

소동물 영상용 MRI 및 분자/세포영상 응용

홍관수

1. 서론

1.1 MRI 일반

자기공명영상(MRI, magnetic resonance imaging)이란 자기장 속에 놓여있는 원자핵에 외부로부터 전자기파 형태의 에너지를 주어 교란시킨 다음 그 핵에서 발생하는 핵자기공명(NMR, nuclear magnetic resonance) 신호를 공간적인 정보를 더하여 영상화하는 것이다. 주로 이용되는 원자핵은 수소원자 핵인 양성자(proton)이다. 소위 자기모멘트를 갖는 원자핵이 외부 자기장(B_0)의 크기에 따라 지만분리(Zeeman splitting)에 해당하는 에너지 준위가 가능해지고, 그 차이에 해당하는 에너지를 전자기파인 라디오파주파수(RF, radio frequency)로 주고받음에 따라 신호를 관찰하게 되며, 이를 영상화함으로써 생체 내부를 일정 두께 간격으로 들여다볼 수 있다.

약 40년 전에 개발된 자기공명영상 기술은 병원에서의 질병 진단에 반드시 필요한 장비로 자리매김하였으며, PET(positron emission tomography), CT(computed tomography)와 더불어 가장 활발하게 응용되고 있는 진단장비이다. 또한, 신약개발에서의 전임상, 새로운 질병진단 및 치료기술 개발 등에 활용되고 있다. 그 중에서 자기공명영상을 이용한 소동물 영상 응용 분야는 이에 필요한 장비의 하드웨어 및 software의 개발/발전에 힘입어 매우 다양해지고 있으며, 1) 분자/세포 수준에서의 생물학적 현상 연구, 2) 줄기세포의 이동 및 분화, 치료효과 연구, 3) 전임상 단계에서의 신약 후보물질 검증, 4) 분자/세포영상을 이용한 질병 조기 진단법 개발, 5) 뇌구조 및 기능 연구 등으로 활용도가 증가되고 있다. **그림 1**은 자기공명영상 기술을 이용한 연구논문이 어느 정도의 양과 속도로 출판되고 있는지를 다른 두 가지 장비와 비교하여 보여주고 있다.

1.2 소동물 영상용 MRI 장비의 국내외 설치현황 및 발전속도

병원에서 질병진단에 사용되고 있는 자기공명영상 장비는 1.5 T가 대부분이며 최근 3 T까지 보급되고 있다. 자기장의 세기가 커지면 영상의 해상도와 신호대 잡음비가 좋아지고, 따라서 보다 정확한 진단이 가능해진다. 특히 소동물(mouse 또는 rat)을 대상으로 한 자기공명영상 응용기술 개발 단계에서는 고자장의 필요성이 더욱 크다. 동물전용 자기공명영상 장비는 주로 4.7 T 이상이며 전 세계적으로 7 T 100여대, 9.4 T 이상이 70여대가 설치/운영되고 있는데, 최근 3년간 35대 정도가 설치될 정도로 9.4 T 이상의 장비에 대한 수요가 급속

도로 증가하고 있는 추세이다. 국내에는 4.7 T 3대(한국기초과학지원연구원, 서울아산병원, 원광대 의대), 7 T 2대(삼성서울병원, 국립암센터), 9.4 T 2대(가천의대 암양노연구소, 한국기초과학지원연구원(2009년말 예정))가 설치/운영되고 있다.

소동물 영상을 위한 장비는 자석 내경의 크기가 160~400 mm로서, 직경이 200 mm 이하의 동물이 가능한데, 7 T 이상에서는 70 mm 이하, 즉 들쥐(rat) 정도 이하의 동물까지 가능하다. 또한, 자기장 차폐 기술이 채택되어 5 G 범위가 자석 중심으로부터 3 m 정도로 좁혀졌고, 액체질소를 쓰지 않고 액체헬륨 순환액화 방식의 기능이 도입

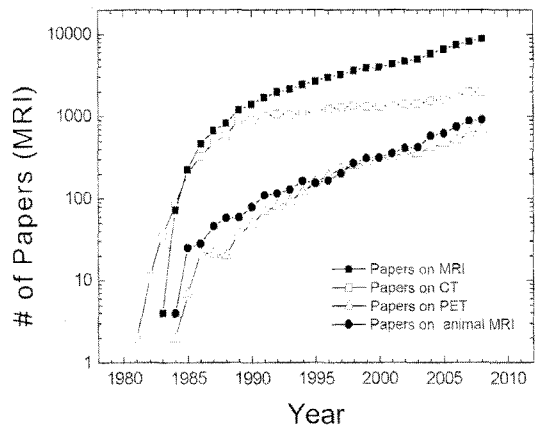
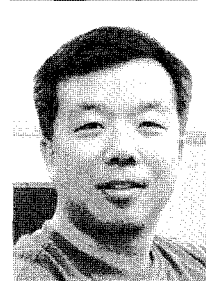


그림 1. Pubmed에서 3개의 keyword가(MRI, CT, PET) 각각 논문제목과 초록에 들어있는 경우 연도별 논문 수 추이. MRI keyword로 얻은 것 중에서 동물 MRI 결과를 따로 비교할 수 있도록 제시하였음. 2004년부터 MRI 관련 논문이 더 빠른 속도로 증가하고 있음을 알 수 있다.



