

생체조직 내 광 밀도 향상을 위한
Tissue Optical Clearing methods
정량화에 대한 연구:
Positive pressure, Glycerol
injection, Laser pulse
modulation, Tissue temperature

연세대학교 대학원
의공학과
여 창 민

생체조직 내 광 밀도 향상을 위한
Tissue Optical Clearing methods
정량화에 대한 연구:
Positive pressure, Glycerol
injection, Laser pulse
modulation, Tissue temperature

지도 정 병 조 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2011년 7월

연세대학교 대학원
의공학과
여 창 민

여창민의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2011년 7월

감 사 의 글

“열정”, 사전적 의미로는 “어떤 일에 열렬한 애정을 가지고 열중하는 마음” 이라고 정의되어 있습니다. 학부에서 관심을 가진 전공에 “열정” 을 가지고 대학원에 입학한지 벌써 2년이라는 시간이 흘러 버렸습니다. 학부 3학년을 올라가면서 부터이니 실질적으로 4년의 시간동안 저를 지도해 주신 정병조 교수님께 진심으로 감사드립니다. 교수님께서 주신 많은 가르침, 앞으로 인생을 설계하고 살아가는데 있어 큰 바탕이 될 것이라 확신하며 학부생 때부터 저를 성장시키기 위해 배려해주셔서 지금의 제가 있다고 확신합니다. 그리고 심사를 맡아 지도해 주신 이용흠 교수님과 권기운 교수님께도 진심으로 감사드리며, “공부는 젊었을 때 하는 거여~” 하시며 저를 상담해 주신 이용흠 교수님의 말씀에 대학원 진학을 마음먹었던 것이 엇그제 같습니다. 교수님, 지나보니 석사과정 해보길 잘한 것 같습니다. 감사드립니다. 또한 학문적으로 초보자였던 학부생인 저와 함께 연구를 진행해주시고 SCI저널에 제 논문을 게재할 수 있었던 것은 모델링을 해주셨던 권기운 교수님이 아니었다면 힘들었을 것 같습니다. 감사드립니다.

대학원 생활을 하며 매일 얼굴을 보며 지내서 가족 같은 우리 연구실 사람들, 사소한 질문에 많은 가르침과 도움을 주셨던 영우형, 항상 동생으로 잘 챙겨주시는 희성형, 연구실의 최강 인재 태윤이, 항상 어른스러워 믿음직했던 은지, 언제나 발랄한 상희, 심성이 곱고 배려심 많은 착한 윤진이, 지금은 연구실에 없지만 학부생 시절 함께 했던 큰 형 용진이형, 학부생때부터 형처럼 가깝게 대해주셨던 얼마전 졸업한 일꾼 예일형, 웬지 모를 무게감에 다가가기 조심스러웠던 오락부장 진희형, 항상 다정다감했던 연항형, 랩실 귀염둥이 대규까지 모두에게 감사드립니다. 소중한 20대의 많은 추억을 만들며 힘든 일이 있을 때는 기대고 기쁜 일이 있을 때는 나누며 함께 할 수 있었던 내 소중한 절친들 누리별, 용현이에게 모두 고맙다는 말을 전합니다.

마지막으로, 외동아들에게 변함없는 헌신적인 지지와 사랑을 주시는 어머니와 하늘에 계신 아버지에게 진심으로 감사드리며 사랑합니다.

2011년 7월
여 창 민 올림

차 례

차 례	i
그림 차례	iii
국문 요약	v
제 1 장 서 론	1
제 2 장 배 경 이 론	6
2.1. 빛과 생체조직 간의 상호작용(Light tissue interaction)	6
2.2. 생체조직의 온도변화에 따른 광 특성 변화	7
2.3. 생체조직에 광 산란감쇠물질 적용시 광 특성 변화	9
2.4. 생체조직에 압력인가시 광 특성 변화	12
2.5. 생체조직에 펄스모드 레이저 조사시 광 특성 변화	14
제 3 장 설계된 레이저 프로브 및 시스템과 실험 방법	16
3.1. 설계된 레이저 프로브 및 시스템	16
3.1.1. 압력인가형 레이저 프로브	16
3.1.2. 온도제어형 레이저 프로브	17
3.1.3. 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템	18
3.1.4. 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법 적용시 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템 (펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란감쇠물질 주입)	20

3.2. 실험 방법	22
3.2.1. 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 정량화	22
3.2.2. 생체조직의 온도변화에 따른 광 투과패턴 변화 정량화	23
3.2.3. 생체조직에 펄스모드 레이저 조사시 광 투과패턴 변화 정량화	24
3.2.4. 생체조직에 광 산란 감쇠물질 주입(injection)시 광 투과패턴 변화 정량화	26
3.2.5. 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법(펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입) 복합 적용시 광 투과패턴 변화 정량화	27
3.3. 실험 결과	29
3.3.1. 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 정량화 결과	29
3.3.2. 생체조직에 온도변화에 따른 광 투과패턴 변화 정량화 결과	33
3.3.3. 생체조직에 펄스모드 레이저 조사시 광 투과패턴 변화 정량화 결과	35
3.3.4. 생체조직에 광 산란 감쇠물질 주입(injection)시 광 투과패턴 변화 정량화 결과	36
3.3.5. 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법 (펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입) 복합 적용시 광 투과패턴 변화 측정 결과	37
제 4 장 고 찰	39
제 5 장 결 론	45
참 고 문 헌	46
영 문 요 약	51
부 록	53

그림 차례

그림 1. 생체조직에 레이저 조사시 일어나는 상호작용	6
그림 2. 인체 복부 피부조직의 온도변화(25℃~40℃)에 따른 광 산란계수 변화(진피(좌), 내피(우))	7
그림 3. 인체 팔뚝 피부조직의 반복적 온도변화(22℃~42℃)에 따른 광 산란계수 변화	8
그림 4. 인체 팔뚝 피부조직의 온도변화(22℃~42℃)에 따른 회복 가능한 광 산란계수 변화	8
그림 5. 글리세롤 적용시 생체조직의 광 투과도 개선 효과	9
그림 6. 글리세롤 적용시 transmission electron microscopy 영상 비교(rat-tail tendon fibril)	10
그림 7. 글리세롤 적용시 생체조직내 콜라겐 구조 및 크기의 변화	10
그림 8. 글리세롤의 tissue optical clearing 효과 최적화를 위한 microneedling 적용	10
그림 9. 생체조직(caucasian skin)에 압력인가시 광 특성 변화	12
그림 10. 생체조직(porcine aorta)에 압력인가시 광 특성변화	12
그림 11. 펄스모드 레이저 조사시 상대적 irradiance(mW/cm ²) 변화 비교	14
그림 12. 압력인가형 레이저 프로브 구조(a), 프로브의 생체조직 적용모습(b, 상), 다양한 구경(20Ø, 30Ø, 40Ø)의 프로브(b, 하)	16
그림 13. 온도제어형 레이저 프로브 구조(a), 프로브 실제 외관(b)	17
그림 14. 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템 구성도	18
그림 15. 생체조직에 레이저 펄스모드 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입에 따른 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템 구성도	20

그림 16. 돼지피부에서 레이저 투과패턴 측정을 위한 시스템 구성	23
그림 17. 생체조직의 특정온도 유지를 위한 알루미늄 고정판 및 항온수조	24
그림 18. 생체조직에 펄스모드 레이저 조사 및 투과패턴 측정 시스템	25
그림 19. 생체조직에 광 산란 감쇠물질 주입	27
그림 20. 온도제어형 레이저 프로브를 이용한 Tissue Optical Clearing 제어변수 복합적용 (펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입)	28
그림 21. 생체조직에 인가된 압력단계별 압력인가형 레이저 프로브 직경에 따른 3차원 레이저 빔 프로파일 변화	29
그림 22. 생체조직에 인가된 압력단계별(0~-30kPa) 압력인가형 레이저 프로브 직경에 따른 생체조직을 투과한 광 최대세기 비교	31
그림 23. 압력인가형 레이저 프로브 직경에 따른 레이저 빔 프로파일 반폭치(FWHM) 감소 비교(-15kPa, -30kPa)	32
그림 24. 생체조직 온도 변화시 투과된 레이저 빔 프로파일 변화(a)와 레이저 빔 프로파일의 반폭치 구간에서의 total intensity 비교(b)	33
그림 25. 생체조직의 온도변화에 따른 환산 광 산란계수 변화	34
그림 26. 생체조직에 조사하는 레이저 펄스에 따른 투과된 레이저 빔 프로파일 변화(a)와 레이저 빔 프로파일 반폭치 구간에서의 total intensity 비교(b)	35
그림 27. 생체조직에 95% 글리세롤 주입시 레이저 빔 프로파일 변화(a)와 레이저 빔 프로파일의 peak intensity(PI)와 반폭치 구간에서의 total intensity(TI) 비교(b)	36

국 문 요 약

생체조직 내 광 밀도 향상을 위한 Tissue Optical Clearing methods 정량화에 대한 연구: Positive pressure, Glycerol injection, Laser pulse modulation, Tissue temperature

생체조직은 조직 광학적으로 강한 산란특성을 가지고 있어, 광자가 발색단이 위치한 조직의 심부에 도달하기 전, 상피 및 진피층 상부에서의 강한 산란현상과 이로 인한 감쇠현상으로 광자가 조직 깊이 투과하지 못하기 때문에 광을 이용한 진단 및 치료의 효율성이 떨어지는 본질적인 한계점이 있었다. 이러한 한계를 극복하기 위해 생체조직 내 광 산란현상을 줄이고 결과적으로 광 투과를 증가시켜 심부조직의 발색단에 도달하는 광 밀도를 증가시키는 Tissue Optical Clearing(TOC) 방법들이 다양하게 연구되고 있는데, 광 산란 감쇠물질 적용, 생체조직에 압력인가, 생체조직의 온도 제어, 펄스모드 레이저 조사 등의 방법이 임상적용 측면에서 가장 효과적인 것으로 판단된다.

본 연구에서는 TOC 방법들의 각기 혹은 복합 적용시 생체조직 내 광 투과 깊이 향상 및 광 밀도 향상에 대하여 객관화, 정량화를 하기 위해 압력인가형 레이저 프로브와 온도제어형 레이저 프로브를 설계하였으며 해당 프로브의 제어변수들을 제어하기 위한 통합 시스템을 설계하여 1) 생체조직에 특정압력인가, 2) 생체조직의 온도변화, 3) 생체조직에 펄스모드 레이저 조사, 4) 생체조직에 광 산란 감쇠물질 주입시 광 투과패턴 변화 정량화 등의 실험을 각기 진행하여 정량적 분석을 진행하였고, 최종적으로 각기 실험을 통해 생체조직 내 광 밀도를 향상시키기 위한 최적 제어변수를 도출하여 5) 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법(펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입) 복합 적용시 광 투과패턴 변화 정량화 실험을 진행하였다. 실험 결과로는 1) 생체조직에 0 kPa ~ -30 kPa의 범위로 압력을 인가하였을 때, 생체조직을 투과한 peak intensity는 -30 kPa의 압력인가시(0 kPa 기준) 프로브의 직경 20 \emptyset 에서는 2.74배, 30 \emptyset 에서는 3.22배, 40 \emptyset 에서는 3.64배 증가하였다. 2) 생체조직의 진피층(외피포함)의 온도를 40 ^\circ C 에서 10 ^\circ C 로 감소시킬 경우, total intensity(at FWHM)가 (조직의 온도 40 ^\circ C 기준) 30 ^\circ C 에서는 1.04배, 20 ^\circ C 에서는 1.32배, 10 ^\circ C 에서는 1.37배 증가하였고 생체조직의 환산 광 산란계수(reduced scattering coefficient)는 40 ^\circ C 일 때 1.71 mm $^{-1}$, 30 ^\circ C 일 때 1.66 mm $^{-1}$, 20 ^\circ C 일 때 1.56 mm $^{-1}$, 10 ^\circ C

일 때 1.42 mm^{-1} 로 점차 감소하였다. 3) 생체조직에 동일한 average power에서 5 Hz ~ 30 Hz의 범위로 펄스모드 레이저를 조사할 경우, total intensity(at FWHM)는 동일한 실험 조건에서 연속과 레이저 조사의 경우보다 레이저의 펄스 5 Hz에서 1.22배, 10 Hz에서 1.11배, 15 Hz에서 1.10배, 20 Hz에서 1.07배, 25 Hz에서 1.09배, 30 Hz에서 1.10배 증가하였다. 4) 생체조직에 95% 글리세롤 주입시(injection), 주입 전에 비하여 주입 후 peak intensity는 2.13배, total intensity(at FWHM)는 1.81배 증가하였다. 5) 마지막으로 각기 TOC 방법들의 정량화 실험에서 도출된 최적 제어변수들을 복합적으로 적용한 실험에서는, 동일한 실험 조건에서 복합 적용한 경우와 각기 제어변수 적용 경우와의 비교를 위하여 2) ~ 4)의 실험에서 도출된 제어변수들(펄스모드 레이저 조사(5 Hz), 생체조직 온도제어(10°C), 광 산란 감쇠물질 주입(95% 글리세롤))에 대해서 각각의 실험을 진행하고 복합 적용시의 실험을 진행한 결과, peak intensity는 펄스모드 레이저 조사(5 Hz)시 1.49배, 생체조직 온도제어(10°C)시 1.39배, 95% 글리세롤 주입시 2.14배, 마지막으로 복합적용시 3.40배 증가하였다. total intensity(at FWHM)의 경우 펄스모드 레이저 조사(5 Hz)시 1.22배, 생체조직 온도제어(10°C)시 1.21배, 95% 글리세롤 주입시 1.64배, 마지막으로 복합적용시 1.86배 증가하였다.

본 연구에서는 생체조직 내 광 투과 효율성을 극대화시킬 수 있는 Tissue Optical Clearing 방법들에 대하여 정량적 분석을 진행하였고, 이를 위하여 생체조직에 대하여 레이저 조사와 동시에 각 제어변수의 적용이 가능한 레이저 프로브를 설계하였으며 이를 제어하기 위한 통합 시스템을 설계하여 임상적용 가능성을 높였다. 향후 연구과제는 본 연구에서 설계된 레이저 프로브를 개선하여 임상적용 가능성을 보다 향상시키고, 본 연구에서 사용된 생체조직과 동일한 광 흡수계수와 산란계수를 가진 optical phantom을 설계하여 동일한 실험조건 및 방법으로 *in-vitro* 연구를 진행하여 비교 / 분석이 필요하며 이를 통해 생체조직의 온도제어 및 레이저의 펄스모드 조사시 일어나는 생체조직의 광 특성변화에서 흡수 및 산란 인자가 미치는 영향을 제외한 다른 조직학적 기전에 대한 추가연구가 필요하다.

핵심되는 말 : light intensity, low-level laser therapy (LLLT), hyperosmotic clearing agent (HCA), optical clearing agent (OCA), glycerol, laser diode (LD), optical properties, integrating sphere, biological tissue, optical phantom

제 1 장 서 론

1960년 Dr. Maiman이 루비(ruby) 레이저(LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation)를 개발한 이후, 레이저는 일상생활에서부터 산업, 의료, 정보, 군사 분야까지 다양한 분야에서 사용되고 있다[1]. 의료분야에서 레이저는 치료용으로 주로 사용되고 있으며 안과(ophthalmology)에서는 레이저의 광 파괴(optical breakdown)와 증기요법(vaporization)을 이용한 LASIK (Laser-Assisted in Situ Keratomileusis)이나 LASEK (Laser-Assisted Sub-Epithelial Keratectomy), 피부과(dermatology)에서는 문신, 점, 주름, 털, 모반(port-wine stain) 등의 제거, 정형외과(orthopedics)에서는 응고(coagulation)등을 이용한 전립선 치료, 방광 치료, 신장 결석 제거, 무혈수술(bloodless surgery) 등에 사용되고 있으며, 최근에는 전통적인 한방 침술을 대체하려는 비침습형 레이저 침술(laser acupuncture)도 행해지고 있다[2]. 의료용으로 레이저가 많이 활용되고 있는 것은 응고에 의한 무혈 수술이 가능하고, 생체조직(biological tissue)내 발색단(chromophore)의 흡수파장(absorption wavelength)에 일치하는 레이저를 적용함으로써 선택적인(selective) 시술이 가능하기 때문이다[3]. 그러나 빛과 생체조직 간의 복잡한 상호작용은 레이저 시술에서 치료 효율을 감소시키는 요인으로 작용한다.

