

마이크로 스파이크로 채취한 조직의 진단을 위한 미세 조직회수도구

정효영*** · 구교인**** · 이상민**** · 반재원**** · 박호수****
방승민**** · 송시영**** · 조동일****,†

Micro-tissue collecting tool for diagnosis of micro-spike biopsy

Hyo-young Jeong***, Kyo-in Koo****, Sangmin Lee****, Jae-won Ban****, Hosoo Park****,
Seung-Min Bang****, Si-Young Song****, and Dong-Il “Dan” Cho****,†

Abstract

We have developed and reported several micro-spikes for minimally invasive biopsy. In this paper, a micro-tissue collecting tool for tissue diagnosis extracted by micro-spike is presented. Using proposed polydimethyl-siloxane (PDMS) micro-tissue collecting tool, which has a negative micro-spike structure in a porous chamber, the extracted tissue in a micro-spike is effectively detached. The gastro-intestinal tissue of a pig is extracted in an *in vivo* environment, and then it is detached from a micro-spike using the PDMS micro-tissue collecting tool. A fine clinical picture of the detached tissue is acquired.

Key Words : micro-spike, micro-detaching tool, micro-tissue collecting tool, biopsy, diagnosis

1. 서 론

소화기 암이 의심되는 경우, 일반적으로 카테터를 이용하여 환자의 위장관 벽에서 병변 조직을 채취하여 조직 검사를 시행한다^[1]. 기존의 카테터는 집게 모양의 도구로 병변 조직을 잡아서 뜯어내는 형태로써^[2], 이 과정에서 천공사고를 비롯한 의료사고가 발생할 수 있다^[3]. 이러한 기존의 집게 모양 카테터의 문제를 해결하고자 본 연구진은 최소침습적 생검이 가능한 마이크로 스파이크와 마이크로 스파이크를 이용한 카테터를 개발하였다^[4-6]. 본 연구진이 개발한 마이크로 스파이크는 카테터에 고정하는 몸통과 돌기(barb)가 달려 있는 축(shank)으로 구성된다. 마이크로 스파이크를 사용한 생검은 Fig. 1과 같이 마이크로 스파이크로 점막을 찌르게 될 때 돌기(barb)가 달려 있는 축(shank) 사이에 조

직이 채취 되는 원리로, 최소침습적으로 조직을 채취하기 때문에 천공의 위험을 줄일 수 있다.

마이크로 스파이크로 조직 채취 시 채취된 조직의 검사를 위하여 채취된 조직을 마이크로 스파이크로부터 분리하게 된다. 이전 연구들에서는, 핀셋을 사용하여 스파이크의 축(shank) 사이에 채취된 조직을 끊어서 분리하였다. 이와 같이 핀셋을 사용하여 분리할 경우 돌기(barb) 사이에 있는 조직을 분리할 수 없어서 분리되는 조직이 양이 매우 적다. 또한 조직분리 이후 파라인 블록 제작 과정에서, 여러 용액 속에 넣어지는 순차적인 과정을 반복하면서 조직이 유실될 확률이 높다.

이와 같은 문제점을 해결하기 위하여 조직회수도구를 새롭게 제안하였다. 본 연구에서 제안한 조직회수도구는 마이크로 스파이크의 역상 구조로 구성된 작은 챔버의 모양으로 제작된다. 마이크로 스파이크의 역상 구조 위에서 채취된 조직을 가진 마이크로 스파이크를 밀어 내리면서 채취된 조직은 마이크로 스파이크로부터 분리되고 역상 구조 위에 남아있게 된다. 조직 분리 후, 조직회수도구에 커버를 삽입하여 분리된 조직을 조직회수도구에 보관한다. 조직회수도구에는 많은 수의 작은 구멍들이 뚫려있어서 챔버 내로 용액의 유동을 가능하게 한다. 그러므로써, 채취된 조직이 보관된 조직회

*서울대학교 자동차시스템공동연구소/반도체공동연구소/초미세생체전자시스템연구소(ASRI/ISRC/NB&SRC, Seoul National University)

**서울대학교 공과대학융합과정 바이오엔지니어링(Interdisciplinary Program of Bioengineering, Seoul National University)

***서울대학교 공과대학 전기컴퓨터공학부(School of Electrical Engineering and Computer Sciences, Seoul National University)

****연세대학교 의과대학 소화기내과(Department of Internal Medicine, College of Medicine, Yonsei University)

†Corresponding author: dich@snu.ac.kr

(Received : January 15, 2009, Accepted : February 17, 2009)