홍관수

1987 제주대학교 물리교육과(학사)
 1990 서울대학교 물리학과(석사)
 1998 서울대학교 물리학과(이학박사)
 2000~2002 Harvard Medical School(Post-Doc.)
 1990~2004 한국기초과학지원연구원 연구원, 선임연구원
 2004~현재 한국기초과학지원연구원 책임연구원
 2009~현재 충남대학교 겸임교원

Small Animal MRI and It's Applications on Molecular/Cellular Imaging

한국기초과학지원연구원 자기공명영상팀 (Kwan Soo Hong, MRI Team, Korea Basic Science Institute(KBSI), 804-1 Yang-cheong-ri, Ochang-eup, Cheongwon-gun, Chungbuk 363-883, Korea) e-mail: kshong@kbsi.re.kr

되어 초전도자석의 유지관리가 훨씬 편해졌다. 최근에는 RF 코일과 pre-amplifier를 매우 낮은 온도(~10 K)에서 사용하는 극저온 프로브의 도입으로 말미암아 일반 상온에서의 실험에 비하여 최소 2배 이상의 신호대잡음비를 증가시킬 수 있어서, 상대적으로 짧은 실험 시간에 보다 좋은 해상도의 영상을 얻을 수 있도록 장비성능이 발전하고 있다.

2. 본론

2.1 MRI 영상을 위한 조영제

영상에서의 대조도(contrast)는 인접하고 있는 두 조직 간의 상대적인 밝기 차이로 구분할 수 있는 정도를 뜻한다. 대조도가 높다는 것은 인접한 두 조직 또는 물체간의 차이를 구분하기 쉽다는 것을 뜻한다. 자기공명영상에서의 밝기는 영상의 화소(pixel)에 포함된 수소원자의 밀도에 의해 좌우되고 핵스핀끼리 또는 핵스핀과 외부 격자(lattice)와의 에너지 주고받음의 시간상수를 나타내는 T1(스핀-격자 완화시간, spin-lattice relaxation time)과 T2(스핀-스핀 완화시간, spin-spin relaxation time), 주변에서 주어지는 화학적 이동(chemical shift), 자화율(magnetic susceptibility), 온도 등에 의해서 결정된다. 따라서, 이런 모든 요인이 복합적으로 작용하여 자기공명영상에서의 대조도를 결정하게 된다.

또한, 조영제(contrast agent)를 이용하면 원하는 조직의 완화시간을 줄여줄 수 있어서 영상에서의 상대적인 대조도를 원하는 방향으로 증가시킬 수도 있다. X-ray에서의 조영제는 그 자체가 대조도 변화에 직접 기여하는데 반하여, 자기공명영상에서의 조영제는 생체 내 물분자의 완화시간 T1, T2를 변화시킴으로써 간접적으로 대조도 변화에 기여한다. 자기공명영상에서의 조영제로는 크게 상자성(paramagnetic) 조영제와 초상자성(super-paramagnetic) 조영제로 구분되는데, 가돌라늄(Gd^{3+})과 망간(Mn^{2+}) 이온과 같은 상자성 물질을 이용한 조영제는 물분자의 T1을 짧게 함으로써 T1 조영제로 이용되고, 산화철 나노입자와 같은 초상자성 물질을 이용한 조영제는 물분자의 T2를 특히 짧게 하여 T2 조영제로 이용되고 있다.

가돌라늄은 8개의 결합장소(binding site)를 갖는데, DTPA(diethylene triamine pentaacetic acid) 또는 DOTA(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid)와 착화(chelation)하는 경우 한 개의 결합장소가 남게 되고 이곳을 통하여 물 분자

와 결합하게 된다. 여기에 결합된 속박물(bound water)과 그 외 물 분자 사이의 화학적 교환작용에 의하여 T1 완화 증강 효과가 일어나게 된다. 속박물은 아주 짧은 T1 값을 가지고 그 외 물분자들은 아주 긴 T1 값을 가지지만 이들 사이의 화학적 교환이 ~1 MHz의 속도로 일어나므로 물 분자들이 주는 자기공명 신호에는 짧은 T1 성분으로 나타나게 된다.

상용중인 대표적인 T1 조영제로는 Gd-DTPA(Magnevist), Gd-DTPA-BMA(Omniscan), Gd-DOTA(Dotarem)이 있는데, 인체 혈액반감기가 각각 7.2분, 3.7분, 7.2분으로서 빠른 속도로 혈액으로부터 신장을 통하여 소변으로 배출되므로, 주로 혈관조영제로 사용된다. 그 구조는 **그림 2**와 같이 가돌라늄 이온을 착화하고 있는 형태이다.

마그네타이트(Fe_3O_4)는 자연 상태에서 덩어리로 존재할 때 강자성(ferromagnetic)이지만 입자 크기를 200 nm 이하로 작게 만들면 초상자성(super-paramagnetic)이 된다. 초상자성이 되면 물분자의 T2 완화시간을 짧게 하여 영상에서 어둡게 조영(negative contrast)하는 효과를 발휘한다. 여기에는 입자 크기에 따라 2가지로 분류되는데, 50 nm보다 큰 경우를 SPIO(super-paramagnetic iron oxide), 50 nm보다 작은 경우를 USPIO(ultrasmall super-paramagnetic iron oxide)라 한다. 이런 초상자성 나노입자는 그 자체로는 생체독성이 있고 잘 분산되지 않기 때문에, 이를 생체친화적으로 만들기 위하여 고분자로 코팅한 형태를 사용하게 된다. 코팅 재질로는 dextran, carboxi-dextran, polyethylene glycol (PEG) 등이 사용되고 있다. **표 1**은 몇 가지 다른 초상자성 T2 조영제의 특성을 구분하여 표시한 것이다. 입자 크기와 코팅 재질에 따라서 혈액반감기가 다르고 따라서 그 용도를 달리하여 사용되고 있다. 표에서 T2 relaxivity r_2 는 38-200 $mM^{-1}s^{-1}$ 범위를 보이는데, 일반적으로 입자크기가 클수록 r_2 가 커서, 같은 양의 철 농도로 보다 큰 T2 조영효과를 볼 수 있다.

