

광영상 기법을 이용한 신경계 기능의 매핑

Functional Mapping of Nervous System Using Optical Imaging Techniques

이 배 환 | 연세의대 생리학교실 | Bae Hwan Lee, MD

Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine

배 선 준 | 연세의대 마취통증의학과 | Sun Joon Bai, MD

Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Yonsei University College of Medicine

E-mail : sjbai@yuhs.ac

J Korean Med Assoc 2009; 52(1): 69 - 77

Abstract

Functional mapping techniques including functional magnetic resonance imaging (fMRI), positron emission tomography (PET), and magnetoencephalography (MEG) can be used to study the function of the nervous system. Optical imaging is an emerging technique for functional imaging of the nervous tissue. Functional optical imaging can be classified into two major streams; intrinsic signal optical imaging (ISO) and voltage-sensitive dye optical imaging (VDO). ISO is related to hemodynamic changes such as hemoglobin concentration and oxygenation changes, cytochrome oxidation change, and light scattering. On the contrary, VOD measures changes in membrane potentials of neural cells. Therefore, ISO reflects metabolic activity of neurons, while VOD directly reflects neural activity. Recent advances in optical imaging opened the possibility of its application to clinical situations as well as basic researches. Further, development of optical imaging may greatly contribute to the understanding of the function of the nervous system.

Keywords: Optical imaging; Intrinsic signal; Voltage-sensitive dye; Functional mapping

핵심 용어: 광영상; 내인성 신호; 전압민감성 염료; 기능적 매핑

*본 연구는 2008년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(R11-2005-014).

This work was supported by Korea Science and Engineering Foundation(KOSEF) grant funded by the Korea government(MEST)(R11-2005-014).

서론

감 각정보의 처리, 운동의 표현, 고차 인지 기능과 같은 뇌 기능은 수많은 신경세포로 이루어진 정교한 네트워크에 의해 이루어지고 있다. 이러한 신경세포들로 구성된

네트워크의 특성과 기능을 이해하기 위해서는 개별 신경세포의 활동보다는 어떤 신경세포의 집단의 활동을 연구할 필요가 있다.

이와 같이 신경세포 집단의 활동을 연구하는 데에는 다양한 연구 기법이 사용되고 있다. 이를테면 신경계의 기능을

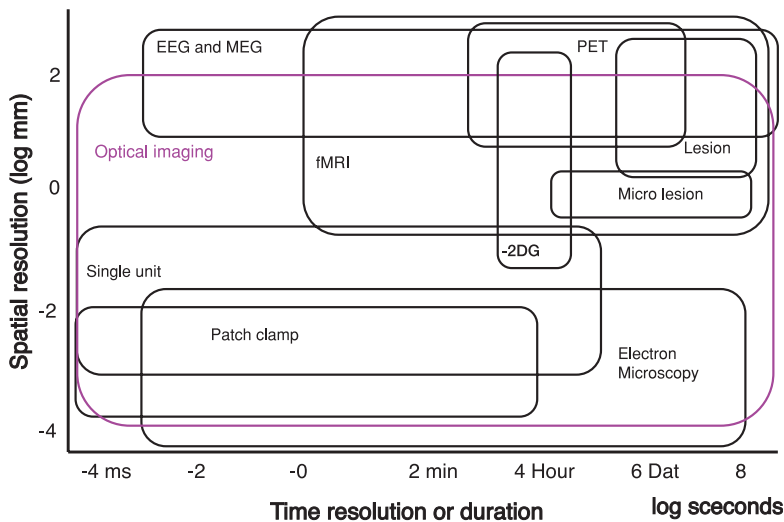


Figure 1. Spatio-temporal characteristics of methodological tools in neuroscience. The property of each technique are depicted by the colored rectangles. Abscissa and ordinate indicate temporal and spatial resolution, respectively. Optical imaging covers almost the entire area (including voltage-sensitive dye imaging, intrinsic signal imaging, ion imaging, confocal imaging, multi-photon imaging, etc.). EEG, electroencephalography; fMRI, functional MRI; MEG, magnetoencephalography; PET, positron emission tomography; 2DG, 2-deoxyglucose autoradiography. (with kind permission from Grinvald and Hildesheim, 2004)

연구하는 방법으로서 전기생리학적 기록법, 손상법, autoradiography, 전자현미경 등 여러 가지 기초적인 연구기법 뿐만 아니라 뇌전도(EEG), 뇌자도(MEG), 기능적 자기공명영상(fMRI), 양전자방출단층촬영법(PET) 등 신경계의 기능을 매핑하는 방법도 아주 다양하다. Figure 1은 현대의 신경과학에서 사용하고 있는 주된 기법들을 제시하고 있는데, 이를 시간적 공간적 해상도 상에서 비교하고 있다. 그림에서 볼 수 있는 바와 같이 각각의 연구 기법은 자기 나름대로의 시간적 공간적 해상도를 가지고 있으나 그 범위는 다소 좁다. 하지만 광학적인 영상(optical imaging)을 이용한 매핑은 시간적 공간적 해상도에서 가장 넓은 부분을 차지함으로써 다양한 접근이 가능하다.

