

다중 분자 영상을 위한 간편한 동물 특이적 자세 고정틀의 제작

경북대학교 의과대학 분자의학교실¹, 의공학과², 방사선종양학교실³, 한국원자력의학원 방사선의학연구소 분자영상연구부⁴, 경북대학교 의과대학 영상의학과⁵, 핵의학교실⁶
박정찬¹ · 오지은¹ · 우승태² · 곽원정¹ · 이정은³ · 김경민⁴ · 안광일⁴ · 최태현⁴ · 천기정⁴
장용민^{1,5} · 이상우⁶ · 안병철⁶ · 이재태⁶ · 유정수^{1,6}

Facile Fabrication of Animal-Specific Positioning Molds For Multi-modality Molecular Imaging

Jeong Chan Park, M.S.¹, Jieun Oh, B.S.¹, Seungtae Woo, M.S.², Wonjung Kwak, M.S.¹,
Jeong Eun Lee, M.D.³, Kyeong Min Kim, Ph.D.⁴, Gwang Il An, Ph.D.⁴, Tae Hyun Choi, Ph.D.⁴,
Gi Jeong Cheon, M.D.⁴, Youngmin Chang, Ph.D.^{1,5}, Sang Woo Lee, M.D.⁶, Byeong-Cheol Ahn, M.D.⁶,
Jaetae Lee, M.D.⁶, and Jeongsoo Yoo, Ph.D.^{1,6}

¹Department of Molecular Medicine, Kyungpook National University School of Medicine, Daegu, Korea;

²Department of Biomedical engineering, Kyungpook National University, Daegu, Korea;

³Department of Radiation Oncology, Kyungpook National University School of Medicine, Daegu, Korea;

⁴Molecular Imaging Research Center, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, Seoul, Korea;

⁵Department of Diagnostic Radiology, Kyungpook National University School of Medicine, Daegu, Korea;

⁶Department of Nuclear Medicine, Kyungpook National University School of Medicine, Daegu, Korea

Purpose: Recently multi-modal imaging system has become widely adopted in molecular imaging. We tried to fabricate animal-specific positioning molds for PET/MR fusion imaging using easily available molding clay and rapid foam. The animal-specific positioning molds provide immobilization and reproducible positioning of small animal. Herein, we have compared fiber-based molding clay with rapid foam in fabricating the molds of experimental animal. **Materials and Methods:** The round bottomed-acrylic frame, which fitted into microPET gantry, was prepared at first. The experimental mice was anesthetized and placed on the mold for positioning. Rapid foam and fiber-based clay were used to fabricate the mold. In case of both rapid foam and the clay, the experimental animal needs to be pushed down smoothly into the mold for positioning. However, after the mouse was removed, the fabricated clay needed to be dried completely at 60°C in oven overnight for hardening. Four sealed pipet tips containing [¹⁸F]FDG solution were used as fiduciary markers. After injection of [¹⁸F]FDG via tail vein, microPET scanning was performed. Successively, MRI scanning was followed in the same animal. **Results:** Animal-specific positioning molds were fabricated using rapid foam and fiber-based molding clay for multimodality imaging. Functional and anatomical images were obtained with microPET and MRI, respectively. The fused PET/MR images were obtained using freely available AMIDE program. **Conclusion:** Animal-specific molds were successfully prepared using easily available rapid foam, molding clay and disposable pipet tips. Thanks to animal-specific molds, fusion images of PET and MR were co-registered with negligible misalignment. (Nucl Med Mol Imaging 2008;42(5):401-409)

Key Words: multi-modality, PET, MRI, animal-specific positioning mold, fiduciary markers, fusion image, AMIDE

• Received: 2008. 7. 11. • Accepted: 2008. 9. 10.

• Address for reprints: Jeongsoo Yoo, Ph.D., Department of Molecular Medicine and Nuclear Medicine, Kyungpook National University School of Medicine, 101, Dongin-Dong 2-ga, Jung-gu, Daegu 700-422, Korea
Tel: 82-53-420-4947, Fax: 82-53-426-4944
E-mail: yooj@knu.ac.kr

※ 이 연구는 2005년도 경북대학교병원 생명의학연구소 연구비, 2008년도 정부의 재원으로, 한국과학재단의 지원(M2080600010808M060010810) 과 2008년도 두뇌한국 21 사업의 지원으로 이루어 졌음.

서 론

분자 영상 분야에서 다중 영상 장비를 이용한 연구는 최근 들어, 급속도로 증가하고 있다. 두 가지 또는 세 가지의 영상 장비를 이용한 영상 획득은 한 가지만을 이용할 때에 비하여 서로의 단점들을 상호 보완해 주므로, 보다 정확한 진단 및 예후 예측 등에 많은 도움을 주고 있다.¹⁾ 현재 많