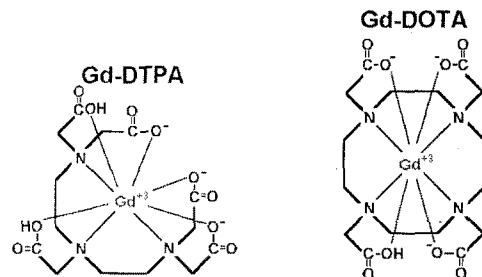


그림 2. 대표적인 상용 T1 조영제인 Gd-DTPA와 Gd-DOTA의 구조.

표 1. 대표적인 T2 조영제에 대한 T2 relaxivity 값 및 활용도 비교

	Relaxivity r_2 ($mM^{-1}s^{-1}$)	입자크기 (nm)	코팅재질	인체 혈액반감기 (dosage, mg/kg)	Rat에서의 혈액반감기 (dosage, mg/kg)	용도
Ferumoxide (Feridex)	120	120-180	dextran	2 (1.7)	0.1 (2.2)	간 조영영상 세포영상
Ferucarbotran (Resovist)	189	60	carboxi-dextran	2.4-2.6 (0.2-0.4)	-	간 조영영상 세포영상
Ferumoxtran-10 (Sinerem)	65	15-30	dextran	24-36 (2.5)	1.4 (2.2) ¹ 3.0 (1.7)	혈관, 림프관 영상
Supravist	38	21	carboxi-dextran	6 (2.2)	-	혈관영상
MFSN	>130	80	polyethylene glycol	-	2.5 (5.7)	세포영상, 표적 조영영상

¹MFSN(magneto-fluorescent silica nanoparticle)은 본 연구실에서 합성하여 사용하고 있으며, 형광과 초상자성 성질을 동시에 보유하게 함으로써 자기공명영상에서의 T2 조영과 조직 절편에서 비교실험을 위한 형광영상 결과를 가능하게 하였고, 비교하기 위하여 표에 같이 제시하였다.

최근에는 마그네타이트(Fe_3O_4)의 철 이온을 Mn, Co, Ni 등의 다른 금속이온으로 치환하여 같은 크기의 나노입자일지라도 보다 큰 T2 relaxivity를 갖는 효과를 보임으로써, T2 조영효과 극대화를 꾀한 연구결과가 보고된 바 있다.² 다른 이온이 치환됨에 따라 자기모멘트(magnetic moment)의 차이를 보이며, 결과적으로 Mn 이온인 경우 가장 큰 T2 조영효과를 얻을 유발시킨 동물에서의 영상에 응용할 수 있었다.

2.2 T1/T2 조영제의 조영특성 분석 방법

표 1에서 제시된 것과 같이 조영제의 특성 분석은 자기공명영상에서의 조영효과를 결정하는 T1/T2 relaxivity 값과 세포 독성, 혈액 반감기 및 배출시간 측정으로 시작된다. T2 조영제의 T2 relaxivity를 측정하기 위해서는, 철 농도에 따라 에코시간(TE)을 달리하면서 영상신호의 크기가 어떻게 달라지는지를 측정하고, 그 측정값을 지수함수로 맞추면 각 농도에서의 T2 값을 구할 수 있다. 이렇게 구한 측정치 T2 rate($1/T_2$)를 철 농도에 따라서 선형으로 맞추면 그 기울기가 T2 relaxivity가 된다. 그림 3은 T2 조영제의 한 예인 특정 나노입자 크기의 페라이트에서 철 농도와 에코시간에 따라 측정된 영상신호 크기를 나타낸 것이다. 세 가지(CA1, CA2, CA3) 다른 T2 조영제에 대하여 같은 작업을 수행하였고 그로부터 얻어진 T2 rate를 농도에 따라 그림 4에 표시하였는데, 선형 맞춤형 실선의 기울기로부터 각각의 T2 relaxivity를 491, 208, 14 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 를 얻을 수 있었다.

T2 조영제에 대한 혈액반감기는 조영제를 특정 방법으로 투여(용도에 따라 정맥, 복강, 또는 구강 투여 등이 있음)한 후 시간에 따라 혈액을 채취하여 그 안에 들어있는 철의 양을 ICP-AES(inductively coupled plasma atomic emission spectrophotometer) 장비를 이용하여 측정하는 것이 보통이다. 5.7 mg Fe/kg 양의 MFSN을 rat에 꼬리정맥으로 투여한 후 채취한 혈액으로부터 ICP-AES를 사용하여 측정된 혈액 반감기가 2.8 ± 0.5 시간이었다. 혈액에 들어있는 철의 양에 따라 T2 값이 달라지므로, 이 값을 시간에 따라 얻은 혈액에 대하여 측정하면 [신호의 크기 $\equiv 1/T_2$]의 식으로 환산하여 그림 5와 같은 결과를 얻을 수 있었고 이 방법을 이용하면 비슷한 크기의 혈액반감기를 측정할 수 있었다.³

