역동적 조영증강 자기공명 영상기법을 이용한 동물모델에서의 종양 혈관 투과율에 관한 연구

합천 고려병원 영상의학과¹, 계명대학교 의과대학 영상의학교실², 경북대학교 의과대학 영상의학교실³

정건식¹ · 우성구² · 이상권² · 노병학² · 장용민³

The Study of Vascular Permeability in Animal Tumor Model using Dynamic Contrast Enhanced MRI

Kun Sik Jung, M.D.¹, Seong Ku Woo, M.D.², Sang Kwon Lee, M.D.², Byung Hak Rho, M.D.², Yong Min Chang, Ph.D.³

Department of Radiolgy, Koryo Hospital, Hapcheon¹, Dongsan Medical Center, Keimyung University School of Medicine², College of Medicine, Kyungpook National University³, Daegu, Korea

Abstract : The purpose of this study was to evaluate the feasibility of pharmacokinetic analysis of MR contrast agent in dynamic MR for providing quantitative vascular permeability, which reflects the angiogenesis. The dynamic MR was performed at 10 and 17 days after VX2 tumor implantation on thigh of adult rabbit. The gadopentetate dimeglumine (0.2 mmol/kg) was injected through ear vein. All MR experiments were carried out in 1.5T MR scanner with human extremity coil. Dynamic images were acquired every 17 sec for the first 3 minutes and then every 2 or 3 minutes up to 45 minutes using 2D SPGR sequence. By locating ROI on tumor, the signal intensity was measured for each image and the corresponding time-intensity curve was obtained. The time-intensity curve was fitted with pharmacokinetic model of MR contrast agent using symbolic calculation computer software to yield the fitting parameters such as vascular permeability and EES volume. Ten days after tumor implantation, the tumor size was 2 cm and increased to 5 cm at 17 days. The calculated vascular permeability ($K_{P^{-rt}}/V_T$) was 0.2584 \pm 0.0275 min⁻¹ and EES volume (Ve) was 0.0870 \pm 0.0021 at 10 days after tumor implantation.

교신저자: 우성구, 700-712 대구광역시 중구 달성로 216, 계명대학교 의과대학 영상의학교실 Seong Ku Woo, M.D., Department of Radiology, Keimyung University School of Medicine 216, Dalseongno, Jung-gu, Daegu, 700-712 KOREA Tel: +82-53-250-7778 E-mail: woo7133@dsmc.or.kr After 17 days, the vascular permeability was $0.2574 \pm 0.0315 \text{ min}^{-1}$ and EES volume (Ve) was 0.1259 ± 0.0040 . The statistical significance using t-test was P < 0.05. By employing quantitative analysis of dynamic MR data with pharmacokinetic model of MR contrast agent, it might be possible to obtain quantitative value of vascular permeability, which has close relation with microstructure of vessel.

Key Words : Contrast media, Experimental studies, Magnetic resonance (MR), Muscle neoplasms

서 론

가돌리니움(Gd) 상자성 조영제를 이용한 역동 적 조영증강 자기공명영상기법은 조영제 주입후 조 영제의 조영증강 패턴을 이용하여 종양의 진단이나 예후등을 평가하는데 매우 유용한 방법으로 보고 되고 있다[1-4]. 최근 조영제의 약동학적 특성에 관한 이론적 모델이 제시되고 있으며 이러한 약동 학적 특성을 이용하는 경우 단순히 조영증강 패턴 만을 이용하는 경우에는 알 수 없었던 임상적으로 유용한 새로운 정보를 제공한다고 제안되었다[5-8]. 본 연구에서는 가토의 대퇴부에 실험적으로 유 발한 VX2 종양모델에서 역동적 조영증강 자기공명 영상 데이터를 제안된 조영제의 약동모델을 이용하 여 분석하는 경우 종양의 혈관 투과율과 같은 새로 운 임상적 정보를 제공 할 수 있는지 알아보고자 하 였다.