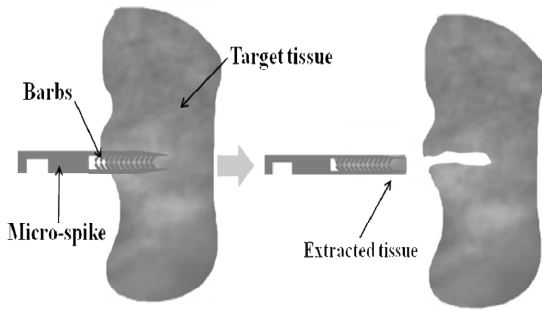


Fig. 1. Tissue extracting mechanism with micro-spike.

수도구 파라핀 블록으로 만드는 것이 가능해 진다. 또한, 조직회수도구를 polydimethylsiloxane (PDMS)로 제작하여 조직회수도구를 포함한 파라핀 블록의 슬라이싱이 가능하도록 하였다. 본 연구에서는 상기 조직회수도구를 조직분리, 파라핀 블록 제작, 파라핀 블록 슬라이싱 및 염색에 적용함으로써 생체 내에서 마이크로 스파이크로 채취한 돼지 위장 조직의 세포관찰에 성공하였다.

2. 조직회수도구의 구조

조직회수도구는 채취된 조직을 분리하는 챔버와 분리된 조직의 유실을 막는 커버로 구성된다. 조직회수도구에는 세 개의 마이크로 스파이크 역상 구조가 배열되어 있어 세 개의 마이크로 스파이크로부터 채취조직을 분리 할 수 있다. 챔버의 크기는 가로 15 mm, 세로 7.25 mm, 높이는 1.7 mm이고, 커버의 크기는 가로 15 mm, 세로 4.5 mm, 높이는 1 mm이다.

Fig 2는 본 논문에서 제시한 조직회수도구를 사용하여 마이크로 스파이크로 채취한 조직을 마이크로 스파이크로부터 분리하는 과정의 개념도이다. 채취된 조직을 가진 마이크로 스파이크를 조직회수도구로 밀어 넣고 마이크로 스파이크를 아래로 내리면서 마이크로 스파이크와 조직을 분리한다. 그 후 조직이 분리된 마이크로 스파이크를 조직회수도구에서 제거하고 분리된 조직의 유실을 막기 위하여 챔버의 양 끝 음각 레일을 따라서 커버를 끼우게 된다.

Fig 3에서 보는 것과 같이 조직회수도구의 챔버는 총 4개의 층으로 구성된다. 첫 번째와 네 번째 층에는 직경 0.7mm의 구멍이 가로, 세로로 배열되어 있어 파라핀 블록 제작 과정에서 챔버 안으로의 용액 침투를 원활하게 해준다. 두 번째 층은 채취된 조직을 가진 마이크로 스파이크가 조직회수도구 내로 들어가기 위한 층이다. 입구의 폭은 마이크로 스파이크의 폭과 같은 크기로,

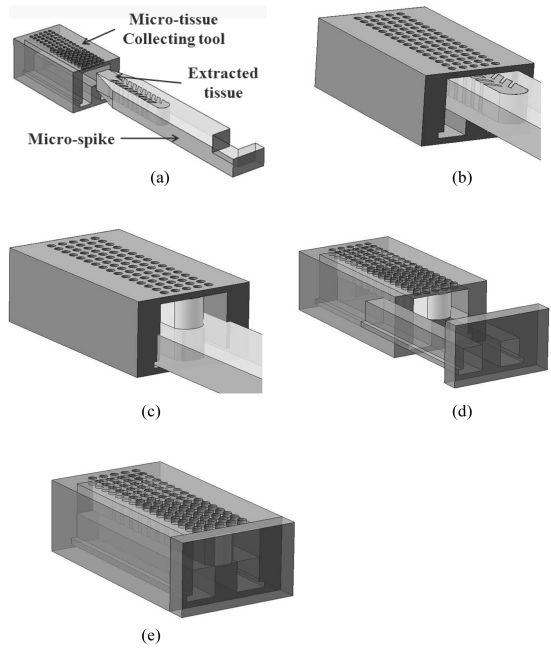


Fig. 2. Schematic of operation of the proposed micro-tissue collecting tool (a), (b) Inserting the micro-spike into chamber (c) Detaching the tissue by pushing down the micro-spike (d) Inserting the cover (e) Retaining the tissue in the micro-tissue collecting tool.

