대한영상의학회지 2005;53:253 - 262

혈관내 중재시술기법을 이용한 가토 중뇌동맥 폐색 모델의 개발과 자기공명영상을 이용한 유용성 평가[1]

이덕희 · 최충곤 · 김상준 · 차상훈[2] · 박길선[2]

목적: 최근 허혈성 뇌경색에 대하여 자기공명영상 등 의학 영상술을 이용하는 연구가 활발하게 진행되면서 영상 연구에 적합한 좋은 실험 동물 모델이 필요한 상황이다. 본 연구에서는 가토에서 혈관내 중재시술 기법을 이용하여 제작하기 쉽고, 높은 재현성과 반복성을 보장하는 중뇌동맥 급성 폐색 동물 모델을 개발하고 MRI를 이용하여 그 유용성을 평가하고자 하였다.

대상과 방법: 가토의 대퇴동맥을 통하여 4Fr 도관을 총경동맥까지 삽입하고, 미세도관을 동축으로 삽입하여 내경동맥을 선택한 뒤, 입자성 색전 물질을 중뇌동맥에 주입하는 중재적 기법을 이용한 중뇌동맥 폐색 모델을 고안하고, 총 10개체를 만들었다. 제작 과정상의 기술적인 평가를 위해 대퇴동맥을 통한 카테터 삽입 성공 여부, 총경동맥과 내경동맥 선택 성공 여부, 중뇌동맥 폐색 성공 여부, 허혈 경과 6시간 이후 생존 여부를 관찰하였다. 중뇌동맥 폐색 후 확산강조영상에서 병변이 관찰되는 경우 허혈 유도에 성공한 것으로 판단하였으며, 유도된 병변의 크기를 hemispheric lesion volume (HLV, %)으로 나타내었다. 허혈 유도 후 6시간까지 매 시간별로 촬영한 DWI와 T2강조영상에서 나타나는 신호 강도의 변화를 관찰하고 현재까지 알려진 MRI 소견과 비교하였다.

결과: 10개체 모두 대퇴동맥을 통해 도관의 삽입과 총경동맥 (우총경동맥: 7, 좌총경동맥: 3) 선택에 성공하였으며, 동축으로 미세도관을 삽입하여 내경동맥을 용이하게 선택할 수 있었고, 중뇌동맥 폐색에 성공하였다. 8개체에서 허혈 경과 1시간째 시행한 DWI에서 병변이 확인되었고, 나머지 2개체에서는 2시간째부터 DWI에서 병변이 관찰되었으며, 얻어진 병변의 HLV (평균±표준편차)는 35.7±14.6%이었다. 전 개체 모두 혈관 폐색 후 6시간 이상까지 생존하였다. 폐색 완료 후 1시간 경과 시 병변과 정상부위의 상대적 현성확산계수 값은 0.80±0.13이었다. 시간의 경과에 따라서 경색부의 DWI 신호 강도는 점차 증가하고, ADC값은 점진적으로 감소하는 경향을 보였고, T2강조영상에서는 병변의 신호 강도가 서서히 증가하는 소견을 보였다 (p< 0.0001).

결론: 혈관내 중재시술 기법을 이용하여 새롭게 개발한 가토 중뇌동맥 폐색 모델은 제작이 용이하고 병변의 재현성이 높은 영구 혈관 폐색 모델이다. 이 모델에서 유발된 급성 허혈성 병변은 전형적인 MRI 소견을 보였으며, MRI를 이용한 허혈성 뇌경색에 관한 연구에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

허혈성 뇌경색에 관한 연구가 그 어느 때보다 활발하며 그 결실도 실로 방대한데, 이는 좋은 허혈 모델 없이는 불가능했을 것이다 (1). 뇌허혈의 동물 모델은 광범위하게 뇌 전체의 허혈을 유도하는 경우 (global ischemia model)와 국소적으로 허혈을 유도하는 경우 (focal ischemia model)로 나눌 수 있다 (2). 이 중 후자가 급성 허혈성 뇌졸중 환자의 상황을 더 잘 반영하므로 선호되고 있으며, 특히 중뇌동맥 영역의 허혈을 유도하는 것이 일반적인 방법이다.

현재까지 여러 동물 모델이 개발되었으며, 뇌허혈에 관한 연구에 가장 많이 사용되고 있는 동물은 백서 (rat)이다. 저렴하면서도 유전적으로 균질하고 인간 뇌의 혈관상과 매우 유사하기 때문이다. 그 외에도 가토, 고양이, 돼지, 유인원 등도 이용되고 있으며, 실험의 성격에 맞는 실험 동물과 제작 방법을 선택하는 것이 필요하다 (3).

[1]울산대학교 의과대학 서울아산병원 방사선과
[2]충북대학교 의과대학 영상의학과
이 연구는 아산생명과학연구소의 연구비(2003 - 329) 지원에 의하여 이루어졌음.
이 논문은 2005년 6월 8일 접수하여 2005년 7월 22일에 채택되었음.

최근 허혈성 뇌경색에 관한 자기공명영상(magnetic resonance imaging, MRI)등 의학영상술(medical imaging)을 이용하는 관련 연구가 활발하게 진행되고 있어, 뇌경색에 대한 연구에 영상의학을 접목하기 위해 좋은 동물 실험 모델이 필요한 상황이다. 그러나 널리 사용되고 있는 백서 모델의 경우 다양한 중뇌동맥 허혈 모델이 사용되고 있으나(4-7), 영상의학적 측면에서 볼 때, 대부분 외과적 조작이 필요하여 모델 제작에 어려움이 있을 수 있고, MRI를 시행할 때 인공물이 발생할 수 있으며, 각종 영상 검사를 시행하기에는 뇌의 크기가 작다는 단점이 있다.

이러한 단점을 보완하기 위해 경동맥(carotid artery)이나 중뇌동맥(middle cerebral artery)에 외과적으로 직접 접근하는 것이 아니라, 최근 발전하는 혈관내 중재시술 기법(endovascular interventional techniques)을 이용해서 대퇴동맥(femoral artery)을 통하여 도관을 삽입하고 내경동맥(internal carotid artery)까지 접근하는 방법을 사용할 경우, 덜 침습적이므로 대상 동물에게 가해지는 스트레스를 줄일 수도 있고, 영상을 얻을 때 발생할 수 있는 인공물의 형성을 최소화할 수 있을 것으로 생각하였다.

중재시술 기법을 이용하기 위해서는 백서보다 큰 동물이 요구되며, 고양이와 가토가 그 대상이 될 수 있다. 이 중 고양이는 괴망(rete mirabile)이라는 해부학적 특성을 가지고 있으므로, 중재시술 기법을 이용한 모델을 만들기는 적당하지 않은 반면에 가토는 이와 같은 구조적 특징이 없으므로 더 적당한 모델이 될 수 있을 것으로 판단하였다. 따라서 이 연구에서는 영상의학의 기본 술기인 혈관내 중재시술 기법을 이용하여 가토 중뇌동맥 급성 폐색 모델을 개발하고, 자기공명영상을 이용하여 그 유용성을 평가하고자 하였다.

대상과 방법

동물 준비와 마취

가토 혈관의 해부학적 특징을 파악하고, 모델 제작에 적당한 개체의 크기, 혈관조영술과 색전술을 시행하는데 적절한 도관(catheter)의 직경, 색전물질의 입자의 크기 등에 관한 기본적인 정보를 얻기 위해 다양한 크기의 가토 8마리에 대한 예비 실험을 시행하였다. 그 결과 3.5 kg이상의 가토를 대상으로 정맥 마취 하에 우측 대퇴동맥으로 삽입한 4Fr 도관을 총경동맥(common carotid artery)에 삽입하고, 그 동축으로(coaxial) 미세도관(microcatheter)을 경부 내경동맥(cervical internal carotid artery)에 삽입하여, 입자성 색전물질(particulate embolic material)을 혈류를 따라 주입하여 중뇌동맥을 폐색하는 방법을 고안할 수 있었다.