T1 조영제의 T1 relaxivity도 위의 방법과 유사하게 측정할 수

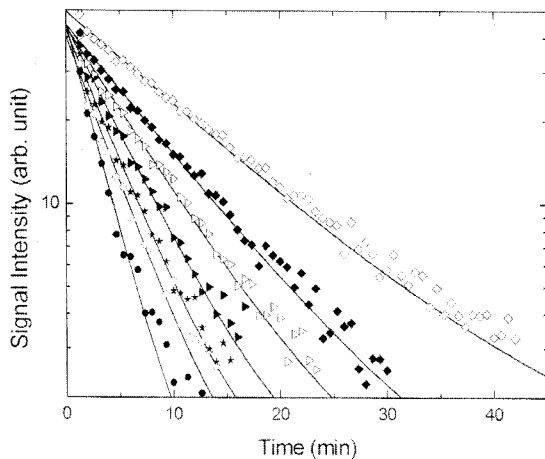


그림 3. 자성 나노입자로 이루어진 T2 조영제의 철 농도를 달리하면서 시간에 따라 측정된 MRI 영상에서의 신호크기 변화. 농도별 data를 지수함수로 맞추어 결과를 실선으로 표시하고 있으며, 변화정도를 나타내는 기울기를 구하면 농도에 따른 T2 완화시간이 된다.

있는데, 이온의 농도에 따라 에코시간이 아닌 반복시간(TR)을 달리 하면서 영상신호의 크기가 어떻게 달라지는지를 측정하고, 그 측정값을 지수함수로 맞추면 각 농도에서의 T1 값을 구할 수 있다. 이렇게 구한 측정치 T1 rate($1/T_1$)를 이온의 농도에 따라서 선형으로 맞추면 그 기울기가 T1 relaxivity가 된다. 그림 6은 하나의 T1 조영제에서 가돌리늄 이온의 농도와 반복시간에 따라 측정된 영상신호 크기를 나타낸 것이다. 그림에서 반복시간을 3초 이상으로 길게 하면 이온 농도에 따른 조영차이가 영상에 반영되지 않는데 반하여, 1초 이하로 짧게 하면 농도차 효과를 보다 확실하게 볼 수 있다. 반복시간이 500 ms일 때 6개의 농도가 다른 수용액에 대하여 얻은 T1-강조 영상을 그림 7에 보여주고 있다. 이렇게 측정해 보면 어느 농도에서 얼마나 큰 T1 조영효과를 얻을 수 있을지를 확인할 수 있다.

염증 또는 암조직이 있는 부위에서는 일반적으로 혈관벽이 확실하게 차단되어 있지 않아서(leakage) 혈액 속에 녹아있는 조영제가 비교적 쉽게 조직 속으로 들어갈 수 있다. 이런 특성을 이용하면 관련 질병의 부위를 조영제를 쓰지 않을 때보다 정확하게 진단할 수 있다. 그림 8은 상용 조영제인 Omniscan(Geurbet, France)과 개발중인 가돌리

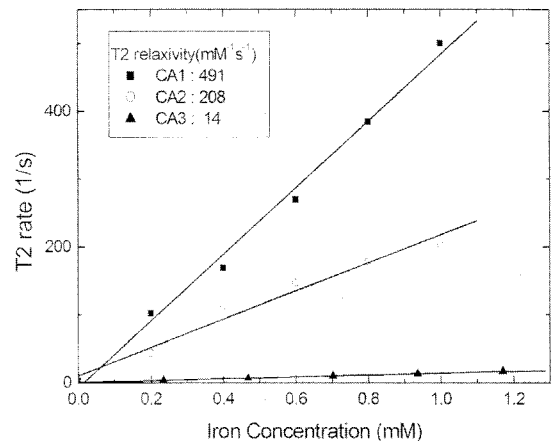


그림 4. 그림 3에서 철 농도에 따라 구한 T2 rate 값($1/T_2$)을 농도에 대한 일차함수로 맞추면 T2 relaxivity를 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 의 단위로 구하게 된다. 그림에서 세 가지 T2 조영제에 대한 T2 relaxivity 값은 각각 그 기울기로부터 491, 208, 14 $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 가 된다. 이 값들로부터 같은 철 농도에서 CA1의 T2 조영제가 가장 큰 T2 조영효과를 보인다는 것을 알 수 있다.

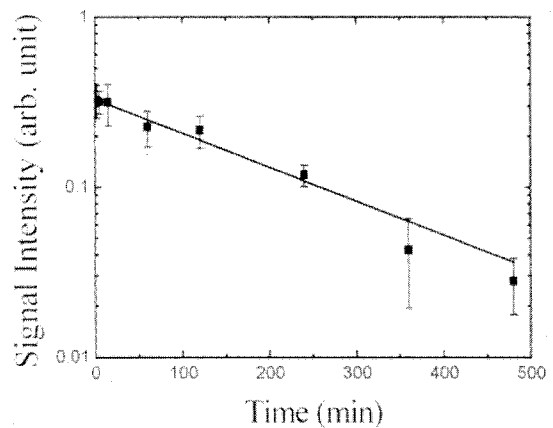


그림 5. T2 조영제를 정맥주사한 후 시간에 따라 채취한 혈액에 대한 T2 완화시간을 측정하여, 환산한 신호크기 결과를 시간 함수로 맞추면 그 시간 상수가 혈액반감기가 된다. 이렇게 측정된 반감기는 2.5 ± 0.4 시간 이었다.