레이저가 생체조직에 조사될 때 투과(transmission), 반사(reflection), 산란(scattering) 그리고 흡수(absorption)의 4가지 기본적인 상호작용이 발생한다[4]. 이 가운데 생체조직 내 흡수현상은 조직 내 발색단에 의해 광자(photon)가 포획되어 열에너지로 변환되는 것을 의미하며 의료분야에서 레이저 치료기전으로 작용한다[5]. 또한 조직 내 산

산란현상은 다른 크기와 굴절률(refractive index)의 차이를 가진 조직들이 모여 있는 생체조직의 불균일적인(heterogeneous) 구조로 인해 빛의 진행 방향이 바뀌고 흩어지는 현상을 말하며 이러한 산란 특성은 저출력 레이저 치료(low-level laser therapy)에서 특정 발색단이 흡수하는 파장의 레이저가 목표 깊이까지 도달하기 전 산란되어 레이저의 투과 깊이를 제한하고 결과적으로 목표 발색단에 도달하는 레이저의 광 밀도(photon density)를 감소하여 레이저 치료 효율을 저하시키는 제약으로 작용한다.

이러한 한계를 극복하기 위해 생체조직 내 광 산란현상을 줄이고 결과적으로 광 투과를 증가시켜 심부조직의 발색단에 도달하는 광 밀도를 증가시키는 Tissue Optical Clearing 방법들이 다양하게 연구되어 지고 있는데, 피부에 광 산란 감쇠물질(optical clearing agent)을 적용하거나[6] 압력을 인가하여 레이저의 투과도를 높이거나[7] 생체조직의 온도를 제어하여 산란현상을 줄이거나[8-13] 레이저를 펄스모드로 조사하는 방법이 [14, 15] 임상적용 측면에서 가장 효과적인 것으로 판단된다.

생체조직 내 광 투과도를 높이기 위한 Tissue Optical Clearing 방법들 중, 본 논문에서는 광 산란 감쇠물질을 생체조직에 직접 주입하고, 양압력(positive pressure) 인가, 조직의 온도제어, 레이저의 펄스모드 조사 등을 이용하여 각기 혹은 복합적인 적용을 통하여 조직심부에서의 광 밀도 향상 최적화를 목적으로 하였으며, 향상 정도를 정량화하고자 하였다.

생체조직의 온도제어는 내피에서는 지질이중층의 겔상-액정상 전이(gel/liquid-crystalline phase transitions)[8, 9], 진피에서는 콜라겐 섬유 구조의 변경(modification)[10], 전체층에서의 생체물질의 저하(degradation)[11], 세포 내액의 굴절률변화[12] 등이 주된 기전으로 알려져 있다. 실험적으로는 Jan Laufer *et al.*(1998), Shu-jen Yeh *et al.*(2001), Omar S. Khalil *et al.*(2003)등이 인체 피부조직의 온도를 변

화시킴으로써 진피 및 내피층의 광 흡수계수 및 산란계수의 정량적 변화를 *in-vivo*, *ex-vivo* 실험결과로 보고하였고, 이러한 실험결과에 근거하여 결과적으로 생체조직의 진피층에서 온도를 감소시켰을 때, 광 산란현상이 감소하고 굴절률 정합(refractive index matching)에 가까운 환경을 조성하면서 결과적으로 조직 심부에서의 광 밀도가 증가하는 결과를 도출할 수 있다.

광 산란 감쇠물질은 산란을 일으키는 입자(scattering particle)의 밀도(density)와 분포의 변형(modification)을 가져오고 해당 입자의 모양과 크기의 변형, 상대적인 굴절률(refractive index)의 변화로 인해 해당 조직의 산란정도를 변화시키며 각기 다른 종류의 광 산란 감쇠물질들을 동시에 사용하여 적용 효과를 더욱 증가시키거나 줄이는 것이 가능하다.

현재까지 제시되고 있는 작용 기전은 피부의 탈수(skin dehydration), 콜라겐 해리(collagen dissociation), 그리고 이들의 복합적 작용이다 [16, 24]. Vargas *et al.*(1999), A. T. Yeh *et al.*(2003), Rylander *et al.*(2006)등이 위의 제시되고 있는 광 산란 감쇠물질의 생체조직에 대한 작용기전에 대하여 고찰하고자 하였으며 결과적으로 광 산란 감쇠물질 즉, hyperosmotic clearing agent가 조직 내에서 광 산란현상을 감소시키면서 결과적으로 굴절률 정합에 가까운 환경을 조성하여 생체조직의 광 투과도를 개선한다는 결과를 보고하였다. 최근에는 Yoon *et al.*(2008), Kang *et al.*(2008)등이 hyperosmotic clearing agent, compression, micro-needling, 그리고 초음파의 복합적용이 생체조직 내에서 tissue optical clearing 효과를 최적화 시킬 수 있다는 보고를 하였으며 기타 여러 연구에서 광 산란 감쇠물질을 적용하여 생체조직 내 광 투과도를 개선하는 연구가 보고되고 있다[19-22].

또 하나의 방법인 압력을 인가하여 빛 투과도를 높이는 방법의 경우,

생체조직에 양압(positive pressure)을 인가하게 되면 생체조직의 두께가 감소하게 되고 빛의 투과에 필요한 광 경로(optical pathlength)가 감소하게 되면서 광 투과가 증가하게 되고, 또한 양압으로 인해 세포간극(intercellular space)이 줄어들게 되면서 세포간 수분(intercellular water)이 감소하여 엘라스틴층(elastin layer)간의 공간이 감소하면서 결과적으로 굴절률정합에 가까운 환경을 조성하게 되어 tissue optical clearing의 효과를 보이는 것으로 알려져 있다[7, 28]. Shangguan *et al.*(1998)은 생체조직에 양압(0~1.5 kg/cm²)을 인가하였을 때 광 흡수계수 및 광 산란계수가 증가하는 결과와 이러한 광 특성들의 비가역성(irreversibility)을 보고하였고, 이 논문의 실험결과에서는 양압인가시 전반적인 광 투과도 증가와 조직의 두께가 72% 감소, 질량이 40% 감소하는 결과를 보고하였다. 최근에는 생체조직에 양압을 인가하였을 때의 tissue optical clearing효과를 정량화하거나 다양한 다른 방법들과 병행하여 최적의 효과를 도출하는 연구가 진행되었다[20, 22].

마지막으로 생체조직에 레이저를 펄스형태(pulse wave)로 조사하게 되면 연속파형태(continuous wave)에 비해 광 투과깊이가 증가하게 되는데 이것은 간단한 물리적인 계산으로 확인할 수 있으며 동일한 average power에서 펄스변수 적용으로 인한 순간적인 peak power 증가로 광 투과 깊이가 깊어지게 되는 기전이다[14, 15]. 최근까지 레이저를 연속파 모드로 조사할 경우와 펄스 모드로 조사할 경우의 임상적 유효성 비교는 다양한 연구 결과가 보고되고 있으나 명확히 검증되지 않았다[14].

생체조직은 조직 광학적으로 강한 산란특성을 가지고 있어, 광자(photon)가 발색단(chromophore)이 위치한 조직의 심부에 도달하기 전, 상피 및 진피층 상부에서의 강한 산란현상과 이로 인한 감쇠현상으로 광자가 조직 깊이 투과하지 못하기 때문에 진단 및 치료의 효율성이 떨어지는 본

질적인 한계점이 있었다. 본 연구에서는 이러한 한계점을 개선하기 위해서 생체조직 내 광 투과 효율성을 극대화시킬 수 있는 tissue optical clearing 방법들을 연구하고자 하였으며, 세부적으로는 생체조직에 양압 인가, 레이저의 펄스모드 조사, 생체조직의 온도제어, 광 산란감쇠물질 (optical clearing agent) 적용을 통하여 각기 혹은 복합 적용시 생체조직 내 광 투과 깊이 향상 및 광 밀도 향상, 이에 대한 객관화, 정량화를 하고자 하였다.

제 2 장 배 경 이 론

2.1 빛과 생체조직 간의 상호작용(Light tissue interaction)

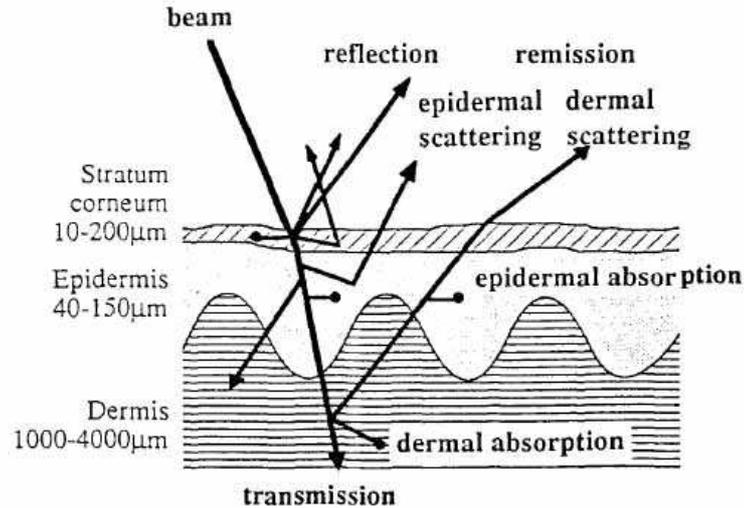


그림 1. 생체조직에 레이저 조사시 일어나는 상호작용

그림 1과 같이 레이저가 생체조직에 조사될 때 투과(transmission), 반사(reflection), 산란(scattering) 그리고 흡수(absorption)의 4가지 기본적인 상호작용이 발생한다. 투과란 입사된 빛이 생체조직을 통과하는 것이고, 반사는 생체조직의 표면에서 입사된 빛의 진행방향이 바뀌어 되돌아오는 현상을 말하고 피부의 경우 조사된 빛의 4~7%가 반사된다[4]. 산란은 다른 크기와 굴절률(refractive index)의 차이를 가진 조직들이 모여 있는 생체조직의 불균일적인(heterogeneous) 구조로 인해 빛의 진행방향이 바뀌고 흩어지는 현상을 말한다. 흡수는 생체조직 내 발색단에 의해 광자(photon)가 포획되어 열에너지로 변환되는 것을 의미하며 의료분야에서 레이저 치료기전으로 작용한다. Grothus-Draper 법칙에 의해 빛이 생체조직

에 효과를 발생시키려면 반드시 생체조직에 흡수되어야 하고[5], 특히 심부조직(deep tissue layer)에서 레이저의 흡수율을 높이기 위해서는 레이저의 투과 깊이 및 광 밀도가 향상되어야 한다. 그러나 생체조직의 광 산란(light scattering) 특성은 저출력 레이저 치료(low-level laser therapy)에서 특정 발색단이 흡수하는 파장의 레이저가 목표 깊이까지 도달하기 전 산란되어 레이저의 투과 깊이를 제한하고 결과적으로 목표 발색단에 도달하는 레이저의 광 밀도(photon density)를 감소하여 레이저 치료 효율을 높이는데 주요 제약으로 작용한다.

2.2 생체조직의 온도변화에 따른 광 특성 변화

생체조직의 온도변화에 따라 광 특성이 변화하는 주된 기전으로는 내피에서는 지질이중층의 겔상-액정상 전이(gel/liquid-crystalline phase transitions)[8, 9], 진피에서는 콜라겐 섬유 구조의 변경(modification)[10], 전체층에서의 생체물질의 저하(degradation)[11], 세포 내액의 굴절률변화[12] 등으로 알려져 있다.

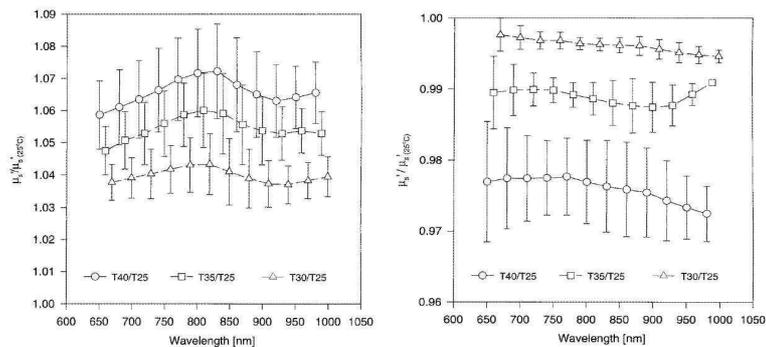


그림 2. 인체 복부 피부조직의 온도변화(25°C ~ 40°C)에 따른 광 산란계수 변화(진피(좌), 내피(우))

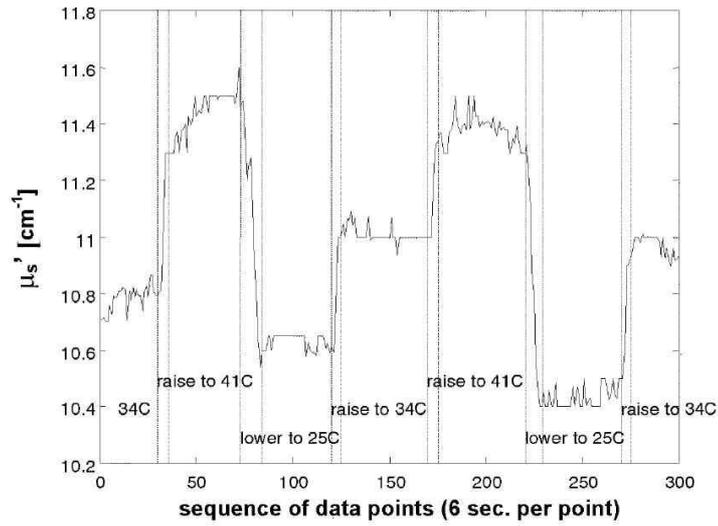


그림 3. 인체 팔뚝 피부조직의 반복적 온도 변화(22°C ~ 42°C)에 따른 광 산란계수 변화

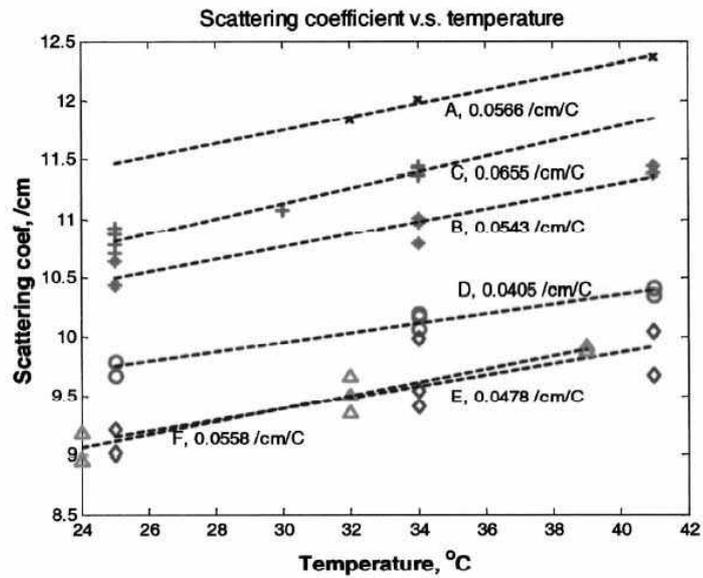


그림 4. 인체 팔뚝 피부조직의 온도변화(25°C ~ 41°C)에 따른 회복 가능한 광 산란계수의 변화

Jan Laufer *et al.*(1998)은 그림 2와 같이 인체의 복부 피부 온도를 25℃에서 40℃로 상승시켰을 때, 진피에서는 광 산란계수가 증가하고 내피에서는 감소하는 *in-vivo* 실험결과를 발표하였고[10], Shu-jen Yeh *et al.*(2001)또한 그림 3과 같이 인체의 팔뚝 피부 온도를 22℃에서 42℃의 범위에서 증가 및 감소시켰을 때, 광 산란계수 또한 각각 증가 및 감소하는 실험결과를 발표하였다[12]. Omar S. Khalil *et al.*(2003)은 그림 4와 같이 인체의 팔뚝 피부에 온도를 감소시키는 것이 광 흡수 계수와 산란 계수에 영향을 끼쳐 조직 내에서 광 투과 깊이가 증가하는 실험결과를 도출하였다[13]. 이러한 논문들에 근거하여 생체조직의 진피층에서 온도를 감소시켰을 때, 광 산란현상이 감소하고 굴절률 정합(refractive index matching)에 가까운 환경을 조성하면서 결과적으로 조직 심부에서의 광 밀도가 증가하는 결과를 도출할 수 있다.