개발된 모델의 실현 가능성에 검증하기 위한 본 실험은 총 10마리의 건강한 3.5-4.5 kg의 수컷 뉴질랜드 백토(New Zealand White Rabbit)를 대상으로 하였다. 실험동물을 ketamine hydrochloride(Ketara, 유한양행, 한국) 0.5 mg/kg와 xylazine(Rompun, 바이엘코리아, 한국) 0.15 cc/kg을 혼합하여 근육 주사하여 안정시킨 상태에서 하복부와 대퇴부 등의 체모를 제거하고 앙와위로 혈관촬영대에 고정하였다. 대퇴동맥 박동이 촉지되는 우측 서혜부를 1 cc정도의 lidocaine hydrochloride(Lidocaine, 유한양행, 한국)을 이용하여 침윤 마취를 시행하고 대퇴동맥의 주행 방향을 따라 약 2 cm 정도 피부를 절개한 뒤, 근육을 박리하여 대퇴동맥과 정맥을 노출시켰다. 동맥 도관의 삽입을 위하여 노출된 대퇴 동맥을 21 G 천자 바늘(Micropuncture, COOK, Bloomington, IN, U.S.A.)을 이용하여 천자하고, 4 Fr 혈관조영용 도관(Terumo, Tokyo, Japan)을 삽입하였다.

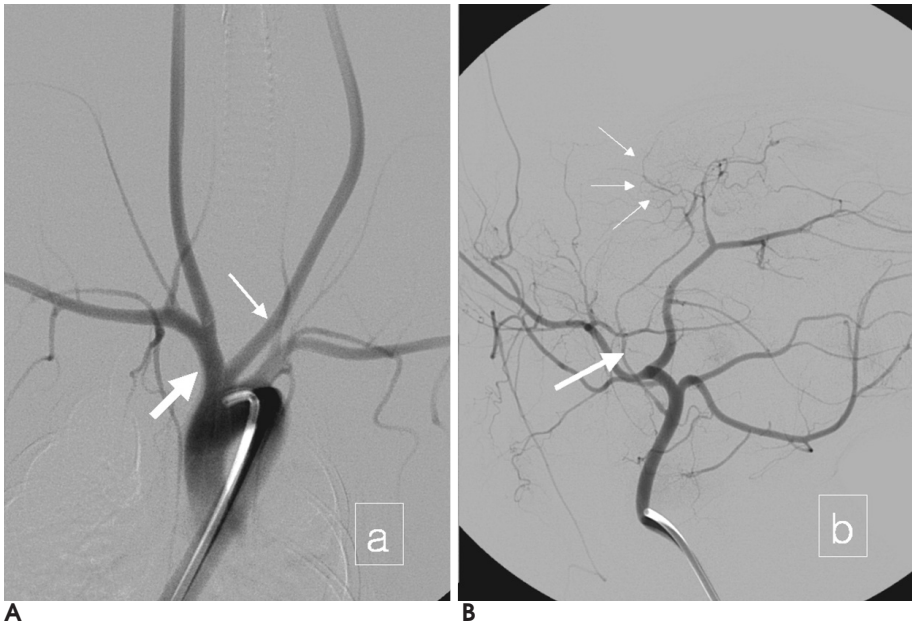

Fig. 1. Angiographic findings of a representative rabbit.
A. Ascending aortogram showing the anatomic relationship of supraarotic major branch vessels. Right brachiocephalic artery (thick arrow), left common carotid artery (small arrow) (**B**) Right common carotid arteriogram of a rabbit. The external carotid system predominates over the internal carotid system (large arrow). Fine middle cerebral artery branches are noted (small arrows).

도관의 끝을 흉부 대동맥에 위치시키고 혈액 응고에 의한 도관의 폐색을 방지하기 위해 헤파린을 섞은 생리식염수(1000 unit/500 ml saline)를 소량씩 주입하였다. 이어서 함께 노출된 대퇴정맥을 천자하여 정맥로를 확보하였다. 이 경로를 통하여 마취 유지 목적으로 ketamine 50 mg을 생리 식염수 500 cc에 혼합한 형태로 정맥 내로 점적 투여하였고, 개체의 호흡을 관찰하면서 주입 속도를 조절하였다. 마취의 깊이를 주의 깊게 관찰하면서 점적 속도를 조절하였다.

혈관조영술

대상 동물의 혈관상을 파악하기 위하여 먼저 혈관조영술을 시행하였다. 투시 하에서 대퇴동맥으로 삽입한 4Fr 도관의 끝을 상행대동맥에 위치시키고 혈관촬영을 시행하여 우완두동맥(right brachiocephalic artery)과 좌총경동맥의 위치를 확인하였다(Fig. 1A). 우완두동맥을 도관과 유도철사(guidewire)를 이용하여 선택하여 우총경동맥조영술(right common carotid arteriogram)을 얻었으며, 그 방법이 어려운 경우 좌총경동맥을 선택하여 혈관조영을 시행하였다. 내경동맥은 매우 가늘지만 특징적인 경로를 보이고 있었다(Fig. 1B). 혈관의 크기는 원위부 총경동맥 부위와 경부 내경동맥 부위에서 그 직경을 각각 측정하였다. 0.014 인치 미세도관(Prowler; Cordis Endovascular, Miami Lakes, FL, U.S.A.)과 미세유도철사(microguidewire)(Agility; Cordis Endovascular, Miami Lakes, FL, U.S.A.)를 이용하여 내경동맥을 초선택(superselection)하였고, 윌리스 환(circle of Willis)의 발달 여부를 확인하기 위하여 선택적 내경동맥조영술(selective internal carotid arteriography)을 시행하였다. 전교통동맥(anterior communicating artery)의 발달 여부는 전면촬영(Fig. 2A)에서, 후교통동맥의 발달 여부는 측면촬영(Fig. 2B)에서 확인 가능하였다.

중뇌동맥 폐색

중뇌동맥의 폐색을 달성하기 위해서는 영구 폐색이 가능한 입자성 색전물질을 이용하는 것이 가장 적절할 것으로 판단하였다. 내경동맥조영술 소견을 고려하여 중뇌동맥이 혈류를 따라 주입된 색전물질에 의해 폐색되도록 유도하였다. 색전물질은 입자의 크기가 150 - 250 (m인 polyvinyl alcohol (Contour emboli; Interventional Therapeutics Corporation, Fremont, CA, U.S.A.)을 사용하였다. 조영제와 생리 식염수를 2:1의 비율로 섞은 용액에 혼합하여 덩어리가 생기지 않도록 하여 소량씩 미세도관으로 주입하였다. 투시 하에서 첨가된 조영제의 역류 여부를 관찰하면서 중뇌동맥이 폐색될 때까지 투여하였다. 충분한 폐색을 위해서 원위부 내경동맥이 후교통동맥 직상방에서 단절되어 보일 때까지 주입하였다.

폐색의 성공 여부는 최종 혈관조영술을 시행하여 확인하였고(Fig. 2C), 그때부터 허혈 경과 시간을 측정하였다. 폐색이 완료된 것이 확인되면 미세도관을 포함한 모든 동맥 도관을 제거하고, 천자하였던 대퇴동맥은 봉합사를 이용하여 결찰하고 마취제의 지속적 투여를 위한 정맥로만 남겨둔 상태에서 절개창을 봉합하였다.