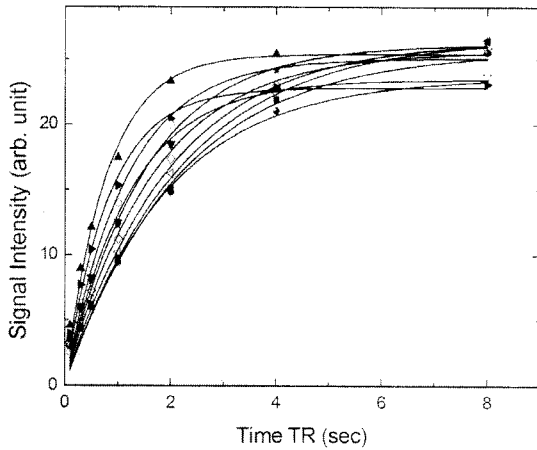


그림 6. 가돌리늄 이온 계열 T1 조영제의 가돌리늄 농도를 달리하면서 시간에 따라 측정된 MRI 영상에서의 신호크기 변화. 농도별 data를 지수함수로 맞추어 결과를 실선으로 표시하고 있으며, 변화정도를 나타내는 기울기를 구하면 농도에 따른 T1 완화시간이 된다. 이렇게 구한 T1 rate를 가돌리늄의 농도에 따라 선형 맞추어서 $6.7 \text{ mM}^{-1} \text{ s}$ 의 T1 relaxivity 값을 얻을 수 있었다.

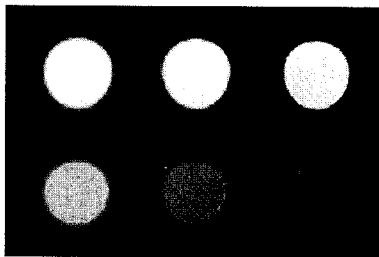


그림 7. 그림 6에서 6가지의 가돌리늄 농도가 다른 시료에 대하여 특정시간 TR=500 ms에서 구한 자기공명영상. 가돌리늄의 농도에 따라 T1 완화시간이 달라서 농도가 클 때 (왼쪽 위) 더 밝게, 농도가 작을 때 (오른쪽 아래) 더 어둡게 조영효과가 나타난다는 것을 보여주고 있다.

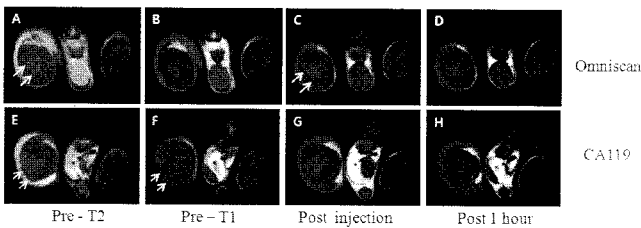


그림 8. 두 개의 서로 다른 T1 조영제를 허벅지 근육 염증모델에 정맥 주사한 후 염증부위에서의 조영효과를 보여주는 그림. T2-weighted(A와 E)와 T1-weighted(A와 E를 제외한 것들) 영상을 조영제 투여 전(Pre-T2, Pre-T1)과 투여 후(Post injection, Post 1 hour) 얻은 MRI 영상 결과. T2-weighted 영상(A와 E)의 밝은 부분(화살표)으로 염증부위의 위치와 크기를 알 수 있다.

높은 계열의 조영제(CA119)를 허벅지 근육 염증모델에 정맥 주사한 후 시간에 따른 영상밝기 변화를 비교한 실험 결과이다. 같은 가돌리늄 이온을 바탕으로 하고 착화물을 달리하였을 때의 영상변화 거동을 측정함으로써 어떤 용도의 진단응용에 적합한지에 대한 정보를 제공해 준다. 시간에 따라 염증부위 관심부위(ROI, region of interest)에서의 영상신호 크기를 측정된 결과를 **그림 9**에 보여주고 있다. CA119가 Omniscan에 비하여 5분 정도 늦게 최고 조영점을 보이고 있으며, 최고점 이후 빠져나가는 속도는 오히려 더 빠르다는 것을 알 수 있다. 이

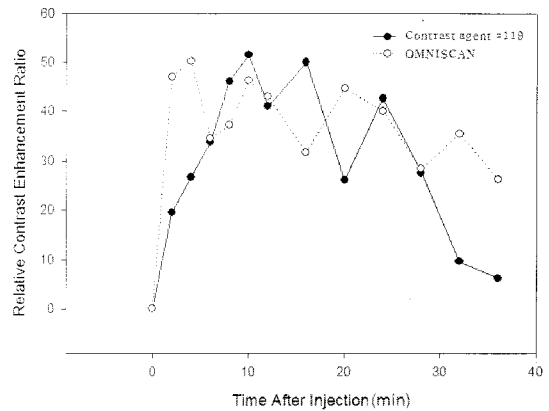


그림 9. 그림 5에서 염증 부위 일정 크기 ROI(region of interest)에서의 신호크기의 변화를 조영제 투여 후 시간에 따라 구한 결과. Omniscan과 비교하여 CA119인 경우 5분 정도 늦게 최대 조영효과를 보이고 있으며, 최대값 이후 시간에 따라 빨리 감소하여 감쇄시간도 더 짧다는 것을 알 수 있다.

결과는, CA119 조영제 투여 후 비교적 여유 있게(Omniscan보다 5분 뒤) 자기공명영상 신호를 얻을 수 있고, 배출은 더 잘 되어서 상대적으로 다른 생독성 여지를 줄일 가능성이 크다는 점을 보여주고 있다.

2.3 분자/세포영상용 조영제로의 응용

경우에 따라서는 자성 나노입자를 특정 막단백질(membrane protein)에 표적화(targeting)하기 위하여 특정 물질을 붙이기 쉽게 아민기 또는 티올기를 도입함으로써, 표적 기능이 있는 항체(antibody), 펩티드(peptide), 유전자(gene), 또는 앵타머(aptamer)를 쉽게 결합할 수 있도록 하기도 한다. 이렇게 표적 기능을 부여함으로써 특정 질병에 특화된 단백질만을 생체 표적화하여 자성 나노입자의 철이 질병세포 가까이에서 높은 농도가 되도록 할 수 있고, 따라서 자기공명영상에서의 T2 조영효과를 통하여 질병세포의 위치 및 발병 시기를 판별할 수 있는 가능성을 제공하게 된다. 그 표적 단백질이 질병의 발병 초기에 발현되는 단백질이라면 더욱더 질병의 조기진단에 활용될 수 있다. 이 기술이 최근 새로운 학문 영역으로 발전하면서 커져가고 있는 분자영상의 한 축인 자기공명 분자영상이다.