이 사용되고 있는 PET/CT는 높은 민감도를 가지고 있으며, 기능적 영상이 가능한 PET과 뛰어난 해부학적 정보를 제공해 주는 CT를 합친 것으로, 임상에서 환자의 질병 진단 및 치료 효과에 대한 예후 예측에 많은 도움을 주고 있다.^{2,3)} 그리고 최근 들어, 자기공명(MR)/광학⁴⁻¹¹⁾과 PET/광학^{12,13)} 등 서로 다른 영상 장비들을 조합하여 영상을 얻으려는 시도들이 보고 되고 있다. 해부학적 영상을 제공하는 MRI와 높은 민감도를 가지며 실시간 모니터링을 가능케 해주는 형광 장비의 조합은 이상적이며, 유용한 다중 영상 방식 중 하나라고 할 수 있다. 그러나 형광 영상의 경우 깊이에 따른 감쇄가 크므로 표면적인 영상을 얻는 목적으로 많이 사용되고, 깊숙한 부위에 위치한 장기나 기관의 영상을 얻기 위해서는 침습적인 방법을 사용해야 하는 단점을 가지고 있다. 핵의학 장비인 PET과 형광 영상의 결합은 형광 신호의 투과 한계에 대한 보완책을 제시해 주었으며, 타겟 기관의 정량적 분석을 가능하게 하지만, 세밀한 해부학적인 영상은 얻을 수 없다. 이런 일련의 과정 가운데, 많은 연구 그룹에서 PET과 MRI가 조합된 일체형 PET/MRI 스캐너 개발을 모색 중에 있다.¹⁴⁻¹⁷⁾ PET과 MR 영상을 동시에 얻을 수 있는 일체형 스캐너를 이용하여 암 동물 모델을 대상으로 한 체내 영상 연구가 최근 보고되기도 하였다.¹⁸⁾ 또한 최근 들어 PET과 MRI 모두에서 조영 효과를 보여주는 탐침자에 대한 연구도 보고되었다.¹⁹⁾ Nahrendorf 등¹⁹⁾은 산화철로 이루어진 코어 입자에 ⁶⁴Cu-DTPA를 킨주게이션 하여, 산화철로부터 MR 신호를 얻고, ⁶⁴Cu로부터 PET 영상을 획득하였다. MRI는 민감도 면에서는 핵의학 영상에 비해 떨어지나 높은 해상도를 자랑하며, CT에 비해 연조직에 대한 조영 효과도 우수하고, 방사능에 노출될 필요가 없는 장점을 가지고 있다. PET/MRI 조합은 비침습적이며, 3차원의 영상을 얻을 수 있는 이상적인 다중 영상 방식이라고 할 수 있다. 그러나 아직 일체형 PET/MRI 스캐너는 작은 실험동물의 영상을 얻을 수 있는 소동물 전용 스캐너가 겨우 연구 수준에서 개발된 상황이고 임상에 사용할 수 있는 PET/MRI 퓨전 스캐너의 개발까지는 몇 년이 더 소요되리라 예상된다. 그러므로 아직까지 현실적으로 소동물 양전자방출단층영상(microPET)과 MR의 융합된 영상을 얻기 위한 연구는 microPET과 MRI에 대한 각각의 영상을 얻은 후, 이를 퓨전시키는 과정을 거쳐야만 한다. 하지만 이를 위해서는 동물의 자세 고정틀을 제작이 필수적이다. 동물 특이적인 자세 고정틀을 제작함으로써 동물의 자세를 고정시키고 재현성 있는 동물 자세를 연출할 수 있다.²⁰⁾ 또한 동일한 실험 동물을 대상으로 순차적으로 영상을 얻음으로써,

실험에 필요한 동물 수를 줄일 수 있고, 반복실험을 통해 동물 개체 마다 다른 생물학적 다양성으로 인해 나타날 수 있는 실험적 오차를 최소화 할 수 있다. 그러나 동물의 자세가 각각의 영상 마다 다르거나, 영상들이 정확하게 포개지지 않는다면 의미 있는 정보를 얻기가 매우 어렵거나 불가능한 경우도 있을 수 있다. 이런 단점들을 극복하고 정확한 영상 퓨전을 위해 기준 마커의 필요성이 대두되었고, 3차원 영상(transverse, coronal 과 sagittal view)에서 나타나는 기준 마커를 중심으로 PET과 MR 영상들이 포개지도록 배열하는 방안이 제안되기도 하였다.²⁰⁾ 이 때 기준 마커를 암 모델의 암 부위에 삽입하기도 하는데, 이는 추가적인 실험 동물의 조작이나, 외과적 수술 등 번거로운 작업을 수반하여야만 하는 단점이 있다.²¹⁾ 그리하여 실험 동물 대부가 아닌 외부에 기준 마커를 표시하여 영상 융합을 시도한 새로운 시도가 보고 되었다.^{22,23)} 그러나 Rowland 등²³⁾이 보고한 것과 같이 자세 고정틀의 제작 없이 좁은 베드에 실험 동물을 가지런히 올려 놓고 실험 하는 방법은 앞과 뒷다리를 펼쳐 영상을 얻어야 하는 실험에서는 부적합하다.

본 연구에서는, 다중 분자 영상 융합에 쓰이는 기준 마커를 실험실에서 손쉽게 제작하고자 하였고, 이 마커를 제작된 자세 고정틀에 고정하고 이를 기준으로 영상의 융합을 시도하였다. 또한 일반적으로 임상이나 동물 실험에서 고정틀을 제작할 때 이용되는 순간 고정제와 시중에서 값싸고 쉽게 구할 수 있는 점토를 가지고 동물 특이적 틀을 제작하였으며 틀 제작과정에서 서로 다른 두 재료를 사용할 경우의 장단점을 비교, 분석하였다.

재료 및 방법

1. 기기 및 재료

위치 고정틀 제작을 위하여 점토(천사점토™ (주)도너랜드, 한국)와 순간 고정제(RT Cradle™, (주)아로엠, 한국)를 이용하였으며, 실험 동물로는 90-350 g의 생후 4-12 주령의 흰쥐(Sprague-Dawley rat) 또는 19-23 g의 생후 6-8 주령의 BALB/c 생쥐를 사용하였으며 모두 동일한 회사((주)효창 사이언스, 한국)에서 구입하였다. 양전자방출단층촬영 장치(R4 Rodent Model, Concorde Microsystems Inc, 미국)와 자기공명영상 장치(Signa EXCITE, GE Healthcare, 미국)를 이용하여 스캔을 실시하였다. 사이클로트론(KIRAMS-13, 한국원자력의학원, 한국)을 이용하여 ¹⁸F 이온을 생산하였고, [¹⁸F]FDG (2-[¹⁸F]Fluoro-2-Deoxy-D-Glucose) 자동합성장치(한국원자력의학원, 한국)를 이용하여 [¹⁸F]FDG를 합성하였다.¹²⁴⁾ 용액은 원자력

