

역동적 자기공명영상에서 Iron Oxide  
Nanoparticle을 사용한 간의 탐식작용  
능력에 대한 약동학적 모델의 연구

연세대학교 대학원

의과학 사업단

나 제 범

역동적 자기공명영상에서 Iron Oxide  
Nanoparticle을 사용한 간의 탐식작용  
능력에 대한 약동학적 모델의 연구

지도교수 서진석

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2001년 12월 일

연세대학교 대학원

의과학 사업단

나재범

## 나재범의 박사 학위논문을 인준함

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

심사위원\_\_\_\_\_인

연세대학교 대학원

2001년 12월 일

## 감사의 글

본 논문이 완성되기까지 끊임없는 지도와 관심으로 이끌어 주신 서진석 교수님께 진심으로 감사드리며, 본 연구를 위하여 각별한 조언을 아끼지 않으신 유형식 교수님, 김동구 교수님, 한광협 교수님, 김재형 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

아울러 실험과 데이터 분석에 많은 도움을 주신 연세대학교 진단방사선과 의국원(허용민, 김성준, 김승형, 최진형)들과 병리 조직검사에 많은 도움을 주신 경상대학교 해부병리학과 고경혁 교수님에게 감사드립니다.

그리고 사랑하는 가족과 부모님께 이 논문을 바칩니다.

저자 씀

# 차 례

그림 및 표차례 .....	ii
국문요약 .....	1
I. 서 론 .....	3
II. 재료 및 방법 .....	6
1. 방법 .....	6
가. 약동학적 모델 .....	6
나. Iron Oxide Nanoparticle 탐식의 조직학적 관찰 .....	8
다. 가토를 이용한 Iron Oxide Nanoparticle의 탐식작용 .....	8
라. Beagle dog을 이용한 Iron Oxide Nanoparticle의 탐식작용 .....	13
마. 역동적 자기공명영상의 자료분석 .....	14
III. 결 과 .....	16
1. Iron Oxide Nanoparticle 탐식의 조직학적 관찰 .....	16
2. 가토를 이용한 Iron Oxide Nanoparticle의 탐식작용 .....	16
3. Beagle dog을 이용한 Iron Oxide Nanoparticle의 탐식작용 .....	17
IV. 고 찰 .....	26
V. 결 론 .....	32
참고문헌 .....	33
영문요약 .....	38

## 표 차례

Table 1. Tissue counts and $T_{1/2}$ obtained from the radio-isotope study .....	19
Table 2. $R_v$ of the three different groups 80 minute after AMI-25 bolus injection .....	20

## 그림 차례

Figure 1. Three Compartment Model .....	21
Figure 2. Photomicrograph and transmission electron micrograph of liver .....	22
Figure 3. $\Delta R_z$ of liver and kidney as a function of time in normal and silica treated groups .....	23
Figure 4. $R_v$ as a function of time following $60 \mu\text{mol/kg}$ AMI-25 bolus injection in normal and silica treated rabbits .....	24
Figure 5. $\Delta R_z$ of liver, hepatic artery and portal vein as a function of time in Beagle dogs .....	25

## 국문요약

### 역동적 자기공명영상에서 Iron Oxide Nanoparticle를 사용한 간의 탐식작용 능력에 대한 약동학적 모델의 연구

자기공명영상에서 iron oxide nanoparticle의 조영증강 양상을 그래프 분석한 보고는 있지만, 역동적 자기공명영상방법을 이용하고 iron oxide nanoparticle의 대사과정을 3 구획 모델을 사용하여 간의 탐식작용 능력을 정량화한 시도는 없었다. 본 연구에서는 New Zealand White rabbit과 Beagle dog을 사용하였고, iron oxide nanoparticle은 AMI-25를 사용하였다. 가토를 정상군과 실리카를 전처치하여 탐식능력을 저하시킨 실리카 전처치군으로 나누어 역동적 자기공명영상검사와 동위원소검사를 시행하였다. 자기공명영상에서 신호강도의 변화를 측정하고, 신호강도를  $\Delta R_2$ 로 변환하고, 시간에 따른  $\Delta R_2$ 의 변화로 Rv값을 측정한 후 정상군과 실리카 전처치군에서 Rv값을 비교하였고, 동위원소검사의 결과와 비교하였다. Rv값은 input function을 소거한 수식을 유도하고 다중회귀분석을 이용하여 측정하였다. Rv값의 정량적 지표의 가능성을 알아보기 위하여 평형상태를 이루는 시간을 측정하였으며, 투여한 AMI-25의 양에 따른 Rv값의 차이를 측정하였다. Beagle dog을 이용한 실험에서 자기공명영상에서 대동맥과 간문맥에서 input function을 직접 측정하였으며, 역동적 자기공명영상에서 간의 신호강도를 측정하고 신호강도를  $\Delta R_2$ 로 변환하고 시간에 따른  $\Delta R_2$ 의 변화로서 Matlab software를 이용하여 3 구획 모델에서의 transport rate를 계산하였다.

자기공명영상방법에서 Rv값은  $5.06 \pm 1.53$ 이었고 실리카 전처치군에서는  $2.13 \pm 1.20$ 으로 정상군에 비하여 42%로 감소하였다. 이 결과는 동위원소



조직활성도 검사 결과와 유사하였다. 그리고 80분에 평형상태에 도달하였으며, 투여한 AMI-25의 농도와는 무관하였다. Beagle dog을 이용한 실험에서 대동맥과 간문맥의 신호강도를 측정하여 input function을 측정할 수 있었으나, transport rate는 측정할 수 없었다.

결론적으로 역동적 자기공명영상을 이용하여 iron oxide nanoparticle의 대사과정을 3 구획 모델을 도입하여 유도된 Rv값은 탐식능력의 저하정도를 측정할 수 있는 지표로 삼을 수 있다는 것을 알 수 있었다.

---

핵심되는 말 : superparamagnetic iron oxide, contrast agent, magnetic resonance imaging, liver, kupffer cell, phagocytosis, compartment model, quantification

# 역동적 자기공명영상에서 Iron Oxide Nanoparticle을 사용한 간의 탐식작용 능력에 대한 약동학적 모델의 연구

<지도교수 서진석 >

연세대학교 대학원 의과학사업단

나 재 범

## I. 서 론

현재 자기공명영상에 사용하는 조영제는 가도리니움과 같이 자기공명영상에서 신호강도를 증가시키는 양성조영제로 조직에 분포되어 T1시간을 짧게 하여 T1강조영상에서 신호강도가 증가되게 된다. 즉 양성조영제는 혈관을 통하여 어느 조직에 많이 분포하면 분포하는 정도에 따라 신호강도가 결정되고, 조직 특이성은 없다. 이와 달리 조직에 분포하여 신호강도를 감소시키는 조영제를 음성조영제라 하며 산화철이 대표적이다. 산화철인 iron oxide nanoparticle은 물질의 초강자성으로 인한 자화율의 차이로 분포하는 조직의 relaxation rate를 증가시켜 T2강조영상에서 신호강도가 감소하게 된다<sup>1-4</sup>. Iron oxide nanoparticle은 망상내피 세포계에 특이적으로 섭취되며, 특히 망상내피 세포계의 대부분을 차지하는 간의 쿠퍼씨 세포에 탐식되어 간의 신호를 감소시킨다<sup>4</sup>. 현재 이러한 특성을 이용하여 임상적으로 쿠퍼씨 세포가 없는 간 종양을 발견하는데 이용하고 있다<sup>5-6</sup>.

Iron oxide nanoparticle의 relaxation rate는 시험관이나 생체내에서 자기장의 크기에 상관없이 iron oxide nanoparticle의 농도와 비례한다고 알려져 있다<sup>1-3,5,6</sup>. 이러한 결과로서 자기공명영상으로 정량적인 분석이 가능하

게 되었고, iron oxide nanoparticle의 약동학을 연구할 수 있는 근거가 되었다. 즉 자기공명영상에서 신호강도의 차이로 relaxation rate를 측정하여 어느 조직의 iron oxide nanoparticle의 분포를 알 수 있는 것이다. Iron oxide nanoparticle은 여러 종류가 있으며, 입자의 크기에 따라서 생체섭취률이 큰 차이를 보이는데, polycrystalline particle은 보다 빨리, 보다 많이 쿠퍼씨 세포에 섭취되고, 다른 망상내피 세포계(비장, 골수, 림프절)에는 비교적 적은 양이 섭취되고, monocrystalline particle은 쿠퍼씨 세포에 늦게 섭취됨으로써 다른 망상내피 세포계에 섭취될 가능성을 높이고, 혈액 내의 반감기가 길어지는 특징이 있으며, iron oxide nanoparticle의 종류에 따라 relaxation rate도 차이가 나며 대표적인 polycrystalline particle은 AMI-25(Advanced Magnetics, Cambridge, MA, USA)이다<sup>9-11</sup>.

