

다중 광섬유를 이용한 하위 운동 신경 자극용 미세 내시경 연구

A study of micro-endoscope system for lower motor neuron stimulation using optical micro fiber bundle

*서준교¹, #신현준¹, 강동훈¹, 문혁준¹, 김수영¹, 형수진¹

*Jun-Kyo Francis Suh¹, #Hyun-Joon Shin(kaiphy@kist.re.kr)¹, Dong Hoon Kang¹, Hyuk-June Moon¹, Soo Young Kim¹, Sujin Hyung¹

¹한국과학기술연구원 바이오닉스연구단

Key words : Micro fiber bundle, Optical stimulation, SLM, Channelrhodopsin2, On bipolar cell

1. 서론

전기 탐침을 이용한 기존의 신경 제어 및 재활 연구는 신경 자체에 물리적 접촉으로 자극을 주는 점 때문에 신경이 손상될 수 있고, 전기적 자극을 하기에 국부적 자극을 하기 어렵다는 등의 단점을 가진다. Optogenetics 를 이용한 생체 신경회로의 재활 연구는 전기 자극이 아닌 광 자극으로 신경 반응을 유도할 수 있다는 점에서 차별화 되며, 원하지 않는 부분까지 자극이 전해지는 전기 탐침 방식에 비해 자극의 정밀도를 높일 수 있다.

특히, 운동 신경계 손상에 의한 재활 치료는 개별 운동 단위마다 자극을 주어야 하기 때문에 높은 수준의 정밀한 광 자극 기술이 필요하다. 때문에 미세 광섬유 다발 등을 이용한 내시경 시스템이 연구 되고 있다¹.

본 논문에서는 신경세포 크기 수준의 미세 광 자극을 위해, 하위 운동 뉴런의 단면 분포와 매우 비슷한 망막 조직을 대상으로 하여 이미지 형태의 광 자극 연구를 하였다.

2. 미세내시경 시스템 구성

'Figure. 1(a)'와 같이, 소형 동물 (CL57BL/6 mice)의 하위 운동 뉴런 중 하나인 좌골 신경의 단면은 *Thy1* promoter 에 의해 ChR2-YFP 로 형질 발현된 운동 뉴런 집단을 가진다². 이는 ChR2-GFP 로 형질 발현된 쥐에서도 동일하게 확인된다(Figure. 1(b)).

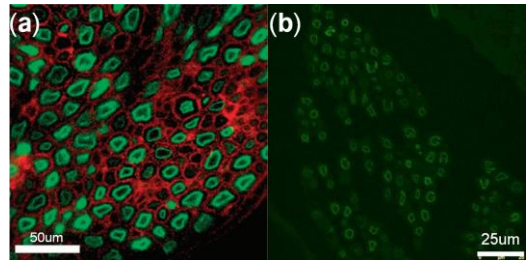


Fig. 1 (a) Fluorescent image of mouse sciatic nerve cross section². (b) Fluorescent image of ChR2-GFP transfected sciatic nerve

여기서 각각의 운동 뉴런 단위마다 동시에 독립적으로 광 자극하기 위해 'Figure. 2'와 같은 Micro fiber bundle(SUMITOMO, IGN-08/30)을 이용한 광 자극 시스템을 구성하였다. 대물렌즈로는 10X Mitutoyo Plan Apo lens 를 사용하였으며, 관찰용 카메라로 PixelLINKTM monochrome CMOS camera 를 사용하였다. 그리고 ChR2(Channelrhodopsin-2) 단백질을 광 자극하기 위해서 470nm 파장의 Blue laser 를 사용하였으며, 2 차원 이미지 형태의 광 자극을 위해 Spatial Light Modulator(SLM, HOLOEYE LC-R 720)를 통하여 'Figure. 3'와 같이 동심원 구조뿐 아니라 임의의 형태로 이미지 변조를 할 수 있었다.

