

## 2-Dimensional MR Spectroscopy

가톨릭의대 최보영

강의목표
------

- |   |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1. 2D-MRS 원리를 이해한다.</li><li>2. 2D-MRS 종류에 대한 정보를 습득한다.</li><li>3. 2D-MRS 적용분야 및 임상응용에 관하여 공부한다.</li></ol> |
|---|

### 서론

최근까지 자기공명분광법 (magnetic resonance spectroscopy; MRS)은 생체내 대사물질들을 정량분석하고, 생물학적 분자의 3차원 구조를 결정하는데 가장 우수한 방법 가운데 하나로 자리매김하여 왔고, 또한 비침습적으로 생검을 시행하지 않고 인체내의 여러 가지 대사산물들을 식별하고 정량분석할 수 있는 방법으로서 질병부위의 물질대사 변화를 토대로 진단에 도움을 주고 질병의 치료효과를 평가하는 데 성공적으로 사용되어 왔다. (1-6) 또한 분자구조를 결정하는 방법 가운데 x-선 crystallography 방법은 샘플이 고체형, 즉 crystal로 제공되지 않으면 구조를 밝힐 수 없는 반면에 자기공명분광법은 생체 내 비침습적으로 생리학적 조건의 액체상태에서 직접 구조를 결정하므로 현존하는 분자 구조 결정 방법 중 가장 정확성있는 방법으로 평가받아 왔다. 그러나, 자기공명분광법은 x-선 crystallography 방법에 비하여 분자량이 큰 거대분자 (분자량 10K 달톤 이상)인 경우 분석하는데 매우 어렵고, 또한 데이터 획득하는데 매우 장시간을 요구하는 단점을 가지고 있다.

자기공명분광법 (MRS)에 의한 3차원 구조를 결정하는 가장 중요한 정보는 양성자들간의 3차원 거리정보와 이면각 (dihedral angle)이다. 양성자들간의 3차원 거리정보는 nuclear Overhauser effect/enhancement (NOE)에 의해 획득되는데, NOE 신호강도는 양성자들간의 거리에 의해 결정된다. 또한

이면각은 vicinal coupling constant 분석법에 의하여 얻어진다. 따라서 양성자들간의 3차원 거리정보와 이면각에 대한 종합적인 정보를 토대로 3차원 구조가 결정되므로 각 양성자들의 공명피크들의 assignment는 원적으로 필수불가결하다. 그러므로 스펙트럼의 완벽한 assignment는 구조결정에 있어서 총체적 핵심이라고 볼 수 있다. 양성자 vicinal coupling constant 는 두 개의 양성자 간의 공간적 관계 정보를 제공하는데 Karplus 상관관계 그래프를 통하여 이면각은 90도에서 최소값을 갖고, 0도 및 180도에서 최대값을 갖는다. (7-8)

지금까지 2-D (dimensional) MR 기술은 스펙트럼의 assignment를 결정하는데 지대한 역할을 해왔다. 특히 생물학적 중요 물질들 (예, DNA, RNA, 단백질, 탄수화물 등)을 포함하여 새로운 약물의 3차원 구조분석 및 결정은 바이오 혁신에 혁혁한 공로를 해왔다.(9) 2D MR 기술은 크게 결합연결관계 (through-bond connectivity)과 공간연결관계 (through-space connectivity)로서 2가지로 구분한다. 결합연결관계를 위하여 chemical shift correlation spectroscopy (COSY) (10), relay COSY (11), total COSY (TOCSY) (12) and homonuclear Hartman-Hahn (HOHAHA) spectroscopy (13) 방법 등이 있고, 공간연결관계를 위하여 nuclear Overhauser spectroscopy (NOESY) (14)와 rotating frame NOESY (ROESY) (15)가 있다.

최근 2-D (dimensional) MR 기술을 인체 내에 적용하는 시도가 이루어지고 있고, 그 동안 몇 가지 괄목할만한 연구 성과를 발표하였다. (16-20, 24, 25, 26) 그 중 인체 뇌에 대한 연구가 가장 많이 이루어지고 있고 (16-17, 21-23) 근육 (18-19)과 지방 (20)등에서도 이루어지고 있다.

인체 뇌대사물질에 대하여 2D MR 기술인 COSY와 NOESY를 직접 적용하고, 데이터를 획득하여 인체 뇌대사물질들간의 스칼라 짝지움 (coupling)과 쌍극자 (dipolar) 상호작용-NOE에 대한 분석을 통하여 결합연결관계 및 공간연결관계에 대한 정보를 획득하는 것은 매우 유용한 정보를 제공한다.

## 원리

2D MR 기술은 기존 1D MR 기술에서 한단계 더 앞선 기술이다. 즉, 기존 1D MR 기술에서 사용된 초기 준비기간 (preparation period)과 신호 획득기간 (detection period) 사이에 스핀 전개기간 (evolution period)과 스핀 혼합기간 (mixing time)을 삽입하면 된다. 전형적인 2-D MRS 펄스시퀀스 diagram을 Figure 1에서 볼 수 있다. 스핀 전개시간을  $t_1$ 으로 정의하고 신호획득 시간을  $t_2$ 로 정의한다. 따라서 스펙트럼 결과는  $t_1$ 과  $t_2$ 의 2차원 데이터로 구성되고, 이 데이터를 2차원 Fourier transform (FT)하여 스펙트럼화 한다.

