

117003-1

보안 과제(), 일반 과제() / 공개(), 비공개()발간등록번호()

발간등록번호

11-1543000-002296-01

양돈장에서 발생되는 손상조직 부위의 생체접착제의 적용 사업화 최종보고서

2018 04. .

주관연구기관 / 전남대학교
협동연구기관 / (주)메디코젬

양돈장에서 발생되는 손상조직 부위의 생체접착제 적용 사업화
최종보고서
2018

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “양돈장에서 발생하는 손상조직 부위의 생체접착제의 적용 사업
화”(개발기간 : 2017. 4.21 - 2018. 4.20)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 04 . .

주관연구기관명:전남대학교 산학협력단 (대표자)송진규



참여기관명 : ㈜에디코젬 (대표자)

신재민



주관연구책임자 : 고 홍 범



협동연구책임자 :

참여기관책임자 : 최 용 복



국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에
동의 합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	117003-1	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.04.21.- 2018.04.20	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	R&D 바우처사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명				
연구책임자	해당단계 참여연구원 수	총: 3명 내부: 3명 외부: 명	해당단계 연구개발비	정부: 50,000천원 민간: 18,750천원 계:68,750천원	
	총 연구기간 참여연구원 수	총: 3명 내부: 3명 외부: 명	총 연구개 발비	정부: 천원 민간: 천원 계: 천원	
연구기관명 및 소속부서명	전남대학교 수의과대학			참여기업명 (주)메디코젬	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	
※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음					
연구개발성과의 보안등급 및 사유					

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설· 장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합 물	생명자원		신품종	
								생명정보	생물자 원	정보	실 물
등록· 기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시 설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

<p>요약</p> <p>본 연구에서는 사용된 생체접착제는 (주)메디코젬에서 Ally 2-cyanocrylate를 고온처리한 Ally 2-cyanocrylate prepolymer에 lactide와 caprolactone을 융합시켜서 얻은 poly(DL-lactide-co-caprolactone)로 개발된 “MedicoGlue-A (QureBond)”이다.</p> <p>개발된 동물용 생체 접착제를 4일령의 포유자돈의 거세수술 부위에 적용하여 생체 적용 가능성을 평가하였다.-수술부위조직의 치료제 평가를 위한 병리 조직학적 평가를 통해 생체접착제 적용시 일반적인 거세 수술 처리군보다 수술부위의 피사 크기가 작게 확인되었다 (p<0.05).</p> <p>- 상처조직의 치료과정에 관여하는 bio-marker의 평가를 통해 수술 후 돼지의 체내에서 진행되는 염증 반응의 표시인자인 Serum AmyloidA2의 농도가 생체접착제 적용군에서 일반적인 거세 수술 처리군보다 낮았다. - 상처조직의 회복과정에 관여하는 bio-marker의 평가를 통해 손상 조직의 복구에 관여하는 prostaglandin E2의 농도가 생체접착제 적용시 일반적인 거세 수술 처리군 보다 높아 수술 부위의 조직 회복작용을 보다 빠르게 진행시킬 수 있다고 평가되었다.</p> <p>“MedicoGlue-A(QureBond)”는 동물 수술 부위의 생체접착제로서 기능이 확인되었으며 향후 산업동물과 반려동물의 생체접착제 사업화 소재로 확인 되었다.</p>	<p>보고서면수 47</p>
--	---------------------

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 양돈장과 같은 집단 사육 환경에서 거세 수술부위의 부적절한 관리는 조직 손상과 함께 2차 세균감염에 의한 경제적 손실을 발생시키며 이에 대한 효과적인 차단 방법이 필요하다. - 이를 위해서는 시간과 경비가 많이 소요되는 고진적인 외과적 봉합 방법 보다는 다두사육 규모의 산업 동물에게 쉽게 적용할 수 있는 생체접착제의 개발사업화가 요구된다. 				
<p>연구개발성과</p>	<p>본 연구에서는 사용된 생체접착제는 (주)메디코젼에서 Ally 2-cyanocrylate를 고온처리한 Ally 2-cyanocrylate prepolymer에 lactide와 caprolactone을 융합시켜서 얻은 poly(DL-lactide-co-caprolactone)로 개발된 “MedicoGlue-A(QureBond)”이다. 개발된 동물용 생체 접착제를 4일령의 포유자돈의 거세수술 부위에 적용하여 생체 적용 가능성을 평가하였다.</p> <ul style="list-style-type: none"> -수술부위조직의 치료제 평가를 위한 병리 조직학적 평가를 통해 생체접착제 적용시 일반적인 거세 수술 처리군보다 수술부위의 괴사 크기가 작게 확인되었다 (p<0.05). - 상처조직의 치료과정에 관여하는 bio-marker의 평가를 통해 수술 후 돼지의 체내에서 진행되는 염증 반응의 표시인자인 Serum Amyloid A2의 농도가 생체접착제 적용군에서 일반적인 거세 수술 처리군보다 낮았다. - 상처조직의 회복과정에 관여하는 bio-marker의 평가를 통해 손상 조직의 복구에 관여하는 prostaglandin E2의 농도가 생체접착제 적용시 일반적인 거세 수술 처리군 보다 높아 수술 부위의 조직 회복작용을 보다 빠르게 진행시킬 수 있다고 평가되었다. 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>국내 양돈장의 현장 평가를 통해 수술 부위의 적용 가능성이 확인된 생체 접착제 “MedicoGlue-A(QureBond)”는 그동안 동물에 적용하는 예가 적었던 국내 축산 현장에 활용할 수 있는 생체 접착제로서 국내 및 국외에 판매할 계획임</p>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>양돈장</p>	<p>거세수술</p>	<p>생체접착제</p>	<p>염증반응</p>	<p>조직회복</p>
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>pig farms</p>	<p>castration</p>	<p>Bio-Glue</p>	<p>inflammation reaction</p>	<p>tissue restore</p>

* 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	6
1-1 연구개발목적	6
2. 연구수행 내용 및 결과	8
2-1 수행내용	8
2-2 수행결과	11
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	38
4. 연구결과의 활용 계획 등	41
붙임. 참고 문헌	44

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

- 양돈장과 같은 집단 사육 환경에서 진행되는 다리의 상처, 단미과정 그리고 거세 부위에 발생하는 국소부위의 조직손상과 2차 세균감염은 축산 현장의 경제적 손실의 원인이 되고 있다. 따라서 이러한 감염 원인에 대한 효과적인 차단 방법이 필요하며 이를 위해서는 시간과 경비가 많이 소요되는 고전적인 외과적 봉합 방법 보다는 다두사육의 산업동물에게 쉽게 적용할 수 있는 생체접착제의 사업화가 요구되고 있다
- 본 연구는 국내 축산 농가의 요구성을 충족시킬 수 있는 국내외 신규성을 보유한 생체접착제의 개발 및 이를 적용한 축산 농가의 경제적 손실을 보완할 수 있는 산업화에 개발 목적을 갖는다.

1-2. 연구개발의 필요성

양돈장에서 발생하는 국소 조직의 손상 발생은 신생자돈의 분만 후 사육과정의 다양한 환경에 의해서 나타난다. 신생 자돈은 분만 후 수일 이내에 양돈장 분만사의 거친 환경에서 다리와 피부에 찰과상을 얻게 되며 그중에서도 다리에 발생하는 찰과상은 심각한 파행과 관절염의 원인이 되고 있다. 이러한 관절염 발생은 어미의 포유 기간 중에도 지속되어 위축돈으로 진행되며 심각한 경제적 손실의 원인이 되고 있다.

또한 양돈장에서는 수태지의 돈육에서 나는 특유의 냄새를 제거해야만 하는 산업측면에서의 불가피성 때문에 거세 방법을 선택하고 있다. 2016년 국내에서 도축된 돼지 총 두수는 16,130 천두이다. 이중 암돼지는 총 8,405천두이며 수태지는 8,141천두였다. 수태지 도축두수는 암돼지보다 264천두가 적었다. 일반적으로 자연상태에서는 수컷이 암컷보다 더 많이 태어나지만 도축된 돼지의 수에서는 264천두가 적었다 (그림1). 생산성의 비교에서 수태지는 암돼지에 비해서 264천두의 손실을 나타내고 있다. 도축된 숫돼지와 암돼지의 숫자 차이는 숫돼지의 종돈 사용에 따른 변수도 있지만, 거세 시행과 관련된 요인도 있을 것으로 추측된다.

거세 후 부적절한 수술 후 관리는 2차 세균 감염에 의한 돼지의 패혈증으로 사망하게 되어 2차적인 경제적 손실의 원인이 될 수 있다. 그러므로 단순한 거세 수술이라 할지라도 실제로 농가에서는 잠재적인 경제적 손실의 원인이 되고 있음을 무시할 수 없다. 따라서 거세의 방법이나 처치가 올바른지 그리고 이와 관련된 경제적 손실 여부도 반드시 점검해볼 필요가 있다.



그림1: 2016년도 국내 돼지 암수도축두수(출처:농림축산검역본부)

양돈장과 같은 집단 사육 환경에서 거세 부위에 발생하는 국소 손상 조직의 보호와 2차 세균 감염에 대한 효과적인 차단 방법이 필요하며 이를 위해서는 고전적인 외과적 봉합 방법 보다는 생체접착제의 적용이 요구되고 있다. 일반적으로 사용되는 고전적인 봉합사를 이용하는 봉합기술의 적용은 많은 두수의 자돈에게 적용시, 장시간의 시술시간과 시술 부위에 대한 효율적인 접근에 많은 장애 요인이 있는 실정이다.

따라서 이러한 문제점을 극복하기 위해서 생체 조직에 생체 접착제를 적용을 위해서는 수술부위에 대한 조직염증과 조직 독성이 극미한 접착제의 개발이 필요하고, 개발된 생체 접착제의 현장 적용시험 평가가 필요하다.

본 연구에서는 동물용 생체접착제로 개발된 “MedicoGlue-A(QureBond)”를 이용하여 양돈장의 수술 조직에 적용하여 손상 조직에 대한 생체접착제의 사업화 가능성을 확인하고자 한다.

가. 생체접착제의 사업화를 위한 평가의 필요성

- 동물에 대한 생체접착제의 적용시 생체의 면역 반응에 관여하는 혈액 세포의 평가를 통해 생체 회복의 능력을 평가할 필요성이 있다.
- 동물에 대한 생체접착제의 적용시 창상기전의 회복에 관여하는 염증 반응의 정도로 평가 할 필요성이 있다.
- 동물에 대한 생체접착제의 적용시 수술 부위의 조직 수복에 관여하는 병리 조직학적 평가의 필요성이 있다.

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1 수행내용

1)원료준비

생체접착제: 참여기관인 (주)메디코젬에서 개발한 “MedicoGlue-A(QureBond)”는 Ally 2-cyanocrylate를 고온처리한 Ally 2-cyanocrylate prepolymer에 lactide와 caprolactone을 융합시켜서 얻은 poly(DL-lactide-co-caprolactone)로서 거세수술 부위의 생체 접착제로서 준비 적용하였다.

2)실험동물: 포유자돈 숫컷돼지(랜드레이스)를 일반적인 고전적 수술방법 적용군(대조군)과 생체접착제 적용군으로 각각 10마리씩 편성하였다. 편성된 시험군은 전남대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 관리 기준에 따라 사육하였다. (동물실험승인번호:CNU IACUC-YB-2017-79).