MR 영상의 획득

정맥 마취 상태를 유지하면서 1.5 T 자기공명영상장치(GE CVi; GE Medical Systems, Waukesha, WI, U.S.A.)로 개체를 옮기고 구획형 슬관절 코일(quadrature knee coil) 내에 앙와위로 위치시켰다. 폐색 후 1시간 경과 후부터 대뇌를 중심으로 다음과 같은 영상 획득 파라미터를 이용하여 b factor 1000 mm/sec^{2}의 확산강조영상(diffusion - weighted

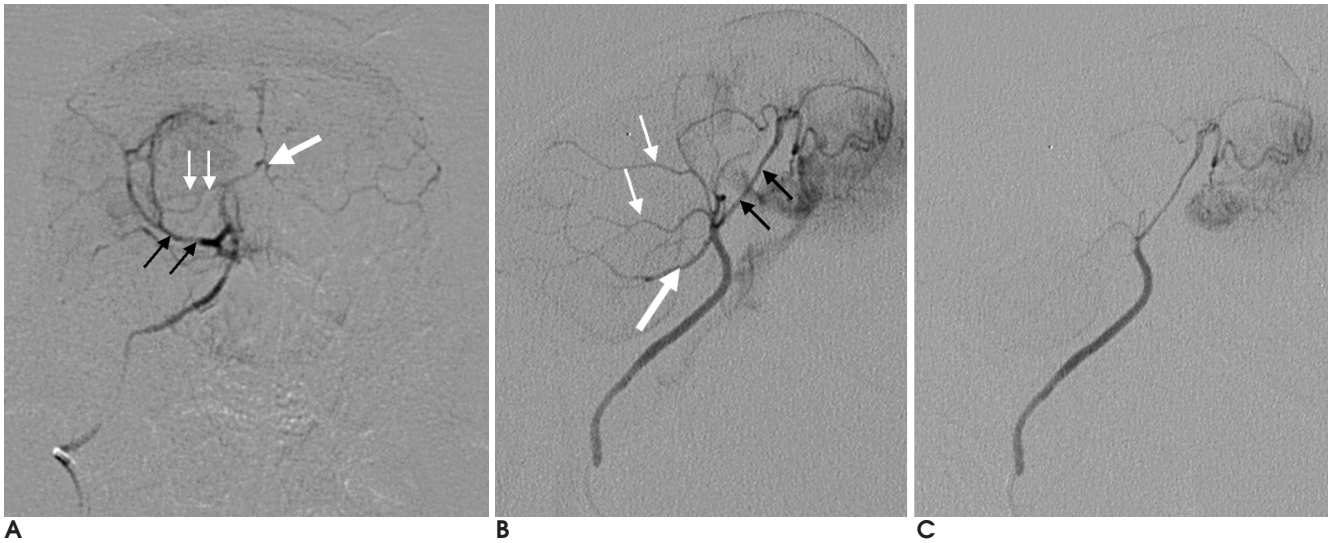

Fig. 2. A selective angiogram of the right internal carotid artery.
A. An azygos anterior cerebral artery or anterior communicating artery (thick arrow) is noted on the frontal view.
B. A posterior communication artery (thick arrow) is noted on the lateral view. Thin branches of right middle cerebral artery (MCA) (thin white arrows) and a large ophthalmic artery (thin black arrows) are noted.
C. Branches of the MCA are not filled after embolization.

image, DWI)과 T2강조영상(T2-weighted image, T2WI)을 얻었다. 공통적으로 횡단면상을 field-of-view(FOV)=150 mm; 절편 두께=4 mm로 절편간 간격 없이 총 8 단면을 얻었다. DWI은 단발(single-shot) EPI 기법을 이용하여 matrix=128×128; repetition time(TR)/echo time(TE)=7500/78 ms; number of excitation(NEX)=2로 얻었으며, 영상 획득 시간은 약 1분이 소요되었다. T2강조영상은 고속 스핀에코(fast spin echo, FSE) 기법을 이용하였고 TR/TE=4000/120; matrix=256×224; NEX=2로 얻었으며 획득 시간은 1분 36초가 소요되었다.

허혈 발생 1시간 경과 시부터 매 1시간 간격으로 상기 영상들을 획득하여, 6시간 경과 시까지 검사를 시행하였고, 검사 종료 후 남은 정맥 마취제를 급속 정주하는 방법으로 실험 동물을 희생시켰다.

모델의 평가

실험 모델 제작의 성공 여부는 크게 허혈 유도 성공을 포함한 기술적인 부분과 중뇌동맥 폐색 모델로서의 일반화 가능성 부분의 두 가지 측면에서 평가하였다. 제작 과정상의 기술적인 부분의 평가는 각 개체에서 대퇴동맥을 통한 카테터 삽입 성공 여부, 대동맥궁에서 총경동맥 선택 성공 여부, 혈관조영술상 중뇌동맥 폐색 성공 여부, 내경동맥 선택 가능 여부와 허혈 경과 6시간 이후 생존 여부를 알아보았다. 중뇌동맥 폐색 후 확산강조영상에서 병변이 관찰되는 경우 허혈 유도에 성공한 것으로 판단하였으며, 유도된 병변의 크기를 6시간째 영상에서 측정하였다. 허혈 유도 후 6시간까지 매 시간별로 촬영한 DWI와 T2강조영상에서 관찰되는 신호강도의 변화의 추이를 관찰함으로써 그 패턴과 이미 확립된 중뇌동맥 동물실험 모델에서 얻어진 결과와 비교하여 중뇌동맥 영구 폐색 모델로서의 일반화 가능성을 알아보았다(8, 9).

영상의 후처리(Postprocessing)

얻어진 모든 영상 자료를 영상 후처리용 워크스테이션(Advantage Windows ver. 4.0; GE Medical Systems, Waukesha, WI, U.S.A.)으로 전송하였다. 중뇌동맥을 폐색한 쪽의 대뇌 반구에 DWI상 고신호강도가 관찰되는지의 여부를 확인하고 6시간째에 촬영한 DWI에서의 병변의 크기는 hemispheric lesion volume(HLV, %)의 형태로 나타내었다(식 1).

$$\text{HLV}(\%) = \text{lesion volume} / \text{hemispheric volume} \times 100 \quad \text{[식 1]}$$

병변과 병변이 발생한 대뇌 반구의 부피는 워크스테이션에 내장된 역치 부여 방법에 의한 부피 측정 기능(threshold method)을 이용하여 구하였다.

시간의 경과에 따른 병변의 신호강도의 변화는 다음과 같이 관찰하였다. 영상을 최대한 확대한 뒤, 6시간째에 얻은 DWI에서 밝게 보이는 병변을 기준으로 5 mm^2의 면적을 가진 작은 원형의 region-of-interest(ROI)를 이용하여 DWI와 T2강조영상에서의 병변의 MR 신호강도를 측정하였고, 워크스테이션에서 제공하는 MR 신호강도 단위인 MR unit를 그대로 사용하였고, 그 값은 단위 없이 나타내었다. DWI의 경우 그 부위의 현성확산계수(apparent diffusion coefficient, ADC) 값을 후처리용 워크스테이션에 내장된 소프트웨어(Functool; GE Medical Systems, Waukesha, WI, U.S.A.)를 이용하여 그 값을 얻었다. 각 영상에서 병변의 MR 신호강도와 ADC값을 측정함과 동시에 병변과 대칭되는 반대쪽 정상 뇌조직의 MR 신호강도를 측정하였다. 이들 값을 이용하여 병변과 정상 부위의 MR 신호값을 비교하여 상대적인 MR 신호강도를 측정하였다. 상대적인 신호강도비(signal-intensity ratio, SIR)는 식 2와 같이 계산하였다.

