

쥐 전체 뇌의 단면 이미지에서 뇌혈관의 구조 재현 및 정량적 측정 기법에 관한 연구

이 준 석[†]

A Study on the Reconstruction and Quantitative Measurement Method of Cerebrovascular Structure in Cross-sectioned Images of the Whole Mouse Brain

Junseok Lee[†]

ABSTRACT

Cerebrovascular disease is a common disease in the elderly population. However, we do not have enough understanding of brain-related diseases. Recent advances in microscopy technology have resulted in the acquisition of vast amounts of image data sets for small organs, and it has become possible to handle vast amounts of image data sets due to improved computer performance and software technology. In this paper, the author proposes introduce a method for classifying and analysing only cerebrovascular information in the mouse brain image, as well as a quantitative measure of the portion of the cerebrovascular in the mouse brain. The study of the cerebrovascular structure is significant, and it can be helpful to improve the understanding of cerebrovasculature. As a result, the author expects that this study will be useful for neuroscientists conducting clinical research.

Key words: Knife-Edge Scanning Microscope, Cerebrovasculature, Whole Mouse Brain

1. 서 론

뇌혈관 질환의 연구에 오랜 시간과 노력을 투자하였음도 불구하고 아직까지 알츠하이머병(Alzheimer's Disease, AD)과 같은 질환의 정확한 발병 원인에 대해서 명확하게 규명하지 못하고 있다[1-2]. 물론, 알츠하이머병이 뇌혈관 질환의 결과가 원인이 되어 발병하는 질병이라고 단정할 수 없지만, 임상 실험 결과 알츠하이머병을 앓고 있는 환자 중 뇌혈관 질환을 앓고 있는 환자가 종종 발생하고 있으며, 알츠하이머병이 뇌졸중과 같은 뇌질환의 발병 위험을 증가

시키고 있다는 결과를 통해 두 질병 사이에 상당한 연관성이 있음을 확인할 수 있다[3].

또한, 알츠하이머병을 앓고 있는 쥐와 일반 쥐의 뇌혈관 데이터셋에서 모세혈관의 길이가 75 μ m 이상인 세그먼트(segments)의 수가 노령 쥐 그룹에서 젊은 쥐 그룹보다 감소된 비율을 나타내고 있다는 연구 결과도 있다[4]. 뇌질환이 노령 인구에서 보이는 흔한 질병인 것을 감안하면 노화로 인한 뇌질환 발병과 알츠하이머병과의 상관관계를 유추해 볼 수 있는 실험 결과이다.

그러나, 위에서 언급한 질병들의 상관관계에도 불

* Corresponding Author : Junseok Lee, Address: (38900) P.O. BOX 135-9, Changha-ri, Gogyeong-Myeon, Yeongcheon-si, Gyeongsangbuk-do, Korea, TEL : +82-54-330-4745, FAX : +82-54-335-5790, E-mail : jsleecs@mnd.go.kr

Receipt date : Aug. 7일, 2019, Revision date : Sep. 11, 2019

Approval date : Sep. 19, 2019

[†] Dept. of Computer Eng., Korea Army Academy at Yeongcheon

* This paper is largely based on the author's Ph.D. Dissertation.

구하고, 전통적으로 1 μm 이하의 고해상도에서 쥐의 전체 뇌 이미지를 추출하고, 뇌혈관의 전체 구조를 매핑(mapping)하는 것은 어렵게 진행되었다[5]. 하지만, 최근 컴퓨터 하드웨어의 눈부신 성능 발전과 함께 가격 인하 및 디지털 이미지를 처리하는 최신 기법들을 통해 이전에는 생각조차 할 수 없었던 진보된 방식으로 뇌혈관에 대한 연구를 가능하게 하였다[6]. 또한, 고해상도의 이미지를 활용한 의료 영상분할 기법은 영상에 대한 정보를 올바르게 해석해야 하는 임상연구 분야에서 가장 중요한 단계로 여겨지고 있다[22].

Knife-Edge Scanning Microscope(KESM)는 미국 Texas A&M 대학교의 Brain Networks Laboratory에서 개발한 장비로서, KESM을 사용하면 쥐 뇌와 같이 작은 장기의 단면 이미지를 고속 처리를 통해 고해상도로 추출하여 대용량의 데이터셋으로 저장할 수 있다. KESM을 통해 추출된 이미지의 단면 복셀 크기는 0.6 μm × 0.7 μm × 1.0 μm이며, Fig. 1은 KESM의 동작 원리를 묘사하는 그림으로 고속 라인 스캔 카메라는 쥐 뇌와 같이 작은 장기의 표본 상단이 다이아몬드 나이프를 통해 절단 될 때 해당 단면의 조직을 캡처하여 뇌에 대한 정보를 고속으로 저장한다[8-11].

본 논문에서는 쥐 전체 뇌에서 뇌혈관이 차지하는 영역의 양적인 분석을 진행하기 위한 기법을 제안하고, 제안하는 기법으로 얻은 결과와 이전 연구들과의 뇌혈관에 대한 정량적 측정 결과를 분석할 것이다. 이를 위해 쥐 뇌에서 뇌혈관 정보만을 추출하는 기법은 이전 연구에서[12] 진행했던 임계값을 이용한 이

미지 이진화 방법(쥐 뇌의 이미지 단면에서 혈관 정보만을 추출)이 적용된 결과 데이터셋을 활용한다. 뇌혈관 연결구조의 연구는 매우 중요하며 이러한 연구를 통해 뇌혈관 질환에 대한 이해를 높이고, 신경과학 분야의 임상 연구에도 활용될 것으로 기대된다.