3)실험설계: 4일령의 포유자돈을 대상으로 거세수술을 실시하였다. 대조군에 대한 수술부위 처리는 일반적으로 양돈장에서 사용하는 aluminium powder와 liquid paraffin 제제를 스프레이 방법으로 처리하는 일반시술적용(이하 conventional surgery spray라 칭함)방법을 적용하였다. 그리고 생체접착제 처리군의 수술부위 처리는 (주)메디코젬에서 생산한 생체접착제 “MedicoGlue-A(Qure-Bond)”를 이용하여 적용(이하 Bio-Glue라 칭함)하였다.

4)수술부위조직의 치료제 평가를 위한 조직학적 평가

각각의 수술부위에 일반시술적용 (conventional surgery spray)과 생체접착제적용(Bio-Glue)을 실시한 후 3, 7일째에 조직 상피의 재생 정도를 관찰 하였다. 수술 3, 7일째에 적용 부위를 도려낸 후 포름 알데하이드에 고정시킨 후 Hematoxylin-Eosin 염색을 하여 조직 검사를 시행하여 상피화 정도, 상처부위의 염증세포 존재유무, 진피 층의 콜라겐 matrix의 재생정도 및 배열의 규칙성 등을 조사하여 비교 평가하였다.

5)수술부위의 병리조직학적 검사

각각의 실험돈에서 채취한 조직을 10% 중성 포르말린에 고정시켰다. 고정된 장기 및 조직은 상법에 준하여 파라핀 봉입 후에 3 μ m로 세절하였다. 조직 절편은 xylene을 통하여 탈파라핀 하였고, 각급 알코올과 수세를 통하여 재함수 하였다. 재함수된 절편은 Hematoxylin & Eosin 염색과 Masson trichrome 염색을 하였고, 각급 알코올을 통하여 탈수와 xylene을 통하여 중합과 봉입을 한 후 광학현미경으로 조직학적 검사를 수행하였다.

6)피부병변 수치화 및 통계학적 평가

광학현미경 DCC camera로 촬영한 피부병변의 면적을 수치화하기 위해 ImageJ (NIH software, <https://imagej.nih.gov/ij/>)를 이용하였다. 피부병변의 면적을 mm²으로 환산시킨 뒤, 각 병변 지표에 따라 피사부위, 미성숙 육아종성 조직, 성숙 육아종성 조직의 면적을 구하였다. 현미경에서 픽셀 단위로 촬영된 궤양 병변의 길이도 ImageJ를 이용해 길이로 환산하였다. 이러한 모든 검사 결과 치는 GraphPad Prism 5.00(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)를 통해 mean \pm S.E.M로 나타내었고, 이를 Tukey's multiple comparison test(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)로 통계 처리하여 p<0.05 수준에서 유의성을 검증하였다.

7)상처조직의 염증과정 치료에 관여하는 면역관여 혈액세포와 bio-marker의 평가

각각 창상부위에 각각의 수술 창상부위에 일반시술적용 (conventional surgery spray)과 생체접착제적용(Bio-Glue)후 3, 7일째에 자돈의 경정맥에서 채혈하여 EDTA처리한 후 백혈구와 호중구, 림프구, 단핵구 및 호산구의 수를 자동혈구계산기(HEMAVET 950, Drew Scientific Inc, USA)를 이용하여 평가하였다.

또한 염증반응에 관여하는 bio-marker인 Acute Phase Protein의 농도수준의 특성을 파악하기 위하여 일반시술적용 (conventional surgery spray)과 생체접착제적용(Bio-Glue)후 3, 7일째에 경정맥에서 채혈하여 EDTA처리한 후 혈장을 분리하여 혈장내 Haptoglobin, Serum AmyloidA, PGE2 그리고 TGF- β 의 농도 수준을 ELISA kit (LS Bio, LifeSpan BioSciences, USA)를 이용하여 평가하였다. 군별 평가 수준은 Tukey's multiple comparison test(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)로 통계 처리하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

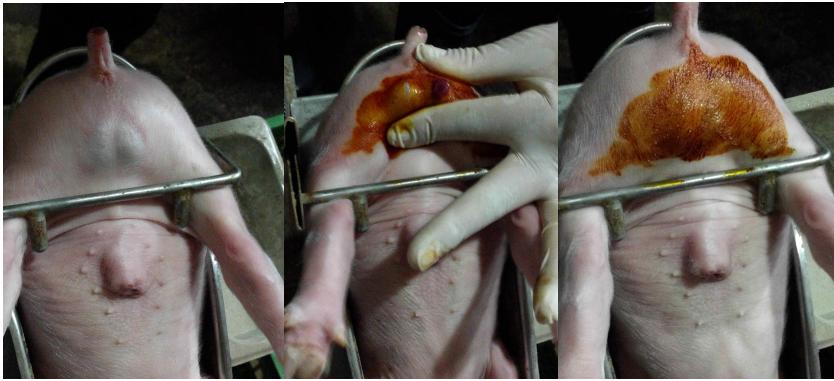
8) 자돈의 증체율 평가

창상 치료를 목적으로 하는 봉합시술 적용그룹과 동물용 생체 접착제 적용 그룹에 대한 증체율은 시술 후 1, 2주 까지 사료 급여한 몸무게 측정을 통해 증체율을 비교 평가하였다.

2-2 수행결과

1) 거세수술 부위에 대한 육안적 소견

4일령의 웅돈에 대한 거세수술 후 (Fig.1.1 A,B,C,D,E) 수술부위에 일반시술적용 (conventional surgery spray, Fig.1.2)과 생체접착제를 적용(Bio-Glue, Fig.1.3)하였다. 수술 후 3, 7일째에 조직 상피의 재생정도와 육안적 염증반응 정도를 확인하였다(Fig.1.4). 일반시술적용군 (conventional surgery spray, Fig.1.4-A)의 수술 부위는 생물접착제를 적용군(Bio-Glue, Fig.1.4-B) 보다 더 육안적으로 염증소견이 확인되었으며 촉진 시 딱딱한 이물감을 확인 할 수 있었다 (Fig 1,4A). 육안적 평가를 통해 확인 된 수술 부위에서 생검 채취방법으로 해당 조직을 채취하였다 (Fig.1.5).



(A) (B) (C)



(D) (E)

Fig.1.1. Procedures of castration surgery: squeezing the testicle for castration (A,B,C) and showing the ligament attachment the the tail of the epididymus (D,E).



Fig. 1.2. Application of conventional surgery spray to castrated surgery wound area.

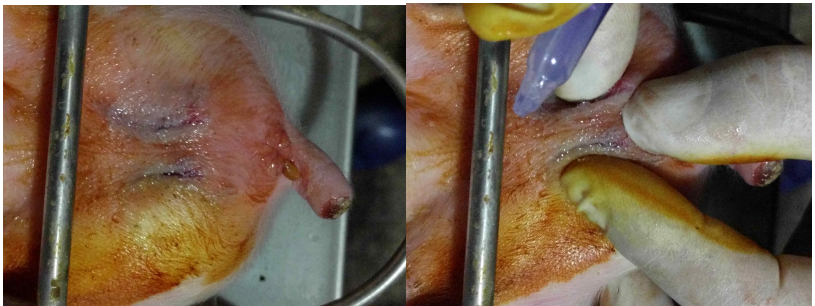


Fig. 1.3. Application of Bio-Glue to castrated surgery wound area.



(A)

(B)

Fig. 1.4. Healing area of castrated area which treated with conventional surgery spray (A) and Bio-Glue(B). Conventional surgery spray treat shows more severe inflammation than Bio-Glue treatment.



Fig.1.5. Biopsy procedure from healed wound area to histopathological diagnosis.

2) 거세수술부위 조직의 치료제 평가를 위한 병리조직학적 소견 및 평가

시술된 거세수술 부위에 일반시술적용과 생체접착제를 적용시킨 후 피부의 기본적인 병리조직학적 소견을 평가하였다. 일반시술적용과 생체접착제 적용 후 3일째에 채취한 실험돈의 피부의 중심부는 괴사된 호중구 및 세포 찌꺼기로 구성된 괴사물질과 이 주위를 섬유모세포, 혈거운 콜라겐 및 신생 혈관으로 구성된 미성숙 육아종성 조직(immature granulation tissue)에 의해 구성되었다.

중심부의 괴사부위와 변연부의 육아종성 조직병변 사이에서 경미한 부종 내에 호중구의 침윤이 관찰되었다. 형성과 종이 형성 상피 조직은 일반 시술적용과 생체 접착제 처치군 모두에서 재생이 되어 있지 않고 궤양으로 남아있었다(Fig. 2.1).

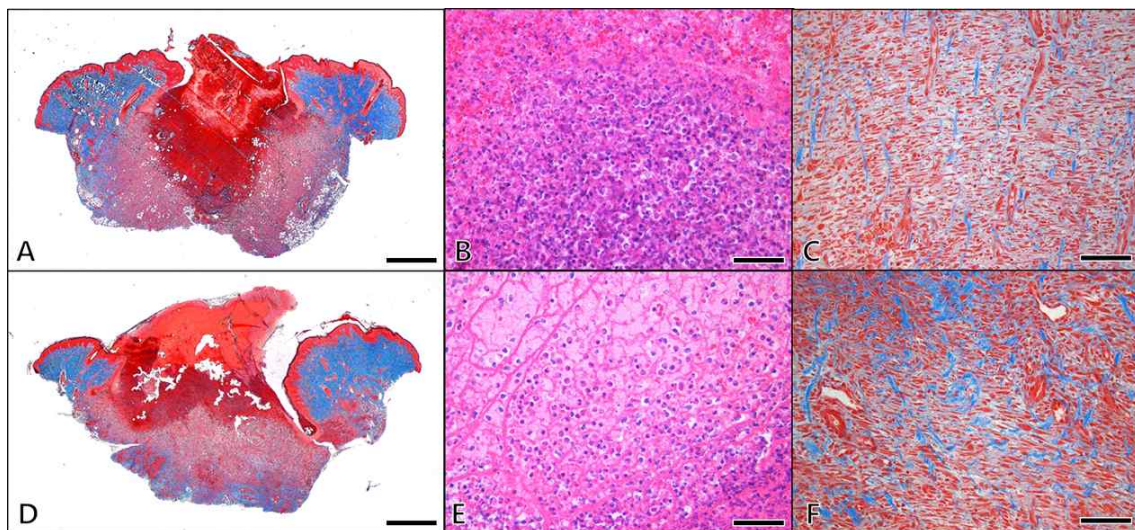


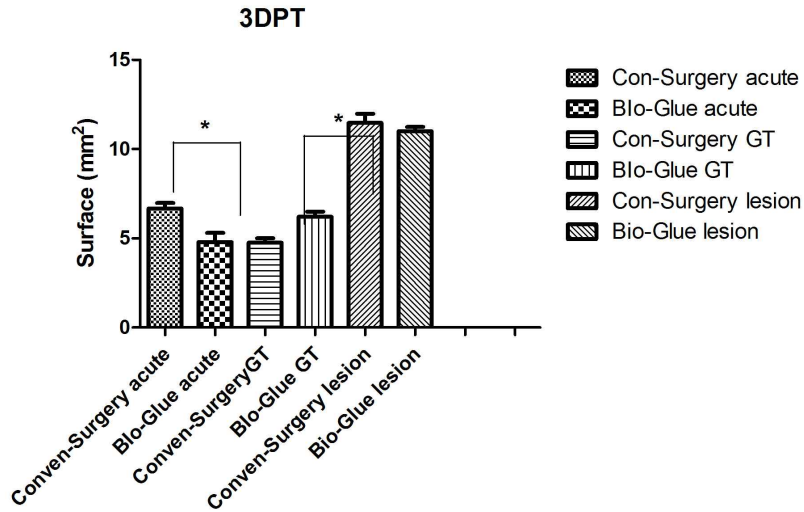
Fig. 2.1. Histopathological findings of scrotal skin lesions, pigs. Scrotal skin tissues of experimental pigs stitched up by conventional surgery spray (A-C) or bioglue (D-F) after scrotal incision were sampled at 3 days post-treatment. (A and D) Skin lesions showed central necrotic area and peripheral immature granulation tissues. (B and E) High magnification of central necrotic areas. (C and F). High magnification of peripheral immature granulation tissues. Note scarce production of collagens appeared in blue color. Masson trichrome stain (A, C, D, and F) and Hematoxylin and eosin stain (B and D). Scale bars, A and D = 1200 µm, B, C, E and F = 100 µm.

