

<원저>

java Based Magnetic Resonance User Interface의 Advanced Method for Accurate, Robust, and Efficient Spectral Fitting 분석방법의 관찰자 변동 요소

- Observer Variation Factor on Advanced Method for Accurate, Robust, and Efficient Spectral Fitting of java Based Magnetic Resonance User Interface for MRS data analysis -

¹⁾청주대학교 임상병리학과 · ²⁾김천대학교 방사선학과

이석준¹⁾ · 유승만²⁾

— 국문초록 —

본 연구에서는 MRS 정량적 분석 중 jMRUI AMARES방법의 관찰자의 의존적 원인 요소를 숙련자와 비숙련자의 측정을 통하여 파악하고 하였다. 실험용 10주령 수컷 쥐의 간 부분을 3T MRI 장치를 활용하여 point resolved spectroscopy 펄스시퀀스를 이용하여 자기공명분광 데이터를 획득하였다. 획득된 데이터는 기준 값으로 사용하기 위해서 LCMoDel software 이용하여 1.3 ppm의 메틸렌 양성자와 4.7 ppm의 물 분자 양성자의 정량 비를 계산하였다. 7명의 비숙련 관찰자는 jMRUI AMARES 방법으로 총 지질을 1, 2주 간격으로 측정 후 측정된 값을 SPSS를 이용하여 interclass correlation coefficient를 시행하였다. 관찰자 사이 간 측정치의 일관성의 신뢰도 분석을 표현한 크논바 알파 계수는 0.1 미만으로 나타났다. 1주차 데이터 값과 2주차 데이터 값의 평균값은 0.096±0.038로 LCMoDel의 분석 값보다 0.048로 50% 높게 관찰되었다. jMRUI AMARES분석 방법이 LCMoDel과 동일한 결과를 얻기 위해서는 정확한 대사물질의 개요를 숙지하고 획득된 그래프의 형태를 잘 파악하여 잔존 대사물질을 최소화 하여야 한다.

중심 단어: 자기공명분광, 대사물질, 펄스시퀀스

1. 서 론

자기공명분광(magnetic resonance spectroscopy, MRS)은 생체내의 생화학적 대사산물을 비 침습적으로 측정할 수 있는 방법으로, 1946년 Purcell이 처음으로 실제적인 핵자기 공명 신호를 얻은 이후 Bloch이 보통의 물에서 신호를 얻는데 성공하면서부터 본격적으로 시작되었다¹⁻³⁾. MRS가 인체의 질병상태 파악에 이용되기 시작한 것은 1971년 Damadian이 암 조직에서 양성자의 종 이완이 길어진다는

것을 발표한 이후부터이다⁴⁾. MRS는 목적에 따라 대상원소를 선택하여 인체의 생화학적 대사 상태에 대한 특유의 정보를 알 수 있기 때문에 조직병리학적으로 생리학적 변화를 관찰 할 수 있다⁵⁾. 특히 구조적인 변화가 오기 전에 세포기능의 변화를 미리 발견이 가능하기 때문에 질병의 조기예방할 수 있고, 치료 효과를 표현하는 등 여러 장점으로 많은 연구가 활발히 진행되고 있다^{6,7)}.

MRS는 1) 관심구역(volume of interest, VOI) 설정을 위한 자기공명영상 획득, 2) 전체자장의 균일도 보정(global

This work was supported by the 2015 Gimcheon University Research Grant (gc15029).

