

Semi-automated Tractography Analysis using a Allen Mouse Brain Atlas : Comparing DTI Acquisition between NEX and SNR

Sang-Jin Im¹, Hyeon-Man Baek^{1,2,*}

¹Department of Health Science and Technology, GAIST, Gachon University

²Department of Molecular Medicine, Lee Gil Ya Cancer and Diabetes Institute, Gachon University

Received: February 04, 2020. Revised: March 13, 2020. Accepted: April 30, 2020

ABSTRACT

Advancements in segmentation methodology has made automatic segmentation of brain structures using structural images accurate and consistent. One method of automatic segmentation, which involves registering atlas information from template space to subject space, requires a high quality atlas with accurate boundaries for consistent segmentation. The Allen Mouse Brain Atlas, which has been widely accepted as a high quality reference of the mouse brain, has been used in various segmentations and can provide accurate coordinates and boundaries of mouse brain structures for tractography. Through probabilistic tractography, diffusion tensor images can be used to map comprehensive neuronal network of white matter pathways of the brain. Comparisons between neural networks of mouse and human brains showed that various clinical tests on mouse models were able to simulate disease pathology of human brains, increasing the importance of clinical mouse brain studies. However, differences between brain size of human and mouse brain has made it difficult to achieve the necessary image quality for analysis and the conditions for sufficient image quality such as a long scan time makes using live samples unrealistic. In order to secure a mouse brain image with a sufficient scan time, an Ex-vivo experiment of a mouse brain was conducted for this study. Using FSL, a tool for analyzing tensor images, we proposed a semi-automated segmentation and tractography analysis pipeline of the mouse brain and applied it to various mouse models. Also, in order to determine the useful signal-to-noise ratio of the diffusion tensor image acquired for the tractography analysis, images with various excitation numbers were compared.

Keyword: MRI, DTI, Segmentation, Atlas, NEX, SNR, Tractography

I. INTRODUCTION

건강한 뇌와 질병이 있는 뇌를 이해하려면 다양한 방법의 실험을 적용해 분석하는 노력이 필요하다. 자기공명영상(MRI: Magnetic Resonance Image)을 이용한 뇌 연구는 비 침습적인 방식으로 생체 내 구조적 및 기능적 정보를 거의 완벽하게 분석이 가능하기 때문에 중요한 연구 방법으로 인식되고 있다.^[1] 구조적 영상으로는 회백질(GM: Gray Matter), 백질(WM: White Matter) 그리고 뇌척수액(CSF: Cerebrospinal Fluid)을 구별할 수 있는 탁월한

대비를 제공하고^[2,3], 기능적 영상으로 뇌 신경 연결성을 매핑(Mapping) 할 수 있어 신경 및 정신 질환을 연구하는 신경과학 분야에 중요한 방법으로 떠오르고 있다.^[4]

자기공명영상을 이용한 다양한 뇌 구조 세분화 방법은 최근 몇 년 동안 빠르게 발전하여 구조 이미지의 자동 분할을 위한 유능한 방법론이 되었다. 그중 아틀라스(Atlas) 기반 구조분할 기법은 특히 인간의 뇌 영상 연구에 널리 사용되고 있다.^[5-7] 이 방법은 아틀라스 이미지의 구조 라벨(Label) 정보를 이미지에 등록해 피사체의 이미지로 전달하는 아

* Corresponding Author: Hyeon-Man Baek E-mail: hmbaek98@gachon.ac.kr
Address: 155, Gaetbeol-ro, Yeonsu-ku, Incheon City, Korea

Tel: +82-32-899-6678

트라스기반 방법으로 세분화되는 성능은 등록되는 정확도에 따라 크게 좌우된다. 또한, 세분화의 정확도는 사용되는 아틀라스의 종류에 따라 결과가 편향되어 나타난다. 마우스의 뇌 구조 연구에서 아틀라스기반 구조분할에 관한 연구는 마우스 뇌의 구조적 변화와 질병을 이해하는 중요한 도구 중 하나이다. 특히 대뇌 피질 영역뿐 아니라 뇌의 심부에 있는 기초신경절(Basal ganglia) 영역의 구조분할이 가능하여 마우스 뇌 구조 영역에 대한 다양한 연구에 응용이 가능하며, 임상 적용도 가능하게 된다.^[8]

대뇌피질의 변화는 특히 신경질환과 관련이 있으며, 신경질환 동물모델 마우스에서 뇌 구조의 변화를 특성화하기 위해서 고해상도 자기공명영상 점차 많이 사용되고 있다.^[9] 또한 기초신경절은 부분적으로 구조와 신경 연결성이 신경 및 정신 질환에 기여할 수 있다는 인식으로 인해 신경과학 연구의 주요 초점으로 부상했다.^[10] 뇌 피질 및 기초신경절의 구조적 변화는 우울증과 파킨슨병과 같은 다양한 신경장애와 관련이 있다.^[11] 그러나 전 임상 연구에서 아틀라스를 기반으로 한 구조분할 방법을 적용해 신경연결성을 확인한 연구는 거의 없으며, 사용하는 방법의 난이도가 있어 재현하는데 어려움이 있었다.^[12,13]

본 연구는 세 가지의 목표를 갖고 진행되었다. 첫 번째는 마우스의 뇌에 대한 높은 정확도의 구조분할 정보를 갖고 있는 알렌아틀라스(ABA: Allen Mouse Brain Atlas)를 기반으로 정상 마우스의 전체 뇌 영역을 분할하고 시각화하는 파이프라인(Pipeline)을 구성해 적용하는 것이며, 두 번째로 파이프라인을 통해 기초신경절을 세분화하고, 구조적 영상을 이용해 뇌 구조 영역에 기능적 영상을 분석해 얻은 신경연결 정보를 적용하여 전체 뇌 구조영역들의 연결강도를 확인하고, 연결성을 시각화하는 것이다.

II. MATERIAL AND METHODS

1. 자기공명영상(MRI) 획득

1.1 연구대상

MRI 영상획득 및 분석 파이프라인 검증을 위한 8주령 마우스(정상군=C57BL/6J, 수컷, n=1; 오리엔

트바이오, 서울)를 사용하였다. 마우스는 Ex-vivo 표본화 되었으며 그 과정으로, 먼저 심혈관 내 관류를 시키고 4% paraformaldehyde 및 0.1% Magnevist®로 고정시켰다. 마우스의 머리를 분리하고 두개골 부위의 피부와 근육을 제거한 뒤, 온전한 뇌를 보존하고 있는 두개골은 4°C에서 0.1% Magnevist®와 phosphate buffer(PB)가 섞인 용액에서 4일 동안 배양하고, Fomblin에 넣어 Fig 1과 같이 표본화 했다. 모든 동물은 국제실험동물관리평가인증협회(AAALAC International)의 지침을 따라 가천대학교 이길여암당뇨연구원 실험동물센터(CACU: Center of Animal Care and Use)에서 동물실험계획서 승인 후 처리되었다.