상술한 일반시술적용군과 생체접착제 적용군의 병변에서 각각 관찰된 중심부의 괴사 및 변연부의 육아종성 조직의 크기와 상피의 궤양길이를 대상으로 통계학적으로 분석하였다. 그 결과 일반시술적용군에서 관찰된 중심부 괴사 병변은 $6.675 \pm 0.30 \text{ mm}^2$ 이었으며, 생체접착제적용군에서는 $4.792 \pm 0.52 \text{ mm}^2$ 이었다.

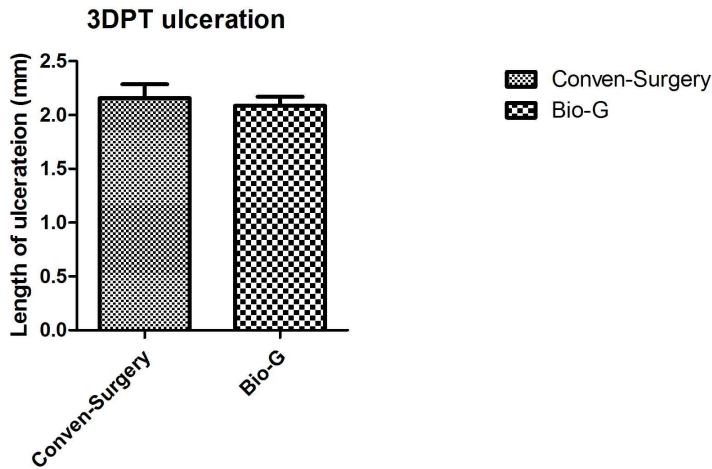
생체접착제 적용군의 중심부 괴사 크기는 일반시술적용군에 비해 작았으며 통계학적으로도 유의성이 확인되었다($p < 0.05$).

변연부의 미성숙 육아종성 조직의 크기를 측정된 결과 일반시술적용군은 $4.758 \pm 0.25 \text{ mm}^2$ 이었으며, 생체접착제적용군에서는 $6.208 \pm 0.28 \text{ mm}^2$ 이어서 통계학적으로는 일반시술적용군 처치군이 생체접착제 적용 처치군에 비해 역의로 유의성이 있었다($p < 0.05$). 생체접착제적용군의 미성숙육아종성 부위가 큰 것은 이들 구성성분인 콜라겐, 신생혈관의 구성이 더 많이 분포되고 있음을 나타내며 이들은 향후 손상된 조직의 빠른 회복에 관련성이 있을 것으로 생각된다.

상피부위 궤양의 길이를 일반시술적용군 및 생체접착제적용군에서 비교한 결과, 일반시술적용군에서는 $2.187 \pm 0.22 \text{ mm}^2$ 이었고 생체접착제적용군에서는 $2.141 \pm 0.19 \text{ mm}^2$ 였다. 생체접착제적용군이 일반시술적용군보다 짧았지만, 통계학적 유의성은 없었다(Fig. 2.2).



(A)



(B)

Fig. 2.2. Comparison of sizes of necrotic area, granulation tissues, and overall lesion (A) and length of ulceration (B) found in the skin lesions induced by artificial incision and then sealed by conventional surgery or bioglue. Error bars indicate SEM from 3 samples. $*p < 0.05$. Conventional surgery acute, lesions consisting of central necrotic debris and peripheral edema and neutrophil infiltration; Bioglue acute, lesions consisting of central necrotic debris and peripheral edema and neutrophil infiltration; Conventional surgery GT, lesions consisting of granulation tissue (GT); Bioglue GT, lesions consisting of GT; Conventional surgery lesion, total lesions of central necrotic debris and peripheral GT; Bioglue lesion, total lesions of central necrotic debris and peripheral GT.

상술한 내용과 같이 동일하게 수술 후 7일째에 채취한 생검 조직에 대해 일반 시술적용군 및 생체접착제 적용으로 봉합 시술된 거세수술 부위 피부의 기본적인 병리조직학적 소견을 평가하였다.

수술 후 7일째에 채취한 실험군 각각의 피부 병변은 섬유모세포, 헐거운 콜라겐 및 신생 혈관으로 구성된 미성숙 육아종성 조직에 의해 대체되었다. 일부의 육아종성 조직은 조밀한 콜라겐이 침착된 성숙 육아종성 조직(mature granulation tissue)으로 대체되었다(Fig. 2.3).

또한 일반시술적용 시술 및 생체접착제 적용 처치군의 일부 돼지 병변의 상단 부위에서는 상피세포의 재생에 의해 궤양이 관찰되지 않았다. 하지만, 상피세포 재생이 되지 않은 돼지의 피부 상단부위 병변은 괴사된 호중구 및 조직세포에 의해 덮여있었다(Fig. 2.3).

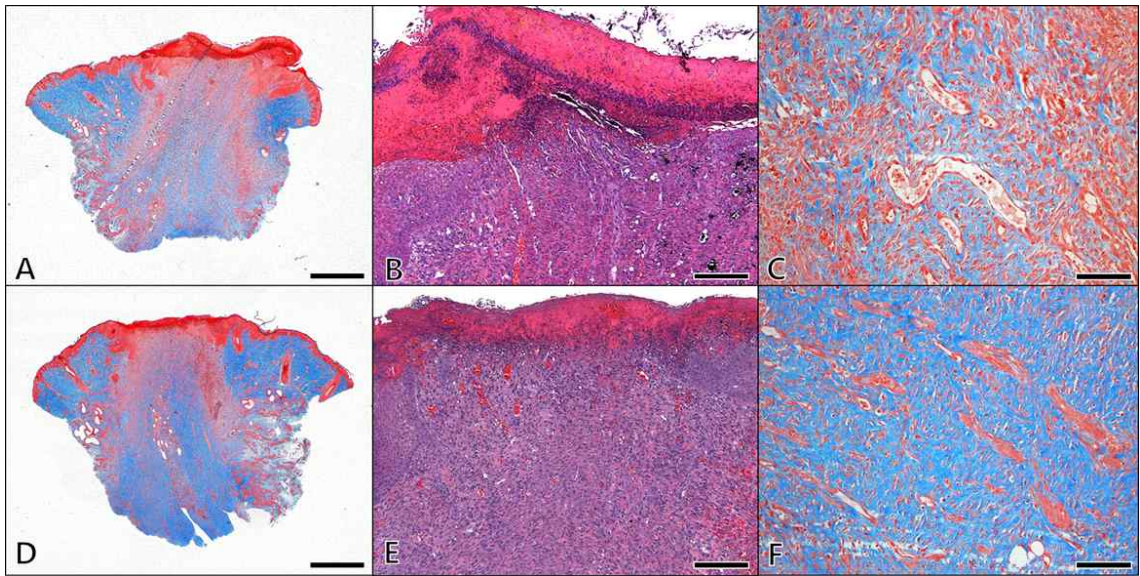


Fig. 2.3. Histopathological findings of scrotal skin lesions, pigs. Scrotal skin tissues of experimental pigs stitched up by Conventional Surgery spray (A-C) or bioglue (D-F) after scrotal incision were sampled at 7 days post-treatment. (A and D) Skin lesions consisted of surface ulcer lesion and below successive granulation tissues. (B and E) High magnification of surface ulcer lesions and below granulation tissues. (C and F). High magnification of granulation tissues. Note heavy collagen production (seen as blue in color) observed in the mature granulation tissue of skin tissue sampled from experimental pig stitched up by bioglue after incision in comparison with that from pigs stitched up by Conventional Surgery spray after incision. Masson trichrome stain (A, C, D, and F) and Hematoxylin and eosin stain (B and D). Scale bars, A and D = 1200 μm , B and E = 200 μm , C and F = 100 μm .

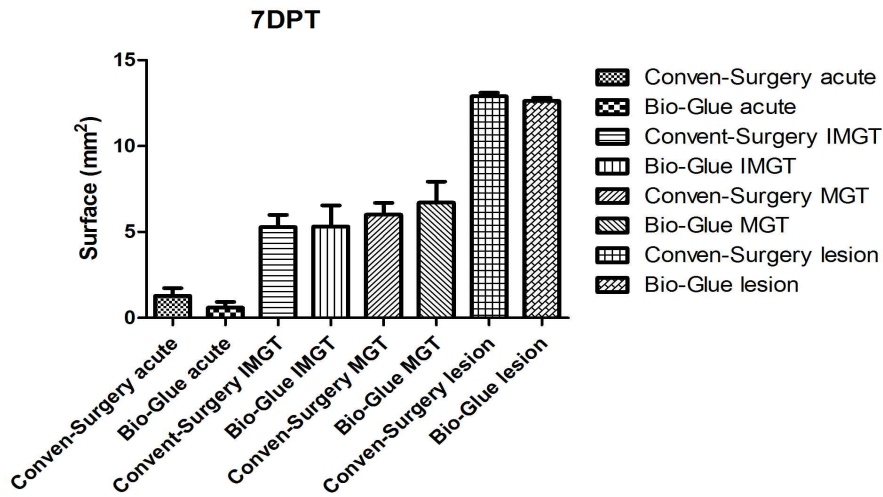
상술한 일반시술적용군 및 생체접착제 적용군에서 처치 후 7일째에 채취한 조직의 궤양부위 괴사조직의 크기 및 궤양의 길이, 미성숙 및 성숙 육아종성 조직의 크기를 대상으로 통계학적으로 분석하였다.

그 결과 일반시술적용군에서 관찰된 궤양부위의 괴사조직의 크기는 $1.276 \pm 0.46 \text{ mm}^2$ 이었고, 생체접착제적용군에서는 $0.593 \pm 0.34 \text{ mm}^2$ 이었다. 생체접착제적용군이 일반시술적용군에 비해서 괴사조직의 크기가 적었으나 통계학적 의의는 관찰되지 않았다.

