

생체내 체적선택 자기공명분광법 OSIRIS 기법의 연구

이 윤*, 임 태환**, 문 치웅***, 이 대근***, 오 창현*

*고려대학교 자연과학대학, **울산대학교 의과대학, ***아산생명과학연구소

A Study of OSIRIS Technique in *in vivo* Localized NMR Spectroscopy

Y. Yi*, T. H. Lim**, C. W. Mun***, T. K. Lee***, C. H. Oh*

* Science and Engineering College, Korea Univ., ** Medical School, Ulsan Univ., *** Asan Institute for Life Sciences

Abstract

Localized NMR spectra were obtained from phantom by OSIRIS technique. The selected volume, which can be controlled by frequency and its bandwidth, was 0.125cc out of 25cc and free of contamination from outer volume. With this technique NMR spectrum of a living tissue can be obtained without biopsy, i.e. *in vivo* state in which the metabolism of tissue may be quite different from *in vitro* state. It is expected of this technique to be useful in the study of metabolism of living tissue as well as in diagnosis of diseases.

I 서론

핵자기공명 현상은 1946년 Bloch⁽¹⁾과 Purcell에 의하여 독립적으로 발견되었고, 물질의 물성과 구조 규명에 널리 사용되어 왔다. 이들은 그 공적으로 1952년 Nobel물리학상을 공유하게 되었다. 이 현상은 물질의 물성연구, 물리학에서는 결정의 구조, 화학에서는 분자의 구조와 성분조사에 주로 사용되어 왔다. 의학에 응용하기 시작한 것은 비교적 최근의 일로, 자기공명영상법은 1970년대 초반에 개발되기 시작하여, 1980년대 초반에 실용화되었으며, 생체의 두뇌등의 연조직을 나타냄에 있어 여타의 영상법에 비하여 연조직(soft tissue)에 대한 뛰어난 대조도(contrast)와 검사방법의 무해성으로 지난 20년간 괄목할 성장을 하여 왔다.

그러나 자기공명영상법만으로는 의학적으로 이상이 있다고 의심이 되는 부분의 생리학적 변화 또는 물질대사상태의 이상유무를 추론하기가 어렵다. 그러나 자기공명분석법은 자기공명현상의 화학적 이동량(chemical shift)에 의한 물질 성분 분석이

가능하여 생체 조직에 어떤 물질이 어느 정도 함유가 되어 있는가를 분석할 수 있으므로 인체조직의 대사상태를 혹은 질병의 진행정도를 관찰할 수 있다. 자기공명분석법이 의학용으로 사용되기 위해서는 두가지의 조건이 부가적으로 필요하다. 하나는 환자 또는 시료에 대해 있는 그대로(*in vivo*)의 상태에서 검사가 진행될 수 있어야 한다. 왜냐하면 환자로 부터 병이 있는 조직을 따로 추출하기가 용이하지 않으며, 경우에 따라서 환자에 상당한 위험이 따를 수도 있으며, 추출한 상태의 조직의 대사상태는 생체조직내에서 모든 영양과 산소를 보급 받을 때와 상당히 다를 수 있기 때문이다. 다른 하나는 병인이 포함된 선택된 체적만의 신호를 얻어야 한다. 일반적인 자기공명분석법으로는 여기 및 검출코일에 영향을 받는 모든체적으로부터 신호가 발생하므로 정상조직의 신호와 이상조직의 신호를 구별하기가 어렵다. 따라서 이상조직의 신호만을 추출할 수 있는 체적선택방법의 개발이 필요하게 되었다. 이러한 방법을 일반적으로 체내 국소화 자기공명분석법(*in vivo* localized NMR spectroscopy)이라 부르며 1974년 미국 국립 보건원(NIH:National Institute for Health)의 D. I. Hoult⁽²⁾가 개구리 근육에서 ³¹P의 분광선의 건축을 효시로 1980년대 이후부터 본격적인 연구가 시작되어 여러가지 방법이 제안되었다.

