

박막 캔틸레버 어레이 센서를 이용한 질병 진단기 설계 및 구현

Design and Implementation of the Diseases Diagnosis System Using The Cantilever Micro-Arrays

정 승 표*, 최 준 규**, 이 정 훈***, 박 주 성**

Seung-pyo jung*, Jun-Kyu Choi**, Jung-hoon Lee***, Ju-Sung Park**

Abstract

The disease diagnosis system has been developed using the thin nitride(Si3N4) cantilever arrays which can measure the difference of capacitances between sensor and reference. The system consists of 32-bits RISC(Reduced Instruction Set Computer), RAM/Flash, bus, communication IP's, ADC(Analog Digital Converter) board, and LCD display. The marker selection method, which give us the good accuracy from reasonal numbers of markers, is suggested. The developed system has the resolution under 1fF and can detect 10nM concentration of Thrombin.

요 약

커패시턴스 용량의 변화를 측정할 수 있는 박막 Si3N4 캔틸레버 센서 어레이를 이용한 질병진단 시스템을 설계하고 구현하였다. 시스템은 32 비트 RISC 프로세서, 메모리, 버스, 통신용 IP, ADC, LCD 디스플레이로 구성되어 있다. 10개 내외의 마커를 이용하여 수십 개의 마커를 사용했을 경우와 같은 정확도를 얻을 수 있는 마커선정 방법을 제안한다. 개발된 진단기의 커패시턴스 분해능은 1fF 이하이고, 트롬빈 10nM 까지 감지할 수 있다.

Key words : cantilever sensor, marker selection, disease diagnosis, feature selection, diagnosis system

* Dept. of Electronics Engineering, Pusan National University, spvam@pusan.ac.kr, 051-510-1702

** Small Machines inc., Seoul

*** Dept. of Mechanical Engineering, Seoul National University

**★ Dept. of Electronics Engineering, Pusan National University, juspark@pusan.ac.kr, 051-510-2444

※ Acknowledgment

This work was supported by a 2-Year Research Grant of Pusan National University.

Manuscript received Mar. 3, 2015; revised Mar. 6, 2015 ; accepted Mar. 9. 2015

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

질병을 조기에 진단하는 것은 환자와 의료인의 꿈이며 인류가 궁극적으로 해결해야할 일이다. 질병을 진단하기 위하여 X-Ray, MRI, 초음파 등의 의료기기 와 환자의 피, 소변, 침 등의 검체를 이용한다. 의료기기를 이용하는 경우 특정질병에 대해서는 정확하게 진단할 수 있지만 고가라는 측면에서 환자에게 부담이 된다. 검체를 이용하는 경우는 가격은 저렴하지만 정확성과 진단에 걸리는 시간 측면에서 의료기기보다 불리하다. 따라서 검체를 이용하면서 정확도를 높이고 진단 시간을 줄이기 위한 연구가 진행되고 있다.

여러 검체 중에서 혈액이 다양한 질병을 진단하는데 사용되고 있다. 그 이유는 혈액은 1분 이내에 우리 몸을 한번 순환하기 때문에 질병이 발생한 환부에서 나오는 특이한 물질이 혈액에 용해되기 때문이다.

혈액을 이용하여 질병을 진단하는 경우 정확도를 높이기 위하여 바이오칩과 유전자 증폭을 위한 PCR(Polymerase Chain Reaction) 과정이 필요하다.[1]

바이오칩을 사용하는 경우는 불특정 수 백 내지 수 천 개의 마커로 구성된 array에 환자와 정상인의 혈청을 반응시켜 뉴럴 네트워크에 인공지능을 갖게 하여 질병을 진단한다.[2] 각 마커들의 혈청반응 정도에 따른 색깔변화를 광학 스캐너를 이용하여 읽어 진단 정보를 얻는다. 수백 수천 중의 마커를 준비해야하고 뉴럴 네트워크의 학습과정에서 천문학적인 반응결과 데이터를 처리해야 하므로 많은 시간과 경비가 소요된다.

바이오칩의 감도를 높이기 위한 PCR 과정은 denaturation, annealing, extension 과정을 거친다. 각 과정은 하나의 자동화된 장비(cycler)에서 미리 세팅된 온도와 시간에서 이루어진다. PCR을 위하여 위 3 과정을 30~40번 정도 반복적으로 수행된다. 각 과정을 수행하는데 1~3분 정도 걸리므로 PCR 전 과정을 수행하기 위해서 적어도 1시간 이상이 소요된다.