Corresponding author: Seung-Man Yu (Gimcheon Univ) / Tel: +82-54-420-4046 / E-mail: ysm9993@gmail.com

Received 18 February 2016; Revised 1 May 2016; Accepted 7 June 2016

shimming procedure), 3) 관심구역 설정, 4) 국소자장의 균일도 보정(local shimming procedure), 5) 펄스 시퀀스 및 파라미터 결정, 6) 물 신호의 억제(suppression of water signal), 7) 스펙트럼 측정, 8) 스펙트럼 데이터 처리, 9) 스펙트럼 데이터 분석 순이다^[8]. 획득된 데이터는 정확한 정량적 분석을 위하여 다양한 방법이 사용되는데, LCModel은 MRS 측정 조건에 대응하는 스펙트럼을 자동으로 처리(푸리에 변환, 위상 보정)하여 커브 피팅(fitting)한 후 바탕 함수 집합(basis-set)과 비교하여 생체 내 각각의 대사물질을 피크 별로 분리 계산하여 정량계산을 자동으로 수행한다^[9]. 이러한 LCModel의 분석은 자동 분석 및 basis-set 파일의 이용으로 측정 조건에 따라 발생하는 차이를 줄일 수 있어 분석 결과의 표준화가 기대되고 있다. jMRUI (java based magnetic resonance user interface)의 AMARES (the advanced method for accurate, robust and efficient spectral fitting) 분석법은 비선형 영역의 매개변수에 어울리는 방법으로 각 피크는 서로 다른 선 모양의 형태를 가질 수 있는 장점이 있는 반면, LCModel과 달리 수동 분석 소프트웨어로 사용자가 설정하는 매개변수에 따라 MRS 데이터 분석결과가 달라질 수 있다^[10]. 따라서 jMRUI 방법은 분석 기술의 적용이 관찰자에 따라 오차가 발생 할 가능성이 매우 높기 때문에 관찰자간 측정 오차에 대한 평가와 측정 오차의 원인을 파악하는 것이 매우 중요하다.

본 연구에서는 수동적 분석 방법인 jMRUI AMARES가 측정자의 경험에 따라 측정오차의 어떤 부분이 의존적 요소 인지를 경험이 많은 관찰자의 데이터 분석 방법과 비교함으로써 그 원인을 알아보고자 하였다.

II. 연구방법

1. 실험 재료 및 방법

1) 실험동물

본 연구를 위해서 10주령 수컷 실험용 쥐를 사용하였으며, 실험 1주일 전부터 무균상태의 격리된 공간에서 실온(20.5 ± 2 °C), 상대 습도는 45~60%로 일정하게 유지하여 실내조명은 12시간 주기로(오전 9시부터 오후 9시 기준) on/off 하였고, 전체 실험기간 동안 환경에 적응하도록 먹이와 물을 임의대로 공급하여 실험 준비를 하였다.

2) 자기공명 영상/분광 장치

모든 자기공명영상 획득은 3.0 T MRI 장치(Achieva TX;

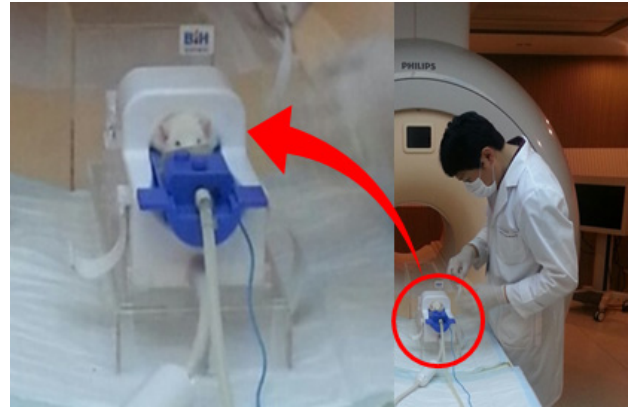


Fig. 1 magnetic resonance imaging/spectroscopy data acquisition of experimental rat

The liver area of experimental rat was placed on 4channel animal coil center, and the magnetic resonance spectroscopy data was acquired at 30-40 times/minute for reducing effect of respiration artifact.

Philips health care, Erlangen, Netherlands)에서 이루어졌다. 이 장치의 amplitude와 slew rate는 각각 40 mT/m와 200 T/m/sec이며 영상 획득 및 MRS 데이터 획득을 위한 수신코일로는 4 channel animal coil (CG-MUC18-H300-AP, Shanghai Chenggang Medical Technologies Co. Ltd, China)을 사용하여 Fig. 1과 같이 실험동물을 장치의 중심에 위치시켜 데이터 획득하였다.