연구대상 및 방법

1. 실험동물 및 VX2 종양 이식

실험동물은 체중이 1.5 에서 3.5 kg 사이의 성 숙한 가토(New Zealand white rabbit) 12 마리를 대상으로 하였다. VX2 종양 세포는 대퇴부에 종양 이 이식된 가토를 서울대병원에서 제공받아 3주후 종양의 크기가 1 cm 이상의 크기로 자란 후 수술적 으로 적출하고 종양표면의 연조직 및 괴사조직을 제거 한 후 종양조직을 1 mm 이하의 크기로 잘게 잘라 Dulbecco 인산화 버퍼 식염수를 부어 작은 조 직들은 걸러낸 후 남은 종양조직들을 10 mL 주사 기를 사용하여 새로운 가토의 대퇴부에 주사하여 VX2 종양을 유발 하였다.

2. 역동적 조영증강 MRI 검사

실험동물은 5 mg/kg의 xylazine hydrochloride(ROMPUN; 베이어 코리아, 서울, 한국)와 35 mg/kg의 ketamine hydrochloride (KETALAR; 유한양행, 서울, 한국)의 혼합액을 근육 주사하여 마취 시킨 후 MRI를 시행하였다.

종양 이식후 10일 그리고 17일에 역동적 조영 증강 MRI 검사를 시행하였다. 모든 MR 영상은 1.5T GE Signa (General Electric System, Milwaukee, WI, 미국)에서 human extremity 코 일을 사용하여 획득 하였다. 가토의 귀정맥에 0.2 mmol/kg의 gadopentetate dimeglumine을 주사 한 후 역동적 조영증강 영상을 획득하였다. 사용한 영상기법은 2D SPGR(Spoiled Gradient-Recalled) 로 처음 3분간은 17초 간격으로, 이후에 는 2-3분 간격으로 최대 45분까지 영상을 획득하 였다. 사용한 펄스열의 영상획득 파라미터로는 반 복시간 80 msec, 에코시간 4.2 msec, 숙임각 60, 절편두께 5 mm, FOV 150 x 150 mm, Matrix size 128 x 128 였다. 해부학적 영상을 얻기 위해 T1 강조영상 혹은 T2 강조영상을 추가로 획득하 였으며 이때 사용한 펄스열 및 파라미터는 다음과 같다. T1 강조영상의 경우 스핀에코 펄스열을 사용 하여 반복시간 500 msec, 에코시간 20 msec, 절 편두께 5 mm, FOV 150 x 150 mm, Matrix size 128 x 128 였으며 T2 강조영상의 경우 고속스핀 에코 (Fast Spin-echo) 펄스열을 사용하여 반복 시간 2000 msec, 에코시간 100 msec, 절편두께 5 mm, FOV 150 x 150 mm, Matrix size 128 x 128 로 영상을 획득 하였다.

3. 영상데이터 분석

획득된 역동적 조영증강 MR 영상들의 종양부위 에 관심영역(ROI)을 설정한 후 시간에 따른 신호 의 세기를 측정하였다. 측정된 시간대 신호세기를 제안된 조영제의 약동모델에 대입하고 컴퓨터를 이 용하여 측정된 시간대 신호세기와 모델이 가장 잘 일치하는 파라미터들을 구하였다. 사용한 조영제의 약동모델은 Wiener 등에 의해 제안된 twocompartment 모델로 아래와 같다[9].

$$\begin{bmatrix} CA_{t}(t) \end{bmatrix} = D \left[\frac{a_{1}V_{e}}{1 - \frac{V_{t}\alpha}{K_{p \leftarrow t}}} e^{-\alpha t} + \frac{a_{2}V_{e}}{1 - \frac{V_{t}\beta}{K_{p \leftarrow t}}} \right]$$
$$e^{-\beta t} - \left[\frac{a_{1}V_{e}}{1 - \frac{V_{t}\alpha}{K_{p \leftarrow t}}} + \frac{a_{2}V_{e}}{1 - \frac{V_{t}\beta}{K_{p \leftarrow t}}} \right] e^{-\frac{K_{p \leftarrow t}}{V_{1}}t}$$

여기서 [CA_t(t)]는 특정시간에 측정된 MR 신 호세기이며 D는 규격화를 위한 스케일 함수이고 종 양의 혈관 투과율은 K_P-+/VT, 종양의 혈관 및 세포 외 공간체적은 Ve 이다.

