸중을 유발하였고 재현성있는 결과를 얻어내었음.

- 기존에 알려진 영장류 뇌졸중 모델 중, 마모셋의 경우, 신세계원숭이로 진화상의 위치가 본 실험에 사용한 rhesus와 같은 구세계원숭이 보다 사람과 멀고 뇌의 해부학적 구조가 사람과 차이가 큰 단점이 있음. 또한 rhesus, cynomolgus와 같은 Macaque 원숭이나 baboon 원숭이를 사용한 경우 원숭이의 크기가 8kg 이상의 중형(나이든) 원숭이를 이용하였으나,
- 본 연구팀에서는 4 - 6kg의 소형(어린) 원숭이에서 모델을 확립함으로써 실험용 원숭이 수급에서 수월성 및 경제성을 확보하게 됨.
- 본 연구팀과 유사한 방법으로 유발된 영장류 뇌졸중 모델의 경우에도, 중뇌동맥의 M1 branch를 막아 기저핵 (basal ganglia)로 가는 혈액순환을 막아 폐사율이 높았으나, 본 연구팀에서는 M1 보다 더 아래의 M2 수준에서 혈관을 일시적으로 막은 다음, MRI로 실시간으로 검사하여 폐색 (infarction)을 확인하고 재관류 (reperfusion) 시킴으로 생존율과 재현성을 극대화하였음.

4. 원격생체반응 모니터링 및 행동관찰 분석용 장비 활용 체계 개발

- 영장류의 생체반응을 실시간으로 모니터링하기 위하여 이식용 원격생체모니터링시스템 (Telemetry monitoring system)을 활용할 수 있도록 함 (그림 14).



그림 14. 영장류 전용 Telemetry system

- 뇌졸중 유발 영장류의 행동 및 활동성을 실시간으로 모니터링하고 분석할 수 있는 영상모니터링시스템 (Video monitoring system)을 활용할 수 있도록 함 (그림 15).



그림 15. 영장류 행동 및 활성 분석용 Video monitoring system

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표 달성도

주요달성목표 (핵심스펙)	2008 실적	2011			달성율 (%)
		목표	실적	'08년 대비 진보성	
영장류 뇌졸중 모델 확립	뇌졸중 유발 기술 개발	영장류 뇌졸중 모델 확립	Rhesus monkey 이용 뇌졸중 모델 확립	뇌졸중 모델 확립	100

제 2 절 관련분야 기여도

1. 신경중재술을 이용하여 혈관내 접근방식으로 중대뇌동맥(MCA) M2 branch의 일과성 폐색 후 재개통 방식을 이용하여 급성허혈성뇌졸중 유발 영장류(rhesus) 질환모델 개발 성공
2. 재현성 있고 수술 부작용 없는 신경중재술을 이용한 급성 허혈성 뇌졸중 유발 모델 확립에 따라 뇌졸중 관련 신약, 의료기기 및 줄기세포치료 연구 활성화
3. 뇌졸중의 병태생리, 발병기전, 예방 및 치료제 및 기술 개발의 활성화로 뇌졸중 신약 개발의 새로운 패러다임 제공
4. 영장류 뇌질환 모델 이용하여 바이오신약과 재생의학 연구 지원 및 뇌질환 연구 지원에 활용하여 뇌과학 연구, 뇌질환 발병기전 및 치료제 개발 등에 지대한 공헌을 할 것으로 사료됨
5. 뇌졸중 등 영장류 질환모델 개발 기반 구축으로 뇌질환연구, 재생의학 및 신약 개발, 행동연구 등 지원 가능한 연구 영역의 확대 및 연구용 영장류 지원 분야의 다양화를 통한 인프라 기능 활성화
6. 뇌졸중 등 영장류 뇌질환 모델을 활용한 신약개발 및 세포치료 등에 활용 가능함으로서 고부가가치 첨단의료산업의 기반 조성
7. 국내 개발 신물질의 국외동물실험에 따른 연구성과 국외 유출 방지 및 외화 절감 효과

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

주요달성목표 (핵심스펙)	연구개발결과의 활용계획
영장류 뇌졸중 모델 확립	<ul style="list-style-type: none"> - 재현성 있고 수술 부작용 없는 신경중재술을 이용한 급성 허혈성 뇌졸중 유발 모델 확립에 따라 뇌졸중 관련 신약, 의료기기 및 줄기세포치료 연구 활성화 뇌졸중의 병태생리, 발병기전, 예방 및 치료제 및 기술 개발의 활성화로 뇌졸중 신약 개발의 새로운 패러다임 제공 - 영장류 뇌질환 모델 이용하여 바이오신약과 재생의학 연구 지원 및 뇌질환 연구 지원에 활용하여 뇌과학 연구, 뇌질환 발병기전 및 치료제 개발 등에 활용 가능 - 뇌졸중 등 영장류 질환모델 개발 기반 구축으로 뇌질환연구, 재생의학 및 신약개발, 행동연구 등 지원 가능한 연구 영역의 확대 및 연구용 영장류 지원 분야의 다양화를 통한 인프라 기능 활성화 - 뇌졸중 등 영장류 뇌질환 모델을 활용한 신약개발 및 세포치료 등에 활용 가능함으로써 고부가가치 첨단의료산업의 기반 조성에 이바지