광영상(Optical Imaging)의 종류 및 원리

광학적 기록(optical recording)을 사용하면 많은 위치에서 동시에 측정을 할 수 있다. 이것은 신경계나 심장과 같이

개별 세포의 많은 부위, 많은 세포 또는 많은 부위가 동시에 활동을 하는 연구에서 특히 중요하다. 또한 광학적 기록(optical recording)을 사용하면 전극을 이용하여 전기적 신호를 기록(recording)을 하기에는 너무 작거나 손상 입기 쉬운 돌기에서도 기록을 할 수 있다(1).

기능적 광영상(functional optical imaging)은 뇌 조직의 광학적 특성을 측정함으로써 신경 활동을 기록하는 방법으로서 haemoglobin의 산소포화도(oxygen saturation)나 광산란(light scattering)과 관련된 내인성 신호(intrinsic signal)를 이용하거나 전압민감성 염료(voltage-sensitive dye)를 사용하여 영상화한다.

1. 내인성 신호의 광영상

신경세포의 활동을 기록하는 데에는 그동안 전극을 신경세포에 접근시켜 신경세포의 전기적인 활동을 직접 전기생리학적으로 기록하는 방법이 사용되어 왔다. 그러므로 이러한 전기생리학적 기록 방법은 불가피하게 침습적일 수밖에 없었다. 이러한 침습적 방법을 피하기 위해 여러 가지 다양한 비침습적 방법이 개발되었다. 그 중 하나가 광영상 기법으로써, 광영상은 크게 내인성 신호(intrinsic signal)를 이용한 광영상과 염료(dye)를 이용한 광영상으로 나눌 수 있다. 우선 내인성 신호를 이용한 광영상은 세포의 팽창, 혈류의 변화 등으로 일어나는 hemoglobin 농도와 oxygenation changes, cytochrome oxidation change, light scattering과 같이 신경세포의 활동과 관련된 내적인 신호를 관찰하는 것이다. 서로 다른 파장의 빛에 대해서는 반응하는 분자 스펙트럼이 다르기 때문에 특징적인 신호가 관찰된다(2). 예를 들면, 610nm의 파장에서는 deoxy-hemoglobin의 농도 변화가 특징적으로 나타나는 반면에 oxyhemoglo-

Table 1. Comparison of intrinsic signal imaging and voltage-sensitive dye imaging

	Intrinsic signal	Voltage-sensitive dye
Measurement	Activity-dependent hemodynamic changes	Summed membrane potential changes
Map	Metabolic activity	Neural activity
Relationship to neural activity	Indirect	Direct
Spatial resolution	High	High
Temporal resolution	Low	High

bin의 변화는 무시할 만하다. 한편, 850nm의 파장에서는 뇌 혈류량의 변화와 잘 일치하는 영상을 얻을 수 있다. 그러므로 610nm 주변대의 파장은 산소의 결합에 민감하고, 850nm 주변의 파장은 혈류량의 변화에 민감하다고 할 수 있는데, 전자가 후자에 비해 신경세포의 활동과는 공간적으로 상관성이 훨씬 더 높다. 이는 산소가 결합하는 대사상의 빠른 변화가 혈류와 관련된 느린 변화보다 전기적인 활동과 더 밀접한 관련이 있다는 것을 의미한다(2).

2. 전압민감성 염료를 사용한 광영상

전압민감성 염료(voltage-sensitive dye, VSD)는 분자량이 약 500Da, 길이가 20 Å 이하인 유기 분자(organic molecule)로서 세포막에 결합하여 막전위(membrane potential)의 변화에 의해 발생하는 신호를 검출하기 위해 사용되는 염료이다. 이것은 아주 빠른 시간 상수(time constant)를 가진 막전위를 잘 반영하며 신호의 크기는 막전위 변화의 크기와 직접적인 관계가 있다(1). 따라서 이러한 염료를 사용하면 염색된 막의 막전위 변화를 직접 측정할 수 있다.

광영상(Optical Imaging) 기법의 특성 및 제한점

광영상은 신경계의 기능을 측정하고 영상화하는 기법이다. 그러나 내인성 신호를 이용한 광영상(intrinsic signal optical imaging, ISO)과 전압민감성 염료를 사용한 광영상(voltage-sensitive dye optical imaging, VDO)은 특성이 약간 상이하다. Table 1은 두 가지 광영상의 특성을 요약해 주고 있다.