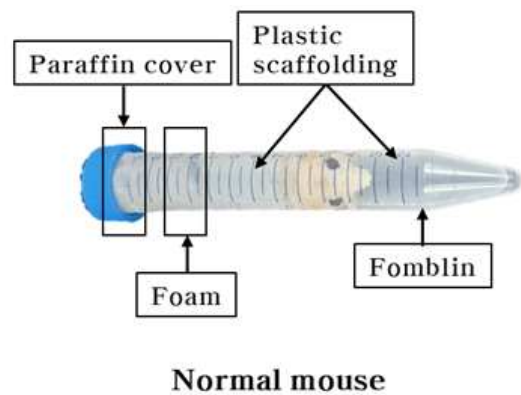


Fig. 1. C57BL/6J Ex-vivo Sample.

1.2 영상획득

본 연구에서 획득하는 구조적, 기능적 영상 데이터는 그라디언트 시스템(440mT/m)이 장착된, 9.4T 동물전용 스캐너(Bruker Biospin, Ettlingen, Germany)를 사용했다. RF 여기에는 선형 볼륨 레조네이터(Linear resonator 72mm; Bruker Biospin)가 사용되었고, 신호 수신을 위해 마우스 뇌 표면 4CH-RF코일(Mouse brain array coil; Bruker Biospin)이 적용되었다. 자기공명영상 데이터는 Paravision 6.0(PV6) 소프트웨어를 사용하여 수집되었다. 뇌 구조 분할에 사용되는 3D TurboRARE T2 파라미터는 Spin echo(SE) sequence, Repetition Time(TR) = 1800 ms, Echo Time(TE) = 33.6 ms, Flip Angle(FA) = 90°, Bandwidth =

100kHz, Field Of View(FOV) = 1.2 × 1.2 × 15.6 cm, Matrix size = 240 × 240 × 156, Resolution = 50 × 50 × 100 μm, 1 averages, Scan time(ST) = 1h 43m이었고, 신경연결 정보를 획득하는 확산텐서영상(DTI: diffusion tensor image) 2D EPI-Diffusion tensor 파라미터는 Spin echo(SE) sequence, Repetition Time(TR) = 3000 ms, Echo Time(TE) = 30 ms, Flip Angle(FA) = 90°, Bandwidth = 170kHz, B-value = 3003 s/mm², Diffusion gradient pulse duration(δ) = 4.5 ms, Diffusion gradient separation(Δ) = 10.6 ms, Diffusion direction = 30, Field Of View(FOV) = 1.8 × 1.8 cm, Slice Thickness = 0.2 mm, Matrix = 90 × 90, Slice = 40, Resolution = 200 x 200 x 200 μm이었고, 여기수 (NEX: Number of excitations)는 신호대잡음비(SNR: Signal to noise ratio) 비교를 위해 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64로 구분되어 획득되었다. 각각의 Scan time은 15m 45s, 31m 30s, 1h 3m, 2h 6m, 4h 12m, 8h 24m, 16h 48m 였다.

2. 영상 데이터 분석

연구에 사용된 분석 파이프라인은 높은 정확도의 구조분할 정보를 갖고 있는 알렌아틀라스를 기반으로 마우스의 전체 뇌 영역을 분할하고 시각화하기 위해 고해상도의 3D-T2WI를 획득하였고, ANTx(Atlas Normalization Toolbox using elastix, University Medicine Berlin, Germany)를 이용해 파일을 변환한 뒤, 영상 데이터 내에서 두개골을 제거하고 전체 뇌 마스크와 뇌 구조물 마스크를 획득했다. 구조적 영상을 이용해 전체 뇌 구조를 분할한 뒤, 확산에 따른 신경연결 정보를 획득하기 위해 DTI 데이터를 분석하였다.^[14] 먼저 데이터 전처리를 위해 MRtrix3(Brain Research Institute, Melbourne, Australia)를 사용하였고, FMRIB software library(FSL ver 5.0.1, Oxford, UK)를 통해 신경연결성을 분석하고 정량하였다. 전체 파이프라인은 Fig 2에 제시되었다.