3) 자기공명영상/분광 데이터 획득 파라미터

실험동물의 간 실질의 정확한 데이터 획득과 VOI (volume of interest)를 설정하기 위해서 고속스핀에코(fast spine echo) T2강조영상 펄스시퀀스를 통하여 횡단면(transverse axial), 관상면(coronal plane), 시상면(sagittal plane)의 영상을 획득하였다. 데이터 획득을 위해서 동물모델은 isoflurane/air (1.0-1.5%)를 투여하여 호흡마취를 실시하였으며 호흡의 움직임을 관찰하면서 실시하였다^[11]. 영상획득을 위한 파라미터는 Table 1과 같이 설정하였으며 MRS 데이터를 획득은 T2강조영상을 획득 후 동물의 움직임 없이 호흡마취와 호흡 유무를 관찰하면서 실시하였다.

Fig. 2와 같이 T2강조 영상에서 간의 우엽(right lobe) 중 큰 혈관을 피하여 VOI를 설정하였으며 데이터 획득을 위해서 PRESS (point resolved spectroscopy) 펄스시퀀스를 사용하였다. 간 실질의 물 성분과 메틸렌 양성자(methylene protons)의 정량화를 위해 물 신호 억제 전/후 각각 MRS 데이터를 획득하였다. MRS 파라미터 복셀 크기(voxel size)는 $0.8 \times 0.8 \times 0.8$ cm³으로 지정하였으며 물 신호 억제 전의 데이터는 number of signal averages (NSA)를 8로

Table 1 Magnetic resonance imaging/spectroscopy pulse sequence parameters

Pulse sequence	TR ¹⁾ (msec)	TE ²⁾ (msec)	Average	Matrix	FOV ³⁾ (mm)	Voxel size (mm)
Fast Spin Echo (T2 weighted Imaging)	3000	101	1	512 × 512	120 × 120	
PRESS ⁴⁾	1500	35	8/64			8 × 8 × 8

1) TR: time to repeat
 2) TE: time of echo
 3) FOV: field of view
 4) PRESS: point resolved spectroscopy

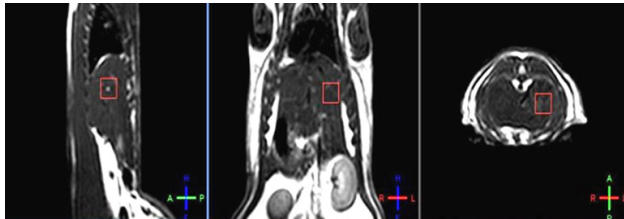


Fig. 2 volume of interest placement of magnetic resonance spectroscopy, data acquisition of experimental rat

Typical liver 1H proton magnetic resonance spectroscopy spectra with a voxel (red vox) was placed within a homogeneous liver parenchyma to avoid large blood vessels shown in the T2 weighted axial, sagittal and coronal turbo spin images.

설정하여 획득하였다. 1.3 ppm에서 peak을 보이는 total lipid 획득을 위한 파라미터는 동일하게 설정하였으나 물 신호 억제(water suppression)을 위해서 variable pulse power and optimized relaxation delays (VAPOR)를 적용하였으며 NSA는 64로 설정하였다.