위에서 소개한 마커 어레이와 PCR 과정 때문에 질병을 진단하는데 시간과 비용이 많이 들 뿐만 아니라 일반 가정에서 자가진단(Point-of-Care)이 불가능하다. 본 연구에서는 PCR과 광학적 스캐닝이 필요 없으면서 작은 수의 마커로 간암을 진단할 수 있는 시스템을 소개한다.

본 논문은 개요에 이어 II장에서는 진단 시스템에 사용될 센서의 기본구조와 동작원리를 소개하고, III장에서는 효율적인 진단을 위하여 필요한 마커 선정 알고리즘을 다룬다. IV장에서는 진단 시스템의 구조와 동작을 소개하고, V장에서는 구현 방법과 시스템의 성능을 평가하고 VI장에서 결론을 맺는다.

II. 센서구조 및 동작원리

본 연구의 목표는 가정에서 자가진단이 가능한 시스템을 개발하는 것이다. 자가진단이 가능하게 하기 위해서는 무엇보다 PCR 과정이 필요 없는 sensor를 개발하는 것이 필요하다. 본 연구에서 고안한 센서의 동작원리와 구조는 그림 1에 나타내었다.[3] 그림 1의 (a)는 반응에 따른 커패시터 용량변화를 설명하는 그림, (b)는 단일 센서의 사진이고 (c)는 어레이 센서의 사진이다. 센서는 그림 1의 (a)와 같이 마커가 도포된 캔틸레버와 아무것도 도포되지 않은 레퍼런스 캔틸레버로 구성되어 있다.

혈액의 특정 단백질이 잘 달라붙는 마커가 도포된 센서 캔틸레버는 그라운드와 거리가 가까워져서 보다

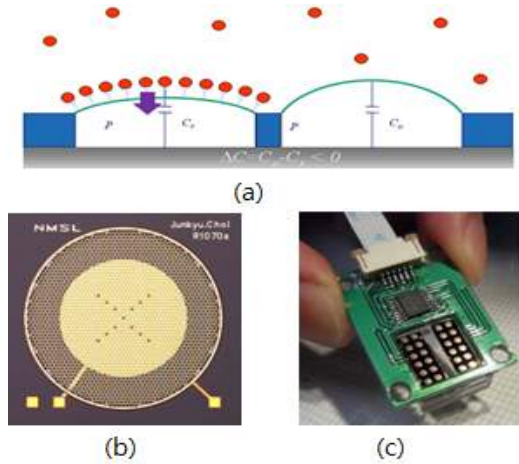


Fig. 1. (a) The concept of capacitance variation between sensor and reference cantilever (b) chip photograph of single cantilever sensor (c) photograph of packaged sensor arrays

그림 1. (a) 단백질이 capture되어 cantilever capacitance가 변화하는 개념 (b) single cantilever의 칩 사진 (c) array sensor가 조립된 사진

커패시턴스가 크게 된다. 두개의 커패시터의 용량 차이를 측정함으로써 특정 마커가 질병에 반응정도를 알 수 있다. 캔틸레버는 실리콘 나이트라이드(Si₃N₄)를 절연체로 하고 두께가 450nm, 크기가 750 x 750 μm² 이어서 마커에 달라붙은 미량의 단백질을 구분할 수 있기 때문에 PCR 과정 없이도 질병감염 여부를 판단할 수 있다. 두개의 캔틸레버의 용량은 커패시턴스를 측정할 수 있는 ADC를 이용하여 측정한다.

III. 마커 선정 알고리즘

센서와 전자장치가 개발되었다고 하더라도 질병 진단 정확도를 높이기 위해서 환자와 정상인을 잘 구분하는 마커를 발굴할 필요가 있다. 본 연구에서는 앵터머(aptamer) 어레이에 혈청을 반응시켜 광학적 방식을 이용하여 변별력이 높은 마커셋트를 발굴하였다. 본 연구에서 제안하는 마커선정 알고리즘은 진단 결과에 나쁜 영향을 주는 마커를 배제하기 위하여 뉴럴 네트워크 자체의 학습기능을 활용한다. 기본 개념은 마커를 하나씩 추가하면서 정확도를 평가하여, 추가한 마커가 정확도를 개선하면 그 마커를 선택하고, 그렇지 못한 경우는 배제하는 것이다. 선택(select)과 배제(drop)과정을 수행하기 전에 pre-screening 과정을 수행하여 유용한 데이터 셋트를 준비한다. 상호검