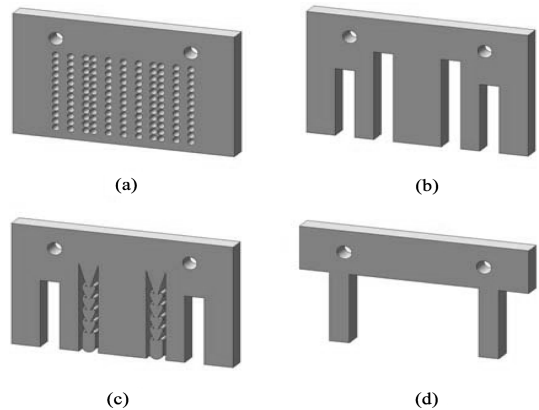


Fig. 3. 4 layers composition of micro-tissue collecting tool (a) chamber- 1st layer, 4th layer (b) chamber -2nd layer (c) chamber -3rd layer (d) cover.

마이크로 스파이크가 조직회수도구로 들어갈 때, 마이크로 스파이크를 인도해 주는 역할을 한다. 세 번째 층은 마이크로 스파이크와 마이크로 스파이크로 채취된 조직을 분리하는 층이다. 두 번째 층에서 세 번째 층

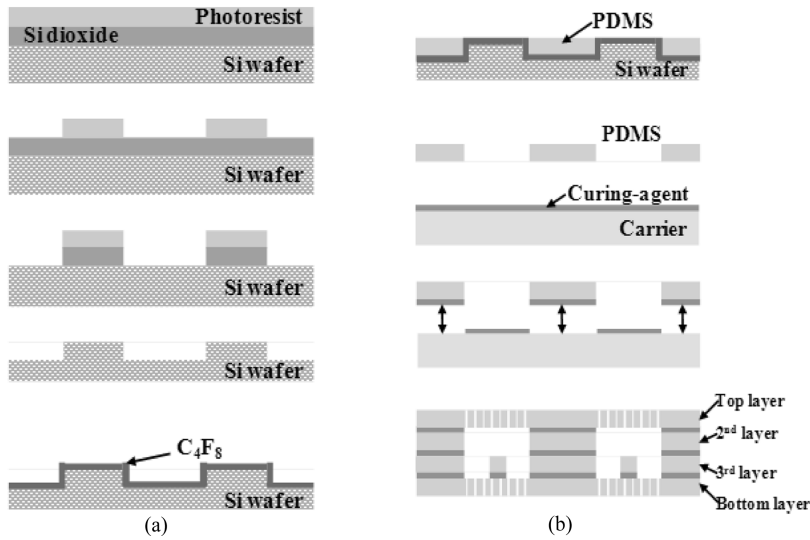


Fig. 4. Fabrication process for micro-tissue collection tool (a) Silicon wafer molding process, (b) PDMS replica layer and bonding process.

로 마이크로 스파이크를 내리면서 조직은 마이크로 스파이크와 분리되고 역상의 상단 부에 놓여지게 된다.

3. 공정 과정

조직회수도구를 제작하기 위하여 Si wafer를 주형으로 사용하여 PDMS layer를 만든 후, 각각의 PDMS layer를 접착하는 기법을 사용하였다. Fig. 4(a)는 Si wafer 주형 제작 공정도이다. 1 mm Si wafer 에 silicon dioxide 증착 및 패터닝 하였다. 그 후 감광막 제거 공정을 거쳐서 deep RIE로 마이크로 스파이크의 두께만큼 Si wafer를 500 μm 식각하였다. Silicon dioxide 제거 후, PDMS가 Si wafer 주형에서 잘 떨어지도록 Si wafer 위에 C₄F₈ 을 증착시켜 소수성으로 표면 처리하였다¹⁰⁾.

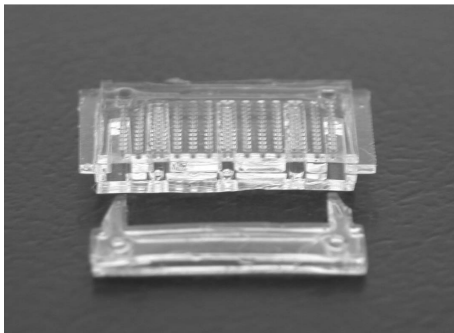


Fig. 5. Completely bonded micro-tissue collecting tool.