물질의 대사를 이해하기 위하여 약동학적 모델을 이용하는데 대개 핵의학에서 동위원소를 중심으로 이루어졌고 SPECT(single photon emission computed tomography)나 PET(positron emission tomography)를 이용하여 다양한 연구방법들이 소개되었다<sup>12-15</sup>. 이러한 연구에서 대부분 2 구획 혹은 3 구획 모델을 이용하며, 기관(organ)의 input function을 측정하고, 기관의 시간에 따른 물질의 농도를 동위원소의 활성도로 측정하여 graphical analysis method를 사용하여 각 구획의 transport rate를 계산하였는데 input function을 구하는 방법은 기관에 혈액 공급하는 혈관에서 채혈해야하므로 침습적이다.

지금까지 iron oxide nanoparticle을 이용하고 자기공명영상의 조영증강 그래프를 분석하는 방법을 이용하여 약동학적 모델을 세운 보고는 많았다. 그러나 약동학적 모델에서 중요한 transport rate를 측정하기 위해서는 핵의학에서와 같이 input function을 얻는 것이 중요하다. 또한 간의 혈액 공급은 다른 장기와 달리 간동맥에서 20%를 공급하고 간문맥에서 80%를

공급하는 이중 구조로 되어 있어, 이러한 특성을 이해하고 대동맥과 간문맥에서 input function을 각각 계산하고 합해야 전체 input function을 얻을 수 있다. 이러한 제한점 때문에 자기공명영상을 이용하여 직접 input function을 측정하여 약동학적 모델을 세우려는 시도는 없었다. 그러므로 본 연구에서는 iron oxide nanoparticle이 혈장에서 쿠퍼씨 세포내로 탐식되는 과정을 input function을 측정하여 약동학적 모델로 해석하려 한다. 즉 쿠퍼씨 세포내 공간을 포함한 3 구획 모델(three compartment model)을 도입하고, 그 개념을 기본으로 한 graphical analysis method를 개발하여 쿠퍼씨 세포의 탐식작용 능력을 정량화하려고 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 방법

#### 가. 약동학적 모델

##### (1) 이론적 가정(Hypothesis)

정맥주사를 통하여 급속주입한 iron oxide nanoparticle은 폐 순환계를 순환한 후 전신 순환계에 혈류를 따라서 전신으로 분포한다. 간의 축적은 지속적으로 이루어지는데 일차적으로 간실질에 분포된 후에 다시 간의 쿠퍼씨 세포내로 능동적인 섭취가 된다. 조영효과와 조영제의 농도와 구획공간 간의 이동기전의 가설은 다음과 같다.

(1) 간의 동양혈관 내에 iron oxide nanoparticle의 농도는 동일시간의 간동맥과 간문맥의 iron oxide nanoparticle의 농도의 합이다.

(2)  $\Delta R_2 = -\ln(S_0/S(t))/TE$ ,  $S_0$ 는 조영제 주입 전의 신호강도이며,  $S(t)$ 는 조영제 주입 후 시간에 따른 신호강도이다.  $TE$ 는 에코시간이다.  $\Delta R_2$ 는 생체내 iron oxide nanoparticle의 농도와 비례관계를 가진다<sup>1-3,69</sup>. 혈액내  $\Delta R_2$ 는 간조직내  $\Delta R_2$ 와 일치한다.

(3) 약동학적 모델은 3 구획 모델이다<sup>12</sup>. 대부분의 가도리니움 조영제가 2 구획 공간(혈관내와 간질 조직)에 한정되어 분포되는 것에 반하여 iron oxide nanoparticle은 2 구획 공간 외에 쿠퍼씨 세포내 공간이라는 또 다른 하나의 구획 공간에도 분포한다. 이 쿠퍼씨 세포내 구획 공간으로의 이동은 단방향성이다. 왜냐하면 간의 쿠퍼씨 세포내로의 탐식작용은 적어도 조영제 주입 후 세 시간 내에서는 대사되어 배출되지 않는 비가역적 작용을

보이기 때문이다. 이 탐식작용은 수용체(receptor)에 의해 쿠퍼씨 세포내로 이동한다.

- (4) 생물학적 구획 공간 사이의 이동은 first order kinetics를 따른다<sup>12</sup>.
- (5) Iron oxide nanoparticle은 평형상태(steady state)에 이른다고 가정한다<sup>14,15</sup>.

## (2) 3 구획 모델

본 연구에서 혈액내로 주입된 iron oxide nanoparticle의 대사는 Fig 1과 같이 3 구획 모델을 따를 것으로 가정하였다. Fig 1에서와 같이 간에서는 sinusoidal space와 간질 조직(interstitial space) 그리고 쿠퍼씨 세포안의 3 구획으로 나눌 수 있으며  $k_1, k_2, k_3$ 의 transport rate에 따라 iron oxide nanoparticle이 구획간을 이동한다. 그리고 3 구획 모델에서 간조직내 간질 조직과 쿠퍼씨 세포의 iron oxide의 농도는 다음과 같다.

$C_i$ (total content of iron oxide nanoparticle per unit mass of liver tissue)는  $C_e$ 와  $C_m$ 의 합이다. 시간  $t$ 에 대한 미분 방정식은 다음 식과 같다.

$$dC_i/dt = dC_e/dt + dC_m/dt \quad \text{식1}$$

$dC_e/dt$ 는 혈액으로부터 간조직으로 iron oxide nanoparticle의 transport rate와 간 조직에서 혈액으로의 transport rate의 합에다 쿠퍼씨 세포에 섭취되는 transport rate를 감한 것과 같다. 그것을 수식으로 표현하면 식2와 같다.  $dC_m/dt$ 는 쿠퍼씨 세포에 섭취되어 세포내에 고정되는 rate와 같다. 이는 식3으로 표시된다.

$$dC_e/dt = k_1 C_p - k_2 C_e - k_3 C_e \quad \text{식2}$$

$$dC_m/dt = k_3 C_e \quad \text{식3}$$

그러므로, 식2와 식3은 적분되어서 시간에 따라 다음과 같이 각각  $C_e$

와  $C_m$ 에 대해 풀 수 있다. 이는 각각 식4와 식5로 표시된다.

$$C_E(T) = k_1 e^{-(k_2+k_3)T} \int_0^T C_P e^{(k_2+k_3)t} dt \quad \text{식4}$$

$$C_M(t) = k_1 k_3 \int_0^t \left[ e^{-(k_2+k_3)T} \int_0^T C_P e^{(k_2+k_3)t} dt \right] dT \quad \text{식5}$$

#### 나. Iron Oxide Nanoparticle 탐식의 조직학적 관찰

New Zealand White rabbit(2.0±0.7kg) 2마리를 사용하였으며, iron oxide nanoparticle은 AMI-25(Advanced Magnetics, Cambridge, MA, USA)를 사용하였다. AMI-25는 덱스트란과 결합된 초상자기성 산화철 멸균수성콜로이드 용액으로 1ml당 11.2mg(200μmol)의 철을 함유하고 있다.

가토의 귀정맥에 AMI-25를 100μmol/kg을 주사하고 18시간 후 Urethane(ethyl carbamate)을 생리식염수에 용해시켜 복막강내 주입하여 마취시키고 간조직을 얻어 고정시킨 후 prussian blue염색 후 광학현미경으로 관찰하였고, 전자현미경은 Hitachi H-600(Hitachi, Tokyo, Japan)을 이용하여 가속전압 75KV로 관찰하였다.

#### 다. 가토를 이용한 Iron Oxide Nanoparticle 탐식작용

##### (1) 배경이론

간동맥은 대동맥에서 분지하여 다른 기관을 거치지 않고 수초 내에 혈액이 이동하므로 간동맥과 대동맥의 iron oxide nanoparticle의 농도가 같다

고 생각하여 간동맥을 대동맥으로 대체할 수 있다. 본 연구에서 간의 직접적인 혈액공급이 되는 가토의 대동맥과 간문맥의 크기가 너무 작아서 자기공명영상에서 직접 관심야를 그릴 수 없기 때문에 혈장에 해당하는 AMI-25의 농도를 알 수 없으므로 신피질의 농도로 대체하였다. 즉, iron oxide nanoparticle의 약동학적 측면에서 간은 혈장( $C_p$ ,  $V_p$ ), 세포외 간질공간( $C_e$ ,  $V_e$ ), 쿠퍼씨 세포내 공간( $C_m$ ,  $V_m$ )의 3 구획 모델이고, 신장은 망상내피 세포계가 없기 때문에 이층에서 쿠퍼씨 세포내 공간이 없이 혈장과 세포외 간질공간만 있는 2 구획 모델이라 할 수 있다. 그런데, 간의 혈장 구획이나 신장의 혈장 구획에서의 iron oxide nanoparticle의 농도는 서로 같다고 볼 수 있기 때문에 수식을 이용하여 이를 제거한 새로운 수식을 만들 수 있었으며 다음과 같다.

