

◆ 원 저 ◆

흰 쥐의 뇌경색 병변에 대한 자기공명영상

정지성

증양대학교 의료원 영상의학과

Cerebral Infarction Model in Rat on Magnetic Resonance Imaging

Ji Sung Jung

Department of Radiology, Chung-Ang University Hospital

Abstract

It is important to study using experimental animals for research about stroke. Magnetic Resonance Imaging(MRI) is available diagnostic methods for stroke diagnosis. The purpose of this research is to know the Magnetic Resonance Imaging(MRI) and histopathological characteristics findings after induction of photothrombotic cerebral infarction in rat brain. Male Sprague-Dawley rats were anesthetized, Rose Bengal dye(20 mg/kg) was intravenously injected. The right sensorimotor cortex of rat brain was exposed to cold light of 7 mm diameter at a position of 1 mm anterior and 3.5 mm lateral to bregma for 20 min. The post-infarction effects were monitored by T1 weighted and T2 weighted images of brain MRI. Histopathological changes were observed after Hematoxylin & Eosin staining. The lesion appeared clearly high signal intensity area on T2 weighted images(the major axis 7.04 ± 0.11 mm, the minor axis 3.08 ± 0.04 mm) and also H&E staining was same result. In conclusion, MRI was available diagnostic methods for diagnosis and serial changes of stroke.

Key Words : Stroke, MRI, Cerebral infarction, T2 weighted image

I. 서론

최근 변화하는 환경적 요인과 인구의 노령화 등의 영향으로 뇌졸중 질환이 증가하고 있고 그 후유 장애로 인한 사회 경제적 관점에서 중요성이 점차 커지고 있다. 뇌졸중은 우리나라의 원인 별 사망률 중에서 암에 이어 두 번째 높은 비율을 보이고, 인구 100,000명당 56.5명

으로 이는 전체 사망 원인의 11.3%에 해당한다(통계청, 원인 별 사망통계, 2008). 또한, 환자들이 후유 장애로 인한 고통을 받고, 사회적 손실과 부담도 증가되고 있다. 뇌혈관에 대하여 발생의 병태 생리적 규명, 조기 진단 및 확진을 위한 효율적 방법 및 치료에 대해 실험 동물을 이용한 많은 연구가 진행되고 있다.^{1~4}

뇌졸중의 진단과 추후 질환 추적에 있어서 자기공명영상은 매우 유용한 진단방법으로 흰 쥐와 같은 소동물에서도 영상화가 가능하여 뇌졸중 연구에 이용되고 있다.^{5~6} 또한 컴퓨터 전산화 단층촬영(Computed Tomography : CT)보다 조직과 조직간의 대조도가 높아 연부조직간 구분이 용이한 장점이 있고, 동위원소를 이용한 핵의학 영상법이나 형광물질을 이용한 optical imaging에 비하여

Received March 11, 2011/ 1st Revised April 02, 2011/ Accepted for Publication April 15, 2011

Corresponding Author: 정지성

(156-755) 서울시 동작구 흑석동 224-1번지

증양대학교 의료원 영상의학과

Tel: 02) 6299-2838 Fax: 02) 6263-1557

E-mail: deska00@naver.com

서도 높은 해상도와 대조도를 얻을 수 있으며 3차원 정보 제공이 반복적으로 가능하다는 장점을 지닌다.⁷

본 연구에서는 실험동물 흰 쥐에서 허혈성 뇌경색 질환 모델을 제작하고 자기공명영상에서 T1강조영상과 T2강조영상의 소견 및 조직병리 소견을 관찰하였다.

II. 대상 및 방법

1. 연구대상

본 실험은 중앙대학교 동물의 사육 및 사용에 대한 규정에 따라 진행하였다. 동물은 21~24°C로 온도가 유지되는 사육실에서 하루에 각각 12시간씩 소등각성주기를 유지하였다. 일주일 동안 실험실 환경에 적응시킨 후 실험 평가에 사용하였다. 모델 제작 술기는 무균적인 방법으로 시행하고, 제작 후 각각의 우리(cage)에서 회복시켰다. 수컷 Sprague Dawley 흰쥐 250~300 g, 2 마리를 사용하였다. 광혈전 뇌경색 모델을 제작한 후 MRI를 촬영하고, 즉시 희생하여 병리 검사에 이용하였다.