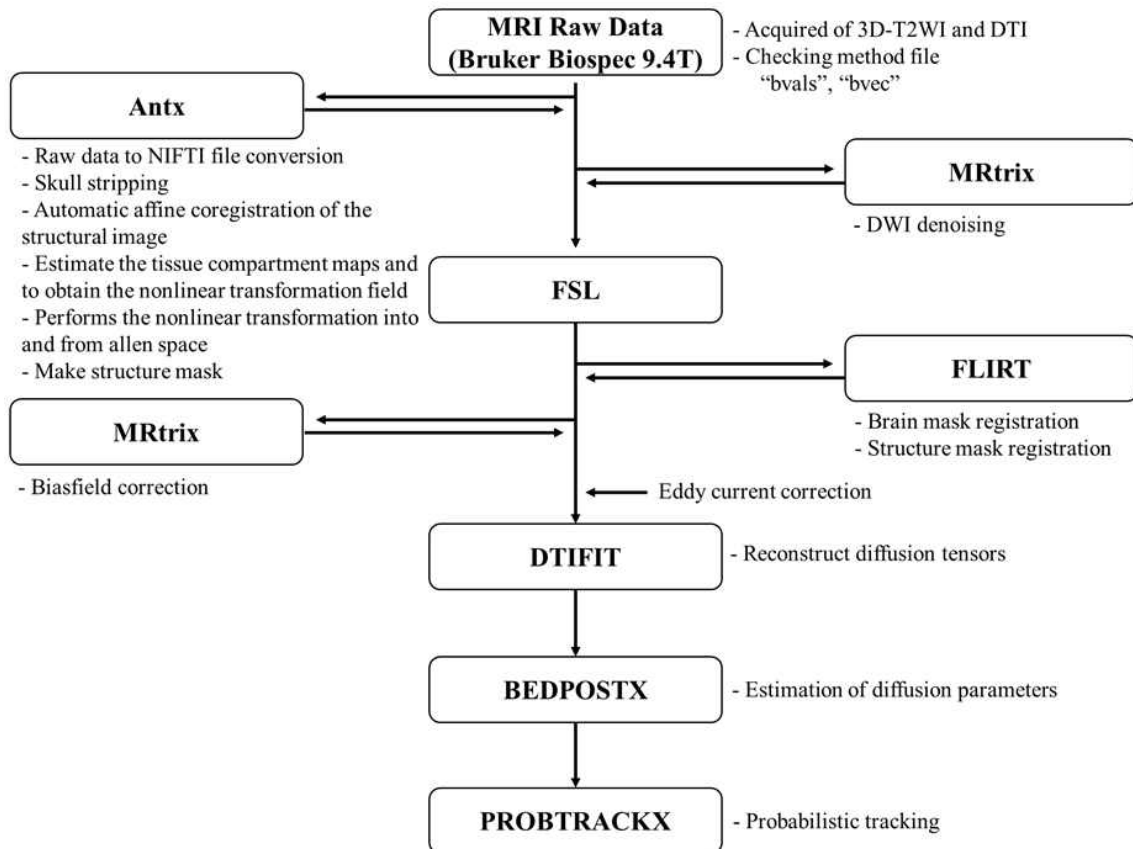


Fig. 2. Data processing pipeline.

IV. RESULT

1. 정상 마우스의 전체 뇌분할 분석

정상 마우스 분석은 C57BL/6J(8 week, n=1) 마우스를 사용하였으며, 마우스 분석 파이프라인을 적용하여 결과를 획득하였다. 마우스의 전체 뇌분할을 진행한 후 세부 구조물인 기초신경절 영역을 이용해 신경섬유지도 분석을 진행하였다. 또한, 각 세부 구조물 간의 연결성의 SNR 차이를 확인하기 위해 7가지의 NEX(1, 2, 4, 8, 16, 32, 64)를 갖은 확산텐서 영상(DTI)을 각각 추가로 획득하고 분석에 사용하였다.

1.1 전체 뇌분할 분석

ABA를 이용한 마우스 전체 뇌 구조물의 분할이 T2WI에서 수행되었으며, 아틀라스 영역의 명칭과 약어 정보는 “The Allen Reference Atlas”로부터 획득되었다.^[15] Fig 3는 분할 및 등록된 마우스의 전체 뇌 구조물 정보를 보여준다. 해부학적 주요 구조물인 등피질(Isocortex), 후각구역(OLF: Olfactory area), 해마체(HPF: Hippocampal formation), 외피하위판(CTXsp: Cortical subplate), 선조체(STR: Striatum), 담창구(PAL: Pallidum), 시상(TH: Thalamus), 시상하부(HY: Hypothalamus), 중간뇌(MB: Midbrain), 뇌교(P: Pons), 연수(MY: Medulla), 소뇌피질(CBX: Cerebellar cortex) 그리고 소뇌핵(CBN: Cerebellar

nuclei)을 기준으로 세부 구조물의 정확한 분할 정보를 정성적으로 검증하기 위해 T2WI 위에 분할된 구조물 정보가 시각화되었다. 모든 구조물의 분할 및 등록은 ABA를 기준으로 각 위치에 정확하게 등록된 것이 Fig 3과 같이 확인되었다.

1.2 마우스 기초신경절 분할 분석

ABA를 이용한 마우스 기초신경절 구조물의 분할이 마우스 T2WI에서 수행되었으며, 아틀라스 영역의 명칭과 약어 정보 및 색상 코드는 Table 1에 나타나 있다. 분할된 기초신경절은 Fig 4에 제시되어 있다. 또한, 해부학적 주요 구조물인 선조체(Striatum) 및 담창구(Pallidum)를 기준으로 세부 구조물의 정확한 분할 정보를 정성적으로 검증하기 위해 T2WI 위에 분할된 구조정보를 시각화했다. 해부학적 주요 구조물인 선조체(Striatum)와 담창구(Pallidum)를 분할하여 3D 렌더링을 시행해 Fig 5와 같이 시각화하였다. 선조체(Striatum)는 기저핵(CP), 중격의지핵(ACB), 선조체기저부(FS), 후결절(OT), 외측중격핵(LSc, LSr, LSv), 중격섬모핵(SF), 중격해마핵(SH), 중심편도체핵심(CEAc, CEAL, CEAm), 사이편도체핵(IA), 내편도체핵(MEA)으로 세분화되어 Fig 5-(a)에 표현되었으며, 담창구(Pallidum)는 외담창구(GPe), 내담창구(GPi), 무명질(SI), 대세포핵(MA), 내격막핵(MS), 대각선철근핵(NDB), 세포사이막핵(TRS), 분계선조침대핵(BST)으로 세분화되어 Fig 5-(b)에 표현되었다.

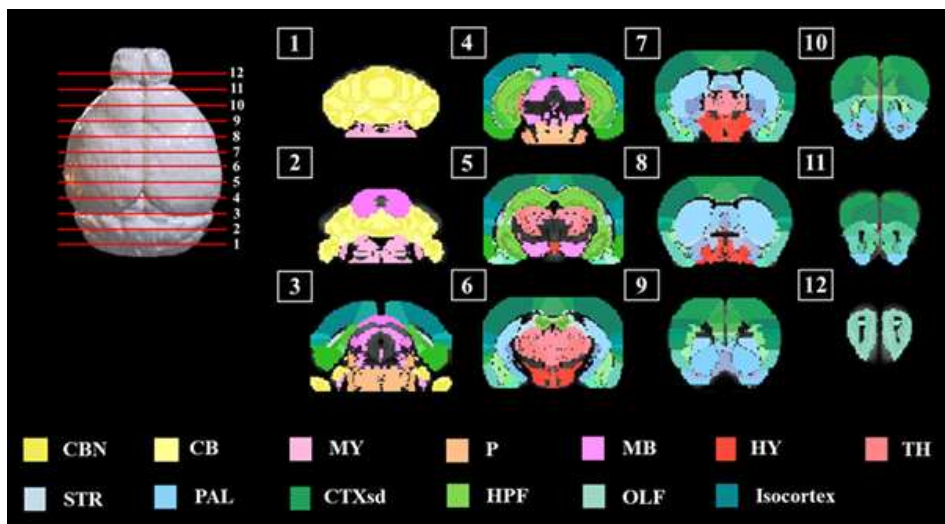


Fig. 3. Segmentation viewed in coronal mouse brain slices.

