

복합 광원을 갖는 형광 내시경 개발

論 文
56-1-34

Development of the Fluorescence Endoscope System with Dual Light Source Apparatus

裴秀眞[†] · 姜旭^{*}
(Soo-Jin Bae · Uk Kang)

Abstract - We suggest the fluorescence endoscope system that has light source apparatus providing selectable white or excitation light. White light source generates normal color images and is easily switched over to excitation light with the wide spectrum range from 380 nm to 580 nm.

5-ALA is deposited selectively in the abnormal tissue like cancer and causes fluorescence in the red spectrum range when excited by blue spectrum range. In addition, the others of excitation light make the color background image by reflected light to allow accurate orientation and visualization of the abnormal tissue and around.

According to clinical studies, the fluorescence intensity contrast that defines the fluorescence intensity of lesion over the fluorescence intensity of around has more than 2 in tumour. Proposed system is useful and objective way in early diagnosis. Furthermore, it can be used in the biopsy for tumour classification at the highest fluorescence intensity point.

Key Words : Fluorescent Diagnosis, Cancer, Fluorescence endoscope, 5-ALA

1. 서 론

2004년 통계청이 발표한 사망 원인 조사에 따르면 10년간 암으로 숨진 사람은 10% 이상 증가하였으며, 국내 사망 인구의 약 26% 이상이 암으로 사망하여 사망 원인 중 1위를 차지하고 있다. 또한 노령 인구의 지속적인 증가로 향후 암에 걸릴 확률이 매우 높아질 것으로 예측되고 있다. 최근 의학의 발전으로 악성 종양 치료 가능성이 크게 향상되어 악성 종양의 정확한 조기 발견이 치료의 성패로 매우 중요하게 대두되고 있다. 그러나 일반 내시경의 경우 질병이 진행되어 조직의 변형이 가시적으로 관찰되어야 진단이 가능하기 때문에 초기 진단의 어려움이 많으며, 의사의 경험과 판단에 상당히 의존적이다. 따라서 객관적이고 신뢰성 있는 진단 방법이 필요하다.

본 연구에서는 백색광을 통해 기존 내시경 관측이 가능할 뿐만 아니라, 악성 종양의 형광 특성을 이용하여 악성 종양을 쉽게 식별, 진단할 수 있는 형광 내시경 시스템을 제안하였다. 본 연구에서 구현된 시스템은 일반 내시경 조건으로 관찰하다가 형광 내시경 조건으로 관찰하고자 할 때 전환이 간단하며, 형광 내시경 관찰시 악성 종양의 형광 생체 정보를 제공하는 흑백 영상뿐만 아니라 동시에 진단 부위의 컬러 영상을 제공하기 때문에 진단의 객관성과 정확성을 높이는 구조를 갖는다.

2. 형광 진단 원리

본 연구에서 개발된 형광 내시경의 구조 및 동작 원리를 이해하기 위해서는 먼저 형광 내시경에 의한 암세포의 진단 원리를 살펴볼 필요가 있다.