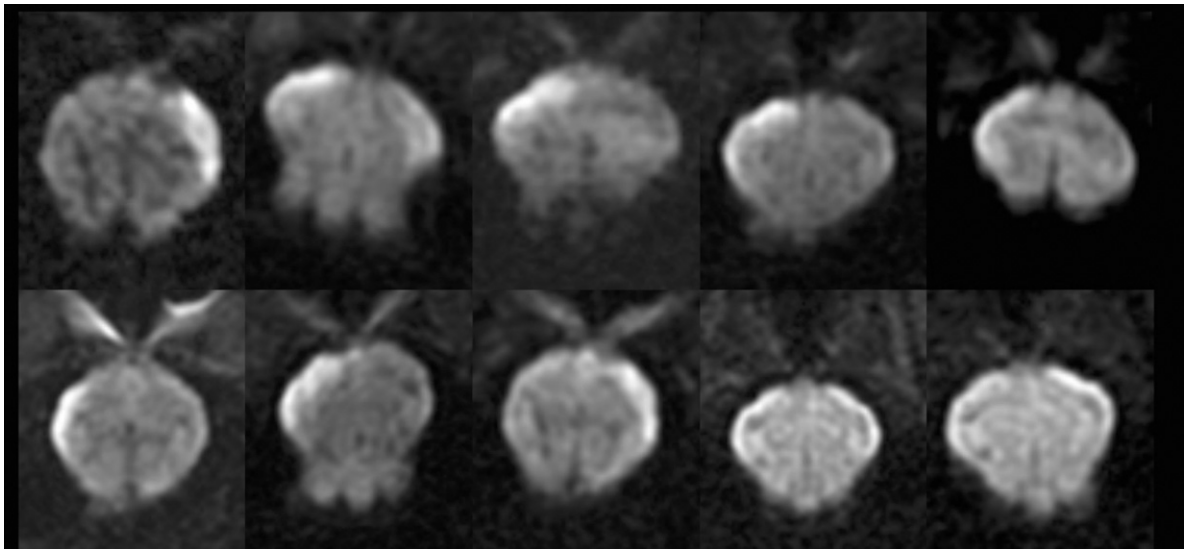

Fig. 3. Finding of diffusion-weighted image (DWI) obtained 1 h after arterial occlusion in all subjects. A wedge-shaped, high-signal lesion is noted in every case except for the last two subjects, which showed DWI high signal lesion in the following imaging.

SIR=SI of lesion / SI of contralateral normal brain [식 2]

ADC값도 같은 방법으로 병변의 ADC값과 대칭되는 부위의 정상 뇌조직의 ADC값을 비교한 상대적인 값, 즉 상대적 ADC (relative ADC, rADC)를 구하였다.

각 MR 영상 기법에 따른 병변의 시간 경과에 따른 신호강도의 변화 추이를 그래프로 그렸다. 시간 경과에 따른 각 항목의 SIR의 변화 양상의 유의성은 반복측정 분산분석법 (repeated measures of ANOVA)를 이용하여 분석하였다.

DWI의 신호강도와 T2강조영상의 신호강도 변화의 상관관계와 ADC값과 T2강조영상의 신호강도의 변화의 상관관계는 전체 자료를 한꺼번에 피어슨 상관분석법 (Pearson correlation analysis)으로 분석하는 방법으로 검정하였다. 얻어진 그래프를 Mintrovitch 등 (8)과 Hoehn - Berlage 등 (10)의 결과와 그 추이를 비교하여 보았다.

결 과

기술적 결과

10개체 모두 대퇴동맥을 통해 4 F 도관을 성공적으로 삽입할 수 있었으며, 상행대동맥에서 시행한 혈관조영술에서 우완두동맥, 좌총경동맥, 좌쇄골하동맥이 혈관 변이 없이 관찰되었고, 총경동맥의 선택이 용이하게 되었다. 7개체에서는 처음에 시도한 우완두동맥 선택이 용이하여 우총경동맥을 선택하였고, 3개체에서는 우완두동맥 선택이 용이하지 않아 좌총경동맥을 선택하였다. 총경동맥조영술상 총경동맥의 직경은 평균 2.34±0.42 mm였고, 내경동맥의 직경은 0.51±0.06 mm였으며, 그 안으로 미세도관을 삽입하여 내경동맥의 경부 (cervical segment)를 선택할 수 있었다 (Fig. 2A, B). 혈류를 따라 주입한 색전물질에 의하여 전 개체 모두 성공적으로 중뇌동맥 폐색이 이루어졌다 (Fig. 2C).

8개체에서 허혈 경과 1시간째 시행한 DWI에서 중뇌동맥 영역 내에 육안적으로 확인되는 고신호강도의 병변이 보이고 ADC의 감소를 나타냈으며, 2개체에서는 1시간째 DWI에서는 육안으로 확인되지 않았지만 2시간 이후 얻은 DWI에서는 병변이 분명하게 관찰되어, 전 개체에서 성공적으로 허혈성 병변을 유도할 수 있었다 (Fig. 3). DWI에서 관찰되는 뇌반구의 부피(평균±표준편차)는 5.82±0.68 cc였고, 병변의 부피는 2.07±0.85 cc였으며, 얻어진 병변의 HLV (평균±표준편차)는 35.7±14.6%였다. 전 개체 모두 MR 검사를 종료한, 혈관폐색 성공 후 6시간째까지 생존하였다.

DWI 신호강도, ACD값과 T2강조영상의 신호강도의 변화

중뇌동맥 폐색을 완료한 후 1시간 경과 시 DWI에서의 병변과 반대쪽 정상 부위의 신호강도 (평균±표준편차)는 각각 1124.1±204.1과 892±185.5로써 평균 SIR은 1.27±0.15였다. ADC값은 각각 712×10 - 8±139.8×10^{-8} cm^2/s와 881.8×10^{-8}±66.9×10^{-8} cm^2/s로 계산되었고 rADC는 0.80±0.13이었다. 시간의 경과에 따라서 점차 경색부의 DWI 신호강도는 점차 증가하고 (p<0.0001) (Fig. 4). ADC값은 점진적으로 감소하는 (p<0.0001) (Fig. 5) 경향이 뚜렷하게 나타났다.

6시간째의 DWI 신호강도는 병변과 반대측 정상 부위가 각각 1415.3±293.5와 876.9±143.9로 나타났고, 그 SIR는 1.61±0.18이었다. 또한 ADC값은 각각 518.3×10^{-8}±133.4×10^{-8} cm^2/s와 881.5×10^{-8}±138.4×10^{-8} cm^2/s였고, rADC는 0.58±0.11이었다 (Fig. 6).

DWI 신호강도와 T2강조영상의 신호강도 사이에는 유의한 상관관계를 보여 DWI 신호강도가 증가할수록 T2강조영상의 신호강도도 증가하였으며, 그 상관계수가 0.666이었고 이는 통계적으로 유의하였다 (p<0.0001) (Fig. 7). 또한 ADC값과 T2강조영상의 신호강도 사이에도 유의한 역상관관계를 보여 ADC값이 감소할수록 T2강조영상의 신호강도가 증가하는 양상을 보였으며, 그 상관계수가 0.616으로 이 또한 통계적으

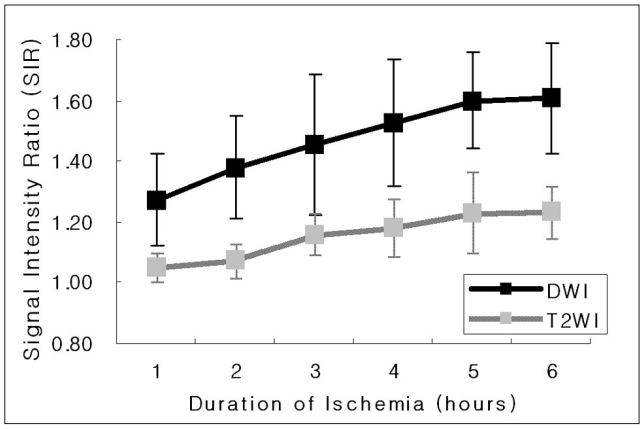

Fig. 4. A graph showing a chronological change of signal-intensity ratio (SIR) on diffusion-weighted images. The SIR increased gradually till the end of the experiment (6h after arterial occlusion). The SIR change of T2WI is demonstrated in a shaded line.