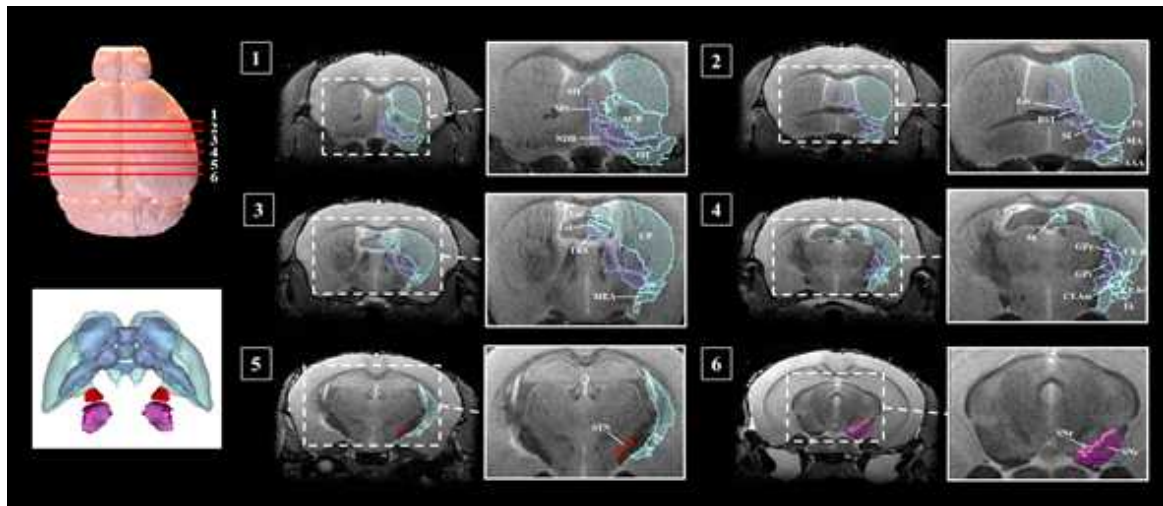


Fig. 4. Segmentation of the C57BL/6J mouse basal ganglia overlaid on top of T2 images.

Table 1. Mouse basal ganglia segmentation labels from Allen reference atlas

The Allen Reference Atlas			
Region	Structure Names	Abbreviations	Color Code
Cerebral nuclei		CNU	
Striatum		STR	
Striatum dorsal region		STRd	
Caudoputamen		CP	
Striatum ventral region		STRv	
Nucleus accumbens		ACB	
Fundus of striatum		FS	
Olfactory tubercle		OT	
Lateral septal complex		LSX	
Lateral septal nucleus		LS	
Lateral septal nucleus, caudal (caudodorsal) part		LSc	
Lateral septal nucleus, rostral (rostroventral) part		LSr	
Lateral septal nucleus, ventral part		LSv	
Septofimbrial nucleus		SF	
Septohippocampal nucleus		SH	
Striatum-like amygdalar nuclei		sAMY	
Anterior amygdalar area		AAA	
Bed nucleus of the accessory olfactory tract		BA	
Central amygdalar nucleus		CEA	
Central amygdalar nucleus, capsular part		CEAc	
Central amygdalar nucleus, lateral part		CEAl	
Central amygdalar nucleus, medial part		CEAm	
Intercalated amygdalar nucleus		IA	
Medial amygdalar nucleus		MEA	
Pallidum		PAL	
Pallidum, dorsal region		PALd	
Globus pallidus, external segment		Gpe	
Globus pallidus, internal segment		Gpi	
Pallidum, ventral region		PALv	
Substantia innominata		SI	
Magnocellular nucleus		MA	
Pallidum, medial region		PALm	
Medial septal complex		MSC	
Medial septal nucleus		MS	
Diagonal band nucleus		NDB	
Triangular nucleus of septum		TRS	
Pallidum, caudal region		PALc	
Bed nuclei of the stria terminalis		BST	
Bed nucleus of the anterior commissure		BAC	
Substantia nigra, compact part		SNe	
Substantia nigra, reticular part		SNr	
Subthalamic nucleus		STN	

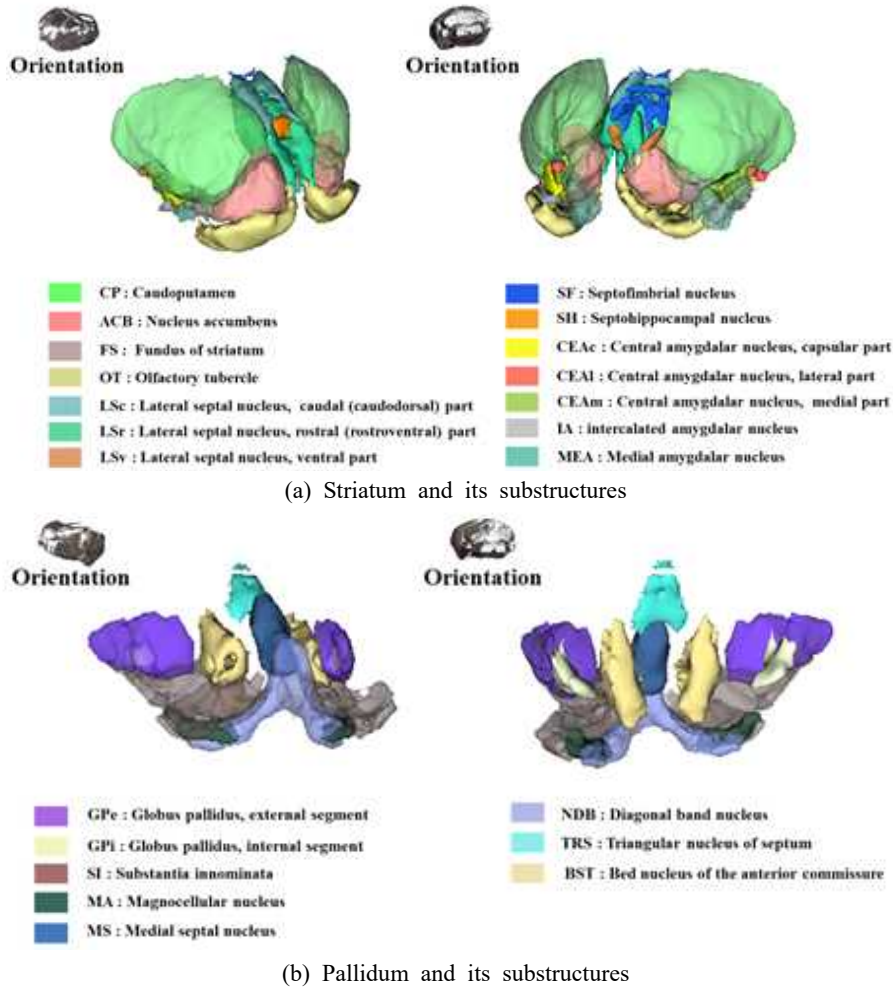


Fig. 5. 3D volume rendering image of C57BL/6J mouse basal ganglia.