2. 관련연구

2.1 CLARITY

Zhang 등의 연구[13]에서는 쥐의 뇌혈관을 정량화하기 위해 최적화 된 CLARITY 프로토콜[14]을 적용하였다. CLARITY[15] 기법은 뇌 조직을 투명하게 만드는 방법으로 CLARITY 기법을 통해 투명화 된 쥐의 뇌는 공초점 스캐닝 현미경(confocal scanning microscopy)을 사용하여 뇌의 단면 이미지를 추출하고, 뇌혈관 네트워크를 3D로 재현하여 분석하는 단계를 거친다. Fig. 2는 인위적인 손상이 진행되기 전의 뇌혈관 상태와 일시적 중뇌 동맥 폐색(tMCAO, transient Middle Cerebral Artery Occlusion)으로 인위적인 손상이 진행된 뇌혈관의 비교를 위해 뇌혈관 네트워크를 3D로 시각화하고 정량화하여 뇌혈관의 영역을 분석하는 그림이다.

서론에서 언급하였듯이 Fig. 2는 건강한 뇌혈관과 손상된 뇌혈관이 뇌 영역에서 각각 차지하는 부분을 정량적으로 측정된 결과를 나타내는 그림으로 손상되기 전의 뇌혈관이 손상된 뇌혈관의 정량적 측정치보다 두 배정도 높게 보임을 알 수 있다. 이 때 사용된 뇌 이미지의 샘플은 504 μm × 504 μm × 886 μm

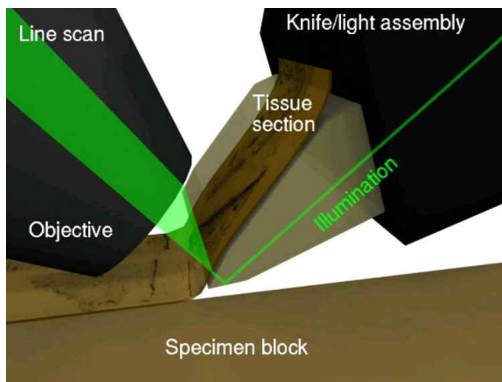


Fig. 1. Operating principle of the Knife-Edge Scanning Microscope. Adapted from [7].

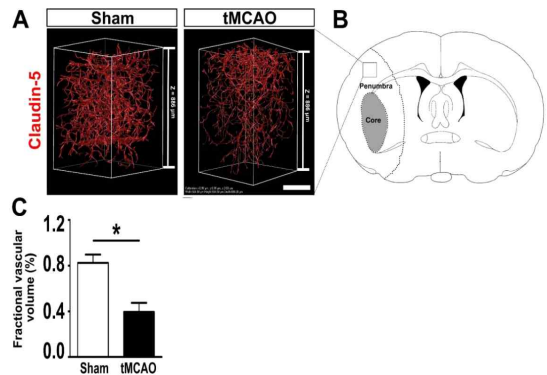


Fig. 2. Visualization, and quantification of the vessels network in the sham and tMCAO (transient middle cerebral artery occlusion) mouse brain coronal section. Scale bar=1mm. Adapted from [13].

복셀 크기의 데이터셋이며 ($0.99 \mu\text{m} \times 0.99 \mu\text{m} \times 2.0 \mu\text{m}$ 해상도, tMCAO의 경우는 고려하지 않음) 정량적 측정 결과 뇌혈관의 영역이 뇌의 0.8% 정도를 차지하고 있다.

2.2 3Scan KESM

3Scan은 미국의 스타트업 회사로 KESM을 자체적으로 제작하였고, Michael 등의 연구[16]에서 자체 제작한 KESM을 통해 얻은 쥐 뇌의 단면 이미지 데이터셋을 바탕으로 쥐 뇌의 혈관 부분을 양적으로 분석하였다. Fig. 3은 쥐 뇌의 시상면 뷰(sagittal view)를 기준으로 뇌의 모습을 보여준다. Fig. 3B와 Fig. 3C는 Fig. 3A에서 보이는 쥐 뇌의 시상면 뷰에서 전뇌와 소뇌(회색: 미세 혈관 구조, 적색: 골격) 부분의 소구역 샘플($512 \mu\text{m} \times 512 \mu\text{m} \times 72 \mu\text{m}$ 복셀 데이터셋, $0.7 \mu\text{m} \times 0.7 \mu\text{m} \times 5.0 \mu\text{m}$ 해상도)을 대상으로 뇌혈관의 구조를 분석한 그림이다. 이때, 뇌혈관의 정량적 측정 결과는 뇌 영역에서 전뇌 1.07%, 소뇌 3.18%의 결과를 보였다. 뇌혈관의 정량적 측정 결과를 통해 확인할 수 있듯이 뇌의 샘플 영역에 따라 뇌혈관이 차지하는 측정치의 차이가 존재하는 것을 알 수 있다.