2. 연구방법

1) 광혈전 뇌경색 모델

본 실험에서는 광혈전 뇌경색 모델을 이용하였다.^{1~4} 흰쥐를 에어레인액®(Isoflurane, 일성신약, 서울, 한국)을 마취를 유도하고, 흡입 마취하여 수술을 진행하였다. 옆드린 자세로 흰쥐 머리를 정위고정기(stereotactic system; Stoelting, illinois, USA)에 고정시켰다. 두피(scalp) 중심을 앞뒤 방향으로 1.5 cm 절개하고 좌우로 벌려주고, 마찬가지로 뼈막(periosteum)을 절개 박리하여 우측 머리뼈를 노출 시켰다. 정수리점(브레그마, bregma)에서 전방으로 1 mm, 우측방으로 3.5 mm 지점에 직경 7 mm의 구멍을 갖는 표면 어플리케이터(경통)를 위치시켜 냉광선(Cold light)을 조사하였다. 냉광선 발생기(Fiber-Lite MI-150; Dolan Jenner Co., South carolina, USA)는 할로겐 전구(Ushio EKE 150W/21V; Ushio, Tokyo, Japan), 적외선 필터, 광섬유와 어플리케이터로 구성 되어 있다. 광민감성 염료인 로즈벵갈(rose bengal sodium salt; Sigma-Aldrich Co., Missouri, USA)을 생리식염수에 10 mg/ml 농도로 준비하여 20 mg/kg을 꼬리정맥을 통해 투여한 후, 즉시 냉광선을 20분간 조사하였다. 모델 제작 중 체온조절이 가능한 향온담요(Homeothermic blanket control unit; Harvard Apparatus, Massachusetts, USA)로 흰쥐의

직장내의 온도를 37°C로 맞추어 놓고 체온을 유지 시켰고, 수술 후에 두피를 4-0 nylon으로 봉합해주었다.

2) 자기공명영상(Magnetic Resonance Image)

흰 쥐의 뇌경색 소견을 관찰하기 위해 뇌 경색 모델 유발 후 24 시간이 후에 자기공명영상을 얻었다. 자기공명영상(MRI) 촬영을 위해 흰쥐를 ketamine hydrochloride(케타라, 유한양행, 서울, 한국) 100 mg/kg 과 xylazine hydrochloride(렘폰, 바이엘코리아, 안산시, 한국) 10 mg/kg 을 혼합하여 근육 주사하여 마취하였다. 3.0 T MRI(Achieva, Philips, Eindhoven, the Netherlands)와 손목용 표면 코일(SENSE-Wrist-4; Philips)을 이용하였으며, 옆드린 자세로 뇌 자기공명영상을 얻었다. T1 강조영상(Turbo Spin Echo technique, TR 838 msec, TE 28 msec, Field of View 50 x 50 mm, Slice Thickness 1 mm, Matrix Size 172 x 176, Number of Excitation 4, Resolution 291 x 284 x 1000 μ m)과 T2 강조영상(Turbo Spin Echo technique, TR 2741 msec, TE 80 msec, Field of View 50 x 50 mm, Slice Thickness 1 mm, Matrix Size 172 x 176, Number of Excitation 4, Resolution 291 x 284 x 1000 μ m)을 얻었다.

촬영한 영상은 2명의 영상의학 전문의가 영상 저장 및 전송 체계(picture archiving and communication system: PACS) (Maroview version 5.4, Marotech, Seoul, Korea)을 통하여 영상을 분석하였다. 각 영상에서 경색의 위치, 크기, 신호 강도, 동반된 부종 등의 소견을 분석하였고, 길이에 대해서는 평균 \pm 표준편차로 표현하였다.

3) 조직 적출 및 고정

흰 쥐의 희생은 케타라 100 mg/kg과 렘폰 10 mg/kg 을 혼합하여 근육 주사하여 마취한 후 꼬리 정맥을 통해 염화칼륨(2 M, 10 ml/kg)을 주입하여 안락사하였다. 머리뼈를 절제하고 뇌를 분리하여 흰쥐 뇌틀(brain matrix, RBM-4000C, ASI Instruments, Warrin, MI, USA)에 넣고 뇌경색 부위를 중심으로 면도날을 관찰면 방향으로 3 mm 간격으로 삽입하여 뇌경색이 가장 넓게 나타난 중심부위의 뇌 조직을 얻어 만든 후 포르말데히드에 24시간 동안 고정한 후 파라핀 침투 과정을 거친 후 파라핀 조직 블록을 제작하였다.