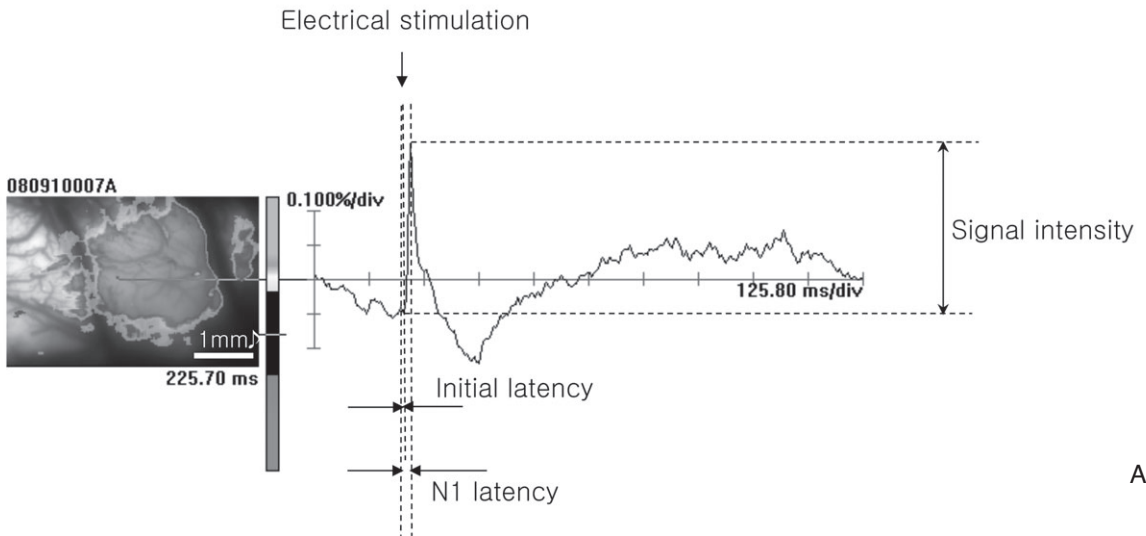
내인성 신호를 이용한 광영상 기법(ISO)은 신경계의 활동과 관련된 혈액학적 변화(haemodynamic change)를 측정하는 반면, 전압민감성 염료를 사용한 광영상(VDO)은 신경세포 막전위의 변화를 측정한다. 그러므로 ISO는 신경계의 활동에 수반되는 대사 활동을 매핑하는 반면에 VDO는 신경활동을 직접 측정하며 매핑하게 된다. 또한 두 가지 광영상 기법은 모두 10^{-5} m 정도로 공간적인 해상도는 모두 높다(3). 그러나 시간적인 해상도에서는 차이가 존재하는데, VDO는 10^{-3} 초 정도로 시간적 해상도가 높은 반면에 ISO는 10^{-2} 초 정도로 시간적 해상도가 낮다(3).

최근까지 느린 내인성 신호에 바탕을 둔 광영상이 VDO보다 더 쉽고, 피질의 기능적인 조직에 관한 좋은 매핑을 제공하였다. 하지만 위에서 살펴본 바와 같이 이들 신호는 전기적인 활동과 일치하지 않을 뿐만 아니라 시간적 해상도(temporal resolution)가 매우 낮은 단점이 있어 빠른 생리적 과정을 연구하는 데는 적당하지 못한 측면이 있다(4, 5).

하지만 VDO도 장점이 있는 반면에 단점도 있다. 즉, VDO는 전압민감성 염료를 사용하게 되는데, 이때 사용되는 염료는 광독성(phototoxicity)을 가질 수 있다(6). 즉 광영상을 위해 신경조직에 염료를 가할 때 이 염료가 빛 자극에 의해 활성화되면 산소 분자와 반응하여 유해물질을 생성할 수 있다. 이러한 물질은 반응성이 매우 높기 때문에 단백질 및 기타 막 구성 성분에 작용하여 세포막에 손상을 일으킬 수 있다. 최근에는 이러한 광독성을 최소화시킬 수 있는 염료가 개발되는 등 광독성으로 인한 위험성을 낮추려는 시도가 계속되고 있다.