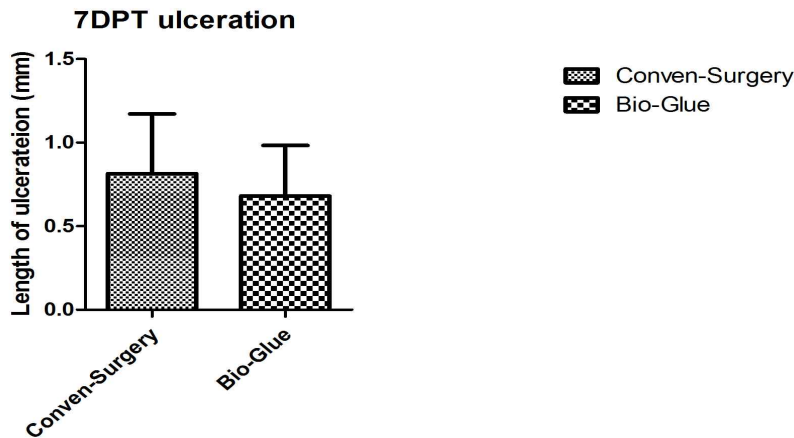
궤양부위의 길이에 대하여 분석한 결과, 일반시술적용군은 $0.814 \pm 0.36 \text{ mm}^2$ 이었고, 생체접착제적용군에서는 $0.681 \pm 0.30 \text{ mm}^2$ 이었다. 생체접착제적용군이 일반시술적용군에 비해서 괴사조직의 길이가 적었으나 통계학적 의미는 관찰되지 않았다.

미성숙 육아종성 조직의 크기를 비교한 결과 일반시술적용군은 $5.29 \pm 0.70 \text{ mm}^2$ 이었고, 생체접착제적용군에서는 $5.323 \pm 1.22 \text{ mm}^2$ 이었다. 생체접착제적용군에서 조직회복에 관여하는 미성숙 육아종의 분포가 더 크게 분포하였으나 통계학적 유의성이 관찰되지 않았다.

성숙 육아종성 조직의 크기를 비교한 결과 일반시술적용군은 $6.001 \pm 0.68 \text{ mm}^2$ 이었고, 생체접착제적용군에서는 $6.702 \pm 1.23 \text{ mm}^2$ 이었으나 성숙 육아종의 분포에 있어서 통계학적 유의성은 관찰되지 않았다. (Fig. 2.4).



(A)



(B)

Fig.2.4. Comparison of sizes of necrotic area, granulation tissues, and overall lesion (A) and length of ulceration (B) found in the skin lesions induced by artificial incision and then sealed by Conventional Surgery spray or bioglu. Error bars indicate SEM from 4 samples. Conventional Surgery spray acute, superficial ulceration lesions with necrotic debris; Bioglu acute, superficial ulceration lesions with necrotic debris; Conventional Surgery spray IMGT, lesions consisting of immature granulation tissue (IMGT); Bioglu IMGT, lesions consisting of IMGT; Conventional Surgery spray MGT, lesions consisting of mature granulation tissue (MGT); Bioglu MGT, lesions consisting of MGT; Conventional Surgery spray lesion, total lesions of superficial necrotic debris and below GT; Bioglu lesion, total lesions of superficial necrotic debris and below GT.

3) 상처조직의 치료과정에 관여하는 bio-marker의 평가

(1)시술 자돈의 혈액 세포 분석

수술 창상부위에 대한 일반시술적용 처리 (conventional surgery spray)와 생체 접착제 처리(Bio-Glue)후 3, 7일째에 경정맥에서 채혈(Fig.3.1)하여 EDTA처리한 후 자동혈구 계산기 (HEMAVET 950, Drew Scientific Inc, USA)를 이용하여 백혈구와 호중구, 림프구, 단핵구 및 호산구의 분포수를 평가하였다.



Fig. 3.1. Blood collection from the anterior vena cava from 3 days and 7 days post catratated pigs.

Neutrophil(호중구)은 일반적인 식세포작용을 수행하며, Lymphocyte(림프구)는 특이적 면역반응에 관여하며, Monocyte(단구)는 식세포작용과 대식세포 및 수지상세포로 변화하는 과정을 갖는다. 또한 Eosinophil(호산구)는 주로 기생충과 같은 항원에 대해 반응한다. 그리고 Basophil(호염구)는 큰 진핵생물 침입에 반응하며 다른 백혈구를 끌어들인다.

수술 창상부위에 대한 일반시술적용 처리군과 생체접착제 처리후 3, 7일째에 돼지의 체내에서 일어나는 비특이적 면역반응으로서 역할을 수행하는 백혈구 중 Neutrophil(호중구)의 수치를 비교 평가하였다.

수술 3일째에 확인된 Neutrophil(호중구)의 숫자는 생체접착제 적용(5.51 ± 1.26)이 일반시술적용 (4.41 ± 1.58) 보다 많았으나 통계적인 유의성은 확인되지 않았다 (Table 3.1).

또한 수술 7일째에 확인된 Neutrophil(호중구)의 숫자는 생체접착제 적용(4.75 ± 1.32)이 일반시술적용 (3.38 ± 1.12) 보다 많았으나 통계적인 유의성은 확인되지 않았다 (Table 3.1).

수술 3일째에 확인된 Monocyte(단구)의 숫자는 생체접착제 적용(0.92 ± 0.56)이 일반시술적용 (0.76 ± 0.718) 보다 많았으나 통계적인 유의성은 확인되지 않았다 (Table 3.1).

또한 수술 7일째도 확인된 Monocyte(단구)의 숫자는 생체접착제 적용(0.91 ± 0.33)이 일반시술적용 (0.98 ± 0.42) 과 유사한 분포를 나타내었다 (Table 3.1).

국소 손상 부위의 염증반응에 관여하는 Neutrophil(호중구) 반응은 수술 3일째, 7일째에 모두 생체접착제 적용이 일반시술적용 보다 높았다. 또한 국소 손상 부위의 염증반응에 관여하는 Monocyte(단구)의 출현 반응에서는 수술 3일째에 모두 생체접착제 적용이 일반시술적용 보다 높았으나 수술 7일째에는 유사한 수치를 나타내었다.

Table 3.1. Hematological values of castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 3 days post castration surgery ($\times 10^9/l$)

Group	WBC	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte	Eosinophil	Basophil
Conventional Surgery Spray	19.5±9.23	4.41±1.58	13.39±7.65	0.76±0.718	0.88±0.49	0.034±0.01
Bio-Glue	20.6±5.90	5.51±1.26	12.61±5.74	0.92±0.56	1.50±0.62	0.064±0.04

Table 3.2. Hematological values of castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 7 days post castration surgery ($\times 10^9/l$)

Group	WBC	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte	Eosinophil	Basophil
Conventional Surgery Spray	17.33±6.01	3.38±1.12	12±4.74	0.98±0.42	0.95±0.26*	0.034±0.02
Bio-Glue	14.92±2.82	4.75±1.32	7.71±3.38	0.91±0.33	1.47±0.63*	0.6±0.02

Fig. 3.2. Hematological values of castrated piglets which treated with coventional surgery spray and bio-glue in 3 days post catration surgery ($\times 10^9/l$)

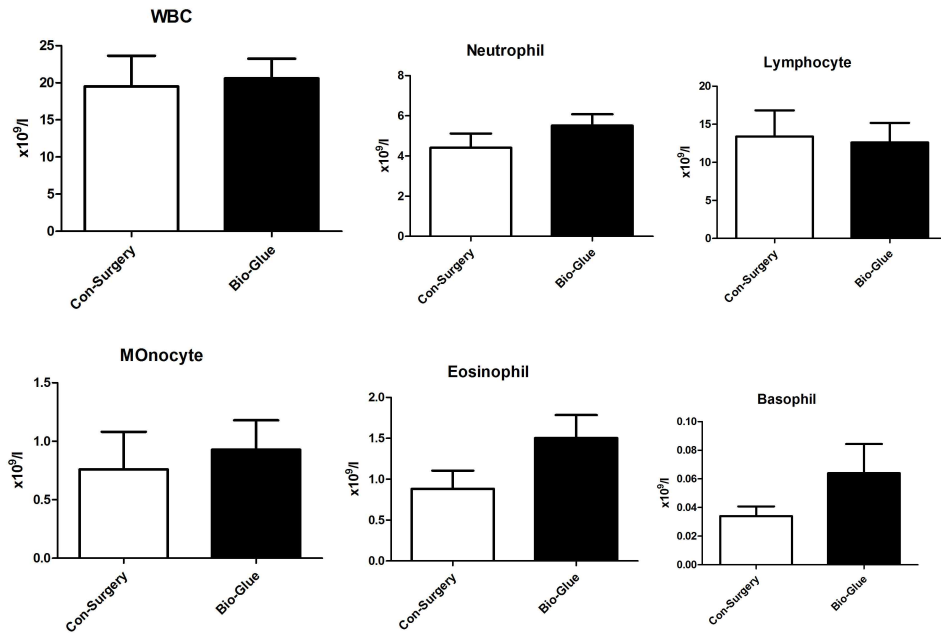
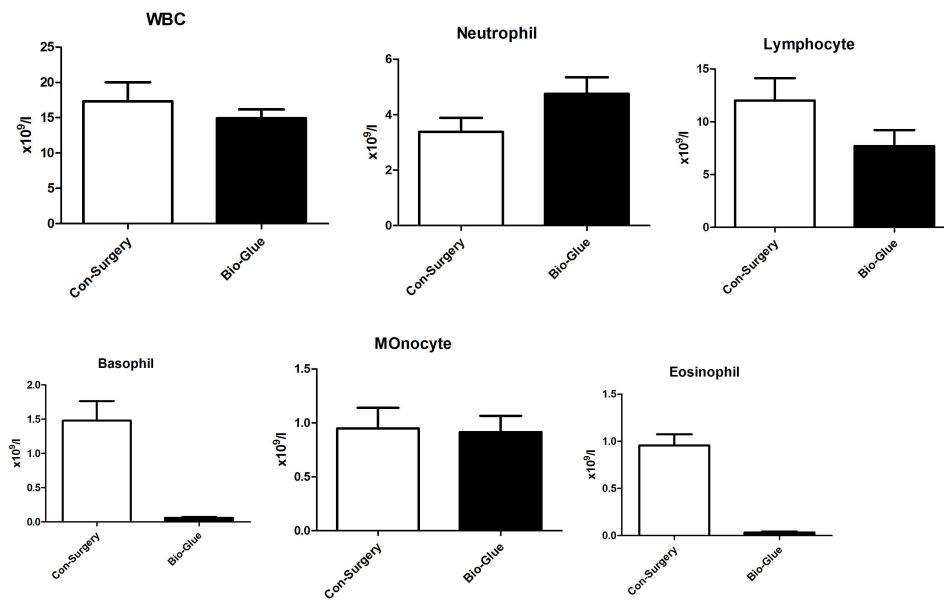


Fig. 3.3. Hematological values of castrated piglets which treated with coventional surgery spray and bio-glue in 7 days post catration ($\times 10^9/l$)



(2) Bio-marker를 이용한 거세 자돈의 급성기 단백질의 분석

조직손상, 염증반응, 그리고 감염에 대한 동물의 초기 방어기전을 급성기반응 (acute phase response)라고 부르며 이들은 외부 인자들에 대해서 노출될 때 동물의 체내에서 단시간에 유발되는 전신적 반응의 복합체이다.

이러한 복합체 성분중의 하나인 acute phase protein은 간에서 생산되며 혈청에서도 증가된다. 혈청에서 증가된 이들 단백질은 외부의 자극 요인이 제거될 때에는 원래의 상태로 감소된다.