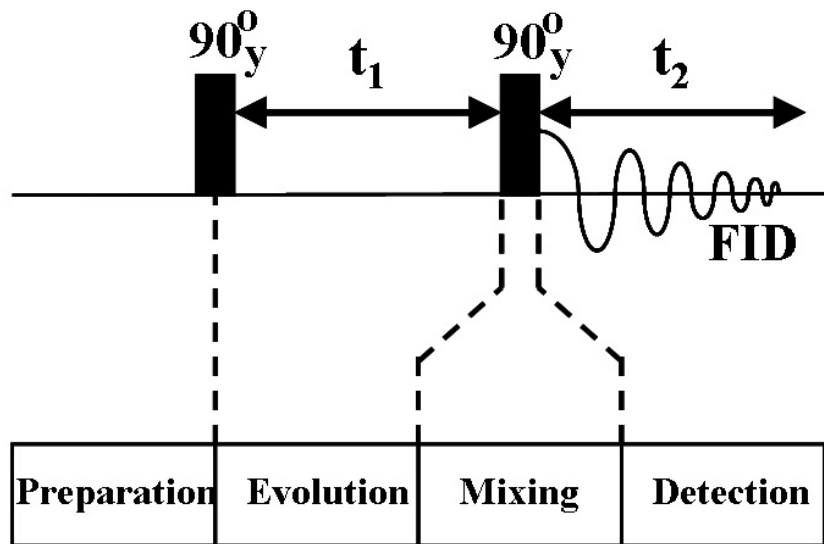


Figure 1. 전형적인 2D MRS 펄스시퀀스 diagram. 초기 준비기간 (Preparation period), 스핀 전개기간 (Evolution period), 스핀 혼합기간 (Mixing time), 신호 획득기간 (Detection period)으로 구성됨

일반적으로 초기 준비기간에는 스핀들이 외부자기장의 영향을 받으면서 열평형상태를 유지하게 되고, 스핀 전개기간에는 90도 펄스의 영향을 받은 직후 스핀들은 외부자기장을 중심으로 주어진  $t_1$  시간 동안 자유롭게

세차운동을 하면서, 스핀들간의 자화가 명시/분류 (labeling) 된다. 스핀 혼합기간에는 첫 번째 스핀에서 두 번째 스핀으로 자화가 이전하는데, 이 때 혼합시퀀스에서 자화이전의 두 가지 특성, 즉 스칼라 짝지움 (coupling)과 쌍극자 (dipolar) 상호작용 (NOE)를 선택할 수 있다. 신호 획득기간에는 두 번째 스핀으로 이전된 자화신호를 탐지하게 된다.

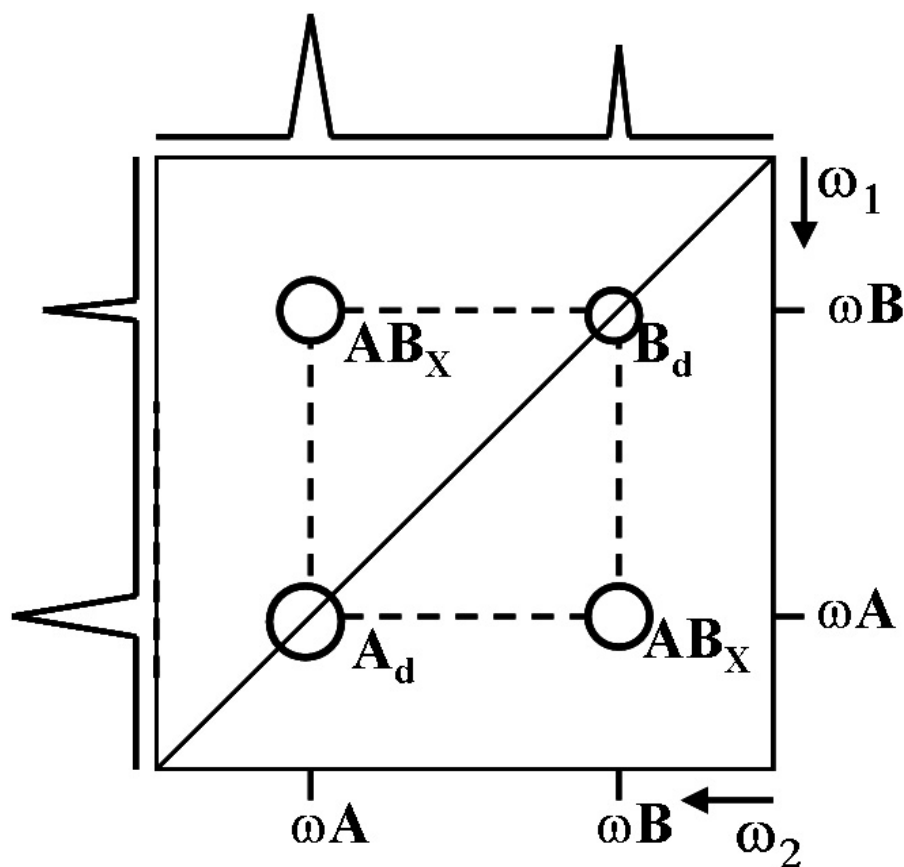


Figure 2. 전형적인 2D MR homonuclear 스펙트럼. 대각선 (diagonal) 피크와 교차 (cross) 피크로 구성됨. 대각선 피크들 ( $A_d$ 와  $B_d$ )간의 상호관계가 있는 경우 교차피크 ( $AB_x$ )가 생성됨을 의미함.  $d$ 는 diagonal을 의미하고,  $x$ 는 cross를 의미함.  $A$ 와  $B$ 는 다른 공명주파수에서 나타나므로 2개의  $\omega_A$ 와  $\omega_B$ 에서 chemical shift를 갖음.  $\omega_1$ 과  $\omega_2$ 는 각각  $t_1$ 과  $t_2$  동안 얻어진 데이터를 display하는 축에 해당하고,  $t$  (time domain)에서  $\omega$  (frequency domain)으로 변환은 Fourier transform에 의해 수행된다.