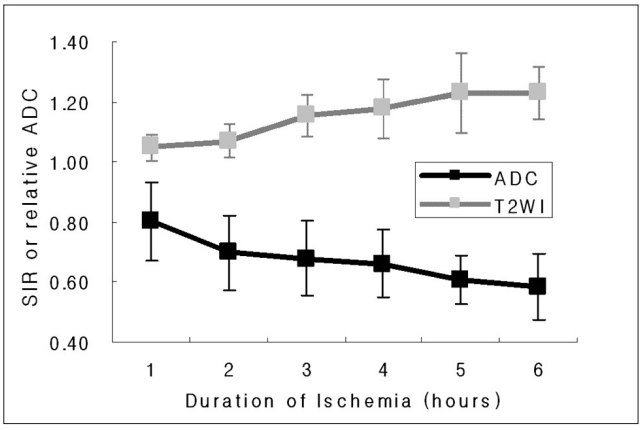

Fig. 5. A graph showing a chronological change of relative apparent diffusion coefficient. The ADC gradually decreased until the end of the experiment (6h after arterial occlusion). The SIR change of T2WI is demonstrated in a shaded line.

로 유의하였다($p<00001$) (Fig. 8).

고 찰

이 연구에서 혈관내 중재시술 기법을 이용하여 만든 가토 중뇌동맥 폐색 모델은 높은 제작 성공률을 보였으며, 전 개체에서 MRI상에서 확인할 수 있는 중뇌동맥 구역의 허혈성 병변이 관찰되었고, 시간의 경과에 따른 병변의 DWI 신호강도와 ADC값, T2강조영상의 신호강도의 변화가 기존에 알려진 소견과 같은 양상을 보여, 허혈성 폐색 모델로서의 가치가 있음을 확인할 수 있었다.

이 연구에서 개발한 모델은 중재시술 기법을 이용하여 만들어, 외과적인 조작으로 인한 영향을 최소화할 수 있다는 점이 다른 방법을 이용하여 만든 모델과 비교할 때 가장 큰 장

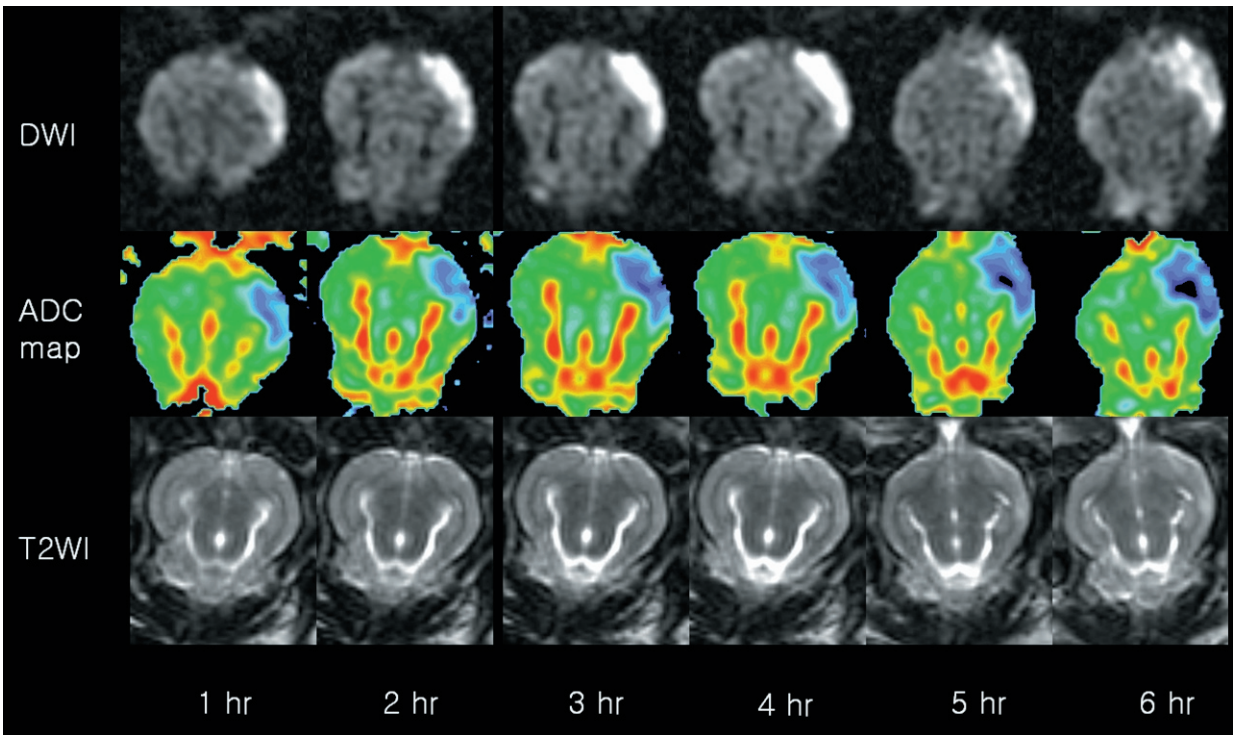

Fig. 6. Findings of chronological signal change of a representative slice. The area of initial ischemic lesion on diffusion-weighted image (DWI) shows gradual increase of its signal intensity with lapse of time (first row), Corresponding apparent diffusion coefficient (ADC) change is noted on the serial ADC map (second row), A subtle high signal change is suggested on T2-weighted image (T2WI) at the later phase of the experiment (third row).

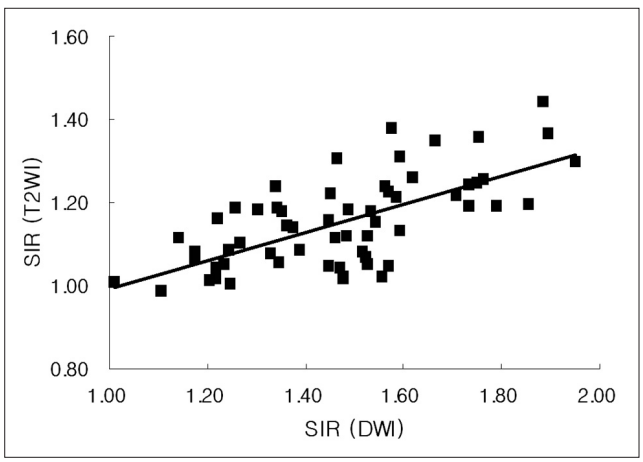

Fig. 7. A scatter gram showing the correlation between the signal intensity ratio (SIR) of the diffusion-weighted image (DWI) and the SIR of T2-weighted image. There is a positive correlation between them.

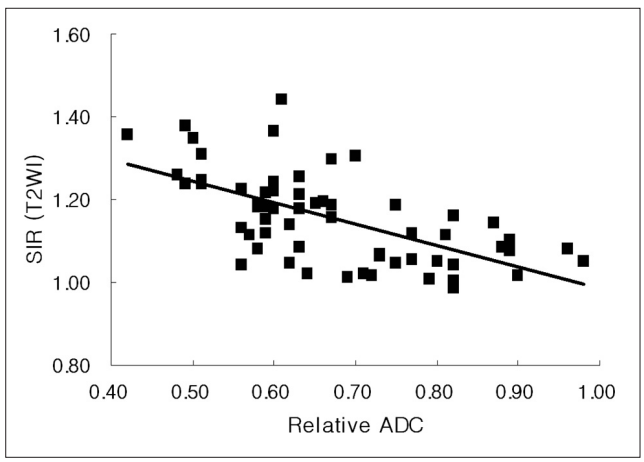

Fig. 8. A scatter gram showing the correlation between the relative apparent diffusion coefficient and the signal intensity ratio of T2-weighted image. There is a negative correlation between them.