본연구에서는 Ordidge⁽³⁾의 등에 의하여 1988년에 제안된 OSIRIS(Outer volume Suppressed Image Related *In vivo* Spectroscopy) 기법을 사용하여 3개의 폐하가 다른 인화합용액으로 채워진 실린더 모형에 적용하여 전체체적 25cc 중 0.125cc의 체적의 신호를 분리하였다. 이기술은 ISIS기술에 기초를 두고 있으며, 신호비를 더욱 높이기 위하여 surface coil을 transmission/receiver로 사용하면, 신호 발생 부위의 surface coil에 대한 위치에 따른 spin의 nutation각도의 불균일성을 극복하기 위하여 여기고주파에 대해서는 주파수 조파(FM:Frequency Modulation)방식하에 사용하고 선택체적 이외의 부분의 신호를 억제하는 고주파에 대해서는 임의위상조파(random phase modulation) 방식하에 사용하고있다.

II 이론 및 실험

II-1. 부위 선택에 대한 이론적 배경

원자핵들이 정자기장의 영향 아래에서 Lamor 주파수로 세차운동을 하게 된다. 이때 경사자계가 형성이 되면 원자핵에 작용하는 자기장은 위치에 따라 약간씩 달라지며, 따라서 세차운동의 주파수도 달라진다. 예를 들어 정자기장의 세기가 1Tesla 이고, 경사자계가 1 Gauss/cm 의 크기로 가해져 있다면 중앙의 Lamor 주파수는 200MHz이고, 중앙으로부터 1cm 떨어진 위치의 Lamor 주파수는 경사자계의 방향에 따라 $200 \pm 0.004284\text{Hz}$ 가 된다. 즉, 위치에 따른 주파수와 정자기장의 세기, 경사자기장의 세기와의 상관 관계는 식(1)과 같이 표현된다.

$$v(x) = v_0 + G_x \gamma x \quad \text{----- 식(1)}$$

여기서 $v(x)$ 는 x축의 위치에 따른 원자핵의 세차운동 주파수, v_0 는 정자기장에 대한 원자핵의 세차운동 주파수, G_x 는 x축으로의 경사자기장의 세기, γ 는 gyromagnetic ratio, x는 x-축상의 위치를 나타낸다.

한편 RF pulse의 주 주파수 및 pulse shape 과 frequency response 와의 상관관계는 Fourier Transform 에 의하여 결정된다. 따라서 주어진 경사자기장의 세기와 RF pulse의 길이에 따라 선택되는 부위의 두께가 결정되고, RF pulse의 shape에 따라 profile의 모양이 결정된다. 1차원의 경사자기장과 RF pulse로 특정 slice가 선택되듯이 2차원, 예를 들면 x-축과 RF pulse 그리고 y-축과 RF pulse로 한 line 성분을 선택할 수 있다.

일차원상에서의 선택부위의 신호추출

삼차원 물체의 한 단면의 NMR 신호를 얻기 위해서는 최소한 2번의 실험이 필요하다. 실험 1은 전통적인 펄스 시퀀스로 전체 전체로부터 자유유도붕괴(Free Induction Decay) 신호를 얻는 방법이다. Nonselective pulse로 전체 전체의 핵자기쌍극자를 90도 만큼 회전시켰다가 원래 상태로 복원되는 과정에 방출되는 고주파신호를 Data Acquisition 기간동안 신호를 획득하게 된다. 실험 2에서는 x축 경사자기장이 걸려있는 동안에 selective pulse를 가하여 그 bandwidth에 해당되는 단면만을 α 각도만큼 회전시켜서 inversion시킨 후 FID 신호를 얻는다. 실험1과 실험2의 분광선의 차이는 selective pulse에 의하여 α 각도만큼 회전된 단면으로 부터의 신호만이 남게 되어서 체적중의 한 단면의 신호를 추출할 수 있게 된다. 이때 신호의 크기는 $(1 - \cos \alpha)$ 에 비례하게 되고 기울기 각도 α 가 180도 일때 최대신호가 되어 두번의 실험에 따른 신호비 손실은 없는 셈이 된다.