1.3 분할된 구조물의 SNR에 따른 확산 텐서 분석 결과

정상 마우스 뇌의 기초신경질을 좌반구와 우반구로 더욱 세분화하여 총 52개의 구조 영역을 세분화하였으며, 각 구조물 간의 연결성을 확인하기 위해 확률론적 신경섬유지도 분석이 수행되었다. 또한, Fig 6과 같이 각 구조 사이에서 SNR에 따른 연결성을 비교하기 위해 각각 다른 7가지(1, 2, 4, 8, 16, 32, 64)의 NEX값을 갖는 확산강조영상을 획득 후 확률론적 신경섬유지도 분석을 통해 연결성 매트릭스로 표현되었다. 각 연결성은 비교를 위해 스케일 색상 맵으로 표현되었으며, 기초신경질에서 세분화된 52개의 해부학적 영역 사이에서 연결성이 추정되었다. 연결성 매트릭스의 시드(왼쪽 행)와

타겟(상단 행) 구조물 간의 연결성은 좌반구-좌반구, 좌반구-우반구, 우반구-좌반구, 우반구-우반구로 나누어져 있으며, 각 구조물 간의 반구별 연결성을 확인할 수 있었다. 또한, 각 시드와 타겟 구조물을 각 행 위에 3D 렌더링하여 표현하였다. 신경섬유지도 결과는 7개의 서로 다른 NEX를 갖은 모든 매트릭스에서 동일하게 같은 반구 사이의 연결성이 강하게 나타났으며, 반대되는 반구의 연결성은 약하거나 없는 것으로 나타났다. 또한, NEX의 증가에 따라 표현된 매트릭스에서 각 구조물 간의 연결성 강도는 NEX 1, NEX 2, NEX 4, NEX 8, NEX 16, NEX 32가 선형관계에 가깝게 증가하는 것으로 나타났다지만, NEX 64의 매트릭스 상에서 작은 신호를 나타내던 구조물간 연결 강도가 감소하거나 사라지는 것을 확인할 수 있었다.

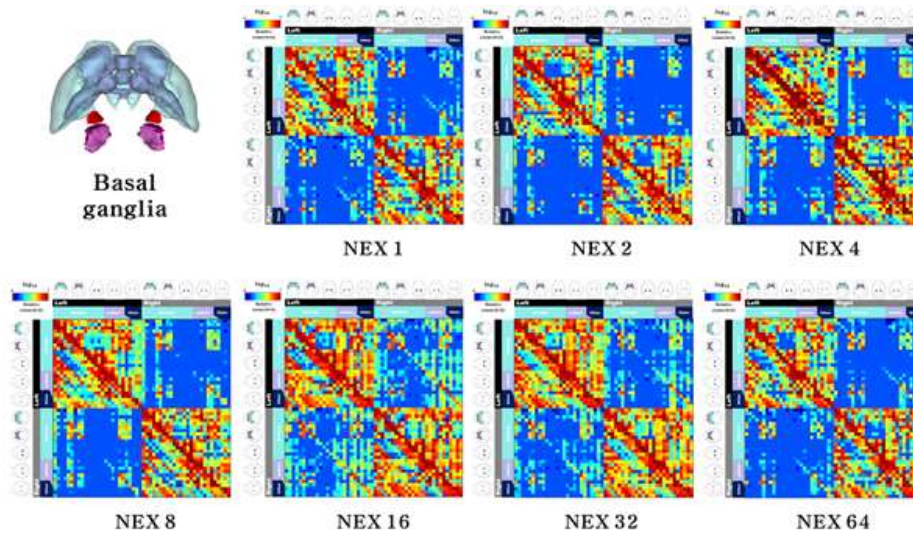


Fig. 6. Connectivity matrices were estimated between 52 anatomic regions with varying on a log 10 scale color map. The tractography seeds(top row) and targets (left column) are displayed as volume renderings.

IV. DISCUSSION AND CONCLUSIONS

이 연구는 자기공명영상장치를 이용하여 비 침습적인 방법으로 마우스의 뇌 영상을 획득하고, 영상 데이터를 사용한 정확한 분할 분석과 신경섬유 지도 분석을 위해 Allen Brain atlas를 대입한 분석 파이프라인이 제시되었습니다.

연구에 이용된 마우스는 Fig 1에서 확인 할 수 있듯이 표본화 되어 자기공명영상장치에서 스캔되었다. 자기공명영상장치를 이용한 마우스 뇌 영상 분석연구는 신경해부학적 연구에서 점점 더 필요성이 증가하고 있으며, 신경 병리학적 질병 모델 등에서 연구하는데 적합한 것으로 알려져 있다.^[16] 신경해부학적 이상을 연구하는 것 외에도 마우스와 인간의 결과를 비교할 수 있으며, 마우스 연구의 결과는 임상적으로 이용이 가능하다.^[17] 하지만 마우스의 뇌는 인간의 뇌에 비해 상당히 작기 때문에 인간의 뇌 영상과 동등한 질을 달성하려면, 영상의 높은 해상도를 달성해야 한다. 높은 해상도를 달성하기 위해서 증가된 전계강도 사용이나 맞춤형 RF 코일의 사용 및 조영제 사용 그리고 충분히 긴 스캔 시간을 통해 달성이 가능하다.^[15] 특히 스

캔 시간의 증가는 생체 내(In-vivo) 실험에서 제약이 되는 부분으로, 생체 외(Ex-vivo) 실험으로 진행할 시 충분히 긴 시간을 스캔할 수 있어 고해상도의 영상을 획득할 수 있게 된다. 또한, 마우스 뇌의 표본화 과정에서 가돌리늄 기반 조영제인 Magnevist®를 사용하여 회백질 영역과 백질 영역 사이의 대비를 향상시킬 수 있어 분석에 용이함이 증가한다.^[18] Magnevist®는 상자성 조영제이며, 뇌 조직에서 Magnevist®는 물이 존재하는 곳에서 가장 많이 발견된다.^[19] 따라서 T2효과를 더 증가시킬 수 있어 섬유소와 같이 수분 함량이 낮은 구조물에 비해 밀도가 큰 뉴런과 수분 함량이 높은 구조물의 신호강도 또한 증가해 명확한 대비를 갖은 영상을 얻을 수 있게 된다.^[10]