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 1) 기존 영장류 뇌졸중 동물모델의 경우, 중뇌동맥 (middle cerebral artery, MCA)를 막는 방법을 이용하는데 주로 thread technique, transorbital technique 등이 알려져 있으나, 수술휴유증 등의 부작용과 뇌졸중 유발 정도의 재현성이 낮아 실패율이 매우 높았음. 또한 일부 연구팀에서 angio-intervention technique을 이용한 MCAo (middle cerebral artery occlusion) 모델도 보고가 되었으나 뇌졸중 유발 재현성이 현저히 떨어짐. 본 연구팀에서는 신경중재술 (neurointervention technique)을 이용하여 MCA의 하위 동맥가지인 M2 branch 수준에서 뇌졸중을 유발하였고 재현성있는 결과를 얻어내었음.
- 2) 기존에 알려진 영장류 뇌졸중 모델 중, 마모셋의 경우, 신세계원숭이로 진화상의 위치가 본 실험에 사용한 rhesus와 같은 구세계원숭이 보다 사람과 멀고 뇌의 해부학적 구조가 사람과 차이가 큰 단점이 있음. 또한 rhesus, cynomolgus와 같은 Macaque 원숭이나 baboon 원숭이를 사용한 경우 원숭이의 크기가 8kg 이상의 중형(나이든) 원숭이를 이용하였으나, 본 연구팀에서는 4 - 6kg의 소형(어린) 원숭이에서 모델을 확립함으로써 실험용 원숭이 수급에서 수월성 및 경제성을 확보하게 됨.
- 3) 본 연구팀과 유사한 방법으로 유발된 영장류 뇌졸중 모델의 경우에도, 중뇌동맥의 M1 branch를 막아 기저핵 (basal ganglia)로 가는 혈액순환을 막아 폐사율이 높았으나, 본 연구팀에서는 M1 보다 더 아래의 M2 수준에서 혈관을 일시적으로 막은 다음, MRI로 실시간으로 검사하여 폐색 (infarction)을 확인하고 재관류 (reperfusion) 시킴으로 생존율과 재현성을 극대화하였음.

제 7 장 참고문헌

1. D'Arceuil HE, Duggan M, He J, Pryor J, de Crespigny A. Middle cerebral artery occlusion in *Macaca fascicularis*: acute and chronic stroke evolution. J Med Primatol. 2006 Apr;35(2):78-86.
2. de Crespigny AJ, D'Arceuil HE, Maynard KI, He J, McAuliffe D, Norbash A, Sehgal PK, Hamberg L, Hunter G, Budzik RF, Putman CM, Gonzalez RG. Acute studies of a new primate model of reversible middle cerebral artery occlusion. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2005 Mar-Apr;14(2):80-7.
3. Fukuda S, del Zoppo GJ. Models of focal cerebral ischemia in the nonhuman primate. ILAR J. 2003;44(2):96-104.
4. Kharlamov A, LaVerde GC, Nemoto EM, Jungreis CA, Yushmanov VE, Jones SC, Boada FE. MAP2 immunostaining in thick sections for early ischemic stroke infarct volume in non-human primate brain. J Neurosci Methods. 2009 Sep 15;182(2):205-10. Epub 2009 Jun 21.
5. Schwartz AE, Pile-Spellman J. New model of reperfused stroke by occlusion of the anterior cerebral artery in baboons. Acta Neurochir (Wien). 2011 Feb;153(2):327-31. Epub 2010 Oct 2.
6. West GA, Golshani KJ, Doyle KP, Lessov NS, Hobbs TR, Kohama SG, Pike MM, Kroenke CD, Grafe MR, Spector MD, Tobar ET, Simon RP, Stenzel-Poore MP. A new model of cortical stroke in the rhesus macaque. J Cereb Blood Flow Metab. 2009 Jun;29(6):1175-86. Epub 2009 Apr 22.

주 의

1. 이 보고서는 한국생명공학연구원에서 시행한 영장류 뇌졸중 개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 한국생명공학연구원에서 시행한 영장류 뇌졸중 개발 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.