J Korean Gastric Cancer Assoc
2003;3(3):151-157

□ 원 저 □

정상 위 조직과 위암 조직의 시험관 내 수소자기공명분광

[1]인제대학교 의용공학과, [2]부산 백병원 진단방사선과, 인제대학교 [3]의료영상과학대학원, [4]의과대학 진단방사선과, 인제대학교 [5]백병원 병리학교실, [6]백인제 기념연구소, [7]서울아산병원 아산생명과학연구소 NMR 연구실

조지연[1] · 신운재[2] · 최기승[1] · 김수현[1] · 은충기[3,4] · 양영일[5,6] · 이정희[7] · 문치웅[1,3]

Ex Vivo ^{1}H MR Spectroscopy: Normal gastric and cancer tissue

Ji Youn Cho, B.S.[1], **Oon Jae Shin**, M.S.[2], **Ki Seung Choi**, B.S.[1], **Su Hyun Kim**, B.S.[1], **Choong Ki Eun**, M.D.[3,4], **Young Il Yang**, M.D.[5,6], **Jung Hee Lee**, Ph.D.[7] and **Chi Woong Mun**, Ph.D.[1,3]

[1]Departments of Biomedical Engineering, Inje University and [2]Diagnostic Radiology, Pusan Paik Hospital, [3]Graduate School of Medical Imaging Science and [4]Diagnostic Radiology, College of Medicine, Inje University, and [5]Pathology, Inje University Paik Hospital, [6]Paik-Inje Memorial Institute, [7]NMR Laboratory of Asan Institute for Life Science, Asan Medical Center, Korea

Purpose: In this study, we attempted to ascertain the proton magnetic resonance spectroscopy (^{1}H MRS) peak characteristics of human gastric tissue layers and finally to use the metabolic peaks of MRS to distinguish between normal and abnormal gastric specimens.

Materials and Methods: *Ex-vivo* ^{1}H MRS examinations of thirty-five gastric specimens were performed to distinguish abnormal gastric tissues invaded by carcinoma cells from normal stomach-wall tissues. High-resolution 400-MHz (9.4-T) ^{1}H nuclear magnetic resonance (NMR) spectra of two gastric layers, a proper muscle layer, and a composite mucosa-submucosa layer were compared with those of clinical 64-MHz (1.5-T) MR spectra. Three-dimensional spoiled gradient recalled (SPGR) images were used to determine the size and the position of a voxel for MRS data collection.

Results: For normal gastric tissue layers, the metabolite peaks of 400-MHz ^{1}H MRS were primarily found to be as follows: lipids at 0.9 ppm and 1.3 ppm; alanine at 1.58 ppm; N-acetyl neuraminic acid (sialic acid) at 2.03 ppm; and glutathione at 2.25 ppm in common. The broad and featureless spectral peaks of the 64-MHz MRS were bunched near 0.9, 1.3, and 2.0, and 2.2 ppm in human specimens without respect to layers. In a specimen (Borrmmann type Ⅲ) with a tubular adenocarcinoma, the resonance peaks were measured at 1.26, 1.36 and 3.22 ppm. All the peak intensities of the spectrum of the normal gastric tissue were reduced, but for gastric tumor tissue layers, the lactate peak split into 1.26 and 1.39 ppm, and the peak intensity of choline at 3.21 ppm was increased.

Conclusion: We found that decreasing lipids, an increasing lactate peak that split into two peaks, 1.26 ppm and 1.36 ppm, and an increasing choline peak at 3.22 ppm were markers of tumor invasion into the gastric tissue layers. This study implies that MR spectroscopy can be a useful diagnostic tool for gastric cancer. **(J Korean Gastric Cancer Assoc 2003;3:151-157)**

Key Words: Magnetic resonance spectroscopy (MRS), Gastric cancer, Histopathology

중심 단어: 자기공명분광, 위암, 해부병리학

서 론

위암은 아시아 지역에서 가장 일반적인 악성 종양 중의 하나로 이 지역에서의 위암 발생률과 사망률은 서구권에 비해 현저히 높게 나타나고 있다.(1-3) 최근의 조사에 의하면 악성 종양에서 위암이 차지하는 비율이 약간 감소하는 경향을 보이나 아직도 다른 악성 종양에 비하여 월등히 높은 비율을 차지하고 있어 위암에 대한 조기 진단 및 치료가 매우 중요하다고 할 수 있다.(3-5) 일반적으로 위암 진단에는 gastrofiberscopic X-ray나 fluoroscopic X-ray 영상을 이용한 내시경 검사법, 컴퓨터 단층촬영, 내시경 초음파 단층 촬영술이 이용되어 왔다. 그러나 이 방법들은 위벽을 구성하고 있는 여러 개의 층을 명확히 구별해 낼 수 없다는 기술적 한계를 가지고 있어서 위암 단계(staging)에서 가장 중요한 요소 중의 하나인 장막층의 침윤 정도를 정확하게 평가하는데 어려움이 있다. 이의 대안으로 자기공명(magnetic resonance; MR) 영상을 이용한 방법이 위암 진단에 이용될 수 있는 가능성에 대한 연구 보고가 있었지만,(6-8) 이 또한 위의 질병을 연구하거나 진단하는데 문제점을 지니고 있