다양한 프로그램들의 기능과 Allen Mouse Brain atlas를 이용해 해부학적 영역을 보다 정확하게 반자동으로 분할 분석을 할 수 있는 파이프라인을 Fig. 2와 같이 설계하였다. 획득된 모든 영상 데이터는 ANTx를 통해 Allen 공간의 데이터로 엄격하게 등록됨으로써 아틀라스의 관상면에 평행성을 보장하였다.^[20] 또한 파이프라인이 적용된 후 획득된 결과물은 T2WI에 오버레이 되어 다시 한번 정

성적으로 평가되었다. 하지만, 분할된 영역들의 데이터 세트 간 등록을 직접적으로 확인할 수 없어, 등록된 영역들의 부피 변화를 실제 마우스의 뇌 구조영역과 비교하기 어렵다. 결과적으로 직접적인 정확성을 확인하기 위해서는 등록방법에 대한 신중한 평가가 필요하게 된다. 그러나 적어도 이 분석에서 분할된 구조물에 대해 우리는 Allen Mouse Brain atlas의 정보를 토대로 엄격한 등록을 진행함으로써 각 뇌 구조 영역의 위치정보 등이 정확하게 등록되었음을 Fig. 3를 통해 확인하였다.

마우스의 뇌 구조를 Fig. 4와 같이 분할 한 뒤, 확산텐서영상을 이용해 신경섬유지도 분석이 진행되었다. 확산텐서영상의 유용한 데이터 사용을 위해 적절한 획득 시간과 SNR을 확인해야 하기 때문에 주요 매개변수인 NEX별 확산텐서영상 데이터를 획득하고, 신경섬유지도 분석을 통해 신호강도 영향을 평가하였다. 확산텐서영상의 NEX는 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 로 획득되었는데, 획득된 영상은 파이프라인을 적용해 구조물간 연결성 결과를 얻어 Fig 6과 같이 매트릭스 행렬로 나타내었다. 구조물 간의 연결 강도는 NEX의 증가에 따라 점점 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, NEX 1에서 NEX 32 까지의 영상 데이터 분석 결과는 SNR의 증가와 선형 관계를 보였다. 이것은 NEX의 증가에 따른 SNR의 전반적인 증가와 섬유 추적 분석 결과가 향상된다는 이전 연구결과와 일치한다. 하지만 NEX 64로 획득한 영상 데이터 분석 결과에서는 SNR이 전반적으로 증가하지 않아 구조물 간 섬유 연결강도가 부분적으로 작아지는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 NEX의 증가에 따라 잡음비율이 낮아지지만, 매우 높은 NEX는 수집되는 신호가 감소하여 SNR이 크게 증가하지 않는다는 이전 연구결과와 일치한다.^[21] 파킨슨 질병 마우스에서 중요하게 관찰되는 구조물은 기초신경절로 세부적으로 나누게 되면 외담창구(GPe), 내담창구(GPi), 흑질(SNr, SNc), 시상밀핵(STN)등이 주요 구조물로 알려져 있다. 반자동으로 수행이 가능한 파이프라인을 적용해 기초신경절이 성공적으로 분할되었다. 또한, 분할된 구조영역과 획득된 확산텐서영상을 이용해 신경섬유지도 분석이 수행되었다. 병리학적 측면에서 SN의 도파민성 뉴런이 점진적인 손실이 생겨 선조체와

같은 기초신경절 구조에서 세포외 도파민 수준을 현저하게 감소시키는데, 도파민 수준이 낮아지면 GPi, SNr, STN의 신경 분비 빈도가 증가하고 GPe의 빈도가 감소하여 시상 핵의 운동을 억제 시키게 된다.^[22] 이러한 병리학 기전에 근거하여 파킨슨 질병에 관련된 구조영역의 연결성을 시각화하는 것은 뇌의 복잡한 연결성을 확인함으로써 질병의 기전을 이해하고 임상에 적용하는데 도움이 될 수 있다.^[23-25]

본 연구에 사용된 NEX별 데이터 획득에는 총 40시간이 필요했으며, 데이터 반자동의 분석 파이프라인의 수행에는 FSL의 GPU기능을 사용해 하나의 데이터당 전체 뇌 분석은 약 12일이 걸렸고, 기초신경절 분석은 약 1일의 시간이 필요했다.

인간의 건강과 질병에서 뇌 구조의 연결 역할을 계속 탐색함에 따라 마우스 모델의 분석 및 이해 역시 중요성이 증가하게 될 것이다. 특히 신경섬유지도를 이용한 연구는 주로 인간 두뇌의 커넥톰(Connectome) 매핑에 중점을 두지만, 연구는 다양한 전 임상 시험의 효과를 기록하기 위해 동물의 신경섬유지도를 통합했다. 그러나 마우스의 뇌 연결성에 관한 포괄적인 연구의 부족과 마우스 신경네트워크에 관한 합의에 대한 어려움이 있다.^[26] 동물 모델의 적절한 커넥톰 매핑을 위해서는 관심 영역을 정확히 분할해야 하지만 동물 모델의 아틀라스기반 신경 정보학에 대한 관심이 적고 업데이트가 느리기 때문에 어려움이 있다.^[1] 마우스 커넥톰 매핑에 대한 참조를 제공하기 위해 이 연구에서는 Allen Mouse Brain Atlas를 기반으로 ANTx를 사용해 정확도 높은 분할 분석을 하고, MRtrix 및 FSL의 기능을 이용하여 마우스 뇌의 반자동 분할 및 신경섬유지도 분석 파이프라인을 제공한다. 또한, 이 연구의 결과는 파킨슨병 모델을 이용한 추가 연구를 위한 참조 데이터베이스 역할을 할 수 있다.