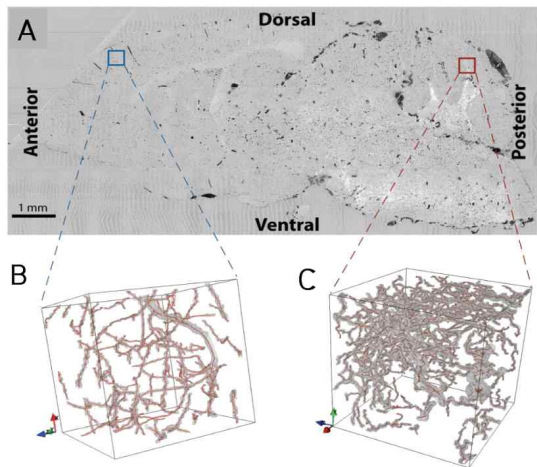


Fig. 3. The subregion sample of interest in whole mouse brain vasculature. (A) Sagittal view of mouse brain. (B) The subregion sample of the forebrain (grey: microvasculature, red: skeleton). (C) The subregion sample of the cerebellum. (B) and (C) used $512 \mu\text{m} \times 512 \mu\text{m} \times 72 \mu\text{m}$ voxels dataset ($0.7 \mu\text{m} \times 0.7 \mu\text{m} \times 5.0 \mu\text{m}$ resolution). Adapted from [16].

2.3 3D BrainCV(3D brain-wide cellular and vascular, 3D 뇌 광역의 세포 및 혈관)

Jingpeng 등의 연구[17]에서는 쥐 전체 뇌의 세포와 혈관을 동시에 시각화하기 위해 수컷 쥐 3마리(C57BL/6)의 뇌 단면 이미지 데이터셋을 연구에 활용하였다. Fig. 4와 같이 해당 연구에서는 쥐 뇌의 후두부 영역의 데이터셋을 대상으로 Fig. 4(a)의 흰색 박스 부분(두께 $30 \mu\text{m}$)을 중심으로 분석하였다. Fig. 4(b)는 Fig. 4(a)의 흰색 박스로 표시된 대뇌 피질 영역을 확대한 모습으로 피질의 깊이에 따라 해당 영역을 I, II/III, IV, V 및 VI로 표현하고 있다. Fig. 4(c)는 피질의 깊이에 따라 분류된 I, II/III, IV, V 및 VI 영역별로 뇌혈관이 차지하고 있는 부분을 정량적으로 측정하여 그래프로 측정값을 비교하였다.

Jingpeng 등의 연구[17]에서는 뇌혈관에 대한 정보뿐만 아니라 뇌 세포에 대한 분석이 가능한 데이터셋을 생성하였으며, 깊이의 변화에 따른 뇌혈관의 정

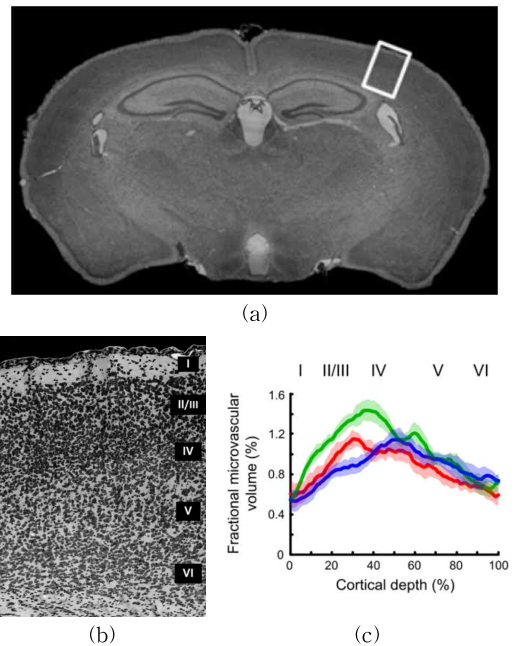


Fig. 4. A dataset of a mouse brain and quantity of microvascular volume by cortical depth (three male mice, C57BL/6). (a) Simultaneous cross-section of cells and blood vessels (thickness: $30 \mu\text{m}$, posterior direction). (b) Enlarged view of the cortical region indicated by the white box in (a). (c) Quantity of microvascular volume by cortical depth in (b). Adapted from [17].

량적 측정을 실시하였다. 추가하여, 복수의 쥐를 대상으로 실험하여 결과의 재관성을 높였다. 적색, 녹색 및 청색 곡선은 각각 무과립피질(MI), 과립(PMBSF) 및 부분적인 과립피질(V1)을 나타내며, 곡선의 반투명 영역은 표준편차를 나타내는 그래프이다. 쥐 뇌의 피질 부분에서 뇌혈관의 정량화 측정 결과는 대략 0.4~1.6% 정도의 분포를 보였다.

3. 제안한 방법

본 논문에서는 KESM을 이용하여 얻은 쥐 뇌 이미지를 활용하였으며, 단면 이미지의 복셀 해상도 크기는 $1.2 \mu\text{m} \times 1.4 \mu\text{m} \times 1.0 \mu\text{m}$ (원본 크기는 $0.6 \mu\text{m} \times 0.7 \mu\text{m} \times 1.0 \mu\text{m}$ 이지만, 전처리 단계를 거친 이미지 활용)이고, $7,790 \text{ px} \times 6,050 \text{ px}$ 크기의 쥐 뇌 단면 이미지(8,560개)를 사용하였다.