책임저자 : 문치웅, 경상남도 김해시 어방동 607
인제대학교 의용공학과, 의료영상과학대학원, 621-749
Tel: 055-320-3297, Fax: 055-327-3292
E-mail: mcw@bse.inje.ac.kr

접수일 : 2003년 9월 3일, 게재승인일 : 2003년 9월 15일

다. 첫 번째는 위벽의 연동 운동과 호흡으로 인해 생기는 MR artifact로 인해 정확한 진단이 어렵다는 점이다. 두 번째는 위 조직 층의 두께가 너무 얇아서 각 층에서 암 세포의 침윤 정도를 알아내기 힘들다는 것이다. 그래서 아시아 지역에서 위암이 가장 일반적인 악성 종양임에도 불구하고, MR 영상을 이용한 위암의 연구가 활발하지 못하였다.(6-8) 현재까지 MR 장치를 이용한 위암 연구를 살펴보면, 오 등(6)은 수술로 적출한 위암 조직의 경우 정상 위 조직에 비해 위벽 층의 MR T2 영상 신호가 감소하는 특성을 나타내었으며 위벽의 암세포 침윤을 MR 영상을 이용하여 진단할 수 있다고 보고하였다. 그 뒤 Matsushita 등(7)과 Düx 등(8)은 MR 영상에서 반대위상 기법(opposed phase sequence)이 위암 진단에 도움이 됨을 발표하였다. 지금까지 이러한 연구들은 MR 영상을 기초로 이루어졌으나, MR 분광(spectroscopy)을 이용했다는 보고는 없었다. MR 분광은 생검을 시행하지 않고, 비침습적으로 인체 내의 여러 가지 대사산물들을 식별하고, 정량 분석할 수 있는 방법으로서 질병 부위의 물질 대사 변화를 토대로 진단에 도움을 주고, 질병의 치료 효과를 평가하는 데 성공적으로 사용되어 왔다.(9-12) 따라서 본 연구에서는 MR 분광의 이러한 특성을 이용하여 위 조직 층의 MR 수소분광 신호 특성을 조사함으로써 정상 위 조직 시편과 위암 조직 시편에서 획득한 분광 신호의 차이를 각 층별로 구별하고, 이를 해부병리학적인 유형에 따라 분광신호를 분류하여 수소원자핵 MR 분광 기법이 위암을 진단하는 데 유용한 방법이 될 수 있는 가능성을 보이고자 한다. 그러나 MR 분광법은 인체 내부의 장기에 적용시키기에는 한계가 있다. 연동 운동을 하는 생체 내의 위 조직에서 오류가 없는 MR 분광신호를 획득하기가 현재의 기술로는 쉽지 않다. 따라서 본 연구에서는 생검에 의해 적출된 위 조직에서 MR 분광을 획득하여 분석함으로써 앞으로의 MR 분광에 의한 생체 내 위 조직의 위암 진단에 대비하고자 하였다.

방 법

1) MR 영상 및 분광

본 연구에서는 64 MHz (1.5T) MRI/S (Signa Lx 8.3, Horizontal bore magnet, GE Medical Systems, Milwaukee, WI, USA)와 400 MHz (9.4T) NMR spectroscopy 장치(DSX 400, Vertical bore magnet, Bruker, Fällanden, Switzerland)를 사용하였다. 스펙트럼의 획득 영역을 결정하기 위해서 얻는 MR 영상은 3D SPGR 방법을 사용하였으며 영상 변수는 repetition time (TR)/echo time (TE)=80/4.7 msec, Flip angle=45°, field of view (FOV)=9 cm, slice thickness (TH)=2 mm, number of excitation (NEX)=2로 하였다. MR 분광 신호는 point resolved spectroscopy sequence (PRESS) 기법을 사용하여 한 개의 voxel에서 TR/TE=2,000/30 msec, NA=256의 변수를 사용하여 획득하였다. 적은 용량의 voxel 영역에서 양질의 MR 분광을 획득하기 위해 quadrature형의 송·수신 겸용 소형 코일을 제작하여 사용하였다. 현재 MRS용으로 상용화된 무릎 코일을 사용했을 때 스펙트럼의 손상 없이 이용할 수 있는 최소 voxel 크기는 4×4×4 mm^3이다. 하지만 본 연구에서 제작한 소형 코일을 이용하면 최소 voxel의 크기를 3×3×3 mm^3으로 줄일 수 있었다. Voxel 위치 선정을 위한 region of interest (ROI)은 두 영역에서 설정하였다. 한 개의 ROI는 고유근층에서 설정하고, 다른 ROI는 점막층과 점막하층을 포함하는 영역에서 하였다. 점막층과 점막하층은 두께가 매우 얇고(<3 mm) ROI의 크기 한계 때문에 분리해서 획득할 수 없었다.

2) 위 조직 시편

본 연구에서는 2003년 1월에서 5월 사이에 위암 수술 후에 인체에서 적출한 35개의 위 조직 시편을 사용하여 ex vivo MR 분광신호를 획득하였다. 이 중에서 13개는 암 조직이고, 나머지는 정상 조직인 것으로 해부병리학 검사 결과에서 나타났다(Table 1). 절제된 시편은 즉시 냉장 보관된 후에 MR 분광신호를 획득하였다.