4) 조직학적 관찰

파라핀 블록을 5 μ m 두께로 잘라서 얻은 절편 슬라이

드를 56°C 건열멸균기에 1시간 처리한 다음, 자일렌(xylene)과 100%, 95%, 90%, 80%, 70%의 에탄올 과정을 거쳐 탈 파라핀 하였다. Hematoxylin & Eosin 염색을 하였고,⁸ 광학현미경(Olympus BX51, Olympus Corporation, Shinjuku, Tokyo, Japan)을 이용하여 2명의 해부병리학 전문가가 병리소견을 분석하였다.

III. 결 과

1. 자기공명영상 소견

T1 강조영상에서는 노광하지 않은 반대 측 정상 실질

과 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다. T2 강조영상에서는 우측 대뇌 반구 노광한 중심 부위 axial plane 영상에서 뇌 겉질 장축 7.04 ± 0.11 mm, 단축 3.08 ± 0.04 mm의 고신호 강도영역이 관찰되었다(Fig. 1).

2. 조직 병리 소견

뇌경색이 정상조직과 명확한 구분이 되었다. 응고성 괴사가 발생하여 균일한 괴사영역으로 관찰되었고, 세포 부종이 발생하였다. 다형핵 호중구의 침윤이 관찰되었다(Fig. 2).

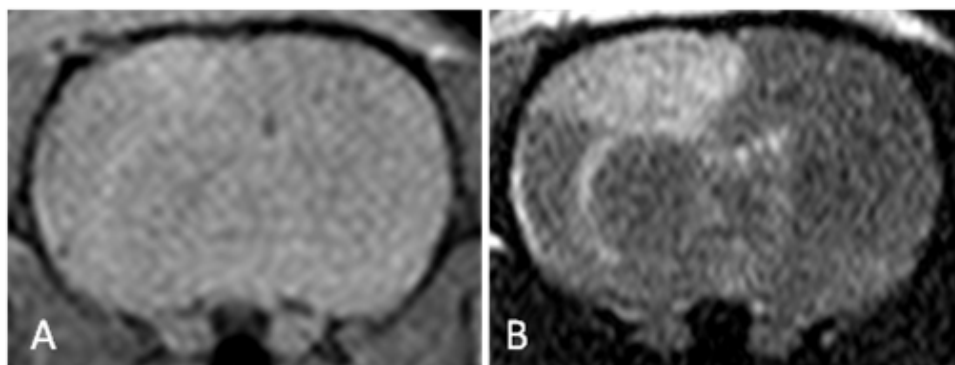


Fig. 1. A. T1-weighted image. B. T2-weighted image. Magnetic Resonance Images of a photothrombotic cerebral infarction model in rat

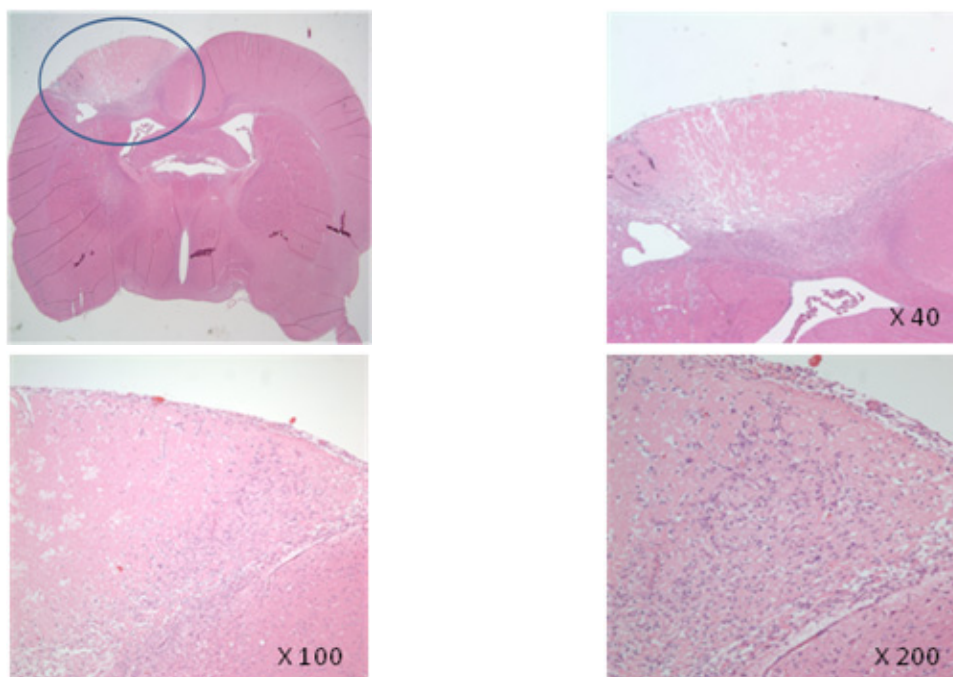


Fig. 2. Photograph of Hematoxylin and Eosin staining. In circle showed infarction site