혈관내의 iron oxide nanoparticle의 농도를 측정할 수 없으며 각 장기에서 iron oxide nanoparticle의 농도를 직접 구할 수는 없다. 따라서 식1에서와 같이 각 장기의 조영전 신호강도( $S(0)$ )와 조영후 신호강도( $S(t)$ ) 그리고 TE값에 의해 구할 수 있는  $\Delta R_2$ 값이 조영제 농도와 비례한다고 알려져 있기 때문에 식2, 식3, 식4의 그래픽 분석에서 사용된 AMI-25의 시간에 따른 간실질의 농도변화( $CLiv(t)$ )와 시간에 따른 신피질의 농도변화( $CKid(t)$ )에 각각에 해당하는 시간에 따른  $\Delta R_2$ 변화값을 사용하여 농도의 변화를 간접적으로 알 수 있다.

$$\Delta R_2 = -\ln [S(t)/S(0)] / TE \quad \text{식1}$$

간의 세포외 간질공간과 신피질의 세포외 간질공간에서 iron oxide nanoparticle의 분포가 동일하고, iron oxide nanoparticle이 간에서 혈장( $V_p$ )과 세포외 간질공간( $V_e$ )과 세포내 공간( $V_m$ )으로 구성되는 간실질과



평형상태가 이루어진다는 가정하에 시간에 따른 간싯질의 농도변화 ( $CLiv(t)$ )와 시간에 따른 혈장의 농도변화( $fCa(t)$ ) 사이의 관계식은 식2와 같다.

$$\frac{\int_0^t CLiv(t) dt}{CLiv(t)} = a \cdot \frac{\int_0^t fCa(t) dt}{CLiv(t)} + b \quad \text{식2}$$

마찬가지로 시간에 따른 신피질의 농도변화( $CKid(t)$ )와 시간에 따른 혈장의 농도변화( $fCa(t)$ ) 사이의 관계식은 식3과 같다.

$$\frac{\int_0^t CKid(t) dt}{CKid(t)} = a' \cdot \frac{\int_0^t fCa(t) dt}{CKid(t)} + b' \quad \text{식3}$$

따라서, 식2와 식3을 이용하여 시간에 따른 혈장의 농도변화( $fCa(t)$ )를 상쇄한 새로운 수식을 얻을 수 있다.

$$\frac{\int_0^t CLiv(t) dt}{CLiv(t)} = \frac{a}{a'} \cdot \frac{\int_0^t CKid(t) dt}{CLiv(t)} + \left(\frac{ab'}{a'}\right) \frac{CKid(t)}{CLiv(t)} + b \quad \text{식4}$$

식4에서 시간에 따른 혈장의 농도변화 값을 모르더라도 시간에 따른 간싯질의 농도변화( $CLiv(t)$ ) 값들과 시간에 따른 신피질의 농도변화 ( $CKid(t)$ ) 값들만을 이용하여 식4에 사용되는 여러 상수들( $a/a'$ ,  $ab'/a'$ ,  $b$ )의 값을 다중회귀분석(multiple regression analysis)을 이용하여 구할 수 있으며, 궁극적으로 구하고자 하는 iron oxide nanoparticle의 쿠퍼씨 세포 내 공간( $Vm$ )과 세포외 공간( $Ve$ )에 분포하는 부피의 비( $Rv=Vm/Ve$ )는 이들 상수들로부터 식5를 이용하여 얻을 수 있다(5).

$$Rv = Vm/Ve = a/a' - 1 \quad \text{식 5}$$

## (2) 탐식능력의 정량화

첫 번째로 AMI-25를 이용한 역동적 자기공명영상인 쿠퍼씨 세포의 탐

식능력을 정량화할 수 있는가에 대해 알아보고자 하였다. 간의 탐식능력을 저하시키기 위하여 본 연구에서는 실리카를 사용하였다. 실리카는 쿠퍼씨 세포에 탐식되어 쿠퍼씨 세포의 변연이 매끈해지면서 전체적으로 팽창하며 기능이 저하되는 것으로 알려져 있으며, 체내 주입 후 12-15시간에 최대효과가 나타난다<sup>16-18</sup>. 탐식능력이 정상적인 가토와 실리카를 전처치하여 탐식능력을 감소시킨 가토의 Rv값을 비교하여 탐식능력을 정량화 할 수 있는지를 알아보고자 하였다. New Zealand White rabbit (2.2±0.8kg) 12마리를 무작위로 두 군으로 나누어, 정상군에서는 2ml/kg의 생리식염수를, 실리카 전처치 군에는 50mg의 실리카(Silica suspension, 1-5m, Sigma)가 포함된 2ml/kg의 생리 식염수를 귀정맥을 통하여 주사하였다. 실리카를 주사한 후 12-15시간에 실리카 전처치 군에서 자기공명영상과 동위원소검사를 각기 3마리씩 시행하였고, 정상군에서도 각기 3마리를 자기공명영상과 동위원소검사를 시행하였다. 자기공명영상 시행 직전에 마취를 위해 Urethane(ethyl carbamate)을 생리식염수에 용해시켜 각각의 가토들에게 1g/kg을 복막강내 주입하여 마취(intraperitoneal anesthesia)시켰다.

자기공명영상은 1.5T Signa(GE Medical System, Milwaukee, Wisconsin, USA)를 사용하고 EPI-spin echo 펄스열을 이용하여 시행하였다. TR=3000msec, TE=25msec로 하여 시간 해상도(time resolution)가 3초가 되도록 역동적 스캔(dynamic scan)을 시행하였으며, FOV=18cm, slice thickness=4mm, matrix=128x128로 설정하여 한 pixel의 크기가 1.56mm가 되도록 하였다. 역동적 자기공명영상 스캔은 간과 신장에서 3초간의 시간 간격을 두고 지속적으로 시행하였는데, 가토의 귀에 있는 정맥에 정맥 도관을 넣어 놓고, 역동적 자기공명영상 스캔 시작 5초 후에 정맥 도관을 통해 AMI-25를 순간주사(bolus infusion)하고 50분까지 스캔을 지속하였다.

Tc<sup>-99m</sup>-phytate를 이용한 동위원소검사를 gold standard로 정하였다.

T<sub>1/2</sub>는 plasma clearance curve로부터 얻었으며 10분 동안은 1분 간격으로 이후에는 45분까지 5분 간격으로 채혈하여 well counter로 동위원소의 활성도의 변화를 관찰하였으며, 45분 후 간을 적출하여 homogenizer로 간조직을 갈아 동위원소의 활성도를 측정하였다.

### (3) 평형상태와 AMI-25 양에 따른 Rv값의 차이

두 번째로 평형상태의 Rv값과 AMI-25양에 따른 Rv값의 차이를 알기 위하여 실험을 시행하였다. 대상은 New Zealand White rabbit(2.0±0.5kg) 9마리를 사용하였으며 무작위로 세군으로 나누어 각 군에 3마리씩 할당하였다. 실리카 전처치군은 실리카를 전처치하여 간의 탐식작용을 억제하여 정상군1과 간의 탐식능력을 비교하기 위하여 이용하였고, 정상군1과 정상군2는 AMI-25의 양을 달리하여 AMI-25의 양에 따른 Rv값의 차이를 알아보기 위하여 이용하였다. 정상군1은 실리카를 전처치를 하지 않고 AMI-25를 60μmol/kg을 주입하였고, 정상군2는 실리카를 전처치를 하지 않고 AMI-25를 30μmol/kg을 주입하고, 실리카 전처치 군은 실리카를 전처치를 하고 AMI-25 60μmol/kg을 주입하였다. 실리카 전처치 군에서는 50mg의 실리카(Silica suspension, 1-5m, Sigma)가 포함된 2ml/kg의 생리식염수를 귀정맥을 통하여 주사하였으며, 정상군1과 정상군2는 생리식염수 2ml/kg만을 주입하였다.

자기공명영상은 탐식능력의 정량화 실험과 같이 시행하였고, 역동적 자기공명영상은 간에서 3 level, 신장에서 2 level을 설정하여 총 5 level의 영상을 3초간의 시간 간격을 두고 지속적으로 시행하였는데, 토끼의 귀에 있는 정맥에 정맥 도관을 넣어 놓고, 역동적 자기공명영상 스캔 시작 5초 후에 정맥 도관을 통해 AMI-25를 순간주사(bolus infusion)하고 120분까지 스캔을 지속하였다.