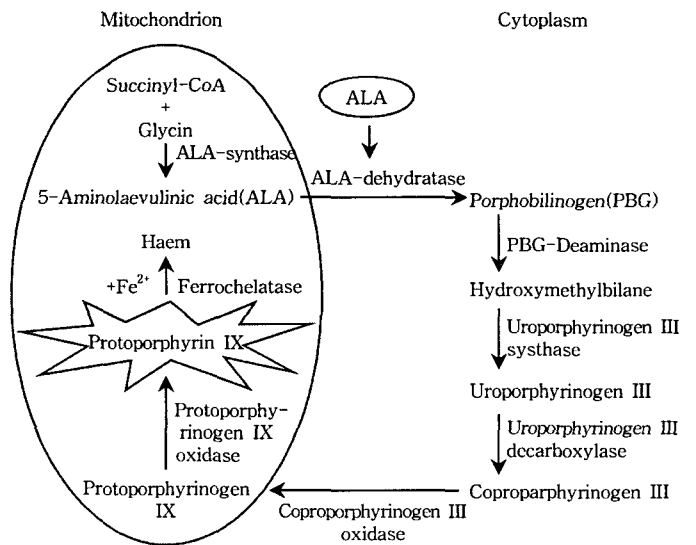


그림 1 Haem biosynthetic pathway

Fig 1 Haem biosynthetic pathway

그림 1의 Haem의 생합성 과정을 살펴보면, Glycine과 Succinyl-CoA의 천연생성물인 ALA가 Porphobilinogen으로 변화되며 PBG-Deaminase(FBG-D)에 의해 phophyrinogen 생성물들로 생체대사 한다. Haem 합성의 마지막 단계에서

[†] 正 會 員 : 한국전기연구원 SOI-KOREA Center
E-mail : sjbae@keri.re.kr

^{*} 正 會 員 : 한국전기연구원 SOI-KOREA Center
接受日字 : 2006年 8月 28日
最終完了 : 2006年 11月 23日

만들어진 Protoporphyrin IX(PPIX)는 Haem 합성과정에서 유일한 형광을 일으키는 물질로, 정상조직에서는 PPIX는 Ferro chelatase(FC)에 의하여 철을 결합하여 형광을 일으키지 않는 Heme으로 변한다[1].

외부에서 ALA가 투약되었을 경우, 정상조직에서는 신속히 Heme을 생성하는데 반해 종양조직에서는 Haem 생성과정에 이상이 초래되는데 특히, FBG-D의 활동은 증가되고 [2,3], FC의 활성도는 저하되어[4] Haem의 중간 생성 물질인 PPIX가 종양조직에 축적된다[5].

그림 2에서 보는 바와 같이 암세포에 축적된 PPIX는 420 nm 부근의 여기광을 조사하면 635 nm 근방의 형광을 발하게 된다[6]. 정상조직의 경우는 PPIX가 빠르게 분해되어 광에 비반응적인 Heme으로 변화하지만 종양조직에서는 ALA에 의해 유도된 PPIX의 축적으로 인하여 강한 형광성을 띄게 되며, 결국 악성 종양이 주변의 정상조직과 비교하였을 때 종양 발생 부위에 따라 2~15배정도 강한 형광 강도의 차이를 보여 진단이 가능토록 한다.

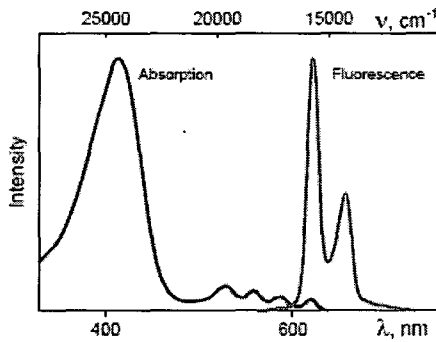


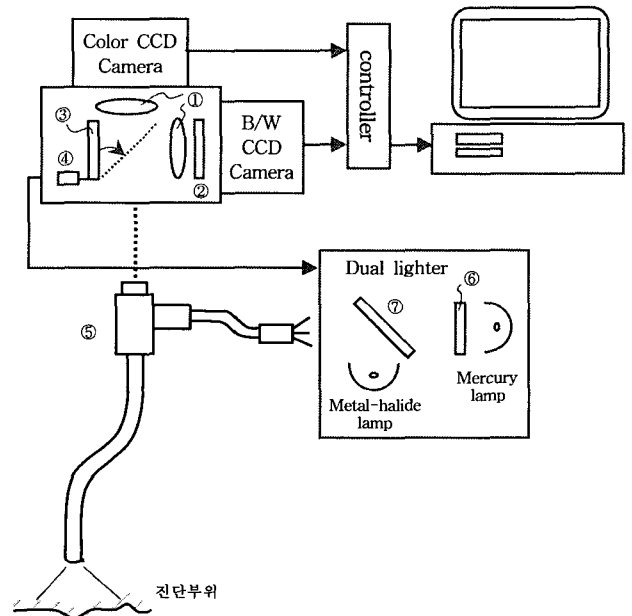
그림 2 PPIX 흡수 및 형광 스펙트럼
Fig. 2 Absorption and Fluorescence spectrum of PPIX