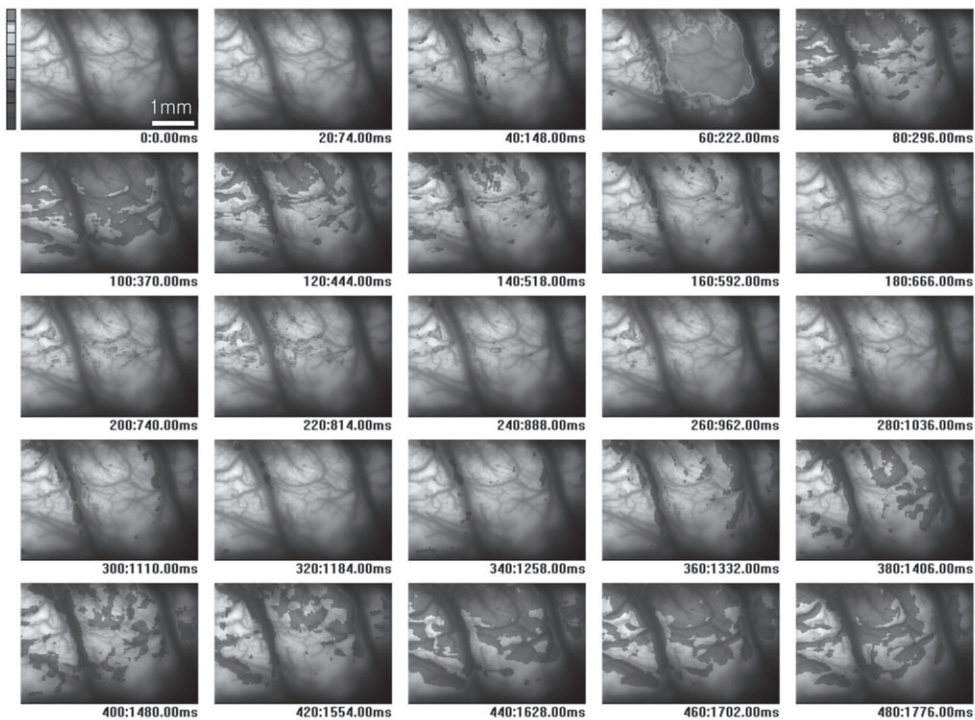
한편 뇌 기능을 매핑하는 방법으로서 fMRI나 PET에 비해 광영상, 특히 VDO는 매우 높은 시간적 해상도를 가지고 있어 신경세포의 빠른 전기적 활동을 영상화할 수 있다. 그러

Optical imaging and reconstruction of a waveform



A

Sequential images



B

Figure 2. Voltage-sensitive dye imaging from the somatosensory cortex of the rat following electrical stimulation of the sciatic nerve. (A) Optical imaging of cortical activation and reconstruction of a waveform. (B) Sequential images of cortical activation following stimulation of the sciatic nerve (from upper left to lower right). Scale bar: 200 μ m.

나 fMRI와 PET이 삼차원 영상을 제공하는 것과는 달리 광영상은 노출된 영역만 관찰할 수 있으며 현재로서는 심부 뇌 영역에서 광영상을 얻기 어려운 제한점이 있다.

광영상 방법론

광영상을 얻기 위해서는 우선 특정한 부위의 두피와 두개골을 제거하고 피질을 노출시킨다. 이 때 신경세포에서 나오는 전기신호를 광영상화하기 위해서는 우선 적당한 전압민감성 염료(VSD)를 사용하여 염색하는 것이 필요하다. VSD 분자는 세포막의 외벽에 붙어 일종의 변환기(transducer)로 작용하여 막전위의 변화를 광신호로 변환시킨다. 하지만 내인성 신호를 영상화하는 기법을 사용하게 되면 염색을 위한 염료가 필요하지 않다. 내인성 신호이든 전압민감성 염료를 사용하든 광영상을 얻기 위해서는 노출된 피질에 빛을 비추고 반사된 빛을 밴드패스 필터(band-pass filter)를 사용하여 노이즈를 제거한 다음 현미경에 부착된 CCD 카메라로 영상을 얻는다. 이때 광영상을 이용한 신경세포의 활동 지도는 활동시의 영상을 안정시의 영상과 비교하여 얻게 된다.

하지만 생체내에서 광영상을 수행하는데에는 상당한 문제가 존재한다. 이를테면, 호흡과 심장박동으로 인한 상당한 노이즈가 존재한다. 심장 박동으로 인한 노이즈 문제는 data acquisition을 심전도(electrocardiogram)와 동기화(synchronizing)시킴으로써 해결할 수 있다. 또한 전반적인 뇌 표면의 조명에 비해 뇌의 활동에 의한 빛 반사(reflectance)상의 변화는 매우 적기 때문에(보통 0.1% 이하), 이러한 변화를 직접 볼 수는 없다. 활성화된 뇌 부위를 관찰하기 위해서는 서로 다른 자극 조건하에서 얻은 영상을 비교해야 한다. 이를 위한 간단한 방법은 자극을 제시하면서 얻은 영상으로부터 비자극 조건의 영상을 산술적으로 감쇄(subtracting)함으로써 해결할 수 있다. 또한 신호 대 잡음 비율(signal-to-noise ratio)을 증가시키기 위하여 각 자극을 여러 번 제시하고 그 결과로 나타나는 영상들을 평균화(average)할 수 있다(7). 신호의 평균화(signal averaging)은 신호 대 잡음 비율을 향상시키기 위해 사용하는 표

준적인 방법이다. 반복적인 시행을 할 때, 어떤 신호가 재현성이 있으면 이것은 합산이 되어 증가하고 무작위적으로 발생하는 노이즈라면 평균화되어 사라지게 된다.