다. 원통형 모형에 대한 일차원적 실험의 결과 분광선의 결과를 그림 1에 보였다. 그림 1-(1)는 세계의 원통형 모형의 한 단면의 분광신호로부터 Fourier 변환으로 밀도주사도(density projection)를 얻은 것이고 그림 1-(2)는 단면의 일부 구간의 자기쌍극자를 α 각도(이 경우 180도)만큼 기울인 후의 상태에서 얻은 신호의 밀도주사도이다. 반전되어 있는 구간은 selective pulse에 의하여 그 구간에 해당되는 핵자기쌍극자들이 반전되어 있던 상태에서 분광선이 얻어졌기 때문이다. 두 분광선의 차이는 중앙의 반전된 부분만이 남게됨을 쉽게 알 수 있다. 선택 체적 외부로부터의 신호 오염을 방지하기 위해서는 선택 체적외부의 핵자기 쌍극자를 saturation 시켜서 excitation pulse에 의하여도 신호가 나오지 않도록 할 수 있다. 이러한 방법중의 하나가 선택 pulse 직전에 임의위상변조(random phase modulation)파를 시료에 조사하는 것이다. 그림 1-(3)은 임의위상변조파를 조사시켜 선택체적의 부분이 pre-saturation 되도록 하여 분광선을 얻은 것이다. 선택 체적법을 이용한 영상법으로 그림 1-(4)에서 체적 선택부분의 위치와 체적을 확인할 수 있다. 체적선택부분의 위치는 체적 선택 pulse의 주파수로, 체적은 주파수의 폭에 의하여 결정이 된다.

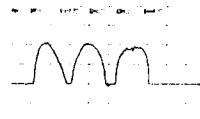


그림 1-(1) 실험 1의 결과에 대한 Fourier spectrum으로 전체 체적의 한 단면의 밀도주사도이다.



그림 1-(2) 실험 2의 결과에 대한 Fourier spectrum으로 단면의 일부 구간의 자기쌍극자들이 선택됨에 의하여 반전된것을 보여주고 있다.



그림 1-(3) 선택펄스 직전에 임의위상 변조파가 사용되어서 선택부위 이외의 체적에서 random noise가 포함되어 있는 것이 밀도주사도에 나타나 있다.

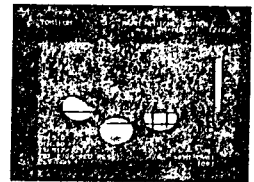


그림 1-(4) 체적선택법에 의한 자기 증명영상. 그 차지점이 선택된 부위도 영상을 통해 선택지점을 확인할 수 있다.

일차원에서 삼차원공간으로의 확장

삼차원 공간에서의 특정부위의 선택은 x-축, y-축, z-축의 경사 자기장과 3개의 selective RF pulse 를 이용하여 이루어진다. 모두 $2^3 = 8$ 번의 실험을 하여, 각각의 결과를 얻은 후 산술적 처리를 하면 특정 체적소의 신호를 추출할 수 있다. 삼

차원 공간에 대한 RF pulse sequence는 그림 2에 예시하였으며, selective pulse와 gradient pulse가 함께 ON/OFF가 된다고 했을 때 8번의 실험이 가능하게 된다. 8번의 조합을 표 1에 실험 1번부터 실험 8번까지 나열을 하였다. x-축방향의 경사자기장이 걸렸을 때의 selective pulse에 의하여 기울어지는 각도를 α , y-축 방향의 경우를 β , 그리고 z-축 방향의 경우를 γ 라고 하였다.