(1) 400 MHz NMR 수소 분광: 고해상도의 NMR 수소 분광은 2개의 위 조직에서 400 MHz NMR 분광기(spectrometer)를 이용하여 획득하였다. 이 중의 한 개는 정상 조직이고 다른 것은 위궤양이 있는 위암 조직으로 해부병리학 검사 결과를 얻었다. 위절제술 후에 각 조직을 4×10 mm^2의 크기로 분리되지 않은 점막층과 점막하층 시편 그리고 고유근층의 시편으로 절단하였다. 준비된 시편들은 NMR 시험관(내경=5 mm)에 넣은 후에 NMR 분광신호를 획득하였다. 정상 조직 데이터는 점막층/점막하층과 근육층의 시편에서 측정하고 위암 조직 데이터는 고유근층에 설정한 2개의 ROI에서 획득하였다. 이 중 한 개의 ROI는 정상 영역이고, 나머지 ROI는 궤양 부근의 위암 영역으로 설정하였다.

(2) 64 MHz ^{1}H MR 분광: 64 MHz MR 분광은 22개의 정상 조직과 21개의 위암 조직에서 획득하였다. 위절제술 후에 획득된 조직들을 2.5×7 cm^2의 크기로 절단하여 폴리에틸렌 주사기(내경=3 cm, 50 ml)의 피스톤의 중앙에 위치시키고 수술용 봉합사를 이용하여 조직의 가장자리를 고정시켰

Table 1. Number of prepared specimens and ROIs for MR spectrum

MR modality	Non-cancerous specimen			Cancerous specimen		
	n*	MC+SMC	MUS	n	MC+SMC	MUS
400 MHz	1	2	2	1	2	2
64 MHz	21	27	31	12	28	24

* = number of specimens. MC+SMC = number of ROIs selected in mucosa and submucosa layer, MUS = number of ROIs selected in muscle layer.

다. 그리고 생리 식염수 용액으로 채우고 고무마개로 막아서 밀봉하였다. 그리고 이 관은 조직의 변성을 예방하기 위하여 4°C에서 냉장 보관하였다. MRS 데이터는 조직의 생리적 변성이 진행되는 것을 감안하여 절제된 후 4~5시간 내에 획득하였다.(10) 먼저 3D SPGR 영상을 얻은 후 위 조직의 각 층별로 ROI를 선정하여 MR 분광 신호를 획득하였다. 정상 조직에서는 점막층/점막하층에서 28개의 ROI와 고유근층에서 60개의 ROI를 설정하여 MRS 데이터를 획득하였다. 그리고 위암 조직에서는 점막층/점막하층에서 28개의 ROI와 고유근 층에서 24개의 ROI에서 MRS 데이터를 얻었다.

3) 데이터 분석

획득된 위 조직의 대사물질에 대한 MR 분광신호는 단일체적(single voxel) 처리 S/W를 이용하여 분석되었다.(12) 기존의 다른 조직에 대한 MR 분광 문헌 및 연구 보고서에서 밝혀진 대사물질들의 peak 위치로 부터(10-11,14-18) 지질(lipid), 3-하이드록시뷰티르산(3-hydroxybutylate), 알라닌(Alanine), 아세트산(Acetatic Acid), 글루탐산(Glutamate), 글루타민(Glutamine), 크레아틴(Creatine), 포스포크레아틴(Phosphocreatine), 콜린(Choline) 등의 대산물질을 비교하여 본 연구에서 관측한 정상 위 조직의 수소 분광 신호들의 대사물질 peak와 대응시켰다. 본 영구에서 측정된 대사물질의 peak 위치 정보는 평균 값±표준편차(관측된 peak 수/총 측정 수)의 형태로 나타내었다(Table 2). 점막층/점막하층과 고유근층에서 획득한 분광신호의 비교를 위하여 SPSS (Version 10.0 for Windows, Chicago, IL, USA)를 사용하여 독립 표본 t-test와 Mann-Whitney u-test 방법으로 평균 분석을 시행하였다.

사용된 조직의 정상/비정상 여부를 판단하기 위해서 Hematoxylin-erosin (H-E) 염색에 의한 해부병리학 검사를 시행하였으며 판독 결과는 위 조직에 있는 암세포의 침윤 정도에 따라서 MR 스펙트럼을 분류하는데 이용되었다.

Table 2. Assignment of ^{1}H MR spectra

Metabolites	Funtional group	Primary peak (PPM)	Peak intensity of tumor
Lipid methyl	-CH_3	0.90	↓
Lipid methylene	-CH_2	1.33	↓
Lactate	-CH_3	1.33	↑
Alanine	β-CH_3	1.47	↓
Acetate	-CH_3	1.92	↓
N-Acetyl neuraminic acid (sialic acid)	N-CH_3	2.05	↓
Glutamine/Glutamate	β-CH_2	2.10	↓
Glutathion		2.2	
Cr/PCr	-CH_2	3.12	↑
Formalin	HCHO	3.21	
Choline	-CH_3	3.21	

Arrow implies variation of the relative concentration of carcinoma compared to normal stomach tissue. Cr = creatin; PCr = phosphocreatine.