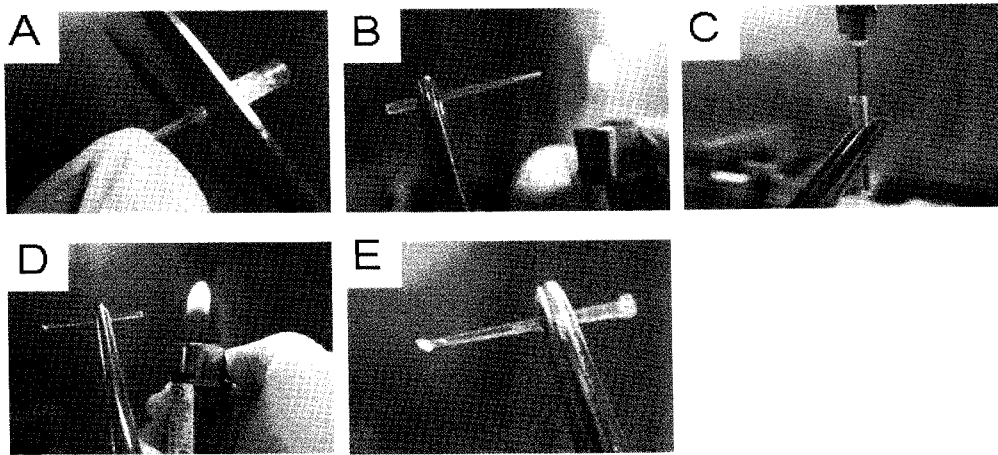


Figure 1. The preparation of fiduciary markers using disposable pipet tips. (A) The upper part of tip was cutted. (B) The sharpening end of tip was sealed with flame. (C) The sealed tip was filled with ^{18}F or ^{124}I solution. (D) The other end of tip was sealed with flame. (E) The fiduciary marker containing positron emitting radioisotope was ready to use.

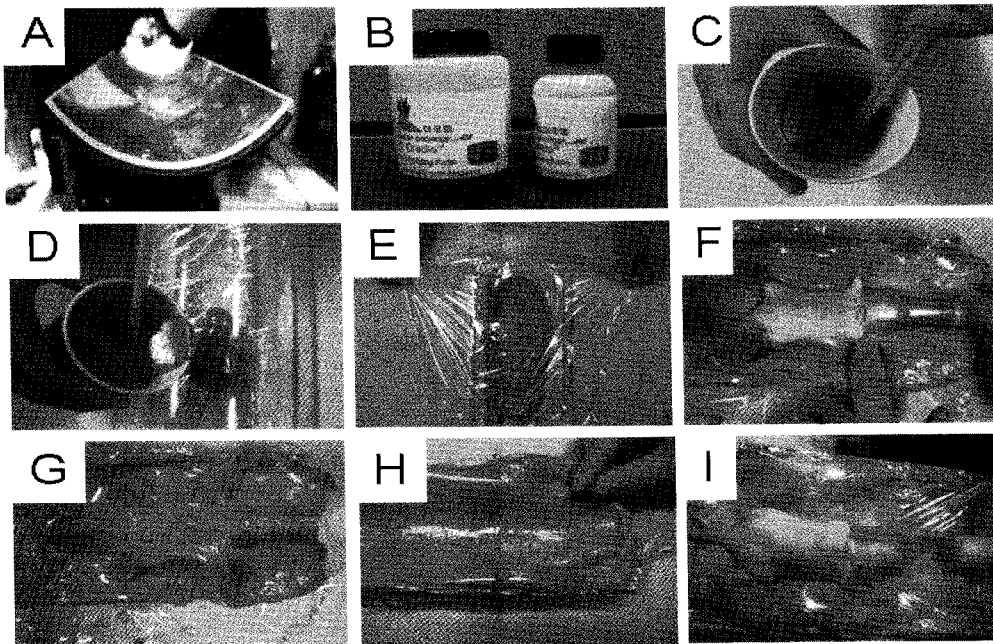


Figure 2. The fabrication of an animal-specific positioning mold using rapid-foam. (A) Round bottomed-acrylic frame was prepared to fit into microPET gantry. (B) The rapid-foam is consist of two foaming reagents A and B. (C) The mixture of reagent A and B was stirred for a few seconds. (D) The mixed reagents were poured into a acrylic frame. (E) The acrylic frame was covered with the wrap because of stickiness of the still-soft foaming mixture. (F) The anesthetized animal was tenderly pressed into the foaming mixture. (G) The animal was removed and the mold was waited to harden for a few minutes. (H) The fiduciary markers were inserted into the hardened mold at specific positions. (I) The animal-specific mold was ready to use for microPET and MR imaging studies.

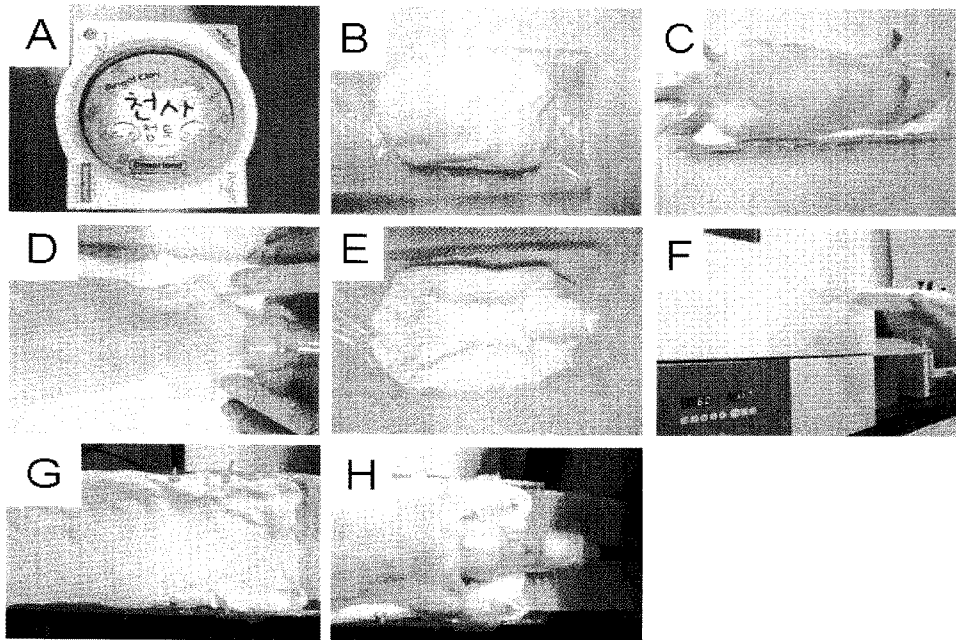


Figure 3. The fabrication of fiber-based mold for animal-specific positioning. (A) A commercially available clay was used to prepare the mold. (B) On the flattened molding clay, (C) the anesthetized animal was laid down and (D) gently pressed into the mold. (E) After positioning, the animal was removed. (F) The imprinted clay was dried at 60°C in oven for several hours for hardening. (G) Four fiducial markers filled with radioactive solution were inserted into the dried mold. (H) microPET and MR images were acquired by using the specific-positioned animal on the molding clay.