2차원 FT을 통하여 2개의 주파수축에 대한 스펙트럼을 산출하는데 Figure 2는 전형적인 동중핵중간의 스펙트럼을 보여준다. 여기서 2차원 스펙트럼에서 대각선 (diagonal) 피크 (즉,  $A_d$ 와  $B_d$ )와 교차 (cross) 피크 (즉,  $AB_x$ )로 구성된다. 2D 스펙트럼은 대각선을 중심으로 대칭이며, 한 방향으로 투시 (projection) 되는 스펙트럼을 바로 1D 스펙트럼에 해당한다. 대각선 피크들은 동일한 같은 스핀 (즉, A와 B)으로부터 자화가 전개되므로 자화가 이루어지지 않아 그대로 그 자리에 존재하게 된다. 반면에 교차 (cross) 피크 (즉, X)는 스핀 혼합기간 동안 첫 번째와 두 번째 스핀들간의 자화가 전이되어 그 결과 나타난 생성물이다. 따라서 대각선 피크들간의 상호관계가 있는 경우 교차피크가 생성된다. 그러므로 교차피크들은 2D MR 스펙트럼에서 가장 중요한 정보를 함유하고 있다고 볼 수 있다.

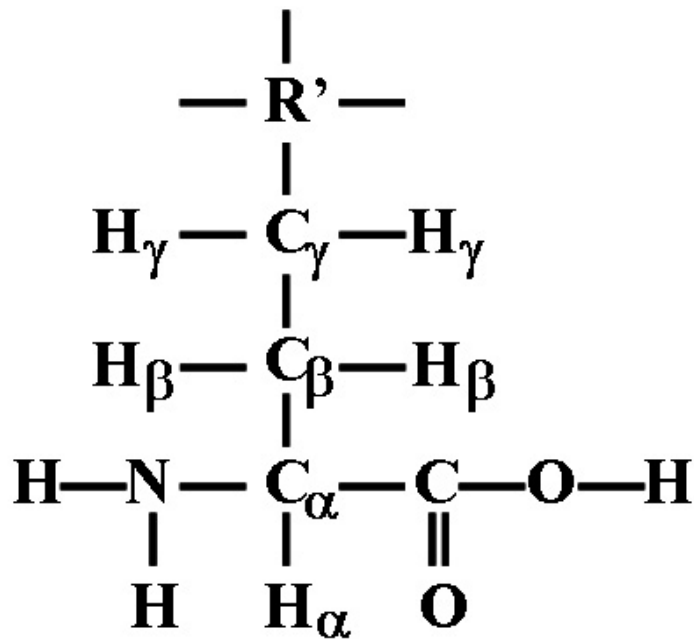


Figure 3. 아미노산 backbone 구조. 아미노기 (-NH<sub>2</sub>)와 카르복실기 (-COOH) 사이에 C<sub>α</sub>이 존재함. C<sub>α</sub>에 붙어있는 연결된 H를 H<sub>α</sub>로 명시하고 이어서 C<sub>β</sub>에 붙어있는 연결된 H를 H<sub>β</sub>로 명시하고 이어서 C<sub>γ</sub>에 붙어있는 연결된 H를 H<sub>γ</sub>로 명시함. R'은 연속가능한 carbon chain을 의미함.

Figure 3은 전형적인 아미노산 backbone 구조를 보여주는 모식도이다. 아미노기 (-NH<sub>2</sub>)와 카르복실기 (-COOH) 사이에 C<sub>α</sub>이 존재하고, C<sub>α</sub>에 붙어있는 연결된 H를 H<sub>α</sub>로 명시하고, 이어서 C<sub>β</sub>에 붙어있는 연결된 H를 H<sub>β</sub>로 명시하고, 이어서 C<sub>γ</sub>에 붙어있는 연결된 H를 H<sub>γ</sub>로 명시한다. 이러한 구조를 갖는 아미노산을 2D 스펙트럼으로 산출하면 Figure 4와 같은 결과를 얻을 수 있다.

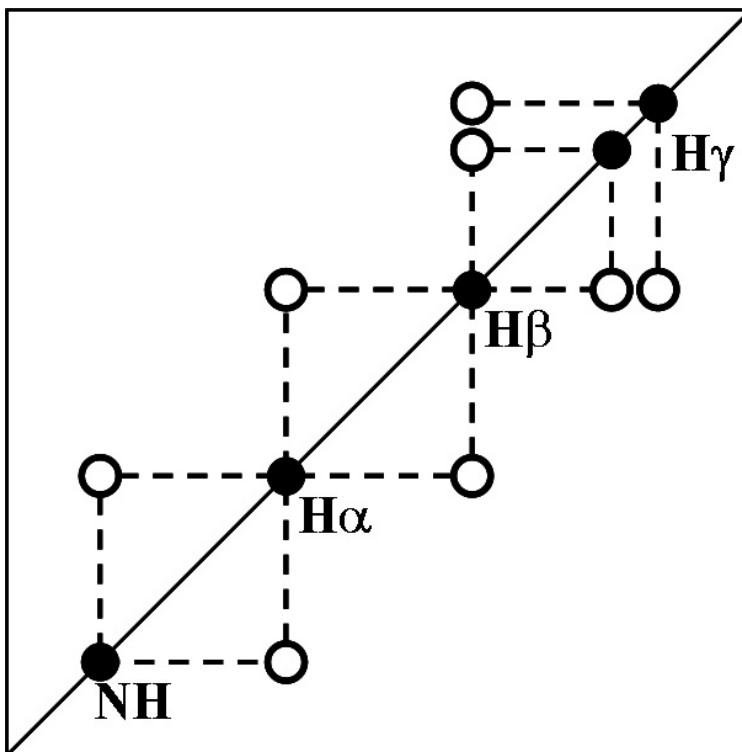
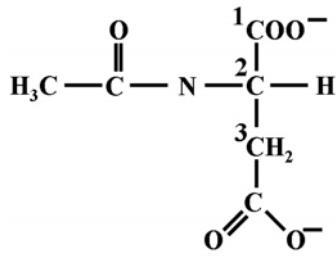


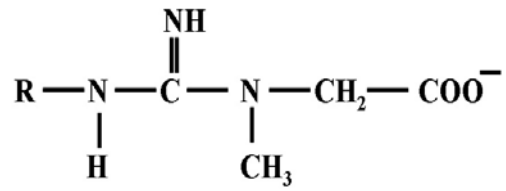
Figure 4. 전형적인 2D COSY 스펙트럼. 3-bond coupling connectivity를 대각선 (diagonal) 피크와 교차 (cross) 피크를 통하여 보여줌