Acknowledgement

This research was supported by Brain Research Program (NRF-2017M3C7A1044367) through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science and ICT. This work was

supported by the Gachon University research fund of 2019.(GCU-2019-0305)

Reference

- [1] N. Pallast, M. Diedenhofen, S. Blaschke, F. Wieters, D. Wiedermann, M. Hoehn, G. R. Fink & M. Aswendt, "Processing pipeline for Atlas-based Imaging Data Analysis of structural and functional mouse brain MRI (AIDAmri)," *Frontiers in neuroinformatics* Vol. 13, pp. 42, 2019. <https://doi.org/10.3389/fninf.2019.00042>
- [2] C. E. Sexton, J. F. Betts, N. Demnitz, H. Dawes, K. P. Ebmeier & H. Johansen-Berg, "A systematic review of MRI studies examining the relationship between physical fitness and activity and the white matter of the ageing brain," *Neuroimage* Vol. 131, pp. 81-90, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.09.071>
- [3] R. Mehta, "Population specific template construction and brain structure segmentation using deep learning methods," (Doctoral dissertation, International Institute of Information Technology Hyderabad) 2017. <https://www.semanticscholar.org/paper/Population-specific-template-construction-and-brain-Sivaswamy/9f8b28abbe042120206af54cd9e3816e43a4ed26>
- [4] B. R. Plantinga, Y. Temel, Y. Duchin, K. Uludağ, R. Patriat, A. Roebroek, M. Kuijf, A. Jahanshahi, B. T.H. Romenij, J. Vitek, N. Harel, "Individualized parcellation of the subthalamic nucleus in patients with Parkinson's disease with 7T MRI," *Neuroimage*, Vol. 168, pp. 403-411, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.09.023>
- [5] K. K. Leung, K. K. Shen, J. Barnes, G. R. Ridgway, M. J. Clarkson, J. Fripp, O. Salvado, F. Meriaudeau, N. C. Fox, P. Bourgeat, S. Ourselin, "Increasing power to predict mild cognitive impairment conversion to Alzheimer's disease using hippocampal atrophy rate and statistical shape models," In *International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 125-132, 2010. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-15745-5_16
- [6] M. J. Cardoso, K. Leung, M. Modat, S. Keihaninejad, D. Cash, J. Barnes, N. C. Fox, S. Ourselin, "Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, "STEPS: Similarity and Truth Estimation for Propagated Segmentations and its application to hippocampal segmentation and brain parcellation," *Medical image analysis*, Vol. 17, No. 6, pp. 671-684, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.media.2013.02.006>
- [7] D. Ma, M. J. Cardoso, M. Modat, N. Powell, J. Wells, H. Holmes, F. Wiseman, V. Tybulewicz, E. Fisher, M. F. Lythgoe, S. Ourselin, "Automatic structural parcellation of mouse brain MRI using multi-atlas label fusion," *PloS one*, Vol. 9, No. 1, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086576>
- [8] A. E. Dorr, J. P. Lerch, S. Spring, N. Kabani, R. M. Henkelman, "High resolution three-dimensional brain atlas using an average magnetic resonance image of 40 adult C57Bl/6J mice," *Neuroimage*, Vol. 42, No. 1, pp. 60-69, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.03.037>
- [9] J. F. Ullmann, C. Watson, A. L. Janke, N. D. Kurniawan, D. C. Reutens, "A segmentation protocol and MRI atlas of the C57BL/6J mouse neocortex," *Neuroimage*, Vol. 78, pp. 196-203, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.04.008>
- [10] L. Milosevic, R. Gramer, T. H. Kim, M. Algarni, A. Fasano, S. K. Kalia, M. Hodaie, A. M. Lozano, M. R. Popovic, W. D. Hutchison, "Modulation of inhibitory plasticity in basal ganglia output nuclei of patients with Parkinson's disease," *Neurobiology of disease*, Vol. 124, pp.46-56, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2018.10.020>
- [11] J. F. Ullmann, C. Watson, A. L. Janke, N. D. Kurniawan, G. Paxinos, D. C. Reutens, "An MRI atlas of the mouse basal ganglia," *Brain Structure and Function*, Vol. 219, No. 4, pp. 1343-1353, 2014. <http://dx.doi.org/10.1007/s00429-013-0572-0>
- [12] D. A. Gutman, O. P. Keifer Jr, M. E. Magnuson, D. C. Choi, W. Majeed, S. Keilholz, K. J. Ressler, "A DTI tractography analysis of infralimbic and prelimbic connectivity in the mouse using high-throughput MRI," *Neuroimage*, Vol. 63, No. 2, pp. 800-811, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.07.014>
- [13] E. Calabrese, A. Badea, G. Cofer, Y. Qi, G. A. Johnson, "A diffusion MRI tractography connectome of the mouse brain and comparison with neuronal tracer data," *Cerebral cortex*, Vol. 25, No. 11, pp.

