

# Mn<sup>2+</sup> 이용한 MRI에서 가토의 시각경로 조영효과

## ABSTRACT

### In Vivo Tracking of Visual Pathway of Rabbit using Mn<sup>2+</sup> Enhanced MRI

*Department of Diagnostic Radiology, Keimyng University dong san hospital<sup>1</sup>*

*Department of Medical & Biological Engineering Graduate School, Kyungpook National University<sup>2</sup>*

*Department of Radiological Science, Hanseo University<sup>3</sup>*

*Department of Diagnostic, School of Medicine Kyungpook National University<sup>4</sup>*

SJ Bae<sup>1,2</sup>, JA Park<sup>2</sup>, CH Im<sup>3</sup>, YM Chang<sup>2,4</sup>, IS Ji<sup>1</sup>

**Purpose** : In this study, we demonstrates technical approach to high resolution T1-weighted 3D gradient-echo (256\*128\*125  $\mu\text{mm}^3$ ) of neuroaxonal structure of the rabbit brain in vivo by injecting Mn<sup>2+</sup> (0.1 ml of 1 M aqueous MnCl<sub>2</sub>). In addition, to investigate the timely signal change, the signal intensities of important visual structures were also measured at 3, 6, 12, 24, 48 hr after injection.

**Materials and Methods** : The rabbits of normal vision (n=6) were divided in two groups. The first group (n=2) of no Mn<sup>2+</sup> injection were selected as anatomical reference for visual tract. For the second group (n=4), Mn<sup>2+</sup> (0.1 ml of 1 M aqueous MnCl<sub>2</sub>) was injected into right or left retina using 5 $\mu\text{l}$  hamilton syringe (70 mm length, 0.4 mm, i.d. Portex, UK) and 27-gauge needle (17 mm length). All MR images were obtained at 1.5T MR scanner (GE, signa) using 3D fast SPGR (TR=41,0 TE=9.9, flip angle=300, FOV=8 cm, th/gap=0.7/0, matrix=256\*128, nex=7 scan time=20:20 sec). After 3, 6, 9, 12, 24, 48 hr, the images were taken and the enhancements were measured by locating ROI at several structures of visual tract.

**Results** : Compared to reference group, the signal enhancement in Mn<sup>2+</sup> injected group was notified only at retina up to 3 hours. However, after 6 hours, the enhancement was found at neuroaxonal visual tract. Optic chiasm was enhanced at 12 hours and the enhancement was reached to visual cortex after 24 hours. After 48 hrs, all structures of visual CNS system were enhanced.

**Conclusion** : Our study demonstrate that in vivo tracking of visual tract is possible using contrast agent and the enhanced tract is well agreed with known anatomical visual structures.

계명대학교  
동산병원  
진단방사선과  
경북대학교  
대학원  
의용생체공학과  
한서대학교  
방사선학과  
경북대학교  
진단방사선과학교실  
\*\*\* 배성진  
\*\* 박지애  
\*\*\* 임청환  
\*\* \*\*\*\*\* 장용민  
\* 지인섭

Also, the sequential enhancement of visual structure reveals the neuroaxonal transport of contrast agent. From the fact that the retina did not response to visual stimulation after 48 hrs, it was suggested that  $Mn^{2+}$  can be possible neurotoxin and so cannot be used in human subject. However, if the toxic aspect of contrast agent is resolved, our technical approach can be applied to other CNS systems

## I 서 론

본 연구는 살아있는 가토 눈에  $Mn^{2+}$  (0.1 ml of 1 M aqueous  $MnCl_2$ ) 주사하여 높은 해상력으로 촬영 할 수 있는 T1-weighted 3D gradient-echo (256\*128\*125  $\mu mm^3$ ) 을 이용하여 시각 신경축삭(neuroaxonal)을 MR영상으로 묘사할 수 있는지를 알아보고자 하였고  $Mn^{2+}$  주입 후 시각경로에서 신경축삭들의 조영증강의 신호강도가 시간(3, 6, 12, 24, 48 hr)에 따라서 어떤 차이를 보이는가를 알아보고자 하였다. 자기공명 영상에서 사용하는  $Mn^{2+}$  상자성이온은 물 양성자들을 둘러싸지므로 중 축이완이(T1/T2) 짧아지게 하는 작용물질로 영상의 대조에 영향을 미치지 때문에 사용되고<sup>1)</sup>, 또 경로를 관찰하기 위해서는 Ca 동일한 채널들에 의해서 작용되어진다고 알려져 있어<sup>2)</sup> 이용하게 되었다.

