Original Article

마이크로 PET을 이용한 고양이 뇌 경색 모델의 평가

서울대학교 의과대학 핵의학교실, 원자력 의학원 핵의학과[1]
이종진 · 이동수 · 김윤희 · 황도원 · 김진수 · 임상무[1] · 정준기 · 이명철

Evaluation of Cat Brain Infarction Model Using MicroPET

Jong Jin Lee, M.D., Dong Soo Lee, M.D., Yun Hui Kim, M.S., Do Won Hwang, B.S., Jin Su Kim, M.S., Sang Moo Lim, M.D., June-Key Chung, M.D., Myung Chul Lee, M.D.
Departments of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine; Departments of Nuclear Medicine, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences[1], Seoul, Korea.

Purpose: PET has some disadvantage in the imaging of small animal due to poor resolution. With the advent of microPET scanner, it is possible to image small animals. However, the image quality was not good enough as human image. Due to larger brain, cat brain imaging was superior to mouse or rat. In this study, we established the cat brain infarction model and evaluate it and its temporal change using microPET scanner. **Materials and Methods:** Two adult male cats were used. Anesthesia was done with xylazine and ketamine HCl. A burr hole was made at 1cm right lateral to the bregma. Collagenase type IV 10 ㎕ was injected using 30 G needle for 5 minutes to establish the infarction model. ^{18}F-FDG microPET (Concorde Microsystems Inc., Knoxville, TN) scans were performed 1, 11 and 32 days after the infarction. In addition, ^{18}F-FDG PET scans were performed using human PET scanner (Gemini, Philips medical systems, CA, USA) 13 and 47 days after the infarction. **Results:** Two cat brain infarction models were established. The glucose metabolism of an infarction lesion improved with time. An infarction lesion was also distinguishable in the human PET scan. **Conclusion:** We successfully established the cat brain infarction model and evaluated the infarcted lesion and its temporal change using ^{18}F-FDG microPET scanner. (Korean J Nucl Med 38(6):528-531, 2004)

Key Words: Cat, brain infarction, microPET

서 론

뇌는 운동으로 인한 인공 산물이 적어, 영상 획득 시간이 긴 PET으로 연구하기에 적합한 기관이다. 뇌는 또한 당대사가 활발하고 해부학적 변이가 적어 ^{18}F-FDG를 사용할 경우 당대사를 쉽게 정량화할 수 있다는 장점이 있다. 그러나 PET은 해상도 한계로 인하여 각종 소동물 실험에서 영상화하는데 현실적인 어려움이 많았다. 마이크로 PET의 등장으로 랫트나 마우스와 같은 실험 동물을 보다 나은 해상도로 평가할 수 있으나 실험 동물의 크기가 작기 때문에 영상이 사람에서와 같이 선명하지는 않다. 고양이와 같은 중소형 동물은 뇌가 상대적으로 크기 때문에 마이크로 PET을 이용하여 보다 선명한 영상을 얻을 수 있다. 이 연구에서는 고양이 뇌 경색을 구축하고 마이크로 PET으로 평가하였으며 시간에 따른 변화도 추적하였다. 또한 사람 PET을 사용하여 마이크로 PET의 영상과 비교하였다.

• **Received**: 2004. 10. 29. • **Accepted**: 2004. 12. 7.
• **Address for reprints**: Dong Soo Lee, M.D. Department of Nuclear Medicine, Seoul National University College of Medicine, #28 Yungun-dong, Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea
Tel: 82-2-760-2501, Fax: 82-2-766-9083
E-mail: dsl@plaza.snu.ac.kr

대상 및 방법

1. 대상

다 자란 수컷 고양이 2마리를 사용하였으며, 체중은 각각 3.0 kg, 3.3 kg 이었다.

2. 방법

1) 뇌출혈성 경색 모델 구축

고양이는 전날 저녁부터 금식한 후 실험하였다. Xylazine (Rompun, Hydrochloride, Bayer, US) 0.125 mg/kg를 근육 주사한 뒤 15분 후에 Ketamine HCl (ketalar, hydrochloride 50 mg/ml, 유한양행) 2.5 mg/kg 근육 주사 하였다. 처치 도중 고양이가 깨면 Ketamine HCl 2.5 mg/kg을 반복 주사하였다. 기관 삽관은 하지 않았고 심전도와 산소포화도 모니터링도 하지 않았다. 고양이가 충분히 마취된 후 엎드리게 한 뒤, 고양이 턱에다 방포를 말아 받친 후 머리를 고정하였고 고양이 아래턱의 하연은 지