## 라. Beagle dog을 이용한 Iron Oxide Nanoparticle 탐식작용

### (1) 배경이론

간에는 다른 장기와 다르게 간동맥과 간문맥으로부터 이중으로 혈액 공급을 받는 독특한 구조를 가지고 있으며 간동맥에서 20%의 혈액을 공급받고 간문맥에서 80%의 혈액을 공급받는다. 가토를 실험동물로 사용한 결과 대동맥과 간문맥의 크기가 작아서 직접 관심야를 그릴 수 없어 input function을 구할 수 없었으며 신피질의 농도로 대체할 수밖에 없었다. 이러한 제한점을 극복하기 위하여 Beagle dog을 이용하여 간동맥과 간문맥의 input function을 동시에 측정하여 간의 input function을 측정하였다.

### (2) 탐식능력의 정량화

다섯마리의 Beagle dog( $9.7 \pm 1.64$  kg)에 ketamine HCl(5-10mg/kg)을 정맥내 주사한 이후, 기관 삽관을 시행하고 enflurane(1-3%)과 O<sub>2</sub>를 기계식 환기를 통해 마취하며 심장박동수와 산소포화율을 지속적으로 관찰하였다. 세균으로 나누어 두 마리의 정상군은 생리식염수를 5ml/kg으로 정맥내 주사하고, 한 마리의 실리카 전처치군1은 100mg/kg의 실리카를 생리식염수 5ml/kg으로 희석하여 정맥내 주입하고, 두마리의 실리카 전처치군2는 350mg/kg의 실리카를 생리식염수 5ml/kg으로 희석하여 정맥내 주입하였다.

자기공명영상의 기기는 1.5 T Signa(GE Medical System, Milwaukee, Wisconsin, USA)를 이용하였으며, pretest에서 얻은 결과로써 input function을 구하기 위해서 본 연구에서는 Fast Gradient Echo Recalled At Steady State를 사용하여 역동적 자기공명 영상을 시행하였다. 역동적 자기공명영상은 영상방법은 TR/TE=11,1/42msec, flip angle=20, pixel

dimension=0.78mm, slice thickness=5 mm, NEX=1, temporal resolution=2.6 sec로 시행하였다. 운동인공물(motion artifact)에 의한 오차를 줄이기 위하여 호흡정지기법(breath hold technique)을 사용하였으며, 최장 호흡정지 기간은 90초로 정하여 심혈관계와 뇌의 손상을 방지하며, 또한 산소 포화도를 지속적으로 측정하여 90%이하로 떨어졌을 경우에는 시간에 관계없이 촬영을 중지하였다. 역동적 자기공명영상은 조영증강 전에 5개의 이미지를 얻어 기본 자료로 삼고, 조영제를 주입하자마자 60개의 이미지를 얻었다. 그 후 20초의 기계적 호흡을 시행한 후에 다시 60개의 이미지를 얻고, 그 후부터 첫 한시간까지 매 십분마다 10개의 이미지를 얻고, 끝으로 나머지 세시간까지 매 20분마다 10개의 이미지를 얻어서, 총 세시간 동안 총 약 245개의 이미지를 얻었다.

#### 마. 역동적 자기공명영상의 자료분석

가토의 간, 신장과 Beagle dog의 대동맥, 간문맥과 간의 역동적 자기공명영상의 모든 이미지를 디지털로 액세스하여 영상처리 프로그램인 Scion image를 이용하여 적어도 200pixel 이상의 ROI를 그려서 동시에 모든 이미지를 시간별로 신호강도를 얻었다. 이 데이터를  $\Delta R_2 = -\ln(S_0/S(t))/TE$ 를 이용하여  $\Delta R_2$ 로 전환하였다. 시간에 따른  $\Delta R_2$ 의 그래프에서 최적화 알고리즘인 Levenberg-Marquardt optimizer로 최적화하였다. 가토실험에서 시간에 따른 적정화  $\Delta R_2$  그래프들로부터  $R_v$ 값을 측정하고, 시간에 따른  $R_v$  그래프를 얻는 작업은 IBM PC에서 Microsoft Excel 97을 이용하여 시행하였다. Beagle dog 실험에서 간의 input function인 대동맥과 간문맥에서 신호강도를 측정하여  $\Delta R_2$ 를 구하였고 3 구획 모델에

서의 transport rate의 측정은 IBM PC에서 Matlab 프로그램을 이용하였  
다.

### III. 결 과

#### 1. Iron Oxide Nanoparticle 탐식의 조직학적 관찰

Prussian blue 염색에서는 Fig 2A와 같이 쿠퍼씨 세포에만 색소가 점상으로 염색되어 쿠퍼씨 세포에만 AMI-25가 특이적으로 탐식되는 것을 알 수 있었다. 전자현미경에서는 Fig 2B와 같이 쿠퍼씨 세포내의 세포질 내에 검게 나타나는 원형의 리소솜(lysosome) 내에 AMI-25가 모여 있는 것을 볼 수 있었다.

#### 2. 가토를 이용한 Iron Oxide Nanoparticle 탐식작용

##### 가. 탐식능력의 정량화

가토를 대상으로 한 첫번째 실험에서 Fig 3과 같이 정상균과 실리카를 처치한 균의 시간에 따른 간에서의  $\Delta R_2$ 의 변화는 정상균에서는 10분내에 0.04(1/ms)에 도달하여 평형하게 지속되나, 실리카를 전처리한 균에서는 0.02(1/ms)에 도달하여 평형하게 지속된다. 그래프 분석에 따른 다중회귀분석을 통해  $R_V$ 를 전 결과 정상균은  $6.42 \pm 0.35$ , 실리카를 전처리한 균에서는  $2.98 \pm 0.16$ 으로 정상균에 비하여  $R_V$ 가 46%로 줄어 들었다. 동위원소 활성도는 Table 1과 같이 정상균과 실리카 전처리 균에서  $15,586 \pm 1,226$ (cpm/mCi/g)과  $10,130 \pm 4,031$ (cpm/mCi/g)로 실리카를 전처리한 균에서 65%로 줄었다. 또한 정상균과 실리카 전처리균에서  $T_{1/2}$ (min)는  $1.63 \pm 0.32$ 분과  $2.95 \pm 0.17$ 분으로 길어졌다.

#### 나. 평형상태와 Iron Oxide Nanoparticle 양에 따른 Rv값의 차이

가토를 대상으로 한 두번째 실험에서 간실질과 신피질의 시간에 따른 신호강도 변화 그래프,  $\Delta R_2$  그래프, 적정화  $\Delta R_2$  그래프, 그리고 Rv 그래프는 형태적으로 9마리간에 유사한 모양을 보였다. Fig 4A는 가토의 간에서 구한 시간에 따른 Rv값의 그래프로서, Rv값이 AMI-25를 순간 주사 후 약 80분에 이르는 시간대에 비교적 일정한 값을 보였다. 실리카를 전처치하지 않은 정상군1과 정상군2에서도 같은 결과를 나타냈다. 그러나, Fig 4B에 서와 같이 실리카로 전처치하고 AMI-25를  $60\mu\text{mol/kg}$ 를 순간 주사한 실리카 전처치군에서는 80분에 가까워져도 Rv값이 계속 증가하는 양상으로 나타났다.

세 군의 각 가토의 80분에서의 정상군과 실리카 전처치군에서의 Rv값의 평균값은 Table 2와 같이  $5.06 \pm 1.53$ 과  $2.13 \pm 1.20$ 으로 실리카 전처치군에서 Rv값이 정상군의 42%로 작아졌다. 실리카를 전처치하지 않고 주입하는 AMI-25용량을 달리한 경우, 정상군1과 정상군2 사이에는 Rv값이 5.06과 6.02의 차이만 보였다..

### 3. Beagle dog을 이용한 Iron Oxide Nanoparticle 탐식작용

시간에 따른 간실질의  $\Delta R_2$ 의 변화는 Fig 5A와 같이 나타났으며, 대동맥과 간문맥에서의  $\Delta R_2$ 의 변화는 Fig 5B와 같다. 이처럼 간동맥과 간문맥에서의 초기 3분 동안의 iron oxide nanoparticle의 농도의 변화에 따른 신호강도의 변화를 측정할 수 있었다. 따라서 input function을 구할 수 있었다. 그러나 전반적으로 신호의 강도가 매우 낮은 것을 알 수 있었다. 간실질에서의  $\Delta R_2$ 의 변화는 정상군과 실리카 전처치군에서는 차이가 나타났으나, 3시간이 되도록  $\Delta R_2$ 는 계속 증가되는 양상을 보였으며 평형상태에 도



달하지 않았다 이러한 결과는 가토에서와 상이한 결과였다. IBM PC에서 Matlab 프로그램을 이용하여 3 구획 모델에 따른 transport rate인  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ 의 값을 측정한 결과 transport rate는 측정되지 않았다.

Table 1

Tissue counts and  $T_{1/2}$  obtained from the radio-isotope study. Tissue counts of silica treated group were reduced to 65% compared to those of the normal group.  $T_{1/2}$  of silica treated group was much prolonged compared to that of the normal group.