$Ca^{2+}$ 에 선택적 투과성을 나타내는 통로가  $Na^+$ 통로와 거의 마찬가지로 여러 조직 세포에 존재하며 막전압이 저분극 될 때 활성화되고 또 중요한 역할을 담당하고 있음이 알려졌다. 어떤 경우는  $Na^+$ 과 같이 이동하기도 하고 또는 어떤 경우는 순전히  $Ca^{2+}$  전용의 이동 통로를 갖기도 한다. Ca 통로는 저분극 자극에 의하여 열리고 이때  $Ca^{2+}$ 이 세포내로 유입된다. 유입된  $Ca^{2+}$ 은 신경의 절연섬유(preganglionic fiber)끝에서 전달물질 유리를 활성화시키는 등 messenger 역할을 한다. 맨 처음 시냅스전 뉴론에 신경흥분이 전달되면 전뉴론의 말단에서 Ca 통로가 활성화되고 그 결과  $Ca^{2+}$ 이 세포속으로 들어간다. 세포속에 들어간  $Ca^{2+}$ 은 전달물질을 함유하는 소포(vesicle)에 작용하여 토세포작용(exocytosis)을 일으킨다. 토세포작용 결과 vesicle속에 들어있던 신경전달물질이 세포 밖으로 유입되고 확산에 의하여 후 뉴론의 수용체가 일단 전달물질과 결합되면 수용체가 일단 전달물질과 일단 결합되면 수용체에 연결된 이온 통로의 문이 열린다(Fig. 3). 이렇게 하여

열린문을 통하여 이온들이 각각의 전기화학적 경사에 따라서 세포 내외로 이동하게 되어 시냅스 전류가 발생하고 그 결과 후 뉴론에 시냅스후 전압이 발생한다. 만약 이때 발생한 시냅스 전압이 역치 값을 넘게 되면 전도성 활동전압이 발생하게 된다(Fig. 2). 시각정보는 시신경을 형성하는 망막 신경절세포(ganglion cell)의 축색돌기(axon)에 의해서 뇌로 전달되며 사람의 시신경은 약 백만개의 ax축색돌기로 구성되어 있다. 양안의 시신경은 두개의골 기저에서 합쳐져서 을 형성한다. 포유동물들의 시각의 체계는 시신경의 대다수 섬유들 시각교차(chiasm)에서 직각으로 교차된다<sup>3)</sup>. 이곳에서 양쪽눈 망막의 내측절반으로부터의 신경섬유는 반대쪽으로 넘어 간다 외측 절반은 같은 쪽으로 이어져서 반대쪽 시신경에서 넘어온 축색돌기와 합쳐져서 optic tract를 형성한다. optic tract는 시경로의 첫 번째 중신역인 lateral geniculate nucleus(LGN), superior colliculus, brain stem의 nucleus of optic tract(NOT), accessory optic tract, pretectal region, hypothalamus로 이어진다.