점이라고 생각된다. 현재까지 개발되어 사용되고 있는 방법들은 각 동물 별로 매우 다양한데(3), 그 중에서 널리 이용되는 백서와 고양이를 이용한 방법들과 이 연구에서 대상 동물로 선정한 가토에서 시도되었던 다른 허혈 모델들의 각각의 장단점을 알아보고, 이 연구에서 사용한 방법과 비교해보는 것은 의미 있을 것으로 생각된다.

백서(rat) 허혈 모델은 다양하며 Koizumi 등(11)이 만든 실리콘 처리한 봉합사(silicone - coated suture)를 이용한 방법이 현재까지 가장 널리 사용되고 있으며(12 - 14), 광화학적으로 유도된 혈전(photochemically - induced thrombosis)으로 혈관을 막는 방법도 이용되고 있다(6, 15, 16). 백서 모델에서 경색의 크기(infarct size)가 매우 다양하게 나타나는데 그 이유는 매우 다양하겠지만 허혈 유도의 방법, 개체의 크기, 종, 봉합사의 크기, 혈압, 혈당치, 체온 등을 이유로 들고 있다(17 - 19).

백서 외에 소 동물로 저빌(gerbil)을 사용할 수 있는데, 포유류에서 매우 잘 발달되어 있는 윌리스환(circle of Willis)이 불완전하여 근위부 뇌동맥 폐색 만으로도 허혈이 유발되며(20), 대개는 총경동맥 결찰 만으로도 쉽게 허혈을 유도할 수 있는 것으로 알려져 있다(21). 그러나 결정적으로 개체의 크기가 너무 작아 역시 영상검사를 위한 연구에는 적합하지 않다.

이와 같이 실험 동물의 선택에 있어 많은 고려할 점이 필요하겠지만, 영상 검사의 질의 향상을 위해서라면 중소 동물인 고양이나 가토가 유리할 것으로 생각된다. 대동물에서는 필요한 혈관에 필요한 조작을 할 수 있으므로 허혈 모델을 더 정교하게 만들 수 있을 것이다(22). 그러나 최근의 연구에서는 백서를 이용한 모델도 MRI에 큰 문제점이 없었다고 하며, 최근의 고해상 영상획득 기법이 구사되는 장비에서는 동물의 크기가 중요한 제한점이 아니라고 볼 수도 있다(23).

고양이의 경우는 내경동맥의 원위부가 매우 가느다란 실타래 같은 혈관 덩어리로 보이는 소위 괴망이 존재하므로 혈관내로 접근하여 중뇌동맥 허혈 모델을 만드는 것은 불가능하다. Lee 등(24)은 외과적으로 안구를 적출하여 중뇌동맥을 노출시킨 다음 작은 혈관 클립으로 폐색하고 개통하는 방법으로 매우 성공적으로 중뇌동맥 허혈 모델을 만들 수 있었다. 이 방법의 단점은 매우 침습적이란 점인데, 결정적으로 뇌경막에 손상을 주므로, 뇌척수액의 유출 등을 피할 수 없어, 허혈이 유도되고 난 후의 상황이 병태생리적 변화와 다를 수 있다는 단점이 있다는 점을 같은 저자들이 지적하고 있다(24). 이와 같은 괴망은 고양이뿐만 아니라 돼지의 내경동맥에서도 보이며(25), 그 외에도 고래, 염소, 낙타, 각종 조류 등에서 관찰되는데 아직 그 역할에 대해서는 설이 분분하다(26).

이 연구에서 대상 모델로 가토를 선택한 이유는 고양이와 같은 괴망이 없고, 혈관의 크기가 어느 정도 커서 현재 사용가능한 혈관조영용 도관들을 이용한 삽관과 혈관조영 등이 가능할 것으로 평가되었기 때문이다. 가토는 뇌의 허혈성 모델로서는 흔히 선택되는 동물은 아니지만(27), 이미 많은 방법들이 소개되고 있다. 대표적인 것은 역시 경부를 외과적으로 노출시켜 직접 폴리에틸렌 도관(PE90)을 내경동맥에 걸치고 색전물질을 삽입하는 방법을 사용하는 것이다(28, 29). Lew 등(29)은 매우 정교한 외과적 기법을 이용하여 자가 혈전 조각(autologous blood clot)을 이용한 내경동맥 폐색을 시행하였고 작은 내경동맥이 폐색되는 것을 외과적으로 노출된 상태에서 현미경으로 보면서 확인하였다. 그러나 대부분의 보고된 방법은 총경동맥에서 혈전 조각을 주입하여 내, 외경동맥을 동시에 폐색하는 방법을 사용하였으며, 효과적인 혈관의 폐색이 어려웠을 것으로 생각된다.

백서와 마찬가지로(6, 15, 16), 광화학적으로 유도된 혈전(photochemically - induced thrombosis)으로 혈관을 막는 방법을 사용하기도 하는데, 이는 개두술이 요구되지는 않으며 단지 두개골 표면을 노출시킨 상태에서 xenon arc 등을 이용한 강한 빛을 비추면서 rose bengal과 같은 광민감성(photo - sensitivity)이 높은 약물을 혈관 내에 투여하고 광조사(photo - illumination)를 일정 시간 시행하여 혈관내에서의 광화학반응을 유발시킴으로써 혈전증을 유도하는 방법이다. 그러나 이 방법의 문제점은 조사된 부분의 어떤 혈관에 어떤 형태의 혈전이 생겨서 어느 영역에 허혈이 유도될지 예측하기 어렵다는 것이다. 예를 들면 중뇌동맥 영역에 혈전증이 잘 유도되었다고 해도 근위부보다는 원위부의 작은 혈관에 유도되는 경우가 많아 병변의 크기가 작을 수도 있다(23). 이를 극복하기 위해서 가토에서는 대개 안와(orbit)를 통하는 방법을 주로 사용한다(30). 중뇌동맥 폐색을 원하는 쪽의 안구를 적출하고 중뇌동맥의 근위부로 접근하는 방법으로 상당히 침습적이기는 하지만 뇌막의 손상은 거의 주지 않아 뇌척수액의 유출이 없으며, 기계적인 방법으로 혈관을 폐색 시키는 것이 아니므로 더 이상적인 국소 뇌허혈 모델이라고 주장하기도 한다(30).

이와 같이 예측 가능한 허혈 모델을 만들기 위한 다양한 시도가 되어왔음을 알 수 있는데, 혈관내 중재시술 기법은 덜 침습적이라는 점 외에도 투시 하에서 혈관의 폐색을 확인할 수 있으므로 허혈 유도의 성공률을 향상 시킬 수 있고, 반대로 불필요하게 넓은 영역에 걸친 색전으로 인한 심한 경색을 방지할 수 있다는 점도 장점으로 들 수 있겠다.