결 과

위 조직의 MR 영상은 64 MHz의 수소 공명주파수를 갖는 1.5 T MR 영상 시스템에서 얻었다. 3D SPGR 방법으로 MR 영상을 이용하면 위 벽의 점막층, 점막하층 그리고 고유근층

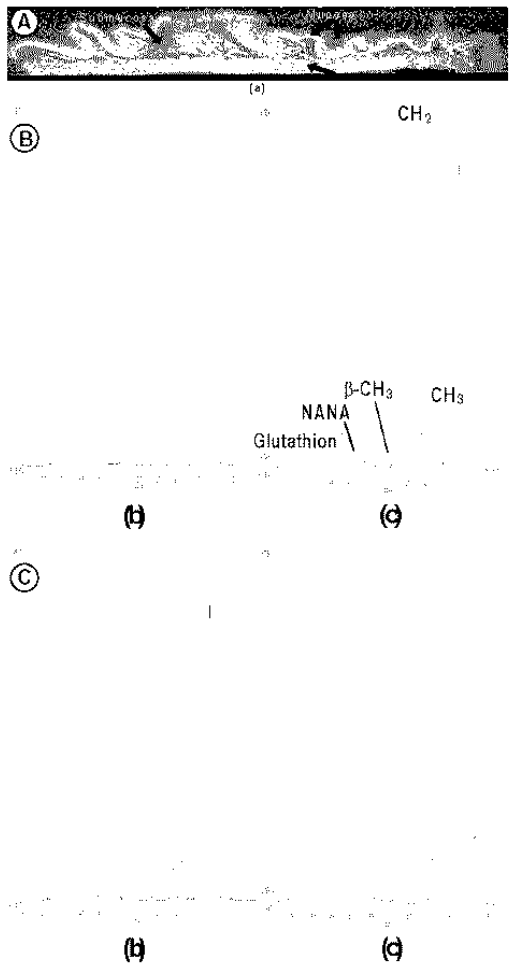

Fig. 1. A: 1.5 T MR image using 3D SPGR sequence. 400 MHz ^{1}H NMR spectra acquired from B: composite mucosa/submucosa layer and C: proper muscle layer of human gastric tissue.

의 3개 층 구별을 뚜렷하게 할 수 있었다(Fig. 1A). 따라서 본 연구에서는 위 조직으로 부터 MRS를 얻기 위한 ROI의 위치와 크기 선정은 3D SPGR 영상을 이용하였다.

1) 400 MHz NMR 수소 분광

정상 위 조직의 점막층/점막하층과 고유근층에서 적출한 시료에서 획득한 400 MHz NMR 수소 분광 신호는 0.9 ppm, 1.3 ppm, 1.58 ppm, 2.03 ppm, 2.25 ppm 위치에서 뚜렷한 peak들을 공통적으로 나타내었다(Fig. 1B-C). 이 peak들은 다른 기관의 조직에 대한 MRS 관련 문헌 및 연구 보고서로 부터 각각 지질(CH_3) 지질(CH_2), 알라닌(β-CH_3), 시아릭산(NANA: -N-CH_3), 글루타치온(-CH_3) 등으로 추정되었다. 이들 peak와 뚜렷하지는 않지만, 실험에서 관측되는 분광신호의 peak들을 모아 Table 2에 표시하였다. 점막층/점막하층과 고유근층에서 획득한 두 분광신호 사이에는 대사물질 peak들의 위치와 크기가 크게 차이 나지 않음을 알 수 있었다(Fig. 1B-C).

위암 조직 시편의 NMR 수소분광 획득을 위하여 절제된 2개의 ROI 위치와 크기를 1.5 T MR 영상 시스템에서 얻은 3D SPGR 영상에 표시하였다(Fig. 2A). MUS1으로 표시 된 ROI는 궤양 영역(Fig. 2A의 화살표)으로 부터 떨어져 있는 정상 부위로 판단되는 고유근 층이었다. 그리고 MUS2라고 표시된 ROI는 암 세포가 침윤된 것으로 생각되는 위암 영역 부근의 고유근 층에 설정하였다. MUS1에서 획득한 정상 고유근층의 분광신호(Fig. 2B)에서는 0.90, 1.30, 1.59, 2.03, 2.25 ppm의 위치에서 peak가 관찰되었다. 위암 세포가 침윤된 고유근층의 MUS2 위치에서 얻은 분광(Fig. 2C)은 3.26 ppm의 폴린 peak (Fig. 2C의 peak A)을 제외한 거의 모든 peak들이 상대적으로 그 크기가 감소되어서 나타났다. 암 세포가 침윤된 조직에서는 MR 분광의 물질 대사 peak 크기가 줄어 분광 그림을 수직방향으로 5.5배의 크기로 확대하여 표시하였다(Fig. 2C). 1.3 ppm의 지방 대사물질 peak는 크기가 감소하면서 양쪽 두 개의 peak로 나뉘어지는 것은 젖산(lactate)이 발생하기 때문으로 추정되었다(Fig. 2C의 peak B). 그리고 3.1 ppm 위치의 폴린 peak는 상대적으로 크기가 증가해서 나타나는 차이를 보였다(Fig. 2C의 peak A).