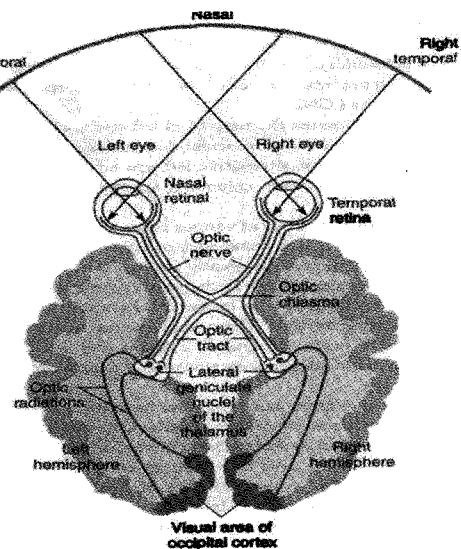


Fig. 1. visual pathway map

망막에 있어 가장 중요하고 양이 많은 투사는 lateral geniculate nucleus로 이어진다. 그것은 2개의 magnocellular와 4개의 parvocellular 층으로 이루어져 있다. 같은 쪽에서 교차되지 않고 온 axon은 이들 층의 3개에서 끝나고 반대쪽 시신경에서 넘어온 나머지 3개에서 끝난다. geniculate cell의 대부분의 축삭돌기는 optic radiation을 지나 1차 시각피질(대뇌피질의 area 17 또는 V1)의 신경세포로 향한다 이곳은 2차 시각피질과 연결되어 있다. 3차 시각피질(area V3, V3a), occipitoparietal 또는 occipitotemporal 부위의 대뇌피질에 있는 시각 통합 중추와도 연결되어 있다(Fig. 1)<sup>4,5)</sup>. LGN으로의 시각 투사는 사물의 지각, 색채 시각과 운동시각, 입체시의 기능을 한다<sup>6)</sup>.

망막과 hypothalamus의 연결은 circadian rhythm

이나 수면 각성주기에 의한 낮 밤의 변화와 내분비 기능을 조절하는 기능을 한다<sup>7,8)</sup>. 시상하부로부터 골단(epiphysis)으로의 연결에 의해 망막은 또한 피부의 색소에도 영향을 미친다. 망막과 pretectal region의 연결은 동공크기를 조절한다. accessory optic tract의 pretectal nuclei로의 연결은 뇌간의 시각 통제 중추와 연결되어 주로 수직안부운동과 수평운동에 관여한다. 망막의 superior colliculus로의 투사는 saccade에 의해 구 반사운동을 조절한다. superior colliculus의 neuron의 axon은 뇌간의 optomotor 중추를 지나 pulvinar의 visual part도 지난다. 이들 thalamic saturation을 지나는 시각 신호는 마지막에 parietal visual association region에 도달한다.

nucleus of optic tract(NOT)로 가는 axon은 주로 movement-specific(on-off-neuron)하다. NOT의 시신경세포들은 vestibular nuclei와 inferior olive를 연결한다. 이 경로에 의해 visual movement signal이 central vestibular system에 도달한다<sup>4,5)</sup>.

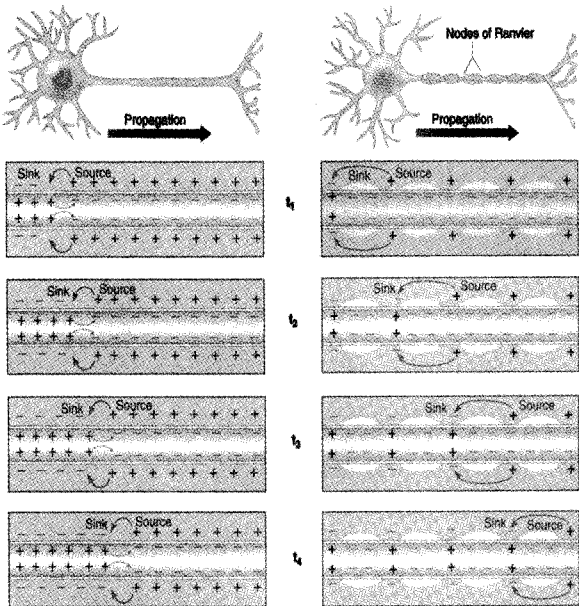


Fig. 2. conduction of the nerve impulse in fibers

## II 대상 및 방법

시각반응을 정상적으로 하는 가토 6마리를 2군으로 나누어 실험하였다. 먼저 연필모양의 손전등을 이용하여 모든 실험군에 대해서 동공확대 검사를 하여 정상적으로 생각되는 것으로 하였다. 제1군 2마리는 가토의 시각경로의 기초적인 해부학영상을 하고 제2군 4마리는 한쪽 동공의 초자체에 5 $\mu$ l 해밀턴 주사기(70 mm length, 0.4 mm, i.d. Portex, UK)와 27-gauge 침(17 mm length)으로 Mn<sup>2+</sup>(0.1 ml of 1 M aqueous MnCl<sub>2</sub>) 5분