의학원으로부터 공급되었다.

2. 기준 마커 제작

PET과 MR 영상을 융합시킬 때에 기준으로 삼을 수 있는 마커를 제작하였다. 일반 파이펫(20 µL, Rainin, 미국)에 꽃아 사용할 수 있는 끝이 뾰족한 팁을 고른 다음, 지름이 넓은 한 쪽 끝을 잘라낸다(Fig 1A). 끝이 뾰족한 한 쪽 끝을 불로 지지 막은 다음(Fig 1B), 주사기를 이용하여 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 용액이나 free ^{124}I 용액을 팁 안으로 채워 넣는다(Fig 1C). 적절한 양의 방사능이(약 10 µCi의 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 또는 7-10 µCi의 ^{124}I) 채워졌으면 나머지 한쪽 끝도 불로 지지 막는다(Fig 1D). 이로써 양전자 방출 동위원소가 들어 있는 마커의 제작을 완성하였다(Fig 1E).

3. 순간 고형제 및 점토를 이용한 위치 고정 틀 제작

1) 순간 고형제를 이용한 위치 고정 틀 제작

먼저 microPET의 받침대와 동일한 곡선을 가지고 있는 아크릴 받침대를 제작하였다(Fig 2A). 구입한 순간 고형제 시약 A 와 B (Fig 2B)의 적당한 양을 대략 1:1로 혼합

한 후 나무 막대 등으로 섞어 주면, 순간적으로 부풀어 오르며 부드러운 고형제가 만들어 진다(Fig 2C). 경화전의 혼합 고형제를 앞서 제작한 아크릴 받침대 위에 얇은 비닐 랩을 깔고 필요한 양만큼 붓는다(Fig 2D). 다시 혼합 고형제 위에 비닐 랩(wrap)을 깔고, 그 위에 실험 동물을 올려 놓는다(Fig 2E). 아직 혼합 고형제가 부드러운 상태이므로, 가스 마취한(이소플루오란과 산소의 혼합가스) 실험 동물의 팔과 다리 부위를 지긋이 눌러 주면서 위치 고정 틀을 빠르게 제작한다(Fig 2F). 순간 고형제로 제작한 위치 고정 틀은 수분 내에 경화되므로 잠시 후에 실험 동물을 제거하면, 동물의 모양을 한 틀을 완성할 수 있다(Fig 2G). 이전에 제작한 기준 마커를 고정 틀의 적절한 위치에 꽃은 다음(Fig 2H), microPET 스캔을 실시하였다(Fig 2I).

2) 점토를 이용한 위치 고정 틀 제작

시중의 어린이 완구 및 문구류 코너에서 비교적 용이하게 구입할 수 있는 점토를 이용하여 실험 동물 위치 고정 틀을 제작하였다(Fig 3A). 적당한 양의 점토를 떼어내어 적절히 반죽한 후, 아크릴 받침대 위에 올려 놓고, 반죽된

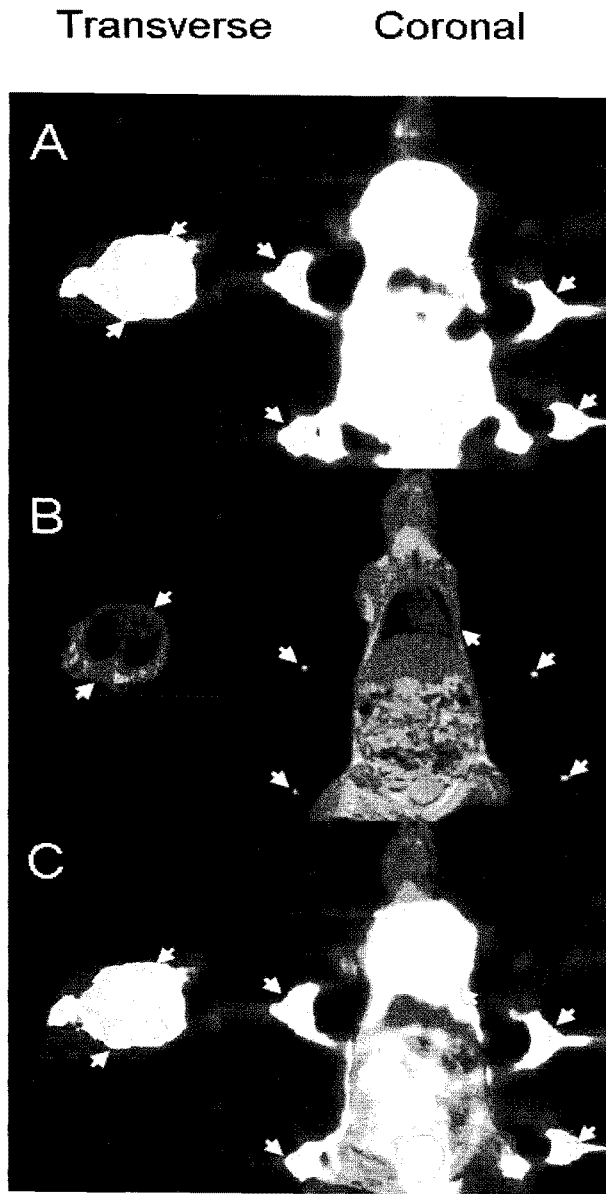


Figure 4. MicroPET and MR images were co-registered by using AMIDE program. Four fiducial markers are indicated as yellow arrow. (A) MicroPET image was measured at 1 h post-injection of [^{18}F]FDG. Heart and bladder were clearly seen. In transverse image, brown fat also showed high uptake of [^{18}F]FDG (red arrow: heart, white arrow: brown fat). (B) MR image gives in detail anatomical information. (C) The fused images showed very good co-registration of microPET and MR images in both transverse and coronal view.