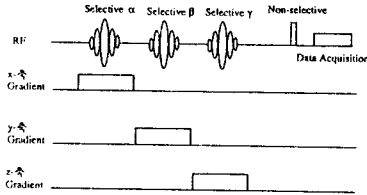


그림 2 설치된 공간에서의 체적선택 자기공명분석 Pulse sequence. 경사자기장과 그주파 pulse 동시에 ON/OFF의 조합으로 8번의 실험이 이루어진다.

	x-gradient	y-gradient	z-gradient
실험 1.	OFF	OFF	OFF
실험 2.	ON	OFF	OFF
실험 3.	ON	OFF	OFF
실험 4.	ON	ON	OFF
실험 5.	OFF	OFF	ON
실험 6.	ON	OFF	ON
실험 7.	OFF	ON	ON
실험 8.	ON	ON	ON

표 1 그주파 Pulse와 경사자기장의 8번 실험에 대한 조합

각 실험의 결과 분광선을 산술적으로 처리하여 정방체의 중앙 부위만 신호를 남기고 나머지부분은 신호가 상쇄되게 함으로써 체적선택이 이루어진다. 정방형을 9조각으로 나누어 각 조각에 따라 8번의 실험결과를 산술적으로 처리하면 8개의 독립 방정식을 얻을 수 있다.

정방체의 모서리 부분들은 selective pulse에 전혀 영향을 받지 않는다. 따라서 8번의 실험을 통해서 구해진 이부분들의 분광선들의 산술적 합은 영이 되어야한다.

$$C_1 + C_2 + C_3 + C_4 + C_5 + C_6 + C_7 + C_8 = 0 \text{ ----- (2)}$$

여기서 C_1 는 1번째 실험의 산술적 합에 대한 계수이다. 정방체중의 8 모서리 사이에 위치한 부분들은 12 부분으로 각 단면상에 4 부분이 있으며 이 부분들은 8번의 실험을 통해서 4번은 selective pulse에 영향을 받지않으며 4번은 α selective pulse에 자기장극자가 $\cos\alpha$ 만큼의 기울임을 받게 된다. 이 분광선

의 합은 역시 영이 되어야 한다. 다른 두개의 4 부분들도 각 이 각각 β selective pulse, γ selective pulse에 같은 방식으로 영향을 받게된다. 이것들을 산술적으로 표시하면 다음과 같다.

$$C_1 + C_3 + C_5 + C_7 + (C_2 + C_4 + C_6 + C_8) \times \cos\alpha = 0$$

$$C_1 + C_2 + C_5 + C_6 + (C_3 + C_4 + C_7 + C_8) \times \cos\beta = 0$$

$$C_1 + C_2 + C_3 + C_4 + (C_5 + C_6 + C_7 + C_8) \times \cos\gamma = 0 \text{ ---- (3)}$$

각면의 중심부들은 8번의 실험을 통해서 selective pulse 영향을 받는 정도의 산술적 합이 역시 영이 되어야하므로 다음의 식을 얻을 수 있다.

$$C_1 + C_2 + (C_3 + C_4) \times \cos\beta + (C_5 + C_6) \times \cos\gamma + (C_7 + C_8) \times \cos\beta \cos\gamma = 0$$

$$C_1 + C_3 + (C_2 + C_4) \times \cos\alpha + (C_5 + C_7) \times \cos\gamma + (C_6 + C_8) \times \cos\gamma \cos\alpha = 0$$

$$C_1 + C_5 + (C_2 + C_6) \times \cos\alpha + (C_3 + C_7) \times \cos\beta + (C_4 + C_8) \times \cos\alpha \cos\beta = 0$$

$$\text{----- (4)}$$

정방체의 중심 부분에 대한 8번의 실험에 대한 산술적 합은 영이 아닌 상수가 되어야 한다. 따라서 이에 대한 식은

$$C_1 + C_2 \times \cos\alpha + C_3 \times \cos\beta + C_4 \times \cos\alpha \cos\beta + C_5 \times \cos\gamma +$$

$$C_6 \times \cos\gamma \cos\alpha + C_7 \times \cos\beta \cos\gamma + C_8 \times \cos\alpha \cos\beta \cos\gamma = K \text{ --- (5)}$$

