대한방사선의학회지 2001;45:167-174

관류자기공명영상을 이용한 악성종양의 맥관형성에 대한 평가: 가토 간의 VX2 암종에서의 실험적 연구[1]

윤 웅 · 강형근 · 박진균 · 김재규 · 서정진 · 김윤현 · 정용연 · 정태웅 · 정광우 · 남종희[2]

목적: 실험적으로 가토 간에 VX2 암종을 이식시킨 후 관류(perfusion) 자기공명영상(MRI)을 시행하여 VX2 암종과 주위 정상 간 실질의 관류 특성을 분석하고, 병리조직학적 소견과 비교하여 간의 악성종양의 맥관형성에 대한 평가에 있어서 관류 MRI의 유용성을 알아보고자 하였다.

대상과 방법: 가토 12마리에 개복술을 시행하여, 간 실질 내에 VX2 암종을 이식한 후 7-14일째에 초음파 검사로 암종이 유발된 것을 확인한 후 단발포 경사에코 에코평면영상기법을 이용한 관류 MRI 검사를 시행하였다. 관류 MRI 영상에서 각각의 VX2 암종과 주위 정상 간 조직에 동일한 관심구역을 설정하여 신호강도를 측정한 후 조영증강율을 산출하여, 시간에 대한 조영증강율을 표시한 시간-신호강도 관류 곡선을 작성하였다. 작성된 관류곡선상에서 관류곡선의 양상, 최대 신호강도감소에 도달한 시간과 최대 조영증강율을 VX2 암종과 정상 간실질에서 각각 비교 분석하였다. 실험이 끝난 가토를 희생시켜 간을 적출한 다음 VIII 인자 관련항원을 이용한 면역조직화학염색 검사를 시행하여 VX2 암종과 정상 간 조직의 미세혈관밀도(MVD)를 측정하였다.

결과: 간에 유발된 VX2 암종은 모두 15개로 1-3 cm 크기였다. 관류곡선을 분석한 결과 모든 VX2 암종은 9-20초대의 초기 동맥 관류기에 신호강도의 감소와 회복 곡선이 급격히 변하는 양상을 보였고, 정상 간 조직은 12-50초대의 후기 문맥관류기에 완만한 신호강도의 감소와 회복 곡선을 나타내었다. VX2 암종의 최대 신호강도 감소시간은 13-16초 (평균 15초)이었고 정상 간 실질의 최대 신호강도 감소시간은 28-36초 (평균 32초)이었다 ($p<0.01$). 최대 조영증강율은 VX2 암종에서는 27-84% (평균 47%)이었고, 정상 간 실질에서는 36-82% (평균 56%) 이었다. 면역조직화학염색 검사상 VX2 암종의 평균 MVD는 200배의 배율에서 시야당 75개로 정상 간 실질의 17개에 비해 유의하게 많았다 ($p<0.01$).

결론: 관류 MRI를 이용하여 가토 간의 VX2 암종의 일정한 관류특성을 관찰할 수 있었으며 이와 같은 관류특성은 병리조직학적으로 악성종양의 맥관형성에 의해 나타남을 확인할 수 있었다. 따라서 관류 MRI는 간 종양의 맥관형성을 잘 반영하는 방사선학적 검사법으로서, 향후 간 종양의 감별진단에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

자기공명영상(magnetic resonance image, 이하 MRI로 약함)은 탁월한 연부 조직 대조능과 높은 해상도를 가지고 있으며, 비침습적이어서 종양의 진단에 많이 이용되고 있다 (1, 2). 최근에는 다양한 영상기법들과 소프트웨어의 지속적인 개발에 힘입어, MRI를 이용하여 단순한 해부학적 구조의 이상 여부를 진단하는 범위를 넘어서 세포단위의 물의 확산이나 모세혈관의 관류 등의 특성을 이용하는 다양한 기능적 MRI가 가능하게 되었다 (3, 4). 이러한 기능적 MRI 중의 한 종류인 관류 MRI(perfusion-weighted MRI)는 일정한 단위 조직의 관류의 양을 정량화 함으로써 조직의 혈역학적 상태를 평가할 수 있다 (5, 6). 지금까지 관류 MRI는 주로 뇌신경계의 허혈성 질환, 종양, 퇴행성 질환과 그 밖에 심장, 신장 등의 기능을 평가하는데 이용되어 왔고, 특히 허혈성 뇌 질환에서의 유용성은 많은 연구들에 의해 입증되고 있다 (3, 4, 7-10). 그러나, 혈액-뇌 장벽(blood brain barrier)이 있는 뇌와는 달리 다른 인

[1]전남대학교 의과대학 방사선과학교실
[2]전남대학교 의과대학 해부병리학교실
이 연구는 2000년도 전남대학교 병원 임상연구소 연구비에 의해 지원되었습니다.
이 논문은 2001년 1월 8일 접수하여 2001년 6월 28일에 채택되었음.

체 조직에서는 가돌리니움이 목표 장기에 도달하자마자 빠른 시간 내에 혈관내 공간(intravascular space)에서 혈관외 공간(extravascular space)으로 재분포가 일어나기 때문에 고식적인 MRI 영상기법으로는 가돌리니움을 이용한 관류 MRI 영상을 얻기가 어려웠다. 최근 초급속 영상기법인 echoplanar imaging (EPI)이 개발되어 복부 질환의 진단에 관류 MRI의 임상적 이용이 가능하게 되었으나 (11 - 16), 현재까지 간의 종양성 질환의 맥관형성을 평가하는데 관류 MRI를 이용하려는 시도는 국내외적으로 드문 실정이다.