좀 더 넓은 의미의 분자영상은 분자 수준의 단백질만이 아닌 세포를 표적으로 하는 것까지 포함하고 있다. 특정 세포가 질병의 진행과정에 관여하고 있다면, 그 세포를 표적화할 수 있는 조영제를 이용함으로써 해당 세포가 언제 어디에서 활동하는지를 영상으로 확인할 수 있다는 의미이다.

본 실험실에서 합성하여 활용하고 있는 T2 조영제는 이미 잘 알려진 수용액법으로 합성한 코페라이트(CoFe_2O_4) 코어(core)를 기반으로 하고, 주로 FITC(fluorescein isothiocyanate) 또는 RITC(rhodamine isothiocyanate)를 이용한 형광 dye가 포함된 실리카(silica)로 코팅하고, 그 위에 PEG로 한 번 더 코팅한 형태이다.⁵⁶ 형광과 초상자상 성질을 동시에 보유하게 함으로써 MFSN(magneto-fluorescent silica nanoparticle)이라 명명하고, 자기공명영상에서의 T2 조영과 조직 절편에서 비교실험을 위한 형광영상 결과를 가능하게 하였다. 실리카를 코팅함으로써 코페라이트가 보다 안정적이고 생체친화적이며 독성을 획기적으로 줄일 수 있다는 장점이 있는데 반해,⁷⁻⁹ 실리카 자체가 생분해가 잘 되지 않는다는 점 때문에 궁극적으로 임상에 적용하기에는 한계가 있다는 점은 문제라 하겠다. 하지만, 세포실험용으로, 그리고 동물실험용으로 사용하여 조기진단 및 치료효과를 모니터링하는데 충

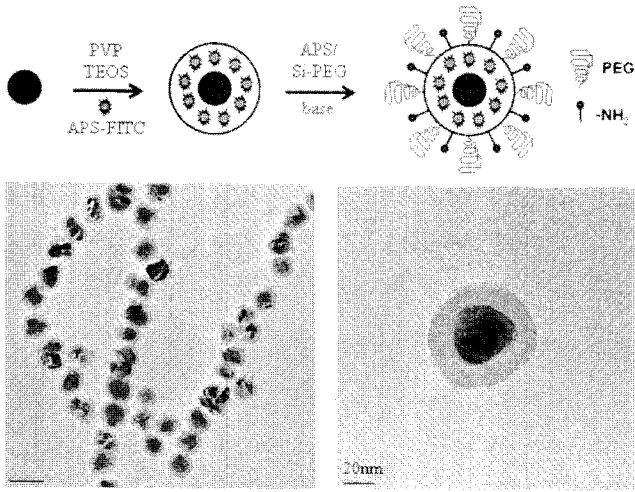


그림 10. MFSN을 만드는 과정의 모식도(위)와 실리카까지 코팅된 후 전자현미경으로 측정된 영상(아래). 30–40 nm 정도의 자성 나노입자에 헥사기를 도입한 실리카를 10–15 nm의 두께로 입힌 다음 PEG로 코팅하였는데, 최종적으로 만들어진 입자의 직경은 80 nm 정도이다.

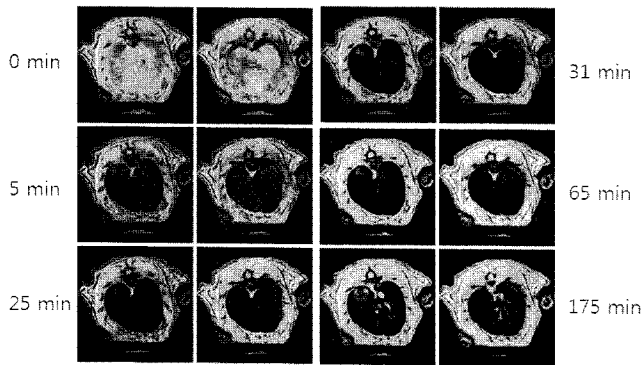


그림 11. MFSN T2 조영제를 정상 rat에 정맥주사한 후 간 부위에서의 시간에 따른 조영 변화 영상 결과. 조영제 투여 전(0 min)과 투여 후 5분(5 min)부터 175분(175 min)까지 관찰하였는데, 조영제 투여 직후 이미 간 부분이 검게 조영되고, 175분이 되면서 큰 혈관은 비교적 밝게 돌아오고 있음을 할 수 있다.

분히 활용할 수 있음을 최근의 연구결과들은 보여주고 있다.

그림 10은 MFSN을 만드는 과정의 모식도와 실리카까지 코팅된 후 전자현미경으로 측정된 영상을 보여주고 있다. 비교적 균일하게 코어입자(30–40 nm)와 실리카가 코팅되어 있고, 전체 입자의 크기는 80 nm 정도로서 SPIO로 합성하였다. 이렇게 만들어진 MFSN은 **그림 3~5**의 과정으로 T2 relaxivity (~2.5시간)를 측정하였고 몇 가지 세포에 대하여 독성실험을 *in vitro* 에서 수행하여 세포독성이 거의 없음을 확인하였으며, 생체분포도(bio-distribution) 측정으로 시간에 따라 어느 장기에 얼마나 축적되고 어떤 경로로 배출되는지에 대한 실험을 수행하였다. **그림 11**은 정맥주사 후 간과 비장(spleen)에 얼마나 빨리 축적되는지를 자기공명영상을 통하여 측정할 예이다. 주사 후 5분이면 간에서 충분히 조영효과를 보이고 있으며, 점점 어두워져서 2시간 정도면 포화상태가 되는데, 3시간 정도에서는 혈관에서의 조영정도가 감소했다는 것을 확인할 수 있었다. 간 조직에서의 조영 정도는 꽤 오랫동안 지속되었는데, 3일 후까지도 어느 정도의 조영효과가 남아 있었다.