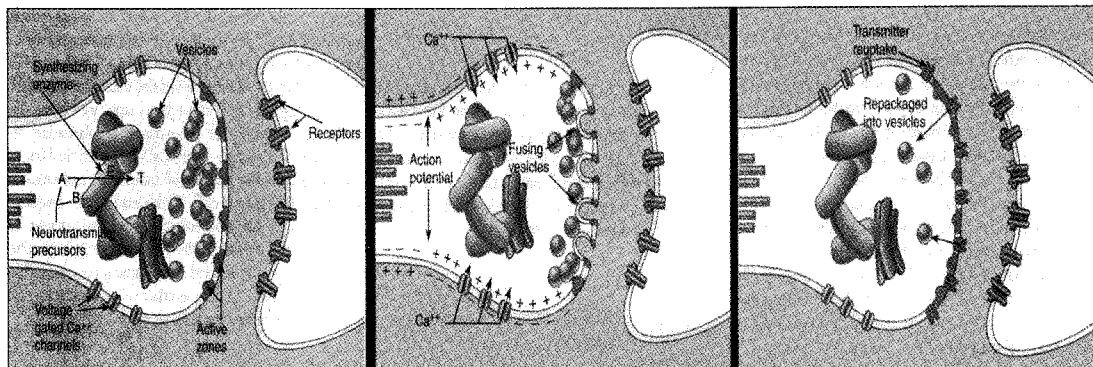


Fig. 3. Transmission at a chemical synapse

동안 천천히 주사하였다. 지각마취는 케타민(유한양행, 한국), 락폰(바이엘, 한국)을 8:2 정도로 혼합하여 검사 30~40분 후에 마취에서 돌아올 수 있도록 1.2 ml/kg 주사하였다. 인공호흡기나 인위적으로 호흡작용은 하지 않았다. 영상획득기기는 1.5 T(GE, signa)로 영상획득은 knee coil을 이용하여 마취시킨 가토를 복와위로 하여 머리를 고정시키는 기구로 고정된 후에 3D fast SPGR, TR=41.0, TE=9.9, flip angle=300, FOV=8 cm, th/gap=0.7/0, matrix=256\*128, nex=7, scan time=20 min 20 sec로 촬영하였고, Mn<sup>2+</sup>을 동공에 주사 후 3, 6, 9, 12, 24, 48 h, 자연 영상을 획득하고 조영제 주입전의 가토 영상의 신호강도를 기초로 두고 조영증강 되는 부위의 관심영역을 정하여 시간별로 각 해부학적 구조에 관심영역을 정하여 조영되는 부위와 동일한 반대측 해부학적 부위에 신호강도를 측정하여 조영되는 정도를 파악하였다.

### III 결 과

모든 동물에서 Mn<sup>2+</sup> 집적이 망막에서 시각경로에서의 투사영역의 말단까지를 포함하여 조영증강 되는 것을 자기공명영상으로 높은 공간해상력으로 영상화 할 수 있었다.

조영전 가토의 영상과 조영 후 시간별로 조영증강을 관찰한 결과를 보면 3시간에서는 동공에서만 Mn<sup>2+</sup>에 의해서 조영증강 되는 것을 관찰되었고 그후 6 hr부터는 시각경로의 신경축삭(neuroaxonal)에서 관찰되기 시작하였다. 12 hr에는 시신경교차부위까지 조영제가 주입된 시신경 경로를 관찰할 수 있었고 24시간에는 시각 경로와 시각 중추까지 최고의 조영효과를 볼 수 있는 신호강도를 관찰 할 수 있었다 48 hr에는 시각중추의 전반적으로 넓게 조영되면서 조영강도는 감소하는 효과를 볼 수 있었다.

Fig. 4는 시간에 따른 조영 증강되는 부위를 영상화한 것으로 최고 신호강도 시간의 변화(조영전 영상, 조영후 3hr, 6hr, 12hr, 24hr, 48 hr)에 따른 조영부위별 3D SPGR 영상에서 최고세기의 신호강도 Mn<sup>2+</sup>-enhanced 3D 자기 공명 영상 시간별 영상을 시각경로를 따라서 조영되는 것을 볼 수 있다.