Fig. 5는 본 논문에서 제안하는 기법의 전체적인 흐름을 다이어그램으로 표현한 그림이고, Fig. 6은 ‘손상된 이미지의 교체와 재배치’에 대한 부분을 좀 더 세부적으로 설명하기 위한 그림이다. KESM을 통해 얻어진 8,560개의 단면 이미지는 우선 z축으로의 서브샘플링 진행을 위해 연속된 두 이미지를 결합(두 이미지 픽셀의 평균값)하는 단계를 거치게 되며, 그 결과로 Fig. 6의 Z'~Z'+3과 같은 이미지가 생성된다. 두 이미지의 결합 과정을 통해 뇌혈관 정보에 대한 신뢰성을 높일 수 있지만, Fig. 6의 Image Z' 혹은 Image Z'+1과 같이 물리적인 자름 과정으로 인해 이미지 자체가 손상되어 혈관에 대한 정보를 얻을 수 없는 불량 이미지도 생성되게 된다. 8,560개의 단면 이미지는 뇌혈관에 대한 정보를 온전히 가지고

있는 이미지도 있지만, 약품 처리된 뇌를 물리적으로 자르는 과정에서 뇌혈관에 대한 정보를 가지고 있지 않은 손상된 이미지 단면(전체 이미지의 10% 미만)도 포함하게 된다. 또한, z축을 기준으로 1단계 서브샘플링을 진행한 결과 데이터셋을 구성하는 단면 이미지의 수는 4,280개가 된다.

z축으로의 서브샘플링이 진행된 이미지는 x, y축을 기준으로도 서브샘플링 단계를 거치게 된다. 첫 번째 x, y축을 기준으로 한 서브샘플링 기법을 통해 단면 이미지는 $3,890 \text{ px} \times 3,025 \text{ px}$ 크기가 된다. 한 단계 서브샘플링이 진행된 단면 이미지는 Fig. 6에서와 같이 Image Z' 혹은 Image Z'+1과 같이 혈관의 정보를 포함하고 있지 않은 손상된 이미지와 Image Z'+2 혹은 Image Z'+3과 같이 혈관 정보를 온전히 포함하고 있는 이미지가 함께 생성된다. 두 번째 단계의 z축 기준 서브샘플링 과정에서 단순히 연속된 두 이미지를 결합하는 방법을 똑같이 적용할 경우 연속된 Image Z'와 Image Z'+1과 같이 손상된 이미지가 서로 결합하여 혈관에 대한 정보를 가지고 있지 않은 무의미 한 단면 이미지가 데이터셋에 포함되게 된다.

이러한 문제를 해결하기 위해 Image Z' 혹은 Image Z'+1과 같이 손상된 이미지가 생성되는 경우 수동으로 Image B 혹은 Image B+1과 같이 검은색의 빈 이미지와 교체하는 작업을 진행한다. 두 번째 z축을 기준으로 한 서브샘플링 과정도 연속된 두 이미지를 결합하는 과정을 거치게 된다. 이 단계에서 Image B와 Image B+1과 같이 빈 이미지가 연속되어 있을 경우 온전한 이미지가 포함하고 있는 혈관 정보를 유지하기 위해 이미지 Image Z'+2와 Image Z'+3과 같이 온전한 이미지들 사이에 Image B+1과 같이 빈 이미지가 위치할 수 있도록 순서를 조정하였다. 교체된 검정색 빈 Image B는 Image Z'+2와 결합하여 Image Z'+2의 뇌혈관 정보가 온전히 포함된 Image Z''가 만들어지게 된다. 마찬가지로 Image B+1은 Image Z'+3과 결합하여 Image Z''+1의 이미지가 생성된다. z축을 기준으로 두 번째의 서브샘플링 과정을 거치게 되면, 물리적으로 손상된 이미지는 제거되고, 혈관의 정보를 온전히 가지고 있는 2,140개의 단면 이미지가 데이터셋을 구성하게 된다.

두 번째 z축을 기준으로 서브샘플링 된 단면 이미지는 x, y축을 기준으로 서브샘플링 단계를 한 번

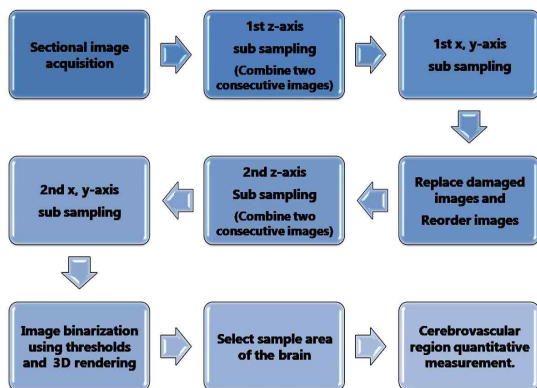


Fig. 5. Flow diagram of the proposed method.