만성 간 질환 환자에서 간내 결절이 생기고, 이 결절이 악성종양으로 단계적인 진행을 하는 과정에서, 결절내의 맥관형성에 의한 비정상적인 혈관증식과, 이에 따른 정맥에서 동맥공급으로의 혈류공급의 변화가 선행되어야 한다는 사실은 잘 알려져 있다. Roncalli 등 (17)은 전암성 결절과 악성결절에서는 세동맥과 모세혈관이 비정상적으로 증가되어 있는 반면, 양성 결절(low grade dysplastic nodule, regenerative nodule)에서는 주위 간 조직과 비슷한 정도의 동맥혈관이 분포하고 있음을 밝혀내었다. 이와 같이 맥관형성에 의한 신생모세혈관을 통한 간내 결절로의 혈류공급을 알아내는 것은 그 결절이 악성결절임을 시사한다고 할 수 있으므로, 향후 치료방침을 결정하는데 있어 매우 중요하다고 할 수 있다.

이에 이 연구는 국소적 침윤이 매우 강하고 급속히 성장하여 인체의 종양과 형태적, 생화학적, 생물학적 양상이 유사한 VX2 암종을 가토의 간에 이식시킨 후 관류 MRI를 시행하여 VX2 암종과 정상 간 실질의 관류 특성이 어떤 차이점이 있는지를 알아보고, 관류 특성의 차이점을 병리조직학적 소견과 연관하여 설명함으로써, 간의 악성종양의 맥관형성을 평가하는데 있어 관류 MRI의 유용성을 평가하고자 하였다.

대상과 방법

실험동물 및 VX2 암종 이식

실험대상 동물로는 체중 2.5 - 3.5 kg (평균 3.1 kg)의 가토 12마리를 사용하였다. 가토 간에 이식할 VX2 암종세포 현탁액은 다음과 같은 방법으로 얻었다. 이미 VX2 암종이 대퇴부에 이식된 가토(carrier rabbit)를 potassium chloride (KCl)용액 5 mL 정맥주사로 희생시킨 후 종양주위의 털을 깨끗이 깎고 피부소독을 하였다. 구멍포로 종양부위가 있는 대퇴부를 덮고 수술 칼로 피부 및 근육부위를 절개하여 종양부위로 접근하고 종양전체를 적출한 뒤, 종양 중심부위의 괴사부위는 제거하고 종양 변연부에 위치하는 얇은 층의 종양조직만을 박리하였다. 박리한 종양조직을 가위로 죽처럼 될 때까지 잘게 자른 후, 5 mL의 DMEM/F - 12 배양액(Gibco Laboratories, Life Technology Inc., Grand Island, New York, U.S.A.)에 넣고 잘 섞어 종양 현탁액을 준비하였다. Xylazine hydrochloride (Rompun ; 바이엘 코리아, 서울, 한국)와 ketamine hydrochloride (Ketalar ; 유한양행, 서울, 한국)의 1 : 1 혼합액을 1 mL/kg의 용량으로 간내에 암종을 이식할 가토의 둔부 근육에 주사하여 마취시켰다. 마취된 가토의 복부 털을 전기면도기로 제거한 후, 정중앙 개복술을 시행하여 간을 노출시킨 다음, 미리 준비한 종양 현탁액을 1 mL 주사기에 넣고 18 게이지 정맥유지용 바늘(Medicut ;Jelcco, San Francisco, U.S.A.) 또는 혈관촬영용 천자침(Cook, Bloomington, U.S.A.)을 부착한 후 간 좌엽과 우엽에 0.1 mL 씩 두세 군데에 주사하였다. 절개된 복부를 봉합하고 거어즈를 절개부위에 덮어 부착한 후 감염을 방지하기 위하여 항생제를 근육주사 하였다. 암종이 이식된 가토 들을 MRI 검사를 시행할 때까지 사육장에서 정상적인 사료로 사육하였다. 초음파를 시행하여 간에 VX2 암종이 생긴 것을 확인한 후 관류 MRI를 시행하였는데, VX2 암종이 초음파상 확인될 때까지 걸린 시간은 이식한 지 7 - 14 일 이었다.

자기공명영상

MRI 촬영을 위하여, 전술한 방법대로 가토를 마취시킨 후, 가토의 귀 정맥에 23 게이지 주사침으로 정맥 주사할 통로를 확보한 다음 마취된 가토를 금속성 물질이 없는 목재판 위에 복와위 자세로 고정시켜 MRI 기기 내에 위치시켰다. 실험에 이용한 MRI 기기는 1.5 T Signa Horizon Echospeed MRI scanner(General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI, U.S.A.) 이었다. 가토의 복부를 직경 5 인치 평편형 다용도 표면코일(flat type GP surface coil)의 중앙에 위치시킨 후, 고식적 MRI와 관류 MRI를 시행하였다. 고식적 MRI는 스핀에코 T1강조영상(T1 weighted image, 이하 T1WI로 약함)과 T2 강조영상(T2 weighted image, 이하 T2WI로 약함)을 얻었다. T1WI는 반복시간(repetition time, 이하 TR로 약함)/에코시간(time to echo, 이하 TE로 약함) = 400 msec/9 msec로, T2WI는 TR/TE = 3400 msec/98 msec로 얻었으며, 사용된 영상범위(field of view, FOV)는 18×16 cm, 화소수(acquisition matrix) 256×192, 여기수(number of excitation) 2, 절편두께(slice thickness) 5 mm, 절편간격(intersection gap) 2.5 mm로 하였고 총 영상획득시간은 5분 정도였다. T1WI, T2WI를 획득한 후 관류 MRI를 시행하였다.

관류 MRI는 single - shot 경사에코 EPI 기법을 이용하였다. Single - shot 경사 EPI 기법을 이용한 관류 MRI는 TR infinite, TE 20 msec, bandwidth 2080 Hz/pixel, 화소수 128×128, 절편두께 4 mm, 절편간격 1.5 mm, 영상범위 18×16 cm, 여기수 1의 조건을 이용하여 얻었다. 확보한 귀 정맥을 통하여 0.1 mmol/kg의 gadolinium - DTPA (Magnevist ; Schering, Berlin, Germany)를 초당 2 - 3 mL/sec의 속도로 일시 주입한 후 MRI 영상을 얻었다. 조영제의 정맥 주입과 동시에 영상을 얻기 시작하여 120초 동안 2초마다 총 60개의 관류 MRI 영상을 획득하였다.