급성기단백질(Acute phase protein)은 염증 반응의 존재, 정도 그리고 소멸을 표시하는 잠재적인 지표이다. 따라서 다양한 질병의 진단, 예후판정 그리고 관찰 (monitoring)에 급성기단백질은 유용한 지표로 사용되고 있다.

Haptoglobin, Serum amyloid A와 같은 acute phase protein은 돼지와 같은 산업동물에서 건강상태를 확인해 주는 비특이적(non-specific)지표가 되고 있다. 이들 단백질은 유방염과 같은 염증 반응, 그리고 세균성 원인에 의한 호흡기 감염에서도 확인된다. Haptoglobin, Serum Amyloid A는 대표적인 급성기단백질로서 염증 반응의 시작되는 시점에서 매우 높은 반응을 나타낸다.

본 연구에서는 거세수술 후 일반시술적용 (conventional surgery spray)과 생체접착제 적용(Bio-Glue)후 국소 조직 손상 부위에서 일어나는 염증 반응의 정도를 혈장내 Haptoglobin, Serum Amyloid A의 농도로 확인하였다.

수술 3, 7일째에 자돈의 경정맥에서 채혈된 혈액에서 분리된 혈장을 이용하여 염증매개 급성단백질인 Haptoglobin과 Serum AmyloidA의 생성 농도 수준을 ELISA kit(LS Bio, LifeSpan BioSciences, USA)를 이용하여 평가하였다. 혈장 내 Haptoglobin, serum AmyloidA 농도는 ELISA 표준 농도 곡선 (Fig 3.4, Fig 3.5)을 이용하여 산출하였다.

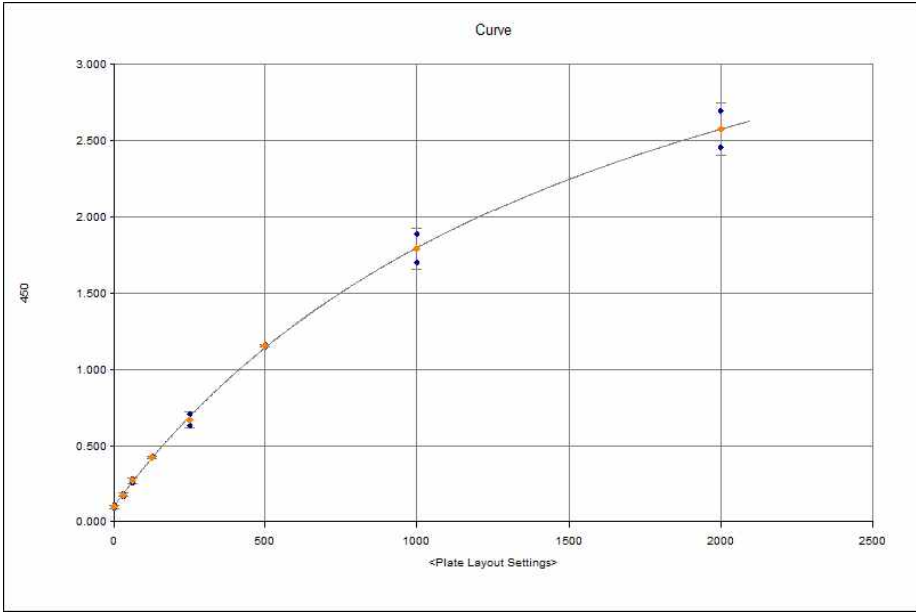


Fig. 3.4. Haptoglobin standard curve for test sample.

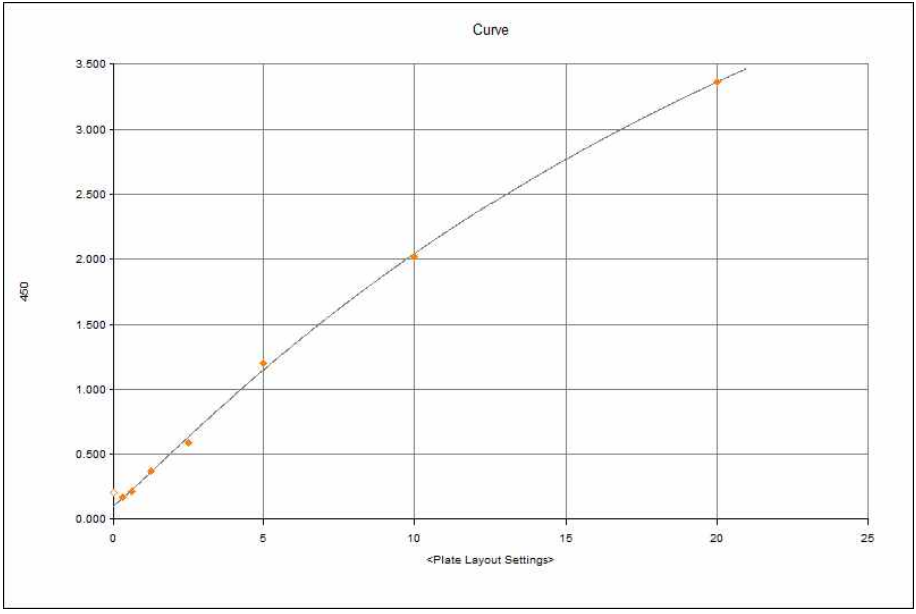


Fig. 3.5. serum Amyloid A2 standard curve for test sample.

거세 수술 후 3일째에 확인된 Serum Amyloid A2의 농도는 일반시술 적용군에서 1.02 ± 0.93 이었으며 생체접착제 처리 군의 0.97 ± 0.78 보다 높았다. 또한 수술 7일째에서도 Serum Amyloid A2의 농도는 일반시술 적용군에서 348.45 ± 78.34 이었으며, 생체접착제 처리 군의 244.51 ± 94.54 보다 높았다 (Table 3.3).

따라서 일반시술 적용 방법으로 처리된 일반적인 거세 수술 처리방법은 생체접착제 처리군보다 심한 염증 반응이 생체내에서 진행되고 있다는 것을 추측할 수 있다 (Fig 3.8-A). 이러한 반응은 병리 조직학적 평가에서도 중심부의 심한 괴사 병변과 상응하는 결과로 생각된다.

Table 3.3. Serum amyloid A levels in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 3 days and 7 days post castration

Group	3 days post castration (ng/ml)	7 days post castration (ng/ml)
Convent Surgery Spray	1.02 ± 0.937	348.45 ± 78.34
Bio-Glue	0.97 ± 0.78	244.51 ± 94.54

급성기 단백질(acute phase protein) Haptoglobin의 수준의 경우 수술 후 3일째에서 Bio-glue 처리군이 77.14 ± 20.85 이었고, 일반시술적용 처리군에서는 75.81 ± 18.47 로 유사한 농도를 나타내었다 (Table 3.3.Table 3.4). 7일째의 Haptoglobin은 생체접착제 처리군이 92.72 ± 15.01 로서 일반시술 적용 처리군의 100.45 ± 11.55 과 유사한 농도수준을 나타내었다 (Table 3.4) (Fig 3.10-B).

Table 3.4. Haptoglobin levels in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 3 days and 7 days post castration

Group	3 days post castration (ng/ml)	7 days post castration (ng/ml)
Convent Surgery Spray	75.81 ± 18.47	100.45 ± 11.55
Bio-Glue	77.14 ± 20.85	92.72 ± 15.01

(3) 거세시술 자돈의 조직 회복에 관여하는 cytokine의 분석

수술 부위의 손상된 조직 일반시술적용 (conventional surgery spray)과 접합적용(Bio-Glue)후 국소 조직의 회복에 관여하는 cytokine의 발현 정도를 평가하였다.

수술 후 3, 7일째에 자돈의 경정맥에서 채혈된 혈액에서 분리된 혈청을 이용하여 PGE2 그리고 TGF- β 의 생성 수준을 ELISA kit(LS Bio, LifeSpan BioSciences, USA)를 이용하여 평가하였다. 혈청내 PGE2 그리고 TGF- β 의 농도는 ELISA 표준 농도 곡선을 이용하여 산출하였다 (Fig3.6, Fig3.7).

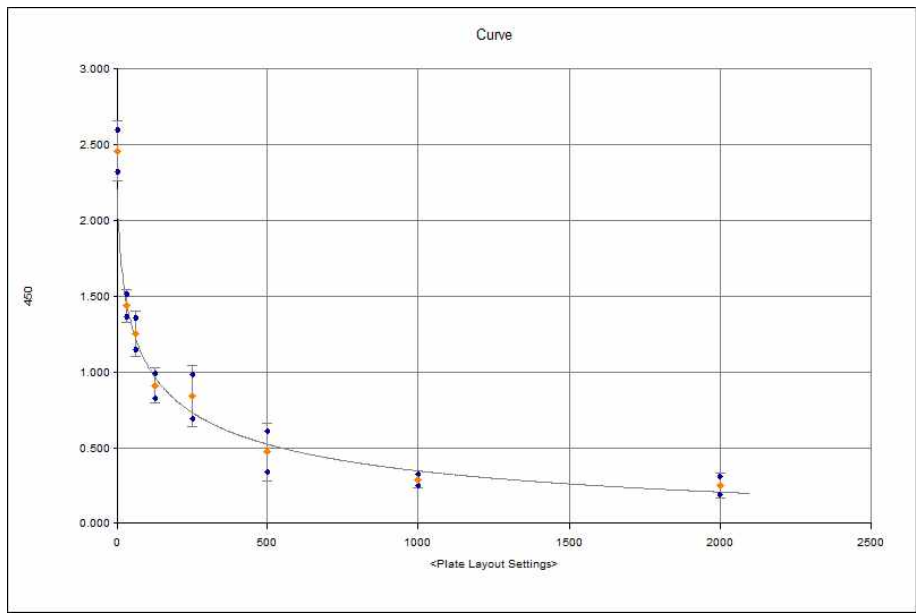


Fig. 3.6. Prostaglandin E2 standard curve for test sample.

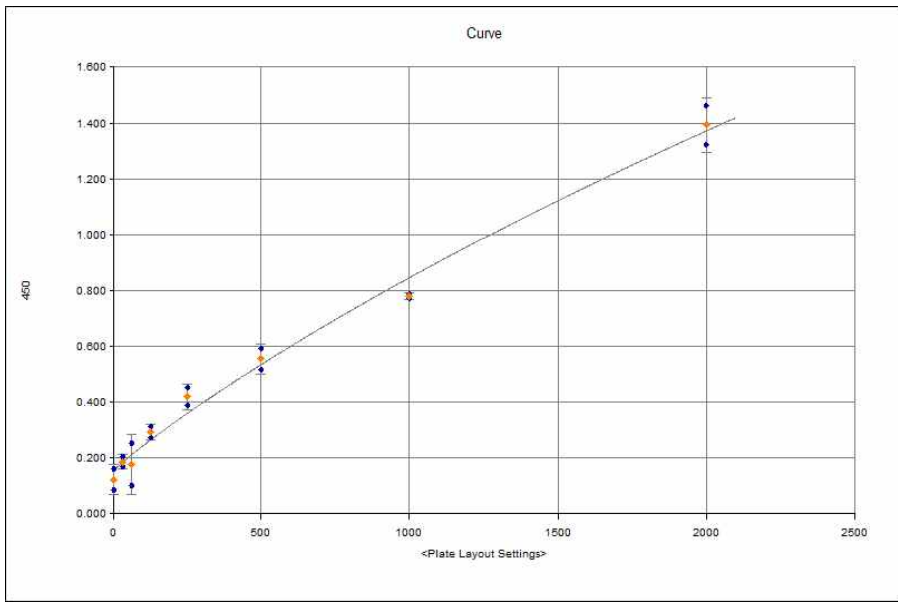


Fig. 3.7. TGF beta1 standard curve for test sample.