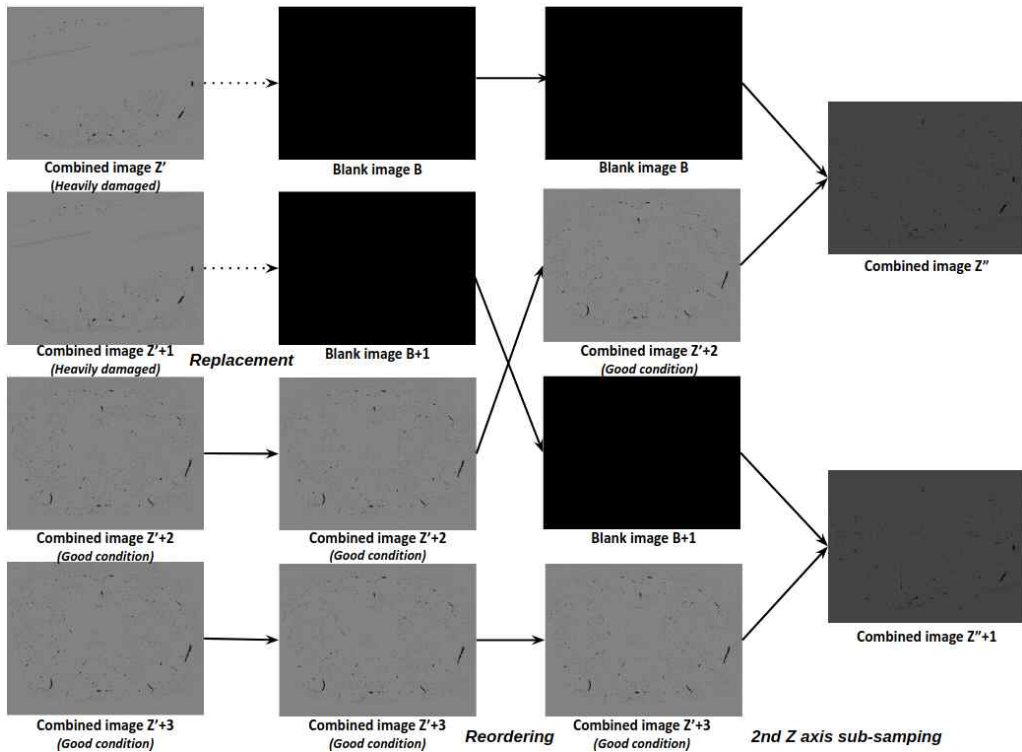


Fig. 6. Replacement and reorder process, and 2nd Z-axis sub-sampling Coronal view (↑: Dorsan, ↓: Ventral).

더 거치게 되고, 단면 이미지는 1,947 px × 1,512 px 크기로 작아진다. 데이터셋을 구성하는 2,140개의 단면 이미지는 이미지 임계화 기법이 적용되어 혈관 부분이 더욱 더 선명하게 보이는 이진화 된 단면 이미지로 새롭게 생성 된다[12].

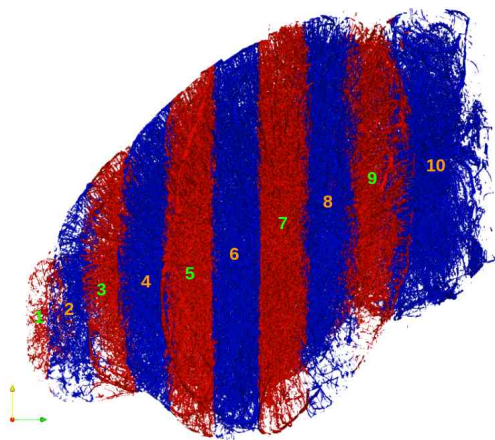


Fig. 7. A whole mouse brain divided into 10 parts. (←: Anterior, →: Posterior).

Junseok 등의 연구[12]에서 소개한 디지털 이미지 프로세싱 기법을 활용하면 뇌의 단면 이미지는 이진화 되어 혈관 부분만의 정보를 온전하게 포함하게 된다. 본 논문에서는 컴퓨터 성능 제한에 따라 전체 이미지 데이터셋을 한 번에 처리할 수 없는 문제가 발생됨으로 인해 이진화 된 이미지 데이터셋을 균등하게 10등분하여 뇌혈관에 대한 정보를 부분적으로 분석하고 종합하였다. 이렇게 10등분 된 각각의 이미지 데이터셋은 뇌혈관에 대한 정보를 포함하고 있으며, 정량적인 분석 과정을 진행하기 위해 뇌혈관 네트워크 구조의 3D 렌더링 및 혈관을 추적하는 단계가 필요하다.

Vaa3D(3D Visualization-Assisted Analysis)[18] 소프트웨어는 최신 현미경 등을 사용하여 생성된 대용량의 이미지 데이터셋을 3D, 4D 및 5D로 렌더링하거나 이미지 데이터 객체의 특성을 분석하는데 활용되는 오픈 소스로서 다양한 종류의 혈관 추적(tracing) 플러그 인을 지원하는 기능을 가지고 있다. 본 논문에서는 Vaa3D에서 지원하는 MOST(Micro Optical Sectioning Tomography) 추적 플러그 인[17]을 활

용하여 뇌혈관의 3차원 중심 좌표(x, y, z), 반지름 길이 및 중심 좌표 간 혈관의 연결 관계에 대한 정보를 추출해 냈으며, 이러한 정보는 SWC 파일[19] 형태로 저장하여 3D 렌더링 구현 및 뇌혈관 네트워크 특성 분석에 활용되게 하였다.