영상분석

얻어진 MRI 영상은 workstation(GE Advantage Windows 2.0)을 이용하여 분석하였다. 60개의 관류 MRI 영상에서 각각의 VX2 암종과 주위 정상 간 실질에 동일한 관심구역(region of interest, 이하 ROI로 약함)을 설정하여 신호강도를 측정한 후 조영증강율을 다음 공식에 의하여 산출하였다.

$$\text{조영증강율}(\%) = \frac{\text{조영증강 후 신호강도} - \text{조영증강 전 신호강도}}{\text{조영증강 전 신호강도}} \times 100(\%)$$

이 식에서 0% 미만인 조영증강율은 신호강도가 감소했음을 의미하고, 0% 이상은 신호강도가 증가했음을 의미한다. 산출된 조영증강율에 의거하여 시간에 대한 조영증강율을 표시한 시간-신호강도 곡선을 작성하였다. 암종 내에 괴사나 출혈이 일어난 경우에는 괴사나 출혈 부위를 피하여 ROI를 암종의 고형성분 부위에 위치시킨 후 신호강도를 측정하였다.

병리조직학적 검사

MRI 검사가 끝난 후 thiopental sodium(Pentothal ; 중외제약, 서울, 한국) 치사량(90 mg/kg)을 정맥 주사하여 토끼를 희생시킨 후 복부를 절개하고 간을 적출하였다. VX2 암종이 포함된 간 조직을 10% 포르말린 용액에 담아 고정한 후 파라핀에 포매하여 종양과 종양 주위의 간 조직이 충분히 포함되는 부위를 마이크로톰으로 잘라 표준 슬라이드 유리를 사용하여 조직표본을 제작한 후 hematoxylin-eosin 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다. 면역조직화학염색 검사는 이전에 보고된 방법에 따라 (18), VIII 인자 관련 항원에 대한 검사를 시행하여 염색된 혈관내피세포를 관찰함으로써 종양과 주위 정상 간 조직의 미세혈관밀도(microvessel density, 이하MVD로 약함)를 측정하였다. 먼저 낮은 배율(40 배)의 광학현미경으로 측정하여 혈관밀도가 가장 높은 부위를 정한 후, 높은 배율(200 배)에서 다섯 군데의 MVD를 측정하여 평균값을 구하였으며 그 평균값을 종양의 MVD로 정하였다. 또한 종양 주위의 정상 간 실질 다섯 군데의 MVD를 측정하여 그 평균값을 상응하는 정상 MVD로 정하였다.

통계처리

각각의 VX2 암종과 정상 간 실질에서 관찰된 최대 신호강도감소에 도달한 시간의 차이와 최대 조영증강율의 차이가 통계적으로 유의한지를 t-test를 이용하여 검증하였다. 또한 VX2