	Tissue counts of liver (cpm/mCi/g)	$T_{1/2}$ (min)
Normal(n=3)	15,586 ± 1,226	1.63 ± .32
Silica(n=3)	10,130 ± 4,031	2.95 ± .17

Table 2

Rv values of the three different groups 80 minute after AMI-25 bolus injection. The Rv value was decreased in silica treated group, corresponding to the decreased phagocytic activity. The Rv value did not show differences depending on the injected dose of AMI-25.

Iron oxide	60 $\mu$ mol/kg	30 $\mu$ mol/kg	60 $\mu$ mol/kg silica treated
Rv(80min)	6,83	6,04	3,51
	4,19	6,66	1,54
	4,16	5,89	1,35
Mean	5,06 $\pm$ 1,53	6,02 $\pm$ ,41	2,13 $\pm$ 1,20

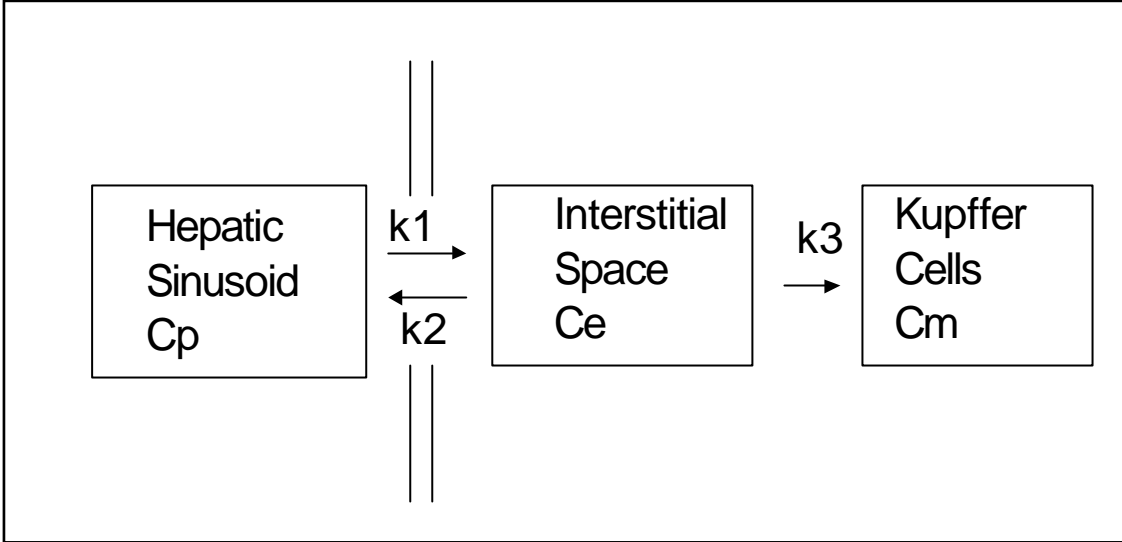
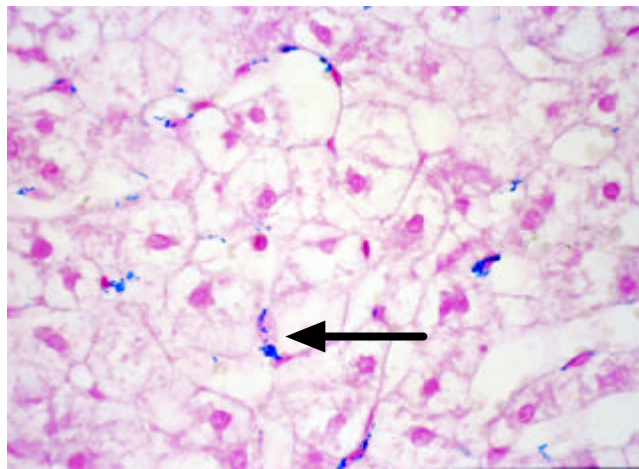
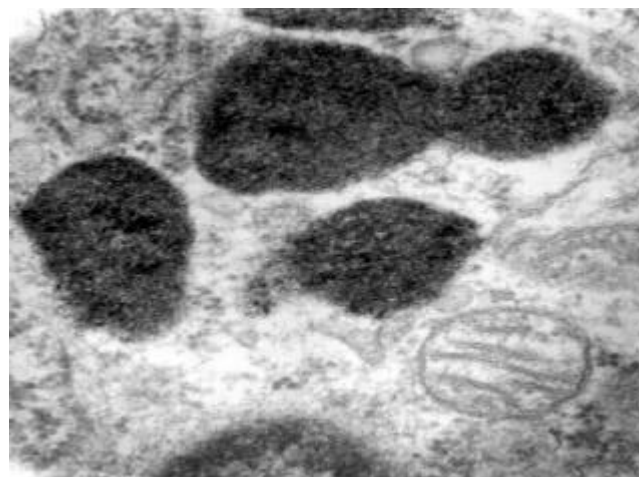


Fig 1. Three compartment model used to describe iron oxide nanoparticle kinetics.

$C_p$  = hepatic sinusoidal concentration;  $C_e$  = iron oxide concentration in interstitial space;  $C_m$  = iron oxide concentration in the kupffer cell

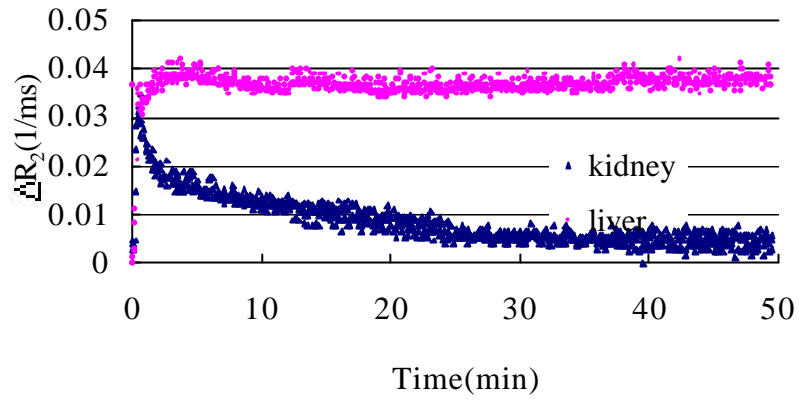


**A**

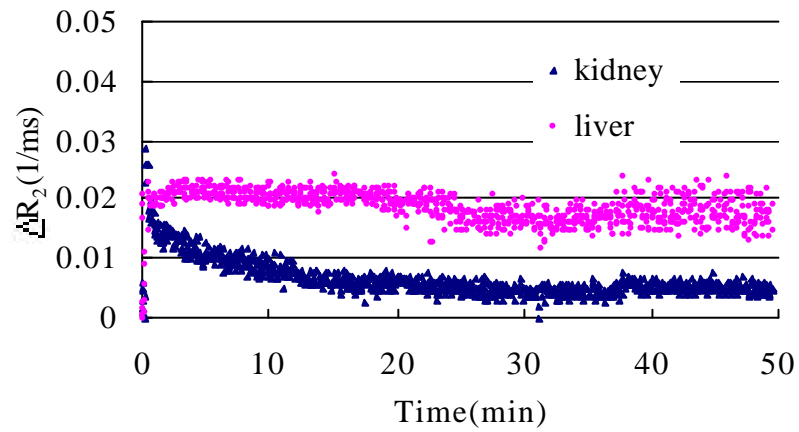


**B**

Fig 2. Photomicrograph(Prussian blue stain  $\times 200$ )(A) and transmission electron micrograph( $\times 500000$ ) of liver(B). A, Stainable iron is seen as pigment in kupffer cells(arrow) B, The electron micrograph shows aggregation of AMI-25 particles in the lysosome.