영상 데이터의 전산처리는 일반 IBM 컴퓨터 (Pentium 1GHz, 512 MB)에서 MAPLE V (University of Waterloo, 캐나다)라는 계산전용 소프트웨어를 사용하였다.

성 적

VX2 종양 이식후 10일째에 종양조직의 크기가

2 cm 이상 커진 것을 T1 및 T2 강조영상으로 확 인하였고 17일째에는 5 cm 이상 성장하였다(Fig. 1). 역동적 조영증강 영상들에서 종양에 관심영역 을 설정하고 측정한 시간별 신호크기 곡선을 대상 및 방법에서 기술한 조영제의 two-compartment 모델을 이용하여 실제 측정된 시간별 신호크기 곡 선과 가장 잘 일치하도록 two-compartment 모델 의 변수인 혈관투과율, 혈관 및 세포외 체적(Ve)을 결정 한 결과(Fig. 2) 종양 이식후 10일째의 종양 조직의 혈관투과율(Kp↔/VT)은 0.2584 ± 0.0275 min⁻¹, 혈관 및 세포외 체적(Ve)은 0.0870 ± 0.0021로 t-검증 수준은 P < 0.05였다. 한편 종양 이식 후 17일째의 종양조직의 혈관투과율(Kp→t/VT) 은 0.2574 ± 0.0315 min⁻¹. Ve는 0.1259 ± 0.0040로 종양이 성장함에 따라 혈관 투과율은 오 차범위 내에서 변화를 보이지 않는 반면 혈관 및 세 포외 체적은 증가하는 결과를 나타내었다.

고 찰

저분자량의 가돌리니움 조영제를 사용한 역동 적 조영증강 자기공명영상 기법은 종양의 발견율을 높이고 또한 감별진단에 가치가 있다고 보고되고 있다. 종양의 신생혈관은 종양의 급속한 성장을 위 하여 매우 빠르게 형성되는 대신 정상적인 혈관에 비해 혈관벽의 구조가 엉성하여 저분자량의 물질에 대해 높은 혈관 투과율을 나타내는 것으로 보고되 고 있고 결과적으로 gadopentetate dimeglumine (Gd-DTPA)과 같은 저분자량의 가돌리니움 조영 제는 종양의 신생혈관벽을 쉽게 투과하여 종양조직 의 세포외 공간으로 확산된다[10, 11], 역동적 조 영증강 곡선은 이러한 미시적인 생리현상을 반영하 는 것으로 종양의 발달 정도 및 감별 진단등에 유용 하게 사용되고 있다. 역동적 조영증강 곡선으로부 터 현재 많이 사용되는 파라미터로는 조영증강 정 도, 조영증강 양상, 최고치까지의 도달시간등이 많 이 활용되고 있다[12, 13].

본 연구에서는 종양의 신생혈관 특성을 직접적 으로 반영하는 신생혈관의 투과율에 대한 정량적



Fig. 1. VX2 tumor growth. Axial T2-weighted and post-contrast T1-weighted MR images of proximal thigh of rabbit at 10 days (A, B) and at 17 days (C, D) after tumor implantation. At 10 days, the tumor size was 2-3 cm in diameter (arrows). The size of tumor increased 5-8 cm in diameter after 17 days (arrows).