점토를 편평하게 펴서 실험 동물을 반듯하게 눕힐 수 있도록 만든다(Fig 3B). 비닐 랩을 덮을 필요 없이 바로 마취된 실험 동물을 올려 놓고(Fig 3C) 실험 동물의 팔과 다리, 몸통 부위를 따라 점토를 눌러 가면서 고정 틀을 만든다(Fig 3D). 본 뜨기가 완성된 점토 틀은 60°C 건조기에 6 시간 정도 넣어 완전히 건조시킴으로써 적절한 경도를 가진 점토 틀을 제작하였다(Fig 3F). 완전히 건조된 점토 틀에 이미 제작된 기준 마커를 꽂고(Fig 3G), microPET 스캔을 실시하였다(Fig 3H).

4. MicroPET 영상

BALB/c 생쥐(19g, 6주령)에게 426 μCi 의 [^{18}F]FDG를 꼬리정맥으로 주사하여, 1시간 후에 microPET 스캐너를 이용하여 20분간 영상을 획득하였다. 영상을 얻는 동안 실험 동물은 이소플루오란과 산소의 혼합 가스로 마취하였으며, 획득한 sinogram은 OSEM (ordered-subsets expectation maximum) 방식을 통하여 이미지를 재구성하였다.

5. MR 영상

MR 영상은 microPET 스캔이 끝난 직후, 1.5 T MRI (T2-weighted fast gradient echo 시퀀스, TR = 8.7 ms, TE = 3.8 ms, matrix = 256 x 256, field of view = 12 cm, slice thickness = 0.8 mm)를 이용하여 획득하였다.

6. MicroPET과 MR 영상 융합

MicroPET과 MR 영상의 융합을 위하여 온라인 상에서 무료로 제공되고 있는 AMIDE 프로그램(<http://amide.sf.net>)을 이용하였다. AMIDE를 이용한 PET과 MR 영상의 융합에 필요한 3차원 부피영상(volume image) 형태의 MR 영상을 얻기 위해 MR 영상장치로부터 획득한 일련의 연속적인 2차원 MR 영상들을 MR 영상분석용 무료 프로그램(MRicro, <http://www.sph.sc.edu>)를 이용하여 3차원 부피영상의 형태를 갖는 영상데이터로 변환하였다. 변환된 3차원 MR 영상은 MRI 촬영 프로토콜에 의해 관상면(coronal view)으로 정렬되어 있어 영상융합을 하기 전에 AMIDE 프로그램의 영상 이동 및 회전 기능을 이용하여 PET 영상과 같은 영상축을 갖도록 재정렬하였다. 동일한 영상축을 갖도록 정렬된 MR 영상과 PET 영상은 AMIDE 프로그램에서 동시에 포개어 관찰하며 각 영상에서 보이는 기준 마커들이 3개의 횡단면(transverse view), 관상면(coronal view), 시상면(sagittal view)들에서 모두 일치하도록 PET 영상을 기준으로 MR 영상을 수작업으로 영상을 수평이동 및 회전시켜가면서 조정하여 잘 포개어진 용

Table 1. The Comparison between RT Cradle™ and Angel Clay™

	RT Cradle™	Angel Clay™
Stickiness	sticky	not sticky
Preparation time	less than 15 minute	several hours at 60°C dry oven
Skill to fabricate	need some practice	very easy
Recycling	impossible	yes
Price (July 2008)	8,000 Won/set	8,000 Won/ea

합 영상을 얻을 수 있었다.

결 과

1. 기준 마커 제작

실험실에서 구하기 쉬우며 저렴한 일회용 팁을 이용하여 성공적으로 기준 마커를 제작 하였다(Fig 1). 팁 마커 끝은 비교적 뾰족하여 틀에 꽂기에 적합하였다. 마커 제작 시 30개이지 바늘이 꽂힌 주사기를 이용하여 팁 끝에서부터 방사성 동위원소 용액을 채우기 시작하여 1-2 mm 남기고 봉합하여 팁 가운데가 비워지지 않도록 하였으며, 투명한 팁을 사용하여 용액이 완전히 채워졌는지를 관찰할 수 있었다. 원뿔 모양의 팁 마커는 가장 넓은 지름이 약 2 mm, 길이는 2-3 cm 정도 되었다. 이렇게 제작된 기준 마커는 4개를 제조하여 주로 앞발이나 뒷발과 몸통의 경계 부분에 고정시켜 재현성 있는 동물 위치 고정에 도움을 주고자 하였으며, 이 마커들을 이용하여 PET/MRI 융합 영상을 얻을 수 있었다(Fig 4).

2. 순간 고형제 또는 점토를 이용한 위치 고정 틀 제작

순간 고형제를 이용하여 비교적 쉽게 동물 자세 고정 틀을 제작할 수 있었다(Fig. 2). 시약 A 와 B는 서로 혼합될 경우에만 순간 고형제로서의 성질을 보여주며, 혼합 시 약간의 열이 발생하였지만 실험 동물에게 편안한 온기를 제공해 줄 정도로 화상의 위험이 있는 정도는 아니었다. 혼합된 고형제는 완전히 경화되기 전까지는 끈적임이 있었으며, 혼합된 이후 시간이 지나면서 계속적으로 약간씩 부풀어 오르는 성질이 있었고 완전히 경화되면 스티로폼과 같은 다공성의 형태로 되어 기준 마커를 꽂기에 적당한 경도를 가졌다. 순간 고형제는 약 15분 내에 상온에서 완전히 경화되어 동물 영상을 위한 고정 틀로 사용이 가능하였다.

점토를 이용하여서도 손쉽게 동물 자세 고정 틀을 제작할 수 있었다(Fig. 3). 점토는 약간 촉촉한 상태로 순간 고형제와 같은 끈적임과 부푸는 성질은 없었다. 틀을 만드는 과정 중에서도 점토를 덧붙이는 것이 가능하였으며, 실험 동물로 본을 뜨다가 동물의 위치가 잘못 잡혔을 때에는 다시 반죽을 하여 재 제작하는 것도 가능하였다. 점토는 매우

부드럽고 유연하여 실험동물의 팔과 다리, 몸통 등의 모양을 따라 위치를 잡아가면서 본을 뜰 수가 있었다(Fig. 3E). 본을 뜨고 난 이후에도 여전히 부드럽고 모양의 변형이 가능하여 오븐에서 완전히 건조시킬 때까지는 조심스럽게 다루어야 했다. 점토의 경우 완전 건조 후 순간 고형제 보다는 좀더 강한 경도를 가졌지만 팁 마커를 꽂기에 어려움은 없었다.

