

Intravital microscopy의 생명의학적 이용

Biomedical research with intravital microscopy

최규실, 허정무, 채권우, 김선희, 김은아, 이영환, 윤권하
원광대학교 의과대학 X-선 현미경 연구센터

개요 및 목적: 17세기 Anthony van Leeuwenhoek에 의해 개발된 이후 Robert Hooke에 의한 세포의 관찰로부터 현미경은 생명의학 발전의 중요한 축을 형성해 왔으나 현재 생명과학의 한계는 현미경적 해상력으로 생체영상을 구현할 수 있는 현미경이 거의 전무한 실정이다. 이는 전반적인 생명과학의 발전에 큰 걸림돌일 뿐 아니라 질병의 진단, 신약개발, 질병의 치료기술개발 등 다양한 분야에서 필요로 하는 현미경기술이다. 이에 본 연구자 그룹은 기존의 형광현미경을 실험동물을 직접 관찰하기 위하여 변형시킨 생체영상장비, intravital microscope (IVM)를 구축하였으며 이를 이용하여 in vivo angiogenesis 분석법, in vivo 암 혈관생성 monitoring, in vivo metastasis monitoring, targeted US 조영제 in vivo monitoring 기술 등을 확립하였다.

재료 및 방법

Intravital microscope : 현미경의 구성은 크게 up-light microscope, high-sensitive CCD camera, light source, Image process software (Metamorphe)으로 이루어져 있다. Up light microscope는 올림푸스사의 모델 BX51WI이며 재물대를 개조하여 소동물올 올릴 수 있도록 하였다. 이미지를 받아들이는 카메라는 실시간을 측정할 수 있도록 하기 위해서 Cascade 650을 장착하였다 (그림 1). 그리고 이미지 분석을 위해서 MetaMorph 프로그램을 사용하였다.

동물 실험 : Angiogenesis를 유발하기 위해서 마우스의 복부에 matrigel을 주입하고 그 부위를 볼 수 있도록 window를 설치하였다 (그림 2). 혈관 조영을 위해서 FITC-Dextran (Sigma)을 사용하였다. 암이 전이되는 과정을 관찰하기 위해서 암세포에 pEGFP-N1 vector를 삽입한 CT-26 세포 1×10^4 을 portal vein으로 주입한 후 IVM으로 관찰하였다.

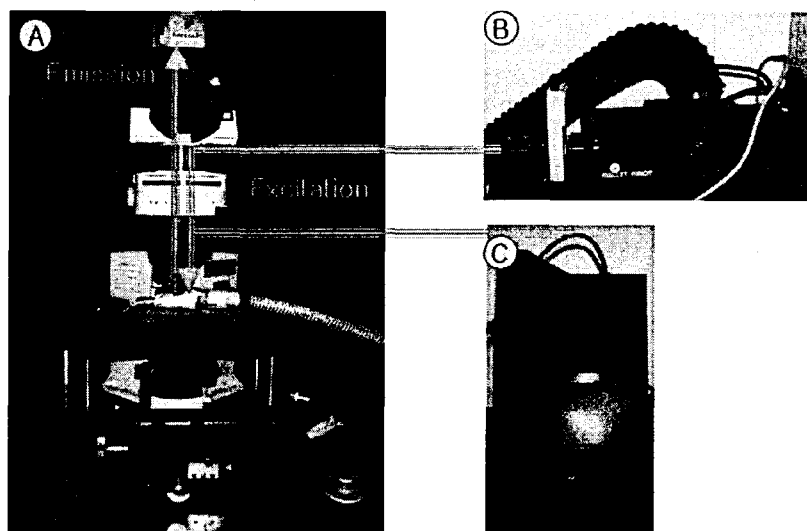


Figure 1. Intravital microscopy set-up (A). The mouse is placed on a heating pad and source of light are laser (B) and DG4 (C). All images are recorded by a CCD attached to the microscope and connected to a monitor.