Figure 2는 본 필자의 연구실에서 흰쥐의 좌골신경을 전기적으로 자극하였을 때 일차 체감각 피질에서 유발된 전기적 반응을 전압민감성 염료를 사용하여 영상화한 것을 보여준다. Figure 2의 A는 활성화된 피질의 광영상과 전기적인 파형으로 재구성한 결과를 나타내고 있다. 그림에서 볼 수 있는 바와 같이 재구성된 파형은 체감각유발전위와 아주 유사하다. 유발전위와 마찬가지로 자극 후 반응이 나타날 때까지의 잠복기(latency) 뿐만 아니라 파형의 크기(intensity)도 수량화 할 수 있다. 이때 얻은 광영상은 20회 자극하여 얻은 결과를 평균화하였다. Figure 2의 B는 자극 후 나타나는 광영상의 시간 경과에 따른 변화를 보여주고 있다.

광영상 기법을 이용한 연구의 역사

1. 내인성 신호의 광영상

내인성 신호를 이용한 광영상(ISO)은 피질에서 광 반사상의 변화를 측정함으로써 활동과 관련된 뇌 영역을 지도화한다. 활동과 관련된 광 반사상의 변화는 약 60년 전에 실험실의 신경조직에서 최초로 관찰되었다(8). 그 후 설치류(9), 고양이(10, 11), 원숭이(12, 13) 등에서 intrinsic signal을 이용한 광영상이 보고되었다.

광영상은 뇌 조직 절편에서 생리화학적 변화를 관찰하는데 이용할 수 있다(4). 이 외에도 Sasaki 등(14)은 내인성 신호를 이용하여 말초신경 자극에 의해 유발된 광영상을 쥐의 척수에서 관찰하였다. 또한 내인성 신호를 이용한 광영상을 사용하면 마취하지 않고 깨어있는 원숭이에서도 장기간 광영상을 관찰할 수 있다(5).

Haglund와 그의 동료 연구자들(15)은 인간에게서 최초로 optical signals을 관찰하였다. 이들 연구자들은 간질발작 동안에 환자에게서 특징적인 광영상을 관찰하였으며 허운동이 일어나는 동안에 운동피질에서 시각적인 대상을 보여주고 이름을 붙이는 과제를 수행하는 동안 Broca와 Wernicke 영역에서 광영상을 관찰하였다. 그 후 많은 연구

자들이 인간의 피질에서 내인성 신호를 활용한 광영상을 보고하였는데, 이들 중에는 일차 감각 및 운동피질(16), 언어와 관련된 피질(17, 18) 등이 포함되어 있다.

2. 전압민감성 염료를 사용한 광영상

Voltage-sensitive dye (VSD)는 일찍이 Cohen 등(19) 및 Waggoner와 그의 동료들(20, 21)의 노력으로 스크리닝과 합성이 이루어졌는데, 특히 Cohen 등(19)은 voltage-clamp 기법을 사용하여 VSD가 세포막에서 발생하는 전류의 변화 보다는 막전위(membrane potential)의 빠른 변화를 측정할 수 있다는 것을 보여주었다.

VSD를 이용한 전기적인 활동의 영상을 최초로 기록한 것은 Tasaki와 그의 동료들(22), Salzberg와 그의 동료들(23, 24)에 의해 이루어졌는데, 특히 Tasaki와 Warashina(25)는 전기적인 신호를 평균화(averaging)하는 방법을 사용하여 염료를 이용한 전기신호의 광학적 기록(optical recording)을 최초로 보고하였으며 Salzberg 등(23)은 단일 신경세포로부터 활동전위를 평균화 기법을 사용하지 않고 광학적으로 기록하였다. 또한 Salzberg 등(24)은 역시 평균화 기법을 사용하지 않고 흥분성 및 억제성 시냅스전위를 비롯하여 14개의 신경세포로부터 활동전위를 동시에 광학적으로 기록하였다. 이러한 광학적 기록(optical recording)은 의미상 광영상(optical imaging)과는 다소 구별된다.

전압민감성 염료를 이용한 광영상은 무척추동물의 신경절(ganglia)에서 photodiode array를 사용하여 시작되었으며(26), 이어 배양된 신경 세포의 돌기(process)의 활동을 연구하는데 사용되었다(27). 신경세포 집단의 활동에 대한 연구는 포유류의 뇌 절편(brain slice)(28)과 도롱뇽의 후구(olfactory bulb)(29)에서 최초로 수행되었다. 이러한 연구 결과들은 광영상 기법이 생체내에서 포유류의 뇌를 연구하는데 유용한 도구가 될 수 있다는 것을 시사한다.