Fig. 2. The tumor concentration curve, which converted from time-intensity curve of dynamic MRI, at 10 days (A) and 17 days (B) after tumor implantation. The solid line is the result of fitting based on pharmacokinetic model of MR contrast agent.

평가를 위해 역동적 조영증강 곡선을 조영제의 약 동학적 모델과 비교, 분석하고자 하였으며 이를 위 하여 비선형 최소자승법(Non-linear least square)과 같은 전산물리학(Computational physics) 기법을 도입하였다. 본 연구에서 도입된 기법은 단순히 조영증강 패턴을 분석하는 고식적인 역동적 조영증강기법에 비해 종양의 특성을 좀 더 직접적으로 반영하는 파라미터인 혈관투과율과 같 은 새로운 정보를 제공함으로서 역동적 조영증강기 법의 유용성을 높일 수 있을 것으로 기대되어 왔고 유방암에 대한 적용을 통하여 그 가능성이 입증되 었다[14]. Knopp 등에 의한 연구에 따르면 악성과 양성종양의 조영증강 패턴의 차이는 근본적으로 혈 관투과율에서의 차이에 기인하며 악성 종양의 경우 양성 종양에 비해 혈관투과율이 상대적으로 높다는 결과를 발표하였다. 유방암 이외에도 본 기법은 악 성 뇌종양, 대장암 등에서도 적용 가능성에 대한 연 구가 수행되었다[15-17].

선암종(adenocarcinoma)의 일종인 VX2 종양 에 대한 혈관투과율은 이식후 10일에 0.2584 ± 0.0275 min⁻¹, 17일에 0.2574 ± 0.0315 min⁻¹의 값을 보였는데 VX2 종양에 대한 혈관투과율에 대 한 보고는 본 연구가 처음이라 다른 종류의 선암종 에서 보고된 혈관투과율과 비교하는 경우 기존에 보고된 값들이 0.2에서 0.6 min⁻¹ 범위로 본 연구 결과와 잘 일치한다[18]. 또한 본 연구에서는 10일 과 17일에 측정한 혈관투과율이 오차범위내에서 변화를 보이고 있지 않는데 이에 대한 원인은 종양 의 혈관신생(angiogenesis)의 경우 초기에 정상조 직에 비해 높은 내피성장인자(Vascular endothelial growth factor : VEGF) 수준을 나타 내고 이러한 내피성장인자 수준은 지속적으로 증가 한다기 보다는 일정 수준을 유지하고 있다는 것으 로 해석 할 수 있다. 한편 혈관 및 세포외 공간을 나 타내는 Ve는 종양 이식후 10일에 0.0870± 0.0021, 17일에 0.1259±0.0040으로 증가하는 결과를 나타내고 있는데 이는 종양의 크기가 커짐 에 따라 종양의 혈관 및 세포외 체적도 증가함을 의 미한다고 해석할 수 있다. 본 연구를 통하여 종양의 신생혈관의 경우 높은 혈관투과율을 나타낸다는 점 을 다시 한번 확인할 수 있었고 특히 기존의 연구들 이 일정 시점에서만 종양의 혈관투과율을 측정한 반면 본 연구에서는 종양의 성장에 따라 혈관투과 율에 변화가 있는지를 처음으로 연구하였다는 점에 의의가 있다고 사료된다. 즉, 과거의 연구들이 종양 이 일정한 크기로 성장한 상태의 한 시점을 택하여 연구를 진행함으로서 종양의 성장에 따른 혈관투과 율 및 혈관 및 세포외 공간의 변화에 대한 추적 연 구가 진행되지 못한 반면 본 연구에서는 7일의 시 간 간격을 두고 혈관투과율 및 혈관 및 세포외 공 간의 변화에 대한 추적 연구를 진행함으로서 혈관 투과율의 변화보다는 혈관 및 세포외 공간의 변화 가 훨씬 크게 일어난다는 점을 확인할 수 있었다.