Figure 4는 전형적인 2-D COSY 스펙트럼으로서 Figure 3에서 보여준 아미노산 구조물에서 NH, H<sub>α</sub>, H<sub>β</sub>, H<sub>γ</sub> 등의 3-bond coupling connectivity를 대각선 (diagonal) 피크와 교차 (cross) 피크를 통하여 보여준다. 자화가 스칼라

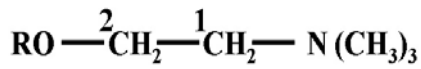
coupling을 통하여 이전되었음을 알 수 있다.  $4J$  coupling constant는 거의 0에 가까우므로 3 bond 이상인 경우 거의 교차 피크를 얻을 수 없다. 또한 NH와  $H_\alpha$ 의 교차피크는 아미노산 backbone 구조를 표시하는 이면각에 대한 정보를 얻을 수 있기 때문에 매우 중요하다. 참고로 각각 두 개의  $H_\beta$ 와  $H_\gamma$  양성자들은 서로간의 구별을 못할 정도로 일치된 화학적 자기적 성질을 갖으므로 2D 스펙트럼상에서 역시 구별할 수 없다. 양성자 자기공명 분광법에 의하여 탐지 가능한 주요 인체 뇌대사물질들의 화학 구조를 Figure 5에서 확인 가능하다.



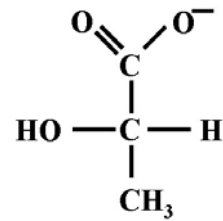
N-acetyl aspartate (NAA)



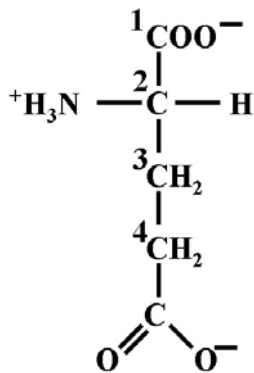
creatine (Cr)



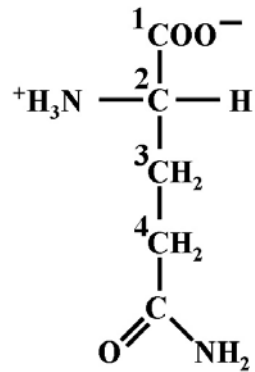
$\text{R} = \text{H}$             choline  
 $\text{R} = -\text{PO}_3^-$       phosphocholine  
                          choline (Cho)



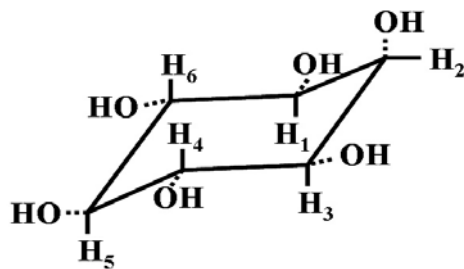
L-lactate (Lac)



glutamate (Glu)



glutamine (Gln)



myo-Inositol (Ins)

**Figure 5.** 양성자 자기공명분광법에 의하여 탐지 가능한 주요 인체 뇌대사물질들의 화학 구조. 탄소의 번호에 따라 프로톤의 번호도 지정됨



## 2D-COSY 및 2D-NOESY

MRS상에서 뇌 대사물질과 유사하도록 희석액을 만들고, 내용물은 GE brain MRS 팬텀 (GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA)을 위한 자료를 참고한다. (Table 1). (21) 모든 실험은 z-actively shielded pulsed field gradient (PFG) 코일이 장착되고, triple resonance cryoprobe가 장착된 Bruker Avance 500 (11.8 Tesla) 장비 에서 quadrature detection mode에 의해 수행된다. 또한 모든 2D 실험은 298 °K에 수행되고, PFG 기술은 수분 용매신호강도를 효율적으로 억제하면서 모든 H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O에 사용 가능하다. 따라서 PFG 기술을 채택하여 수분신호강도를 억제하고, 최종 MRS 샘플은 10% D<sub>2</sub>O를 이용한다. 2D spectra는 2048 complex 데이터 포인트로서 총 320개의 FID를 Averaging 취하고, H<sub>2</sub>O에서 얻어진 스펙트라는 8012 Hz이다. 반복지연 (repetition delay) 시간은 2초, 각각의 FID는 4개의 averaging을 선택하고. 2D-NOESY 스펙트럼을 얻기 위하여 150 ms의 mixing time을 사용하고. 모든 2D 실험은 time proportional phase incrementation (TPPI) 방법을 사용한다.

Table 1. Phantom ingredients of the various metabolites in the brain mimicking solution

Compound	Abbreviation	CAS no.	Concentration
Potassium phosphate monobasic	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	[7779-77-0]	50.0 mM
Soduim hydroxide	NaOH	[1310-73-2]	56.0 mM
Sodium azide		[26628-22-8]	0.01 %
L-Glutamic acid	Glu	[6106-04-3]	12.5 mM
L-Glutamine	Gln	[6106-04-2]	12.5 mM
Creatine hydrate	Cr	[6020-87-7]	10.0 mM
Choline chloride	Cho	[67-48-1]	3.0 mM
N-Acetyl-L-aspartatic acid	NAA	[997-55-7]	12.5 mM
Myo-inositol	Ins	[87-89-8]	7.5 mM
DL-Lactic acid	Lac	[16891-53-5]	5.0 mM
Magnevist	Gd-DPTA		1 ml/l

획득한 2D-COSY, 2D-NOESY 데이터는 Top Spin 2.0 혹은 MRUI 소프트웨어에서 포스트 프로세싱된다. NAA 피크를 기준점 (reference point) 2.02 ppm으로 정하고, Gaussian shape fitting를 이용하여 대사물질 정량분석을 시도한다. 주요 분석대상 대사물질은 N-acetyl aspartate (NAA), creatine (Cr), choline (Cho), glutamine (Gln), glutamate (Glu), myo-inositol (Ins), lactate (Lac)로서 총 7가지 화합물이고, 화학적 이동 (chemical shift) 값은 기존 발표된 데이터를 사용한다. (Table 2) (22-23) 총 7가지 주요 대사물질의 화학적 이동을 표출하는 프로톤들의 명칭은 Table 2에 명시되어 있다.