PGE2 는 손상된 조직 부위에서 염증반응에 관여하는 세포들의 동원을 활성화시키며 2차적으로 섬유아세포의 활성을 유도하여 조직 손상 부위를 회복시키는 역할을 한다.

거세 수술 후 3일째에 확인된 prostaglandin E2의 농도는 생체접착제 처리군에서 321.17 ± 136.52 로서 일반시술 적용 처리군의 225.68 ± 71.32 보다 높았다 (Table3.5).

생체접착제 처리군의 높은 prostaglandin E2 농도는 수술 부위의 조직 회복작용을 일반시술 적용 처리군보다 빠르게 진행시킬 수 있다고 평가된다.

TGF Beta1은 epidermal growth factor (EGF), 그리고 fibroblast growth factor (FGF)와 함께 염증 반응을 촉진 시키고 화학유주성을 증가시켜서 상피세포의 이주를 촉진시켜 손상된 조직을 회복시키는 작용을 한다.

거세 수술 후 7일째에 확인된 TGF β 1의 농도는 생체접착제 처리군에서 94.24 ± 37.25 로서 일반시술 적용 처리군의 81.30 ± 38.04 보다 높았다 (Table3.6).

생체접착제 처리군은 일반시술 적용 처리군보다 수술 부위의 조직 회복작용을 빠르게 진행시킬 수 있다고 평가된다.

국소조직의 섬유아세포의 활성을 유도하고 상피세포의 이주를 촉진시켜 손상된 조직을 회복시키는 PGE2와 TGF β 1의 농도가 생체접착제 처리군에서 일반시술 적용 처리군보다 높게 확인되었다. 이러한 반응은 병일 조직학적 평가의 미성숙 육아종의 구성성분과 관련하여 국소조직의 회복에 관련되는 결과로 생각된다.

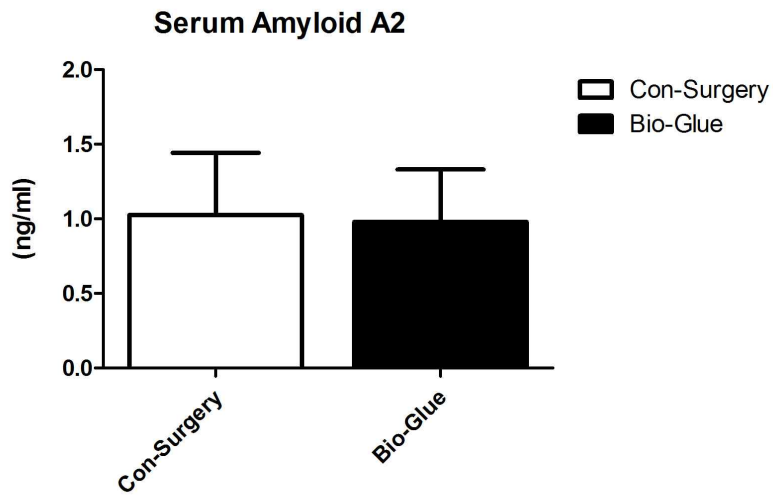
Table 3.5. Prostaglandin E2 levels in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 3 days and 7 days post castration surgery

Group	3 days post castration (pg/ml)	7 days post castration (pg/ml)
Convent Surgery Spray	225.68±71.32	347.62±72.57
Bio-Glue	321.17±136.52	258.70±96.31

Table 3.6. TGFβ1 levels in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 7 days post castration surgery

Group	3 days post castration (pg/ml)	7 days post castration (pg/ml)
Convent Surgery Spray	107.81±16.26	81.30±38.04
Bio-Glue	81.30±38.04	94.24±37.25

Fig. 3.8. Serum amyloid A levels in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 3 days post castration (A) and 7 days post castration surgery (B).



(A)

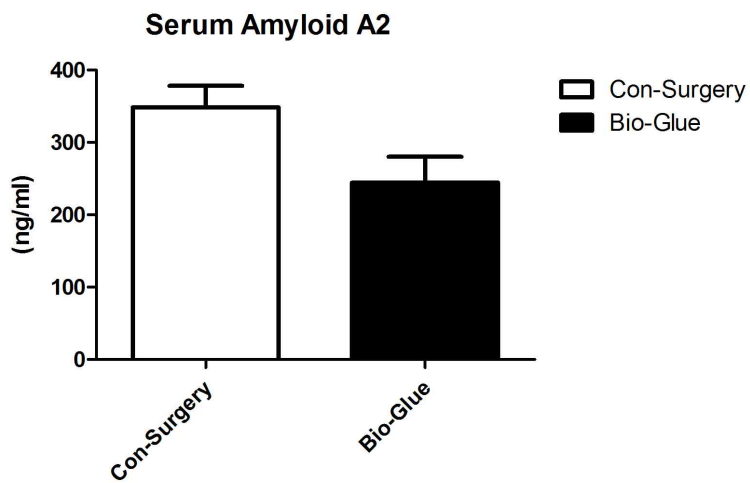
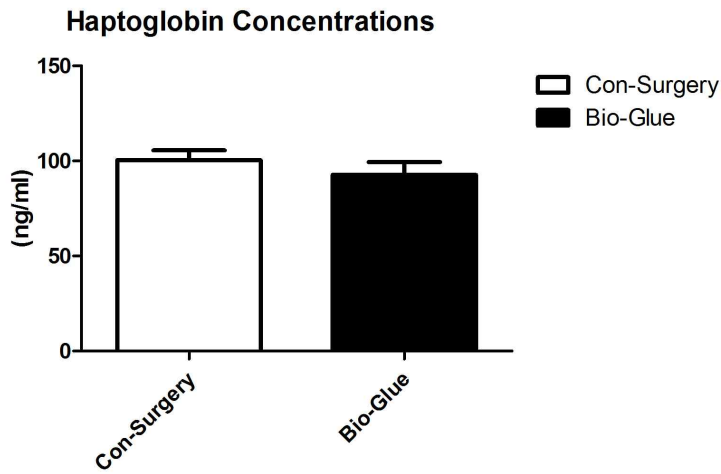
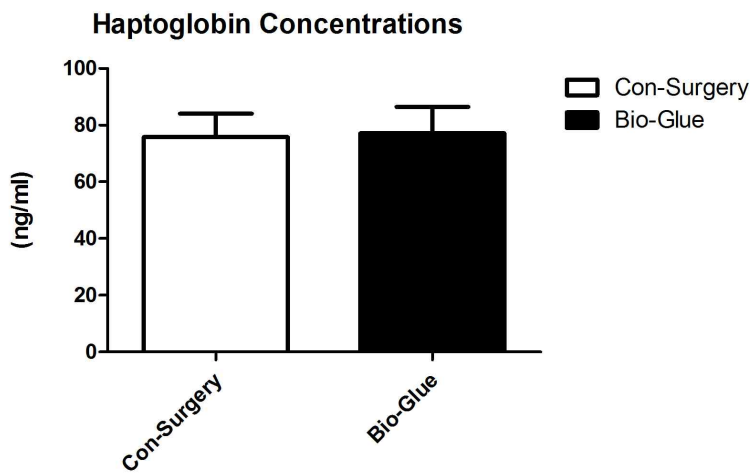


Fig. 3.9. Haptoglobin levels in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 3 days post castration (A) and 7 days post castration surgery (B).

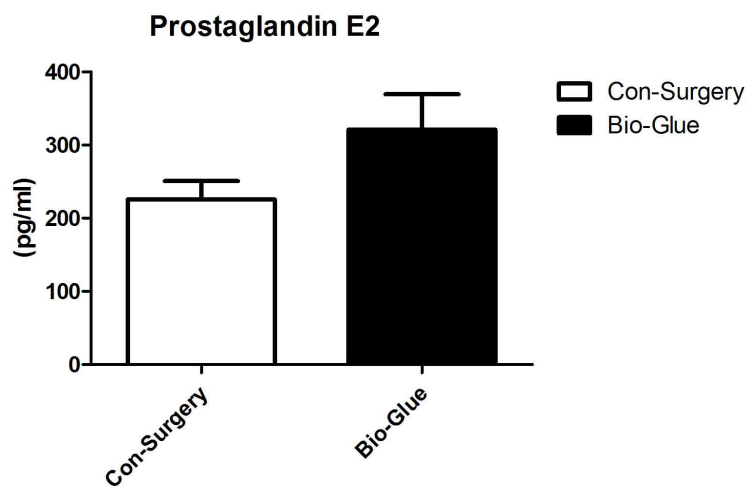


(A)

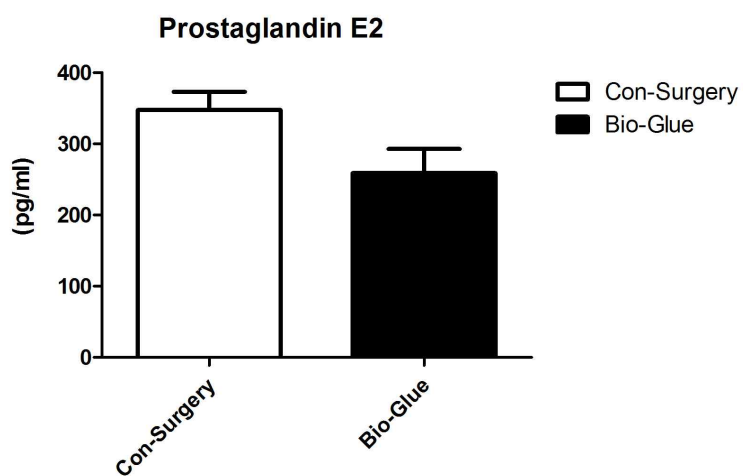


(B)

Fig. 3.10. Prostaglandin E2 levels in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 3 days post castration (A) and 7 days post castration surgery (B).