본 연구에서 사용한 정량적 평가기법의 또다른 중요성은 최근 혈관투과율과 혈관신생의 중요한 인 자인 내피성장인자 간에 밀접한 상관관계가 존재한 다는 연구결과들이 다수 보고 되고 있는 점에서 잘 알수 있다[19, 20]. 즉, 높은 수준의 내피성장인자 를 보이는 신생혈관에서는 혈관투과율이 증가한다 고 보고되고 있고 따라서 혈관투과율에 대한 정량 적 분석은 종양의 특성 및 예후 등을 분자수준에서 이해하는 한가지 방법을 제공한다고 생각할 수 있 다. 또한 최근 개발되고 있는 맞춤형 항암제 등은 대부분 신생혈과을 억제하는 약제들로 이러한 항암 제의 항암효과를 검증하는데 내피성장인자가 많이 이용되고 있는 점을 고려할 때 역동적 조영증강 자 기공명영상기법을 이용한 혈관투과율에 대한 정량 적 분석은 결과적으로 내피성장인자의 정도를 평가 하게 됨으로서 차세대 항암제들의 효능 평가 등 새 로운 자기공명영상 응용범위를 개척해 나갈 것으로 기대된다.

향후 본 연구에서 도입한 기법의 또 다른 적용 가능성으로는 Gd-DTPA와 같은 저분자량 조영제 대신 고분자량 조영제(macromolecular agent)를 이용하여 종양의 혈관투과율을 연구하는 것으로 고 분자량 조영제의 경우 혈액 풀(blood pool) 효과가 커서 저분자량 조영제에 비해 종양의 엉성한 혈관 벽을 투과하기가 상대적으로 까다롭기 때문에 혈관 투과율에 대한 좀 더 정확한 측정이 가능 할 것으로 기대된다. 고분자량 조영제로는 과거 저분자량 조 영제에 고분자를 결합시킨 조영제가 주류를 이루었 으나 생체 고분자와 저분자량 조영제간의 결합력이 약하여 생체내에서 분리되는 현상이 자주 일어남으 로 인해 최근에는 덴드리머(dendrimer) 타입의 조 영제가 많이 개발되고 있다[21, 22].

요약

본 연구에서는 조영제의 약동학적 모델을 이용

하여 역동적 조영증강 자기공명영상 데이터를 분석 하는 경우 기존의 조영증강 패턴 분석으로는 알 수 없었던 종양 혈관의 미세구조를 반영하는 혈관투과 율에 대한 정량적 정보를 제공함으로서 향후 종양 의 특성을 파악하는데 매우 유용하게 이용될 수 있 을 것으로 기대된다.

참고 문 헌

- Barentsz JO, Berger-Hartog O, Witjes JA, Hulsbergen-van der Kaa C, Oosterhof GO, VanderLaak JA, *et al.* Evaluation of chemotherapy in advanced urinary bladder cancer with fast dynamic contrast-enhanced MR imaging. *Radiology* 1998;**207**:791-7.
- Hamm B, Mahfouz AE, Taupitz M, Mitchell DG, Nelson R, Halpern E, *et al.* Liver metastases: improved detection with dynamic gadoliniumenhanced MR imaging? *Radiology* 1997;**202**:677-82.
- Hunter GJ, Hamberg LM, Choi N, Jain RK, McCloud T, Fischman AJ. Dynamic T1-weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography in patients with lung cancer: correlating vascular physiology with glucose metabolism. *Clin Cancer Res* 1998;4:949-55.
- Padhani AR, Gapinski CJ, Macvicar DA, Parker GJ, Suckling J, Revell PB, *et al.* Dynamic MR enhancement in prostate cancer: correlation with morphology and MRI stage, histological grade and serum PSA. *Clin Radiol* 2000;55:99-109.
- Parker GJ, Tofts PS. Pharmacokinetic analysis of neoplasms using contrast-enhanced dynamic magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imag* 1999;10:130-42.
- Port RE, Knopp MV, Hoffmann U, Brix G. Multicompartment analysis of gadolinium chelate kinetics: blood-tissue exchange in mammary tumors as monitored by dynamic MR imaging. *J Magn Reson Imaging* 1999;10:233-41.