가토의 해부학적 특성을 완전히 파악하지 못한 예비 실험 단계에서는 혈관의 패색을 위한 여러 가지 다양한 시도를 하였다. 혈관조영술상 내경동맥의 평균 내경이 약 0.5 mm 정도로 측정되었고, 그 내부로 삽입할 수 있는 미세도관의 외경은 0.57 mm 정도여서, 내경동맥 선택이 이루어지고, 그 원위부의 끝이 내경동맥의 말단부까지 이르면 충분히 도관 자체가 내경동맥을 폐색 시킬 수 있을 것으로 판단하였으나, 골부(bony part)인 추체골(petrous bone) 내 내경동맥관(carotid canal)이 형성하는 급격한 각을 넘어가지 못하여 그 시도는 실패하였다. 백서에서는 monofilament를 이용한 방법이 성공적일 수 있는 것은 추체골 내의 내경동맥관이 가토와 같이 급격한 각을 이루지 않기 때문이라고 판단된다(31, 32). 대신 미세도관 내로 삽입할 수 있는 미세유도철사의 경우에는, 외경이 0.25 - 0.46 mm 정도인데, 내경동맥의 원위부까지 비교적 용이하게 삽입이 가능하였고 그 끝이 중뇌동맥을 직접 폐

색할 수도 있고, 백서에서 사용된 필라멘트와 같은 역할을 하여, 전뇌동맥 쪽으로 걸쳐져도 전뇌동맥으로부터 오는 측부순환의 차단이 가능하여 좋은 모델이 될 수 있다고 판단되었다. 실제 DWI에서 성공적으로 허혈성 병변을 유도할 수 있었는데, 문제는 사용된 유도철사 때문에 자장 민감성 인공물(magnetic susceptibility artifact)이 발생하여 영상의 심한 왜곡을 초래하였다. 이는 허혈성 뇌경색의 MRI 연구에서는 주로 EPI 기법을 사용한다는 점을 고려할 때 매우 나쁜 단점이라고 판단되었다. 현재 상업적으로 이용되는 제품들은 이러한 인공물이 발생하지 않는 백금(platinum) 재질이 주 성분이나, 형태나 유도철사로서의 특성을 유지하기 위해, 심(core)으로 사용하는 내부의 철사가 대부분 심한 자장 민감성 인공물을 일으키는 다양한 형태의 합금으로 이루어져 있기 때문이었다. 유도철사를 아래로 조금만 내리면 쉽게 폐색 혈관을 재개통시켜 줄 수 있으므로, 이와 같은 인공물을 발생시키지 않는 재질로 유도철사의 끝을 만들 수 있다면, 중뇌동맥 폐색-재개통(occlusion-reperfusion)을 위한 좋은 모델이 될 수 있는 디자인이라고 생각된다.

본 연구에서는 중뇌동맥의 폐색을 위하여 영구 폐색을 위한 색전물질로 가장 널리 사용되고 있는 polyvinyl alcohol 입자를 사용하였는데, 그 입자의 직경이 0.15-0.25 mm 정도로 중뇌동맥 근위부 혈관을 폐색시키기에 불충분한 것으로 보이나 실제로는 입자의 표면이 거칠어 서로 엉키면서(clumping) 근위부 혈관 폐색이 가능한 것으로 판단된다(33). 그러나 일부 작은 입자는 작은 피질 혈관을 폐색시켰을 가능성이 높으므로 일반적인 색전증에 의한 허혈성 병변을 그대로 반영하지 못했을 것이란 지적은 가능하다. 이를 해결하기 위한 방편은 0.25-0.50 mm 정도로 좀 더 입자가 큰 것을 사용하거나, histacryl과 같은 액체성 색전물질을 고농도로 사용하여 근위부 혈관만 폐색 되도록 하는 방법을 생각할 수 있다.

색전물질로써 동종 또는 자가 혈전 조각을 사용하는 방법도 있는데(34), 가토의 내경동맥의 직경이 0.5 mm인 점을 고려할 때, 상대적으로 부피가 매우 큰 혈전은 총경동맥에 주입될 수 밖에 없고, 이와 같은 방법으로 얼마나 효과적으로 중뇌동맥 혈류를 차단할 수 있을 지 의문이 있음이 사실이다. 다만 내경동맥에 도관을 삽입하고 압착된(squeezing) 형태의 매우 작은 혈전 조각을 주입하면 허혈 병변 유발의 재현성을 높일 수 있을 것으로 생각된다.

만들어진 허혈 모델은 허혈성 병변의 유발 측면에 있어서 100%에서 허혈 손상의 결과로 세포독성부종이 발생하였고, DWI로 그 병변을 확인할 수 있었으며, 1시간 간격으로 반복한 MRI 소견상 DWI에서의 신호강도의 점진적인 증가와 그에 따른 ADC값의 감소와 3시간 이후부터 유의하게 보이는 T2강조영상에서의 병변의 신호강도 증가의 양상은 기존에 알려진 연구의 결과와 동일한 양상을 보여주었다(8, 9). 또한 각 개체마다 정도의 차이는 존재하지만 그러한 경향을 모두 관찰할 수 있어, 매우 높은 병변 재현성과 반복성을 보장할 수 있는 모델임을 확인할 수 있었다.

이 연구의 제한점으로는 영구 폐색 모델로서의 가치를 더 분명히 하기 위해서는 실험 종료 시까지 중뇌동맥의 폐색이 지속됨을 혈관조영술로 확인하였다면 더 좋은 증거가 될 수 있었을 것으로 생각되며, 그를 대치하기 위하여 자기공명혈관조영술을 time-of-flight기법을 이용한 시도하였으나 장비의 성능의 제한으로 인하여 혈관상을 잘 관찰할 수 없었던 점이 아쉬운 부분으로 남는다. 또한 이미 언급한 바와 같이 작은 피질 동맥의 폐색이 동반되었을 가능성이 있어 임상적 상황과 상이할 수 있다는 점과 허혈에 의한 뇌실질 손상 여부와 그 정도를 병리 소견과 비교하는 작업이 이루어지지 못했다는 점을 들 수 있다. 단, DWI에서 고신호강도로 나타나면서 ADC가 감소된 병변은 허혈에 의한 세포독성부종(cytotoxic edema)을 의미함이 잘 알려져 있으므로 DWI가 충분히 대리표시자(surrogate marker)가 될 수 있다는 점에서 병변의 발생 여부와 범위를 평가하는 데는 큰 문제는 없을 것이라고 판단된다(35).

결론적으로 급성기 허혈성 병변의 연구를 위해 혈관내 중재시술 기법을 이용하여 새롭게 개발한 가토 중뇌동맥 폐색 모델은 제작이 용이하고 병변의 재현성이 높은 영구 혈관 폐색 모델이다. 이 모델에서 유발된 급성 허혈성 병변은 전형적인 MRI 소견을 보였으며, MRI를 이용한 허혈성 뇌경색에 관한 연구에 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Ahmed SH, Shaikh AY, Shaikh Z, Hsu CY. What animal models have taught us about the treatment of acute stroke and brain protection. *Curr Atheroscler Rep* 2000;2:167-180
2. Traystman RJ. Animal models of focal and global cerebral ischemia. *Ilar J* 2003;44:85-95
3. Hoehn M, Nicolay K, Franke C, van der Sanden B. Application of magnetic resonance to animal models of cerebral ischemia. *J Magn Reson Imaging* 2001;14:491-509
4. Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale GM. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 1981;1:53-60
5. Kaplan B, Brint S, Tanabe J, Jacewicz M, Wang XJ, Pulsinelli W. Temporal thresholds for neocortical infarction in rats subjected to reversible focal cerebral ischemia. *Stroke* 1991;22:1032-1039
6. 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
7. Macrae IM, Robinson MJ, Graham DI, Reid JL, McCulloch J. Endothelin-1-induced reductions in cerebral blood flow: dose dependency, time course, and neuropathological consequences. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993;13:276-284
8. Mintorovitch J, Moseley ME, Chileuitt L, Shimizu H, Cohen Y, Weinstein PR. Comparison of diffusion- and t2-weighted mri for the early detection of cerebral ischemia and reperfusion in rats. *Magn Reson Med* 1991;18:39-50
9. Lansberg MG, Thijs VN, O'Brien MW, Ali JO, de Crespigny AJ, Tong DC, et al. Evolution of apparent diffusion coefficient, diffusion-weighted, and t2-weighted signal intensity of acute stroke. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001;22:637-644
10. Hoehn-Berlage M, Eis M, Back T, Kohno K, Yamashita K. Changes of relaxation times (t1, t2) and apparent diffusion coefficient after