3. MicroPET 영상

실험 동물 주변에 꽃혀져 있는 4개의 기준 마커가 선명하게 보이는 microPET 영상을 획득하였다. 뇌와 심장, 갈색 지방(brown fat) 등에서 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 의 높은 섭취를 확인할 수 있었다. Transverse 영상에서 심근이 명확하게 관찰되며 또한 갈색 지방에도 많은 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 섭취가 됨을 알 수 있었다(Fig. 4A). Coronal 영상에서는 머리 부분이 일부분만 포함되어 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 의 뇌에 대한 섭취는 본 영상에서는 보여지지 않고 있다(Fig. 4A).

4. MR 영상

MR 영상은 microPET 영상을 얻은 후, MRI 조영제의 주사없이 획득하였다. MR 영상에서는 FOV (field of view) 안에 실험 동물의 전체적인 영상 획득이 가능하여 뇌 부분까지 볼 수가 있었고, 공기가 차 겹게 보이는 폐와 밝게 보이는 지방을 쉽게 확인할 수 있었다(Fig. 4B). MR 영상을 통하여 실험 동물의 해부학적인 정보를 얻을 수 있었고 심장의 위치도 분명하게 구분할 수 있었다. 4개의 수용액 마커는 T2 조영 효과에서 밝은 신호를 보여주었다(Fig. 4B).

5. AMIDE 프로그램을 이용한 융합 영상 획득

순차적으로 얻은 PET과 MR 영상의 융합과정에서 고정 틀에 꽂힌 4개의 기준 마커들을 AMIDE 프로그램을 이용한 세밀한 위치조정을 통해 모두 맞출 수 있었다(Fig. 4C). 4개의 마커를 정확히 일치시켰을 때 동물의 microPET과 MR 영상에서 체외 윤곽선이 잘 일치함을 확인할 수 있었다. 또한 융합한 횡단면의 PET과 MR 영상에서 심근부위가 정확하게 일치되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 4C). 순

간 고정제나 점토를 이용하였을 경우 융합 영상에서 고정 틀의 선택에 따른 눈에 띄는 정도의 융합 정밀도 차이는 보이지 않았다.

고 찰

이번 연구에서 저자들은 순간 고정제와 점토를 이용한 동물 특이적 자세 고정 틀을 성공적으로 제작하였다. 동물 특이적 자세 고정 틀의 제작은 microPET/MR 융합 영상을 얻고자 하는 시도의 일환으로, 실험 동물을 이동하며 영상을 촬영 할 때에 자세의 재현성과 영상 관독의 정확성을 높이는 데 기여였다. 영상을 융합 할 시에 기준점으로 사용되는 기준 마커를 실험 동물 내에 삽입하지 않고 제작한 틀에 삽입하여 영상을 획득함으로써 융합 영상을 얻는 과정을 단순화 시켰다. Zanzonico 등²⁰⁾은 고가의 ^{68}Ge 이 들어 있는 기준 마커를 구입하여 사용한 반면, 본 연구에서는 소형 사이클로트론이 설치된 지역에서는 쉽게 얻을 수 있는 ^{18}F FDG와 파이렛 팁을 사용하여 기준 마커를 손쉽게 자체 제작함으로써, 비용 부담을 줄이고, 이용 접근성을 높였다. 하지만 ^{18}F FDG를 사용하여 마커를 제작할 경우 ^{18}F 의 짧은 반감기($t_{1/2}=110$ 분) 인하여 지속적인 사용이 어려웠고 동물 이미지를 찍을 때마다 다시 만들어야 하는 불편함이 있었다. 반면 ^{124}I 를 이용하여 마커를 만든 경우 ^{124}I 의 비교적 긴 반감기($t_{1/2}=4.2$ 일) 인하여 2주간 정도 반복적으로 만들 필요 없이 지속적으로 사용할 수 있는 장점이 있는 반면 ^{18}F FDG 영상을 동일 동물 모델에서 반복적으로 얻을 경우 ^{18}F 과 ^{124}I 의 반감기 불일치에서 오는 잔류 방사능량의 차이로 ^{18}F FDG 주사후 시간이 경과된 영상에서는 마커의 신호가 우리가 관심 있는 동물의 영상보다 너무 강하게 나와 오히려 영상의 재구성 및 관독에 방해가 되었다.

기존에 치료방사선과에서 많이 사용되고 있었던 순간 고정제를 이용할 경우, 혼합된 순간 고정제는 완전히 경화되기 전에 끈적임이 있어서 동물의 털이 달라 붙어 실험 동물을 바로 올릴 수 없었다. 따라서 동물과 순간 고정제 사이에 끼워 넣을 랩이 필요하였다. 고정 틀을 만드는 과정에서도 순간 고정제의 부푸는 성질로 인해 비교적 가벼운 실험 동물들이 함께 위로 솟아 올라 위치를 잡기에 어려운 단점이 있었다. 또한 상온에서 빠르게 경화되므로, 초반에 위치를 잘못 잡을 경우에는 이미 혼합한 시약은 경화되어 버려야 하며 새롭게 제작해야만 하는 번거로움이 있었다. 이로 인해 틀을 제작하는 실험자는 시간이 촉박함으로, 모든 작업을 빠르게 수행해야 하는 부담감과 어느 정도 숙련