이 된다. 임의의 기울기 각도 α, β, γ 에 대하여 위식들이 항상 성립되기 위하여서는 $C_1 = C_4 = C_6 = C_7 = 1$, 그리고

$$C_2 = C_3 = C_5 = C_8 = -1 \text{의 값을 가져야한다. 특히 기울기 각도 } \alpha,$$

β, γ 가 180도 일때 최대 신호치 $K=8$ 의 값을 가지며, 체적선택에 따른 신호비의 손실이 없음을 알 수 있다.

II-2 재료 및 실험

모든 실험은 Biospec 4.7 Tesla 영상 및 분광분석기에서 수행되었다. 기기의 구경은 30cm이며 서로 직교하는 경사자기장 발생 장치가 부착되어 있다. Phantom은 1mole의 mono-phosphate(Na_2HPO_4)용액과 직경이 1cm인 시험관을 사용하여 제작하였다. 각 시험관의 용액은 pH가 3.7, 11이 되도록 강산과 강알칼리 용액으로 조정하였다.

시스템은 4.7 Tesla 초전도체 자석으로 길이는 110cm, 외경 100cm, 내경 31cm 이다. 경사자기장의 발생 장치는 자석의 중앙에 경사자기의 중심이 자리하게 되어 있으며, surface coil은 직경 5cm이고, inductive coupling을 이용하여 수소원자와 인원자의 두 원소의 주파수에서 동시에 자기공명이 일어나도록 제작되었으며, 자기장의 균질성이 가장 좋은 자기장의 중앙에 위치시켰다

분광법 실험

분광법은 선택부위 외의 부분의 신호를 극소화하기 위하여 일차원 실험 때의 presaturation pulse를 각 inversion pulse 직전에 gradient pulse와 함께 사용하여, 8번의 실험을 이룬에서 보인 바와 같이 실행하였다. 이때 pH가 각각 3, 7, 11인 1 mole농도의 Na_2HPO_4 용액이 채워진 시험관을 모형으로 사용하였으며, 그 이유는 화학적 이동량이 용액의 pH값에 따라 다르기 때문에 결과 분광선을 보고 극소화의 정도를 판단할 수 있기 때문이다. inversion pulse의 폭은 5msec으로 spectral width가 2200Hz에 해당되어 선택부위가 5mm가 되도록 하였다. 따라서 그 부위는 0.5^3 cm^3 즉 0.125 CC 이다. 얻어진 각 신호에 대해서 이 론에서 보인 바와 같이 산술적 합과 차이를 구하여 선택부위의 신호를 추출하였다. 추출된 신호를 Fourier 변환을 통하여 주 파수 영역으로 변환한 후, 0th order 그리고 1st order phase correction과 base line correction을 하게 된다. 그러나 본 실험의 경우, 이러한 신호의 처리과정이 필요하지 않았다.

III 결과 및 토론

pH가 각각 3, 7, 11인 1 mole 농도의 Na_2HPO_4 용액으로 채워진 시험관에 대하여 전통적인 impulse sequence (FID sequence)에 의거하여 얻어진 분광선들은 같은 좌표계에 그려보았다. (그림 3). 각 분광선은 용액의 폐하에 따라 약 120Hz 혹은 3ppm 정도의 화학적 이동량에 의하여 구분됨을 볼 수 있다. 그림 4는 3개의 tube를 함께 놓아둔 상태에서 OSIRS기술을 사용하여, 폐하 11인 용액의 tube중에서 체적 0.125cc를 선택하여 얻은 분광선을 보여주고있다.