이러한 특성을 갖는 악성 종양을 관찰하기 위해서는 형광을 검출할 장비와 PPIX를 여기시켜 형광을 방출하도록 하는 여기광을 제공할 광원이 필요하다. 본 연구에서는 그림 3에서와 같이 형광 영상을 얻을 수 있는 여기광원 장비뿐만 아니라, 일반적인 내시경 검사를 위한 백색 광원 장비도 동시에 구비하고서 광을 손쉽게 선택적으로 제공하는 복합 광원을 갖춘 시스템을 제안하였다.

3. 시스템 구성

신뢰성 있는 진단을 위해서는 형광 영상뿐만 아니라 의사가 일차적으로 육안 관찰을 할 수 있는 기존의 백색광에 의한 영상이 제공되어야 한다. 따라서 본 연구에서는 백색광원과 형광 여기광원으로 구성된 복합 광원 장치를 개발하였고 각각의 관찰 조건에 최적화된, 즉 형광 관찰 시에는 고감도의 영상 성능을, 일반 백색광 관찰 시에는 고화질의 영상 성능을 제공하는 CCD 카메라 모듈을 제작하였다. 그림 3은 개발된 형광내시경 시스템으로 백색광원인 Metal-halide lamp와 형광 여기광원인 Mercury lamp를 포함하는 복합 광원 장치, Color CCD camera, 고감도 B/W CCD camera, 광

섬유내시경(GIF XQ40, OLYMPUS), 모니터 등으로 구성된다. 또한 개발된 시스템은 스위치 또는 페달의 조작에 상호연계하여 그림 3의 ③ 다이크로익 광분리기와 ⑦ 미러의 위치를 제어할 수 있어, 간단히 광 경로 변경이 가능하기 때문에 백색광 영상 관찰과 형광 영상 관찰 간 전환이 용이하다.