된 노하우가 필요하여 처음 이용자에게는 다소 어려운 상황이 반복될 수 있다. 이에 반해 점토를 이용할 경우, 끈적임이 없어 점토와 실험 동물 사이에 랩 등을 끼워 넣을 필요가 없고, 충분한 시간을 가지고 동물의 위치를 올바르게 고정할 수 있으므로, 좀 더 자세하고 꼼꼼하게 실험 동물의 본을 뜰 수 있다. 본 그룹에서는 시중에 유통되는 다른 점토도 사용하였지만 고무 점토의 경우 이 연구에서 사용한 점토에 비해 끈적임 정도가 심하였고 좀더 딱딱해 소동물들의 제작에 적합하지 않았다. 이렇게 뜬 모형은 건조기에 넣고 완전히 건조시키는데, 이는 본을 뜬 점토를 건조시키므로써 경화시키려는 목적 이외에도 수분이 남아 있는 점토는 수소이온으로부터 신호를 얻어 영상을 얻는 MRI에서 노이즈를 일으킬 수 있기 때문에 어느 정도 수분을 제거할 필요가 있었다. 완전히 건조된 틀도 물을 첨가하면 다시 부드럽게 되므로 재사용이 가능하여 순간 고정제에 비해 보다 경제적이라고 할 수 있다. 하지만 점토의 경우 제작 기간이 순간 고정제 보다 오래 걸리고 건조 시간이 필요하므로 바로 고정 틀을 제작하여 사용하여야 할 경우 순간 고정제가 적절한 선택일 것이다. 이상에서 살펴 본 바와 같이 서로 다른 물질을 이용해 소동물 위치 고정 틀 제작 시 두 재료의 장점과 단점을 Table 1에 정리하였다.

동물 자세 고정 틀을 사용하여 얻은 microPET 영상에서 실험 동물의 전체적인 윤곽은 확인할 수 있었으며, MRI를 통하여 보다 선명한 해부학적인 영상을 얻을 수 있었다 (Fig. 4). 이렇게 얻은 microPET과 MR 영상은 PET, MRI와 CT등 여러 가지 다양한 영상의 3차원적인 융합이 가능한²⁴⁾ AMIDE 프로그램을 이용하여 융합하였다. PET과 MR 영상을 융합할 때 융합의 정확도를 높이기 위해서는 기준 마커들의 위치를 모두 정확하게 일치시키는 것이 중요하다. PET과 MR 영상은 근본적으로 공간분해능이 다르고, 영상장비의 민감도가 달라 융합에 최적인 영상표시 임계값을 설정하기가 어렵다. 따라서 Fig. 4에 보이는 바와 같이 PET과 MR 영상에서 표시되는 각각의 기준 마커의 크기가 달라 보였으나 4개의 기준 마커들을 육안으로 동시에 일치시키도록 두 영상을 조정함으로써, 두 영상들의 표시 양상의 차이에서 발생할 수 있는 융합일치도의 오차를 매우 줄일 수 있어, 현실적으로 우수한 융합의 정확도를 제공할 수 있었다. 향후 기준 마커들의 최적 윤곽선 추출 또는 중심좌표 추출 등과 같은 방법을 이용한 융합방법이 융합일치도를 더욱 높이는 데 기여할 수 있을 것이다. 소동물 양전자방출단층 영상과 자기공명영상을 얻는 동안 실험 동물은 마취 상태를 유지하였고, 앞과 뒷다리는 테이프로 제작한 틀에 고정시켰으므로 몸통과 장기 부위는 대체로 일

치하였으나, 앞과 뒷다리 그리고 머리 부위에서는 몸통보다는 좀더 큰 오차가 발생할 수 있음을 관찰하였다.

결론적으로 본 실험에서는 주위에서 손쉽게 구할 수 있는 순간 고정제와 점토를 이용하여 소동물 개체에 특이적인 위치 고정 틀을 성공적으로 제작하였다. 또한 서로 다른 기법의 영상을 높은 일치도로 융합시키기 위해 기준 마커를 실험실에서 쉽게 구할 수 있는 일회용 파이렛 팁을 이용해 작성하여 두 영상의 융합 시 기준점이 되도록 하였다. 서로 다른 PET과 MR 영상은 AMIDE라는 무료로 공유할 수 있는 프로그램을 이용해 높은 정확도로 융합시킬 수 있었다. 본 연구에서 개발된 위치 고정 틀 제작 기법은 단지 PET/MR 이중 영상 융합뿐 아니라 다양한 다중 영상 기법간의 영상 융합에 널리 사용될 수 있으리라 기대된다. 뿐만 아니라 동일 동물에서 [^{18}F]FDG와 [^{18}F]FLT처럼 서로 다른 방사성추적자를 사용해 영상을 얻은 후 비교하는 실험에 있어도 본 연구에서 개발된 개체 특이적 고정 틀 제작 기법은 널리 활용될 수 있을 것이다.

요 약

목적: 최근 들어, 분자 영상에서 다중 영상 기법이 널리 보급되고 있다. 우리는 PET/MR 융합 영상을 얻기 위해 쉽게 이용 가능한 점토와 순간 고정제를 이용하여 동물 특이적 자세 고정 틀을 제작하였다. 동물 특이적 자세 고정 틀은 동물의 고정과 재현성 있는 자세 연출이 가능하도록 한다. 여기에서 우리는 실험 동물의 틀을 제작하는데 있어 점토와 순간 고정제를 비교해 보았다. **재료 및 방법:** MicroPET의 받침대와 잘 맞는 바닥이 둥근 아크릴 받침대를 먼저 제작하였다. 실험 동물은 마취 후, 자세 고정을 위해서 틀 위에 올려 놓았다. 틀 제작을 위하여 순간 고정제와 점토가 사용되었다. 순간 고정제와 점토를 사용한 두 가지 경우 모두, 실험 동물의 자세 고정을 위하여 부드럽게 실험 동물을 눌러 위치를 잡았다. 위치가 잡혔으면, 쥐를 들어내고, 점토로 뜬 틀은 60°C 건조기에 넣어 두어 완전히 경화시켰다. 그리고 [^{18}F]FDG 용액이 든 밀봉된 4개의 파이렛 팁을 기준 마커로 사용하였다. 실험 동물의 꼬리에 [^{18}F]FDG를 정맥 주사하여 microPET 스캔을 실시한 후, 동일한 실험동물을 순차적으로 MRI 스캔하였다. **결과:** 다중 영상을 위하여 점토와 순간 고정제로 동물 특이적 자세 고정 틀을 제작하였다. MicroPET과 MRI를 통하여 기능적이고 해부학적인 영상을 얻었다. PET/MR 융합 영상은 무료로 이용 가능한 AMIDE 프로그램을 사용하여 획득할 수

있었다. **결론:** 쉽게 이용 가능한 점토, 순간 고정제와 일회용 파이렛 팁을 사용하여 성공적으로 동물 특이적 자세 고정 틀을 제작할 수 있었다. 동물 특이적 자세 고정 틀 덕분에, 적은 오차 범위 내에서 PET/MR 융합 영상을 얻을 수 있었다.