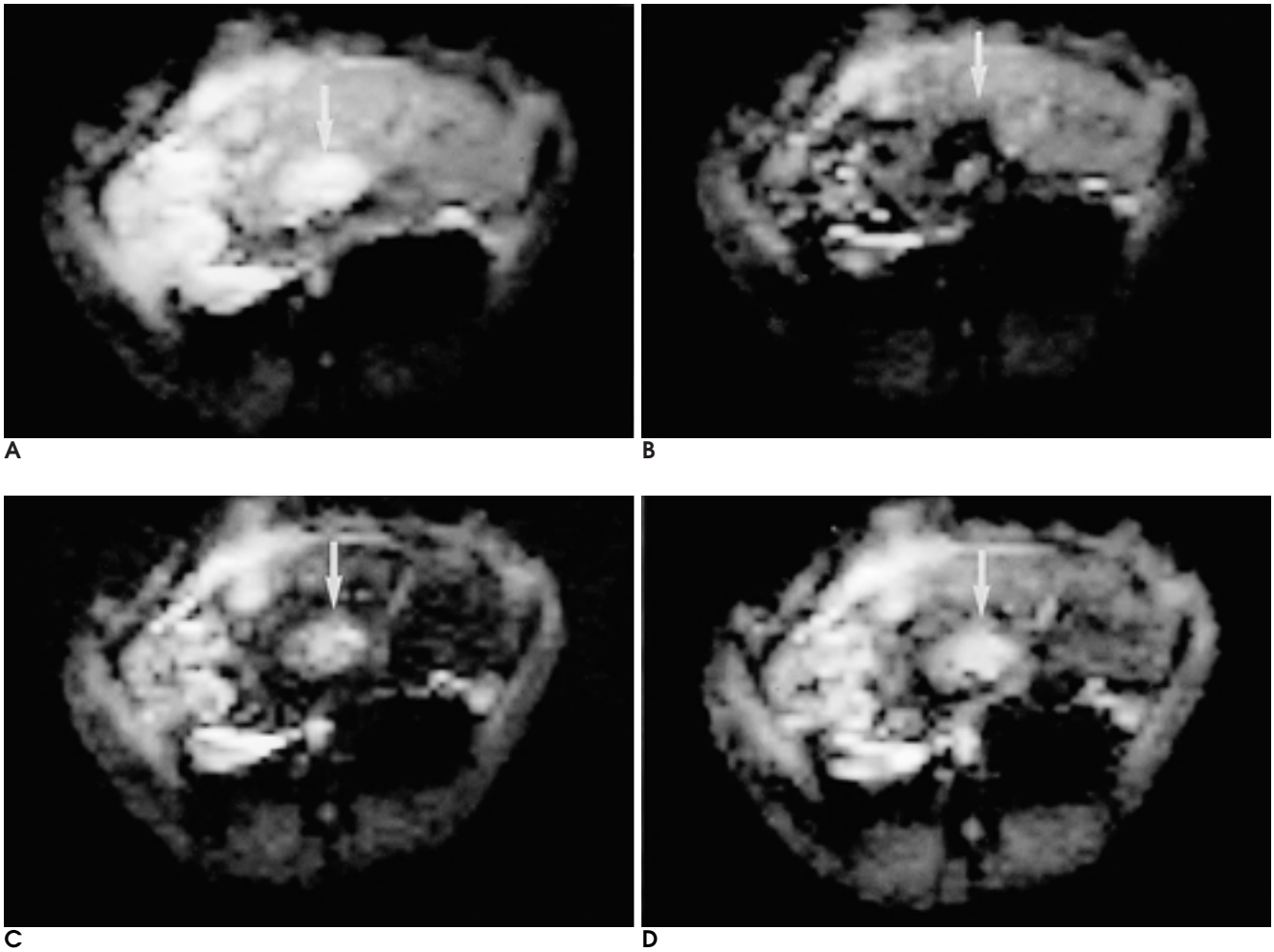

Fig. 1. Time-course perfusion MR images of a rabbit liver obtained before(**A**), 14 seconds(**B**), 32 seconds(**C**), and 120 seconds(**D**) after bolus injection of gadolinium-DTPA. The maximum signal intensity decrease of VX2 carcinoma(arrow) was observed at (**B**) and that of normal liver parenchyma was observed at (**C**).

암종과 주위 간 조직의 MVD의 차이가 통계적으로 유의한지도 t-test를 이용하여 검증하였다.

결 과

12 마리의 가토의 간에 생긴 총 15개의 VX2 암종이 이 연구에 포함되었다. 암종의 크기는 1-3 cm로 평균 1.8 cm 이었다.

관류 MRI 소견

조영제 주입 후 얻은 관류 MRI를 육안으로 관찰하였을 때, VX2 암종은 주위 간 실질에 비해 더 이른 시기에 신호강도가 현저히 감소하는 소견이 관찰되고, 신호강도의 회복도 정상 간 실질에 비해 일찍 일어나서 검사가 끝날 때까지 지속적인 신호강도의 회복 소견을 보였다. 이에 반하여 주위 정상 간 조직은 VX2 암종에 비해 신호강도의 감소와 회복이 VX2 암종보다 더 완만하게 일어나는 소견을 보였다 (Fig. 1). 관류 MRI에서 분석한 조영증강율을 기초로 하여 작성한 시간-신호강도 곡선에서 VX2 암종은 9-20초대의 초기 동맥 관류기에 신호강도의 감소와 회복 곡선이 급격히 이루어지는 소견을 보였으나 정상 간 실질의 곡선 양상은 12-50초대의 후기 문맥관류기에 완만한 신호강도의 감소와 회복 곡선을 나타내었다 (Fig. 2).

VX2 암종의 최대신호강도감소 시간은 13-16초(평균 15초)이었고, 정상 간 실질의 최대신호강도감소 시간은 28-36초(평균 32초)이었으며 (Fig. 3), 두 평균치는 통계적으로 유의한 차이가 있었다 ($p<0.001$). 최대 조영증강율은 VX2 암종에서는 27-84%(평균 47%)이었고, 정상 간 실질에서는 36-82%(평균 56%) 이었으며 (Fig. 4), 두 평균치는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

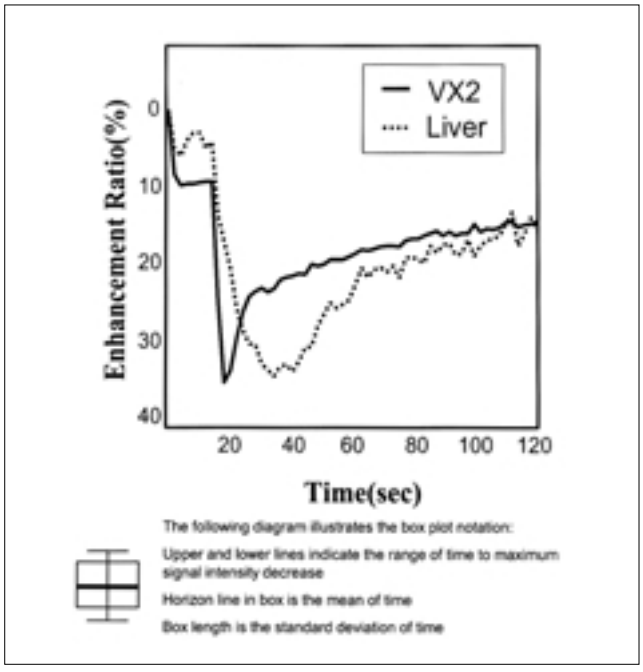

Fig. 2. Time-intensity perfusion curves of VX2 carcinoma(solid line) and normal liver parenchyma(dotted line). Perfusion curves demonstrate rapid decrement and immediate recovery of signal intensity of VX2 carcinoma at early perfusion phase and slower decrement and gradual recovery of that of normal liver parenchyma at late perfusion phase.

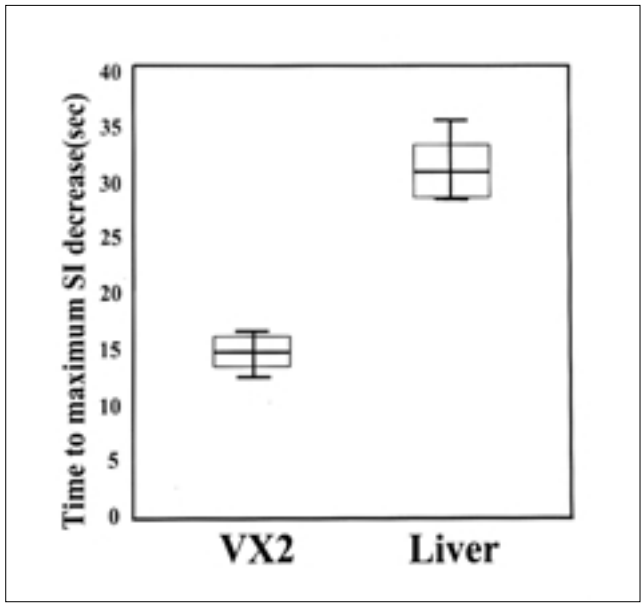

Fig. 3. Box plot demonstrates the ranges and means of time to maximum signal intensity(SI) decrease corresponding to VX2 carcinoma(n=15) and normal liver parenchyma(n=15).