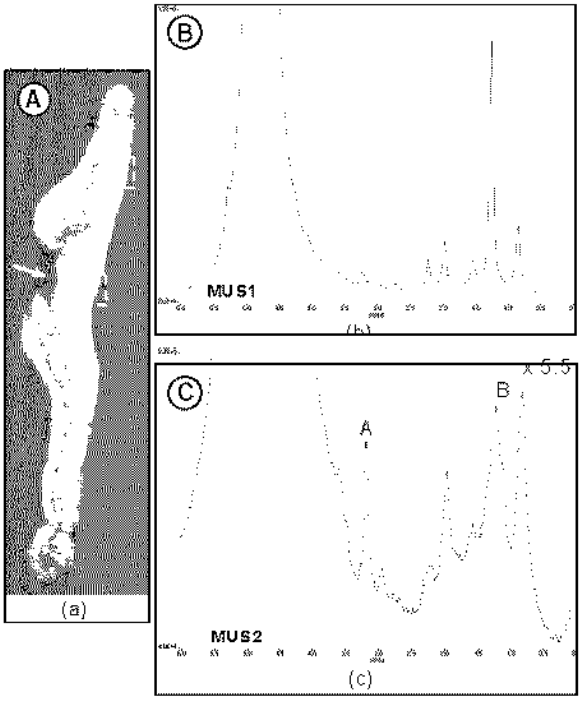

Fig. 2. A: 1.5 T MR image of carcinoma specimens with gastric ulcer. Comparison of 400 MHz ^{1}H NMR spectra between normal muscle layer and carcinoma muscle layer of gastric tissue stored in saline. B: Spectrum obtained from ROI of MUS1 in proper muscle layer of normal stomach tissue. C: Spectrum from ROI of MUS2 in muscle layer invaded by gastric carcinoma cells.

2) 64 MHz MR 수소 분광

암세포의 침윤이 일어나지 않은 것으로 진단이 내려진 정상적인 사람의 위 조직에 대한 절단 단면 사진(Fig. 3A)에서 MC+SMC1와 MUS1로 표시되는 두 사각형은 3D SPGR 영상(Fig. 3B)에서 MRS를 얻기 위한 ROI 위치와 크기가 일치하도록 하였다. 해부병리 H-E 염색 사진(Fig. 3C)은 선택된 ROI 영역의 조직이 정상임을 보여주고 있다. 임상용 1.5 T MR 장비를 이용하여 이 두 ROI에서 얻은 64 MHz MR 수소 분광의 peak들은(Fig. 3D-E) 400 MHz의 NMR 분광에서 보이는 미세한 분광 peak들에(Fig. 2B-C) 비하여 폭이 넓고 이로 인하여 인접한 피크와 서로 겹치는 양상을 보였다. 사람의 정상 위 조직에서 관찰된 MR 분광에서는 지질(0.9 ppm와 1.3 ppm), 시아릭산(2.0 ppm) 그리고 2.2 ppm (글루타치온) 등의 대사물질 peak들이 관찰되었다. MR 스펙트럼 peak의 위치 데이터들을 통계 처리하여 분석한 결과 정상 위 조직에서 존재하는 peak들의 위치는 점막층/점막하층에서 0.90

Table 3. Statistically calculated average position of the ^{1}H MRS peak of non-cancerous gastric tissues

(Unit: ppm)

Peak / Layer	Lipid (CH_3)	Lipid (CH_2)	NANA (N-CH_3)	Glutathione
MC/SMC	0.90+0.052 (21/28)	1.30+0.022 (28/28)	2.03+0.026 (11/28)	2.23+0.041 (5/28)
MUS	0.91+0.055 (59/60)	1.30+0.025 (60/60)	2.01+0.036 (25/60)	2.21+0.031 (23/60)

Parentheses = Number of observed peak/Total number of measurements.

±0.052 (21/28), 1.30±0.022 (28/28), 2.03±0.026 (11/28) ppm, 2.23±0.041 (5/28)로 나타났고, 고유근층에서는 0.91±0.055 (59/60), 1.30±0.025 (60/60), 2.01±0.036 (25/60), 2.21±0.031 (23/60) ppm에서 측정되었다(Table 3). 독립 표본 t-test와 Mann-Whitney u-test를 시행하여 두 층에서의 peak 평균 위치를 분석한 결과 두 방법 모두에서 두 위 조직 층 사이의 분광 신호는 유의한 차이가 없다는 결과를 얻었다($P>0.01$). 400 MHz MR 분광 신호에서 2.0 ppm, 2.2 ppm의 두 peak (Fig. 1B-C)는 64 MHz MR 분광 신호에서 크기가 매우 작아 관측하기 어렵거나 서로 겹쳐져 복잡한 모양을 띄는 경우가 많아 이 경우에는 peak를 분리하여 분석하기가 어려웠다. 또한 400 MHz NMR 분광에서 관찰되던 1.58 ppm의

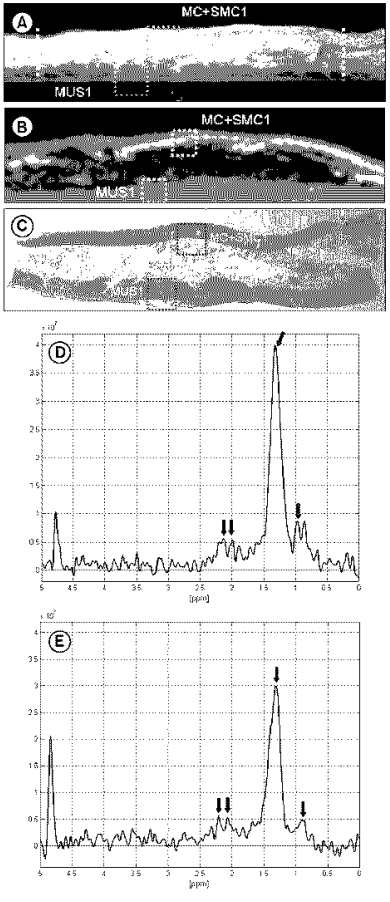

Fig. 3. A normal gastric specimen. A: photograph of the specimen's section. B: MR image obtained by 3D SPGR sequence. C: H-E stained histopathological image. MR spectra obtained from D: MC+SMC1 and E: MUS1.