References

- Cherry SR. Multimodality in vivo imaging systems: Twice the power or double the trouble? *Annu Rev Biomed Eng* 2006;8:35-62.
- Beyer T, Townsend DW, Brun T, Kinahan PE, Charron M, Roddy R et al. A combined PET/CT scanner for clinical oncology. In: United States: PET Facility and Department of Radiology, University of Pittsburgh, Pennsylvania 15213, USA, 2000; 1369-79.
- Boss DS, Olmos RV, Sinaasappel M, Beijnen JH, Schellens JHM. Application of PET/CT in the development of novel anticancer drugs. *Oncologist* 2008;13:25-38.
- Kim JS, Rieter WJ, Taylor KML, An H, Lin W, Lin W. Self-assembled hybrid nanoparticles for cancer-specific multimodal imaging. *J Am Chem Soc* 2007;129:8962-3.
- Mulder Willem JM, Koole R, Brandwijk Ricardo J, Storm G, Chin Patrick TK, Strijkers Gustav J et al. Quantum dots with a paramagnetic coating as a bimodal molecular imaging probe. *Nano Lett* 2006;6:1-6.
- Kim J, Park S, Lee JE, Jin SM, Lee JH, Lee IS et al. Designed fabrication of multifunctional magnetic gold nanoshells and their application to magnetic resonance imaging and photothermal therapy. *Angew Chem Int Ed* 2006;45:7754-8, S7754/7751.
- Prinzen L, Miserus R-JJHM, Dirksen A, Hackeng TM, Deckers N, Bitsch NJ et al. Optical and magnetic resonance imaging of cell death and platelet activation using Annexin A5-functionalized quantum dots. *Nano Lett* 2007;7:93-100.
- Lee J-H, Jun Y-W, Yeon S-I, Shin J-S, Cheon J. Dual-mode nanoparticle probes for high-performance magnetic resonance and fluorescence imaging of neuroblastoma. *Angew Chem Int Ed* 2006;45:8160-2.
- Xu C, Xie J, Ho D, Wang C, Kohler N, Walsh EG et al. Au-Fe₃O₄ dumbbell nanoparticles as dual-functional probes. *Angew Chem Int Ed* 2008;47:173-6.
- Koyama Y, Talanov Vladimir S, Bernardo M, Hama Y, Regino Celeste AS, Brechbiel Martin W et al. A dendrimer-based nanosized contrast agent dual-labeled for magnetic resonance and optical fluorescence imaging to localize the sentinel lymph node in mice. *J Magn Reson Imaging* 2007;25:866-71.
- Talanov VS, Regino CAS, Kobayashi H, Bernardo M, Choyke PL, Brechbiel MW. Dendrimer-based nanoprobe for dual modality magnetic resonance and fluorescence imaging. *Nano Lett* 2006;6:1459-63.
- Xu H, Baidoo K, Gunn AJ, Boswell CA, Milenic DE, Choyke PL et al. Design, synthesis, and characterization of a dual modality positron emission tomography and fluorescence imaging agent for monoclonal antibody tumor-targeted imaging. *J Med Chem* 2007;50:4759-65.
- Cai W, Chen K, Li Z-B, Gambhir Sanjiv S, Chen X. Dual-function probe for PET and near-infrared fluorescence imaging of tumor vasculature. *J Nucl Med* 2007;48:1862-70.

14. Shao Y, Cherry SR, Farahani K, Meadors K, Siegel S, Silverman RW et al. Simultaneous PET and MR imaging. *Phys Med Biol* 1997;42:1965-70.
15. Grazioso R, Zhang N, Corbeil J, Schmand M, Ladebeck R, Vester M et al. APD-based PET detector for simultaneous PET/MR imaging. *Nucl Instrum Meth Phys Res* 2006;569:301-5.
16. Haak GM, Christensen NL, Hammer BE. Coupling scintillation light into optical fiber for use in a combined PET-MRI scanner. *Nucl Instrum Meth Phys Res* 1997;399:455-62.
17. Woody C, Schlyer D, Vaska P, Tomasi D, Solis-Najera S, Rooney W et al. Preliminary studies of a simultaneous PET/MRI scanner based on the RatCap small animal tomograph. *Nucl Instrum Meth Phys Res* 2007;571:102-5.
18. Catana C, Procissi D, Wu Y, Judenhofer MS, Qi J, Pichler BJ et al. Simultaneous in vivo positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105:3705-10.
19. Nahrendorf M, Zhang H, Hembrador S, Panizzi P, Sosnovik DE, Aikawa E et al. Nanoparticle PET-CT imaging of macrophages in inflammatory atherosclerosis. *Circulation* 2008;117:379-87.
20. Zanzonico P, Campa J, Polycarpe-Holman D, Forster G, Finn R, Larson S et al. Animal-specific positioning molds for registration of repeat imaging studies: Comparative microPET imaging of F18-labeled fluoro-deoxyglucose and fluoro-misonidazole in rodent tumors. *Nucl Med Biol* 2006;33:65-70.
21. Humm JL, Ballon D, Hu YC, Ruan S, Chui C, Tulipano PK et al. A stereotactic method for the three-dimensional registration of multi-modality biologic images in animals: NMR, PET, histology, and autoradiography. *Med Phys* 2003;30:2303-14.
22. Hsu W-L, Yang C-C, Wang Z-J, Liu D-W, Yin W-H, Huang W-P et al. Correlation of PET and MRI for comparing assessments on myocardial viability. *Nucl Instrum Meth Phys Res* 2007;571: 461-4.
23. Rowland Douglas J, Garbow Joel R, Laforest R, Snyder Abraham Z. Registration of [¹⁸F]FDG microPET and small-animal MRI. *Nucl Med Biol* 2005;32:567-72.
24. Loening Andreas M, Gambhir Sanjiv S. AMIDE: A free software tool for multimodality medical image analysis. *Mol Imaging* 2003;2:131-7.