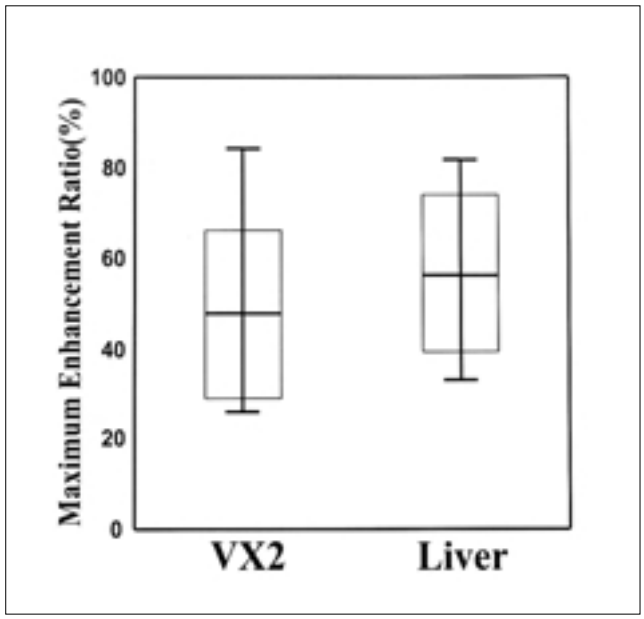

Fig. 4. Box plot demonstrates the ranges and means of maximum enhancement ratios corresponding to VX2 carcinoma(n=15) and normal liver parenchyma(n=15).

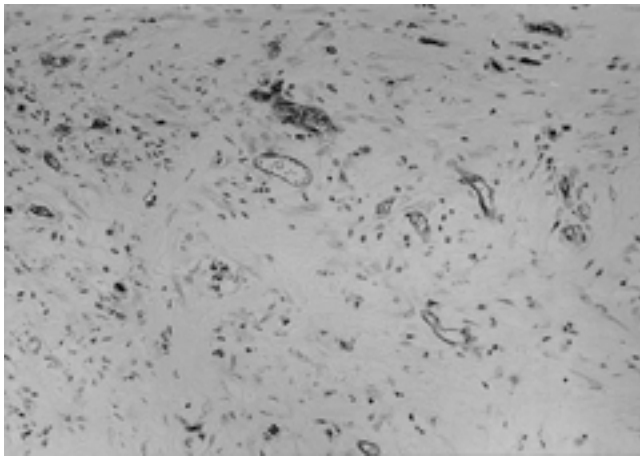

Fig. 5. Immunohistochemical stain for factor VIII-related antigen of the hepatic VX2 carcinoma shows rich neo-microvessels highlighted as brown colored slit-like structure(Factor VIII stain, ×200).

병리조직학적 소견

광학현미경으로 관찰한 VX2 암종은 조직학적으로 편평세포 암종으로 암종의 변연부에 종양세포가 굵은 띠 모양의 군집을 이루고 있었다. 종양세포의 핵은 원형 또는 난원형으로 염색질이 거칠며 분명한 핵소체가 두세 개 관찰되었고 세포질은 풍부하였으며 세포경계는 불분명하였다. 종양 중심부의 괴사부위는 핵농축(pyknosis), 핵융해(karyolysis) 소견을 보이는 변형된 종양세포가 비교적 형태를 유지하면서 세포질이 위축되어 세포간 경계가 벌어진 소견을 보이는 응고성 괴사(coagulative necrosis) 소견을 보였다. VX2 암종의 고형부위에서 보이는 간질은 종양세포 군집의 줄기를 이루고 있었는데 내부에 많은 길쭉한 난원형 또는 틈새처럼 보이는 신생미세혈관 들로 생각되는 구조물들과 염증세포, 섬유아세포들이 관찰되었다.

면역조직화학염색 검사상 VX2 암종과 정상 간 실질 내에 포함된 미세혈관의 혈관내피세포가 갈색으로 염색되어 신생미세혈관 들을 인지할 수 있었다 (Fig. 5). VX2 암종의 평균 미세혈관밀도는 200배 배율에서 시야당 75개(62-95)이었으며, 정상 간 실질의 미세혈관밀도는 평균 17개(10-24)였고, 이는 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다 (p<0.001).