Fig. 4(b)는 PDMS layer를 만들고 각각의 PDMS layer를 접착하는 공정도이다. PDMS prepolymer (10:1 part A:B, sylgard 184 Silicone Elastomer Kit, Dow-corning)를 Si wafer 주형에 붓고 도포한다. PDMS가 도포된 Si wafer 주형을 60 °C의 가열판에서 3시간 동안 경화한 후, 경화된 각 PDMS 층을 떼어낸다. 각 PDMS 층의 접착은 다음과 같은 도장 접착 공법을 사용한다. 혼합한 PDMS prepolymer를 dummy Si wafer에 도포한 후 PDMS layer를 찍어서 PDMS layer에 얇은 PDMS prepolymer 층이 생기게 한다¹¹⁾. 그리고 각각의 PDMS layer를 접착한 후 60 °C의 가열판에서 3시간 동안 경화한다. Fig. 5는 접착된 조직회수도구를 보여준다.

4. 실험 결과

조직회수도구를 사용하여 마이크로 스파이크로부터 조직이 분리되는 것을 검증하기 위한 실험으로, 돼지에서 추출한 소장에 마이크로 스파이크를 사용하여 조직을 채취한 후 고정 및 염색하여 관찰하였다. 고정 및 관찰과정은 다음과 같다. 채취 조직을 4% paraformaldehyde에 24 시간 이상 넣어 고정한 후, 30분간 PBS용액에서 세척(washing)을 2번 하였다. 그 후 Hematoxylin & Eosin 염색 방법(Hematoxylin 5분, DI water 5분 3번, Eosin 1분, DI water 5분 2번)으로 세포염색 후¹²⁾ 조직회수도구를 사용하여 마이크로 스파이크로부터 조직을 분리하였다. Fig. 6에서 보이는 것처럼 조직회수도구에 의해 마이크로

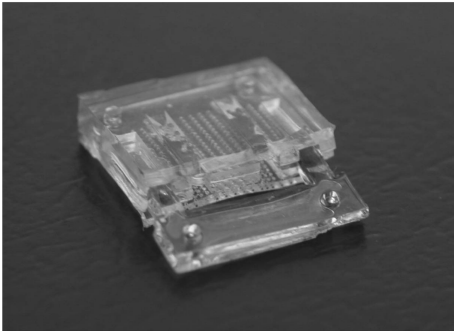


Fig 6. Extracting the tissue from micro-spike using micro-tissue collecting tool.

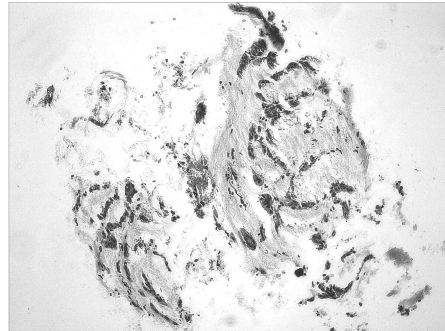


Fig 8. Optical micrograph of gastro-intestine tissue of a pig using micro-tissue collecting tool, X400.

스파이크로부터 조직이 분리되었다.

Fig. 7은 마이크로 스파이크로 조직을 채취하고 최종적으로 채취된 조직의 세포사진을 얻는 과정을 보여준다. 우선, 돼지 위장까지 내시경을 삽입 후 마이크로 스파이크가 장착된 카테터로 돼지 위장 조직을 채취하였다. 그 후, 카테터에서 마이크로 스파이크를 분리하고 4% paraformaldehyde에 넣어서 채취된 조직을 고정한다. 고정된 채취조직을 분리하기 위한 과정으로 조직회수도구를 사용하여 마이크로 스파이크에서 채취 조직을 분리한다. 이후, 파라핀 침투과정을 거쳐 파라핀 블록으로 제작하였다. 조직회수도구가 들어있는 파라핀 블록을 5 μm로 슬라이싱 한 후 Hematoxylin & Eosin 염색 방법으로 염색하였다. 염색된 조직의 사진을 Fig. 8에서 볼 수 있다. 기존 핀셋을 이용한 조직 분리 방식으로는 조

직 사진 획득률이 약10% 내외였다. 하지만 조직회수도구를 사용할 경우 조직 세포 사진 획득률을 90%이상으로 올릴 수 있었다.