2.3 생체조직에 광 산란감쇠물질 적용시 광 특성 변화

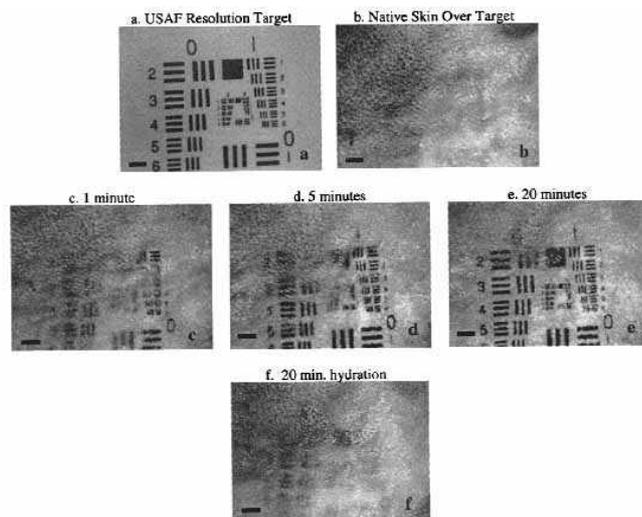


그림 5. 글리세롤 적용시 생체조직의 광 투과도 개선 효과

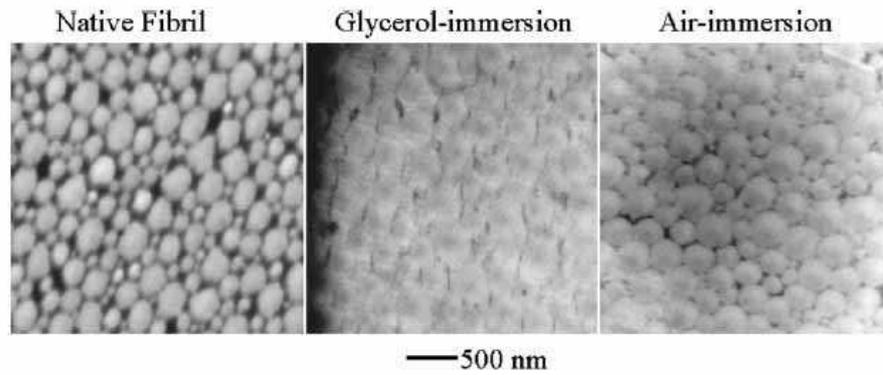


그림 6. 글리세롤 적용시 transmission electron microscopy 영상 비교(rat-tail tendon fibril)

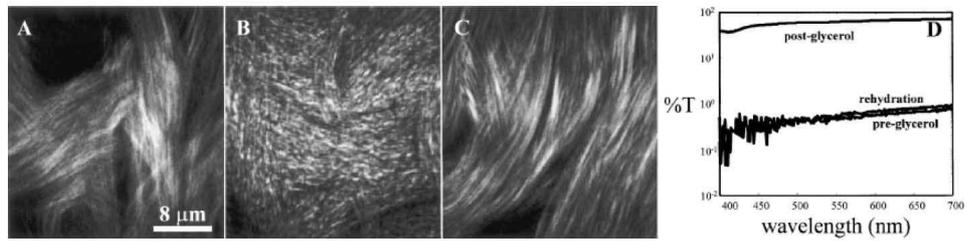


그림 7. 글리세롤 적용시 생체조직내 콜라겐 구조 및 크기의 변화

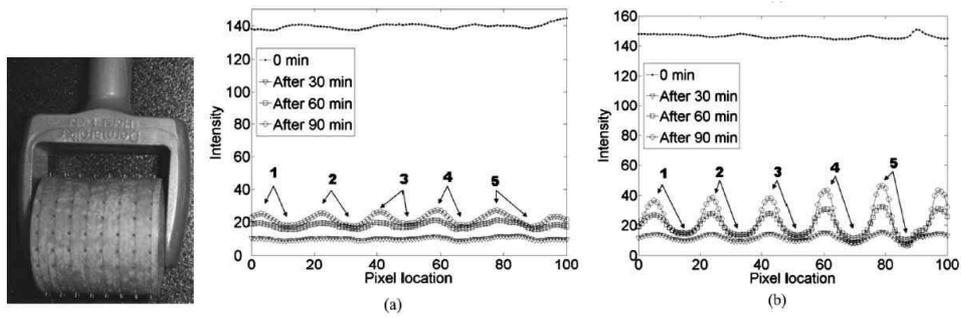


그림 8. 글리세롤의 tissue optical clearing 효과 최적화를 위한 microneedling 적용

광 산란 감쇠물질은 산란을 일으키는 입자(scattering particle)의 밀도(density)와 분포의 변형(modification)을 가져오고 해당 입자의 모양과 크기의 변형, 상대적인 굴절률(refractive index)의 변화로 인해 해당 조직의 산란정도를 변화시킨다. 또한 각기 다른 종류의 광 산란 감쇠물질들을 동시에 사용하여 효과를 더욱 증가시키거나 줄이는 것이 가능하다. Vargas *et al.*(1999)이 그림 5와 같이 처음 글리세롤을 이용하여 생체조직에 optical tissue clearing 효과를 보고하였고 글리세롤과 같은 hyperosmotic clearing agent가 조직 내에서 광 산란현상을 감소시키면서 결과적으로 굴절률정합 환경을 조성하여 생체조직의 광 투과도를 개선한다는 결과를 보고하였다. 현재까지 제시되고 있는 작용 기전은 피부의 탈수(skin dehydration), 콜라겐 해리(collagen dissociation), 그리고 이들의 복합적 작용이다[16, 24]. 이런 작용 기전에 대해서 Rylander *et al.*(2006)은 그림 6과 같이 피부의 탈수(skin dehydration)가 광 산란 감쇠물질의 tissue optical clearing 효과의 가장 주요한 기전이라고 보고하였고, A. T. Yeh *et al.*(2003)은 그림 7과 같이 광 산란 감쇠물질 적용으로 인한 원상태로 되돌아가는 것이 가능한 콜라겐 구조의 변화와 콜라겐 크기의 변화가 가능한 기전이라고 보고하였다. 최근에는 Yoon *et al.*(2008) 및 Kang *et al.*(2008)이 hyperosmotic clearing agent, compression, micro-needling, 그리고 초음파의 복합적용이 생체조직 내에서 tissue optical clearing 효과를 최적화 시킬 수 있다는 보고를 하였으며 기타 여러 연구에서 광 산란 감쇠물질을 적용하여 생체조직 내 광 투과도를 개선하는 연구가 보고되고 있다[19-22].

2.4 생체조직에 압력인가시 광 특성 변화

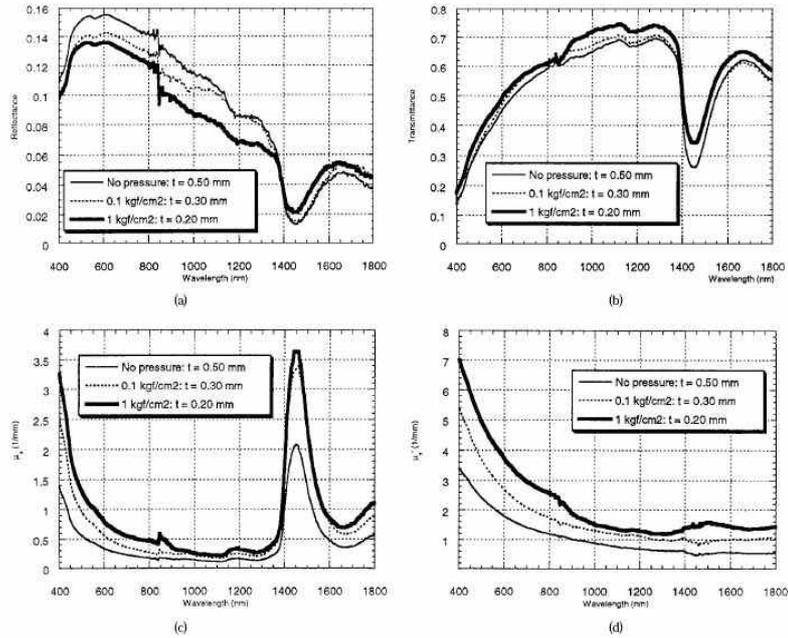


그림 9. 생체조직(caucasian skin)에 압력인가시 광 특성변화

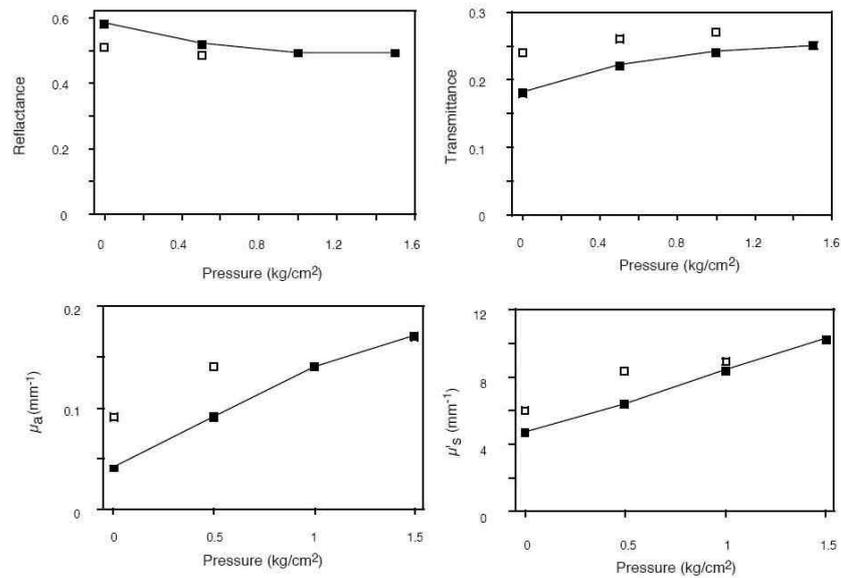


그림 10. 생체조직(porcine aorta)에 압력인가시 광 특성변화

그림 9와 10과 같이 생체조직에 압력을 인가하여 빛 투과도를 높이는 방법의 경우, 생체조직에 양압(positive pressure)을 인가하게 되면 생체 조직의 두께가 감소하게 되고 빛의 투과에 필요한 광 경로(optical pathlength)가 감소하게 되면서 광 투과가 증가하게 되고, 또한 양압으로 인해 세포간극(intercellular space)이 줄어들게 되면서 세포간 수분(intercellular water)이 감소하여 엘라스틴층(elastin layer)간의 공간이 감소하면서 결과적으로 굴절률정합에 가까운 환경을 조성하게 되어 tissue optical clearing의 효과를 보이는 것으로 알려져 있다[7, 28]. Shangguan *et al.*(1998)은 그림 10과 같이 생체조직에 양압($0 \sim 1.5 \text{ kg/cm}^2$)을 인가하였을 때 광 흡수계수 및 광 산란계수가 증가하는 결과와 이러한 광 특성들의 비가역성(irreversibility)을 보고하였고, 이 논문의 실험결과에서는 양압인가시 전반적인 광 투과도 증가와 조직의 두께가 72% 감소, 질량이 40% 감소하는 결과를 보고하였다. 최근에는 생체조직에 양압을 인가하였을 때의 tissue optical clearing효과를 정량화하거나 다양한 다른 방법들과 병행하여 최적의 효과를 도출하는 연구가 진행되었다 [20, 22].

2.5 생체조직에 펄스모드 레이저 조사시 광 특성 변화

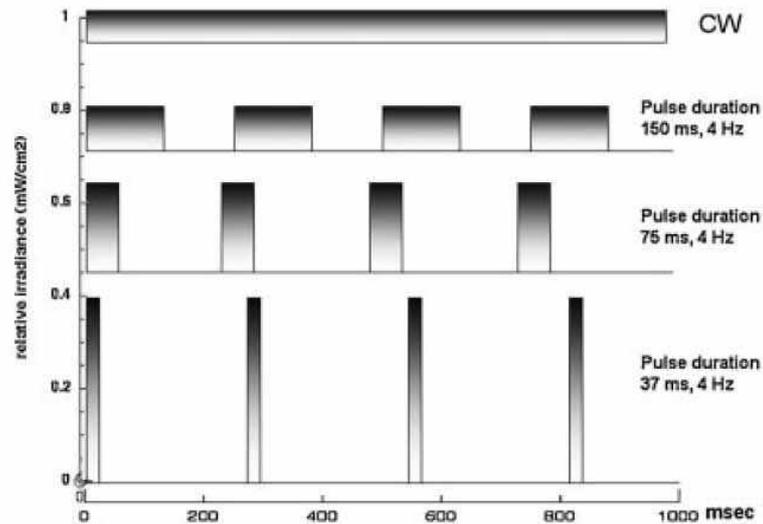


그림 11. 펄스모드 레이저 조사시 상대적 irradiance(mW/cm^2) 변화 비교

그림 11과 같이 생체조직에 레이저를 펄스형태(pulse wave)로 조사하게 되면 연속파형태(continuous wave)에 비해 광 투과깊이가 증가하게 되는데 이것은 간단한 예로 설명이 가능하다. 예를 들어, 동일한 평균과위를 가지고 있고, 광자(photon)의 에너지가 흡수될 목표 조직(target tissue)에 어떠한 생물학적 효과(biological effect)를 나타나게 하기 위해서 필요한 임계 전력 밀도(threshold power density)를 $10 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 라고 가정하고, 조직 내 광이 투과할 때 1cm당 90%의 손실이 일어나고 10%만 도달한다고 가정한다. 이 때 만약 레이저가 연속파 형태로 피부조직에 $100 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 가 조사된다면, 가정에 의해서 피부 밑 1cm지점에서는 $10 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 가 도달하게 되고 연속파모드일 때 생물학적 효과를 기대할 수 있는 광 투과 깊이는 1cm가 된다. 하지만 10 ms, 1 Hz 펄스모드로 조사하게 된다면 이 조건에서 duty cycle은 $1 \text{ Hz} \times 0.01 \text{ s} = 0.01$ 이 되고 조직에 $100 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 를 조사하게 되

면 최고점 전력 밀도(peak power density)는 $\text{peak power} = \text{average power} / \text{duty cycle} = \text{average power} \times 100$ 에 의해 연속파 형태로 조사할 때 보다 순간적으로 100배가 되면서 $10\text{W}/\text{cm}^2$ 의 전력 밀도를 가지게 되고, 1 cm지점에서는 $1\text{W}/\text{cm}^2$, 2 cm지점에서는 $100\text{mW}/\text{cm}^2$, 3 cm에서는 $10\text{mW}/\text{cm}^2$ 가 된다. 따라서 펄스모드로 조사하게 되면 생물학적 효과를 기대할 수 있는 유효 광 투과 깊이는 3cm로 연속파 형태일 때 보다 3배가 된다[14, 15]. 최근까지 레이저를 연속파 모드로 조사할 경우와 펄스 모드로 조사할 경우의 임상적 유효성 비교는 다양한 연구결과가 보고되고 있으나 명확히 검증되지 않았다[14].

제 3 장 설계된 레이저 프로브 및 시스템과 실험 방법

3.1 설계된 레이저 프로브 및 시스템

설계된 tissue optical clearing이 가능한 레이저 프로브는 압력인가형과 온도제어형 크게 두가지 형태를 가지고 있으며, 압력인가형 레이저 프로브는 생체조직에 특정 양압력을 유지하면서 광섬유를 통하여 특정과장 및 세기의 레이저를 조사할 수 있으며, 온도제어형 레이저 프로브는 압력인가형 프로브와 유사한 구조를 가지고 있으면서 생체조직의 특정부위에 특정온도를 제어하면서 레이저를 조사할 수 있도록 구성되었다. 또한 해당 프로브의 레이저 변수, 압력 변수, 온도 변수를 제어할 수 있도록 시스템이 설계되었으며, 레이저 변수 중에는 레이저의 펄스 모드 조사를 위한 부분이 포함되어 있다. 생체조직에 광 산란 감쇠물질의 적용은 주사기를 이용한 주입방식을 선택하였다.

3.1.1 압력인가형 레이저 프로브

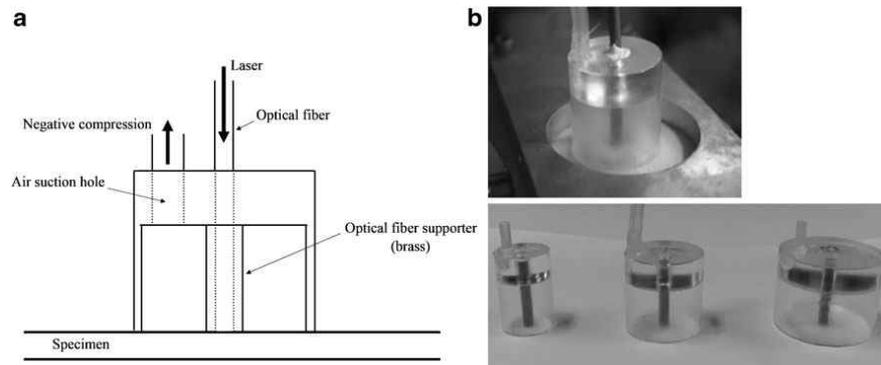


그림 12. 압력인가형 레이저 프로브 구조(a), 프로브의 생체조직 적용모습(b, 상), 다양한 구경(20 \emptyset , 30 \emptyset , 40 \emptyset)의 프로브(b, 하)

압력인가형 레이저 프로브는 그림 12(a)와 같이 압력을 인가하기 위한 공기 흡입구, 압력이 인가될 때 광섬유를 지지하기 위해 황동으로 제작된 광섬유 지지대, 광섬유가 위치하는 공간, 아크릴 재질로 제작된 프로브 가이드로 구성되어 있다. 그림 12(b)와 같이 생체조직에 특정 압력을 인가함과 동시에 레이저를 조사하도록 설계되어 있으며, 또한 프로브의 구경을 20 \emptyset , 30 \emptyset , 40 \emptyset 로 다양화하여 생체조직에 압력이 가해지는 면적을 달리 할 수 있도록 설계하였다. 또한 공기 흡입구를 통하여 생체조직에 인가되는 압력은 음압이지만, 프로브 중앙에 고정되어 있는 광섬유 지지대로 인해 상대적으로 레이저 조사 부위에 가해지는 압력은 양압이 되어 기존의 연구들[7, 28]에서 보고한 연구결과와 같이 생체조직에 양압이 가해질 때 기대할 수 있는 조직 형태학적인 변화가 일어나도록 설계되었다.