이상의 결과로부터 본 실험실에서 합성한 T2 조영제 MFSN SPIO

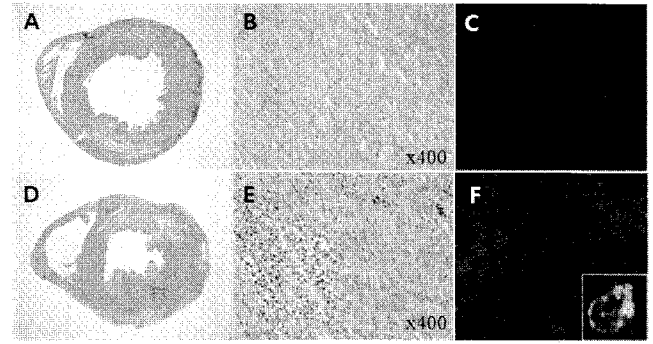


그림 12. 정상(위)과 심근염(아래) rat에 MFSN을 정맥주사한 24시간 후 얻은 H&E stain 영상(A, B, D, E)과 CLSM 영상(C, F). 심장 전체에 퍼져 있는 염증정도와(D), 염증세포의 infiltration 정도를 미시적으로(E) 확인할 수 있고, CLSM으로 대식세포와 MFSN의 위치를 확인하여(F), 대식세포(녹색) 안에 MFSN이 있음을 확인할 수 있다(F의 inset).

는 $130 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ 이상의 높은 T2 relaxivity 값을 가지고, 2.5시간의 혈액반감기인 것을 감안하면 혈액에 비교적 오랜시간을 돌아다닌다는 것을 알 수 있었다. 즉, 심근 혈관벽을 통하여 암 또는 염증조직으로 흘러들어갈 시간적인 여유가 비교적 충분하다는 것을 반영한다.

그 기능성을 확인하기 위하여 심근염 동물모델에 적용하였다. Rat 심근염 모델을 만들어서 심근 염증이 최고일 때 MFSN을 정맥주사한 24시간 후 심장조직을 채취하여 얇게 벤 후 H&E staining으로 염증 정도를 확인하고, CLSM(confocal laser scanning microscope)으로 MFSN의 FITC(적색), DAPI(핵, 청색), IHC로 대식세포(녹색)를 확인하여 비교하였다(**그림 12**). 정상에서는 심장조직에서 MFSN이 거의 발견되지 않는데 반하여 심근염 모델에서는 많은 양의 MFSN이 발견되었으며(**그림 12(F)**), 그 위치가 대식세포(녹색)와 일치함을 확인할 수 있었다.

이렇게 대식세포에 먹힌 MFSN에 의하여 자기공명영상에서 어느 정도의 조영효과를 보일지를 확인하기 위하여 같은 방법으로 조영제를 정맥주사 24시간 후 심근에서의 영상밝기를 측정하여 정상인 경우와 비교하였다(**그림 13**). 정상군에서는 신호대잡음비(SNR)가 조영제 투여 전후에 차이가 별로 없는데 반하여($p=0.33$), 심근염군에서는 약 65%의 T2 조영효과를 확인하였다($p < 0.0001$).

심근염군에서 얻은 심장조직 절편으로부터 TEM(tunneling electron microscope) 영상을 통하여 MFSN이 대식세포에 잘 먹혀 있는지, 먹혀 있다면 어디에 있는지를 확인하였다. CLSM 영상으로부터 대식세포 및 MFSN가 분포되어 있는 위치를 확인한 후 그 부위를 중심으로 TEM 영상을 측정하였는데, 그 한 예가 **그림 14**이다. 핵이 있는 대식세포와 그 안의 세포소기관인 라이소좀 안에 수십~수백 개의 MFSN 입자가 들어있는 것을 확인할 수 있었다.

3. 결론

정맥 주사한 MFSN 조영제가 혈관을 오랫동안 돌아다니면서 염증부위의 심근조직으로 비교적 쉽게 접근할 수 있었고, 따라서 이미 염증부위에 가 있는 대식세포에 차례로 잡아먹히면서 축적될 수 있었고 그 정도는 충분히 자기공명영상의 조영변화에 반영될 수 있을 정도였다. 따라서, 이 결과를 한 단계 더 응용하면, 1) 염증 정도를 반영한 자기공명영상 결과로부터 심근염 진단에 활용할 수 있고, 2) 대식세포의 homing