① 대물렌즈, ② 차폐필터, ③ 다이크로익 광분리기, ④ 광경로 스위치, ⑤ 광섬유내시경, ⑥ 여기필터, ⑦ 미러

그림 3 형광 내시경 시스템 구성
Fig. 3 Fluorescent endoscope system configuration

3.1 형광 조건 및 백색광 조건에서의 동작

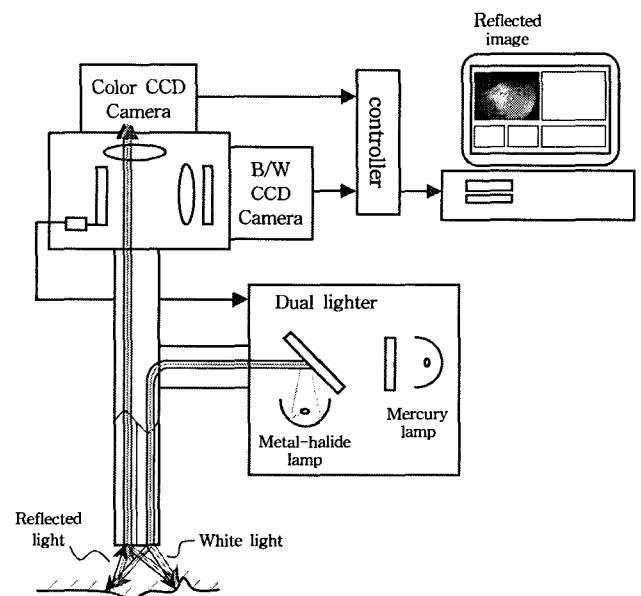


그림 4 일반 내시경 관찰
Fig. 4 General endoscopic observation

본 연구에서 개발된 형광 내시경을 통하여 악성 종양의 유무 및 위치 파악을 위하여 먼저 백색광에 의한 일반 내시경 관찰을 일차적으로 시행한다. 그림 4에서 보는 바와 같이 일반 내시경으로 관찰 시에는 RGB(Red, Green, Blue)가 혼합된 백색광 형태의 광원(Metal-halide)으로부터 광이 환자 진단 부위로 조사되며, 진단 부위로부터의 반사광은 내시경의 광섬유내시경을 통과하여 다이크로의 광분리기를 거치지 않고 직접 칼라 텔레비전 카메라(Color CCD Camera)의 입력으로 제공되어 표준 칼라 영상을 형성한다.

이와 같은 백색광에 의한 일반적인 내시경 검사 시행중에 진단 부위에서 명확히 판단하기 어려운 부분이 관찰되면 의사는 일반적인 내시경 관찰을 위한 백색광 조건에서 내시경에 부착된 스위치, 또는 패달을 간단히 누름으로써 형광 측정 조건의 내시경 장비로 손쉽게 전환한다.

형광 측정 조건으로 변경되면 복합 광원 장치 내부의 미러 위치의 변경에 의해 Mercury lamp에서 여기광이 제공되고 또한 백색광 조건에서는 접혀있던 다이크로의 광분리기가 펼쳐지면서 광의 경로에 포함된다.

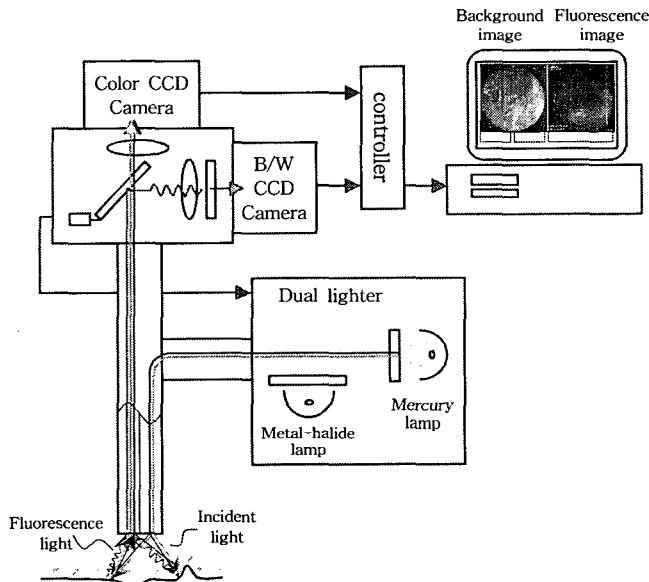


그림 5 형광 내시경 관찰 조건
Fig. 5 Fluorescent endoscopic observation

그림 5에서 보는 바와 같이 여기필터를 거쳐 Mercury lamp에 의한 380 nm~580 nm의 넓은 파장 범위(Blue, Green)의 여기광이 환자 진단 부위에 조사된다. PPIX가 축적된 악성 종양과 같은 비정상 조직에서는 여기광 중에서 420 nm 부근의 파장을 흡수하여 600 nm 이상의 형광(RED)이 방출될 것이고, 그 이외의 정상 부위에서는 380 nm~580 nm의 여기광에 의한 반사광이 생긴다. 이렇게 발생한 형광과 반사광은 광섬유내시경을 통하여 다이크로의 광분리기에 입사된다. 다이크로의 광분리기는 380 nm~580 nm 파장 범위의 광은 통과시키고 580 nm 파장 이상의 광은 반사시키는 특성을 갖으며 B/W CCD camera 앞에 위치한 차폐필터는 600 nm 이하 파장의 광을 모두 흡수하여 차폐한다. 따라서 광섬유내시경으로부터 전달되어진 광 중에서 여기광에 의해 반사되어진 성분의 광은 다이크로의 광분리기를 그대

로 통과하여 Color CCD camera로 들어가고, 반면 형광은 다이크로의 광분리기에 의해 고감도 B/W CCD camera로 분리된다.