3.1.2 온도제어형 레이저 프로브

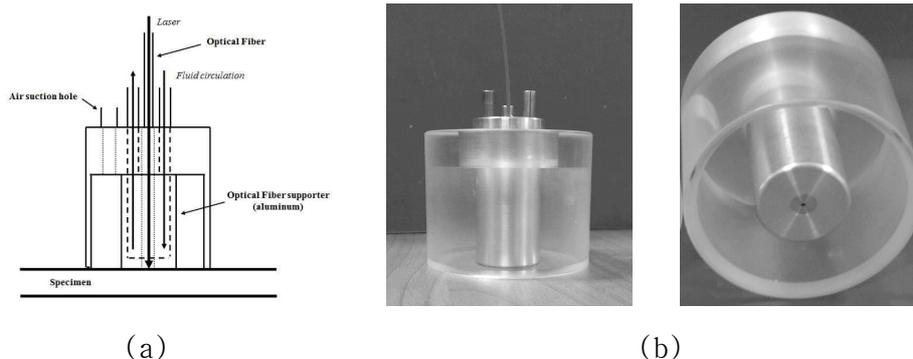


그림 13. 온도제어형 레이저 프로브 구조(a), 프로브 실제 외관(b)

온도제어형 레이저 프로브는 그림 13(a)와 같이 압력을 인가하기 위한 공기 흡입구, 레이저가 조사되는 특정 생체조직 부위의 온도제어를 위한 알루미늄 지지대, 광섬유가 위치하는 공간, 아크릴 재질로 제작된 프로브

가이드로 구성되어 있으며, 온도제어를 위한 알루미늄 지지대의 경우, 그림 13(a)와 (b)에서 확인할 수 있듯이 특정온도를 가진 유체가 알루미늄 지지대의 내부로 순환하게 되면서 지지대와 닿아있는 특정 생체조직 부위의 온도가 제어되는 원리이다.

3.1.3 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템

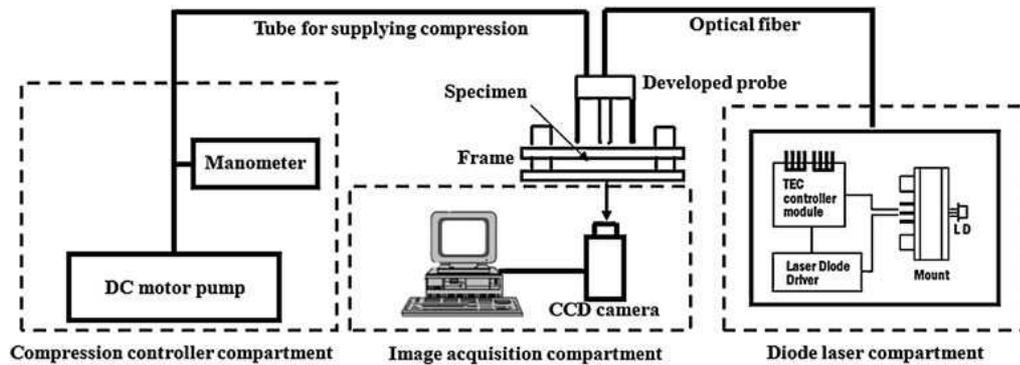


그림 14. 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템 구성도

그림 14와 같이 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템을 구성하였으며, 위 시스템은 생체조직에 특정압력(0 kPa ~ -30 kPa)을 인가 및 유지하면서 동시에 특정 위치에 레이저 조사가능하도록 설계되었으며 생체조직을 투과한 광 투과패턴을 확인하기 위한 확산 이미지를 CCD 카메라로 획득하였다. 위 시스템에 사용된 레이저 프로브는 그림 12의 압력인가형 레이저 프로브이고, 전체 시스템은 크게 세 부분으로 구성되어 압력제어부, 영상획득부, diode laser 발진부로 나뉘며, 먼저 압력제어부의 경우 12V DC motor pump(KPV36E-12A, KOGE Electronics, Xiamen, China), 음압 압력센서로 구성되어 있으며 제어에

따라 프로브 내의 압력을 0 ~ -30 kPa의 범위에서 -5 kPa 단위로 설정 및 유지가 가능하다. diode laser 발진부의 경우 근적외선 영역의 200 mW 최대출력이 가능한 808 nm diode laser(L808P200, Thorlabs, Kansas, USA), aspheric lense(C570TM-B, A230TM-B, Thorlabs, Kansas, USA), optical fiber port(PAF-SMA-11-B, Thorlabs, Kansas, USA), diode laser mount(LDM21, Thorlabs, Kansas, USA), TEC controller(TCM1000T, Thorlabs, Kansas, USA), laser diode driver(IP500, Thorlabs, Kansas, USA), multi-mode optical fiber patch cord(FT1.5EMT, Thorlabs, Kansas, USA)로 구성되어 있다. 마지막으로 영상획득부의 경우 확산영상(diffusion image)을 CCD 카메라(cs8620i, Toshiba Teli Corp, Tokyo, Japan)로 획득하였으며, C-mount를 장착하여 29.9° (H) × 22.6° (V)의 field of view를 가지고 있으며, 8.4 × 9.8 μm pixel size를 가지는 768(H) × 494(V) pixel 크기의 detector를 가지고 있다. 또한 영상획득부에서 생체조직의 온도변화 측정을 위해 CCD 카메라 위치에 열화상 카메라를 대체하였으며, 열화상카메라(Thermovision A40, FLIR Systems, Boston, MA, USA)는 1.3 mrad의 공간해상도, 35 mm 렌즈를 장착하였을 때 24 × 18° / 0.3 m의 field of view를 가지고 있으며 측정가능 온도범위는 -40°C ~ +500°C(0.08°C)이다. 위 시스템을 이용한 특정압력 인가시 광 투과패턴 변화측정 실험에서 사용한 광원 출력세기는 134 mW 이며 광섬유 끝단에서 생체조직에 조사한 광 출력세기는 43 mW 이다.

3.1.4 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법 적용시 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템(펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란감쇠물질 주입)

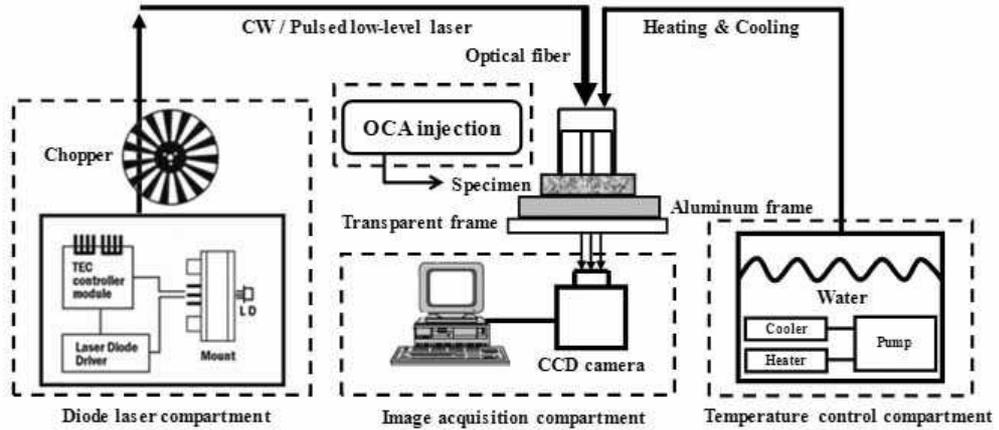


그림 15. 생체조직에 레이저 펄스모드 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입에 따른 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템 구성도

그림 15와 같이 생체조직에 레이저 펄스모드 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란감쇠물질 주입 적용시 각기 혹은 복합적용에 따른 광 투과패턴 변화 측정을 위한 시스템을 구성하였으며, 위 시스템에 사용된 레이저 프로브는 그림 13의 온도제어형 레이저 프로브이고, 기본적인 시스템 구성은 그림 14의 시스템과 동일하지만 펄스모드 레이저 조사를 위하여 diode laser 발진부에서 광섬유에 laser beam을 집광하기 전에 optical chopper(SR540, Stanford Research Systems, California, USA)를 이용하여 펄스모드 레이저 조사가 가능하도록 하였으며, 실험시 광 확인이 용이한 가시광 영역의 660 nm laser diode(HL6545MG, Thorlabs, Kansas, USA)를 사용하였고 광원의 특성 및 시스템 설계에 맞는 0.39 NA SMA type multi-mode optical fiber patch cord(FT400EMT, Thorlabs, Kansas, USA)

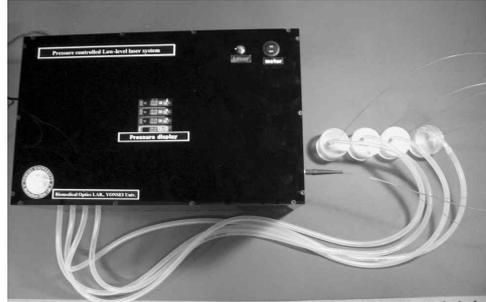
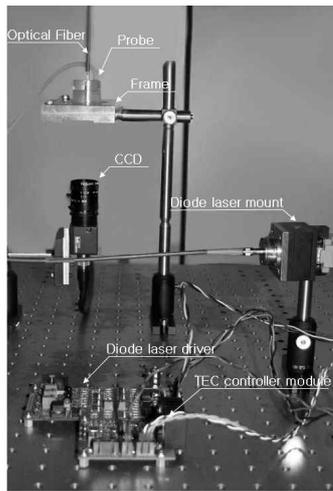
및 aspheric lense(C280TM-B, A240TM-B, Thorlabs, Kansas, USA)를 선정하였다. 영상획득부에서는 펄스모드 레이저 조사시 생체조직의 확산영상 획득을 위하여 60frames/sec 촬영이 가능한 CCD camera(XC-HR57, Sony, Tokyo, Japan)를 선정하였으며 $9.9 \times 9.9 \mu\text{m}$ pixel size를 갖는 648(H) \times 494(V)의 XGA resolution을 가지고 있다. 압력제어를 위한 그림 14의 시스템과는 달리, 그림 15의 시스템에서는 생체조직의 온도제어를 위한 온도제어부가 있으며 그림 13의 온도제어형 레이저 프로브에 특정온도의 유체를 공급하기 위하여 유체의 특정온도 유지가 가능한 항온순환수조(RW-0545G, Jeio-tech, Daejeon, Republic of Korea)를 사용하여 $10^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$ 로 제어하였다. 글리세롤의 적용은 95% 글리세롤을 사용하였으며, 레이저 조사부위의 빠른 tissue optical clearing 효과를 위하여 주사기를 이용한 주입방식을 선택하였다.

3.2 실험 방법

3.2.1 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 정량화

압력인가시 생체조직내 레이저의 투과패턴에 미치는 영향을 알아보기 위하여 그림 14의 설계된 시스템과 그림 12의 압력인가형 레이저 프로브를 이용하여, 전체적으로 돼지피부를 샘플 고정판(frame)에 고정하고 레이저 프로브에 음압 인가 후 광섬유를 통하여 레이저를 생체조직에 조사하게 되고 하단의 CCD 카메라는 돼지피부를 투과한 레이저의 확산영상(diffusion image)을 획득하도록 하였다. 그림 16은 그림 14의 설계된 시스템의 실제 구성 모습으로 영상획득부와 diode laser 발진부(a) 및 압력제어부(b)를 보여주고 있다.

실험 결과의 신뢰성 확인을 위해 총 5회의 반복실험을 진행하였으며 압력인가형 레이저 프로브에 인가된 압력은 0 kPa ~ -30 kPa의 범위를 -5 kPa 단위로 제어하도록 하였다. 압력인가시, 압력에 대한 조직 광학적 특성은 비가역적이므로(irreversible)[28] 압력적용 및 확산영상획득을 순차적으로 진행하도록 하였고, 생체조직에 압력이 가해지는 면적에 따른 조직 형태학적 변화로 인한 광 투과패턴 변화를 보기 위하여 레이저 프로브의 직경을 20 mm, 30 mm, 40 mm로 다양화하여 생체조직에 동일한 실험방법으로 적용/비교하였다. 광 확산영상의 분석은 matlab 프로그램을 사용하였으며, 레이저 빔 프로파일의 peak intensity 및 반폭치(full width at half maximum(FWHM))를 상호 비교하였다. 실험이 진행되는 동안 실험실 내의 온도는 16.19℃를 유지하였다.



(a) 실험시스템 구성 (b) 4채널 특정압력인가 시스템

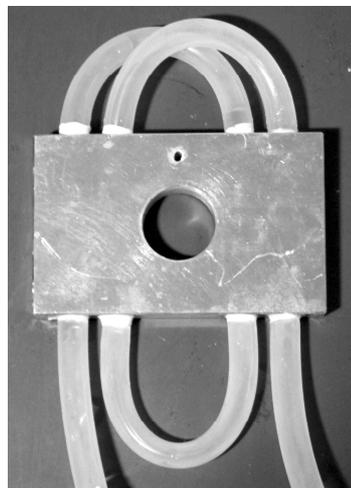
그림 16. 돼지피부에서 레이저 투과패턴 측정을 위한 시스템 구성

3.2.2 생체조직의 온도변화에 따른 광 투과패턴 변화 정량화

생체조직의 온도변화시 생체조직내 레이저의 투과패턴에 미치는 영향을 알아보기 위하여 그림 15의 설계된 시스템과 그림 17(a)의 열전도율이 높은 알루미늄으로 제작된 샘플 고정판을 이용하여, 전체적으로 돼지피부를 샘플 고정판에 고정하고 그림 13의 온도제어형 레이저 프로브 내에 삽입된 광섬유를 통하여 레이저를 생체조직에 조사하게 되고 하단의 CCD 카메라는 돼지피부를 투과한 레이저의 확산영상(diffusion image)을 획득하도록 하였다. 이때 생체조직의 온도는 레이저 프로브를 통하여 제어되는 것이 아니라 알루미늄으로 제작된 샘플 고정판으로 제어하였고 이것은 이후의 온도제어형 레이저 프로브로 생체조직의 온도를 변화시킨 실험 결과와 비교/분석하기 위함이다.

실험 결과의 신뢰성 확인을 위해 총 5회의 반복실험을 진행하였고, 그

림 17(b)의 저온 항온순환수조(accuracy $\pm 0.05^{\circ}\text{C}$ at -10°C , $-25^{\circ}\text{C} \sim 150^{\circ}\text{C}$)에 연결된 알루미늄 고정판에서 제어된 온도는 $40^{\circ}\text{C} \sim 10^{\circ}\text{C}$ 범위에서 -10°C 단위로 조직의 온도를 감소시켰으며 생체조직의 온도변화는 디지털 온도계로 재확인하였다. 광 확산영상의 분석은 matlab 프로그램을 사용하였으며, 레이저 빔 프로파일의 반폭치(full width at half maximum(FWHM))구간에서의 total intensity를 상호 비교하였다. 실험이 진행되는 동안 실험실 내의 온도는 19°C 를 유지하였다.



(a) 알루미늄 고정판



(b) 항온수조

그림 17. 생체조직의 특정온도 유지를 위한 알루미늄 고정판 및 항온수조

3.2.3 생체조직에 펄스모드 레이저 조사시 광 투과패턴 변화 정량화

생체조직에 펄스모드로 레이저 조사시 생체조직내 레이저의 투과패턴에 미치는 영향을 알아보기 위하여 그림 15의 설계된 시스템과 그림 13의 레

이저 프로브를 이용하여, 전체적으로 돼지피부를 샘플 고정판에 고정하고 레이저 프로브 내에 삽입된 광섬유를 통하여 레이저를 생체조직에 조사하게 되고 이 때 그림 18과 같이 laser diode에서 나온 레이저 빔이 광섬유에 집광되기 전 optical chopper를 이용하여 레이저 펄스가 생성되게 된다. 하단의 CCD 카메라는 돼지피부를 투과한 레이저의 확산영상(diffusion image)을 획득하도록 하였다.