면에 수평하게 하였다. 공간 정위 프레임(Stereotaxic frame)은 사용하지 않았다. 털을 제거한 후 베타딘으로 충분히 소독하였다. 고양이 머리의 중앙선에서 2 cm 정도 오른쪽에 고양이 길이 방향으로 3 cm에 걸쳐 피부 절개를 한 후 두개골이 보일 때까지 근육을 박리 하였다. 고양이 대천문에서 오른쪽으로 1 cm되는 곳에 burr 구멍을 뚫은 후 30 G 바늘을 삽입하였으며 방향은 지면에 수직인 방향이었고 삽입한 길이는 두개골 외연으로부터 6 mm이었다. 바늘 끝을 고정한 상태에서 collagenase type IV (Sigma, USA) 10 ㎕를 5분에 걸쳐 주사한 후 1분 후에 바늘을 제거하였다. 뼈 시멘트로 두개골의 구멍을 막은 뒤, 근육과 피부를 각각 꿰맸다. 숙달된 경우 총 소요 시간은 마취 포함하여 50분 정도였다.

2) ^{18}F-FDG PET 촬영

경색을 만든 후 1일, 11일, 32일 후에 PET을 촬영하였다. 고양이는 전날 저녁부터 금식한 후 촬영하였다. Xylazine (Rompun, Hydrochloride, Bayer, US) 0.125 mg/kg를 근육 주사한 뒤 15분 후에 Ketamine HCl (ketalar, hydrochloride 50 mg/ml, 유한양행) 2.5 mg/kg 근육 주사 하였다. 마취된 후 고양이 다리의 표재 정맥에 도관을 설치하였다. Ketamine 주사 20분 정도 후에 원자력 의학원의 micro PET R4 scanner (Concorde Microsystems Inc., Knoxville, TN)을 사용하여 PET 영상을 얻었다. ^{68}Ge를 사용하여 30분에 걸쳐 투과 스캔을 한 뒤 연이어 ^{18}F-FDG를 1 mCi/kg 을 주사한 후 30분에 걸쳐 방출 스캔을 하였다. 추가로 경색 13, 47일에 사람용 PET (Gemini, Philips medical systems, CA, USA)를 사용하여 ^{18}F-FDG PET 촬영을 하였다. 마취 방법은 마이크로 PET을 촬영할 때와 같았다. ^{18}F-FDG는 0.3 mCi/kg를 주사하였고, CT로 감쇠 지도를 얻은 후 20분에 걸쳐 방출 스캔을 하였다.

3) 고양이 행동 평가

Modified limb placing 검사를 이용하였다.[1] 7가지 항목을 측정하였고 각 항목마다 2점 만점, 좌측과 우측을 각각 측정 후 합산하여 총 28점 만점으로 하였다. 경색 후 1, 3, 7, 11, 32일에 시행하였다.

4) PET 영상 처리

마이크로 PET

운동 산물이 많아 투과 스캔은 사용하지 않았다. 방출 스캔은 FORE를 사용해 삼차원 데이터를 이차원으로 변환하였고 OSEM을 이용해 이차원 영상을 재구성하였다. 산란 보정과 감쇠 보정은 하지 않았다. 재구성한 영상의 매트릭스의 크기는 128x128x63 이었고 화소의 크기는 횡축 방향(축방향) 0.84 (1.22) mm이었다. 영상 편집은 ASIpro (Concorde Microsystems Inc., Knoxville, TN)를 사용하였다.

사람용 PET

경색 13일 영상은 전신 모드로 촬영하였다. CT는 140 KeV, 50 mAs로 영상을 얻었고 횡축 방향 FOV는 600 mm이었다. PET의 횡축 방향 FOV의 직경은 576 mm이었고 축 방향 FOV는 180 mm이었다. 영상 재구성은 CTAC를 이용해 Ramla 3D whole body protocol로 재구성하였다. 경색 47일 영상은 뇌 모드로 촬영하였다. PET의 횡축 방향 FOV의 직경은 256 mm이었고 축 방향 FOV는 180 mm이었다. 영상 재구성은 CTAC를 이용해 Ramla 3D brain protocol로 재구성하였다.

결 과

성공적으로 고양이 뇌출혈경색 모델을 만들 수 있었다(Fig. 1). 고양이 우측 전두엽에 해당하는 부위에 생긴 당 대사가 저하된 부분은 시간이 지남에 따라서 호전되었다. 마이크로 PET과 사람용 PET의 영상을 비교해 보면 뇌 모드 영상은 마이크로 PET의 영상의 질에는 미치지 못하나 비교적 경색 부위가 뚜렷하게 보임을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 행동 평가 결과는 표와 같다(Table 1).