위에서 제안한 기법을 활용하여 원본 이미지를 이진화하고, 이진화 된 이미지에서 원하는 부분을 잘라내어(crop) 3D로 렌더링하여 뇌 영역에서 뇌혈관이 차지하는 부분을 정량적으로 측정할 수 있는 데이터셋을 생성하였다. 뇌의 영역을 정량적으로 측정하는 과정은 Junseok 등의 연구[20]에서 서술한 Convex hull mask 기법을 활용하여 쥐 뇌의 이미지 단면에서 뇌 영역만을 이진화하여 추출하는 방법을 사용하였다. 이 기법은 Wookyung 등의 연구[21]에서 뇌 영역만을 추출하기 위해 수동으로 진행된 단계를 자동화하여 뇌 영역 마스크를 만들 수 있게 하였으며, Junseok 등의 연구[20]에서는 단순히 뇌 영역 외부의 노이즈를 제거하기 위해 뇌 영역 마스크가 사용되었다면, 본 연구에서는 뇌 영역에서 뇌혈관이 차지하는 부분을 측정하기 위해 뇌 영역만을 포함하는 마스크가 활용되었다. 결국, 이진화 된 뇌 이미지 영역과 이진화 된 뇌혈관 이미지 영역의 비율을 측정하여 뇌의 영역에서 뇌혈관이 차지하는 부분을 정량적으로 측정할 수 있게 되었다.

4. 실험 결과

3장에서 기술한 기법을 통해 Fig. 7과 같이 쥐 전체 뇌의 혈관 네트워크를 3D로 구현하였다(10 개 부분을 구분하기 위해 적색과 청색 교차 사용). 비록, 컴퓨터 성능 문제로 뇌 전체 이미지를 10개 부분으로 나누었지만, 결과적으로는 전체 뇌에서 연구자가 원하는 부분의 이미지를 절단하여 뇌혈관 분포를 정량

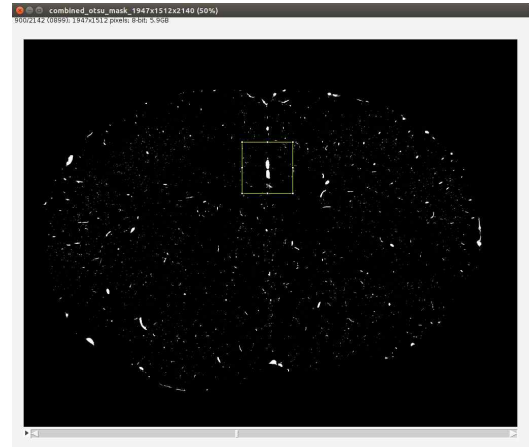


Fig. 8. Cropped portion of each dataset. (200 $\mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$).

적으로 측정할 수 있는 환경을 조성하게 되었다.

Fig. 8은 이미지 프로세싱의 결과로 생성된 이진화 된 뇌 이미지의 한 단면을 보여주고 있으며, 뇌혈관의 정량적 측정을 위해 데이터셋을 추출하는 과정을 보여주는 그림으로 흰색 부분은 뇌혈관을 나타내고 있다. 또한, Fig. 8은 Fig. 7의 6번째 영역이 시작하는 한 단면으로 노란색 영역의 크기는 200 $\mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$ 이고, 연속된 200개의 단면에서 동일한 부분에 대해 노란색 영역과 같이 이미지를 잘라내면, 데이터셋의 복셀 크기는 200 $\mu\text{m} \times 200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$ 가 되며 해당 부분의 뇌혈관 부분을 정량적으로 측정할 수 있다. 추가하여 뇌혈관의 정량적 측정을 위한 데이터셋의 복셀 크기는 실험 상황과 목적에 따라 수정 가능하며 연구자가 원하는 뇌 영역에 제약 없이 선택 가능하게 하였다.

Table 1은 관련 연구들과 제안하는 방법 간 사용되었던 샘플의 복셀 크기, 해상도 및 뇌혈관의 정량적 측정 결과를 정리해 놓은 표이다. 뇌의 단면 이미

Table 1. Voxel and resolution size of the sample for each study

Research works	Sample voxel size	Resolution	Quantitative measurement result
CLARITY[13]	504 $\mu\text{m} \times 504 \mu\text{m} \times 886 \mu\text{m}$	0.99 $\mu\text{m} \times 0.99 \mu\text{m} \times 2.0 \mu\text{m}$	0.8%
3Scan[16]	512 $\mu\text{m} \times 512 \mu\text{m} \times 72 \mu\text{m}$	0.7 $\mu\text{m} \times 0.7 \mu\text{m} \times 5.0 \mu\text{m}$	Forebrain: 1.07%, cerebellum: 3.18%
3D BrainCV[17]	600 $\mu\text{m} \times 600 \mu\text{m} \times 920 \mu\text{m}$	0.4 $\mu\text{m} \times 0.35 \mu\text{m} \times 1.0 \mu\text{m}$	0.4 ~ 1.6%
Proposed method	200 $\mu\text{m} \times 200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$ (Whole brain is available.)	0.6 $\mu\text{m} \times 0.7 \mu\text{m} \times 1.0 \mu\text{m}$	0.81% ~ 1.65%

Table 2. Analysis of quantity of microvascular network (% of total)

Parts	Volume for each part
1	0.81
2	1.21
3	1.13
4	1.39
5	1.23
6	1.22
7	1.47
8	1.17
9	1.49
10	1.65