실험 결과의 신뢰성 확인을 위해 총 5회의 반복실험을 진행하였고, 생성된 레이저 펄스는 5 Hz ~ 30 Hz의 범위에서 5 Hz단위로 증가시키면서 생체조직에 조사되었으며, 광 확산영상 획득시 CCD 카메라의 광 포화(light saturation)를 피하기 위해서 광섬유 끝단에서의 광 출력은 10 mW로 조절되었다. 실험이 진행되는 동안 샘플의 온도는 샘플 하단의 알루미늄으로 제작된 특정온도가 유지되는 샘플 고정판에 의해서 20°C로 유지되었다. 광 확산영상의 분석은 matlab 프로그램을 사용하였으며, 레이저 빔 프로파일의 반폭치(full width at half maximum(FWHM))구간에서의 total intensity를 동일한 광 출력의 연속파 레이저(continuous wave laser)의 실험 결과와 상호 비교하였다. 실험이 진행되는 동안 실험실 내의 온도는 19°C를 유지하였다.

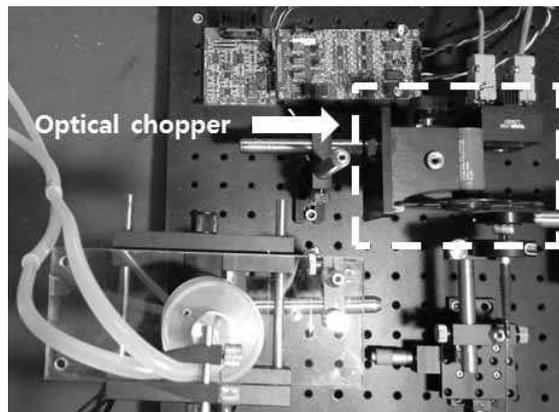
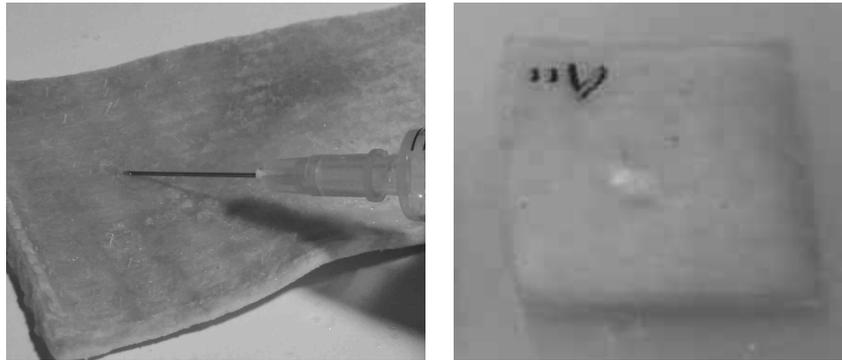


그림 18. 생체조직에 펄스모드 레이저 조사 및 투과패턴 측정 시스템

3.2.4 생체조직에 광 산란 감쇠물질 주입시 광 투과패턴 변화 정량화

생체조직에 광 산란 감쇠물질(optical clearing agent) 주입 시 생체조직내 레이저의 투과패턴에 미치는 영향을 알아보기 위하여 그림 15의 설계된 시스템과 그림 13의 레이저 프로브를 이용하여, 전체적으로 돼지피부를 샘플 고정판에 고정한 뒤 레이저 프로브 내에 삽입된 광섬유를 통하여 레이저를 생체조직에 조사하여 하단의 CCD 카메라에서 돼지피부를 투과한 레이저의 확산영상(diffusion image)을 획득하도록 하였다. 이 때, 실험 결과의 비교를 위하여 주입 전 확산 영상을 획득한 뒤 주입 직후 획득한 확산 영상과 비교하였다.

실험 결과의 신뢰성 확인을 위해 총 5회의 반복실험을 진행하였고, 실험에 사용된 광 산란 감쇠물질은 글리세롤을 사용하였으며 농도는 95%이다. 실험이 진행되는 동안 샘플의 온도는 샘플 하단의 알루미늄으로 제작된 특정온도가 유지되는 샘플 고정판에 의해서 20°C로 유지되었다. 광 확산영상 획득시 CCD 카메라의 광 포화(light saturation)를 피하기 위해서, 광섬유 끝단에서의 광 출력은 10 mW로 조절되었다. 광 확산영상의 분석은 matlab 프로그램을 사용하였으며, 레이저 빔 프로파일의 peak intensity와 반폭치(full width at half maximum(FWHM))구간에서의 total intensity를 분석하여 광 산란 감쇠물질 전후의 광 투과패턴을 비교하였다. 실험이 진행되는 동안 실험실 내의 온도는 19°C를 유지하였다.



(a) 주사기를 이용한 주입 (b) 주입 후 생체조직

그림 19. 생체조직에 광 산란 감쇠물질 주입

3.2.5 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법(펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란감쇠물질 주입) 복합 적용시 광 투과패턴 변화 정량화

생체조직에 Tissue Optical Clearing 효과를 최적화시키기 위하여 선행된 개별실험들(펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란감쇠물질 주입)에서 도출된 최적 제어변수들을 복합적으로 제어하였을 때, 생체조직내 레이저의 투과패턴에 미치는 영향을 알아보기 위하여 그림 15의 설계된 시스템과 그림 13의 레이저 프로브를 이용하였다. 실험 전체적으로는 돼지피부를 샘플 고정판에 고정한 뒤 레이저 프로브 내에 삽입된 광섬유를 통하여 레이저를 생체조직에 조사하여 하단의 CCD 카메라에서 돼지피부를 투과한 레이저의 확산영상(diffusion image)을 획득하도록 하였고, 세부적으로는 개발된 레이저 프로브를 이용하여 1) 대조군으로 사용하기 위해서 연속파 레이저를 생체조직(40℃)에 조사하였을 때 광 확산영상을 획득하고 2) 펄스모드 레이저(5 Hz)를 생체조직(40℃)에 조사하였을 때 광

확산영상을 획득하고 3) 연속파 레이저를 조사하고 95% 글리세롤을 생체조직(40℃)에 주입하였을 때 광 확산 영상을 획득하고 4) 연속파 레이저를 조사하고 생체조직의 온도를 40℃에서 10℃로 냉각하였을 때 광 확산영상을 획득한 뒤, 마지막으로 5) 최적의 제어변수들(10℃, 5 Hz, 95% 글리세롤 주입)을 복합 적용하였을 때 광 확산 영상을 획득한다.

실험 결과의 신뢰성 확인을 위해 총 5회의 반복실험을 진행하였고, 실험이 진행되는 동안 레이저가 조사되는 부위의 샘플 온도는 그림 13의 레이저 프로브 내에 위치한 알루미늄 지지대를 이용하여 특정 온도로 제어되었다. 광 확산영상 획득시 CCD 카메라의 광 포화(light saturation)를 피하기 위해서 광섬유 끝단에서의 광 출력은 10 mW로 조절되었다. 광 확산영상의 분석은 matlab 프로그램을 사용하였으며, 레이저 빔 프로파일의 peak intensity와 반폭치(full width at half maximum(FWHM))구간에서의 total intensity를 분석하여 레이저 프로브를 이용한 개별 변수 제어 및 복합 변수 제어시 광 투과패턴을 상호 비교하였다. 실험이 진행되는 동안 실험실 내의 온도는 19℃를 유지하였다.

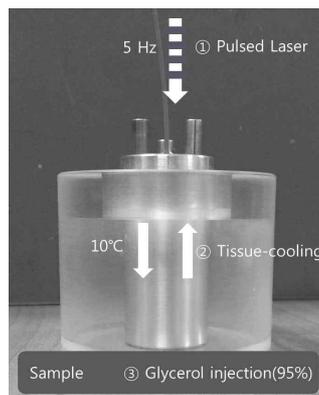
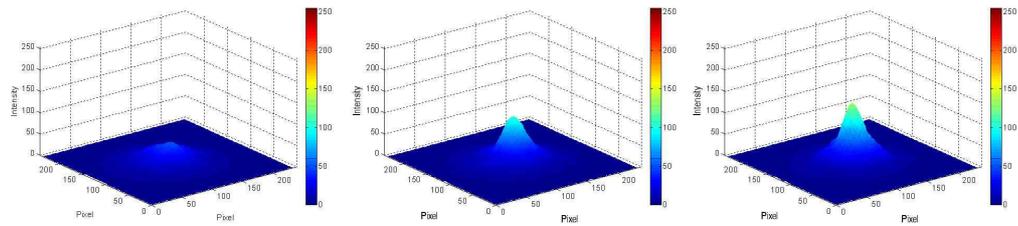


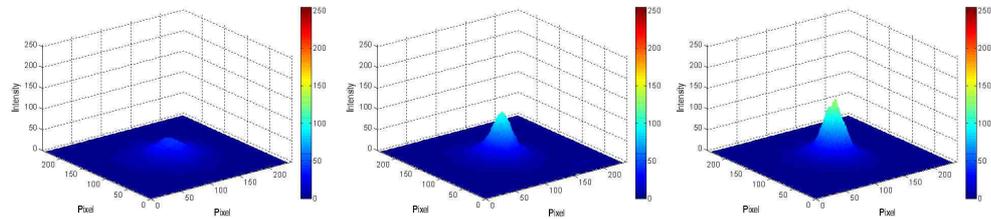
그림 20. 온도제어형 레이저 프로브를 이용한 Tissue Optical Clearing 제어변수 복합적용 (펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입)

3.3 실험 결과

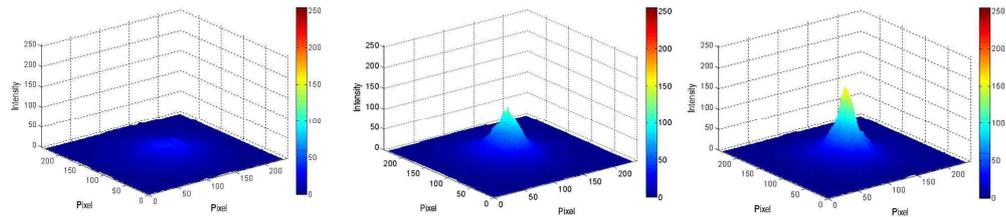
3.3.1 생체조직에 특정압력인가에 따른 광 투과패턴 변화 정량화 결과



(a)



(b)



(c)

그림 21. 생체조직에 인가된 압력단계별(0 kPa(좌), -15 kPa(중), -30 kPa(우)) 압력인가형 레이저 프로브 직경(20 \emptyset (a), 30 \emptyset (b), 40 \emptyset (c))에 따른 3차원 레이저 빔 프로파일 변화

그림 21은 압력인가형 레이저 프로브를 이용하여 생체조직에 0 kPa, -15 kPa, -30 kPa의 압력을 인가하였을 때 생체조직을 투과하는 레이저 빔 프로파일을 3차원으로 분석한 것으로 레이저 프로브의 직경을 20 \emptyset , 30 \emptyset , 40 \emptyset 로 다양화하여 생체조직에 압력이 가해지는 면적에 따른 광 투과패턴 변화 결과도 상호 비교할 수 있다. 그림 21에서 생체조직의 복잡한 조직 형태학적인 구조와 비균질성(non-homogeneity) 때문에 생체조직을 투과한 레이저 빔이 이방성(anisotropic)의 패턴을 보이지만, 3차원 분석을 통해 생체조직에 인가하는 압력을 증가시킬 때 생체조직을 투과하는 레이저의 광 밀도(laser photon density) 역시 증가하였음을 직관적으로 보여주고 있다. 또한 다양한 레이저 프로브의 직경(20 \emptyset , 30 \emptyset , 40 \emptyset)으로 생체조직에 압력이 가해지는 면적을 달리하였을 경우 생체조직에 압력이 가해지는 면적이 증가할 수 록 투과되는 레이저의 광 세기 역시 증가하였고, 하나의 직경에서 생체조직에 가해지는 압력 증가시 생체조직 내에서 레이저 빔이 더욱 더 집광되는 결과를 보여주고 있으며, 직경이 증가할 수 록 집광되는 정도가 증가되는 것을 직관적으로 확인할 수 있다.

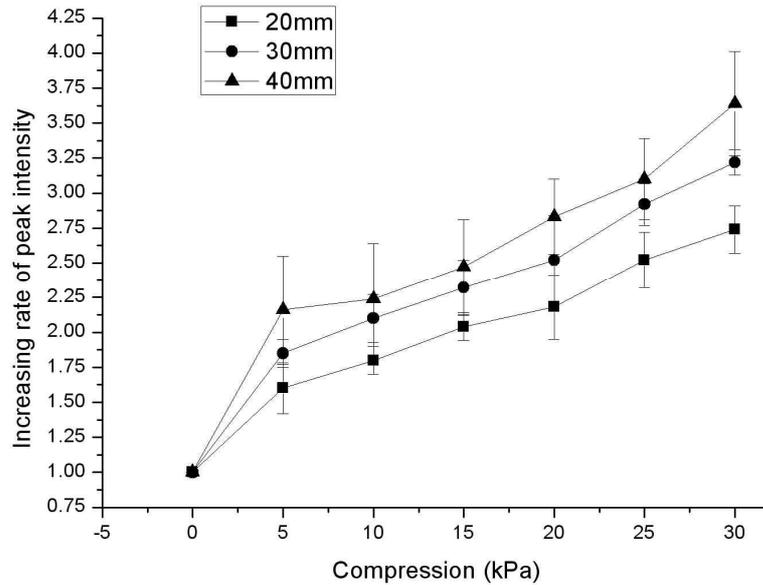


그림 22. 생체조직에 인가된 압력단계별(0 ~ -30 kPa) 압력인가형 레이저 프로브 직경에 따른 생체조직을 투과한 광 최대세기 비교

획득한 광 확산영상으로 분석한 그림 21의 3차원 레이저 빔 프로파일에 서 확인할 수 있었던 생체조직에 특정 압력인가에 따른 광 투과패턴 변화를 그림 22와 같이 생체조직에 인가하는 압력범위 0 kPa ~ -30 kPa에서 -5 kPa단위로 증가시켰을 때 생체조직을 투과한 최대 광 세기(light peak intensity)의 정량화된 증가율을 얻을 수 있었고, 각기 인가된 특정 압력에서 설계된 압력인가형 레이저 프로브의 다양한 직경(20 \emptyset , 30 \emptyset , 40 \emptyset)에 따른 광 세기의 변화도 정량적으로 분석하였다. 생체조직을 투과한 최대 광 세기는 -30 kPa의 압력인가시, 0 kPa에서 획득한 광 확산영상을 기준으로 프로브의 직경 20 \emptyset 에서는 2.74배, 30 \emptyset 에서는 3.22배, 40 \emptyset 에서는 3.64배 증가하였다.

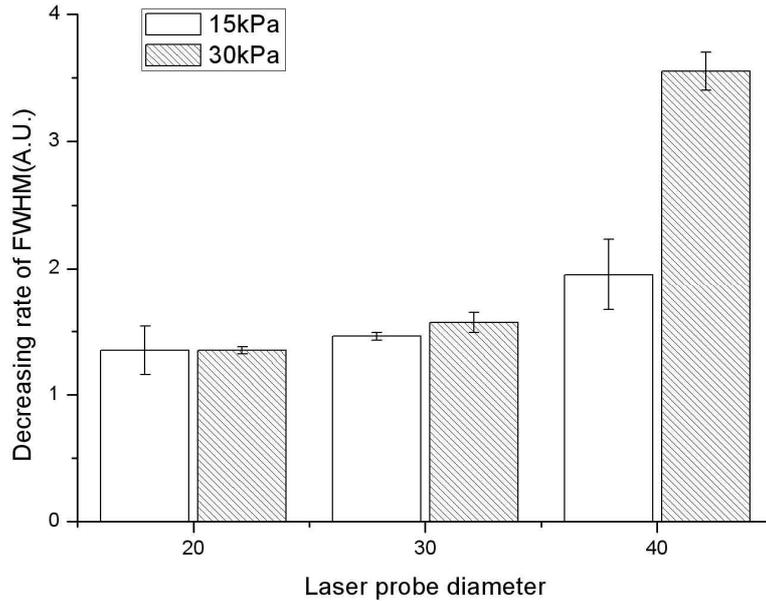


그림 23. 압력인가형 레이저 프로브 직경에 따른 레이저 빔 프로파일 반폭치(FWHM) 감소 비교(-15 kPa, -30 kPa)

또한 그림 21의 3차원 레이저 빔 프로파일에서 확인할 수 있었던 것과 같이, 특정 직경의 레이저 프로브를 이용하여 생체조직에 가해지는 압력이 증가할 수록 생체조직 내에서 레이저 빔이 더욱 더 집광되는 결과와 각기 인가된 특정 압력에서 설계된 압력인가형 레이저 프로브의 직경이 증가할 수록 레이저 빔이 더욱 더 집광되는 결과를 그림 23과 같이 레이저 빔 프로파일의 반폭치(FWHM) 감소율로 정량적으로 분석하였다. 반폭치는 0 kPa에서 획득한 확산영상을 기준으로 프로브의 직경 20 \emptyset 에서는 1.35배, 30 \emptyset 에서는 1.57배, 40 \emptyset 에서는 3.55배 감소하였다.