각 3D SPGR 영상의 조영되는 시각경로의 구조물이 다(그림 5, 6).

오른쪽과 왼쪽에 각각 망간을 주입한 후 대표되는 시각경로를 따라서 해부학적 구조물에 관심영역을 정하여 조영 증강되는 부위와 조영되지 않는 반대편 해부학적 구조물을 정량적으로 측정하여 많은 신호차이를 보는 것을 조영되었다고 가정 할 경우에 조영후 3시간에는 optic nerve의 처음 시작되는 부위에만 조영효과가 나타나고 6 hr에는 전체적으로 optic nerve가 조영될 뿐만 아니라 optic chiasm을 지나 optic tract의 일부분이 조영되기 시작하였다. 24시간에는 최고의 시각경로를 관찰할 수 있었고 그 이후 시간에도 경로는 관찰되었지만 신호 강도는 다소 감소되는 것으로 나타났다 [Table 1, 2]. 표에서 표기하지 않은 빈란은 조영 주입전의 해부학적 구조물과 매우 같은 신호 강도를 보였다.

### IV 결 론

본 연구로 MnCl<sub>2</sub> 조영제 Lauterbur et al [1]. 사용하여 MR에서의 시각경로와 기존에 Mason et al. [6] 알려진 신경경로가 일치한다는 것을 관찰 할 수 있었다. 시간별로 시각경로의 조영증강영상을 통하여 시각 경로를 영상화 할 수 있었다. 기존의 사용방법인 혈관 조영기전 보다는 다른 Ca이온 채널을 Ochi,R et al. [2]이용하기 때문에 조영 증강되는 속도는 매우 느려서 조영 주입후 3시간에 조영되기 시작하여 24시간에 최고의 신호 강도를 보였다. 그후 조영 효과는 감소되는 것을 알 수 있었고, 조영 48시간 이후에 가토의 동공 반응이 검사 해본 결과 반응이 없는 것으로 보아 독소 때문에 임상에서는 사용 할 수 없지만 앞으로 연구를 통하여 독소를 제거 할 수 있다면, 시각경로뿐만 아니라 여러 계통의 신경 경로를 관찰 할 수 있을 뿐 아니라 임상에서도 신경경로를 선택하여 관찰하는데 도움이 될 것으로 생각되어진다.

조영증강 영상을 관찰하는 데는 많은 시간이 요구되지만 특정의 신경경로만 관찰할 수 있다는 점에서는 본 방법이 매우 유용하게 이용되어졌지만 다소의 문제점으로는 Mn<sup>2+</sup>가 독소로 작용하여 보고자하는 경로에서 기능을 상실하는데 문제점이 발생하였다. 그러나 앞으로는 특정의 신경경로를 관찰할 경우에 많이 이용 될 것으로 생각되어지고 Mn<sup>2+</sup>이용한 많은 연구 결과발표로 볼 때 빠른 시일 내에 그 성과가 있으리라 생각한다.