지 해상도는 대부분 1 μm 이하로 고해상도를 사용하였지만, CLARITY[13], 3Scan[16], 그리고 3D Brain CV[17] 연구들에서는 쥐 뇌의 한정된 부분에 대해서만 뇌혈관의 정량적 분석을 제한적으로 실시하였으며, 뇌혈관의 정량적 측정 결과는 0.8%에서 3.18%의 분포를 보였다. 제안한 방법은 전체 쥐 뇌를 10개 부분으로 나누고, 각각의 뇌혈관에 대한 정량적 측정 결과 0.81%~1.65%의 분포를 보였다. 이처럼 뇌혈관에 대한 정량적 측정 결과가 차이를 보이는 이유는 연구별로 뇌 이미지에 대해서 동일한 부분에 대한 분석을 실시하지 않았기 때문으로 유추해 볼 수 있다. 하지만, 전뇌 부분보다 소뇌 부분의 뇌혈관에 대한 정량적 측정치가 높게 나타나는 것은 결과를 통해 확인할 수 있다. 제안하는 방법을 사용하면 뇌의 영역에 따라 뇌혈관의 분포에 대한 정량적 측정이 가능하며 뇌의 부분별 뇌혈관의 정량적 측정을 전체 뇌에 대한 간단하면서 빠르게 진행할 수 있고, 전체 뇌 영역에 대한 뇌혈관의 정량적 측정 결과를 다른 연구와 비교할 수 있는 기준을 제시하였다.

Table 2는 Fig. 6의 1영역에서부터 10 영역까지의 뇌 영역에 대한 뇌혈관의 정량적 측정 결과를 분석한 것으로, 기존 연구들[13,16,17]과는 다르게 전체 쥐 뇌에 대한 뇌혈관의 정량적 측정을 진행하였으며, 필요에 따라 원하는 부분에 대한 데이터셋 생성과 정량적 측정도 가능하게 하였다.

5. 결 론

본 논문에서는 1 μm 이하의 고해상도에서 얻은

쥐 전체 뇌의 단면 이미지를 활용하여 이미지 프로세싱 기법을 통해 뇌혈관에 대한 정보만을 추출하고, 뇌 영역에서 뇌혈관이 차지하는 부분에 대한 전체 및 부분적인 정량적 측정이 가능하게 하였다. 쥐 전체 뇌에 대한 분석을 실시하기 위해 뇌를 10개 부분으로 나누어 연구를 진행하였고, 제안하는 기법을 사용하여 쥐 전체 뇌에 대한 뇌혈관 부분의 정량적 측정을 진행하여 전체 뇌에서 10개의 부분별로 뇌혈관이 차지하는 영역의 정량적 기준을 제시하였으며, 분석을 필요로 하는 뇌의 일부분을 선택하여 뇌혈관의 정량적 측정을 간단하면서도 빠르게 진행할 수 있었다. 이것은 원본 뇌 단면 이미지의 크기를 두 단계의 서브샘플링 기법과 이진화 과정을 통해 다루기 쉬운 데이터셋으로 만들었으며, 전체 뇌 이미지를 10개 부분으로 나눔으로써 연구자가 원하는 뇌 영역에 보다 쉽게 접근할 수 있도록 하였기 때문에 가능했다.

또한, 기존 연구[13,16,17]에서는 한정된 부분에 대해 제한적으로 정량적 측정이 이루어진 반면, 본 논문에서 제안한 방법을 적용하면 연구자가 원하는 뇌 영역에 대한 뇌혈관의 정량적 측정이 가능하다. 물론, 연구마다 사용한 쥐의 종류가 다르거나 분석을 위해 선택한 뇌의 부분에 따라 뇌혈관의 정량적 측정값의 차이는 존재하지만, 전뇌 부분보다 소뇌 영역의 뇌혈관에 대한 정량적 측정치가 높게 나타나는 단편적인 특징을 살펴볼 수 있었다.

본 연구의 결과가 뇌혈관과 관련된 질환에 대한 이해도를 높이고 신경과학 분야의 임상 연구에 활용되기를 기대한다.

REFERENCE

- [1] R.N. Kaloria, "Cerebral vessels in ageing and Alzheimer's disease." *Pharmacology & therapeutics*, Vol. 72, No. 3, pp. 193-214, 1996.
- [2] H.J. van de Haar, J.F. Jansen, J. van Osch, M.A. van Buchem, M. Muller, S.M. Wong, P.A. Hofman, S. Burgmans, F.R. Verhey and W.H. Backes, "Neurovascular unit impairment in early Alzheimer's disease measured with magnetic resonance imaging." *Neurobiology of aging*, Vol. 45, pp. 190-196, 2016.
- [3] N.F. Chi, L.N. Chien, H.L. Ku, C.J. Hu and H.Y.