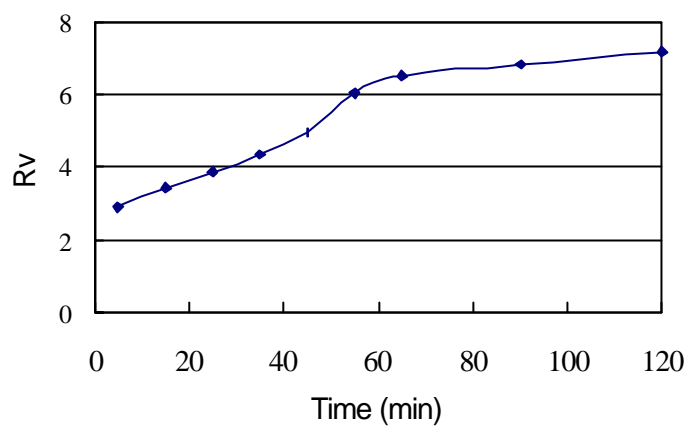


**A**

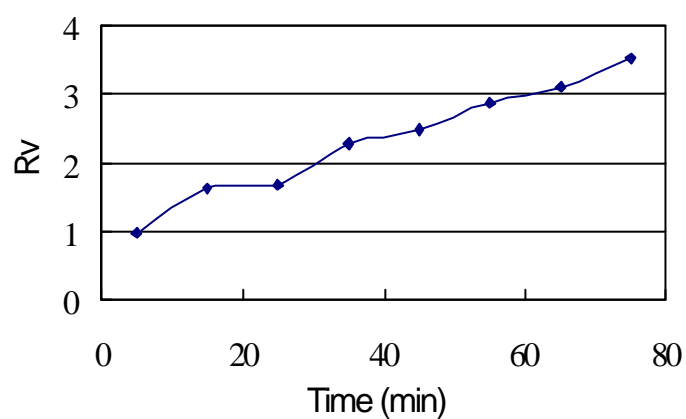


**B**

Fig 3,  $\Delta R_2$  of liver and kidney as a function of time in normal(A) and silica treated group(B).  $\Delta R_2$  of the liver is twice higher in normal group compared to silica treated group within 5 minutes, but  $\Delta R_2$  of the kidney of the two groups are quite similar.

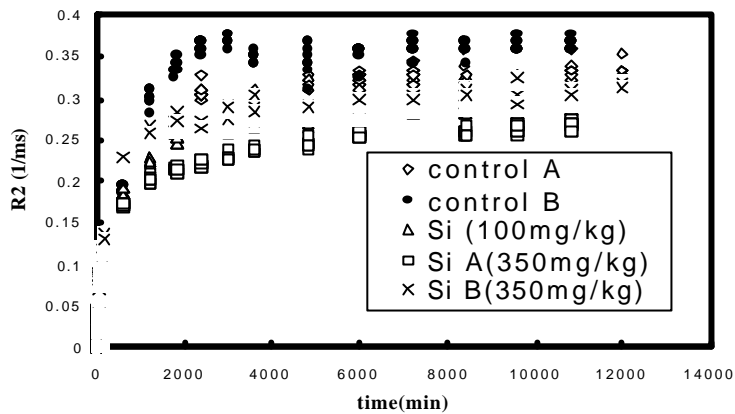


**A**

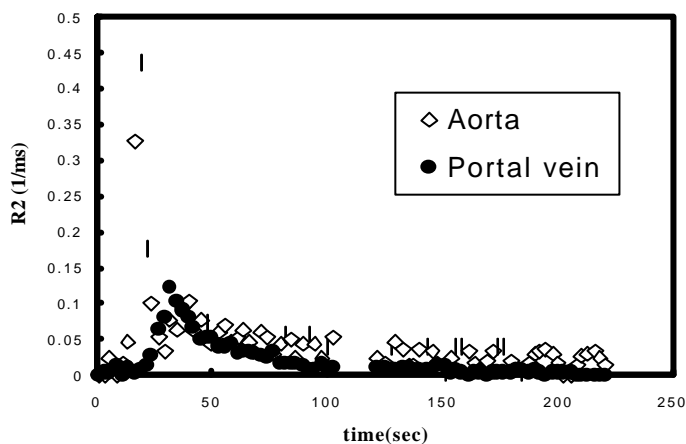


**B**

Fig 4, Rv as a function of time following  $60 \mu\text{mol/kg}$  AMI-25 bolus injection in normal(A) and silica treated rabbit(B), Rv reaches almost uppermost value around 80 minutes after the AMI-25 injection and thereafter keeps the value until 120 minutes in normal group. But Rv in silica treated group has continued to increase at the end of the examination.



A



B

Fig 5.  $\Delta R_2$  of liver as a function of time(A) and  $\Delta R_2$  of hepatic artery and portal vein as a function of time less than 3 minute in case of Si B(350mg/kg)(B).  $\Delta R_2$  of normal and silica treated groups continue to increase until 3 hours when the last data were obtained.  $\Delta R_2$  of hepatic artery and portal vein were measurable, but  $\Delta R_2$  became too low to be traced within 3minutes.



## IV. 고찰

망상내피 세포계는 몸의 각 기관에 분포하는 대식세포(macrophage)로 이루어져 있으며, 대식세포는 85%에서 95%가 간과 비장에 존재하며 그 중에서도 간에 80%이상이 존재하고 비장에 10%가 나머지 10%는 폐, 골수 등에 존재하며, 간의 대식세포를 쿠퍼씨 세포라고 한다. 그러므로 탐식작용의 대부분은 간의 쿠퍼씨 세포에서 이루어진다. 대식세포의 탐식작용은 1887년에 Mechnikoff가 처음 발견하였으며, 이물질을 섭취(ingestion)한 후 파괴한다고 생각하였으며 "stimulins"라는 물질이 있어 대식세포의 탐식작용을 자극한다고 주장하였다<sup>19</sup>. 그 후 1903년 Wright와 Douglas는 혈장내 탐식작용을 자극하는 물질이 혈장내 존재한다고 주장하며 이를 opsonin이라고 불렀다<sup>20</sup>. 즉 이물질에 혈장내 물질인 opsonin이 부착하여 대식세포가 이물질을 인식하고 탐식한다고 주장하였다. 현재 이러한 opsonin은 보체(complement)나 항체(antibody)라고 밝혀졌고, 그 기능은 이물질에 보체인 C3b나 항체가 단독으로 혹은 둘 다 부착하여 opsonization된 다음 대식세포의 표면에 존재하는 수용체와 결합하여 대식세포에 탐식된다. 그러므로 쿠퍼씨 세포의 탐식작용은 수용체와 결합하는 형태가 되어야 가능하다. 탐식된 이물질은 대개 포식소체(phagosome) 형태로 존재하며 세포질내의 리소솜과 결합하여 리소솜내에 있는 산화 효소에 의하여 분해(degradation)된다. 이와 같은 이물질 탐식 기전으로 iron oxide nanoparticle도 쿠퍼씨 세포에 탐식되어 포식소체의 형태로 존재한 후 리소솜과 결합하여 리소솜내에서 분해되며 유리된 철은 헤모글로빈에 합체(incorporation)된다<sup>4</sup>. 본 연구에서도 철 성분을 염색할 수 있는 prussian blue 염색 후 광학현미경상 간세포 내부에는 염색된 것이 보이지 않고 쿠퍼씨 세포내에만 iron oxide nanoparticle이 염색되어 관찰할 수 있었고, 전자현미경검사에서는 쿠퍼씨

세포의 세포질내에 과립(granule) 형태로 관찰되었으며, 5만 배율에서는 검은 색소의 AMI-25가 리소솜내에 집합된 것을 볼 수 있어서 현재까지의 보고와 동일하게 iron oxide nanoparticle이 쿠퍼씨 세포에만 선택적으로 탐식되고 리소솜에 위치하는 것을 알 수 있었다.

망상내피 세포계는 매우 큰 탐식능력을 갖고 있어, 이러한 탐식능력을 측정하는 방법이 발달되어 왔다. 이 기술을 "colloid clearance"라고 한다. 1941년 Maxfield와 Mortensen은 colloid thorium dioxide를 가지고 처음으로 시도하였으며<sup>21</sup>, Halpern 등이 혈액에서 제거되는 colloid를 수학적으로 표현하였고, 제거율의 지수함수적인 특성을 강조하며 "global phagocytic index"라고 부르는 clearance rate index(K)를 제안하였다<sup>22</sup>. Dobson과 Jones는 동위원소인 chromic phosphate를 이용하여 혈액내로 주입한 colloid가 간과 비장에 선택적으로 위치하는 것을 밝혀냈고, colloid clearance curve를 설명하였는데 반감기(value of half time :  $t/2$ )를 강조하였다<sup>23</sup>. Biozzi 등은 기관의 무게, 몸의 크기, 여러 종(species)과 탐식능력을 분석하여, 혈액에서 colloid clearance에 간과 비장의 크기가 중요한 변수인 것을 밝혀냈다<sup>24</sup>. 그리고 다른 종(species)간의 탐식능력의 상대적인 지표인 corrected phagocytic index인  $\alpha$ ( $\alpha$ )라는 개념을 도입하였다. 1950년 이후부터 colloid를 이용한 간의 탐식능력의 정량화는 이루어졌고, 현재 임상적으로 간영상에 radio-colloid를 이용한다. 따라서 본 연구에서는 radio-colloid를 gold standard로 삼았으며, 특히 비장에 분포가 거의 되지 않고 간에 많이 분포되는  $Tc^{99m}$ -phytate를 사용하였다<sup>25</sup>. 가토를 이용하여 실리카 전처치균과 정상균의 탐식능력을 비교한 실험에서 간을 적출하여 간조직의 활성도를 측정해 보면 실리카를 전처치하여 탐식능력이 저하된 가토에서 정상균에 비하여 활성도가 65%로 줄었고, plasma clearance curve를 이용하여 혈액내의 반감기인  $T_{1/2}$ 를 측정해 보면 실리카 전처치

군에서 정상군에 비하여 1.8배 길어져서 phagocytic index  $K=0.301/T_{1/2}$ 이므로  $T_{1/2}$  를 이용한 탐식능력은 55%로 감소된 것을 알 수 있었다.