중(cross validation) 기법을 동원하여 선택된 선정된 마커의 신뢰성을 높이는 과정을 거친다.[4] 환자의 그룹핑을 다양하게 하여 상호검증을 함으로써 마커의 신뢰도를 높인다.[5]

1. Pre-screening

제안하는 방식은 마커선정을 위해서 마커를 하나씩 추가해 가면서 결과를 체크해 가야 한다. 하지만 이때, 수 백~수 만개로 구성된 불특정 마이크로 어레이 데이터를 무작위로 추가시키는 것은 비효율적이며, 최적의 결과를 기대할 수 없다. 생체신호 처리에서는 p-value 를 많이 이용한다.[5] 어떤 물질의 p-value 가 작을수록 환자과 정상인을 구분할 수 있는 능력이 좋다고 생각할 수 있다. Pre-screen 과정에서 모든 마커에 대하여 one-way ANOVA (analysis of variance)를 통해 각각의 p-value를 구하고, p-value의 오름차순으로 데이터를 정렬을 한다.

2. Select-Drop

Select-drop의 기본개념은 뉴럴 네트워크의 입력이 많으면 정확도가 좋아질 것이라는 생각에서 출발한다. 그러나 뉴럴 네트워크는 다차원 비선형 시스템이다.[6] 따라서 입력 개수가 많다고 정확도가 높아지는 것이 아니므로 최적의 결과를 주는 마커의 조합을 구해야 한다. 그림 2은 최적의 마커의 조합을 찾기 위해 고안한 알고리즘의 순서도이다. 그림 2에 나타난 바와 같이 환자와 정상인으로 구성된 N개의 그룹으로 나눈 다음, p-value가 가장 낮은 마커(aptamer)와 (N-1) 그룹을 이용하여 뉴럴 네트워크를 학습시키고 나머지 1 그룹에 대하여 질병진단을 하여 정확도를 결정한다.

그 다음으로 P-value가 높은 마커를 이용하여 동일한 방법으로 정확도를 조사한다. 이 경우는 뉴럴 네트워크의 입력이 2개가 된다. 이렇게 하여 하나를 사용한 경우보다 정확도가 개선되면 마커세트로 선정하고 아니면 배제한다. 원하는 정확도가 얻어질 때까지 준비된 마커를 사용한다.

IV. 전자시스템 구조 및 동작

설계된 시스템은 그림 3와 같이 32비트 RISC, AMBA BUS, 메모리(SRAM, Flash) 및 메모리 인터페이스, JTAG, UART, video controller 및 LCD display, ADC 및 인터페이스로 구성되어 있다.

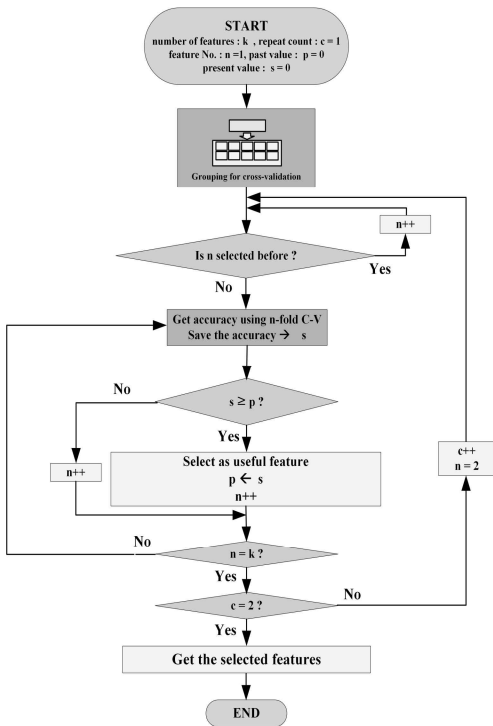


Fig. 2. Flow of select-drop method to get good marker set
 그림 2. 마커 세트를 결정하기 위한 select-drop 순서도