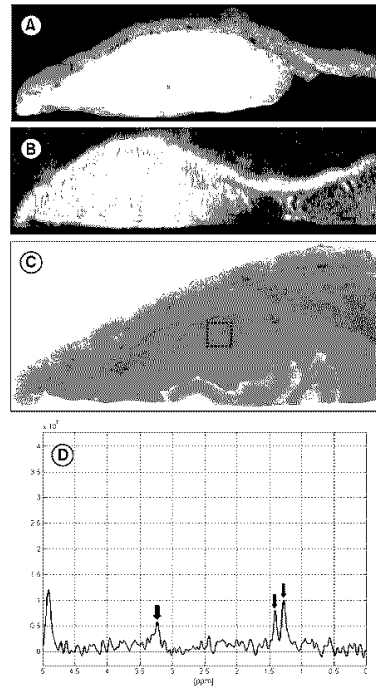

Fig. 4. A: A photograph of gastric tubular adenocarcinoma tissue (Borrmmann Type III). B: corresponding MR image of SPGR sequence and C: histopahtological image. D: MR spectrum measured from ROI indicated by box in (A), (B) and (C). Thin arrows indicate metabolite peaks of lactate and thick arrow peak of choline.

peak는 64 MHz MR 분광에서는 지질(CH_2) peak와 겹쳐 관찰하기 어려웠다.

관상선암종 세포가 위 조직과 주변의 지방조직(perigastric adipose tissue)까지 침윤한(Borrmann type III) 사람의 위 조직 단면 사진(Fig. 4A)에 대한 3D SPGR 영상에서 두께가 두꺼워진 고유근층 부위의 ROI를 선정하여(Fig. 4B) 64 MHz MR 수소 분광신호를 얻었다. 선택된 ROI에 위 암세포가 침윤된 것은 해부병리 사진으로 확인할 수 있었다(Fig. 4C). 암세포가 고유근층까지 침윤된 이 조직 시편에서 획득한 분광(Fig. 4D)에서는 1.26, 1.39, 3.21 ppm의 위치에서 peak가 관찰되었는데 정상 위 조직의 분광(Fig. 3D, E)에 비해서 1.3 ppm의 지방 peak들 크기가 감소하는 동시에 1.26 ppm과 1.39 ppm의 2개 젖산 peak로 나뉘어져 있고 정상조직의 분광(Fig. 3D-E)에서는 없던 3.21 ppm의 콜린 peak가 증가한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4D).

고 찰

본 연구에 사용된 대부분의 위 조직에서 점막층과 점막하층의 두께가 얇아서 MRS 데이터를 획득할 때 이용되는 voxel의 크기는 이 두 층을 포함하여 3×3×3 mm^3 (27㎕)으로 하였다. 하지만 이렇게 작은 voxel 크기로도 얇은 점막층과 점막하층에서는 개별적인 MR 분광신호를 따로 획득할 수 없었다. 본 실험에서 사용하는 voxel의 크기는 두부나 일반 다른 기관의 조직에서 사용되는 voxel 크기인 1~8 ml에 비하여 매우 작기 때문에 신호의 크기가 잡음에 비해 매우 작을 수밖에 없다. 이러한 문제를 해결하기 위해 수신 감도가 높은 quadrature 형의 송·수신 겸용 코일을 시료의 크기에 알맞은 크기(내경=4 cm)로 제작하여 사용하였다.(13) 이 소형 코일을 사용하면 백병원에서 MRS 촬영에 이용되던 상용 무릎코일(내경=18 cm)에 비해서 잡음에 대한 신호의 크기 비율이 약 400% 정도 향상된 신호를 획득할 수가 있었다.