Table 2. Chemical shift ( $\delta$ )<sup>a</sup> and COSY/NOESY connectivities of the typical brain metabolites by proton MRS.<sup>b</sup>

Compound	(ppm)	Resonance	COSY Connectivity	NOESY Connectivity
NAA	2.02	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> (3,H $\alpha$ )+CH <sub>2</sub> (3,H $\beta$ )	
	2.50	CH <sub>2</sub> (3,H $\alpha$ )	CH <sub>2</sub> (3,H $\alpha$ )+NH	
	2.70	CH <sub>2</sub> (3,H $\beta$ )		
	4.39	CH(2)		
	8.00	NH <sup>c</sup>		
Cr	3.03	CH <sub>3</sub>		CH <sub>3</sub> +CH <sub>2</sub>
	3.93	CH <sub>2</sub>		
Cho	3.24	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>		
	3.56	CH <sub>2</sub> (2)		
	4.07	CH <sub>2</sub> (1)		
Glu	2.11	CH <sub>2</sub> (3)	CH <sub>2</sub> (3)+ CH <sub>2</sub> (4)	CH <sub>2</sub> (3)+CH <sub>2</sub> (4)
	2.35	CH <sub>2</sub> (4)		CH <sub>2</sub> (3)+CH(2)
	3.76	CH(2)		
Gln	2.14	CH <sub>2</sub> (3)		CH <sub>2</sub> (3) +CH(2)
	2.46	CH <sub>2</sub> (4)		
	3.79	CH(2)		
	6.13	CH(1') <sup>c</sup>		
	8.25	CH(2)		
Ins	8.54	CH(8)		
	3.27	CH(5)	CH(5)+ CH(4,6)	CH(5)+ CH(4,6)
	3.53	CH(1,3)	CH(1,3)+CH(4,6)	CH(1,3)+ CH(2)
	3.59	CH(4,6)	CH(1,3)+ CH(2)	
Lac	4.05	CH(2)		
	1.33	CH <sub>3</sub> (3)	CH <sub>3</sub> (3)+ CH(2)	CH <sub>3</sub> (3)+ CH(2)
	4.11	CH(2)		

<sup>a</sup> VS. TMS at 0.0ppm

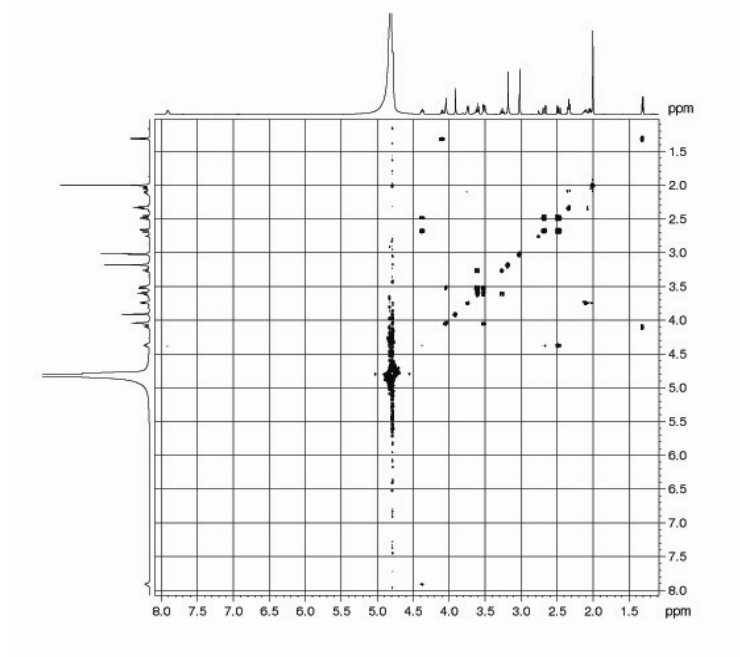
<sup>b</sup> Abbreviations are listed in Table 1

<sup>c</sup> Temperature-dependent chemical shift; *in vivo*  $\delta$  = 7.85 ppm

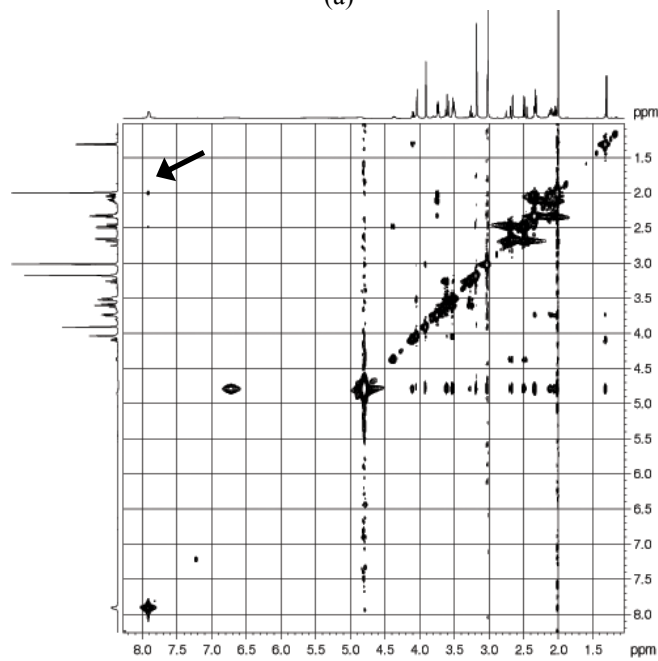
<sup>d</sup> Sugar proton

인체 뇌대사물질로 선정된 주요 분석대상 대사물질 (NAA, Cr, Cho, Gln, Glu, Ins) 7개 화학물질의 스펙트럼을 확인할 수 있다. 인체 뇌대사물질을 이용하여 2D MR 기법인 2D-COSY와 2D-NOESY 스펙트럼을 성공적으로 획득하였다 (Figure 6). 전반적으로 2D-COSY와 2D-NOESY 스펙트럼은 대각선을 중심으로 대칭형을 이룬다. 동종핵종 (수소-수소) 2D 기술으로서 횡축/종축 모두 양성자 화학적 전이 (chemical shift) 범위에서 표시되었다. 2.02 ppm 위치에서 NAA를 확인하여, 기준점으로 결정한 후 다른 대사물질들에 대한 공명 기준 (resonance assignment)을 명시하였다. NAA를 이용한 공명기준 결과 Cr (3.03 ppm), Cho (3.22 ppm), Lac (1.28 ppm) 등 주요 대사물질들의 피크를 명확하게 확인할 수 있다.