본 연구에서 iron oxide nanoparticle을 이용한 간의 탐식작용의 약동학적 모델에 3 구획 모델을 도입하여 보았다. 약동학적 모델을 구성하는데 있어서 중요한 것은 물질의 대사되는 과정의 특성을 나타내야한다는 것이다. 핵의학에서는 이러한 3 구획 모델을 많이 이용하였으며 그 중에서 Sokoloff 등이 약동학적 모델에서 포도당의 대사를 대상으로 [ $^{14}$ C]deoxyglucose가 blood brain barrier를 통과하여 뇌조직에 도착하고 뇌조직에서 hexokinase reaction에 의해 [ $^{14}$ C]deoxyglucose-6-phosphate로 변화되면 뇌 조직내에 정체되어 동위원소의 활성도로서 [ $^{14}$ C]deoxyglucose-6-phosphate를 정량적으로 측정이 가능한 3 구획 모델을 제안하였다<sup>12</sup>. 본 연구에서도 iron oxide nanoparticle이 혈액에서 간의 간질구간으로 이동하고 쿠퍼씨 세포에 탐식되어 상당히 오랫동안 정체되는데 rat의 경우 AMI-25의 경우 4시간까지  $\Delta R_2$ 가 계속 증가하며 간에서 신호강도가  $T_{1/2}$ 가 되는 시간은 24-48시간이나 걸린다<sup>4</sup>. 그러므로 iron oxide nanoparticle의 대사 특성을 나타내기 위해서는 3 구획 모델로 설명하는 것이 가장 좋을 것으로 생각되었다.

Iron oxide nanoparticle이 음성조영제로서 역할을 하는 것은 relaxation rate의 증가 때문인데 이로 인해 T2 shortening을 일으켜 자기공명영상에서 검게 나타난다. Iron oxide nanoparticle은 spin-lattice relaxation인  $R_1$ 도 증가시켜 간의 T1도 감소한다. 그러나 T2에 비하여 T1의 감소는 미미하다. Majumdar 등이 rat을 이용하여 실험한 바에 의하면 이완시간 (relaxation time)의 변화율은 T1에서는  $1.4 \pm 0.3 \text{sec}^{-1}/\text{mg}(\text{iron})/\text{g}(\text{liver})$ 이지만 T2에서는  $93.4 \pm 4.4 \text{sec}^{-1}/\text{mg}(\text{iron})/\text{g}(\text{liver})$ 로 상당한 차이가 있음을 알 수 있다<sup>2</sup>. 그러므로 대부분의 연구에서 transverse relaxation rate인  $R_2$ 를

분석하게 된다. 본 연구에서도 자기공명영상의 신호강도로부터  $\Delta R_2$ 를 계산하여  $\Delta R_2$ 의 그래프로서 transport rate를 계산하였다. Iron oxide nanoparticle를 이용한 역동적 자기공명영상에서 신호강도의 변화가 iron oxide nanoparticle의 농도를 잘 반영하려면 relaxation rate enhancement와 iron oxide nanoparticle의 농도와는 비례하여야한다. 이러한 결과는 여러 연구에서 보고되었으며<sup>1-36,9</sup>, 시험관이나 생체내에서 다른 자기장의 세기하에서 relaxation rate enhancement가 iron oxide nanoparticle의 농도와 비례한다고 보고하였다.

3 구획 모델의  $k_3/k_4$  파라미터를 측정하는데 비침습적인 방법으로 peak equilibrium ratio( $R_{PE}$ ) 방법, ratio of distribution volumes( $R_V$ ) 방법, area ratio( $R_A$ )방법 등이 있다<sup>13</sup>. 그리고 input function을 알기 위하여 arterial blood sampling을 반복적으로 시행하여야 하는데 반하여 ratio방법들은 blood sampling이 필요 없는 비침습적인 방법이다.  $R_{PE}$ 와  $R_A$ 는 혈류량과 혈장내의 제거율에 따라 값이 변하나,  $R_V$ 는 값은 변하지 않는다. 그러므로  $R_V$ 방법은 input function에 대한 정보 없이 값을 얻을 수 있고, 이론적으로 input function을 측정하여 만든 본래의 graphic method에서 얻은 값과 같은 값을 얻을 수 있다<sup>13</sup>. 본 연구의 가토를 이용한 실험에  $R_V$ 값의 개념을 도입하였다. 가토에서 대동맥과 간문맥의 크기가 작아 신호강도를 측정할 수 없었으며 따라서 input function을 측정할 수 없었기 때문에 신장을 이용하여 input function을 소거하였다. 저자는  $R_V$ 를 탐식능력의 지표로 삼으려 하였고, 탐식능력이 저하된 가토에서  $R_V$ 값을 측정한 결과  $Tc^{99m}$ -phytate를 사용한 동위원소검사나  $T_{1\rho}$ 에서 얻은 phagocytic index와 비슷한 정도로 탐식능력이 감소했음을 알 수 있었다. 이러한 결과로  $R_V$ 값이 저하된 간의 탐식능력을 잘 보여주는 것을 알 수 있었다.  $R_V$ 값이 탐식능력의 지표가 되기 위하여  $R_V$ 값이 평형상태를 이루는 것과 iron oxide

nanoparticle의 농도에 Rv값이 변화하지 않는다는 것을 알기 위하여 실험한 결과 탐식능력이 정상 가토에서는 80분에서 Rv값이 평형상태를 이루는 것을 알았으며, iron oxide nanoparticle의 농도를 달리하여 주입해도 Rv값은 차이가 없어 Rv값이 상수값을 지닌 지표로서의 가능성을 제시하였다.

포유류에서 간의 혈액 공급은 다른 장기와 달리 20%는 간동맥에서, 나머지 80%는 간문맥에서 이루어진다<sup>26</sup>. 그러므로 간 실질내의 iron oxide nanoparticle의 농도는 간동맥과 간문맥으로 유입된 iron oxide 의 합과 같다는 가정하에 연구를 시행하였다. Beagle dog에서는 대동맥과 간문맥에서 자기공명영상에서 신호강도를 측정할 수 있어 input function을 얻을 수 있었다. 그러나  $\Delta R_2$  그래프에서 Matlab software를 이용하여 transport rate를 측정한 결과 transport rate는 측정되지 않았다. 이러한 결과의 원인은 여러 가지 가능성이 있다. 첫째로 종(species)에 따라서 transport rate가 다른 것을 배제할 수 없다. 즉 Beagle dog의  $\Delta R_2$ 가 정상군이나 실리카를 처치한 군이나 실험시간이 3시간이 지나도 plateau를 형성하지 않고 계속 증가하였다. 이 결과는 가토에서는 80분 정도에 평형상태에 도달한 것과는 상이하였다. 그리고 iron oxide nanoparticle이 평형상태에 이르지 못하기 때문에 transport rate는 first order constant가 될 수 없고, 3 구획 모델에서 transport rate가 측정되지 않은 것으로 생각된다. 두번째로 대동맥, 간동맥, 간문맥과 같은 혈관과 간의 쿠퍼씨 세포에서의 iron oxide의 분포가 다르므로 iron oxide nanoparticle에 의한 transverse relaxation이 같은 농도에서도 같지 않을 수 있다는 것이다. Weissleder 등은 <sup>51</sup>Fe radiotracer를 이용하여 AMI-25의 대사과정을 살펴보았는데 <sup>51</sup>Fe의 그래프와 T2값의 변화 그래프가 일치하지 않는 것을 발견하였다. Tanimoto 등은 iron oxide의 T2 relaxation effect가 공간 분포(spatial distribution)에 따라 변한다고 보고하였다<sup>27</sup>. 최근의 보고에 의하면 in vitro 실험에서 Sephadex

라는  $350\mu\text{m}$ 의 물질과 agar를 섞은 상태에 iron oxide를 넣으면 즉 공간 분포가 비균질하면 agar와 물만 섞은 상태의 iron oxide에서 보이던 iron oxide의 농도에 따른 비례적인  $R_1$ ,  $R_2$ 의 변화가 매우 작게 나타났다<sup>3</sup>. 이러한 결과는 간의 쿠퍼씨 세포에 탐식된 iron oxide와 혈액이나 비장내에 분포하는 iron oxide와는 같은 농도라도 신호강도의 감소가 다를 수 있다는 것을 의미한다. 세 번째로 input function의 측정의 어려움이다. 대동맥과 간문맥의 처음 3분간의  $\Delta R_2$ 를 측정한 결과 값이 상당히 작았다. 이렇게 값이 적으면 수식에 대입할 경우 오차가 많은 결과가 나올 수도 있다.