- Chiou, "Alzheimer disease and risk of stroke: a population-based cohort study." *Neurology*, Vol. 80, No. 8, pp. 705-711, 2013.
- [4] M. Haft-Javaherian, L. Fang, V. Muse, C.B. Schaffer, N. Nishimura and M.R. Sabuncu, "Deep convolutional neural networks for segmenting 3D in vivo multiphoton images of vasculature in Alzheimer disease mouse models." *PLoS one*, Vol. 14, No. 3, pp. e0213539, 2019.
- [5] S.P. Amato, F. Pan, J. Schwartz and T.M. Ragan, "Whole brain imaging with serial two-photon tomography." *Frontiers in neuroanatomy*, Vol. 10, pp. 31, 2016.
- [6] B. Laviña, "Brain vascular imaging techniques." *International journal of molecular sciences*, Vol. 18, No. 1, pp. 70, 2017.
- [7] D. Mayerich, B.H. McCormick and J. Keyser, "Noise and artifact removal in knife-edge scanning microscopy." *4th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, pp. 556-559, 2007.
- [8] B.H. McCormick and D.M. Mayerich, "Three-dimensional imaging using knife-edge scanning microscopy." *Microscopy and Microanalysis*, Vol. 10, No. S02, pp. 1466-1467, 2004.
- [9] Y. Choe, L.C. Abbott, D. Han, P.S. Huang, J. Keyser, J. Kwon, D. Mayerich, Z. Melek and B.H. McCormick, "Knife-edge scanning microscopy: high-throughput imaging and analysis of massive volumes of biological microstructures." *High-Throughput Image Reconstruction and Analysis: Intelligent Microscopy Applications*, pp. 11-37. 2008.
- [10] Y. Choe, D. Mayerich, J. Kwon, D.E. Miller, J.R. Chung, C. Sung, J. Keyser and L.C. Abbott, "Knife-edge scanning microscopy for connectomics research." *In The 2011 International Joint Conference on Neural Networks, IEEE*, pp. 2258-2265, 2011.
- [11] Y. Choe, D. Mayerich, J. Kwon, D.E. Miller, C. Sung, J.R. Chung, T. Huffman, J. Keyser and L.C. Abbott, "Specimen preparation, imaging, and analysis protocols for knife-edge scanning microscopy." *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, No. 58, pp. e3248, 2011.
- [12] J. Lee, W. An and Y. Choe, "Mapping the full vascular network in the mouse brain at sub-micrometer resolution." *39th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, pp. 3309-3312, 2017.
- [13] L.Y. Zhang, P. Lin, J. Pan, Y. Ma, Z. Wei, L. Jiang, L. Wang, Y. Song, Y. Wang, Z. Zhang and K. Jin, "CLARITY for high-resolution imaging and quantification of vasculature in the whole mouse brain." *Aging and disease*, Vol. 9, No. 2, p. 262, 2018.
- [14] B. Yang, J.B. Treweek, R.P. Kulkarni, B.E. Deverman, C.K. Chen, E. Lubeck, S. Shah, L. Cai and V. Gradinaru, "Single-cell phenotyping within transparent intact tissue through whole-body clearing." *Cell*, Vol. 158, No. 4, pp. 945-958, 2014.
- [15] K. Chung, J. Wallace, S.Y. Kim, S. Kalyanasundaram, A.S. Andalman, T.J. Davidson, J.J. Mirzabekov, K.A. Zalocusky, J. Mattis, A.K. Denisin and S. Pak, "Structural and molecular interrogation of intact biological systems." *Nature*, Vol. 497, No. 7449, pp. 332, 2013.
- [16] M.J. Pesavento, C. Miller, K. Pelton, M. Maloof, C.E. Monteith, V. Vemuri and M. Klimen, "Knife-edge scanning microscopy for bright-field multi-cubic centimeter analysis of microvasculature." *Microscopy Today*, Vol 25, No. 4, pp. 14-21, 2017.
- [17] J. Wu, Y. He, Z. Yang, C. Guo, Q. Luo, W. Zhou, S. Chen, A. Li, B. Xiong, T. Jiang and H. Gong, "3D BrainCV: simultaneous visualization and analysis of cells and capillaries in a whole mouse brain with one-micron voxel resolution." *Neuroimage*, Vol. 87, pp. 199-208, 2014.

[18] H. Peng, Z. Ruan, F. Long, J.H. Simps and E.W. Myers, "V3D enables real-time 3D visualization and quantitative analysis of large-scale biological image data sets." *Nature biotechnology*, Vol. 28, No. 4, pp. 348, 2010.

[19] R.C. Cannon, D.A. Turner, G.K. Pyapali and H.V. Wheal, "An on-line archive of reconstructed hippocampal neurons." *Journal of neuroscience methods*, Vol. 84, Issues 1-2, pp. 49-54, 1998.

[20] J. Lee, J. Yoo and Y. Choe, "Tracing and analysis of the whole mouse brain vasculature with systematic cleaning to remove and consolidate erroneous images." *40th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, pp. 143-146, 2018.

[21] W. An and Y. Choe, "December. Automated reconstruction of neurovascular networks in knife-edge scanning microscope rat brain

nissl data set." *In International Symposium on Visual Computing*, Springer, Cham, pp. 439-448, 2016.

[22] Y.S. Lee and H.K. Choi, "A Hippocampus Segmentation in Brain MR Images using Level-Set Method." *Journal of Korea Multimedia Society*, Vol. 15, No. 9, pp. 1075-1085, 2012.



이 준 석

2004년 2월 육군3사관학교 전산
정보처리학과 공학사

2009년 2월 고려대학교 컴퓨터학
과 공학석사

2018년 8월 Texas A&M
University, Department
of Computer Science and
Engineering 공학박사

2018년~현재 육군3사관학교 컴퓨터공학과 조교수
관심분야: 의료영상처리 및 분석, 머신러닝(Image
classification)