환자에서 적출한 위암 조직과 정상조직을 9.4 T의 400 MHz NMR 수소 분광 장치에서 관찰한 결과 위 조직의 각 대사물질 peak를 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 위암 조직에서는 3.1 ppm peak를 제외하고 모두 크기가 줄어들어(Fig. 2) 정상 조직의 peak와는 차이가 있음을 확인함으로써 9.4 T NMR 분광의 위암 조직의 진단도구로서의 유용성을 입증할 수 있었다. 1.5 T의 64 MHz MR 수소분광은 peak의 폭이 넓고 이웃하는 peak들과 겹쳐 복잡한 모양을 나타내었을 뿐만 아니라 경우에 따라서는 크기가 작아 관측이 힘든 경우도 있었다(Fig. 3, 4). 이는 자장의 강도가 높을수록 분광의 해상도와 신호대잡음비(signal-to-noise ratio, SNR)가 좋아지기 때문이다. 점막층/점막하층과 고유근층 모두에서 0.9, 1.3, 2.0, 2.2 ppm 부근에서의 peak들이 공통적으로 관찰되며 이들 두 층간의 물질대사에는 유의한 차이가 없음을 알 수 있었다($P>0.01$). 9.4 T 분광에서 뚜렷하게 보였던 1.58 ppm의 알라닌 peak는 1.5 T 분광에서는 잘 관찰되지 않았다. 이는 MR 장치의 자장강도가 낮을수록 SNR과 해상도가 떨어져 측정할 수 있는 대사물질이 제한되는데 1.5 T의 자장 강도로는 알라닌을 관찰하기가 어려운 것을 추측된다. 따라서 보다 정밀한 MRS 측정을 위해서는 3~4 T의 자장강도를 갖는 MR장비가 필요하다. 400 MHz MR 분광 신호에서 관측된 2.0 ppm, 2.2 ppm의 두 peak는 64 MHz MR 분광 신호에서 크기가 매우 작아 관측하기 어렵거나 서로 겹쳐져 마치 2.1 ppm의 한 peak만 있는 것처럼 관측된 경우가 점막층/점막하층에서 28 측정 중 2번, 고유근층에서 60 측정 중 5번 있었다. 이는 단 순히 2.0 ppm, 2.2 ppm의 두 peak가 겹쳤다고 단정하기 어려워 계속 연구해야 할 문제로 남아 있다.

본 연구에 사용된 12개 위암 조직의 해부병리 판독 결과 10개의 시편은 관상선암종이고, 1개는 점액암종과 관상선암종이 함께 있는 것으로 나타났다. 그리고 나머지 1개의 시편은 관상선암종과 유두상선암종이 있는 반지세포암종으로 판명되었다. 점막층/점막하층에서 선택한 27개의 ROI 중에서 8개, 고유근층에서 선택한 24개의 ROI 중에서 5개의 영역에서는 분광신호를 관찰할 수 없었다. 이는 ROI가 위암으로 인한 조직의 괴사 영역에 설정되었기 때문에 MR 수소 분광 신호가 없었던 것으로 생각된다. 그 외의 암 세포가 침윤된 조직의 ROI에서 얻은 분광에서는 1.3 ppm 부근의 지질 peak들을 비롯한 주변의 peak 크기가 감소하였다. 여기서 1.3 ppm의 지질 peak는 크기가 감소하면서 동시에 두 개의 peak로 나뉘는 것으로 관찰되었다(Fig. 4D). 결장, 자궁 경부, 전립선, 직장과 같은 인체 장기에서 MR 수소 분광신호를 획득한 다른 연구 결과에서는 1.2~1.3 ppm 위치의 lactate/lipid 신호가 크게 증가하는 것으로 보고되었다. 이는 lactate와 threonie의 methyl 수소원자가 기여하여 mobile neutral lipid의 acyl chain의 metylene 수소원자에 의한 것으로(11,14-18) 본 연구에서 1.3 ppm 부근의 peak가 줄어드는 결과와는 반대이다. 또한 위암 세포가 침윤한 조직에서는 Fig. 2C의 peak A와 Fig. 4D의 화살표가 가리키는 3.2 ppm의 콜린 peak 크기가 상대적으로 증가하여 위 암세포의 침윤을 나타내는 지표로 사용할 수 있는 가능성을 보이고 있다. 실제 본 연구의 실험에서도 위암 조직의 고유근 층(점막층/점막하층)에서 전체 24개(27개) 중 9개(12개)의 ROI에서 3.22+0.016 (3.20+0.026) ppm의 콜린 peak 크기가 증가되어 나타났다. 하지만 이 결과는 다른 연구 보고와는 반대의 결론으로 앞으로 보다 깊은 연구가 필요한 부분이다.

앞으로 본 연구는 ex vivo 실험뿐만 아니라 in vitro 실험을 통해 보다 정밀한 위 조직의 대사물질을 측정 분석하고, 위암의 진행 정도에 따른 위 조직의 층별 MR 분광신호 변화 관계를 규명해야할 과제가 남아 있다. 또 본 연구에서는 사람 위 조직에 대한 ex vivo 실험을 시행하였으나, 장기 조직에 대한 MR 분광법이 적용될 수 있는 기술적 한계를 극복하게 된다면 임상 응용의 궁극적 목표인 in vivo MR 분광

법 연구의 시금석이 될 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서는 위암 환자의 위절제술 후에 절취된 정상 위조직과 암 세포가 침윤된 조직의 점막층/점막하층과 고유근층에서 각각 MR 분광을 획득하고 이의 분석결과를 해부병리학 검사의 결과와 비교하여 검증하였다. 정상 조직의 분광에서는 층의 구별 없이 대사물질의 MR 분광 peak 위치와 크기가 유사한 것으로 나타났고, 해부병리학 결과에서도 정상 조직으로 판명되어 MR 분광이 위암 진단에 있어서 기준 자료가 되었다. 그리고 위암으로 판명된 조직의 분광에서는 정상 조직의 MR 분광에서 나타나던 물질대사 peak들의 크기가 줄어들었고 3.21 ppm의 콜린 peak가 증가하여 나타났다. 이상의 결과로부터 암 세포에 침윤된 조직에서 일어나는 대사물질의 변화를 MR 분광기법으로 관찰할 수 있다는 것을 알 수 있다. 따라서 본 연구는 ex vivo MR 수소분광 기법이 위암을 진단하는데 유용한 방법이 될 수 있음을 확인하였다.