- Tofts PS. Modelling tracer kinetics in dynamic Gd-DTPA MR imaging. *J Magn Reson Imag* 1997;7:91-101.
- Tofts PS, Brix G, Buckley DL, Evelhoch JL, Henderson E, Knopp MV, *et al.* Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T1weighted MRI of a diffusable tracer: standardized quantities and symbols. *J Magn Reson Imaging* 1999;10:223-32.
- Wiener EC, Brechbiel MW, Brothers H, Magin RL, Gansow OA, Tomalia DA, *et al.* Dendrimer-based metal chelates: a new class of magnetic resonance imaging contrast agents. *Magn Reson Med* 1994;31:1-8.
- Parker GJ, Suckling J, Tanner SF, Padhani AR, Revell PB, Husband JE, *et al.* Probing tumor microvascularity by measurement, analysis and display of contrast agent uptake kinetics. *J Magn Reson Imag* 1997;7:564-74.
- Roberts TPL. Physiologic measurements by contrastenhanced MR imaging: expectations and limitations. *J Magn Reson Imaging* 1997;7:82-90.
- 12. Mayr NA, Yuh WTC, Zheng J, Ehrhardt JC, Magnotta VA, Sorosky JI, *et al.* Prediction of tumor control in patients with cervical cancer: analysis of combined volume and dynamic enhancement pattern by MR imaging. *Am J Roentgenol* 1998;**170**:177-82.
- Reddick WE, Taylor JS, Fletcher BD. Dynamic MR imaging (DEMRI) of microcirculation in bone sarcoma. *J Magn Reson Imag* 1999;10: 277-85.
- 14. Tofts PS, Berkowitz B, Schnall M. Quantitative analysis of dynamic Gd-DTPA enhancement in breast tumours using a permeability model. *Magn Reson Med* 1995;**33**:564-68.
- 15. Senger DR, Dvorak HF, Yeo TK. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in guinea pig and human tumor and inflammatory effusions. *Cancer Res* 1993;**29**:12-8.
- 16. Fritz-Hansen T, Rostrup E, Sondergaard L, Ring PB, Amtorp O, Larsson HB. Capillary transfer constant

of Gd-DTPA in the myocardium at rest and during vasodilation assessed by MRI. *Magn Reson Med* 1998;**40**:922-9.

- Mayr NA, Yuh WT, Arnholt JC, Ehrhardt JC, Sorosky JI, Magnotta VA, *et al.* Pixel analysis of MR perfusion imaging in predicting radiation therapy outcome in cervical cancer. *J Magn Reson Imag* 2000;**12**:1027-33.
- Roberts TPL. Physiologic measurements by contrast-enhanced MR imaging: expectations and limitations. J Magn Reson Imag 1997;7:82-90.
- Baumgartner I, Isner JM. Stimulation of peripheral angiogenesis by vascular endothelial growth factor (VEGF). *Vasa* 1998;27:201-6.
- Benjamin LE, Golijanin D, Itin A, Pode D, Keshet E. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor withdrawal. *J Clin Invest* 1998;103:159-65.
- 21. Su MY, Jao JC, Nalcioglu O. Measurement of vascular volume fraction and blood-tissue permeability constants with a pharmacokinetic model: studies in rat muscle tumors with dynamic Gd-DTPA enhanced MRI. *Magn Reson Med* 1994;**32**:714-24.
- 22. Su MY, Muhler A, Lao X. Tumor characterization with dynamic contrast-enhanced MRI using MR contrast agents of various molecular weights. *Magn Reson Med* 1998;**39**:259-69.