그림 5의 모니터의 오른쪽에서 보는 것처럼 고감도 흑백 텔레비전 카메라에 입사된 형광에 근거하는 흑백 영상은 PPIX가 축적된 악성 종양과 같은 비정상 부위는 밝게 보이며 또한 형광 강도가 수치로 표기된다. 반면 칼라 텔레비전 카메라로 들어간 여기광의 반사광은 모니터 왼쪽에서 보여지는 바와 같이 형광 관찰되는 진단부위의 형태 및 위치를 파악에 도움을 주는 배경 영상을 구성하게 된다. 따라서 개발된 형광 내시경의 넓은 파장 범위를 갖는 여기광의 사용은 형광으로 악성 종양의 진단을 가능하도록 하며, 여기광의 반사광에 근거한 진단 부위의 배경이 되는 칼라 영상을 동시에 제공하기 때문에 의사는 진단 부위를 정확하게 관측할 수 있다. 이는 효율적인 biopsy와 악성 종양의 정확한 제거를 가능토록 한다. 그림 6은 본 연구에서 개발된 복합 광원 장치이다.

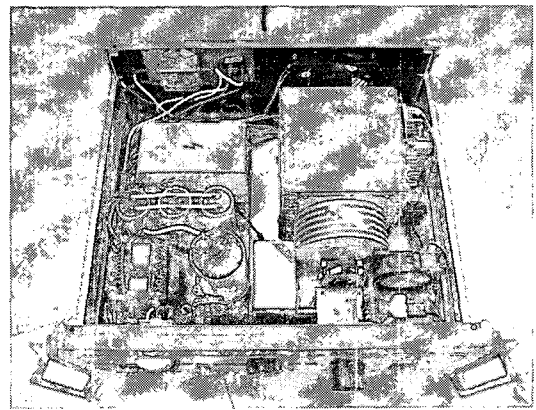


그림 6 개발된 복합 광원 장치
Fig. 6 Dual light source apparatus

3.2 형광 측정 및 교정 방법

본 연구에서는 진단부위에서 방출되는 형광의 측정 강도를 평가하는 방법으로 영상 면의 명암 밝기(Gray scale) 분포를 표시한 히스토그램 변수들을 이용하였다. 히스토그램의 횡축을 따라 밝기 값(Brightness, J)을 나타내며, 종축은 주어

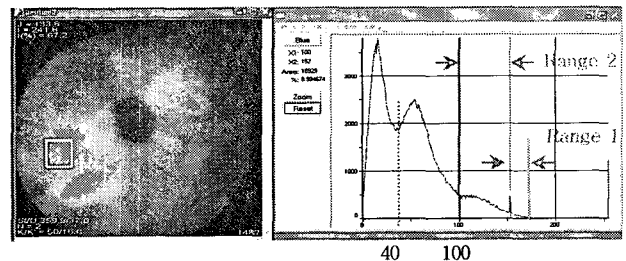


그림 7 악성 종양에 의해 손상된 위 부분의 형광 영상 460×460pixel(왼쪽), 영상 밝기에 대한 히스토그램(오른쪽)

Fig. 7 Fluorescent image of a gastric malignant tumour 460×460pixel(left), brightness histogram of image(right)

진 밝기를 갖는 픽셀(pixel)들의 수를 표시한다. 이러한 히스토그램은 픽셀들의 위치에 대한 정보는 제공하지 않으며 진단 부위의 가장 밝은 영역을 알려준다.

그림 7의 히스토그램은 세 개의 구획으로 구분된다.