permanent middle cerebral artery occlusion in the rat: temporal evolution, regional extent, and comparison with histology. *Magn Reson Med* 1995;34:824-834
11. Koizumi J, Yoshida Y, Nkazawa T, Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema: I: a new experiemental modle of focal cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. *Jpn J Stroke* 1986;8:1-8
12. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989;20:84-91
13. Laing RJ, Jakubowski J, Laing RW. Middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Which method works best? *Stroke* 1993;24:294-297
14. Takano K, Tatlisumak T, Bergmann AG, Gibson DG, 3rd, Fisher M. Reproducibility and reliability of middle cerebral artery occlusion using a silicone-coated suture (koizumi) in rats. *J Neurol Sci* 1997;153:8-11
15. Dietrich WD, Ginsberg MD, Busto R, Watson BD. Photochemically induced cortical infarction in the rat. 1. Time course of hemodynamic consequences. *J Cereb Blood Flow Metab* 1986;6:184-194
16. Lee VM, Burdett NG, Carpenter A, Hall LD, Pambakian PS, Patel S, et al. Evolution of photochemically induced focal cerebral ischemia in the rat. Magnetic resonance imaging and histology. *Stroke* 1996;27:2110-2118
17. Schmid-Elsaesser R, Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, Reulen HJ. A critical reevaluation of the intraluminal thread model of focal cerebral ischemia: evidence of inadvertent premature reperfusion and subarachnoid hemorrhage in rats by laser-doppler flowmetry. *Stroke* 1998;29:2162-2170
18. Duverger D, MacKenzie ET. The quantification of cerebral infarction following focal ischemia in the rat: influence of strain, arterial pressure, blood glucose concentration, and age. *J Cereb Blood Flow Metab* 1988;8:449-461
19. Connolly ES, Jr., Winfree CJ, Stern DM, Solomon RA, Pinsky DJ. Procedural and strain-related variables significantly affect outcome in a murine model of focal cerebral ischemia. *Neurosurgery* 1996; 38:523-531
20. Levine S, Payan H. Effects of ischemia and other procedures on the brain and retina of the gerbil (meriones unguiculatus). *Exp Neurol* 1966;16:255-262
21. Kirby BP, Shaw GG. The neuroprotective effects of n1-dansylspermine in the gerbil model of cerebral ischaemia. *Brain Res* 2004;1011:74-83
22. Ringer AJ, Guterman LR, Hopkins LN. Site-specific thromboembolism: A novel animal model for stroke. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004; 25:329-332
23. Chen F, Suzuki Y, Nagai N, Peeters R, Sun X, Coudyzer W, et al. Rat cerebral ischemia induced with photochemical occlusion of proximal middle cerebral artery: a stroke model for mr imaging research. *Magma* 2004;17:103-108
24. Lee SK, Kim DI, Kim SY, Kim DJ, Lee JE, Kim JH. Reperfusion cellular injury in an animal model of transient ischemia. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004;25:1342-1347
25. Kwon JY, Bacher A, Zornow MH. Riluzole does not attenuate increases in hippocampal glutamate concentrations in a rabbit model of repeated transient global cerebral ischemia. *Anesth Analg* 1998;86:128-133
26. De Salles AA, Solberg TD, Mischel P, Massoud TF, Plasencia A, Goetsch S, et al. Arteriovenous malformation animal model for radiosurgery: the rete mirabile. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17: 1451-1458
27. Hoehn-Berlage M. Diffusion-weighted NMR imaging: application to experimental focal cerebral ischemia. *NMR Biomed* 1995;8:345-358
28. Bednar MM, McAuliffe T, Raymond S, Gross CE. Tissue plasminogen activator reduces brain injury in a rabbit model of thromboembolic stroke. *Stroke* 1990;21:1705-1709
29. Lew SM, Gross CE, Bednar MM, Russell SJ, Fuller SP, Ellenberger CL, et al. Complement depletion does not reduce brain injury in a rabbit model of thromboembolic stroke. *Brain Res Bull* 1999;48: 325-331
30. Zhao BQ, Suzuki Y, Kondo K, Kawano K, Ikeda Y, Umemura K. A novel mca occlusion model of photothrombotic ischemia with cyclic flow reductions: development of cerebral hemorrhage induced by heparin. *Brain Res Brain Res Protoc* 2002;9:85-92
31. Li F, Omae T, Fisher M. Spontaneous hyperthermia and its mechanism in the intraluminal suture middle cerebral artery occlusion model of rats. *Stroke* 1999;30:2464-2470
32. Kohno K, Back T, Hoehn-Berlage M, Hossmann KA. A modified rat model of middle cerebral artery thread occlusion under electrophysiological control for magnetic resonance investigations. *Magn Reson Imaging* 1995;13:65-71
33. Chua GC, Wilsher M, Young MP, Manyonda I, Morgan R, Belli AM. Comparison of particle penetration with non-spherical polyvinyl alcohol versus trisacryl gelatin microspheres in women undergoing premyomectomy uterine artery embolization. *Clin Radiol* 2005;60:116-122
34. Kim JS, Kang JK, Chang HC, Lee M, Kim GS, Lee DK, et al. The thrombolytic effect of lumbrokinase is not as potent as urokinase in a rabbit cerebral embolism model. *J Korean Med Sci* 1993;8:117-120
35. 이덕희, 이정현. 급성기 허혈성 뇌경색의 자기공명영상. *대한방사선의학회지* 2004;50:1-17

J Korean Radiol Soc 2005;53:253 - 262

A Middle Cerebral Artery Occlusion Model in Rabbits: Development with Endovascular Interventional Techniques and Evaluation by Magnetic Resonance Imaging[1]

Deok Hee Lee, M.D., Choong Gon Choi, M.D., Sang Joon Kim, M.D.,
Sang Hun Cha, M.D.[2], Kil Sun Park, M.D.[2]

[1]*Department of Radiology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine*
[2]*Department of Radiology, College of Medicine, Chungbuk National University*

Purpose: The aim of this study was to develop a new middle cerebral artery occlusion (MCAO) model in rabbits using a less invasive, endovascular interventional technique. The new animal model 's technical feasibility and its success in producing lesions was evaluated using magnetic resonance imaging (MRI).

Materials and Methods: Ten rabbits were used to develop the MCAO models using a transfemoral catheter-based technique. After catheterization of the common carotid artery, a microcatheter was introduced coaxially through the catheter to cannulate the internal carotid artery and to embolize the MCA with polyvinyl alcohol particles. We evaluated how successful we were in selecting the vessels, catheterization, embolization, and also evaluated how many of the animals survived until the end of experiment. Diffusion-weighted imaging (DWI) and T2-weighted imaging (T2WI) were performed in one-hour intervals to monitor the ischemic lesion for a total of six hours following successful occlusion of the target artery. The relative volume of the lesion was calculated as a hemispheric lesion volume (HLV, %). The signals of the lesion and contralateral normal brain (control) were measured in each image at every time point. Lesion-to-control signal-intensity ratio (SIR) of DWI, and T2WI were obtained together with relative apparent diffusion coefficient (rADC).

Results: Catheterization and embolization of the internal carotid artery were successful in all 10 rabbits, which showed relevant lesions on MRI. All rabbits survived until the end of the experiment. The HLV (mean±standard deviation) was 35.7±14.6%. The relative ADC was 0.80±0.13. The lesion signals on DWI and T2WI showed a gradual increase as time passed, while the ADC value of the lesion gradually decreased ($p < 0.0001$).

Conclusion: The rabbit MCAO model using an endovascular interventional technique is technically feasible, and provides a reproducible lesion in the target arterial territory. MRI successfully revealed a typical finding of acute cerebral infarction. This model is also believed to be suitable for the MRI investigation of acute cerebral ischemia.

Index words : Brain ischemia
Brain infarction
Animal model
Ischemia model
Endovascular technique
Magnetic resonance imaging
Diffusion-weighted image

Address reprint requests to : Deok Hee Lee, M.D., Department of Radiology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, 3881-1 Pungnap-dong, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea.
Tel. 82-2-3010-4355 Fax. 82-2-476-0090 E-mail: dhlee@amc.seoul.kr