Table 1. Behavioral Test Score (total score=28)

Day after infarction	Cat 1	Cat 2
1	17	20
3	17	22
7	24	24
11	24	24
32	28	28

고 찰

고양이는 실험 동물로서 널리 사용되고 있으며 외과적 처치를 잘 견디고 품종과 상관 없이 머리 크기가 비교적 일정하다는 장점이 있다.[2] 따라서 마이크로 PET를 이용한 연구에서 적합하리라 기대 된다.

최근에 각종 줄기 세포를 이용한 연구가 활발하다. 줄기 세포 주입 후 치료 평가를 하는 연구에서는 질병 모델을 확립해야 하는데 뇌의 경우에는 뇌 경색이 대표적이라 할 수 있다. 뇌졸중은 출혈성 뇌졸중과 폐쇄성 뇌졸중의 두 가지로 나뉘며, 출혈성 뇌졸중이 약 15%정도를 차지한다.[3] 출혈성 뇌졸중 모델은

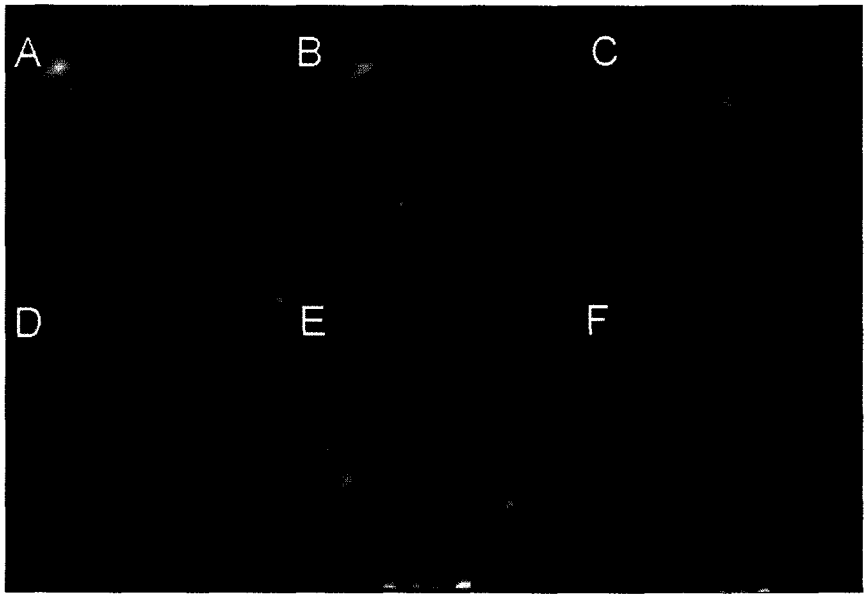

Fig. 1. ^{18}F-FDG microPET images of cat brain. Left sides of figures are right sides of cats. Upper row represents coronal images (A,B,C) and lower row represents transaxial images (D,E,F). MicroPET scans were performed after 1 day (A,D), 11 day (B,E) and 32 day (C,F) after an infarction. The infarction lesion was visualized at the right frontal lobe and the size of infarction decreased with time.