3.3.2 생체조직의 온도변화에 따른 광 투과패턴 변화 정량화 결과

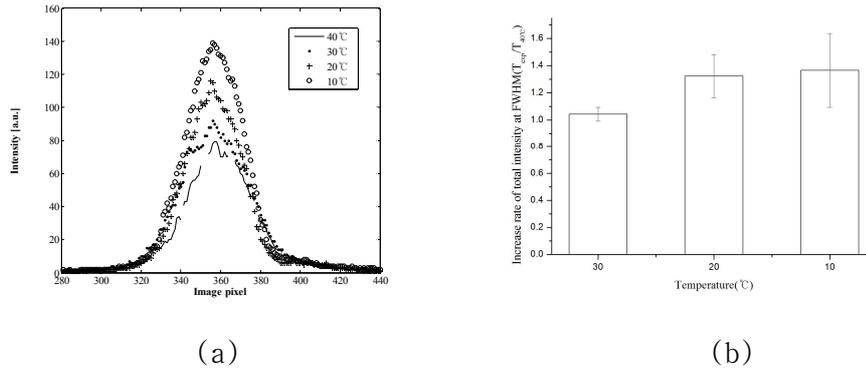


그림 24. 생체조직 온도 변화시 투과된 레이저 빔 프로파일 변화(a)와 레이저 빔 프로파일의 반폭치 구간에서의 total intensity 비교(b)

그림 24와 같이 생체조직의 온도를 40°C ~ 10°C의 범위에서 -10°C단위로 감소시켰을 때 생체조직을 투과한 레이저 빔의 광 확산영상을 정량적으로 분석한 결과, 그림 24(a)와 같이 조직의 온도를 감소시켰을 때 생체조직을 투과하는 광 세기가 증가하였으며 그림 24(b)와 같이 획득한 광 확산영상에서 레이저 빔 프로파일의 반폭치(FWHM) 구간에서의 total intensity를 분석하여 조직의 온도 40°C를 기준으로 하였을 때 total intensity의 증가율을 정량화하였다. 조직의 온도 40°C를 기준으로 30°C에서는 1.04배, 20°C에서는 1.32배, 10°C에서는 1.37배 total intensity의 증가를 보였다.

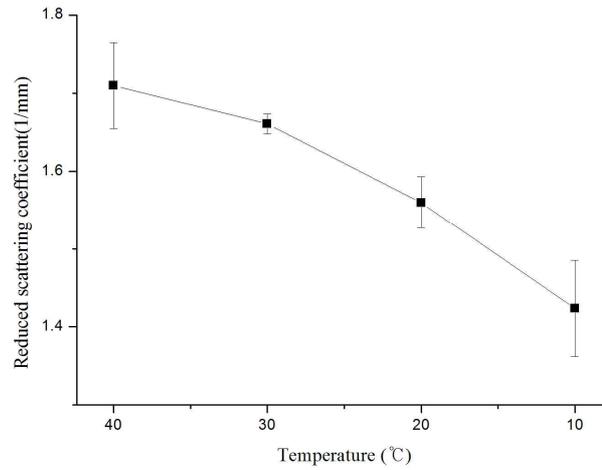


그림 25. 생체조직의 온도변화에 따른 환산 광 산란계수 변화

그림 25와 같이 생체조직의 온도를 40°C에서 10°C로 감소시켰을 때 생체조직의 환산 광 산란계수(reduced scattering coefficient, μ'_s) 변화를 보면, 40°C일 때 1.71 mm^{-1} , 30°C일 때 1.66 mm^{-1} , 20°C일 때 1.56 mm^{-1} , 10°C일 때 1.42 mm^{-1} 로써 생체조직의 온도를 감소시키면 μ'_s 또한 낮아지는 것을 정량적으로 확인할 수 있다.

3.3.3 생체조직에 펄스 모드로 레이저 조사시 광 투과패턴 변화 정량화 결과

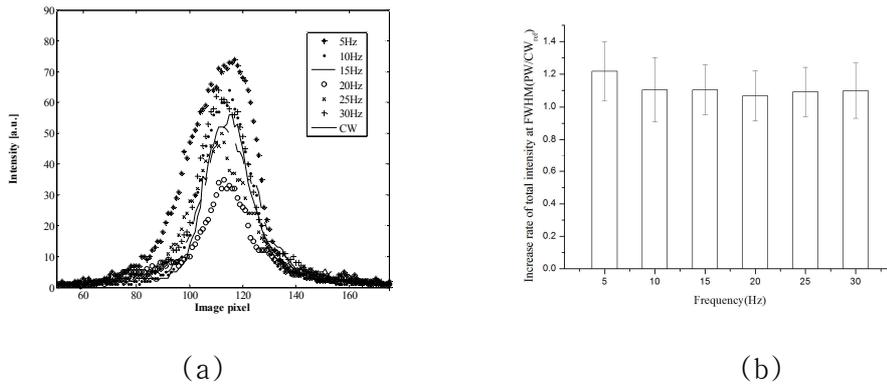


그림 26. 생체조직에 조사하는 레이저 펄스에 따른 투과된 레이저 빔 프로파일 변화(a)와 레이저 빔 프로파일의 반폭치 구간에서의 total intensity 비교(b)

그림 25와 같이 생체조직에 조사하는 레이저의 펄스를 5 Hz ~ 30 Hz 범위에서 5 Hz 단위로 제어하였을 때, 그림 25(a)의 2차원 레이저 빔 프로파일과 같이 생체조직을 투과하는 빔의 형태 및 최대 광 세기가 달라지는 것을 확인할 수 있고 그림 25(b)와 같이 레이저 빔 프로파일의 반폭치 구간에서의 total intensity가 연속과 레이저 조사시 획득한 광 확산영상을 기준으로 할 때 레이저의 펄스 5 Hz에서 1.22배, 10 Hz에서 1.11배, 15 Hz에서 1.10배, 20 Hz에서 1.07배, 25 Hz에서 1.09배, 30 Hz에서 1.10배 증가하였다.

3.3.4 생체조직에 광 산란 감쇠물질 주입(injection)시 광 투과패턴 변화 정량화 결과

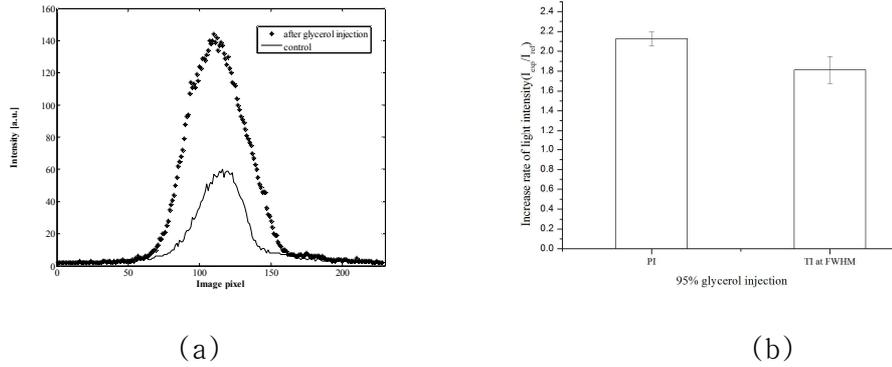


그림 27. 생체조직에 95% 글리세롤 주입시 레이저 빔 프로파일 변화(a)와 레이저 빔 프로파일의 peak intensity(PI)와 반폭치 구간에서의 total intensity(TI) 비교(b)

그림 27와 같이 생체조직에 95% 글리세롤 주입시 생체조직 내에서의 레이저 빔 프로파일 형태를 보면 주입 전에 비하여 peak intensity와 total intensity at FWHM이 현저히 증가한 것을 확인할 수 있으며, 그림 27(b)와 같이 생체조직에 글리세롤을 주입 전에 비하여 주입 후 peak intensity는 2.13배 증가하였고 total intensity at FWHM는 1.81배 증가하였다.

3.3.5 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법(펄스모드 레이저 조사, 생체조직 온도제어, 광 산란감쇠물질 주입) 복합 적용시 광 투과패턴 변화 측정 결과

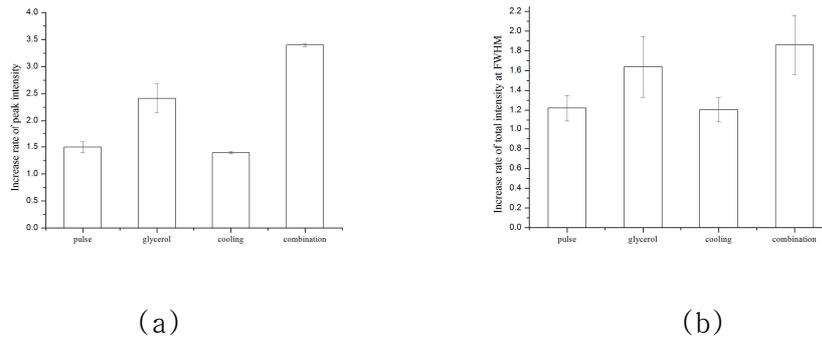


그림 28. 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법 각기 적용시와 복합 적용시 생체조직을 투과한 레이저 빔 프로파일의 peak intensity(a)와 total intensity at FWHM(b) 비교

그림 28의 실험 결과는 그림 20의 온도제어형 레이저 프로브를 이용하여 Tissue Optical Clearing 제어변수들, 즉 펄스모드 레이저 조사(5Hz), 생체조직 온도제어(10°C), 광 산란 감쇠물질(95% 글리세롤) 주입을 복합 적용하였을 경우, 레이저 프로브를 이용하여 각 방법들을 각기 적용하였을 경우와의 레이저 빔 프로파일에서 도출한 peak intensity와 total intensity at FWHM을 상호 비교한 결과이다. 본 실험의 대조군은 방법들을 각기 적용한 경우들 및 복합 적용한 경우 모두 동일한 대조군을 사용하였으며, 실험 샘플로 사용된 동일한 생체조직에 tissue optical clearing 방법을 적용하지 않은 상태에서 비교실험에 사용될 동일한 조건의 광원을 조사하여 얻은 결과를 기본으로 하였다. 그림 28(a)의 peak intensity는 펄스모드 레이저 조사(5Hz)의 경우 1.49배, 생체조직 온도제어(10°C)의

경우 1.39배, 95% 글리세롤 주입의 경우 2.41배, 마지막으로 앞의 방법들 복합 적용시 3.40배 증가하였다. 그림 28(b)의 total intensity at FWHM 은 펄스모드 레이저 조사(5Hz)의 경우 1.22배, 생체조직 온도제어(10℃)의 경우 1.21배, 95% 글리세롤 주입의 경우 1.64배, 마지막으로 앞의 방법들 복합 적용시 1.86배 증가하였다.

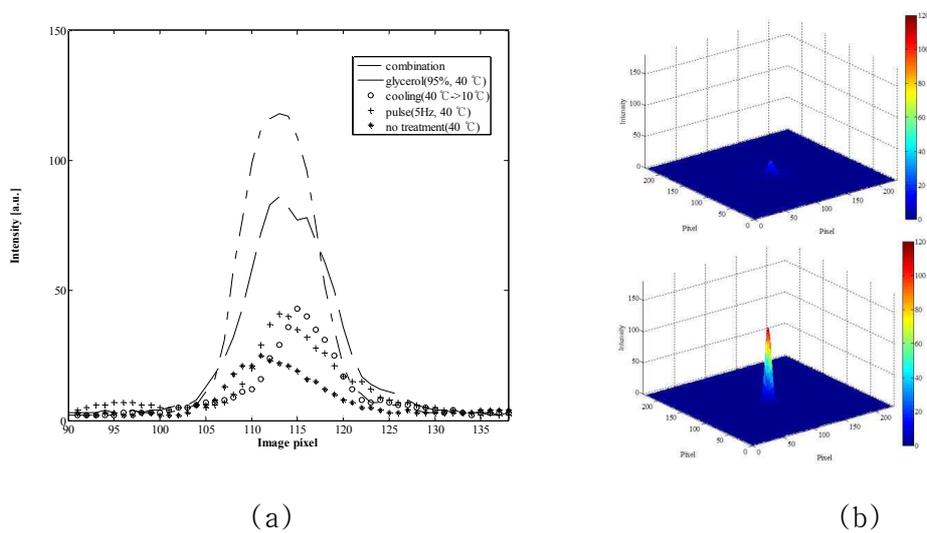


그림 29. 생체조직에 Tissue Optical Clearing 방법 각기 적용시와 복합 적용시 레이저 빔 프로파일 변화(a)와 복합적용시 3차원 레이저 빔 프로파일 비교(b, 대조군(상), 실험군(하))

그림 29(a)와 같이, 온도제어형 레이저 프로브를 이용하여 Tissue Optical Clearing 제어변수들을 복합 적용하였을 경우, 각기 적용하였을 경우와 함께 생체조직내 투과한 레이저 빔 프로파일의 형태를 비교하여 보면 각기 적용시보다 복합 적용시 생체조직내 레이저 빔의 투과도가 높아진 것을 직관적으로 확인할 수 있으며, 그림 29(b)와 같이 3차원 레이저 빔

프로파일에서도 대조군(b, 상)에 비하여 복합적용시(b, 하) 레이저 빔의 투과도가 증가하였음을 직관적으로 확인할 수 있다.

제 4 장 고 찰

현재 다양한 의료분야에서 활용되고 있는 레이저는 주요한 치료 수단으로서 비침습적(non-invasive)인 특성, continuous / pulse 모드 및 파장 선택성, 출력조절 용이성 등 다양한 장점들로 인하여 저출력 레이저 치료에 대한 관심이 증가되고 있으며, 다양한 연구 및 관련 의료장치들이 개발되고 있다. 그러나 현재 임상에서 활용되어 지고 있는 저출력 레이저 치료기를 예로 들 때, 프로브를 단순히 피부 표면에 부착 하거나 사용자가 프로브를 직접 제어하는 방식으로 사용되고 있기 때문에 피부에 레이저가 조사될 경우 생체조직에서 레이저의 산란현상으로 인하여 생체조직 내 투과도 및 집중도가 현저히 떨어져 심부조직에서 긍정적인 치료 효과를 기대하기 어렵다.

이런 한계를 극복하기 위해 진행되고 있는 많은 연구들, 즉 생체조직 내 광 투과도 및 광 밀도를 높이기 위한 Tissue Optical Clearing (TOC) 방법들 중, 본 논문에서는 광 산란 감쇠물질을 생체조직에 직접 주입하고, 양압력(positive pressure) 인가, 조직의 온도 제어, 레이저의 펄스모드 조사 등을 이용하여 각기 혹은 복합적인 적용을 통하여 조직심부에서의 광 밀도 향상 최적화를 목적으로 하였으며, 향상 정도를 정량화하고자 하였다. 또한 정량화를 위한 실험 진행을 위하여 위 TOC방법들의 정량적인 제어가 가능한 레이저 프로브 및 시스템을 개발하였으며 실제 레이저 치료 목적의 임상시술에서 실질적인 적용이 가능하다.

생체조직 온도제어의 경우, 40°C에서 10°C로 레이저가 조사되는 부위의 생체조직의 온도를 감소시켰을 때 생체조직의 μ'_s 은 1.71 mm^{-1} 에서 1.42 mm^{-1} 로 감소하였으며 μ_a 는 0.03 mm^{-1} 에서 0.04 mm^{-1} 로 증가하였다. 결과적으로 생체조직의 온도를 감소시켜 생체조직의 광 산란 현상이 주로 감소하

었는데 이것은 기존의 연구결과들에서 제시하였던 기전 중, 진피에서는 콜라겐 섬유 구조의 변경(modification) [10], 전체 층에서의 생체물질의 저하(degradation) [11], 세포 내액의 굴절률변화 [12] 등으로 설명가능하다.

생체조직에 광 산란 감쇠물질(글리세롤) 주입의 경우, 기존의 연구 결과들에서 제시되었던 기전 중, 광 산란 감쇠물질 적용에 따른 피부조직의 탈수(skin dehydration)와 콜라겐 해리(collagen dissociation)가 굴절률 정합(refractive index matching)에 가까운 환경을 조성하여 조직 내의 광 산란현상을 현저히 감소시키며 [16, 24], 본 연구에서는 주입(injection) 방법으로 광 산란 감쇠물질을 적용하여 레이저를 조사하는 특정 부위에만 TOC 효과를 보이도록 하였고, 단순 도포 및 다른 침습적인 방법(microneedling)에 비해서 TOC 효과가 보이는데 걸리는 시간을 단축하였다.