최근 Petersen 등(30, 31)은 전압민감성 염료(voltage-sensitive dye)를 이용하여 쥐의 체감각 피질에서 수염의 자극으로 유발된 활동을 영상화하였다. Kaltenbach와 Zhang(32)은 배측 와우핵(horsal cochlear nucleus)에서 전압민감성 염료를 이용하여 소리로 유발된 활동을 영상화

하였으며, Hosokawa 등(33)은 guinea pig의 청각 피질에서 두 귀에서 들어오는 청각입력이 상호작용하는 양상을 전압민감성 염료를 이용한 광영상을 사용하여 연구함으로써 소리의 위치 판단에 관여하는 청각 피질의 기전을 규명하였다. 또한 Onimaru와 Homma(34, 35)는 전압민감성 염료를 이용한 광영상을 사용하여 뇌간에서 호흡 리듬의 발생과 관련된 신경세포들의 활동을 영상화하였다.

광영상 기법의 임상적 응용

환자에게서 신경외과적인 수술을 행할 때 병리조직은 최대한 제거하고 조직의 불필요한 손상은 최소화하기 위해 다양한 brain mapping 기법이 동원되고 있다. 이러한 기법 중에는 피질의 전기 자극(electrical cortical stimulation), fMRI, SSEP, intraoperative MRI 등이 이용되어 왔다. 이들은 뇌 기능의 조금씩 상이한 측면의 정보를 제공하며 각기 장단점이 있다.

지금까지는 광영상 기법은 오로지 연구목적으로만 사용되어 왔다. 그러나 이러한 광영상 기법은 Haglund 등(15)이 광독성에서 자유로운 내인성 신호(intrinsic signal)를 이용하여 인간 환자에게서 최초로 보고한 이래, 인간 환자에게 점차 이용이 확대되고 있으며 임상적 중요성이 주목받고 있다.

예를 들어 Pouratian 등(2)의 연구에 의하면 46세 여자 환자의 경우 왼쪽 측두엽에 1.5cm의 손상 부위가 관찰되었는데, 주변의 언어 피질은 손상시키지 않고 손상 부위를 제거하게 되었다. 이러한 상황에서 내인성 신호의 광영상화를 이용하여 언어 과제를 수행하면서 광영상을 관찰함으로써 언어 기능이나 다른 신경학적 장애없이 수술을 완료할 수 있었다.

한편 Sato 등(36)은 9명의 환자를 대상으로 뇌종양과 간질 수술을 하는 동안 일차 체감각 피질에 내인성 신호의 광영상화를 적용하였다. 그 결과 내인성 신호를 영상화함으로써 체감각 피질에서 손가락의 표상(representation)을 지도화하였으며 수술을 통해 뇌 조직의 일부를 제거하더라도 보다 정교한 체감각을 지각하는 데 관여하는 정상 뇌 조직을

손상시키지 않고 신경외과적 수술을 성공적으로 수행할 수 있었다.

임상적인 광영상 시스템은 아직 시판되고 있는 것 같지는 않다. 지금까지 인간 환자에게 사용된 광영상 시스템은 실험실에서 동물에 사용된 것과 유사하다. 그러나 임상적으로 환자에게 사용할 수 있는 광영상 시스템은 큰 공간을 차지하지 않으며, 수술현미경 위해 카메라를 장착하면 되는 정도로 소형이며 사용이 편리하다.

한편 수술중 모니터링하는 방법으로는 피질전기자극 맵핑(electrocortical stimulation mapping, ECSM)이 현재 가장 보편적으로 사용되고 있다. 그러나 광영상은 ECSM 보다 훨씬 더 높은 공간적 해상도를 제공함으로써 넓은 피질 영역에서 ECSM 보다 빠른 평가를 할 수 있게 한다. ECSM 과 광영상을 결합하면 수술에 요구되는 시간을 훨씬 많이 줄일 수 있을 것이다.

전망 및 결론

최근들어 광영상(optical imaging)과 다양한 전기생리학적 기법을 결합한 장치가 개발되고 있다. 이를테면 미세자극(microstimulation), 세포외 기록(extracellular recording), 세포내 기록(intracellular recording), 공초점 현미경(confocal microscopy), 광자극(photostimulation) 등과 쉽게 결합하여 사용할 수 있다. 심지어 tracer의 주입 등 여러 가지 기법들을 광영상 기법과 결합하여 이용할 수도 있다. 이러한 장치는 내인성 신호의 광영상(ISO)이나 전압민감성 염료의 광영상(VDO) 모두에 적용할 수 있으며, 이러한 장치를 활용함으로써 단기간의 연구 뿐만 아니라 장기간 지속되는 연구도 가능하게 되었다.

한편 앞으로 염료의 개발에 많은 진전이 있을 것으로 기대된다. 특히 광독성이 없으면서 신경세포의 특성에 맞는 염료의 개발은 매우 중요하다. 이러한 염료의 개발은 어떤 뇌 영역에서 정보의 입력 및 출력을 수행하는 데 있어서 특수한 신경세포의 역할을 규명할 수 있게 할 것이다.