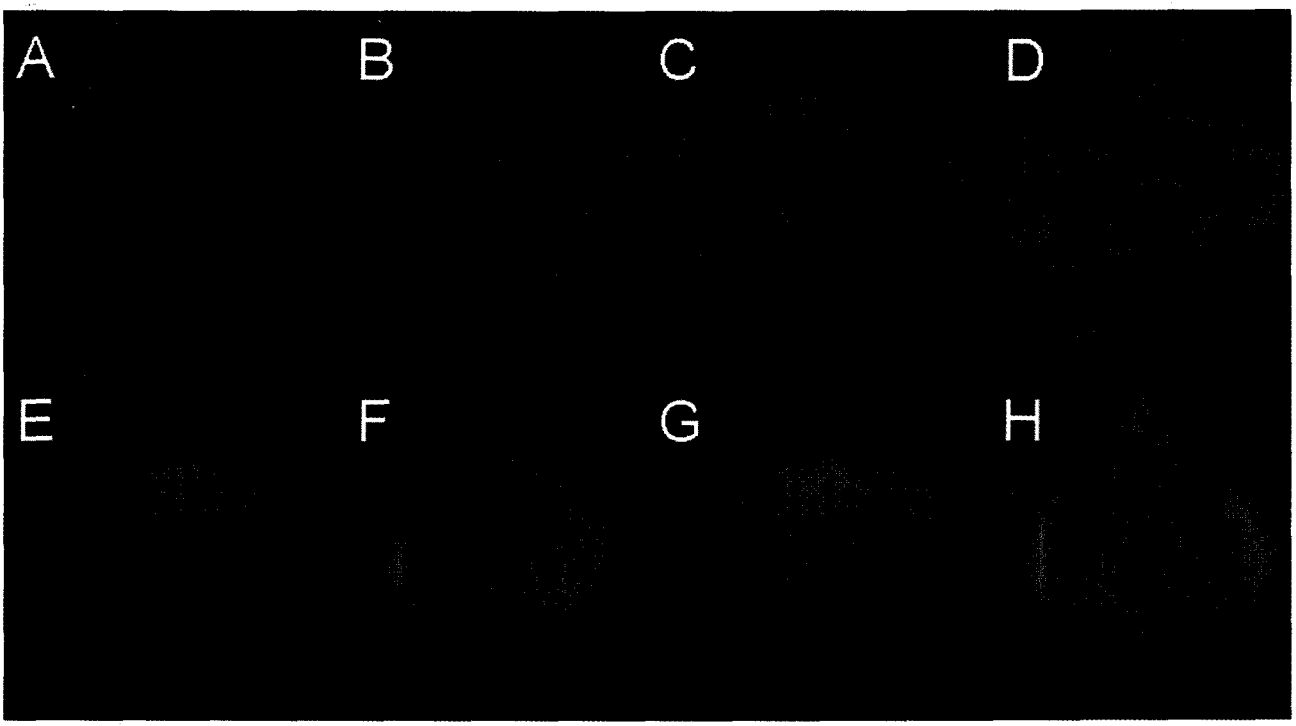

Fig. 2. ^{18}F-FDG Gemini PET scan images of cat brain. Left sides of figures are right sides of cats. The infarction lesion was visualized at the right frontal lobe. A,B,E and F are images of whole body mode done 13 days after infarction. C,D,G, and H are images of brain mode done 47 days after infarction. Upper row represents fused PET-CT images (A,B,C,D) and lower row represents PET images (E,F,G,H). The infarction lesion was more clearly depicted in the brain mode.

collagenase를 이용하는 방법이 대표적인데 이 연구에서는 두개골을 뚫고 collagenase를 주입하는 방법을 사용하였다. 폐쇄성 뇌졸중 모델을 만들기 위해서는 뇌혈관 조영술을 시행하여 동맥내강을 막거나,[4] 경안와접근(transorbital approach)등의 방법을 사용하여 동맥을 결찰하는 방법,[5] 상시상정맥동(superior sagittal sinus)를 결찰하는 방법[6] 등이 있는데, 전문적 술기와 장비가 요구되어 실제로 하기가 쉽지 않다. 뇌 경색을 만든 후 장기간의 추적 관찰을 하려고 할 때 고려해야 할 사항은 뇌 경색을 크게

만들 되 일상 생활을 하는데 지장이 없어야 한다는 것이다. 운동이나 감각 피질이 손상 되어 고양이가 일어설 수 없게 되면, 혼자서 취식을 할 수 없게 되고 고양이 사육장에 연구자가 상주하지 않는 한 고양이는 곧 죽게 된다. 따라서 일차적인 기능에 가장 영향을 미치지 않는 부분을 선택하여 경색을 만드는 것이 중요하고 이 연구에서는 인간의 전두엽에 해당하는 곳으로 정하였다. 이 연구에서 사용된 고양이는 2마리로서 대상의 숫자가 부족하다는 한계점이 있으나 두개골을 통해 collagenase를 주입하여 성공적으로 뇌 경색 모델을 만들 수 있었다. 숫자가 적어 통계처리는 하지 않았으나 추적 관찰에서 고양이의 행동 평가 결과가 마이크로 PET으로 평가한 경색 부위의 당 대사 호전에 선행하는 소견을 보였다. 뇌 경색 후 행동이 호전되는 주된 기전 중 하나는 신경 회로의 재구성으로[7] 경색 부위의 호전에 의한 것보다는 주변 구조물 또는 다른 뇌의 구조물이 원래 경색 부위의 역할을 대신하게 된다는 것인데, 이번 실험은 이러한 소견을 뒷받침 할 수 있을 것으로 생각한다. 마이크로 PET의 해상도는 OSEM을 이용해 재구성 하였을 경우 FOV 중심에서 2 cm 떨어진 곳에서 횡축 방향 1.86 mm, 축 방향 2.88 mm 정도이다.[8] Gemini PET의 경우 해상도는 중심에서 1 cm 떨어진 곳에서 횡축 방향 4.9 mm, 축 방향 5.0 mm 정도이다.[9] 따라서 고양이 뇌 경색 모델 정도로 관심 영역의 크기가 충분히 크다면 사람용 PET으로도 충분히 평가가 가능할 것으로 기대한다.