IV. 고찰 및 결론

흰쥐의 광혈전 뇌경색 모델은 기존의 뇌경색 모델과 비교하여 몇 가지 장점이 있다. 일정한 크기의 허혈성 뇌경색을 원하는 부위에 만들 수 있고, 재현성이 우수하다. 머리 피부와 뼈막을 절개하는 정도의 슬기만을 필요로 하여 실험 동물에 있어서 침습적인 방법을 최소한으로 할 수 있고 동물의 사망 없이 높은 성공률로 만들 수 있다는 장점이 있다.^{1~4} 비록 본 연구에서 표본 수가 매우 작지만 선행 연구에서도 한 마리의 사망 없이 성공적으로 모델을 만들 수 있었다. 목적인 부위의 뇌경색을 유발할 수 있었다.

광민감성 반응을 일으키는 로즈벵갈(C₂₀H₄Cl₄I₄O₅, Molar mass = 973.67 g/mol)은 정맥계를 통해 주사하게 하고 원하고자 하는 영역에 빛을 조사하게 되면 빛에 의한 과산화반응 작용으로 혈관내피세포(endothelium cell)에 손상을 주어 빛이 조사된 혈관에 혈전을 만들어 뇌조직의 허혈성 뇌경색을 유발하게 된다. 빛은 특성상 몸의 조직을 진행하는 부분에 대해서 투과하는 깊이에 제한이 있다. 따라서 빛의 강도에 따라 빛의 투과 강도를 조절하여 뇌경색 크기를 조절하는 연구 보고도 있다.⁸

T2 강조영상에서 뇌경색으로 보이는 고신호영역은 허혈성 뇌경색으로 인한 세포부종(cytotoxic edema)에 의한 물 성분 증가에 따라 고신호 강도를 나타낸 것으로 보이며, 조직 병리 소견에서 세포 부종을 확인하였다. 또한 뇌경색 부위의 길이를 측정된 결과 평균 7.04 mm ± 0.11 mm로 조사한 빛의 지름과 거의 일치하는 뇌경색 병변을 유발할 수 있었다. 조사한 빛의 지름과 모양에 따라 원하는 곳에 원하는 크기의 병변을 만들 수 있다.

MRI비 침습적인 검사방법으로 동일개체에 대한 반복적 측정이 가능하다는 장점이 있다. 본 연구에서는 뇌경색 후 1일 째의 급성기의 뇌경색 양상만을 관찰하였지만, 추후 시간 경과에 따른 변화 양상을 관찰이 가능할 것이고, 치료 약제 실험에서 치료효과에 대해 동일 개체 내의 장시간 추적 관찰에 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Watson BD, Dietrich WD, Busto R, Wachtel MS, Ginsberg MD. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Ann Neurol* 1985; 17: 497-504.
2. Minnerup J, Seeger FH, Kuhnert K, Diederich K, Schilling M, Dimmeler S, et al. Intracarotid administration of human bone marrow mononuclear cells in rat photothrombotic ischemia. *Exp Transl Stroke Med* 2010; 2: 3.
3. Paz JT, Christian CA, Parada I, Prince DA, Huguenard JR. Focal cortical infarcts alter intrinsic excitability and synaptic excitation in the reticular thalamic nucleus. *J Neurosci* 2010; 30: 5465-79.
4. Moon SK, Yang CY, Kim TJ, Lee S, Cai QY, Yoon KH, Shin YI, et al. Optimization of cortical Infarct by Light Intensity in Photothrombotic Infarction Model. *Lab Anim Res* 2006; 22: 261-5.
5. Bulte JWM, Douglas T, Witwer B, Zhang S-C, Strable E, et al. Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and in vivo tracking of stem cells. *Nature Biotechnol* 2001; 19: 1141-7.
6. Yu YQ, Liu LC, Wang FC, Liang Y, Cha DQ, Zhang JJ, et al. Induction profile of MANF/ARMT by cerebral ischemia and its implication for neuron protection. *J Cereb Blood Flow Metab* 2010; 30: 79-91.
7. Song YS, Ku JH, Song ES, Kim JH, Jeon JS, Lee KH, et al. Magnetic resonance evaluation of human mesenchymal stem cells in corpus cavernosa of rats and rabbits. *Asian Journal of Andrology* 2007; 9: 361-7.
8. Kiernan JA. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*, 4th ed. Bloxham (UK): Scion Publishes; 2008.