Figure 6에서 보듯이 수분억제에 의한 수직/수평 노이즈 피크가 많이 포함되어 있어도 전반적으로 NOESY 교차피크의 개수가 COSY 교차피크의 개수보다 많은 것이 밝혀졌다. 1D-스펙트럼상으로 수분억제 정도 측면에서 NOESY 스펙트럼이 COSY 스펙트럼보다 더 우수하였다. COSY 스펙트럼상에서는 오직 1.0-4.5 ppm 사이에서만 교차피크들이 생성되었다. 반면 NOESY 스펙트럼상에서는 1.0-4.5 ppm 외에도 7.9 ppm에서 공명 교차피크를 발견할 수 있었다. 이는 NAA 분자내 NH 프로톤과 메틸 (-CH<sub>3</sub>) 프로톤과 3차원 공간상에서 5 Å 이내에 존재함을 의미한다.

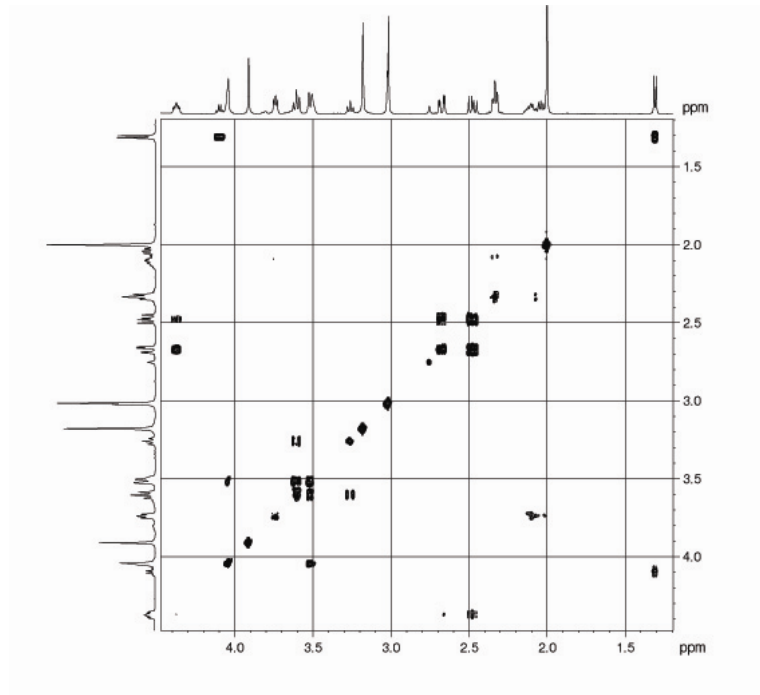


(a)

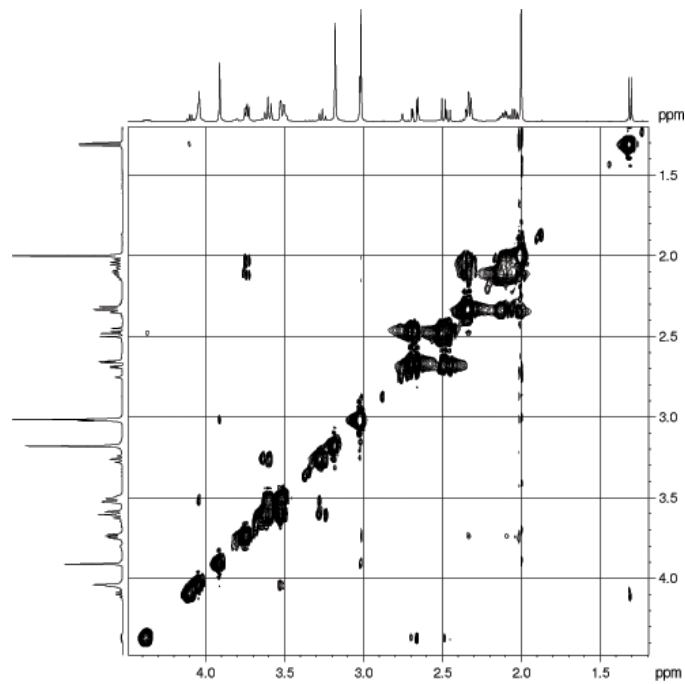


(b)

Figure 6. 인체 뇌대사물질에 관한 2D MRS 스펙트라로서 0-12 ppm을 포함하는 full scale 데이터임. 양쪽 모두 동핵종간 (homonuclear) 양성자 스펙트럼임, (a) COSY 스펙트럼. (b) NOESY 스펙트럼. NOESY 스펙트럼상에서 1.0-4.5 ppm 외에 7.9 ppm에서 공명 교차피크를 발견하였음 (화살표).



(a)



(b)

Figure 7. 인체 뇌대사물질에 관한 2D MRS 스펙트라로서 1-4.5 ppm을 포함하는 데이터임. 중요대사물질들을 모두 포함한 가장 전형적인 중요 스케일임. (a) COSY 스펙트럼. (b) NOESY 스펙트럼.