결 론

고양이 2마리에 두개골을 통해 collagenase를 주입하여 성공적으로 출혈성 뇌 경색 모델을 만들었으며 ^{18}F-FDG 마이크로 PET으로 영상화할 수 있었다.

요 약

목적: PET은 해상도 한계로 인하여 각종 소동물 실험에서 영상화하는데 현실적인 어려움이 많았다. 마이크로 PET의 등장으로 랫트나 마우스와 같은 실험 동물을 보다 나은 해상도로 평가할 수 있으나 실험 동물의 크기가 작기 때문에 영상이 사람에서와 같이 선명하지는 않다. 고양이와 같은 중소형 동물은 뇌가 상대적으로 크기 때문에 마이크로 PET을 이용하여 보다 선명한 영상을 얻을 수 있다. 이 연구에서는 고양이 뇌 경색을 구축하고 마이크로 PET으로 평가하였으며 시간에 따른 변화도 같이 평가하였다. **대상 및 방법:** 수컷 고양이 2마리를 사용하였으며, 체중은 각각 3.0 kg, 3.3 kg 이었다. Xylazine과 Ketamine HCl으로 마취하였다. 고양이 대천문에서 오른쪽으로 1cm되는 곳에 burr 구멍을 뚫은 후 30 G 바늘을 삽입하여 collagenase type IV 10 μ l를 5분에 걸쳐 주사하여 뇌 경색 모델을 만들었다. 경색을 만든 후 1일, 11일, 32일 후에 마이크로 PET R4 scanner (Concorde Microsystems Inc., Knoxville, TN)을 사용하여 ^{18}F-FDG PET 영상을 얻었다. 추가로 경색 13, 47일에 사람용 PET scanner (Gemini, Philips medical systems, CA, USA)를 사용하여 FDG-PET 촬영을 하였다. **결과:** 성공적으로 고양이 뇌출혈경색 모델을 만들 수 있었으며 마이크로 PET으로 얻은 영상에서 병변의 당 대사는 시간이 지남에 따라서 호전되었다. 사람용 PET으로도 병변을 확인할 수 있었다. **결론:** 고양이 2마리에 두개골을 통해 collagenase를 주입하여 성공적으로 출혈성 뇌 경색 모델을 만들었으며 ^{18}F-FDG 마이크로 PET으로 영상화할 수 있었다.

References

1. Puurunen K. The Effects of Pharmacotherapy and Training on Functional Recovery after Global and Focal Cerebral Ischemia in Rats. ***Series of reports*** Kuopio University Library; 2001. p. 58:40.
2. Lee BY. ***Laboratory animal medicine.*** Seoul: Seoul national university press; 1989. p. 197-9.
3. Lindsay KW, Bone I. ***Neurology and neurosurgery illustrated.*** 3rd edition. Edinburgh: Churchill livingstone; 1998. p. 237.
4. Kim HJ, Lee CH, Lee SH, Moon TY. Magnetic resonance imaging and histologic findings of experimental cerebral fat embolism. ***Invest Radiol*** 2003;38:625-34.
5. Toyota S, Graf R, Valentino M, Yoshimine T, Heiss WD. Malignant infarction in cats after prolonged middle cerebral artery occlusion: glutamate elevation related to decrease of cerebral perfusion pressure. ***Stroke*** 2002;33:1383-91.
6. Schaller B, Graf R, Wienhard K, Heiss WD. A new animal model of cerebral venous infarction: ligation of the posterior part of the superior sagittal sinus in the cat. ***Swiss Med Wkly*** 2003;133:412-8.
7. Thirumala P, Hier DB, Patel P. Motor recovery after stroke: lessons from functional brain imaging. ***Neurol Res*** 2002;24:453-8.
8. Yang Y, Tai YC, Siegel S, Newport DF, Bai B, Li Q, Leahy RM, Cherry SR. Optimization and performance evaluation of the microPET II scanner for in vivo small-animal imaging. ***Phys Med Biol*** 2004;49:2527-45.
9. Surti S, Karp JS. Imaging characteristics of a 3-dimensional GSO whole-body PET camera. ***J Nucl Med*** 2004;45:1040-9.