생체조직에 인가되는 압력제어의 경우, 생체조직에 양압력이 인가될 시 기존의 연구결과에서와 같이 세포형태학(tissue morphology)에서 세포의 변형(deformation)은 상피조직의 늘어남(stretching)과 두께감소(thinning), 혈관확장(blood vessel dilation), 혈관의 깊이(blood vessel depth)에 영향을 준다. 수학적 모델링 결과, 압력이 증가할수록 상피세포(epidermis)의 두께는 선형적으로 감소하였다[29]. 본 실험에서 실제 두께 변화를 측정하지는 않았으나, 위 결과에 기초하여 압력인가시 두께감소가 일어난다고 가정하였다. 음압인가시 그림 12(a)에서 실제 피부에 양압이 인가되는 가이드부분의 압력은 측정하지 않았으며 음압인가로 인한 샘플의 두께변화는 측정하지 않았다. 생체조직에 압력이 인가될 때 레이저의 투과도가 증가하는 이유는 조직 내 압력이 인가되면 세포사이의 공간이 감소하여 상피(epidermis)세포의 두께가 감소함으로써 빛의 이동경로가 줄어들고, 상피세포 아래의 조직에 더 많은 빛을 전달하게 된다. 또

한 단백질 섬유(collagen fibrils)에 있는 수분이 탈수현상(dehydration)을 일으켜 단백질(protein)과 뮤코다당(mucopolysaccharide)과의 결합이 증가되어, 조직내 세포들의 굴절률 정합(refractive index match)에 가까운 환경이 조성되어 결과적으로 투과율이 증가하게 된다[7, 28]. 본 연구의 압력인가 실험에서 레이저의 투과패턴이 변화하는 이유는 프로브 내에 인가된 음압이 결과적으로 광섬유를 포함하는 광섬유 지지대 밑의 생체조직에 양압을 인가하게 됨으로써 레이저가 조사된 생체조직에 이동경로 감소, 탈수현상, 굴절률 정합에 가까운 환경을 조성하게 되어 결과적으로 압력인가 전에 비해 압력인가 후 레이저 세기의 peak intensity가 증가하고, 반폭치가 감소하는 결과를 보인 것으로 설명 될 수 있다.

생체조직에 레이저를 펄스형태로 조사하는 경우, 서론에서 기술한 것과 같이 광원이 동일한 평균과위를 가지고 있다고 할 때 연속과 형태에 비해 펄스 형태로 조사할 경우 광 투과 깊이가 현저히 증가하게 되는데 이는 간단한 물리적인 설명으로 가능하며[14, 15], 최근까지 레이저를 연속과 형태로 조사하는 경우와 펄스 형태로 조사할 때의 상대적인 임상적 유효성을 다양한 연구에서 검증하고자 하였으나 현재까지 이뤄지지 않았다[14].

본 논문에서는 언급된 위 TOC 방법들(생체조직의 온도제어, 광 산란 감쇠물질의 주입, 생체조직에 양압인가, 레이저의 펄스모드 조사)의 효과를 각기 혹은 복합 적용시 생체조직내 광 투과 깊이 향상 및 광 밀도 향상에 대하여 객관화, 정량화하고자 하였으며 그 결과로서 그림 22와 같이 1) 생체조직에 압력단계별(0 ~ -30 kPa) / 압력인가 면적(직경 20 mm ~ 40 mm 프로브 적용)에 따른 생체조직을 투과한 광 최대세기(light peak intensity) 변화를 정량화하였으며, 그림 24와 같이 2) 레이저 조사부위의 생체조직온도 변화시(40°C ~ 10°C) 생체조직 내의 total intensity at FWHM의 변화를 정량화하였으며, 그림 26과 같이 3) 생체조직에 조사하는 레이저를 펄스형

태로 조사할 경우 생체조직 내의 total intensity at FWHM의 변화를 정량화하였으며, 그림 27과 같이 4) 생체조직에 광 산란 감쇠물질(95% 글리세롤) 주입시 생체조직 내의 total intensity at FWHM 및 peak intensity변화를 정량화하였으며, 마지막으로 1~4번의 기초실험에서 도출된 최적 제어변수를 복합 적용하기 위해 개발된 그림 13의 온도제어형 레이저 프로브를 적용하여 그림 28과 같이 5) 위의 언급된 TOC 방법들의 각기 실험에서 도출된 최적 제어변수(생체조직 온도제어(10℃), 레이저 펄스모드 조사(5 Hz), 95% 글리세롤 주입)를 적용하여 생체조직에 TOC 방법들의 복합적용시 생체조직 내의 total intensity at FWHM 및 peak intensity변화를 정량화하였다. 마지막 복합 적용시 생체조직에 양압력 인가를 병행하지 않은 것은 생체조직에 가해지는 압력으로 인한 조직의 변형으로 인하여 다른 TOC 방법들의 정확한 제어가 불가능해지고 광 산란 감쇠물질 주입 위치의 이동으로 인한 정확한 주입 전후의 TOC효과 비교가 불가능하며 압력인가 실험을 목적으로 하여 설계된 그림 12의 압력인가형 레이저 프로브에 비해 TOC 효과 복합적용을 목적으로 하여 설계된 그림 13의 온도제어형 레이저 프로브에서는 압력인가 전후의 생체조직의 위치이동으로 인하여 TOC 제어변수 적용 위치에서의 정확한 복합적용 전후 비교가 불가능한 것에 이유가 있으며, 이것은 차후 레이저 프로브의 형태 개선을 통하여 복합적용이 가능하도록 할 것이다.

현재까지 Tissue Optical Clearing (TOC) 방법들(생체조직의 온도제어, 광 산란 감쇠물질의 주입, 생체조직에 양압인가, 레이저의 펄스모드 조사)을 이용하여 생체조직 내 광 투과도 및 광 밀도를 높이기 위한 선행 연구들은 보고되고 있으나 임상에 적용하기 위한 정량화 연구는 미흡한 실정이며, 이를 위해 본 연구에서는 각 TOC 방법들의 생체조직에 대하여 각기 적용 및 복합 적용시 제어변수에 따른 생체조직내 광 밀도 향상을 정량화하

고자 하였으며, 정량적인 실험을 진행하기 위하여 그림 12 및 13과 같은 레이저 프로브를 설계하였으며 프로브를 통하여 제어변수들을 제어하기 위한 그림 14 및 15와 같은 제어 및 측정 시스템을 구성하였다. 구성된 시스템의 실질적인 외관은 그림 16 및 18과 같으며 이러한 시스템의 구성은 실제 임상에서의 적용 가능성이 높다.

생체조직에 압력단계별(0 ~ -30kPa) 및 압력인가 면적(직경 20 mm ~ 40 mm 프로브 적용)에 따른 생체조직을 투과한 광 최대세기(light peak intensity)변화를 측정한 실험에서는 생체조직에 압력인가와 레이저조사를 동시에 제어하기 위해 압력이 인가될 때 음압 제공을 위한 레이저 프로브의 밀폐성 및 프로브 가이드의 독립적 지지성을 확인하였다. 실험 전 샘플 고정판의 수평을 점검하여 레이저 조사시 입사각 변화에 따른 레이저세기 변화를 최소화하였다. 그림 22의 결과와 같이 초기 5kPa 압력 인가 후 급격한 레이저세기의 증가율이 공통적으로 관찰 되었는데 이는 이런 현상을 보이지 않는 다른 구간들에 비해 생체 조직의 변형이 급격히 일어나 변형에 따른 광학적 특성의 변화가 크게 일어났기 때문인 것으로 생각된다. 그림 21의 실험 결과는 본 연구에서 설계된 그림 12와 같은 레이저 프로브를 사용하여 저출력 레이저의 생체조직 내 투과되는 양상을 보여주고 있으며 압력인가 후의 반폭치 감소, 압력변위에 따른 레이저세기의 증가량의 정량화로 레이저의 투과패턴 최적화를 보여주고 있으며, 또한 압력인가시 조사되는 부위의 광 밀도가 증가하는 결과는 위 최적화 결과와 함께 현재 임상에서 적용되고 있는 저출력 레이저 치료기기에 적용가능성을 보여주었다. 또한 본 연구에서는 압력이 피부에 대한 레이저 조사에 미치는 영향을 보기위해, 개발된 프로브로 피부조직이 선형적으로 변형되는 조건인 0 kPa ~ 약 34 kPa의 조건 내에서 실험을 진행하였다[29].

레이저 조사부위의 생체조직온도 변화시(40℃ ~ 10℃) 생체조직 내의

total intensity at FWHM의 변화를 측정하는 실험에서는 생체조직의 비가역적 손상(irreversible damage)을 줄 수 있는 온도 영역을 피하여 0℃ ~ 45℃ 범위 내에서 설정하였고 설계된 그림 13의 온도제어형 레이저 프로브의 경우, 레이저가 조사되는 생체조직의 특정부위에만 온도가 제어되도록 하였으며 중심부의 광섬유를 통하여 생체조직에 특정 파장 및 출력의 레이저가 조사됨과 동시에 온도제어가 가능하도록 설계되었다.

본 연구에서 시도하고자 했던 것은 조직 광학적으로 생체조직의 상피 및 진피층 상부에서의 강한 산란현상과 이로 인한 감쇠현상으로 광자가 조직 깊이 투과하지 못하는 본질적인 한계점을 개선하여 생체조직 내 광 투과 효율성을 극대화시킬 수 있는 tissue optical clearing 방법들에 대하여 임상적용 가능성을 높이기 위한 정량적 분석을 진행하였고, 세부적으로는 생체조직에 양압인가, 레이저의 펄스모드 조사, 생체조직의 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입 등이다. 또한 정량적 분석을 위하여 각 제어변수의 적용이 가능한 레이저 프로브를 설계하였으며 해당 레이저 프로브의 제어변수들을 제어하기 위한 시스템을 설계하여 임상적용 가능성을 높였다. 임상적용시 설계된 레이저 프로브는 임상 적용 목적 및 적용되는 위치에 따라 다양한 크기의 레이저 프로브 가이드로 제작될 수 있으며 인가되는 압력 변수 이외에 레이저를 조사하는 광섬유 프로브의 직경(diameter) 및 형태(shape) 변화를 통해 레이저가 조사되는 영역 및 광밀도 제어가 가능하며 치료목적에 따라 다양한 펄스의 레이저 조사 및 생체조직의 특정온도 제어가 가능하다.

향후 연구 과제는 본 연구에서 설계된 레이저 프로브를 개선하여 임상 적용 가능성을 높이고, 본 연구에서 사용된 샘플인 porcine skin과 동일한 μ_a 와 μ'_s 의 optical phantom을 설계 후 동일한 실험조건 및 방법으로 *in-vitro* 연구를 진행하여 본 연구의 *ex-vivo* 연구결과와 비교/분석이 필

요하며 이를 통해 생체조직의 온도제어 및 레이저의 펄스모드 조사시 일어나는 생체조직의 광 특성변화에서 흡수 및 산란 인자가 미치는 영향을 제외한 다른 조직학적 기전에 대한 추가연구가 필요하며, 온도제어용 레이저 프로브를 이용하여 생체조직의 온도제어시 실제 생체조직의 진피층 및 내피층의 깊이(두께)에 따른 온도변화에 대한 추가연구가 필요하다.

제 5 장 결 론

현재까지, 조직 광학적으로 생체조직의 상피 및 진피층 상부에서의 강한 산란현상과 이로 인한 감쇠현상으로 광자가 조직 깊이 투과하지 못하는 본질적인 한계점을 개선하기 위하여 생체조직 내 광 투과 효율성을 극대화시킬 수 있는 방법으로서 생체조직에 양압인가, 레이저의 펄스모드 조사, 생체조직의 온도제어, 광 산란 감쇠물질 주입 등과 같은 tissue optical clearing 방법들이 제시되어 왔으며, 본 연구에서는 tissue optical clearing 방법들에 대하여 임상적용 가능성을 높이기 위한 정량적 분석을 진행하였다. 그 결과, 생체조직에 특정압력인가(0kPa ~ -30kPa)에 따른 광 투과패턴 변화를 정량화 하였으며, 생체조직의 온도변화(40°C~10°C)에 따른 광 투과패턴 변화를 정량화 하였으며, 생체조직에 펄스모드 레이저 조사시(5Hz~30Hz) 광 투과패턴 변화를 정량화 하였으며, 생체조직에 광 산란 감쇠물질 주입시(95% glycerol) 광 투과패턴 변화를 정량화 시켰다. 또한 각기 정량화 실험에서 도출된 최적 제어변수들을 복합 적용함으로써 생체조직의 심부에 도달하는 광 밀도의 증가를 최적화시킨 실험결과를 도출하였다.

정량적 분석을 위하여 생체조직에 대하여 레이저 조사와 동시에 각 제어변수의 적용이 가능한 레이저 프로브를 설계하였으며 해당 레이저 프로

브의 제어변수들을 제어하기 위한 통합 시스템을 설계하여 임상적용 가능성을 높였다.

참 고 문 헌

- [1] E. Hecht, Optics, Boston,USA:Addison Wesley, 4th ed, 2002, p. 705
- [2] J. L. Zeredo, K. M. Sasaki, K. Toda, "High-intensity laser for acupuncture-like stimulation," Lasers Med. Sci., vol. 22, pp.37-41, 2007.
- [3] R. R. Anderson, J. A. Parrish, "Selective photothermolysis: precise micro-surgery by selective absorption of pulsed radiation," Science, vol. 220, pp. 524-527, 1983.
- [4] R. R. Anderson, J. A. Parrish, "The optics of human skin," J. Invest. Dermatol., vol. 77, no.1, pp.13-19, 1981.
- [5] L. Carroll, T. R. Humphreys, "LASER-tissue interactions," Clin. Dermatol., vol. 24, pp.2-7, 2006.
- [6] C. G. Rylander, O. F. Stumpp, T. E. Milner, N. J. Kemp, J. M. Mendenhall, K. R. Diller, and A. J. Welch, "Dehydration mechanism of optical clearing in tissue," J. Biomed. Opt., vol. 11, no. 4, 041117, 2006.
- [7] E. K. Chan, B. Sorg, D. Protsenko, M. O'Neil, M. Motamedi, and A. J. Welch, "Effects of compression on soft tissue optical properties," IEEE J. Sel. Top. Quant. Electron., vol. 2, no. 4, pp.943-950, 1996.
- [8] R. N. Lewis, D. A. Mannoek, R. N. McElhaney, P. T. Wong, and H. H. Mantsch, "Physical properties of glycosyldiacylglycerols: an infrared spectroscopic study of the gel-phase polymorphism of 1, 2-Di-O-acyl-3-O-(β -D-glucopyranosyl)-sn-glycerols,"

- Biochemistry 29, 8933-8943(1990)
- [9] H. H. Mantsch, C. Madec, R. N. Lewis, and R. N. McElhaney, "Thermotropic phase behavior of model membranes composed of phosphatidylcholines containing dl-methyl anteisobranched fatty acids. 2. An infrared spectroscopy study," Biochemistry 26, 4045-4049(1987)
- [10] J. Laufer, R. Simpson, M. Kohl, M. Essenpreis, and M. Cope, "Effect of temperature on the optical properties of ex vivo human dermis and subdermis," Phys. Med. Biol. 43, 2479-2489(1998)
- [11] L. T. Troy, D. L. Page, and E. M. Sevick-Muraca, "Optical properties of normal and diseased breast tissues: Prognosis for optical mammography," J. Biomed. Opt. 1, 342-355(1996)
- [12] S. Yeh, O. S. Khalil, C. Hanna, S. Kantor, X. Wu, T. Jeng, and R. A. Bolt, "Temperature Dependence of Optical Properties of In Vivo Human Skin," Proc. SPIE 4250, 455-461(2001)
- [13] O. S. Khalil, S. Yeh, M. G. Lowery, X. Wu, C. F. Hanna, S. Kantor, T. Jeng, J. S. Kanger, R. A. Bolt, and F. F. de Mul, "Temperature modulation of the visible and near infrared absorption and scattering coefficients of human skin," J. Biomed. Opt. 8(2), 191-205(2003)
- [14] J. T. Hashmi, Y. Y. Huang, S. K. Sharma, D. B. Kurup, L. D. Taboada, J. D. Carroll, and M. R. Hamblin, "Effect of Pulsing in Low-Level Light Therapy," Lasers Surg. Med. 42, 450-466(2010)