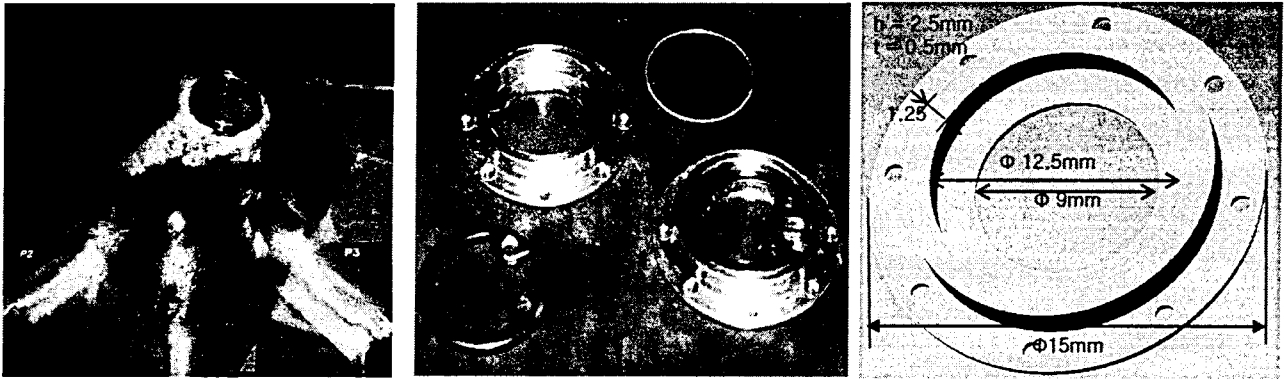


Figure 2. Window set-up on the mouse body.

결과: 마우스 복부에 주입된 matrigel에 혈관이 형성되어지는 것이 관찰되었으며 (그림 3A), 혈관의 형태와 혈류의 흐름이 FITC-dextran을 통하여 뚜렷이 관찰되었으며 모세혈관 속에 있는 혈구까지 관찰되었다. pEGFP-N1 vector가 주입된 세포를 이용한 쥐의 암 전이 모델에서는 5일째부터 간에서의 암세포의 전이가 관찰되었다 (그림 3B).

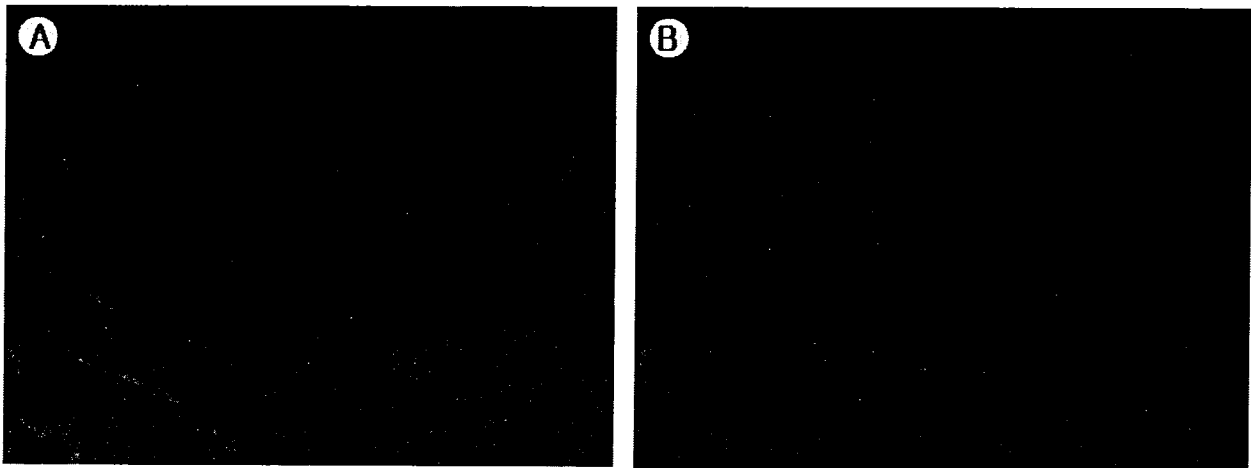


Figure 3. Effects of α_2 -antiplasmin on matrigel angiogenesis(A). Influence of tumor on the sequential development of metastases in mouse liver, as visualized on day 5 after intraportal injection of pEGFP-expressing CT-26 cells.

결론: Intravital microscope는 in vivo angiogenesis 분석법, in vivo 암 혈관생성 monitoring, in vivo metastasis monitoring, targeted US 조영제 in vivo monitoring 등의 응용분야에서 살아있는 실험동물을 위한 광학적 생체영상 장비로써 매우 가능성 있는 결과를 보여주었으며 앞으로 생명의학 분야에서 보다 많은 활용가치를 발휘할 것으로 판단 됨.