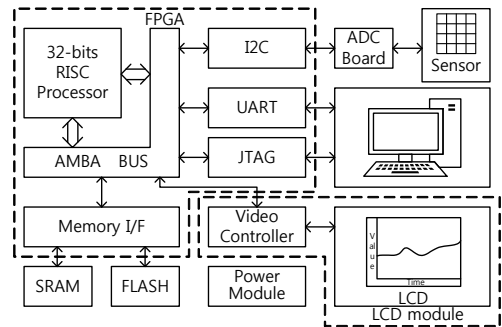


Fig. 3. Architecture of disease diagnosis system developed
 그림 3. 개발된 진단 시스템 구성도

32비트 RISC는 플래쉬 메모리에 저장된 프로그램을 이용하여 시스템을 제어한다. BUS는 프로세서와 다양한 주변 디바이스를 연결하기 위한 것이며 JTAG은 PC로부터 시스템으로 프로그램을 다운로드 하거나 시스템을 디버깅 하는데 사용한다. UART는

센서로부터 얻은 데이터를 PC나 서버로 전송하기 위하여 필요하다. 강력한 변별력이 있는 마커가 있는 경우에는 설계된 시스템에서 질병을 바로 진단할 수 있지만, 마커를 발굴하는 과정에서는 천문학적인 계산이 필요하므로 PC나 서버로 데이터를 전송할 필요가 있다. LCD display는 측정된 데이터나 진단결과를 나타낸다. 바이오 신호는 저주파 신호이기 때문에 잡음제거를 위한 디지털 필터를 소프트웨어적으로 처리할 수 있다. 따라서 플래쉬 메모리에는 시스템을 제어하기 위한 제어 소프트웨어, 잡음제거를 위한 소프트웨어 필터 프로그램과 ADC의 측정조건, 질병진단 판정 모델이 저장된다.

어레이 센서로부터 나오는 신호가 어떤 과정을 거쳐 처리되는 지 살펴보자. 하나의 센서로부터 얻어지는 커패시턴스 값의 차이를 ADC를 이용하여 디지털 값으로 변환한 후 소프트웨어적인 방법으로 디지털 필터링 하여 잡음을 제거한다. 디지털 필터링 과정에서 RAM이 사용되고 최종 처리된 데이터는 다시 RAM에 저장되며 LCD에 display되고 필요한 경우에는 UART를 통하여 PC로 전송된다.

개발된 시스템을 자가진단에 사용하는 경우에는 플래시 메모리에 저장된 인공지능을 바탕으로 질병을 진단한다. 인공지능은 오프라인에서 뉴럴 네트워크의 학습을 통하여 얻어진다. 오프라인으로 학습시키는 이유는 인공지능의 질병판단 능력을 높이기 위해서 많은 검체가 필요하고 검체가 많은 경우 계산량이 기하급수적으로 늘어나기 때문이다. 그리고 좋은 마커 세트를 발굴하기 위하여 많은 경우에 대하여 학습하는 것은 꼭 필요한 일이므로 서버에서 오프라인으로 처리할 필요가 있다.

V. 시스템 구현 및 성능분석

1. 시스템 구현

설계한 전자시스템은 그림 2와 같다. 32비트 RISC 프로세서를 비롯하여 BUS, 메모리 인터페이스, I2C, UART, JTAG을 verilog으로 코딩하여 FPGA로 구현하였다. I2C 프로토콜을 이용하여 16개 ADC가 16개 어레이 센서로부터 데이터를 얻는 형태로 구현하였다. LCD 디스플레이는 컨트롤러와 디스플레이가 하나의 모듈로 되어 있는 것으로 구현하였다. 디스플레이 모듈을 제어하기 위한 소프트웨어는 플래쉬 메모리에 저장되어 있다.

개발된 센서는 마커가 도포된 캔틸레버의 커패시턴스와 레퍼런스 캔틸레버 커패시턴스의 차이를 측정하는 것이기 때문에 2 센서의 커패시턴스 용량을 측정할 수 있는 ADC를 사용하였다. 프로세서를 이용하여 2

커패시턴스의 용량 차이를 미리 측정하여 오프셋 값으로 사용하여 조정을 하지만, 기생용량을 같게 하기 위하여 센서에서 ADC 단까지의 PCB 패턴 길이를 동일하게 하였다. ADC의 그라운드를 그림 4-(a)와 같이 아래층 전체를 그라운드로 하였을 때 그림 4-(b)와 같이 안정화 단계 이후에 2fF수준의 저주파 잡음이 크게 나타났다.