현재 살아있는 뇌에서 조직과 기능을 영상화하는 방법으로서 광영상 기법에 비견될 만한 시간적 공간적 해상도를

가진 영상 기술은 없다. 이러한 수준의 영상 기술로 말미암아 뇌에서 일어나는 정보처리 과정에 관한 보다 깊은 이해가 가능하다. 그러므로 광영상법을 사용하여 감각 및 운동 정보처리 뿐만 아니라 학습 및 기억을 포함한 고차 뇌 정보 처리에 대하여 단일 신경세포는 물론 신경세포로 구성된 회로망 수준에서 신경세포의 시간 공간적 정보처리 과정에 관한 이해의 폭을 넓힐 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Baker BJ, Kosmidis EK, Vucinic D, Falk CX, Cohen LB, Djuricic M, Zecevic D. Imaging brain activity with voltage- and calcium-sensitive dyes. *Cell Mol Neurobiol* 2005; 25: 245-282.
2. Pouratian N, Cannestra AF, Martin NA, Toga AW. Intraoperative optical intrinsic signal imaging: a clinical tool for functional brain mapping. *Neurosurg Focus* 2002; 13: 1-9.
3. Prakash N, Uhlemann F, Sheth SA, Bookheimer S, Martin N, Toga AW. Current trends in intraoperative optical imaging for functional brain mapping and delineation of lesions of language cortex. *Neuroimage* 2008 (in press).
4. Aitken PG, Fayuk D, Somjen GG, Turner DA. Use of intrinsic optical signals to monitor physiological changes in brain tissue slices. *Methods* 1999; 18: 91-103.
5. Roe AW. Long-term optical imaging of intrinsic signals in anesthetized and awake monkeys. *Appl Opt* 2007; 46: 1872-1880.
6. Grinvald A, Hildesheim R. VSDI: a new era in functional imaging of cortical dynamics. *Nat Rev Neurosci* 2004; 5: 874-885.
7. Mrsic-Flogel T, Hübener M, Bonhoeffer T. Brain mapping: new wave optical dispatch imaging. *Curr Biol* 2003; 13: R778-R780.
8. Hill DK, Keynes RD. Opacity changes in stimulated nerve. *J Physiol* 1949; 108: 278-281.
9. Narayan SM, Santori EM, Blood AJ, Burton JS, Toga AW. Imaging optical reflectance in rodent barrel and forelimb sensory cortex. *Neuroimage* 1994; 1: 181-190.
10. Bonhoeffer T, Grinvald A. Iso-orientation domains in cat visual cortex are arranged in pinwheel-like patterns. *Nature* 1991; 353: 429-431.
11. Frostig RD, Lieke EE, Ts'o DY, Grinvald A. Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6082-6086.
12. Grinvald A, Frostig RD, Siegel RM, Bartfeld E. High-resolution