- [15] D. Barolet, "Light-Emitting Diodes (LEDs) in Dermatology," *Semin. Cutan. Med. Surg.* 27, 227-238(2008)
- [16] H. B. B. Liu, M. Kimura, and M. Chance, "Dependence of tissue optical properties on solute-induced changes in refractive index and osmolarity," *J. Biomed. Opt.* 1(2), 200-211(1996)
- [17] C. G. Rylander, O. F. Stumpp, T. E. Milner, N. J. Kemp, J. M. Mendenhall, K. R. Diller, and A. J. Welch, "Dehydration mechanism of optical clearing in tissue," *J. Biomed. Opt.* 11(4), 041117(2006)
- [18] A. T. Yeh, B. Choi, J. S. Nelson, and B. J. Tromberg, "Reversible dissociation of collagen in tissues," *J. Invest. Dermatol.* 121(6), 1332-1335(2003)
- [19] J. Yoon, E. Choi, B. Choi, J. S. Nelson, and B. Jung, "Enhancement of optical skin clearing efficacy using a microneedle roller," *J. Biomed. Opt.* 13(2), 021103(2008)
- [20] H. Kang, T. Son, J. Yoon, K. Kwon, J. S. Nelson, and B. Jung, "Evaluation of Laser Beam Profile in Soft Tissue Due to Compression, Glycerol, and Micro-Needling," *Lasers Surg. Med.* 40, 570-575(2008)
- [21] J. Yoon, D. Park, T. Son, J. Seo, J. S. Nelson, and B. Jung, "A Physical Method to Enhance Transdermal Delivery of a Tissue Optical Clearing Agent: Combination of Microneedling and Sonophoresis," *Lasers Surg. Med.* 42, 412-417(2010)
- [22] C. Yeo, T. Son, J. Park, Y. H. Lee, K. Kwon, J. S. Nelson, and B. Jung, "Development of compression-controlled low-level

- laser probe system: towards clinical application” , *Lasers Med. Sci.* 25, 699-704(2010)
- [23] G. Vargas, E. K. Chan, J. K. Barton, H. G. I. Rylander, and A. J. Welch, “Use of an agent to reduce scattering in skin,” *Lasers Surg. Med.* 24(2), 133-141(1999)
- [24] J. C. B. Hirshburg, J. S. Nelson, and A. T. Yeh, “Collagen solubility correlates with skin optical clearing,” *J. Biomed. Opt.* 11(4), 040501(2006)
- [25] Lavker RM, Dong G, Zheng PS, Murphy GF (1991) Hairless Micropig skin A Novel Model for Studies of Cutaneous Biology. *Am J Pathol* 138(3):687-697.
- [26] Vardaxis NJ, Brans TA, Boon ME, Kreis RW, Marres LM (1997) Confocal laser scanning microscopy of porcine skin: Implications for human wound healing studies. *J Anat* 190(4):601-611. doi: 10.1046/j.1469-7580.1997.19040601.x.
- [27] Ross EV, Naseef GS, Mckinlay JR, Barnette DJ, Skrobal M, Grevelink J, Anderson RR (2000) Comparison of carbon dioxide laser, erbium:YAG laser, dermabrasion, and dermatome: A study of thermal damage, wound contraction, and wound healing in a live pig model: Implications for skin resurfacing. *J Am Acad Derm* 42(1):92-105.
- [28] Shangquan H, Prael SA, Jacques SL, Casperson LW, Gregory KW (1998) Pressure effects on soft tissues monitored by changes in tissue optical properties. SPIE Press, San Diego, pp 366-371
- [29] Michael A. Childers, Walfre Franco, J. Stuart Nelson, and

Guillermo Aguilar, Laser Surgery of Port Wine Stains Using Local Vacuum Pressure: Changes in Skin Morphology and Optical Properties(Part I). Lasers in Surgery and Medicine, vol. 39, no. 2, pp.108-117, 2007.

ABSTRACT

**The quantitative analysis study of Tissue Optical Clearing methods
for enhancing photon density in biological tissues :
Positive pressure, Glycerol injection, Laser pulse modulation,
and Tissue temperature**

Changmin Yeo

Dept. of Biomedical Engineering

The Graduate School

Yonsei University

In tissue optics, when biological tissue is exposed to light, four fundamental phenomena, light-tissue interactions, are occurred as reflection, transmission, scattering, and absorption. Among all of the complex light-tissue interactions, for the purpose of light therapy or diagnosis, absorption phenomenon has to be efficiently occurred at deep specific depth in tissue, however, photon energy cannot efficiently deliver to the chromophore at deep tissue layer due to characteristic of highly scattering phenomenon of biological tissues. In order to address the limitation, Tissue Optical Clearing(TOC) methods are investigating with various modalities for decreasing scattering in soft tissue, and therefore, for increasing photon density in deep tissue layer: Positive pressure, Glycerol injection, Laser pulse modulation, and Tissue temperature.

In order to enhance both the light penetration depth and the light photon density in deep tissue layer, this study suggests four independent methods and

a combination method, and laser probes including few systems for controlling the parameters are designed for both the quantitative analysis and increasing the clinical feasibility. Four independent experiments and the combination experiment with derived optimized control parameters are proceeded: 1) Laser transmissions were quantitatively measured as a function of positive pressure to the soft tissue ranged from 0 kPa to -30 kPa with -5 kPa increment; 2) and temperature control of soft tissue was also analyzed as a function of temperature from 40°C to 10°C with 10°C decrement; 3) Diode laser in pulse mode was irradiated to porcine skin sample at various modulation frequencies ranging from 5 Hz to 30 Hz in increments of 5 Hz; 4) 95% Glycerol was injected at a local region of interested (ROI) where laser was irradiated and acquired diffusion images right after injection; 5) The combination method of stated methods was evaluated lastly. Results demonstrated that 1) average increase-rate of peak intensity at -30 kPa was 2.74-fold at 20Ø, 3.22-fold at 30Ø, and 3.64-fold at 40Ø of laser probe, an average increase-rate of total intensity at FWHM was 2) 1.37-fold at 10°C versus 40°C, 3) 1.22-fold of 5 Hz laser beam versus continuous wave, 4) 1.81-fold of 95% glycerol injection, and 5) 1.86-fold of the combination method. In conclusion, this study implies that the effect of positive pressure, glycerol injection, laser pulse-modulation, tissue temperature, and in combination method to biological tissues were quantitatively analyzed for clinical feasibility.

Key words : light intensity, low-level laser therapy (LLLT), hyperosmotic clearing agent (HCA), optical clearing agent (OCA), glycerol, laser diode (LD), optical properties, integrating sphere, biological tissue, optical phantom

부 록

The designed program for specific temperature control

```
#include <mega128.h>
#include <delay.h>

#define FUNCSET 0X28
#define ENTMODE 0X06
#define ALLCLR 0X01
#define DISPON 0X0C
#define LINE2 0XC0

void LCD_init(void);
void LCD_String(char flash []);
void Command(unsigned char);
void Data(unsigned char);
typedef unsigned char u08;
u08 bin, value;
int temp, heat;

const unsigned short TEMP_ADC_ARR[]=
{
    232, 225, 217, 207, 196,
    184, 171, 157, 142, 128,
    114, 101, 89, 78, 68,
    59, 51, 44, 38, 33,
    29, 25, 22, 19, 16,
    14, 13, 11, 10
};

void room_temp_calc(unsigned char adc)
{
    char lp, no;
    int low, high, dt;

    if(adc>=TEMP_ADC_ARR[0]) temp = -200;
    else if(adc<=TEMP_ADC_ARR[28]) temp = 1200;
    else
    {
        no=0;
        for(lp=0;lp<29;lp++)
            if(adc<TEMP_ADC_ARR[lp]) no++;
        high = TEMP_ADC_ARR[no];
    }
}
```

```

        no--;
        low = TEMP_ADC_ARR[no];
        dt=(adc-high)*50/(low-high);
        temp = (no+1)*50-200-dt;
        heat=temp/10;
    }
}

void htoa(unsigned char hh)
{
    Data(((hh%1000)/100)+'0');
    Data(((hh%100)/10)+'0');
    Data((hh%10)+'0');
}

interrupt[ADC_INT] void adc_isr(void)
{
    Command(0xcc);
    value=ADCW>>2;
    room_temp_calc(value);
    htoa(heat);
}

void LCD_init(void)
{
    DDRC=0xFF;
    PORTC&=0xFB;
    delay_ms(15);
    Command(0x20);
    delay_ms(5);
    Command(0x20);
    delay_us(100);
    Command(0x20);
    Command(FUNCSET);
    Command(DISPON);
    Command(ALLCLR);
    Command(ENTMODE);
}

void LCD_String(char flash str[])
{
    char flash *pStr=0;
    pStr=str;
    while(*pStr) Data(*pStr++);
}

void Command(unsigned char byte)
{
    delay_ms(2);
}

```

```

PORTC=(byte&0XF0);
PORTC&=0XFE;
PORTC&=0XFD;
delay_us(1);
PORTC|=0X04;
delay_us(1);
PORTC&=0XFB;

PORTC=((byte<<4)&0xF0);
PORTC&=0XFE;
PORTC&=0XFD;
delay_us(1);
PORTC|=0X04;
delay_us(1);
PORTC&=0XFB;
}

void Data(unsigned char byte)
{
delay_ms(2);
PORTC=(byte & 0xF0);
PORTC|=0X01;
PORTC&=0XFD;
delay_us(1);
PORTC|=0X04;
delay_us(1);
PORTC&=0XFB;
PORTC=((byte<<4)&0XF0);
PORTC|=0X01;
PORTC&=0XFD;
delay_us(1);
PORTC|=0X04;
delay_us(1);
PORTC&=0XFB;
}

void main(void)
{
LCD_init();
LCD_String("Count      temp");
Command(LINE2);
LCD_String("          ");

DDRE=0x03; //heater-PE0 LED-PE1
PORTE=0x00; // heater
DDRD=0x00; //PD7 push button
ADCSRA=0x8E;

TCNT2=0x00;// Clear TCNT2
TCCR2=0x06; // 타이머/카운트 2 하강에지 카운터

```

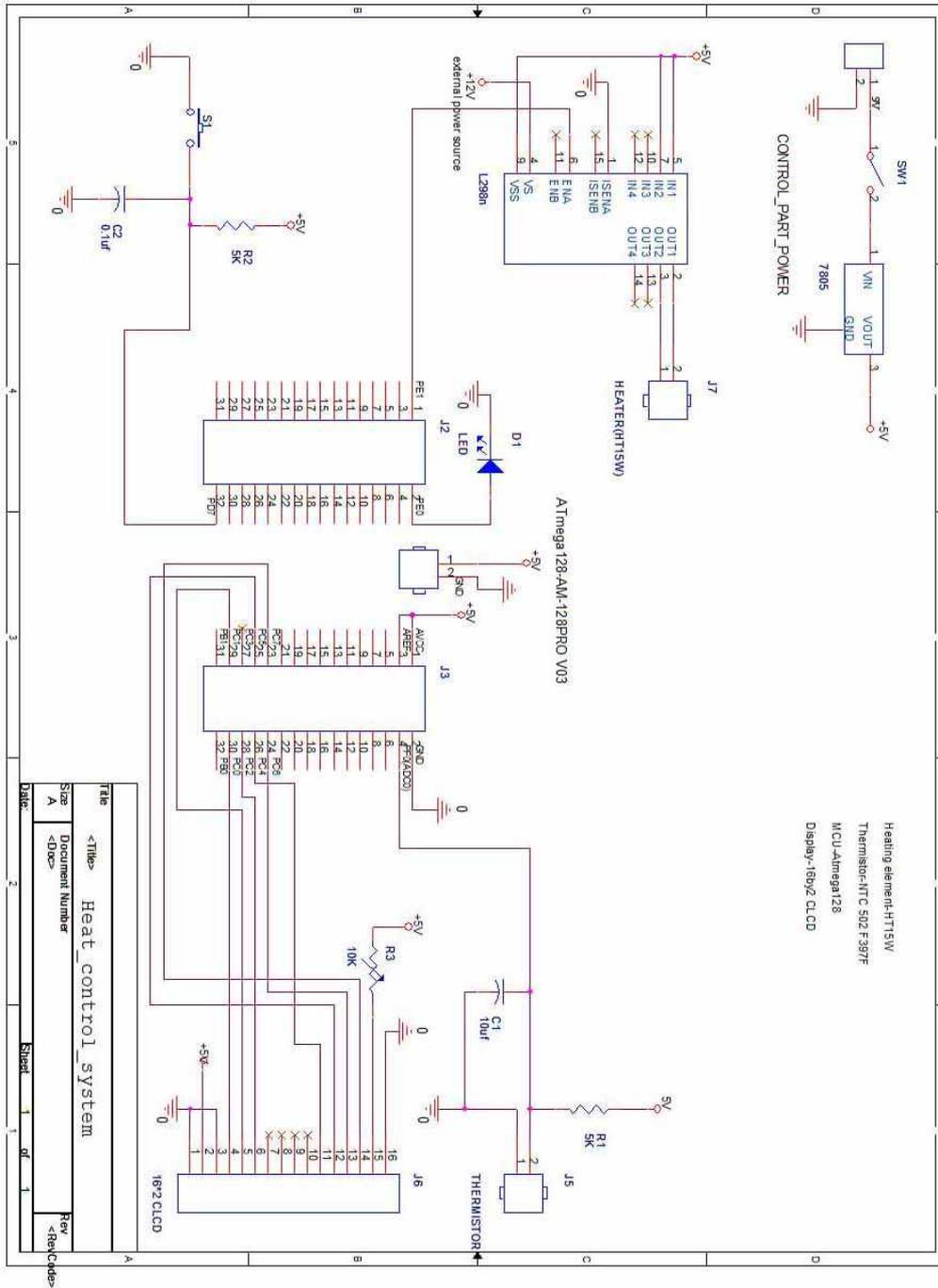
```

#asm("cli");//disable interrupt
#asm("sei")

do
{
ADMUX=0x00;
ADCSRA|=0x40;
delay_ms(500);
bin=TCNT2;
    if(bin>=12)
    {
        TCNT2=0x00;
        PORTE.0=0;
        PORTE.1=0;
    }
Command(LINE2);
htoa(bin);
    if(bin!=0)
    {
        if((bin==1)&&(heat<=5)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==1)&&(heat>=6)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==2)&&(heat<=10)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==2)&&(heat>=11)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==3)&&(heat<=15)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==3)&&(heat>=16)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==4)&&(heat<=20)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==4)&&(heat>=21)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==5)&&(heat<=25)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==5)&&(heat>=26)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==6)&&(heat<=30)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==6)&&(heat>=31)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==7)&&(heat<=35)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==7)&&(heat>=36)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==8)&&(heat<=40)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==8)&&(heat>=41)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==9)&&(heat<=45)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==9)&&(heat>=46)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==10)&&(heat<=50)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==10)&&(heat>=51)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
        if((bin==11)&&(heat<=55)){PORTE.0=1;PORTE.1=1;}
        if((bin==11)&&(heat>=56)){PORTE.0=0;PORTE.1=0;}
    }
    else PORTE.0=0;
}
while(1);
}

```

Circuit diagram of temperature control system



SCI papers

1. Changmin Yeo, Taeyoon Son, Junghwan Park, Youn-Heum Lee, Kiwoon Kwon, J. Stuart Nelson, Byungjo Jung, Development of compression-controlled low-level laser probe system: towards clinical application, Lasers Med Sci, 25(2010), 699-704

Other papers

1. 여창민, 박정환, 손태윤, 이용흠, 정병조, 생체조직내 레이저 광 밀도 향상을 위한 압력인가형 저출력 레이저 프로브, 대한의용생체공학회지, 30(2009),18-22

Patents(출원)

1. 10-2008-0132121, 2008. 12. 23, 음압조절이 가능한 저출력 레이저 프로브
2. 10-2009-0074723, 2009. 08. 13, 레이저 다이오드를 구비한 휴대용 부항장치
3. 10-2010-0009096, 2010. 02. 01, 부항기 프로브 및 그를 구비하는 부항장치
4. 10-2010-0022090, 2010. 03. 12, 실시간 피부 혈색소 측정이 가능한 다채널 음압시스템
5. 10-2011-0011057, 2011. 02. 08, 부항기용 레이저 프로브 및 그 제어장치와 방법

Projects

1. 저출력 레이저 프로브 개발을 위한 레이저 투과깊이 향상에 관한 연구, 강원도청
2. 침/뜸 융합형 치료기 개발, 지식경제부
3. 편광 광학계 기반의 피부 주름/모공 측정 및 분석기술 개발, 교육과학기술부
4. 분광 영상 시스템 기반의 통합 치아 진단 시스템 개발, 지식경제부
5. 혈색소 광 분석 기반의 장부기능이상 진단기, 보건복지부
6. 신생혈관 형성조절을 통한 만성 관절염 치료 기술 개발, 보건복지부

Technology transfer

1. 특허 1건, 부항기 프로브 및 그를 구비하는 부항 장치
(10-2010-0009096, 2010. 2. 1), (주)정우티엠