- 4628-4637, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bhv121>
- [14] S. Koch, S. Mueller, M. Foddis, T. Bienert, D. von Elverfeldt, F. Knab, T. D. Farr, R. Bernard, M. Dopatka, A. Rex, U. Dirnagl, C. Harms, P. Boegm-Sturm, "Atlas registration for edema-corrected MRI lesion volume in mouse stroke models," *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, Vol. 39, No. 2, pp. 313-323, 2019.
<http://dx.doi.org/10.1177/0271678X17726635>
- [15] Dan Goldowitz, "Allen Reference Atlas. A Digital Color Brain Atlas of the C57BL/6J Male Mouse - by H. W. Dong," Vol. 9, No. 1, pp. 128, *Genes, Brain and Behavior*, 2010.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2009.00552.x>
- [16] J. West, J. M. Fitzpatrick, M. Y. Wang, B. M. Dawant, C. R. Maurer Jr, R. M. Kessler, R. J. Maciunas, C. Barillot, D. Lemoine, A. Collignon, F. Maes, P. Suetens, D. Vandermeulen, P. A. van den Elsen, S. Napel, T. S. Sumanaweera, B. Harkness, P. F. Hemler, D. L. G. Hill, D. J. Hawkes, C. Studholme, J. B. A. Maintz, M. A. Viergever, G. Malandain, X. Pennec, M. E. Noz, G. Q. Maguire Jr, M. Pollack, C. A. Pelizzari, R. A. Robb, D. Hanson, R. P. Woods, "Comparison and evaluation of retrospective intermodality brain image registration techniques," *Journal of computer assisted tomography*, Vol. 21, No. 4, pp. 554-568, 1997.
<http://dx.doi.org/10.1097/00004728-199707000-00007>
- [17] M. Jenkinson, S. Smith, "A global optimisation method for robust affine registration of brain images," *Medical image analysis*, Vol. 5, No. 2, pp. 143-156, 2001.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1361-8415\(01\)00036-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1361-8415(01)00036-6)
- [18] L. Hammelrath, S. Škokić, A. Khmelinskii, A. Hess, N. van der Knaap, M. Staring, B. P. F. Lelieveldt, D. Wiedermann, M. Hoehn "Morphological maturation of the mouse brain: An in vivo MRI and histology investigation," *Neuroimage*, Vol. 125, pp. 144-152, 2016.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.10.009>
- [19] B. J. Nieman, E. de Guzman, L. M. Gazdzinski, J. P. Lerch, M. M. Chakravarty, J. Pipitone, D. Strother, C. Fryer, E. Bouffet, S. Laughlin, N. Laperriere, L. Riggs, J. Skocic, D. J. Mabbott, "White and gray matter abnormalities after cranial radiation in children and mice," *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, Vol. 93, No. 4, pp. 882-891, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijrobp.2015.07.2293>
- [20] A. E. de Guzman, M. D. Wong, J. A. Gleave, B. J. Nieman, "Variations in post-perfusion immersion fixation and storage alter MRI measurements of mouse brain morphometry," *Neuroimage*, Vol. 142, pp. 687-695, 2016.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.06.028>
- [21] J. F. Ullmann, G. Cowin, N. D. Kurniawan, S. P. Collin, "Magnetic resonance histology of the adult zebrafish brain: optimization of fixation and gadolinium contrast enhancement," *NMR in Biomedicine: An International Journal Devoted to the Development and Application of Magnetic Resonance In vivo*, Vol. 23, No. 4, pp. 341-346, 2010. <http://dx.doi.org/10.1002/nbm.1465>
- [22] S. Soman, S. J. Holdsworth, S. Skare, J. B. Andre, A. T. Van, M. Aksoy, R. Bammer, J. Rosenberg, P. D. Barnes, K. W. Yeom, "Effect of number of acquisitions in diffusion tensor imaging of the pediatric brain: optimizing scan time and diagnostic experience," *Journal of Neuroimaging*, Vol. 25, No. 2, pp. 296-302, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1111/jon.12093>
- [23] D. Caligiore, R. C. Helmich, M. Hallett, A. A. Moustafa, L. Timmermann, I. Toni, G. Baldassarre, "Parkinson's disease as a system-level disorder," *npj Parkinson's Disease*, Vol. 2, No. 1, pp. 1-9, 2016.
<http://dx.doi.org/10.1038/npjparkd.2016.25>
- [24] A. Nassery, C. A. Palmese, H. Sarva, M. Groves, J. Miravite, B. H. Kopell, "Psychiatric and cognitive effects of deep brain stimulation for parkinson's disease," *Current neurology and neuroscience reports*, Vol. 16, No. 10, pp. 87, 2016.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11910-016-0690-1>
- [25] C. Rodriguez-Sabate, I. Morales, J. N. Lorenzo, M. Rodriguez, "The organization of the basal ganglia functional connectivity network is non-linear in Parkinson's disease," *NeuroImage: Clinical*, Vol. 22, pp. 101708, 2019.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.nicl.2019.101708>
- [26] T. Y. Lim, R. J. Kudchadker, J. Wang, R. J. Stafford, C. MacLellan, A. Rao, G. S. Ibbott, S. J.

Frank, "Effect of pulse sequence parameter selection on signal strength in positive-contrast MRI markers for MRI-based prostate postimplant assessment," *Medical physics*, Vol. 43, No. 7, pp. 4312-4322, 2016. <http://dx.doi.org/10.1118/1.4953635>

알렌 마우스 브레인 아틀라스를 이용한 반자동 신경섬유지도 분석 : 여기수와 신호대잡음비간의 DTI 획득 비교

임상진,¹ 백현만^{1,2,*}

¹가천대학교 가천융합의과학원 융합의과학과

²가천대학교 이길여암당뇨연구원 분자의학과

요약

자기공명영상(Magnetic Resonance Image)을 이용한 구조적 연구 방법에서 뇌 구조 세분화 방법은 최근 빠르게 발전하여 구조 이미지의 자동 분할을 위한 유능한 방법론이 되었다. 특히 아틀라스 정보를 이미지에 등록해 피사체의 이미지로 전달하는 분할(Segmentation) 방법은 아틀라스(Atlas)의 정확도에 편향되기 때문에 높은 정확도를 갖고 있는 아틀라스가 필요하게 된다. 알렌 마우스 뇌 아틀라스(Allen Mouse Brain Atlas)는 마우스의 아틀라스 중에서 높은 정확도를 갖고 있어 다양한 분야에서 사용되고 있으며, 신경섬유지도(Tractography)에 필수적인 마우스 뇌구조의 정확한 좌표와 분할 정보를 제공할 수 있다. 또한 기능적 연구 방법인 뇌의 백질 경로를 재구성하는 확산텐서영상(Diffusion Tensor Image)에 대한 확률론적 신경섬유지도를 사용하여 포괄적인 뉴런 네트워크를 매핑 하였다. 인간의 뇌 연구 결과와 마우스의 뇌 연구 결과는 비교분석 할 수 있어 인간에게 적용하기 어려운 실험들을 질환이 모델링된 마우스를 통해 결과를 얻어 임상적으로 이용이 가능하기 때문에 마우스 실험의 중요성이 올라가고 있다. 하지만 마우스를 이용한 연구에서 인간과 마우스의 뇌 크기 차이로 인한 문제가 있어 동등한 영상의 질을 달성하려면 다양한 조건이 필요하게 되며, 그중 대표적으로 충분히 긴 스캔시간이 필요하게 된다. 충분히 긴 스캔시간을 확보하기 위해 본 연구에서는 마우스의 뇌를 샘플화시켜 Ex-vivo 실험이 진행되었으며, 마우스 커넥톰(Connectome) 매핑에 대한 참조를 제공하기 위해 이 연구는 아틀라스 정규화 도구인 ANTx와 확산 텐서 영상을 분석할 도구인 FSL을 사용하여 마우스 뇌의 반자동 분할 및 신경섬유지도 분석 파이프라인을 제시하여 다양한 마우스 모델에 적용하고자 했다. 또한, 신경섬유지도 분석을 위해 획득하는 확산텐서영상의 유용한 신호대 잡음비를 결정하기 위해 다양한 여기수의 영상을 획득해 비교분석하였다.

중심단어 : 자기공명영상, 분할, 아틀라스, 신경섬유지도, 커넥톰, 확산 텐서 영상

연구자 정보 이력

	성명	소속	직위
(제1저자)	임상진	가천대학교 가천융합의과학원 융합의과학과	대학원생
(교신저자)	백현만	가천대학교 이길여암당뇨연구원 분자의학과	교수