In vitro 상태의 인체 뇌대사물질에 2-D MR 기술, 즉 2D-COSY와 2D-NOESY 기술을 직접 적용하고, 데이터를 획득하여 인체 뇌대사물질들간의 스칼라 짝지움 (coupling)과 쌍극자 (dipolar) 상호작용-NOE에 대한 분석을 통하여 결합연결관계 및 공간연결관계에 대한 정보를 성공적으로 획득하여 분석할 수 있다.

인체 뇌 대사물질 중 주요 분석대상으로 선정한 총 7가지 화학물 (NAA, Cr, Cho, Gln, Glu, Ins)은 스펙트럼상에서 모두 확인 가능하다. 팬텀 화학물 제작 시 농도를 이미 학계에 발표된 수치를 사용하였기에 정량분석을 이루어 지지 않았다. 그러나 조영제 Magnevist에 화학적 이동 (chemical shift) 및 정량에 대한 정보는 확보할 수 없었다. 이는 Magnevist의 농도가 1 ml/l. (Table 1)로서 너무 미량이라 스펙트럼상에 표출되지 못한 가능성도 있으리라 사료된다.

예상한대로 2차원 COSY와 NOESY 스펙트럼은 1차원 스펙트럼보다 1차원 증가한 만큼 해상도가 향상되었다. 단순한 투시 (projection)선 만을 보여주는 1차원 스펙트럼에 비하여 2차원 스펙트럼은 여러 가지 다양한 병리학적 변화와 직결되는 대사물질의 변화를 측정하는데 사용할 수 있는 교차피크를 보여준다.

수분억제를 위한 CHESS 펄스에 의하여 2D 스펙트럼은 대각선을 중심으로 정확히 대칭을 이루지 않기 때문에 일반적으로 대각선을 중심으로 아래에 위치한 교차피크를 사용한다. (24) 물론 대각선을 중심으로 대칭성을 이용한 평균치 (Averaging) 산출 방법으로 2D-post processing할 수 있으나 인공 (artificial artifacts) 크로스피크 발생 가능성이 있으므로 배제하였다. 결론적으로 2D-COSY 스펙트럼은 피크를 분해하는데 정확도가 매우 탁월함을 확인할 수 있다.

본 연구결과 중 COSY 스펙트럼을 통하여 분자내 through bond 상호작용에 관한 정보를 획득할 수 있었는데, 특히 3-bond 연결 (connectivity) 정보를 직접 획득할 수 있다. 따라서 COSY 크로스피크가 발견되면 우선적으로 해당 프로톤들간에 3-bond의 연결 고리가 형성되어 있음을

확인할 수 있다. 따라서 우선적으로 lactate에서 메틸 프로톤과 CH 프로톤의 COSY 크로스피크가 발견되었고, NAA에서 메틸렌 프로톤들간과 메틸렌 프로톤과 NH프로톤의 크로스피크가 발견되었고, Gln에서 메틸렌 프로톤들간의 크로스피크가 발견되었고, Ins에서 CH 프로톤 들간의 크로스피크가 발견되었다. 이는 분자 구조학상 3-bond 연결 상태를 재확인 시켜주는 결과이다.

NOESY 스펙트럼을 통하여 분자내 through space 상호작용에 관한 정보를 획득할 수 있었는데, NOESY 크로스피크가 발견되면 우선적으로 해당 프로톤들간의 거리가 공간상에서 5 Å 이내에 존재함을 의미한다. 따라서 우선적으로 NAA 분자내 NH 프로톤과 메틸 (-CH<sub>3</sub>) 프로톤과의 NOESY 크로스피크가 발견되었고, lactate에서 메틸 프로톤과 CH 프로톤과의 크로스피크가 발견되었고, Cr에서 메틸 프로톤과 메틸렌 프로톤과의 크로스피크가 발견되었고, Glu에서 메틸렌 프로톤 들간과 또한 메틸렌 프로톤과 CH 프로톤과의 크로스피크가 발견되었고, Gln에서 메틸렌 프로톤과 CH 프로톤과의 크로스피크가 발견되었고, Ins에서 CH 프로톤 들간의 크로스피크가 발견되었다. 이는 분자 구조학상 3차원 공간적으로 매우 의미있는 결과들로서 사료된다.

Thomas 와 그의 동료들은 1.5T를 이용하여 처음으로 인체 뇌에서 2D-COSY를 획득하는 시도를 하였고, (16) 비록 저해상도이지만 성공적인 결과물을 얻었다. 그 후 Thomas 와 그의 동료들은 3T에서 인체 뇌 in vivo 2D-COSY를 보고하였는데, 본 연구결과와 비교하여 대사물질 중 GABA의 존재가 추가되었고, 다른 대사물질들은 모두 동일하였다. (17) In vivo 2D-COSY는 in vitro에 비하여 스펙트럼 noise가 무척 많이 포함되었는데, 이는 2D-COSY를 획득하기에 3T에서도 아직 충분한 SNR확보가 문제가 되는 것으로 추정한다.

반면 7.0T (Varian 300 MHz)에서 in vivo rat brain의 2D-COSY를 획득한 Welch와 그의 동료들은 ISIS-COSY기법을 이용하여 noise가 없는 고해상도 스펙트럼을 획득하는데 성공했다. (25) 그들이 제안한 ISIS-COSY기법은

outer-volume suppression (OVS)에 위한 noise 억제에 매우 뛰어난 반면 수분억제 효율성에서 매우 심각한 단점을 나타냈다.

임상적으로 1.5T에서 2D-COSY와 DQF-COSY를 급성 백혈병환자의 Tibial bone marrow에서 획득하여 임상에 적용하는 시도도 보고되었는데, (26) 정상인과 환자군에서 Tibial bone marrow의 T1과 T2 시간의 차이가 상당히 큰 것으로 나타났다.