- ① 구획 범위 0~40 : 내시경의 시야 경계 밖 또는 그 주변의 어두운 영역
- ② 구획 범위 40~100 : 건강한 위의 영역
- ③ 구획 범위 100 이상 : 종양에 의해 손상된 위의 영역

여기서 주요 관심 부분은 조직의 손상된 부위의 특징을 보이는 형광 밝기의 최대값에 대응되는 100 이상 신호 범위이다. 그러나 CCD matrix의 결함에 의한 hot pixel들로부터도 매우 밝은 신호가 초래되기 때문에 이를 제거하여야 한다. 따라서 히스토그램의 100 이상 신호의 구획을 두 개의 Range1, Range2로 나누었다. 두 구역 중에 Range1은 hot pixel들에 의해 초래된 값에 해당하며, Range2는 악성 종양이 예상되는 진단 부위에서 PPIX 측정에 의해 발생한 강한 형광에 대응하는 유효 영역이다. 이러한 매개변수는 그림 8의 Main Setup 조정에 의해서 설정할 수 있다.

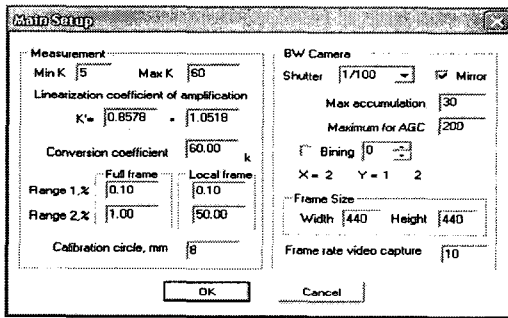


그림 8 Main Setup
Fig. 8 Main Setup

진단 부위를 관찰하는 211,600 화소(460×460 pixel)의 영상 프레임에서 매개변수 Range1=0.1% 및 Range2=1%의 설정은 약 200개의 hot pixel(상태가 나쁜 경우의 카메라로부터 발생하는 hot pixel 수)을 제거하고, 2,116(46×46 pixel) 화소는 악성 종양 진단 부위의 밝기 강도 평균값 계산을 하는데 이용되는 영역을 의미한다. 이는 진단부위까지 10 mm 인 거리에서 진단 부위 약 2×2 mm²의 선형 크기에 대응된다. 이러한 구획은 의사와 같은 관찰자에 의해 진단부위에서 가장 밝은 곳으로 해석되는 경우에 따라 조정된다.

형광 내시경 시행할 때 측정부위의 전반적인 형광 강도도 중요하지만, 악성 종양을 진단하는데 가장 중요한 매개변수는 형광 강도 계수로(Fluorescent Contrast, FC) 악성 종양으로 의심되는 부위의 형광 밝기와 그 주변 정상 부위의 형광 밝기의 비를 나타내는 수치이다. 진단 부위의 조사 과정에서 작업자(의사)에 의해 설정된 크기의 직사각형 내부에서의 형광 밝기의 평균값이 계산되는데, 형광 밝기가 가장 높은 곳에서 J legion tissue이, 그리고 그 주변의 일반 정상 조직에서 J normal tissue가 각각 측정되어지며 형광 강도 계수는 다음과 같이 결정된다. 임상 실험에서 모든 종양이 형광 강도 계수가 2보다 큰 값을 보였다.

$$\text{형광 강도 계수(FC)} = J \text{ lesion tissue} / J \text{ normal tissue}$$

4. 임상 시험 결과

러시아 모스크바에서 개발된 광감각제 Alasense (주성분 5-ALA)을 사용하여 본 연구에서 개발된 형광 내시경 장비를 가지고 러시아연방 원자력병원 (Dr. Kondrashin A.S.)에서 임상 연구가 진행되었다.