감사의 글

400 MHz NMR spectroscopy 데이터를 획득하는데 도움을 주신 한국기초 과학지원 연구원(대구 분소)에 계신 한옥희 박사님께 감사드립니다.

REFERENCES

1. 유근영. 우리나라 위암 발생의 현황과 전망(1). 녹십자의보 1998;26(2):64-69.
2. 김성국, 정준모. 우리나라 위암 발생의 현황과 전망(2). 녹십자의보 1988;26(2):70-78.
3. 한국중앙암등록사업 연례보고서 2001;12-18.
4. 김재준, 최규완. 위암의 조기 진단. 녹십자의보 1988;26(4):227-231.
5. Kawaramachi, Kamigyo-Ku. Japanecse Classification of Gastric Carcinoma. Gastric Cancer, 2nd Edition, Kyoto. International and Japanese of Gastric Cancer Association. 1998;10-24.
6. Auh YH, Lim TH, Lee DH, Kim YH, Lee MG, Cho KS, Mun CW, Lee I. *In Vitro* MR Imaging of the Resected Stomach with a 4.7-T Superconducting Magnet. Radiology 1994;191:129-134.
7. Matsushita M, Oi H, Murakami T, Takata T, Kim TS, MD, Kishimoto H, Nakamura H, Okamoto S, Okamura J. Extraserosal invasion in advanced gastric cancer: evaluation with MR imaging. Radiology 1994;192:87-91.
8. Dux M, Roeren T, Kuntz C, Schipp A, Scheller D, Mechtersheimer G, Kauffmann GW. MRI for Staging of Gastric Canrcinoma: First Results of an Experimental Prospective Study. J Comput Assist Tomogr 1997;21(1):66-72.
9. Cho JY, Cho JW, Shin WJ, Lee HY, Eun CK, Nam SH, Mun CW. In-vitro and Ex-vivo Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (^{1}H-MRS) Findings for the Stomach Tissue of Patients. Book of abstracts: Eleventh Annual Meeting of the International Society of Magnetic Resonance in Medicine. Toronto, Canada: ISMRM 2003, 1478.
10. Certaines JD, Bove WMM, Podo F. High Resolution Proton MRS in Cancer Pathology. In: Certaines JD, Bove WMM, Podo F, eds. Magnetic Resonance Spectroscopy in Biology and Medicine. 1st ed. U.S.A.: Pergamon Press 1992;507-527.
11. Moreno A, Rey M, Montane JM, Alonso J, Arus C. ^{1}H NMR spectroscopy of colon tumors and normal mucosal biopsies; elevated taurine levels and reduced polyethleneglycol absorption in tumors may have diagnostic significance. NMR biomed 1993;6:111-118.
12. 백문영, 이현용, 신운재, 은충기, 문치웅. PC 기반의 단위용적 및 다용적 기법 자기공명분광 신호처리 분석 소프트웨어의 개발. 대한전자공학회 논문지 SP편 2002;39(5):69-79.
13. Cho JW, Paik MY, Jo JY, Lee HY, Shin WJ, Eun CK, Seo SM, Yi JH, Mun CW. Magnetic Resonance Imaging of Lumen Wall using Quadrature-typed Inside-out Receiver Coil. In: Book of abstracts: 10th Annual Meeting of the International Society of Magnetic Resonance in Medicine, Vol. 2. Honolulu, Hawaii: ISMRM 2002:886.
14. Schiebler ML, Miyamoto KK, White M, Maygarden SJ, Mohler JI. Prostate: Benign Prostatic Hyperplasia, Normal Peripheral Zone and Adenocarinoma. Magn Reson Med 1993;29:285-291.
15. Mountford CE, Mackinnon WB, Russell P, Rutter A, Delikatny EJ. Human cancers detected by proton MRS and chemical shift imaging *Ex Vivo*. Anticancer Res 1996;16:1521-1532.
16. Lee JH, Cho KS, Kim YM, Kim ST, Mun CW, Na JH, Mok JE, Lim TH. Localized In Vivo 1H Nuclear MR Spectroscopy for Evaluation of Human Uterine Cervical Carcinoma. AJR 1998;170:1279-1282.
17. Delikatny EJ, Russell P, Hunter JC, Hancock R, Atkinson KH, van Haaften-Day C, Mountford CE. Proton MR and Human Cervical Neoplasia: *Ex Vivo* spectroscopy allows distinction of invasive carcinoma of the cervix from carcinoma in situ and other preinvasive lesions. Radiology 1993;188:791-796.
18. Brown EB, Franklin WB, Weltner W. Cell-surface carbohydrates and their interactions I. NMR of *N*-acetyl Neuraminic Acid Biochem Biophys Acta 1975;399:124-130.
19. 정태웅, 강형근, 정광우, 박진균, 서정진, 이정희, 유방암의 생체내 및 시험관 내 양성자 자기공명분광법에 대한 연구. 대한방사선의학회지 2001;44:267-275.