고 찰

종양성 질환에서 맥관형성(angiogenesis)은 무제한적인 종양의 성장에 필수적인 역할을 할 뿐만 아니라, 종양의 타 장기 전이에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (18-22). 그러므로 종양의 맥관형성을 정확히 평가하는 것은 종양의 진단과 치료에 있어서 매우 중요하다고 하겠다. 맥관형성을 평가할 수 있는 방사선학적 검사법으로는 혈관조영술, 조영증강 전산화단층촬영술(computed tomography), 조영증강 MRI, 색도플러 초음파, 미세혈관촬영술 등이 있으나 (23-25), 이러한 진단기법 들은 육안적인 수준에서 맥관형성을 평가하는데 그치고 있다. 그러나, 관류 MRI는 모세혈관 수준의 미세 혈류의 변화를 검출할 수 있으므로, 종양의 맥관형성을 더욱 예민하게 진단할 수 있을 것으로 생각된다. 관류 MRI는 가돌리니움과 같은 조영제를 사용하는 초회 통과 기법과 조영제의 사용 없이 자화전이나 1800 반전펄스를 이용하는 동맥혈 양성자 부착(arterial spin-tagging) 기법이 있다 (3). 동맥혈 양성자 부착 기법은 체내 동맥혈액의 양성자를 이용하는 방법으로 초회 통과 기법에 비해 조영제를 사용하지 않아도 되며, 정량적인 관류 수치를 제공할 수 있으나 현재 국내에서는 상용화되지 않아 사용할 수 없는 상태이다. 저자의 연구에서도 초회 통과 기법을 이용한 관류 MRI를 시행하였다. 관류 MRI의 초회 통과 기법은 MRI 조영제에 의한 조직의 T2 또는 T2* 이완시간 단축을 그 원리로 하고 있다 (6). 가돌리니움은 조직의 T1 및 T2 이완시간을 단축시켜 T1 강조영상에서는 신호를 증가시키고 T2 강조영상에서는 신호를 감소시킨다. 즉, 정맥으로 급속 주입한 상자성 조영제가 목표 장기(target organ)의 혈관내를 처음으로 통과하는 동안 혈관과 주위 조직 사이에서 발생한 국소 자장의 불균질성(local magnetic field inhomogeneity)에 의해 혈관 벽을 사이에 두고 국소적인 자기장 경사를 만들게 된다. 이 자기장 경사는 조직과 혈관내에 분포한 스핀들의 위상일치(phase coherence)를 붕괴시켜 신호강도를 급격히 감소하게 만들며 이러한 변화에 민감한 펄스열을 사용하면 신호강도의 변화를 잘 감지해낼 수 있게 된다. 이러한 원리를 이용하여 가돌리니움을 일시 주입하고 고속영상기법을 사용하여 일정 부위에 대한 수십 개의 역동적 영상들을 얻은 후, 이 결과를 정성적 또는 정량적으로 분석하면 조직의 혈역학적인 데이터를 얻을 수 있다 (4, 7). 혈관내 조영제의 농도가 높을수록 국소 자장의 불균질성은 커져 조직의 T2 신호는 더욱 감소하게 되며 이러한 신호감소는 혈류량에 비례하게 된다. 또한 같은 양의 조영제를 사용하더라도 T2 강조영상보다는 T2* 강조영상에서 더 큰 국소 자장의 불균질성을 유도할 수 있으므로 흔히 사용되는 MRI 펄스열은 T2* 강조영상 즉 경사에코기법(gradient echo imaging)이다 (8, 11).

EPI는 단 한차례의 펄스열 내에서 영상 구성에 필요한 모든 정보를 획득하므로 1초당 약 10-20개의 영상을 얻을 수 있어서, 가돌리니움과 같은 세포외액 조영제(extracellular contrast agent)가 혈관내 공간에서 혈관외 공간으로 이동하기 전에 영상을 획득하기에 적절한 MRI 기법이다 (26). 그러므로 EPI는 뛰어난 시간 분해능(temporal resolution)과 강한 자화율 효과(susceptibility effect)의 장점으로 인해 복부 관류 MRI를 시행하기에 가장 적합한 펄스열이라고 할 수 있겠다. 여러 가지 EPI 기법들 중에서 경사에코 EPI는 스핀에코 EPI 기법에 비해 스캔 시간이 더욱 짧고, T2* 강조영상이므로 자화율 효과에 대해 더욱 민감하다는 장점이 있다. 조영증강 EPI 영상에서 조영제의 농도와 펄스열을 달리했을 때 간의 신호강도의 차이에 대한 Reimer 등 (26)의 보고에 의하면 자화율 효과는 모든 펄스열 중에서 T2* 강조 경사에코기법에서 가장 크게 나타났으며, T2 강조 스핀에코 기법에 비해, T2* 강조 경사에코기법에서 신호강도의 감소 정도가 10% 이상 심하게 나타난다고 하였다. 저자의 연구에서도 T2*강조 경사에코 EPI 기법을 이

용하여 관류 MRI를 시행하였는데 모든 예에서 만족할만한 영상을 얻을 수 있었고, 뚜렷한 자화율 효과에 의한 VX2 암종과 주위 간 조직의 음성 조영증강(negative enhancement) 효과를 육안적으로도 잘 관찰할 수 있었다.

복부에서 관류 MRI의 이용에 대한 임상 연구는 이제 시도되는 단계이다. Ichikawa 등 (14)은 간내 국소 병변을 가진 61명의 환자에서 가돌리니움 주입 후 경사에코 EPI 펄스열을 이용한 관류 MRI를 시행하여 종양의 혈역학적인 차이점을 이용하여 국소 간 종괴를 감별진단 하려는 시도를 하였다. 즉, 혈관종, 전이암, 간세포암의 세 가지 간내 종괴에서 음성 조영증강 양상, 즉 관류 곡선이 서로 다르게 관찰되므로 간종양에 대한 감별진단이 가능하다고 보고하였다. 또한 그들은 대부분의 간세포암은 관류기에 일시적인 신호강도의 감소가 일어났다가 급속하게 신호강도가 회복되는 소견을 보였으며, 이러한 일시적인 신호강도의 감소는 종양의 혈관내 공간에 집적된 가돌리니움의 자화율 효과에 의한 것이며, 혈관 내 가돌리니움이 급속히 혈관 외 공간으로 빠져나가거나 종양의 혈관을 통과하고 나면 자화율 효과도 사라지게 되므로 종양의 신호강도도 급속히 회복하게 된다고 설명하였다. 또한 Ichikawa 등 (16)은 가돌리니움 대신 초상자성 산화철(superparamagnetic iron oxide, SPIO) 조영제를 이용한 관류 MRI를 이용하여 간세포암의 분화 정도에 따른 혈관분포상태를 평가할 수 있다고 하였다. 그들은 간세포암의 분화도가 낮을수록 종양내 신호강도의 감소가 더 심한 소견이 관찰되어 관류 MRI가 혈관분포상태를 반영할 수 있다고 보고하였다.