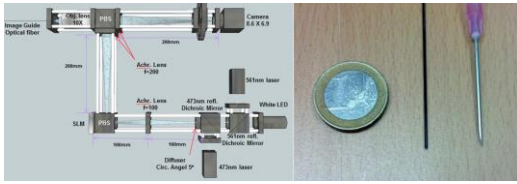


Fig. 2 Micro-endoscope system scheme(left) and micro fiber bundle(right)

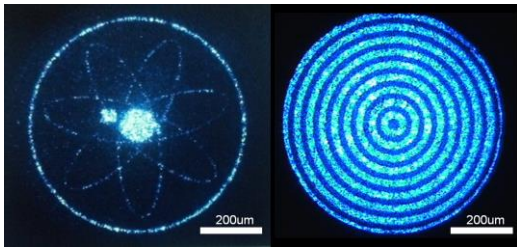


Fig. 3 Examples of modulated image by SLM

3. 광 단백질이 발현된 신경의 광 자극

운동 뉴런 단면과 비슷한 형태의 신경 분포를 보이는, ChR2-GFP 가 발현된 안구 망막의 양극 세포를 대상으로 실험을 진행하였다. 광 자극은 5 초 주기로 2 초 동안은 On, 3 초 동안은 Off 의 형태로 주었다. 또한 30um 의 직경을 갖는 전극 배열인 Multi Electrode Array system(MEA)을 통해 망막의 신경절 세포로 전달되는 신경 신호를 측정하였다.

그 결과, 광 자극과 동일한 5 초의 주기로 신경 신호가 발생하는 것을 확인할 수 있었다. 이때 발생한 신경 신호의 전위는 약 50uV(Figure. 4)이다. 이는 망막 세포에 ChR2 광 단백질을 발현시킨 다른 연구팀의 연구 결과와 동일한 신경 신호의 발생이다³.

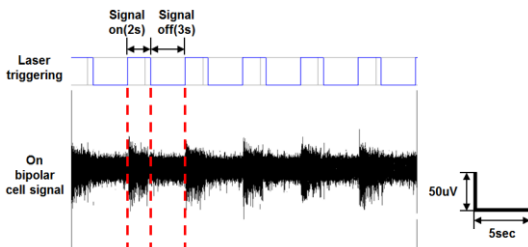


Fig. 4 Neuron signal response of On bipolar cell by On-Off light input

4. 결론

운동 뉴런 집단과 같은 신경 다발은 미세 광섬유 다발과 그 형태가 유사하다. 광섬유 하나의 직경이 3 ~ 4um 이기 때문에 근육의 운동 단위를 제어하는 하나의 운동 뉴런도 자극이 가능하다. 본 연구에서 진행 된 망막을 대상으로 한 이미지 형태의 광 자극을 기반으로 생체 내(in vivo) 하위 운동 뉴런과 같은 단면에 다중 광 자극이 가능하고 이를 통해 운동 신경계를 제어할 수 있다는 가능성을 확인하였다.

참고문헌

1. Yuichiro Hayashi, Yoshiaki Tagawa, Satoshi Yawata, Shigetada Nakanishi, and Kazuo Funabiki. Spatio-temporal control of neural activity *in vivo* using fluorescence microendoscopy. *European Journal of Neuroscience* **36**, 2722-2732 (2012)
2. Michael E Llewellyn, Kimberly R. Thompson, Karl Deisseroth, and Scott L Delp. Orderly recruitment of motor units under optical control *in vivo*. *Nature medicine* **16**, 1161-1165 (2010)
3. Anding Bi, Jinjuan Cui, Yu-Ping Ma, Elena Olshevskaya, Mingliang Pu, Alexander M. Dizhoor, and Zhuo-Hua Pan. Ectopic Expression of a Microbial-Type Rhodopsin Restores Visual Responses in Mice with Photoreceptor Degeneration. *Neuron* **50**, 23-33 (2006)