4) 스펙트럼 분석 방법 및 조직검사

획득된 MRS 데이터는 참고 데이터 활용을 목적으로 LCMModel (version 6.3-1H, Stephen W. Provencher) software를 이용하여 정량화 분석을 실시하였다. 1.3 ppm Peak의 화학적 이동 표시인 total lipid의 분석을 위해서 spectrum type을 'liver-11'로 지정하여 분석하였으며 분석을 위한 control parameter는 LCMModel & LCMgui User's manual (<http://s-provencher.com/pages/lcm-manual.shtml>)의 지침에 따라 분석을 실시하였다. jMRUI (java based magnetic resonance user interface, version 5.0)를 이용하여 물 신호 억제 전/후를 적용한 MRS 데이터를 분석하기 위해서 위상 조정과 apodize filer를 3Hz 적용하였으며, Fig. 3와 같이 1.3 ppm의 methylene proton의 정량적 분석을 위해서 서로 인접한 1.3 ppm과 0.9 ppm의 지질을 AMARES technique을 이용하여 분리하여 아래와 같은 방정식으로 methylene proton (1.3 ppm)과 water proton ratio(TL/W)를 계산하였다. 관찰자 사이 간 분석

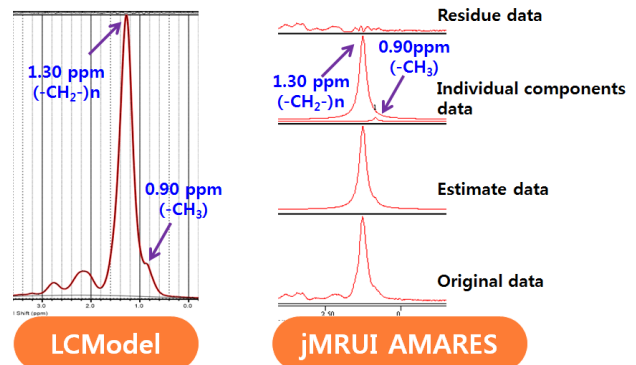


Fig. 3 expression of liver 1H proton magnetic resonance spectroscopy spectra on LCMModel and jMRUI AMARES methods

The LCMModel (left side) was fitted the MRS raw data automatically for quantification of metabolite, but the individual metabolite components data was separated manually on jMRUI AMARES method (right side).

데이터 일관성을 측정하기 위해서 처음 데이터 분석을 시행한 후 동일한 방법으로 1주 후에 다시 분석을 시행하였다.

$$TL/W = \text{methylene protons (1.3 ppm)} / \text{water proton peak (4.7 ppm)}$$

자기공명영상/분광 실험을 모두 마친 후 실험에 사용된 쥐의 간을 적출하여 조직검사를 시행하였다. 자기공명분광 데이터를 획득한 부분과 일치하는 간의 오른쪽 간 영역을 적출하였으며, 포르말린으로 고정한 후 파라핀으로 몰딩 하였다. 지방 침착의 함량을 평가하기 위하여 hematoxylin-eosin 염색을 시행 후 간 조직 내 지방 침착을 평가하였다.

5) 통계적 결과 분석

관찰자의 측정 오차 변수를 알아보기 위해 jMRUI AMARES technique 분석 경험 5년이 넘는 전문가가 먼저 분석을 시행한 후, 기준 분석 데이터로 사용될 LCMModel로 각각 분석을 시행하였다. 측정자의 경험의 의존적 평가를 위해서 방

사선학을 전공하는 총 7명의 학생에게 1.3 ppm과 4.7 ppm peak의 측정을 위해 jMRUI의 사용방법에 대하여 교육을 시행하였다. 관찰자의 변수의 데이터 측정 결과에 영향을 주지 않게 하기 위해 전문가가 분석한 TL/W의 결과는 관찰자들에게 공개하지 않았다. 또한 각각의 관찰자들이 측정한 데이터는 서로 공유하지 않았으며 관찰자 사이 간 신뢰도 평가하기 위해서 통계적인 방법인 interclass correlation coefficient(ICC)를 SPSS version 20.0 (SPSS Incorporated, Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. ICC의 크논바알파 계수가 0.8-1.0는 신뢰도가 매우 높음, 0.6-0.79는 중등도 그리고 0.59 미만은 신뢰할 수 없음으로 평가하였다.