5. 결 론

이번 연구에서 제작된 조직회수도구는 마이크로 스파이크로 채취한 조직의 분리과 후속 조직관찰을 가능하게 한다. 개발된 조직회수도구는 마이크로 스파이크를 사용한 생검 시 채취조직 분리 문제, 조직의 유실 문제, 파라핀 블록 슬라이싱 문제에 대한 해결 방법을 제시하였다. 동물 생체 내에서 채취한 조직으로 획득한 세포 사진은 조직회수도구의 임상 적용 가능성을 보여주고 있다. 결과적으로, 본 연구에서 제안한 조직회수도

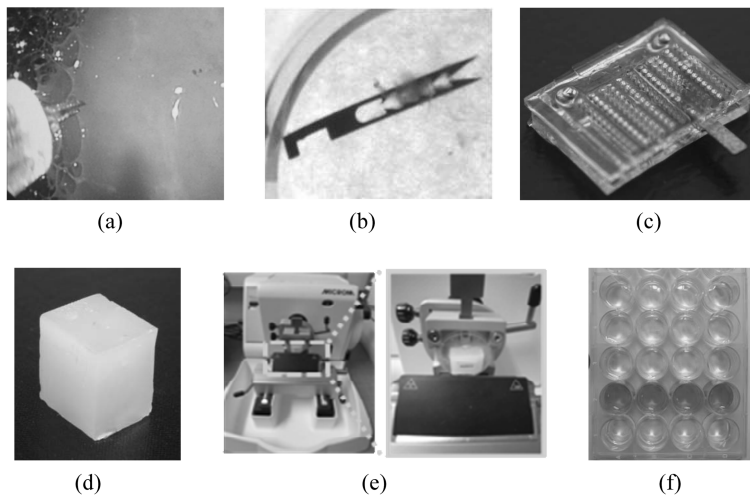


Fig 7. Diagnosis process for micro-spike biopsy using micro-tissue collecting tool (a) extracting tissue using micro-spike catheter (b) tissue fixation (c) tissue detaching (d) paraffin embedding (e) sectioning (f) H&E staining.

구는 마이크로 스파이크 생검의 임상적 응용 및 상품화에 크게 기여할 것으로 예상된다.

사 사

본 연구는 지식경제부의 21세기 프론티어 기술개발산업인 지능형마이크로시스템개발사업(<http://www.microsystem.re.kr>)의 연구비 지원 및 포항가속기연구소(Pohang accelerator laboratory)의 실험지원을 받아 수행되었습니다.

참고 문헌

- [1] Donald C. Zavola, "Diagnostic fiberoptic bronchoscopy: Techniques and results of biopsy in 600 patients", *Chest*, vol. 68, no. 1, pp. 12-19, 1975.
- [2] K. L. Woods, B. S. Anand, R. A. Cole, M. S. Osato, Robert, M. Genta, H. Malaty, I. E. Gurer, and D. De Rossi, "Influence of endoscopic biopsy forceps characteristics on tissue specimens : results of a prospective randomized study", *Gastrointestinal endoscopy*, vol. 49, no. 2, pp. 177-183, 1999.
- [3] DD. Wadas, and RA. Sanowski, "Complications of the hot biopsy forceps technique", *Gastrointestinal endoscopy*, vol. 34, no. 1, pp. 32-39, 1988.
- [4] 이아라, 백승준, 구교인, 박선길, 최병두, 정명준, 최현민, 임정민, 서종모, 김경아, 정흠, 전도영, 이승섭, 조동일, "A novel microbiopsy tool for microsurgery", 한국센서학회 종합학술대회, pp. 154-155, 제주, 대한민국, 2004.
- [5] S. Byun, J. M. Lim, S. J. Paik, A. Lee, K. Koo, S. Park, J. Park, B. D. Choi, J. M. Seo, K. Kim, H. Chung, S. Y. Song, D. Jeon, and D. "Dan" Cho, "Barbed micro-spikes for micro-scale biopsy," *J. Micromech. Microeng.*, vol. 15, no. 6, pp. 1279-1284, 2005.
- [6] A. R. Lee, S. J. Paik, S. G. Park, M. J. Jeong, K. I. Koo, H. M. Choi, J. M. Seo, K. A. Kim, H. , Chung, S. Y. Song, S. M. Bang, D. Y. Jeon, J. M. Lim, and D. I. Cho, "3D silicon-micromachined microbiopsy tool and In-vivo experiment", *The 13th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems*, vol. 2, pp. 1199-1202, Seoul, Korea, 2005.
- [7] S. K. Park, A. R. Lee, M. J. Jeong, H. M. Choi, S. Y. Song, S. M. Bang, S. J. Paik, J. M. Lim, D. Y. Jeon, S. K. Lee, C. N. Chu, and D. I. Cho, "A disposable MEMS-based micro-biopsy catheter for the minimally invasive tissue sampling", *IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems*, Edmonton, Canada, 2005.
- [8] G. S. Kim, S. K. Park, K. I. , Koo, H. M. Choi, M. J. Jung, S. Y. Song, S. M. Bang, and D. I. Cho, "Nickel micro-spike for micro-scale biopsy using liga process", *The 9th International Conference on Synchrotron Radiation Instrumentation*, pp. 1449-1502, Daegu, Korea, 2006.
- [9] G. S. Kim, S. Park, K. Koo, M. Jeong, H. Choi, S. Paik, S. M. Bang, S. Y. Song, and D. "Dan" Cho, "Micro spike for endoscopic gastro biopsy," *Asia-Pacific Conference of Transducers and Micro-Nono Technology*, Singapore, Singapore, 2006.
- [10] 백주열, 권구한, 이상훈, "PDMS 기판상 금속층의 안정적 증착 및 패터닝," *센서학회지*, 제14권, 제6호, pp. 423-429, 2005.
- [11] J. Oberhammer and G. Stemme, "Bcb contact printing for patterned adhesive full-wafer bonded 0-level packages", *J. Microelectromech. Syst.*, vol. 14, no. 2, pp. 419-425, 2005.