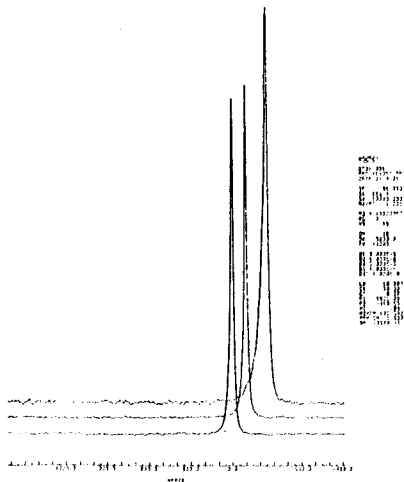


그림 3 FID pulse sequence에 의한 pH 3, 7, 11의 용액의 각각의 spectra. pH의 변화에 따라 chemical shift에 차이가 있다.

작은 부피를 선택하였으므로 절대신호크기도 줄어들었고 선풍도 이에따라 개선되었음을 보여준다. 중앙의 pH 7 용액의 분광선이 양쪽의 분광선에 비해 크기가 작은 이유는 용액이 다

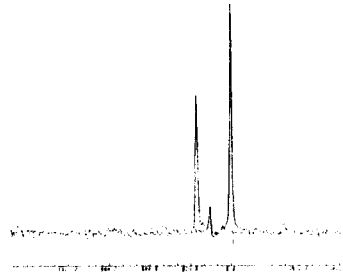


그림 4 OSIRS 기술을 사용하여 각각의 용액의 0.125cc의 체적을 선택하여 얻은 자기공명분광선. 중앙의 pH 7 용액의 peak가 상대적으로 작은 이유는 표면 coil로 부터 멀리 떨어져 있기 때문이다.

른 tube에 비해 surface coil에서 멀리 떨어져 있어, coil에 신호전달 유도능력이 떨어지기 때문이다. 신호감쇠의 정도는 시료에서 발생하는 flux가 표면 coil의 단면적을 얼마나 통과하는가에 비례하여 결과적으로 거리의 제곱에 반비례하는 관계를 가진다. 따라서 시료가 coil에서 멀리 떨어질수록 신호유도능력이 감퇴된다. 만약 각 용액들이 같은 위치에 존재하였다면 같은 크기의 분광선이 나왔을 것이다.

IV 결론

OSIRS 실험으로 부피 25cc의 모형으로부터 임의의 위치의 0.125cc의 체적을 선택하여 그 체적만의 자기공명신호를 얻었다. 선택체적 이외의 지역의 신호에 전혀 오염이 되지 않은 깨끗한 분광선으로부터 극소화가 잘 이루어짐을 알 수 있다.

극소화기법을 생체 실험에 적용하면 시료를 적출하지 아니하고도 조직 생체내 있는 그대로의 상태에서 자기공명 분광신호를 선택체적으로부터 얻을 수 있음을 보였다. 따라서 뇌, 간, 특정 근육등의 물질대사 관계의 연구뿐 아니라 임상적으로 질병의 진단에도 중요한 도구가 될 것으로 기대된다.

References:

- 1 Bloch, F., Hansen, W.W., and Packard, M.E.: Nuclear induction, *Phy Rev* 69:127(1946)
- 2 Hoult, D. I., Busby S. J. W., Gadian D. G., Radda G. K., Richards R.E., Seeleg P.J.; Observation of tissue metabolites using ^{31}P nuclear magnetic resonance: *Nature(London)* 252:285-287(1974)
- 3 Connelly, A., Counsell, C., Lohman, J. A. B., Ordidge R. J.; Outer volume suppressed image related in vivo spectroscopy(OSIRS), a high sensitivity localization technique: *J. Mag Res* 78 (1988)
- 4 Ordidge, R.J., Connelly, A., Lohman J.A.B.; Image related in vivo spectroscopy(ISIS), A new technique for spatially selective NMR spectroscopy: *J. Mag Res* 66 (1986)
- 5 Silver, M. S., Joseph, R.I., Hoult, D.I.; Selective spin inversion in nuclear magnetic resonance and coherent optics through an extra solution of the Bloch-Riccati equation: *Phys Rev A* vol.31 No.4(1985)