이 연구에서 관류 MRI를 시행한 결과, 가토 간의 VX2 암종과 주위 정상 간 실질에서 얻어진 시간 - 신호강도 관류 곡선이 모든 예에서 일정한 양상을 나타내는 것을 관찰할 수 있었다. 즉, VX2 암종의 관류 곡선의 양상은 초기 동맥 관류기에 신호강도의 감소와 회복이 급격히 이루어지는 소견을 보였으며, 정상 간 실질의 관류 곡선의 양상은 후기 문맥관류기에 넓은 시간대에 걸쳐 완만한 신호강도의 감소와 회복 소견을 나타내었다. VX2 암종의 최대 신호강도 감소까지 걸린 시간은 13 - 16초(평균 15초) 이었고. 정상 간 실질은 28 - 36초(평균 32초) 이었으며, 이는 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($p<0.01$). 인체와 마찬가지로 가토의 정상 간은 전체 혈류의 75%를 간문맥으로부터 공급받고, 나머지 25%를 간 동맥으로부터 공급받으며, 가토 간의 VX2 암종은 거의 대부분의 혈액 공급이 간동맥으로부터만 이루어지는 것으로 잘 알려져 있다 (27). 그러므로, 이 실험 연구의 결과 얻어진 VX2 암종과 정상 간 조직의 관류곡선의 양상은 위와 같은 간의 악성 종양과 정상 조직간의 혈류 공급의 차이를 그대로 반영하는 소견으로 생각된다. 또한 가토 간의 악성종양인 VX2 암종의 관류 MRI 소견은 Ichikawa 등 (16)의 연구에서의 간세포암의 관류 곡선의 특성과 거의 일치되어 관찰되었는데 이는 가토의 VX2 암종과 인체의 일차성 간세포암의 혈류 공급 양상이 유사하기 때문으로 생각되며, 관류 MRI는 이와 같이 종양의 맥관형성에 의한 혈류 공급의 변화를 잘 반영하는 검사법이라고 생각된다.

저자의 연구에서는 이와 같은 VX2 암종과 정상 간 실질의 관류특성의 차이를 병리조직학적으로 설명하기 위해 VIII 인자 관련항원을 이용한 면역조직화학검사를 시행하여 암종과 정상 간 실질에서 미세혈관밀도를 측정하였다. 광학현미경하에서 VX2 암종에서는 악성종양의 맥관형성을 반영하는 수많은 신생미세혈관 들이 주로 암종의 기질(stroma) 부위에서 관찰되었다. VX2 암종의 MVD는 정상 간 실질의 MVD에 비해 훨씬 높았으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($p<0.01$). 이러한 VX2 암종 내에서 관찰된 모세혈관 양상의 수많은 신생혈관 들에 의해 관류곡선상 초기 동맥관류기에 급격한 신호강도의 감소를 보이는 VX2 암종의 관류특성이 나타나는 것으로 생각된다.

저자의 실험 연구에서 가토 간의 VX2 암종은 정상 간 실질과 완전히 다른 양상의 관류 특성을 보였으며, 이러한 관류 특성이 악성종양의 맥관형성에 의한 것임을 면역조직화학염색 검사에 의해 확인할 수 있었다. 이 연구 결과를 임상에 적용하면 관류 MRI가 만성 간 질환 환자의 간내 결절을 감별 진단하는데 있어서 향후 유망한 진단 검사법이 될 수 있을 것으로 생각된다.

이상의 연구 결과를 종합하면, 관류 MRI를 이용하여 가토 간의 VX2 암종의 일정한 관류특성을 관찰할 수 있었으며 이와 같은 관류특성은 병리조직학적으로 악성종양의 맥관형성에 의해 나타남을 확인할 수 있었다. 그러므로, 관류 MRI는 간 종양의 맥관형성을 잘 반영하는 방사선학적 검사법으로 향후 간 종양의 감별진단에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Cherryman G. Magnetic resonance imaging in oncology. *Br J Cancer* 1990;61:5-6
2. Argent J, Beer T. Developing diagnostic techniques: the role of magnetic resonance imaging in tumour staging. *J Pathol* 1995;175:357-363
3. Jezzard P. Advances in perfusion MR imaging. *Radiology* 1998;208:296-299
4. Kucharczyk J, Vexler ZS, Roberts TP, et al. Echoplanar perfusion sensitive MR imaging of acute cerebral ischemia. *Radiology* 1993;188:711-717
5. Fisel CR, Ackerman JL, Buxton RB, et al. MR contrast due to microscopically heterogeneous magnetic susceptibility: numerical simulations and applications to cerebral physiology. *Magn Reson Med* 1991;17:336-347
6. Le Bihan D. Theoretical principles of perfusion imaging: application to magnetic resonance imaging. *Invest Radiol* 1992;27:suppl 2. S6-11
7. Atkinson DJ, Burstein D, Edelman RR. First-pass cardiac perfusion: evaluation with ultrafast MR imaging. *Radiology* 1990;174: 757-762
8. Roberts DA. Detre JA, Bolinger L, et al. Renal perfusion in humans: MR imaging with spin tagging of arterial water. *Radiology* 1995;196:281-286
9. Tzika AA, Massoth RJ, Ball WS, Majumdar S, Dum RS, Kirks DR. Cerebral perfusion in children: detection with dynamic contrast-enhanced T2*-weighted MR images. *Radiology* 1993;187:449-458
10. Edelmann RR, Mattle HP, Atkinson DJ, et al. Cerebral blood flow: assessment with dynamic contrast T2* weighted MR imaging at