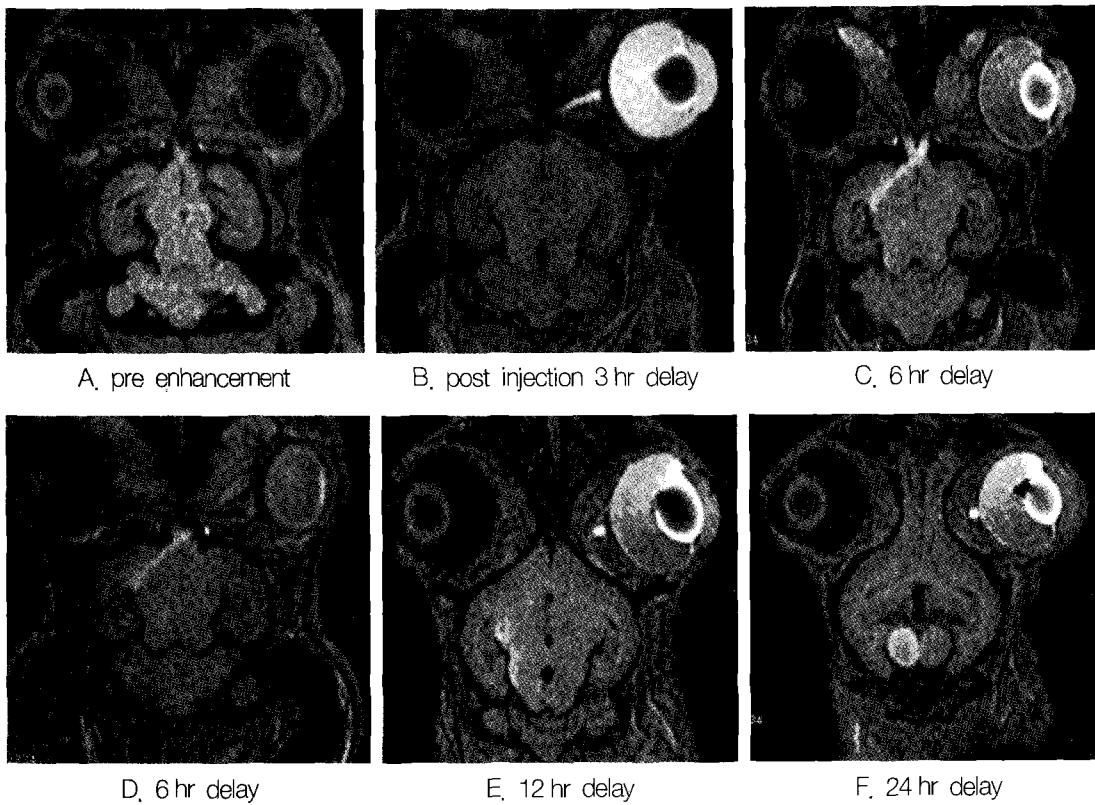


Fig. 4. A 3D SPGR image according to structures locus by time increased signal enhancement of the rabbit visual pathway (A : pre enhancement image, B : post Mn<sup>2+</sup> injection 3 hr delay image, C,D : 6hr delay image, 12 hr delay image, 24 hr delay image)