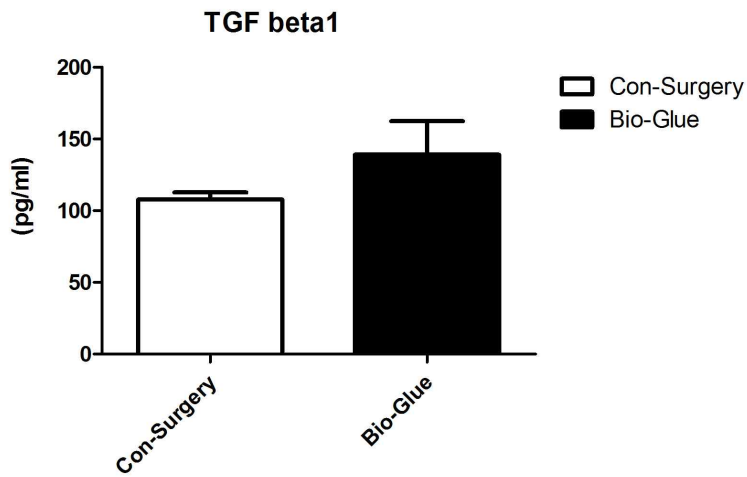


(A)

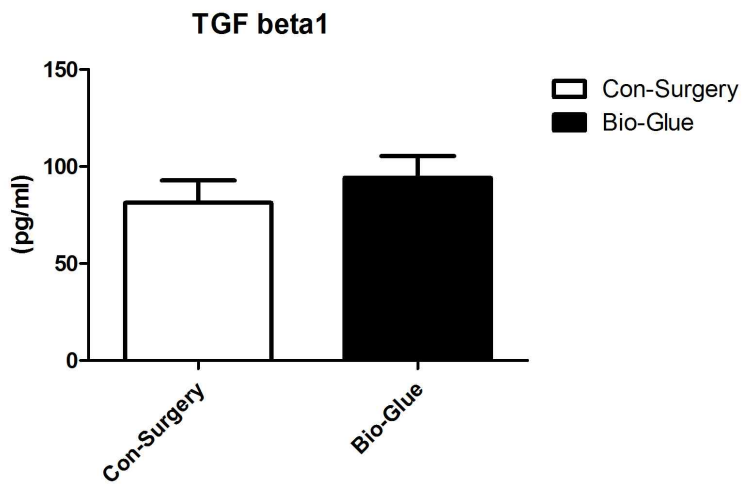


(B)

Fig. 3.11. TGF beta1 levels in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 3 days post castration (A) and 7 days post castration surgery (B).



(A)



(B)

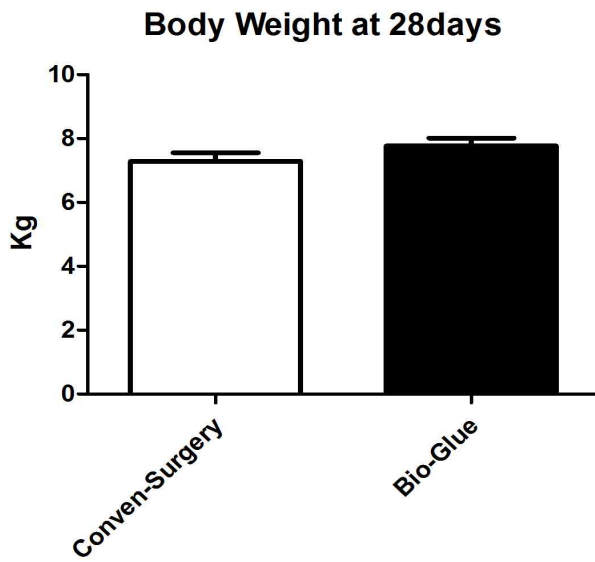
4)자돈의 증체율 평가.

거세를 실시한 4일령에서 자돈의 체중은 일반시술 적용군에서는 2.6 ± 0.50 이었으며, 생체접착제 적용군에서는 2.86 ± 0.27 이었다 거세 돈군의 28일령 이유시 체중은 일반시술 적용군에서는 7.28 ± 0.60 이었으며, 생체접착제군에서는 7.76 ± 0.55 이었다. 두 군에서의 체중의 차이는 통계적 유의성이 관찰 되지 않았다.

Table 4.1. Changes of Body weight in castrated piglets which treated with conventional surgery spray and bio-glue in 4 days age and 28 days weaned age.

Group	Body Weight at 4days (kg)	Body Weight at 28days (kg)
Convent Surgery Spray	2.6 ± 0.50	7.28 ± 0.60
Bio-Glue	2.86 ± 0.27	7.76 ± 0.55

Fig. 4. Body weight changes in castrated piglets which treated with coventional surgery spray and bio-glue in 3 days post catration (A) and 7 days post castration surgery (B).



(A)



(B)

3. 목표달성도 및 관련분야 기여도

본 연구의 전체 목표인“양돈장에서 발생하는 손상조직 부위의 생체접착제의 적용 사업화”의 세부 목표별 목표 달성도 및 관련분야 기여도는 다음과 같다.

3-1. 목표달성도

가. 손상조직 부위의 생체접착제의 적용 사업화를 위한 평가 시스템 정립

본 연구에서는 동물에 외과적 수술 부위에 적용 가능한 생체접착제를 개발하고 이를 동물에게 적용하기 위한 사업화의 평가 시스템을 정립하고자 하였다. 연구계획서상 목표 대비 달성도는 다음과 같다.

연구계획서상의 목표	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
1.상처조직 치료과정에 관여하는 면역세포의 평가	10	100	<p>1. 연구목표 : 생체접착제의 동물 적용평가를 위해 수술부위의 조직 회복에 관여하는 혈액내 면역관여 백혈구의 수치를 평가하였다.</p> <p>2. 연구성과 :</p> <p>가.수술 3일째의 Neutrophil(호중구)의 숫자는 생체접착제적용(5.51±1.26)군이 일반시술 적용 (4.41±1.58) 보다 많았다.</p> <p>나.수술 7일째의 Neutrophil(호중구)의 숫자는 생체접착제적용(4.75±1.32)이 일반시술 적용 (3.38±1.12) 보다 많았다.</p> <p>3. 종합결과 : 연구목표 평가확인 대비 성과를 완료하였다.</p>
2.상처조직의 치료평가를 위한 병리조직학적 평가	40	100	<p>1. 연구목표 : 각각 창상부위에 적용되는 봉합시술과 동물용 생체 접착제 적용 후 3, 7일째에 조직 상피의 재생정도를 적용 부위의 조직을 떼어내 Hematoxylin-Eosin 염색으로 조직 검사를 시행하여 상피화 정도, 상처부위의 염증세포 존재유무, 진피 층의 콜라겐 matrix의 재생정도 및 배열의 규칙성 등을 조사하여 비교 평가하였다.</p> <p>2. 연구성과</p> <p>가. 일반시술 적용및 생체접착제 처치군 조직의 중심부의 괴사 및 변연부의 육아중성 조직의 크기와 상피의 궤양길이는 생체접착제 처치군의 중심부 괴사</p>

			<p>크기가 일반시술 적용처치군에 비해 작았으며 통계학적으로도 유의성이 확인되었다($p < 0.05$).</p> <p>나. 수술 부위 적용 7일후 채취한 조직의 궤양부위 괴사조직의 크기 및 궤양의 길이, 미성숙 및 성숙 육아종성 조직의 크기는 일반시술 적용 처치군에서 관찰된 궤양부위의 괴사조직의 크기는 $1.276 \pm 0.46 \text{ mm}^2$이었고, 생체접착제를 처치한 군에서는 $0.593 \pm 0.34 \text{ mm}^2$이었다. 생체접착제 적용군이 일반시술 적용에 비해서 괴사조직의 크기가 적었다.</p> <p>3. 종합결과 : 연구목표 평가확인 대비 성과를 완료하였다.</p>
<p>3. 상처조직 치료과정에 관여하는 biomarker의 평가</p>	<p>40</p>	<p>100</p>	<p>1. 연구목표 : 거세 수술 창상부위에 적용되는 고전적시술과 동물용 생체 접착제 적용 후 혈청내 biomarker인 acute phase protein, Haptoglobin과 serum amyloid A의 농도를 ELISA로 평가한다. 수술 부위 조직의 회복에 관여하는 cytokine의 발현 정도를 평가하기 위해 수술 후 3, 7일째에 혈청내 PGE2 그리고 TGF-β의 생성 수준을 ELISA를 이용하여 평가하였다.</p> <p>2. 연구성과</p> <p>가. 거세 수술 후 3일째에 Serum Amyloid A2의 농도는 일반시술 적용군에서 1.02 ± 0.93로서, 생체접착제 처리 군의 0.97 ± 0.78보다 높았다. 수술 후 7일째에서도 Serum Amyloid A2의 농도는 일반시술 적용군에서 348.45 ± 78.34이었으며, 생체접착제 처리 군의 244.51 ± 94.54보다 높았다</p> <p>나. Haptoglobin의 수준의 경우 수술 후 3일째에서 생체접착제 처리군이 77.14 ± 20.85이었고, 일반시술 적용 처리군에서는 75.81 ± 18.47로 유사한 농도를 나타내었다. 7일째의 Haptoglobin은 생체접착제 처리군이 92.72 ± 15.01로서 일반시술 적용 처리군의 100.45 ± 11.55과 유사한 결과를 나타내었다</p> <p>다. 거세 수술 후 3일째에 확인된 prostaglandin E2의 농도는 생체접착제 처리군에서 321.17 ± 136.52로 일반시술 적용 처리군의 225.68 ± 71.32보다 높았다.</p>

			<p>라. 거세 수술 후 7일째에 확인된 TGF Beta1의 농도는 생체접착제 처리군에서 94.24 ± 37.25로서 일반시술 적용 처리군의 81.30 ± 38.04보다 높았다.</p> <p>3. 종합결과 : 연구목표 평가확인 대비 성과를 완료하였다.</p>
4. 자돈의 사료 효율과 증체율 평가.	10	100	<p>1. 연구목표 : 창상 치료를 목적으로 하는 봉합시술 적용그룹과 동물용 생체 접착제 적용 그룹에 대한 증체율을 시술 후 1, 2주 까지 사료 급여한 몸무게 측정을 통해 비교 평가하였다.</p> <p>2. 연구성과 : 거세를 실시한 4일령에서 자돈의 체중은 일반시술 적용군에서는 2.6 ± 0.50이었으며, 생체접착제군에서는 2.86 ± 0.27이었다 거세 돈군의 28일령 이유시 체중은 일반시술 적용군에서는 7.28 ± 0.60이었으며, 생체접착제군에서는 7.76 ± 0.55이었다. 두군에서의 체중의 차이는 통계적 유의성이 관찰 되지 않았다</p> <p>3. 종합결과 : 연구목표 평가확인 대비 성과를 완료하였다.</p>
합계	100점	100	연구목표 대비 성과를 완료하였다.

4. 연구결과의 활용계획

본 연구 결과물의 사업화를 위한 활용계획, 추가연구 필요성, 타 연구로의 활용 및 기업화 추진방향은 다음과 같다.

가. 손상조직 부위의 생체접착제의 적용 사업화

1) 활용계획

가) 국내외 생체 접착제 시장 런칭

- 1단계 사업화는 국내 양돈가에 생체접착제를 적용하는 것이다. 현재 국내에서 양돈 돼지는 약 2,000만 마리 수준으로 단미 시술은 모든 사육 돼지에게 시행되어야 하고 거세시술은 약 1,000만 마리 수준으로 예상된다.

- 생체접착제 적용 시술 시, 비용은 '500원/마리'로 예상되며, 약 1,000만 마리(약 5,000백만원 규모 시장) 중, 10%인 100만 마리를 시술할 경우 500백만원의 사업화를 1단계로 시작하고 향후, 그 시장을 2,500백만원까지 확대할 예정이다.

- 현재 국내의 축산업 관련 의약품 업체 2곳과 메디코젬에서 생산한 제품을 국내 판매를 하기위한 사업화 업무협력을 진행 중이다.