III. 결과 및 고찰

1. jMRUI AMARES분석과 LCMoel 결과

본 실험을 위해서 자기공명영상 T2강조 영상과 PRESS 펄스시퀀스를 통한 자기공명분광 데이터는 모두 성공적으로 획득되었다. 또한 본 실험은 간 조직의 jMRUI AMARES 방법을 통해 MRS 정량적 분석이 숙련자와 짧은 기간 동안 교육을 받은 비숙련자의 MRS 분석 데이터를 평가함으로써 AMARES 방법이 측정자에 의존되지 않고 객관적인 결과의 활용이 가능한지를 평가하는 것이 가장 큰 목적이었다.

jMRUI의 AMARES 방법의 경우 데이터 분석함에 있어서 획득된 간 실질 내의 지질 양성자(lipid proton) 중 1.3 ppm의 methylene protons, ((-CH₂-)n)은 0.9 ppm의 methyl protons (-CH₃)과 인접되어 있기 때문에 Fig. 3과 같이 분리하여 분석하여야 한다^{[7][12,13]}. 따라서 목적으로 하는 대사물질의 데이터 profile을 사전에 인지하여 인접된 대사물질을 분리 분석하여 정량화하기 위한 노력이 필요하다. 더욱이 분석을 위해서 획득된 스펙트럼의 형태를 보고, Gaussian 또는 Lorenz 형태를 판단하여 지정해야 한다. LCMoel를 통하여 획득된 1.3 ppm의 methylene protons ((-CH₂-)n)과 4.7 ppm에서 보이는 H₂O의 ratio는 0.048이었으며 표준편차 범위는 2%로 나타났다. 본 연구에서 기

준 데이터로 사용된 LCMoel 분석 방법은 basis-set을 이용한다. 즉 분석하고자 하는 대사물질을 이미 정량화된 대사물질의 표준화 패턴 데이터를 활용하기 때문에 신뢰도가 높고 정확한 분석 결과의 표준화를 기대할 수 있다. 따라서 관찰자 사이 간 일관성이 유지되기 때문에 신뢰도가 매우 높아 다양한 분야에서 많이 활용되고 있다^[14-16].

2. 관찰자들의 정량분석의 비교

Fig. 4와 같이 hematoxylin-eosin을 통한 간 내 지방의 침착은 5%으로 non fatty liver로 관찰되었다. LCMoel 분석치에서도 0.048 (4.8%)로 매우 정확하게 정량 분석된 것을 확인할 수 있었다. 5년 이상의 MRS분석 경험을 가진 전문가 경우 TL/W의 값은 0.044의 결과를 보였으며, jMRUI의 AMARES를 통한 관찰자들의 개개인의 TL/W 값은 Table 2와 같이 나타났다. 관찰자들의 첫 주에 측정된 TL/W의 평균값의 결과는 0.096±0.04였으며, 둘째 주는 0.097±0.04로 평균값의 변화는 0.001의 차이가 있는 것으로 나타났다. 1주차 데이터 값과 2주차 데이터 값의 평균값은 0.096±0.038로 LCMoel의 분석 값보다 0.048로 50% 높게 관찰되어 분석된 데이터 값의 오류 매우 높게 관찰되었다. 측정된 TL/W의 가장 높은 측정치는 0.133로 LCMoel로 측정된 값보다 0.085이 높게 측정되었으며, 최저치는 0.037로 LCMoel 보다 0.011 낮게 측정되었다. LCMoel

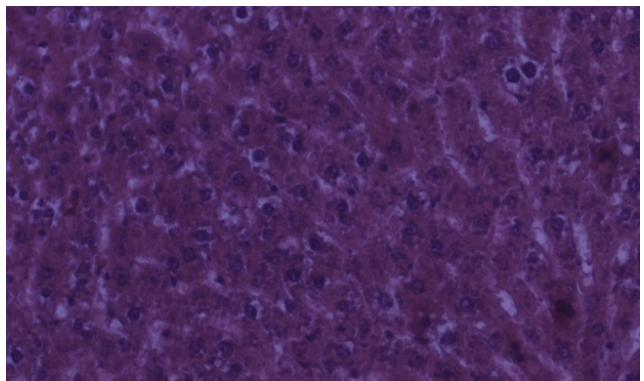


Fig. 4 Hematoxyline/eosin stained histology section of liver form (x200)