1.5 T. *Radiology* 1990;176:211-220
11. Stehling MJ, Howseman AM, Ordidge RJ, et al. Whole-body echo-planar MR imaging at 0.5 T. *Radiology* 1989;170:257-263
12. Stehling MK, Evans DF, Lamont G, et al. Gastrointestinal tract: dynamic MR studies with echo-planar imaging. *Radiology* 1989;171: 41-46
13. Reimer P, Saini S, Hahn PF, Brady TJ, Cohen MS. Clinical application of abdominal echoplanar imaging(EPI): optimization using a retrofitted EPI system. *J Comput Assist Tomogr* 1994;18:673-679
14. Ichikawa T, Haradome H, Hachiya J, Nitatori T, Araki T. Perfusion-weighted MR imaging in the upper abdomen: preliminary clinical experience in 61 patients. *AJR Am J Roentgenol* 1997;169:1061-1066
15. Ichikawa T, Haradome H, Hachiya J, Nitatori T, Araki T. Characterization of hepatic lesions by perfusion-weighted MR imaging with an echoplanar sequence. *AJR Am J Roentgenol* 1998;170:1029-1034
16. Ichikawa T, Arbab AS, Araki T, et al. Perfusion MR imaging with a superparamagnetic iron oxide using T2-weighted and susceptibility-sensitive echoplanar sequences: evaluation of tumor vascularity in hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 1999;173:207-213
17. Roncalli M, Roz E, Coggi G, et al. The vascular profile of regenerative and dysplastic nodules of the cirrhotic liver: implications for diagnosis and classification. *Hepatology* 1999;30:1174-1178
18. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8
19. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182-1186
20. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989;339:58-61
21. Folkman J. Seminars in medicine of the Beth Israel hospital, Boston: Clinical application of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995;333:1757-1763
22. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Can Inst* 1990;82:4-6
23. Ney FG, Feist JH, Altemus LR, Ordinario VR. Characteristic angiographic criteria of malignancy. *Radiology* 1972;104:567-570
24. Tanaka S, Kitamura T, Fujita M, Nakanishi K, Okuda S. Color Doppler flow imaging of liver tumors. *AJR Am J Roentgenol* 1990;154:509-514
25. Lencioni R, Pinto F, Armillotta N, Bartolozzi C. Assessment of tumor vascularity in hepatocellular carcinoma: comparison of power Doppler US and color doppler US. *Radiology* 1996;201:353-358
26. Reimer P, Saini S, Kwong KK, Cohen MS, Weissleder R, Brady TJ. Dynamic gadolinium-enhanced echoplanar MR imaging of the liver: effect of pulse sequence and dose on enhancement. *J Magn Reson Imaging* 1994;4:331-335
27. Burgener FA, Violante MR. Comparison of hepatic VX2 carcinomas after intraarterial, intraportal and intraparenchymal tumor cell injection: an angiographic and computed tomographic study in the rabbit. *Invest Radiol* 1979;14:410-414

J Korean Radiol Soc 2001;45:167-174

Assessment of Neoplastic Angiogenesis Using Perfusion-Weighted MR Imaging: Experimental Study in VX2 Carcinoma in Rabbits[1]

Woong Yoon, M.D., Heoung Keun Kang, M.D., Jin Gyoon Park, M.D., Jae Kyu Kim, M.D., Jeong Jin Seo, M.D., Yun Hyun Kim, M.D., Yong Yeon Jeong, M.D., Tae Woong Chung, M.D., Gwang Woo Jeong, M.D., Jong Hee Nam. M.D.[2]

[1]*Department of Diagnostic Radiology, Chonnam National Universtiy Medical School*
[2]*Department of Anatomical Pathology, Chonnam National Universtiy Medical School*

Purpose: To evaluate the perfusion-weighted MR imaging findings of hepatic VX2 carcinoma in rabbits and to explain the perfusion characteristics of this condition by correlation with the histopathological findings.
Materials and Methods: Twelve New Zealand white rabbits, each weighing between 2.5 and 3.5 (mean) 3.1 kg, were used in this study. Perfusion MRI using single-shot gradient-echo EPI was performed 7 - 21 days after the injection of tumor cell suspension into the hepatic parenchyma by laparotomy. On the basis of the calculated enhancement ratio, the time-intensity perfusion curves for VX2 tumor and normal liver parenchyma were created, and the shapes of these curves, the time to maximum SI decrease, and the maximum enhancement ratio in each, were evaluated. To assess microvessel density in each VX2 carcinoma and in normal liver parenchyma, immunohistochenical study using factor VIII-related antigen was performed.
Results: A total of 15 tumors 1 - 3 cm in diameter were revealed by MR imaging. The perfusion curve showed rapid decrement and immediate recovery of the signal intensity of VX2 carcinoma during the early arterial perfusion phase and slower decrement and gradual recovery of that of normal liver parenchyma during the late portal perfusion phase. In all cases, these were constant findings. The time to maximum signal intensity decrease was 13 - 16 (mean, 15) secs in VX2 carcinoma and 28 - 36 (mean, 32) secs in normal liver parenchyma ($p < 0.01$). The maximum enhancement ratio of VX2 carcinoma and normal liver ranged from 27 to 84% (mean 47%) and from 36 to 82% (mean, 56%), respectively. Immunohistochemical study showed that the MVD of VX2 carcinoma was significantly greater than that of normal liver parenchyma(75 vs 17, $p < 0.01$).
Conclusion: Perfusion-weighted MR imaging appears to be a useful tool for the diagnosis of neoplastic angiogenesis, and thus holds promise differentiating liver tumors.

Index words : Magnetic resonance (MR), perfusion study
Liver neoplasms, MR
Neoplasms, MR
Neoplasms, experimental studies

Address reprint requests to : Heoung Keun Kang, M.D., Department of Diagnostic Radiology, Chonnam University Hospital, 8, Hak-dong, Kwangju 501-757, Korea.
Tel. 82-62-220-5746 Fax. 82-62-226-4380