- 해외시장을 개척 중이며 국내시장의 수십배 크기인 미국시장을 공략하기 위하여 미국의 동물약품 회사인 K사와 제품적용을 위한 가격을 협상 중에 있다. 미국과의 협상이 잘 진행 될 경우 수출에 크게 기여가 될 것으로 예상된다. 기타의 해외 수요는 크게 늘어나 양돈이 성행하는 모든 해외시장에 적용이 가능할 것으로 판단된다.

나) 국내외 관련 산업동물 반려동물 추가 확대 활용

- 2단계 사업화 계획으로서 개, 고양이 같은 반려동물 시장에서 중성화시술에 적용하는 시장(약 22,500백만원 규모)에 진출 예정이다.

- 기타 시장 진출은 반려동물의 미용시장에서 상처 치료시장으로 진출예정이고, 이는 지속적으로 늘어나는 반려동물에 대한 인식의 변화로 인해 시장은 점차 확대될 것으로 예상되며 조속한 시장진입이 필요할 것으로 예상된다.

2) 추가연구 필요성

가) 생체접착제의 다양한 조직 적용시 필요한 다양한 용기의 디자인 및 차별화 연구 확대가 필요하다.

나) 신규 및 진보성을 보유한 신제품 지속적 개발이 필요하다.

3) 기업화 추진방향

가) 현재 GMP생산 공장을 신설하고 있으며 자체생산 및 국내외 판매 사업화를 실시할 예정이다.

- GMP 공장 신축 및 인증
- 제품허가 및 자체생산
- 국내외 영업 마케팅 업체와의 제휴
- 사업화 실현

나. 정량적 성과 목표 및 실적

성과목표	연구기반지표											정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)					
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용	홍보 전시	
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문							학술 발표
												SC I	비 SC I						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치						60							20		10	10			
최종목표						1							1		1	1			
1차년도						1													
소 계						1							1		1	1			
실적						1						1	0		1	0	1		
소 계						1						1	0		1	0	1		
합 계						1						1	0		1	0	1		

- 사업화를 2018년도 하반기에 출시하고자 하며 과제의 결과인 학술성과는 2018년 하반기에 논문 출판을 완료할 예정이다. 또한 농업식품신기술(NET)을 받기 위하여 2018년 하반기 또는 2019년 상반기에 시도 할 예정이다.
- 기술적 측면의 성과는 간단한 시술방법으로 인해 기존 시술대비 50% 시간 단축 및 독성 문제를 극복하여 폐사율을 최소화 할 수 있다.
- 경제적·산업적 측면의 성과는 폐사율의 감소로 양돈 농가의 생산성을 증대시키는 효과를 가져 올 것으로 예상되며, 독성 문제를 극복한 새로운 생체접착제로 동물의약품시장에 소개됨에 따라 농·축산업 뿐만 아니라 다양하게 확대할 수 있을 것이다.

- 과제를 수행하는 동안 연구원을 충원하였고 사업화에 따른 인원 충원이 발생할 것으로 예상되며, 이는 이공계 출신의 취업난 해소에 역할을 수행할 것으로 기대하고 있다.

붙임 참고문헌

1. Akerstedt, K.P. Waller, A. Sternesjo. Haptoglobin and serum amyloid A in bulk tank milk in relation to raw milk quality J. Dairy Res., 76 (2009), pp. 483-489
2. Canisso, B.A. Ball, C. Cray, N.M. Williams, K.E. Scoggin, G.M. Davolli, E.L. Squires, M.H. Troedsson Serum amyloid A and haptoglobin concentrations are increased in plasma of mares with ascending placentitis in the absence of changes in peripheral leukocyte counts or fibrinogen concentration. Am. J. Reprod. Immunol., 72 (2014), pp. 376-385
3. C. Cray, R.L. Belgrave Haptoglobin quantitation in serum samples from clinically normal and clinically abnormal horses J. Equine Vet. Sci., 34 (2014), pp. 337-340
4. F. Dondi, R.M. Lukacs, F. Gentilini, R. Rinnovati, A. Spadari, N. Romagnoli Serum amyloid A, haptoglobin, and ferritin in horses with colic: association with common clinicopathological variables and short-term outcome Vet. J., 205 (2015), pp. 50-55
5. J. Hardy, A.L. Bertone, W.W. Muir 3rd Local hemodynamics, permeability, and oxygen metabolism during acute inflammation of innervated or denervated isolated equine joints Am. J. Vet. Res., 59 (1998), pp. 1307-1316
6. E.C. Havenaar, R.J. Dolhain, G.A. Turner, M.T. Goodarzi, E.C. van Ommen, F.C. Breedveld, W. van Dijk Do synovial fluid acute phase proteins from patients with rheumatoid arthritis originate from serum Glycoconjugate J., 14 (1997), pp. 457-465
7. C. Hulten, U. Gronlund, J. Hirvonen, R.M. Tulamo, M.M. Suominen, G. Marhaug, M. Forsberg Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alpha2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse Equine Vet. J., 34 (2002), pp. 699-704
8. S. Jacobsen, P.H. Andersen The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses Equine Vet. Educ., 19 (2007), pp. 38-46
9. S. Jacobsen, T.A. Niewold, M. Halling-Thomsen, S. Nanni, E. Olsen, C. Lindegaard, P.H. Andersen Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis Vet. Immunol. Immunopathol., 110 (2006), pp. 325-330

10. S. Jacobsen, M.H. Thomsen, S. Nanni Concentrations of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease *Am. J. Vet. Res.*, 67 (2006), pp. 1738-1742
11. N.L. Korenek, F.M. Andrews, J.M. Maddux, W.L. Sanders, D.L. Faulk Determination of total protein concentration and viscosity of synovial fluid from the tibiotarsal joints of horses *Am. J. Vet. Res.*, 53 (1992), pp. 781-784
12. Y. Kumon, T. Suehiro, K. Hashimoto, K. Nakatani, J.D. Sipe Local expression of acute phase serum amyloid A mRNA in rheumatoid arthritis synovial tissue and cells *J. Rheumatol.*, 26 (1999), pp. 785-790
13. F. Lampreave, N. Gonzalez-Ramon, S. Martinez-Ayensa, M.A. Hernandez, H.K. Lorenzo, A. Garcia-Gil, A. Pineiro Characterization of the acute phase serum protein response in pigs *Electrophoresis*, 15 (1994), pp. 672-676
14. Lavoie-Lamoureux, M. Leclere, K. Lemos, B. Wagner, J.P. Lavoie Markers of systemic inflammation in horses with heaves *J. Vet. Int. Med.*, 26 (2012), pp. 1419-1426
15. M. Leclere, A. Lavoie-Lamoureux, J.P. Lavoie Acute phase proteins in racehorses with inflammatory airway disease *J. Vet. Int. Med.*, 29 (2015), pp. 940-945
16. A.N. Mokbel, O.S. El Tookhy, A.A. Shamaa, L.A. Rashed, D. Sabry, A.M. El Sayed Homing and reparative effect of intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in osteoarthritic animal model *BMC Musculoskelet Disor.*, 12 (2011), p. 259
17. R. O'Hara, E.P. Murphy, A.S. Whitehead, O. FitzGerald, B. Bresnihan Acute-phase serum amyloid A production by rheumatoid arthritis synovial tissue *Arthritis Res.*, 2 (2000), pp. 142-144
18. A.M. Okino, C. Burger, J.R. Cardoso, E.L. Lavado, P.A. Lotufo, A. Campa The acute-phase proteins serum amyloid A and C reactive protein in transudates and exudates *Mediat. Inflamm.*, 2006 (2006), p. 47297
19. J.G. Peloso, J.A. Stick, J.P. Caron, P.M. Peloso, R.W. Soutas-Little Effects of hylan on amphotericin-induced carpal lameness in equids *Am. J. Vet. Res.*, 54 (1993), pp. 1527-1534

20. T.H. Pihl, P.H. Andersen, M. Kjelgaard-Hansen, N.B. Morck, S. Jacobsen Serum amyloid A and haptoglobin concentrations in serum and peritoneal fluid of healthy horses and horses with acute abdominal pain *Vet. Clin. Path.*, 42 (2013), pp. 177-183
21. T.H. Pihl, E. Scheepers, M. Sanz, A. Goddard, P. Page, N. Toft, P.H. Andersen, S. Jacobsen Influence of disease process and duration on acute phase proteins in serum and peritoneal fluid of horses with colic *J. Vet. Int. Med.*, 29 (2015), pp. 651-658
22. M. Pineiro, C. Pineiro, R. Carpintero, J. Morales, F.M. Campbell, P.D. Eckersall, M.J. Toussaint, F. Lampreave Characterisation of the pig acute phase protein response to road transport *Vet. J.*, 173 (2007), pp. 669-674
23. C.S. Ray, A.R. Poole, C.W. McIlwraith Use of synovial fluid and serum markers in articular disease C.W. McIlwraith, G.W. Trotter (Eds.), *Joint Disease in the Horse*, Saunders (1996)
24. M.E. Rosenkranz, D.C. Wilson, A.D. Marinov, A. Decewicz, P. Grof-Tisza, D. Kirchner, B. Giles, P.R. Reynolds, M.N. Liebman, V.S. Kolli, S.D. Thompson, R. Hirsch Synovial fluid proteins differentiate between the subtypes of juvenile idiopathic arthritis *Arthritis Rheum.*, 62 (2010), pp. 1813-1823
25. J.A. Schleining, S.R. McClure, R.B. Evans, W.G. Hyde, L.W. Wulf, A.J. Kind Liposome-based diclofenac for the treatment of inflammation in an acute synovitis model in horses *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 31 (2008), pp. 554-561
27. M.B. Smeets, J. Fontijn, A. Kavelaars, G. Pasterkamp, D.P. De Kleijn The acute phase protein haptoglobin is locally expressed in arthritic and oncological tissues *Int. J. Exp. Pathol.*, 84 (2003), pp. 69-74
28. L. Soler, N. García, A. Unzueta, M. Piñeiro, M.A. Álava, F. Lampreave Purification and determination of C-reactive protein and inter- α -trypsin inhibitor heavy chain 4 in dogs after major surgery through generation of specific antibodies *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 179 (2016), pp. 26-31
29. M.M. Suominen, R.M. Tulamo, L.M. Puupponen, S.M. Sankari Effects of intra-articular injections of buprenorphine suspension on amphotericin B-induced aseptic arthritis in horses *Am. J. Vet. Res.*, 60 (1999), pp. 1467-1473.

30. T. Taira, T. Fujinaga, M. Okumura, K. Yamashita, N. Tsunoda, S. Mizuno Equine haptoglobin: isolation, characterization, and the effects of ageing, delivery and inflammation on its serum concentration *J. Vet. Med. Sci.*, 54 (1992), pp. 435-442
31. R. Vallon, F. Freuler, N. Desta-Tsedu, A. Robeva, J. Dawson, P. Wenner, P. Engelhardt, L. Boes, J. Schnyder, C. Tschopp, R. Urfer, G. Baumann Serum amyloid A (apoSAA) expression is up-regulated in rheumatoid arthritis and induces transcription of matrix metalloproteinases *J. Immunol.*, 166 (2001), pp. 2801-2807
32. T.L. Westerman, S.J. Tornquist, C.M. Foster, K.P. Poulsen Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin concentrations as prognostic indicators for horses with inflammatory disease examined at a tertiary care hospital *Am. J. Vet. Res.*, 76 (2015), pp. 882-888

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 R&D 바우처사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 00000 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.