Table 2 MRS raw data of jMRUI analysis on experimental rat liver

	Observer 1	Observer 2	Observer 3	Observer 4	Observer 5	Observer 6	Observer 7
Data 1 (1 st week)	0.053	0.081	0.037	0.132	0.106	0.133	0.132
Data 2 (2 nd week)	0.037	0.043	0.109	0.117	0.132	0.133	0.109

을 통한 비교에서 가장 비슷한 결과를 보인 경우는 0.043로 0.005의 차이로 관찰되었다.

3. 관찰자간 측정 신뢰도 및 변동 요소

ICC분석의 크논바 알파 계수는 0.1 미만으로 각각의 관찰자들이 측정된 데이터 값이 신뢰할 수 없었다. 반면 5년 정도의 MRS분석의 경험을 가진 분석자가 분석한 값의 경우 0.044의 결과를 보여 LCMoDel분석 방법과 비교하였을 때 큰 차이 값이 보이지는 않았다. 모든 실험 및 분석을 마치고 이루어진 관찰자의 오류에 대한 평가를 jMRUI분석 숙련자와 함께 시행하였는데, 0.9 ppm peak과 1.3 ppm peak값이 잔존 대사물질(residual metabolite)의 유무가 제대로 확인되었는지에 따라 분석 값이 달라지는 것을 확인할 수 있었다. 숙련 분석자의 경우 각각의 대사물질을 제대로 분리되도록 하였고, 4.7 ppm peak값 분석 후 잔존 대사물질의 유무를 반드시 확인하여 잔존 대사물질이 남아 있는 경우에는 분석 peak의 대역폭(bandwidth)를 수기 식으로 입력하여 잔존 대사물질이 없도록 시행하였다. 반면 분석 경험이 적은 관찰자 경우 그래프의 형태의 숙지 미흡 및 잔존 대사물질 제거를 위한 노력이 부족한 것으로 관찰되었다. 따라서 본 실험을 통하여 대사물질의 profile을 관찰자가 정확히 알고 분석하는 것이 MRS분석에 있어 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 또한 획득된 데이터의 그래프의 형태에 따라 Gaussian 또는 Lorenz를 판단하여 해석하는 경험 또한 오차를 유발하였다. 본 연구에서는 실험용 쥐의 간의 지방 데이터를 활용하여 MRS 데이터를 얻어 jMRUI AMARES 분석 방법으로 숙련/비숙련 관찰자의 신뢰도 및 분석된 정량화 값이 조직검사와 같은 결과를 보인 LCMoDel 분석 치와 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