그림 9는 위장 폴립(polyp)의 고유 형광 영상과 5-ALA로 유발된 형광 영상의 차이를 나타낸다. 고유 형광 방식으로도 Phototoxicity 없이 높은 진단상의 징후 정보를 얻을 수 있다는 많은 연구들이 있으나, 수행된 실험의 결과로써 고유 형광 강도가 정상적인 조직과 암 조직에서 5-ALA에 의해 유발된 형광 강도보다 훨씬 낮다는 것을 알 수 있었다. 비록 반사되는 빛에서 획득되는 관찰 부위의 이미지가 고유 형광 실험 조건을 향상시키기는 하였지만, 측정된 유발 형광보다 고유 형광 강도는 약 6~10배 더 약하게 나타났기 때문에 고유 형광 이미지에 대한 시각적 탐색과 조직검사 시행이 더 어렵다.

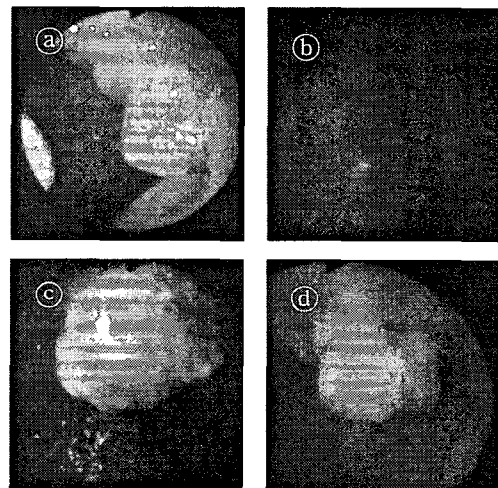


그림 9 위장 폴립: 고유 형광과 5-ALA 유발 형광 비교
(a) 일반내시경 영상, (b) 고유 형광 영상,
(c) 반사광 영상, (d) 5-ALA로 유발된 형광 영상)

Fig. 9 Gastric polypus: Fluorescent comparison between autofluorescence and stimulated fluorescence by 5-ALA

(a) ordinary image, (b) autofluorescence, (c) reflected light image, (d) stimulated fluorescent image)

폴립이 있는 환자들의 평균 형광 강도 계수는 1.5(1~1.8)이었으며 폴립의 모양과 형태, 크기에 따른 형광 강도 차이는 없었다. 그림 10은 위장에서 0.3~1cm 크기와 1.8cm 높이의 많은 폴립들이 발견된 한 환자의 측정 영상이다. 여러 폴립들의 형광 강도 계수는 1.3이었으며 그림 10 (a)는 그 중 하나를 보여준다. 그림 10 (b)는 0.5cm의 작은 크기의 폴립으로 형광 강도 계수는 2.8이었다. 두 폴립의 조직검사서 크기가 작지만 형광 강도 계수가 높은 (b)의 폴립이 초기 암으로 판정되었다.

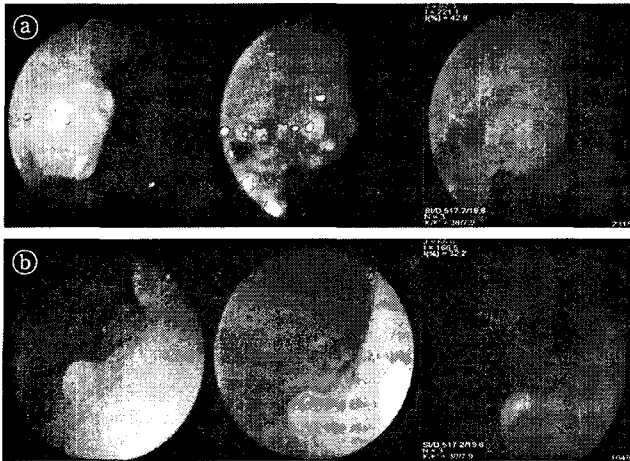


그림 10 위장 폴립: Normal과 Malignant 관찰
 (a) 위장 폴립(정상), (b) 악성 폴립)
 Fig. 10 Gastric polypus
 (a) normal polypus, (b) malignant polypus)