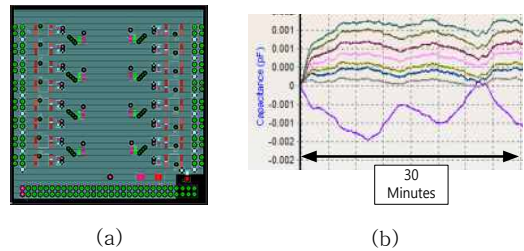


Fig. 4. (a) Artwork of ground layer under ADC's (b) Capacitance of the system without sensor for case (a)

그림 4. (a) ADC 아래층을 그라운드로 한 경우 (b) 아래층을 그라운드로 했을 경우 각 센서로부터 측정된 커패시턴스

그라운드 잡음을 줄이기 위하여 그림 5-(a)와 같이 8개 ADC의 그라운드를 하나로 묶은 다음 그 다음 2 그라운드를 묶어 파워 그라운드에 연결하여 그림 5-(b)와 같이 안정화 단계 이후에 1fF이하로 잡음을 획기적으로 줄였다.

프로세서와 디지털 파트를 구현한 FPGA, 메모리, 파워모듈 등을 포함한 메인보드, ADC 보드, 디스플레이 모듈을 포함한 완성된 진단 시스템의 사진을 그림 6에 나타내었다.

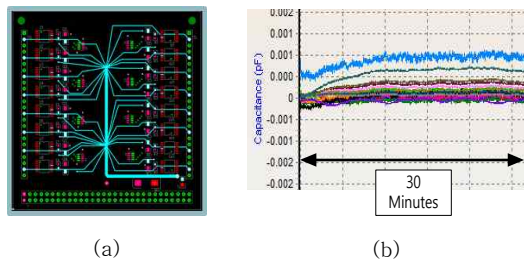


Fig. 5. (a) Artwork of ground layer under ADC layer (b) Capacitance of the system without sensor for case (a)

그림 5. (a) ADC들의 그라운드를 2개로 분리한 경우 (b) ADC들의 그라운드를 분리했을 경우 각 센서로부터 측정된 커패시턴스



Fig. 6. The photograph of implemented diagnosis system
 그림 6. 완성된 진단 시스템 사진

2. 성능분석

각 센서로부터 나오는 신호는 그림 7-(a)와 같이 잡음이 많으므로 질병감염 여부를 판단하기 전에 잡음을 제거해야 한다. 그림. 7의 데이터는 200msec마다 데이터를 샘플링 한 것이다. 바이오 신호 자체는 저주파 신호이지만 상대적으로 높은 고주파 잡음을 제거하기 위하여 소프트웨어적으로 IIR 필터를 구현하여 그림 7-(b)와 같은 잡음이 제거된 데이터를 얻었다.

센서를 장착하지 않은 상태의 오프셋 커패시턴스가 그림 5-(b)에서 나타난 바와 같이 1fF 이하가 이므로 시스템의 분해능은 1fF이하라고 볼 수 있다. 센서를 장착하고 thrombin 농도에 따른 커패시턴 용량을 측정해본 결과 그림. 8과 같은 측정결과를 얻었다. 데이터가 안정화되는데 걸리는 시간은 60분 정도이다. Thrombin의 농도가 1,000nM 일 때 센서의 커패시턴스가 0~33fF이고 10nM 일 때 0~5fF 까지 변화한다. 시스템의 분해능이 1fF이기 때문에 10nM 까지 측정할 수 있다.

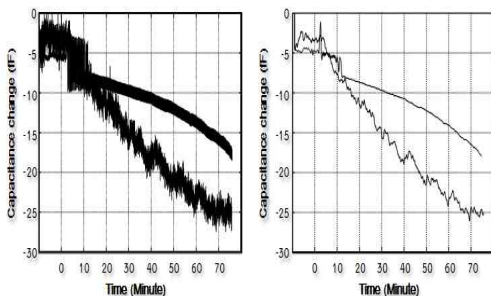


Fig. 7. (a) The signals from two sensors without noise cancellation
 (b) The signals with noise cancellation
 그림 7. (a) 잡음이 제거되지 않은 2개의 센서로부터 얻은 신호
 (b) 잡음이 제거된 센서신호

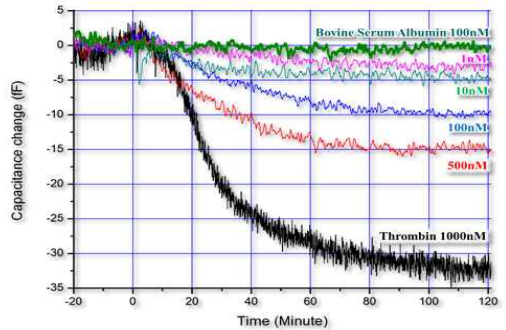


Fig. 8. The variation of capacitance depending on the concentration of thrombin
 그림 8. Thrombin 농도에 따른 센서 커패시턴스 변화