IV. 결 론

따라서 jMRUI AMARES분석 방법이 LCMoDel과 동일한 결과를 얻기 위해서는 획득된 데이터의 그래프의 형태를 잘 파악하여 분석에 적용하여야 한다. 또한 정확한 대사물질의 profile을 숙지하여 잔존 대사물질을 최소화 한다면 LCMoDel보다 더욱 세밀한 정량적 분석이 가능할 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Bloembergen N, Purcell EM, Pound RV: Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption, physical review. 73(7), 679, 1948
2. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, et al: Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population, American Journal of Physiology. 288(2), E462-E468, 2005
3. Bloch F: Nuclear induction, physical review. 70(7-8), 460, 1946
4. Damadian R: Tumor detection by nuclear magnetic resonance. Science. 171(3976), 1151-1153, 1971
5. Kreis R, Ernst T, Ross BD: Development of the human brain: In vivo quantification of metabolite and water content with proton magnetic resonance spectroscopy, Magnetic Resonance in Medicine. 30(4), 424-437, 1993
6. Oberhaensli R, Bore P, Rampling R, et al: Biochemical investigation of human tumours in vivo with phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy, The Lancet. 328(8497), 8-11, 1986
7. Yu SM, Ki SH, Baek HM: Nonalcoholic fatty liver disease: correlation of the liver parenchyma fatty acid with intravoxel incoherent motion MR imaging-An experimental study in a rat model, Plos One. 10(10), e0139874, 2015
8. Choe BY: Magnetic resonance spectroscopy, J Korean Soc Magn Reson Med. 1(1), 1-31, 1997
9. Provencher SW: Automatic quantitation of localized in vivo 1H spectra with LCMoDel, NMR In Biomedicine. 14(4), 260-264, 2001
10. Stefan D, Cesare FD, Andresescu A, et al: Quantitation of magnetic resonance spectroscopy signals: the jMRUI software package, Measurement Science and Technology. 20(10), 104035, 2009
11. Cheung JS, Guo H, Leung JCK, et al: MRI visualization of rodent liver structure and peritoneal adhesion with dialyzate enhancement, Magnetic Resonance in Medicine. 59(5), 1170-1174, 2008
12. Corbin IR, Furth EE, Pickup S, et al: In vivo assessment of hepatic triglycerides in murine non-alco-

- holic fatty liver disease using magnetic resonance spectroscopy, *Biochimica Biophysica Acta*, 1791, 757–763, 2009
13. Runge JH, Bakker PJ, Gaemers IC, et al: Quantitative determination of liver triglyceride levels with 3T ¹H-MR spectroscopy in mice with moderately elevated liver fat content, *Academic Radiology*, 21(11), 1446–1454, 2014
 14. Melissa Terpstra, Pierre-Gilles Henry, Rolf Gruetter et al: Measurement of reduced glutathione (GSH) in human brain using LCMoel analysis of difference-edited spectra, *Magnetic Resonance in Medicine*, 50(1), 19–23, 2003
 15. Srinivasan R, Vigneron D, Sailasuta N, et al: A comparative study of myo-inositol quantification using lmodel at 1.5 T and 3.0 T with 3D 1H proton spectroscopic imaging of the human brain, *Magnetic Resonance Imaging*, 22(4), 523–528, 2004
 16. Tefan D, Cesare FD, Andrasescu A, et al: Quantitation of magnetic resonance spectroscopy signals: the jMRUI software package, *Meas Sci Technol*, 20, 104035, 2009

•Abstract

Observer Variation Factor on Advanced Method for Accurate, Robust, and Efficient Spectral Fitting of java Based Magnetic Resonance User Interface for MRS data analysis

Suk-Jun Lee¹⁾·Seung-Man Yu²⁾

¹⁾*Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health Science, Cheongju University*

²⁾*Department of Radiological Science, College of Health Science, Gimcheon University*

The purpose of this study was examined the measurement error factor on AMARES of jMRUI method for magnetic resonance spectroscopy (MRS) quantitative analysis by skilled and unskilled observer method and identified the reason of independent observers. The Point-resolved spectroscopy sequence was used to acquired magnetic resonance spectroscopy data of 10 weeks male Sprague-Dawley rat liver. The methylene protons ((-CH₂-)_n) of 1.3 ppm and water proton (H₂O) of 4.7 ppm ratio was calculated by LCMoel software for using the reference data. The seven unskilled observers were calculated total lipid (methylene/water) using the jMRUI AMARES technique twice every 1 week, and we conducted interclass correlation coefficient (ICC) statistical analysis by SPSS software. The inter-observer reliability (ICC) of Cronbach's alpha value was less than 0.1. The average value of seven observer's total lipid (0.096±0.038) was 50% higher than LCMoel reference value. The jMRUI AMARES analysis method is need to minimize the presence of the residual metabolite by identified metabolite MRS profile in order to obtain the same results as the LCMoel.

Key Words: magnetic resonance spectroscopy, metabolite, pulse sequence