정 효 영

- 2008년 연세대학교 의용전자공학과 졸업 (공학사)
- 2008년~현재 서울대학교 바이오엔지니어링전공 석사과정
- 주관심분야 : Lap on a Chip, Bio-MEMS, Capsular endoscope



구 교 인

- 2003년 서울대학교 전기컴퓨터공학부 졸업 (공학사)
- 2003년~현재 서울대학교 전기컴퓨터공학부 박사과정
- 주관심분야 : Bio-MEMS, Retinal prostheses, Capsular endoscope



이 상 민

- 2005년 서울대학교 전기컴퓨터공학부 졸업(공학사)
- 2005년~현재 서울대학교 전기컴퓨터공학부 박사과정
- 주관심분야 : Bio-MEMS, Retinal prostheses, MEMS 관성센서



반 재 원

- 2007년 연세대학교 전기전자공학부 졸업 (공학사)
- 2007년~현재 서울대학교 전기컴퓨터공학부 석사과정
- 주관심분야 : Lap on a Chip, Bio-MEMS, Biomimetics



박 호 수

- 2008년 국민대학교 전자과 졸업(공학사)
- 2008년~현재 서울대학교 전기컴퓨터공학부 석사과정
- 주관심분야 : Bio MEMS, Micro-pump



방 승 민

- 1996년 의사면허 취득
- 1999년~2000년 세브란스병원 인턴 수료
- 2000년~2004년 세브란스병원 내과전공의 수료
- 2004년~2006년 연세의대 소화기내과 전임의
- 2006년~2007년 연세의대 내과학교실 소화기내과 전임강사
- 2007년~현재 연세의대 내과학교실 소화기내과 조교수



송 시 영

- 1990년~1993년 연세대학교 의과대학 내과 (소화기) 연구강사
- 1993년~1999년 연세대학교 의과대학 내과 (소화기) 조교수
- 1996년~1998년 Vanderbilt Cancer Center, Cell Biology, Post Doc.
- 1999년~2005년 연세대학교 의과대학 내과 (소화기) 부교수
- 2000년~2005년 연세대학교 의과대학 약리학 부교수
- 2005년~현재 연세대학교 의과대학 내과 교수
- 2005년~현재 연세대학교 의과대학 약리학 교수



조 동 일

- 1980년 미국 Carnegie Mellon University (학사)
- 1984년 미국 Massachusetts Institute of Technology (석사)
- 1988년 미국 Massachusetts Institute of Technology (박사)
- 1987년~1993년 미국 Princeton University 교수
- 1993년~현재 서울대학교 전기컴퓨터공학부 교수
- 2003년~2007년 한국 MEMS기술연구조합 이사장
- 2008~현재 서울대학교 자동화연구소 소장
- 주관심분야 : MEMS, 태양전지