- optical imaging of functional brain architecture in the awake monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 11559-11563.
13. Haglund MM, Ojemann GA, Blasdel GG. Optical imaging of bipolar cortical stimulation. *J Neurosurg* 1993; 78: 785-793.
 14. Sasaki S, Yazawa I, Miyakawa N, Mochida H, Shinomiya K, Kamino K, Momose-Sato Y, Sato K. Optical imaging of intrinsic signals induced by peripheral nerve stimulation in the in vivo rat spinal cord. *Neuroimage* 2002; 17: 1240-1255.
 15. Haglund MM, Ojemann GA, Hochman DW. Optical imaging of epileptiform and functional activity in human cerebral cortex. *Nature* 1992; 358: 668-671.
 16. Cannestra AF, Pouratian N, Shomer MH, Toga AW. Refractory periods observed by intrinsic signal and fluorescent dye imaging. *J Neurophysiol* 1998; 80: 1522-1532.
 17. Cannestra AF, Bookheimer SY, Pouratian N, O'Farrell A, Sicotte N, Martin NA, Becker D, Rubino G, Toga AW. Temporal and topographical characterization of language cortices using intraoperative optical intrinsic signals. *Neuroimage* 2000; 12 : 41-54.
 18. Pouratian N, Bookheimer SY, O'Farrell AM, Sicotte NL, Cannestra AF, Becker D, Toga AW. Optical imaging of bilingual cortical representations. Case report. *J Neurosurg* 2000; 93: 676-681.
 19. Cohen LB, Salzberg BM, Davila HV, Ross WN, Landowne D, Waggoner AS, Wang CH. Changes in axon fluorescence during activity: molecular probes of membrane potential. *J Membr Biol* 1974; 19: 1-36.
 20. Waggoner AS, Grinvald A. Mechanisms of rapid optical changes of potential sensitive dyes. *Ann N Y Acad Sci* 1977; 303: 217-242.
 21. Waggoner AS. Dye indicators of membrane potential. *Annu Rev Biophys Bioeng* 1979; 8: 47-63.
 22. Tasaki I, Watanabe A, Sandlin R, Carnay L. Changes in fluorescence, turbidity and birefringence associated with nerve excitation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 61: 883-888.
 23. Salzberg BM, Davila HV, Cohen LB. Optical recording of impulses in individual neurons of an invertebrate central nervous system. *Nature* 1973; 246: 508-509.
 24. Salzberg BM, Grinvald A, Cohen LB, Davila HV, Ross WN. Optical recording of neuronal activity in an invertebrate central nervous system: simultaneous recording from several neurons. *J Neurophysiol* 1977; 40: 1281-1291.
 25. Tasaki I, Warashina A. Dye-membrane interaction and its changes during nerve excitation. *Photochem Photobiol* 1976; 24: 191-207.
 26. Grinvald A, Cohen LB, Leshner S, Boyle MB. Simultaneous optical monitoring of activity of many neurons in invertebrate ganglia, using a 124 element photodiode array. *J Neurophysiol* 1981a; 45: 829-840.
 27. Grinvald A, Ross WN, Farber I. Simultaneous optical measurements of electrical activity from multiple sites on processes of cultured neurons. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1981b; 78: 3245-3249.
 28. Grinvald A, Manker A, Segal M. Visualization of the spread of electrical activity in rat hippocampal slices by voltage sensitive optical probes. *J Physiol* 1982; 333: 269-291.
 29. Orbach HS, Cohen LB. Simultaneous optical monitoring of activity from many areas of the salamander olfactory bulb. A new method for studying functional organization in the vertebrate CNS. *J Neurosci* 1983; 3: 2251-2262.
 30. Petersen CCH, Grinvald A, Sakmann B. Spatiotemporal dynamics of sensory responses in layer 2/3 of rat barrel cortex measured in vivo by voltage-sensitive dye imaging combined with whole-cell voltage recordings and neuron reconstructions. *J Neurosci* 2003; 23: 1298-1309.
 31. Petersen CH, Grinvald A, Sakmann B. Spatio-temporal dynamics of sensory responses in layer 2/3 of rat barrel cortex measured in vivo by voltage-sensitive dye imaging combined with whole-cell voltage recordings and anatomical reconstructions. *J Neurosci* 2003; 23: 1298-1309.
 32. Kaltenbach JA, Zhang JS. In vivo optical imaging of tone-evoked activity in the dorsal cochlear nucleus with a voltage sensitive dye. *J Neurosci Res* 2004; 78: 908-917.
 33. Hosokawa Y, Sugimoto S, Kubota M, Taniguchi I, Horikawa J. Optical imaging of binaural interaction in multiple fields of the guinea pig auditory cortex. *Neuroreport* 2004; 15: 1093-1097.
 34. Onimaru H, Homma I. A novel functional neuron group for respiratory rhythm generation in the ventral medulla. *J Neurosci* 2003; 23: 1478-1486.
 35. Onimaru H, Homma I. Optical imaging of respiratory neuron activity from the dorsal view of the lower brainstem. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005; 32: 297-301.
 36. Sato K, Nariai T, Tanaka Y, Maehara T, Miyakawa N, Sasaki S, Momose-Sato Y, Ohno K. Functional representation of the finger and face in the human somatosensory cortex: intraoperative intrinsic optical imaging. *Neuroimage* 2005; 25: 1292-1301.



Peer Reviewers Commentary

본 논문에서는 아직 충분히 보편화되지는 않았지만, 신경계 기능을 연구하는 방법으로서 광영상 기법이 어떻게 이용될 수 있는지와 실제로 임상적으로 응용될 수 있는 다양한 접근법을 제시하였다. 내인성 신호를 이용한 광영상(intrinsic signal optical imaging)과 전압-민감성 염료를 사용한 광영상(voltage-sensitive dye optical imaging)을 비교하고 두 가지 광영상 기법의 장점, 단점 및 그 특성을 명료하게 분석하였으며 실험동물을 이용한 광영상 기법을 그림으로 제시하여 이해를 쉽게 하였다. 또한 지금까지는 연구목적으로만 사용되어 온 광영상 기법을 임상적으로 적용하였던 사례를 이용하여 임상적으로 적용하는데 있어 이 기법이 복잡하지 않은 편리한 방법이며, 기존 접근법인 피질전기자극 매핑(electrocortical stimulation mapping), 미세자극(microstimulation), 세포외 기록(extracellular recording), 세포내 기록(intracellular recording), 공초점 현미경(confocal microscopy), 광자극(photostimulation) 방법 등과 쉽게 결합하여 사용할 수 있음을 제안하여 기초 과학자와 임상 의학자들에게 광영상에 관한 이해와 관심을 고무시키고 있다. 본 논문에서 기술했듯이 광영상 기법은 앞으로 기초, 임상 연구 및 신약 개발에 있어서 더 중요하게 활용될 것으로 기대되는 신기술의 이해를 돕고, 특히 신경계 질병을 조기에 진단하고 치료 효능을 직접적이고 신속하게 판단하게 해 줄 수 있는 기술로서 널리 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

[정리: 편집위원회]