일반적으로 COSY의 화학적이동 assignment를 NOESY 보다 우선적으로 실행하는데 그 이유는 COSY의 through bond 상호작용에 대한 확실한 정보를 먼저 확보하고 실험에 임하기 때문이다. 특히 단백질, DNA, RNA, 탄수화물과 같은 거대분자의 COSY와 NOESY 화학적이동 assignment는 상당히 복잡하며 어려운데, 이는 3차원 분자구조가 액체상태에서 고정되어 있지 않고 dynamic하게 움직이기 때문이다. 특히 예상하지 못한 3차원 구조로부터 발생할 수 있는 NOESY 크로스피크의 출현이 종종 발생하는데, 이러한 거대분자의 NOESY 크로스피크이야말로 액체상태의 거대분자의 3차원구조를 결정하는데 가장 핵심적이고 귀중한 정보로 평가 받고 있다. 따라서 이러한 NOESY 크로스피크의 집합체를 모두 동원하여 분자들간의 제한거리 (constraint distance)를 필수조건으로 한 모든 가능한 분자구조를 모두 제시하고, 이를 에너지 최소화 (energy minimization)하여 가장 안정된 분자구조를 결정하고, 그 후 인체에 적합한 열에너지 조건을 주입하여 분자 동력학 (molecular dynamics)을 통하여 인체 내에서 3차원 분자구조 실존 가능성을 분자 궤적 (molecular trajectory)으로 유추할 수 있다.



## References

- (1) Bottomley PA. Human in vivo NMR spectroscopy in diagnostic medicine: clinical tool or research probe? *Radiology* 1989;170:1-15.
- (2) Ross B, Kreis R, Ernst T. Clinical tools for the 90s: magnetic resonance spectroscopy and metabolite imaging. *Eur J Radiol* 1992;14:128-140.
- (3) Weiner MW. The promise of magnetic resonance spectroscopy for medical diagnosis. *Invest Radiol* 1988;23:253-261.
- (4) Henriksen O. MR spectroscopy in clinical research. *Acta Radiologica* 1994;35:96-116.
- (5) 최보영. 자기공명분광법. *대한자기공명의과학회지* 1997;1:1-31.
- (6) 최보영, 강세권, 추명자 외 High resolution MR images from 3T Active-shield whole body MRI system. *대한자기공명의과학회지* 2001;5:138-148.
- (7) Karplus M. Contact electron-spin coupling of nuclear magnetic moments. *J Chem Phys.* 1959;30:11-15.
- (8) Karplus M. Vicinal proton coupling in NMR. *J Am Chem Soc* 1963;85:2870-2871.
- (9) Wuthrich K. *NMR of proteins and nucleic acids*, 1986, Wiley, New York
- (10) Aue WP, Bartholdi E, Ernst RR. Two-dimensional spectroscopy, Application to nuclear magnetic resonance. *J Chem Phys* 1876;64:2229-2246.
- (11) Wagner G. Two-dimensional relayed coherence transfer spectroscopy of a protein. *J Magn Reson* 1983;55:151-156.
- (12) Braunschweiler L, Ernst RR. Coherence transfer by isotropic mixing: Application to proton correlation spectroscopy. *J Magn Reson* 1983;53:521-528.
- (13) Subramanian S, Bax A. Generation of pure phase NMR subspectra for measurement of homonuclear coupling constants. *J Magn Reson* 1987;71:325-330.
- (14) Kumar A, Ernst RR, Wuthrich K. A two-dimensional nuclear Overhauser enhancement (2D NOE) experiment for the elucidation of complete proton-proton cross-relaxation networks in biological macromolecules. *Biochem Biophys Res Commun.* 1980;95:1-6
- (15) Davis DG, Bax A. Separation of chemical exchange and cross-relaxation effects in

- two-dimensional NMR spectroscopy. *J Magn Reson* 1985;64:533-535.
- (16) Thomas MA, Yue K, Binesh N, et al. Localized two-dimensional shift correlated MR Spectroscopy of human brain. *Magn Reson Med* 2001;46:58-67.
- (17) Thomas MA, Hattori N, Umeda M, Sawada T, Naruse S. Evaluation of twp-dimensional L-COSY and JPRESS using a 3T MRI scanner: from phantoms to human brain *in vivo*. *NMR Biomed* 2003;16:245-251.
- (18) Kreis R, Boesch C. Spatially localized, one- and two-dimensional NMR spectroscopy and *in vivo* application to human muscle. *J Magn Reson B* 1996;113:103-118.
- (19) Thomas MA, Chung HK, Middlekauff H. Localized Two-Dimensional 1H Magnetic Resonance Exchange Spectroscopy: A Preliminary Evaluation in Human Muscle. *Magnetic Resonance in Medicine* 2005;53:495-502
- (20) Thomas MA, Yue K, Binesh N, DeBruhl N. Volume localized two dimensional correlated MR spectroscopy of human breast cancer. *J Magn Reson Imaging* 2001;14:181-186.
- (21) Schirmer T, Auer DP. On the reliability of quantitative clinical magnetic resonance spectroscopy of the human brain. *NMR Biomed* 2000;13:28-36.
- (22) Barker PB, Breiterb SN, Soher BJ. Quantitative proton spectroscopy of canine brain: In vivo and in vitro correlations. *Magn Reson Med* 1994;32: 57-163.
- (23) Van Zijl PCM, Barker PB. Magnetic resonance spectroscopy and spectroscopic imaging for the study of brain metabolism. *Annals New York Academy of Sciences* 1997;820:75-96
- (24) Binesh N, Yue K, Fairbanks L, Thomas MA. Reproducibility of Localized 2D Correlated MR Spectroscopy *Magn Reson Med* 2002;48:942-948.
- (25) Welch JWR, Bhakoo K, Dixon RM, Styles P, Sibson NR, Blamire AM. In vivo monitoring of rat brain metabolites during vigabatrin treatment using localized 2D-COSY. *NMR Biomed* 2003;16:47-54.
- (26) Prescott AP, Dzik- Jurasz ASK, Leach MO, Sirohi B, Powles R, Collins DJ. Localized COSY and DQF-COSY 1H-MRS Sequences for Investigating Human Tibial Bone Marrow In Vivo and Initial Application to Patients With Acute Leukemia. *J Magn Reson Imag* 2005;22:541-548.