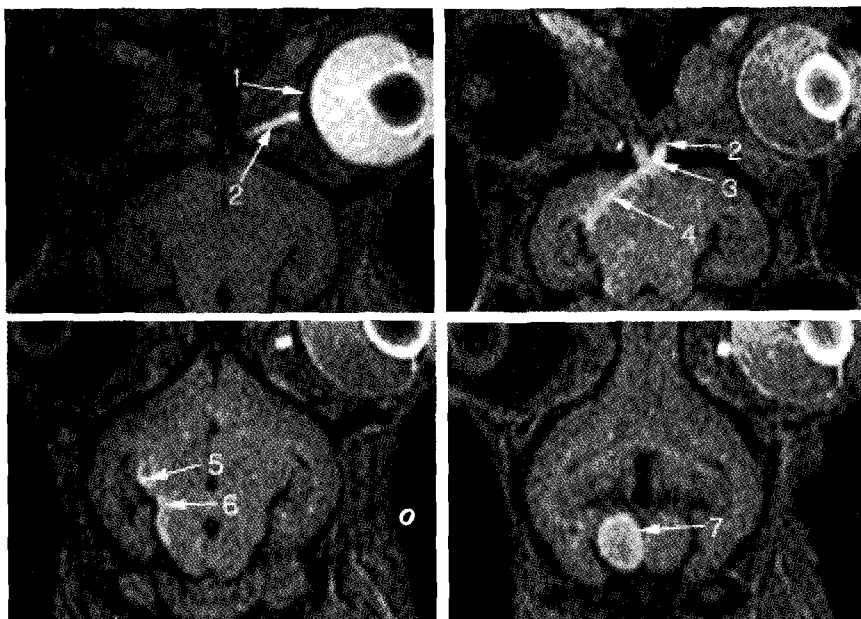
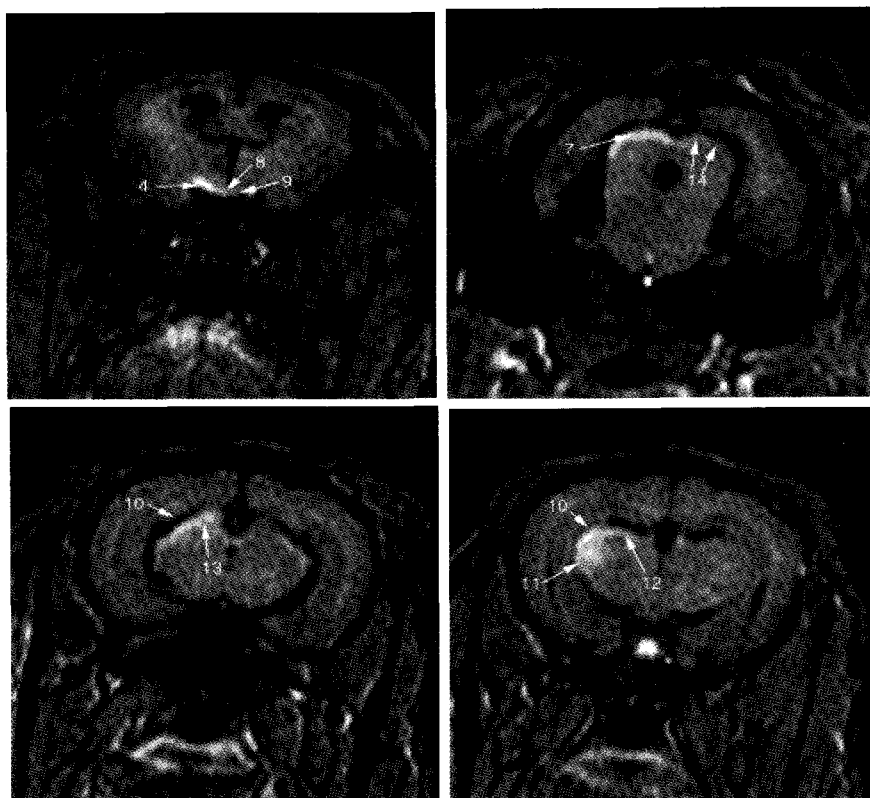


Fig. 5. signal enhancement of the rabbit visual pathway (24 hr after Mn<sup>2+</sup>-injection into the left eye) 1). enhancement structures are: (1) left retina, (2) left optic nerve, (3)optic chiasm, (4) right optic tract, (5) right lateral geniculate nucleus, (6) right brachium of the superior colliculus, (7) right superior colliculus



**Fig. 6.** signal enhancement of the rabbit visual pathway (24 hr after  $Mn^{2+}$ -injection into the left eye) 3D SPGR axial image (3D fast SPGR, TR=41,0 TE=9.9, flip angle=300, FOV=8 cm, th/gap=0.7/0, matrix=256\*128, nex=7, scan time=20 min 20sec) 1). enhancement structures are: (4) right optic tract, (8) right (9) left suprachiasmatic nucleus, (10) right dorsal and (11) ventral lateral geniculate nucleus, (12) right olivary pretectal nucleus, (13) right nucleus of the optic tract and (14) superficial part of the superficial gray layer of the left superior colliculus

**Table 1.** SNR of Manganese-enhancement structures Along the rabbit visual pathway and control Regions after  $Mn^{2+}$  injection into the right eye ( $\pm$  mean values)