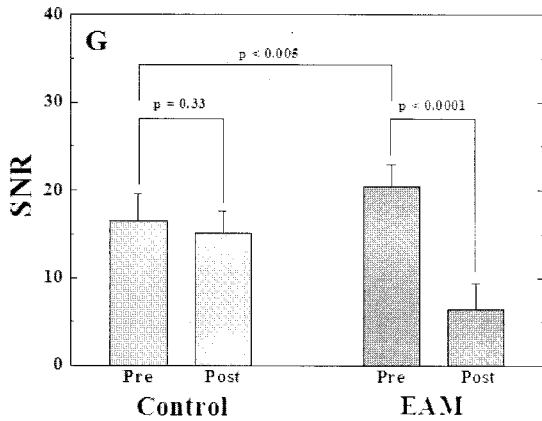
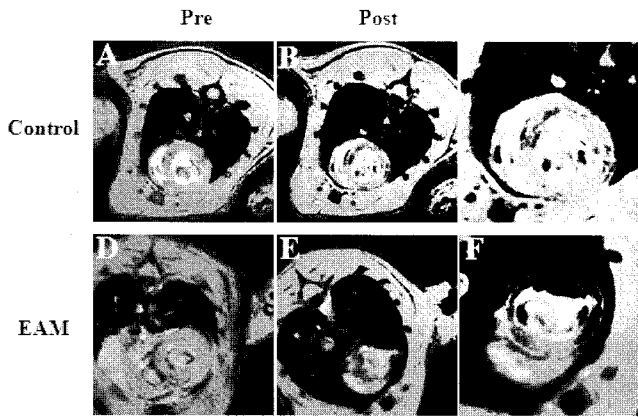


그림 13. MFSN을 정맥주사한 24시간 후 얻은 정상(A-C)과 심근염(D-F) rat에서의 자기공명영상 결과. 신호대잡음비(SNR)가 정상에서는 조영제 투여 전후에 차이가 별로 없는데 반하여, 심근염군에서는 약 65%의 T2 조영 효과를 보이고 있다($p < 0.0001$).

을 조절하는 방법으로서의 예방치료법이 얼마나 잘 반영되는지를 대식세포 표적 자기공명영상을 통하여 모니터링할 수 있다.

한 단계단계마다 하나의 영상장비만을 사용한 연구결과가 아닌 두 개의 서로 다른 장비 이상이 반드시 필요한데, 자기공명영상에 CLSM 영상, TEM 영상, *in vivo* 형광영상(결과 제시하지 않음), 그리고 MFSN 합성단계에서의 특성분석을 위한 SQUID(superconducting quantum interference device), DLS(dynamic light scattering), TEM 등의 측정장비가 또한 필요한 나노/바이오 융합영상의 최전선 기술의 도움을 필요로 한다. 자기공명영상만을 위해서가 아닌 PET, CT, SPECT 등의 생체영상기술이 이중/삼중으로 접목될 수 있는 다기능 나노소재를 필요로 하고 있으며, drug delivery 기능까지 더해져서 1) 표적 진단, 2) 추적 및 치료, 3) 모니터링 기능을 갖춘 만능의 플랫폼 개발 및 연구 기회가 기대된다.

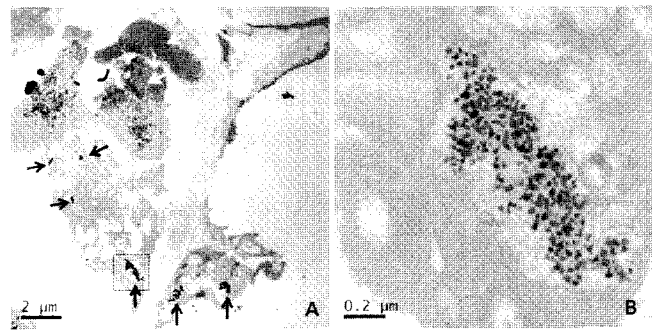


그림 14. 심근염군에서 얻은 심장조직 절편으로부터 얻은 TEM 영상. 심근세포(흰색 화살표)가 있고, 대식세포 안 몇 군데(검은색 화살표) MFSN들이 들어있고, 세포소기관인 라이소좀 안에 수십-수백 개의 (B) MFSN 입자가 들어있는 것을 알 수 있다.

참고문헌

1. R. Weissleder, G. Elizondo, J. Wittenberg, C. A. Rabito, H. H. Bengtle, and L. Josephson, *Radiology*, **175**, 489 (1990).
2. J.-H. Lee, Y.-M. Huh, Y.-W. Jun, J.-W. Seo, J.-T. Jang, H.-T. Song, S. Kim, E.-J. Cho, H.-G. Yoon, J.-S. Suh, and J. Cheon, *Nature Medicine*, **13**, 95 (2007).
3. K. Lee, C. Cheong, K. S. Hong, E. K. Koh, M. Kim, H. S. Shin, Y.-N. Kim, and S. H. Lee, *J. Korean Phys. Soc.*, **53**, 2535 (2008).
4. H. W. Kang, L. J. A. Petrovsky, R. Weissleder, and A. Bogdanov, Jr., *Bioconjugate Chem.*, **13**, 122 (2002).
5. T.-J. Yoon, J. S. Kim, B. G. Kim, K. N. Yu, M.-H. Cho, and J.-K. Lee, *Angew. Chem. Int. Edit.*, **44**, 1068 (2005).
6. T. Yoon, K. N. Yu, E. Kim, J. S. Kim, B. G. Kim, S. Yun, B. Sohn, M. Cho, J. Lee, and S. B. Park, *Small*, **2**, 209 (2006).
7. S. Santra, R. Tapeç, N. Theodoropoulou, J. Dobson, A. Hebard, and W. Tan, *Langmuir*, **17**, 2900 (2001).
8. R. K. Kopke, R. A. Wassel, F. Mondalek, B. Grady, K. Chen, J. Liu, D. Gibson, and K. J. Dormer, *Audiol. Neuro. Otol.*, **11**, 123 (2006).
9. R. Fernandez-Pacheco, M. Arruebo, C. Marquina, R. Barra, and J. Arbiol, *J. Santamaria Nanotechnology*, **17**, 1188 (2006).