VI. 결론

자체적으로 설계한 32 비트 RISC를 기반으로 디지털 시스템을 구현하여 캔틸레버 어레이 센서로부터 나오는 바이오신호의 측정, 가공, 디스플레이, 해석, 진단, PC와 커뮤니케이션이 가능한 질병진단 시스템을 구현하였다. 센싱 캔틸레버와 레퍼런스 캔틸레버의 커패시턴스 용량차이를 ADC를 이용하여 감지하여 질병을 진단의 기본이 되는 바이오 신호를 추출한다. 센서는 어레이 형태로 구성되어 있고 각 센서에는 다른 감지물질(마커)이 도포되어 있어 단일 마커보다 질병을 정확하게 진단할 수 있다. 특정질병을 효과적으로 진단할 수 있는 마커 선정 알고리즘을 제안 하였다.

ADC 보드의 PCB의 그라운드 트레이스를 2 포인트 접점으로 하여 시스템의 커패시터 분해능이 1fF 이하가 되게 하였다. 센서로부터 발생하는 잡음을 소프트웨어 IIR 필터를 구현하여 제거하였다. 개발된 시스템은 thrombin을 10nM~1,000nM을 감지할 수 있으며 이때 커패시턴스 변화영역은 각각 0~5fF, 0~33fF 이다. 개발된 시스템은 넓은 커패시턴스 변화영역을 가지고 있기 때문에 특정 질병을 진단하는 마커 발굴과 발굴된 마커를 이용하여 질병을 진단하는 플랫폼으로 활용할 수 있다.

References

[1] Erlich H. A., "Polymerase chain reaction", Journal of clinical immunology, 9(6), pp.437-447, 1989
 [2] Geoffrey J. McLachlan, Kim-Anh Do, Christophe Ambroise, "Analyzing microarray gene expression data", Wiley, 2004
 [3] J. Park, I. C. Kim, J. Cha, S. Park, J. Lee, and

B. Kim, "Mechano-transduction of cardiomyocytes interacting with a thin membrane transducer.", Journal of Micromechanics and Micro-engineering, 17(6), pp.1162-1167, 2007

[4] Ron. Kohavi, "A study of cross-validation and bootstrap for accuracy estimation and model selection", Proceedings of the Fourteenth International Joint Conference on Artificial Intelligence, 2 (14), pp.1137 - 1143, 1995

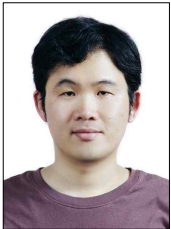
[5] Sangman Kim, et al. "Effective liver cancer diagnosis method based on machine learning algorithm.", Biomedical Engineering and Informatics (BMEI), 2014 7th International Conference on. IEEE, pp.632-636, (2014)

[6] Carol Redmond, Theodore Colton, "Biostatistics in Clinical Trials", John Wiley & Sons, 2001

[7] E. Rich, K. Knight, "Artificial intelligence", McGraw-Hill, 1991

BIOGRAPHY

Jung Seung-Pyo (Member)



2007 : BS degree in Electrical Engineering, Pusan National University.
 2009 : MS degree in Electrical Engineering, Pusan National University.
 2009~ : PHD course. Pusan National

Univ.

Choi Jun-Kyu (Member)



2005 : BS degree in Mechanical Engineering, Yeungnam University.
 2007 : MS degree in Mechanical & Aerospace Engineering, Seoul National University.
 2014 : PhD degree in Mechanical & Aerospace Engineering, Seoul

National University.

2014~Present : Senior Research Engineer, Small Machines inc.

Lee Jung-Hoon (Member)



1989 : BS degree in Mechanical Engineering, Seoul National University.

1991 : MS degree in Mechanical Engineering (Control Systems), Seoul National University.

2010 : PhD degree in Mechanical

Engineering (MEMS), University of California, Los Angeles.

2004~Present : Professor, Seoul National Univ.

2000~2003 : Assistant Professor, Northwestern Univ.

Park Ju-Sung (Member)



1976 : BS degree in Electrical Engineering, Pusan National Univ.

1978 : MS degree in Electrical Engineering, KAIST

1989 : PhD degree in Electrical Engineering, University of Florida

1978~1991 : Senior/Principal Engineer/Director, ETRI

1991~ : Professor of Electronics Engineering, Pusan National Univ.