Region		pre	3 hr	6 hr	24 hr	48 hr
optic nerve	RT	255,585 $\pm$ 67,352	355,372 $\pm$ 85,949	396,174 $\pm$ 14,067	402,237 $\pm$ 93,215	328,830 $\pm$ 18,684
	LT	196,308 $\pm$ 59,228	215,485 $\pm$ 55,443	216,336 $\pm$ 55,608	232,621 $\pm$ 55,608	206,597 $\pm$ 63,712
optic tract		239,166 $\pm$ 23,413		251,138 $\pm$ 20,709	239,198 $\pm$ 12,986	242,332 $\pm$ 12,794
		239,257 $\pm$ 23,413		269,012 $\pm$ 31,569	339,142 $\pm$ 50,883	311,617 $\pm$ 37,358
lateral geniculate nucleus		196,364 $\pm$ 32,280			232,877 $\pm$ 15,696	234,751 $\pm$ 12,346
		208,889 $\pm$ 47,318			293,933 $\pm$ 24,266	295,312 $\pm$ 40,593
superior colliculus		221,490 $\pm$ 18,892			204,324 $\pm$ 19,438	197,814 $\pm$ 24,557
		235,016 $\pm$ 11,330			323,526 $\pm$ 13,358	294,870 $\pm$ 21,123
Cortex		252,834 $\pm$ 11,030			253,043 $\pm$ 11,735	228,680 $\pm$ 18,006
		246,787 $\pm$ 22,365			322,265 $\pm$ 22,689	308,312 $\pm$ 28,965

**Table 2.** SNR of Manganese-enhancement structures Along the rabbit visual pathway and control Regions after Mn<sup>2+</sup> injection into the left eye ( $\pm$  mean values)

Region	pre	3 hr	6 hr	24 hr	48 hr	
optic nerve	RT	206,047 $\pm$ 29,803	210,020 $\pm$ 44,950	222,617 $\pm$ 35,546	207,150 $\pm$ 72,465	221,012 $\pm$ 18,684
	LT	241,901 $\pm$ 78,173	395,020 $\pm$ 145,344	346,775 $\pm$ 102,202	446,020 $\pm$ 114,106	412,708 $\pm$ 145,135
optic tract		247,174 $\pm$ 26,285		283,628 $\pm$ 32,243	313,458 $\pm$ 26,511	321,826 $\pm$ 70,398
		238,688 $\pm$ 25,354		250,798 $\pm$ 18,728	255,055 $\pm$ 26,041	273,126 $\pm$ 19,745
lateral geniculate nucleus		245,494 $\pm$ 17,935			271,708 $\pm$ 54,465	295,312 $\pm$ 40,593
		242,696 $\pm$ 12,696			218,506 $\pm$ 69,386	234,751 $\pm$ 12,346
superior colliculus		215,909 $\pm$ 19,490			315,342 $\pm$ 11,438	308,138 $\pm$ 26,465
		232,569 $\pm$ 27,512			213,635 $\pm$ 17,373	255,253 $\pm$ 13,006
Cortex		195,893 $\pm$ 21,410			335,647 $\pm$ 15,528	310,474 $\pm$ 20,395
		204,652 $\pm$ 31,173			244,832 $\pm$ 12,923	256,854 $\pm$ 18,887

## 참고문헌

- Lauterbur PC, Mendonca-Dias MH, Rudin AM. Augmentation of tissue water proton spin-lattice relaxation rates by in vivo addition of paramagnetic ions. In: Dutton PL, Leigh LS, Scarpaa A, editors. *Frontier of biological energetics*. New York: Academic Press; 1978. p 752-759
- Ochi, R 1970. the slow inward current and the action of manganese ions in guinea-pigs myocardium. *pfugers Arch. J. physiol.* 316-81-942
- Voogd J. Visual system. In: Nieuwenhuys R, Ten Donkelaar HJ, Nicholson C, editors. *The central nervous system of vertebrates*. Heidelberg: Springer-Verlag; 1998. p 1791-1820
- Hayhow WR, Sefton A, Webb C. Primary optic centers of the rat in relation to the terminal distribution of the crossed and uncrossed optic nerve fibers. *J Comp Neurol* 1962;118:295-321
- Toga AW, Collins RC. Metabolic response of optic centers to visual stimuli in the albino rat: anatomical and physiological considerations. *J Comp Neurol* 1981;199:443-464
- Mason C, Kandel ER. Central visual pathways. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, editors. *Principles of neural science, 3rd ed.* New York: Elsevier; 1991. p 420-439
- Klein DC, Moore RY, Reppert SM. *Suprachiasmatic nucleus: the mind's clock*. New York: Oxford University Press; 1991.
- Miller JD, Morin LP, Schwartz W J, Moore RY. New insights into the mammalian circadian clock. *Sleep* 1996;19:641-667