5. 결 론

본 연구에서는 백색광과 여기광, 두 개의 광원을 구비하여 기존 백색광 영상과 형광 영상을 함께 제공함으로써 진단의 신뢰성과 정확성을 높이고 효율적인 관찰이 가능한 형광 내시경을 개발하였다. 본 장비는 백색광을 통해 일반적인 내시경 검사를 수행하며, 관찰하고 있는 진단 부위에서 명확히 판단이 어려운 부분이 관찰되면 간단한 조작만으로 일반 내시경 조건에서 형광 측정 조건으로의 전환이 가능하다. 형광 내시경 관찰시, 380 nm에서 580 nm의 넓은 스펙트럼 영역을 갖는 여기광이 조사되고 다이크로의 광분리기를 거쳐 광 경로 변경을 통하여 반사광으로 이루어진 진단 부위의 배경 영상과 600 nm 이상의 형광 영상이 동시에 실시간으로 제공된다. 형광의 관측에 의해 객관적이고 신뢰성 있는 진단이 가능하면서도 의사가 신체기관 내부에서 진단 부위의 위치를 확실하게 파악할 수 있게 되었다.

특히 5-ALA에 의해서 비정상적인 조직에 형광이 유발되는 PPIX가 축적되는데, 임상 실험에서 고유 형광의 형광 강도에 비해 6~10배 크게 측정되었으며, 모든 종양에서 검사 부위의 형광 강도와 그 주변의 정상 부위의 형광 강도에 의해 계산되는 형광 강도 계수가 2이상으로 관찰되었다. 따라서 형광 강도의 객관적인 평가를 통해 쉽고 빠르게 신뢰성 있는 관찰을 할 수 있으며, 형광 강도가 가장 높은 곳에서 조직검사를 시행함으로써 효율적인 진단과 검사가 가능해졌다.

참 고 문 헌

[1] Hinnen P, De Rooij FWM, Van Velthuysen MLF, Edixhoven A, "Biochemical basis of 5-aminolaevulinic acid-induced protoporphyrin IX accumulation: a study in patients with (pre)malignant lesions of the oesophagus", *British Journal of Cancer*, 78(5), 679-682, 1998.

[2] Rubino GF, Rasetti L, "Phphyrin metabolism in human neoplastic tissues", *Panminerva Med*, 8(7), 290-292, 1966.
 [3] Navone NM, Polo CF, Frisardi AL, Batlle AM, "Mouse mammary carcinoma porphobilinogenase and hydroxy-methylbilane synthetase", *Comp Biochem Physiol B*, 98(1), 67-71, 1991.
 [4] Smith A, "Mechanisms of toxicity of photoactivated artificial porphyrins", *Annals of the New York Academy of Sciences*, 514, 309-322, 1987.
 [5] Anderson KE, Drummond GS, Freddara U, Sardana MK, Sassa S, "Porphrogenic effects and induction of heme oxygenase in vivo by delta-aminolevulinic acid", *Biochimica et biophysica acta*, 676(3), 289-299, 1981.
 [6] Reinhold B, "Latest results of 5-ALA-based fluorescence diagnosis and other medical disciplines", *Photochemistry of Cancer and Other Diseases*, 3563, 90-99, 1999.

저 자 소 개



배수진 (裴秀眞)

1977년 12월 4일생. 2000년 KAIST 전기 및전자공학과 졸업. 2003년 同 대학원 전기및전자공학과 졸업(석사). 2003년~현재 한국전기연구원 연구원.
 TEL : 031-500-4818
 FAX : 031-500-4850
 E-mail : sjbae@keri.re.kr



강욱 (姜旭)

1961년 7월 29일생. 1985년 서강대학교 물리학과 졸업. 1987년 同 대학원 물리학과 졸업(석사). 1996년 S.I.Vavilov State Optical Institute 광학재료 졸업(박사). 1987년~현재 한국전기연구원 책임연구원.
 TEL : 031-500-4812
 E-mail : ukang@keri.re.kr