## V.결 론

3 구획 모델을 도입하여 역동적 자기공명영상을 이용하여 iron oxide nanoparticle의 탐식능력을 측정해본 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Iron oxide nanoparticle은 선택적으로 쿠퍼씨 세포에 탐식되며 리소솜에 위치한다. 가토에서는 간장과 신장에서 신호강도를 측정하고 input function을 소거한 수식을 만들고, 수식에서 iron oxide nanoparticle의 분포하는 부피비인 Rv값을 측정하였다.
2. 가토에서 iron oxide nanoparticle을 주입 후 Rv값은 80분에 평형상태에 도달하였다
3. 실리카를 전처리하여 탐식능력이 저하된 가토에서 Rv값이 정상군의 42%로 감소하였다.
4. Rv값은 iron oxide 주입량에 따른 차이는 없었다.
5. Beagle dog에서 input function을 얻을 수 있었으나, 3 구획 모델에 따른 transport rate는 구할 수 없었다.

결론적으로 3 구획 모델을 적용하여 iron oxide nanoparticle의 탐식능력을 역동적 자기공명영상을 이용하여 측정한 결과, Rv값이 탐식능력의 감소를 나타낼 수 있는 정량적 지표로 삼을 수 있다는 것을 알 수 있었다.

## 참고 문헌

1. Majumdar S, Zoghbi S, Pope CF, Gore JC. A quantitative study of relaxation rate enhancement produced by iron oxide particles in polyacrylamide gels and tissue. *MRM* 1989;9(2):185-202.
2. Majumdar S, Zoghbi S, Pope CE, Gore JC. Quantitation of MR relaxation effects of iron oxide particles in liver and spleen. *Radiology* 1988;169:653-5.
3. Tanimoto A, Oshio K, Suematsu M, Pouliquen D, Stark DD. Relaxation effects of clustered particles. *JMRI* 2001;14:72-7.
4. Weissleder R, Stark DD, Engelstad BL, Bacon BR, Compton CC, White DL et al. Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity. *AJR* 1989;152:167-73.
5. Kawamura Y, Endo K, Watanabe Y, Saga T, Nakai T, Hikita H, et al. Use of magnetic particles as a contrast agent for MR imaging of the liver. *Radiology* 1990;174:357-60.
6. Thickman D, Hendrick RE, Jerjian KA, Schanker CS. Liver-lesion tissue contrast on MR images: effect of iron oxide concentration and magnetic field strength. *Radiology* 1990;176:557-62.



7. Hahn PF, Stark DD, Weissleder R, Elizondo G, Saini S, Ferrucci JT. Clinical application of superparamagnetic iron oxide to MR imaging of tissue perfusion in vascular liver tumors. *Radiology* 1990;174:361-6.
8. Oudkerk M, van den Heuvel AG, Wielopolski PA, Schmitz PIM, Borel Rinkes IHM, Wiggers T. Hepatic lesion: detection with ferumoxide enhanced T1-weighted MR imaging. *Radiology* 1997;203:449-56.
9. Mandeville JB, Moore J, Chesler DA, Garrido L, Weissleder R, Weisskoff RM. Dynamic liver imaging with iron oxide agents: effects of size and biodistribution on contrast. *MRM* 1997;37:885-90.
10. Jung CW, Jacobs P. Physical and chemical properties of superparamagnetic iron oxide MR contrast agents: ferumoxides, ferumoxtran, ferumoxsil. *Magn Res Imag* 1995;13:661-74.
11. Josephson L, Lewis J, Jacobs P, Hahn PF, Stark DD. The effects of iron oxides on proton relaxivity. *Magn Res Imag* 1988;6:647-53.
12. Sokoloff L, Reivich M, Kennedy C, Des Rosiers MH, Patlak CS, Pettigrew KD, et al. The [<sup>14</sup>C]Deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J of Neurochem* 1977;28:897-916.

13. Ichise M, Ballinger JR, Golan H, Vines D, Luong A, Tsai S, et al. Noninvasive quantification of dopamine D2 receptors with iodine-123-IBF SPECT. *J Nucl Med* 1996;37:513-520
14. Laruelle M, van Dyck C, Abi-Dargham A, Zea-Ponce Y, Zoghbi SS, Charney DS, et al. Compartmental modeling of iodine-123-iodobenzofuran binding to dopamine D2 receptors in healthy subjects. *J Nucl Med* 1994;35(5):743-54
15. Pardridge WM, Crane PD, Mietus LJ, Oldendorf WH. Kinetics of regional blood brain barrier transport and brain phosphorylation of glucose and 2-deoxyglucose in the barbiturate-anesthetized rat. *J of Neurochem* 1981;38:560-8
16. Souhami RL, Bradfield JW. The recovery of hepatic phagocytosis after blockage of Kupffer cells. *J Reticuloendothel Soc* 1974;16(2):75-86
17. Friedman RL, Moon RJ. Hepatic clearance of *Salmonella typhimurium* in silica-treated mice. *Infect Immun* 1977;16(3):1005-12
18. Albridge CM, Dudley HAF. Detection of reticulo-endothelial blockage with low-dose test agent. *Br J exp Path* 1965;66:483-91.

19. Metchnikoff E. Sur la lutte des cellules de l'organisme contre l'invasion des microbes, Ann Inst Pasteur 1887;1:321-36.
20. Wright AE, Douglas SR. An experimental investigation of the role of the blood fluids in connection with phagocytosis, Proc Roy Soc 1903;72:357-70.
21. Maxfield FA, Mortensen OA. The use of the radioactive properties of thorium for a quantitative study of phagocytosis, J Appl Physics 1941;12:197-202.
22. Saba TM. Physiology and physiopathology of the reticuloendothelial system, Arch Intern Med 1970;126:1031-52.
23. Dobson EL, Jones HE. The behavior of intravenously injected particulate material, Acta Med Scand 1952;273:1-71.
24. Biozzi G, Benacerraf B, Halpern BN. Quantitative study of the granuloplectic activity of the reticuloendothelial system: a study of the kinetics of the granuloplectic activity of the R.E.S in relation to the dose of carbon injected: relationship between the weight of the organs and their activity, Brit J exp Path 1953;34:97-106.
25. 고창순, 핵의학: 박원, 고창순, 간 및 담도계, 1판, 서울:고려의학; 1992 p.411-58.

26. Pinakatt T, Richardson AW. Distribution of cardiac output in dogs. *Am J Physiol* 1967;213:905-9
  
27. Tanimoto A, Pouliquen D, Kreft BP, Stark DD. Effects of spatial distribution on proton relaxation enhancement by particulate iron oxide. *JMRI* 1994;4:653-7

## **Abstract**

A Study of Pharmacokinetic Modelling of Phagocytic Activity of  
the Liver Using Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticle in  
Dynamic Magnetic Resonance Imaging

**Jae Boem Na**

*Brain Korea 21 Project for Medical Sciences  
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Jin-Suck Suh)

There has been no previous study for quantification of phagocytic activity by applying 3 compartment model to dynamic MR study with iron oxide although there has been reports using graphical analysis for dynamic iron oxide MR studies. The purpose of this study was to measure phagocytic activity using dynamic iron oxide MR imaging.

For the experiments with New Zealand White rabbits and Beagle dogs which were randomly allocated to normal and silica treated groups dynamic MR study and radioisotope study with  $Tc^{99m}$ -phytate were performed. In the dynamic MR study of the rabbits, relative phagocytic activity(Rv) could be obtained by applying 3 compartment model to the data obtained from kidney and liver simultaneously. Changes in Rv by

silica injection and by dosage of AMI-25 were evaluated. In the dynamic MR study for Beagle dog study input function could be calculated from data from hepatic artery and portal vein.

R<sub>v</sub> reached almost uppermost value around 80 minutes after the AMI-25 injection. R<sub>v</sub> of normal group was  $5.06 \pm 1.53$  whereas R<sub>v</sub> of silica treated group was  $2.13 \pm 1.20$ . The results were quite similar to tissue count data from radioisotope study. The R<sub>v</sub> value did not show differences depending on the injected dose of AMI-25. The rate of transport constant (k<sub>1</sub>, k<sub>2</sub>, k<sub>3</sub>) could not be estimated using 3 compartment model regardless of obtaining input function.

In conclusion, R<sub>v</sub>(V<sub>m</sub>/V<sub>e</sub>) may be a quantitative index of decreased phagocytic activity in the liver using dynamic iron oxide enhanced MRI.

---

Key Words : superparamagnetic iron oxide, contrast agent, magnetic resonance imaging, liver, kupffer cell, phagocytosis, compartment model, quantification