

영상 처리 방법을 이용한 후각 상피 세포의 섬모 운동 특성 분석에 관한 연구

이원진, ¹박광석, ²민양기, ²성명훈
서울대학교 협동과정 의용생체공학과
¹서울대학교 의과대학 의공학교실
²서울대학교 의과대학 이비인후과학교실

A Study on the Analysis of Mucociliary Beat Frequency Using Image Processing

W. J. Yi, K. S. Park, Y. G. Min, M. H. Sung

Interdisciplinary Program of Med. and Bio. Eng. Major, Seoul Nat'l University
Dept. of Biomedical Engineering, College of Medicine, Seoul Nat'l University
Dept. of Otolaryngology Head and Neck Surgery, College of Medicine, Seoul Nat'l University

ABSTRACT

Mucociliary transport is one of the essential defensive functions of the airway mucosa. In this paper, the objective and quantitative method of measuring CBF(Ciliary Beat Frequency) was developed based on the image processing method. Microscopic ciliary images are acquired through image processing board inside PC, and data necessary for the FFT(Fast Fourier Transform) analysis are extracted. By means of FFT analysis, maximum peak frequencies are found in each divided block of a whole acquired image. Finally using these frequencies, we compose a frequency map showing the spatial distribution of CBF's.

1. 서론

섬모상피세포는 비강을 비롯해 호흡기도 내로 들어오는 이물질들을 섬모운동을 통해 제거한다. 섬모 운동 주파수(ciliary beat frequency; CBF)는 동물의 종 간에 따라 또는 종 내에서도 질병 유무에 따라 다양한 양상을 보인다. 이러한 섬모운동 주파수를 정량적으로 측정하기 위해 여러 가지 방법이 시도되어 왔다.

최초의 방법 가운데 하나는 스트로보스코프(stroboscope)를 이용한 측정 법인데 스트로보스코프의 주파수가 섬모 운동의 주파수와 동기화될 때 섬모가 가장 적은 움직임을 보이는 원리를 이용한 것이다. 그러나 이 방법은 여러 개의 섬모 세포들에 단일한 주파수를 제공하므로 한 개 세포의 시간에 따른 주파수 변화 또는 이웃한 개개의 세포들 간의 주파수 차이를 구별해 낼 수 없다. 그리고 섬모 운동을 스트로보스코프에 동기 시킬 때 조작자에 따라 서로 다른 결과를 도출할 가능성이 있다.

섬모 운동 주파수를 좀 더 정확하게 측정하기 위해 고속 영화촬영술(high-speed cinematography)을 이용하는 방법이 연구되었다. 그러나 이 방법을 통해서도 직접적인 섬모 운동 주파수의 측정은 불가능하며 이를 이용하기 위해서는 인력과 경비가 많이 드는 등 비경제적이다.

그후로 최근까지 광전 신호(photoelectric signal)를 이용하는 방법이 많이 이용되었다. 이 방법은 섬모의 규칙적인 운동에 의해 투과되는 빛 또는 반사되는 빛의 양이 변화하게 되는데, 이를 감지하는 소자가 광학적 신호를 전기적인 신호로 변환시키는 성질을 이용한 것이다. 이 방법에 의해 분석할 수 있는 공간적 해상도는 약 10개 정도의 세포에 상당하며 따라서 측정되는 주파수는 세포들의 평균값이 된다. 레이저를 이용하여 산란되는 빛을 측정하여 측정 대상을 1개 내지 2개의 세포로 한정시킬 수 있는 방법도 시도되었다. 또한, 들어오는 빛의 반경을 좁힘으로써 개개 섬모 세포의 운동 주파수의 측정 감도를 높이는 방법도 연구되었다. 이 방법은 레이저 산란 방법보다 간단하며 Fast Fourier Transform(FFT)를 이용하여 주파수를 분석하였다.

섬모 운동에 영향을 주는 요소는 질병, 약물 등을 비롯하여 여러 가지가 있다. 이러한 영향에 대한 분석의 정확성이 보장되기 위해서는 분석 방법이 객관적이고 분석 결과가 정량화 되어야 한다. 또한, 섬모 운동 분석에 있어서는 세포마다 섬모 운동 주파수가 다르므로 분석 대상을 한 개의 세포에 한정시킬 수 있는 분석 방법이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 위와 같은 조건을 만족시키면서 능률적으로 쉽게 이용할 수 있는 섬모 운동 분석 방법을 연구하였다.

2. 연구내용

본 연구는 현재의 발달된 영상 처리 시스템 및 영상 처리 방법을 바탕으로 지금까지 연구된 여타의 방법과는 다른 맥락에서 섬모 운동 주파수를 분

석한다. 즉 현미경에서 관찰되는 섬모 운동에 의해 야기되는 직접적인 아날로그 신호를 이용하지 않고 디지털화된 섬모 영상으로부터 나오는 정보를 이용한다.

분석 시스템은 섬모 운동을 관찰하기 위한 현미경과 여기에 장착된 CCD카메라 그리고 PC와 영상처리보드로 구성된다. 분석에 사용되는 현미경의 광학적 영상은 CCD카메라에 의해 NTSC 아날로그 영상 신호로 전환된다. 이 영상 신호는 PC에서 분석할 수 있도록 PC에 장착된 영상처리보드를 통해 디지털 신호로 변환된다. 이 중 분석에 필요한 부분만이 다시 PC로 옮겨진다. 획득된 연속적인 영상 신호로부터 분석에 필요한 데이터를 얻어 FFT분석을 통해 섬모 운동 주파수를 구하게 된다. 전체적인 시스템 구성은 다음과 같다.

-현미경 : 보통의 광학현미경을 사용하며 현미경의 배율은 한 개의 섬모 세포가 영상에서 차지하는 가로, 세로의 화소 크기와 한 개의 화소가 나타낼 수 있는 공간적 정보량에 의해 적절하게 결정된다. 즉, 섬모 운동이 충분한 광량의 차이를 유도할 수 있을 정도의 배율이 되어야 한다. 보통의 광학 현미경을 이용할 경우 1000배 정도의 배율이면 분석에 충분한 광량의 차이를 보인다. 약물 사용에 따른 반응 등을 보기 위해서는 도립 현미경(inverted microscope)이 적합하며 섬모 세포의 운동을 일정한 수준으로 유지하기 위해서 항온기(heated chamber)가 필요하다.

-CCD카메라 : CCD 카메라는 현미경의 광학적 신호를 NTSC 영상 신호로 전환시킨다. 이 때 전환되는 영상의 크기는 가로 512화소, 세로 470화소이다. 이 영상은 NTSC 표준 신호로서 1초당 30개의 프레임 즉 60 필드로 구성된다. 지금까지 알려진 섬모의 보통 주파수는 15Hz 내외이다. 따라서 섬모 운동 분석시 운동의 왜곡(aliasing)을 막기 위해서는 30Hz-1초당 30상(image)-이상의 영상 수집 속도가 필요하다. 또한, 15Hz 이상의 주파수 증가 등을 분석하기 위해서는 60Hz-1초당 60상-의 영상수집 속도도 필요하다. 따라서 NTSC 신호는 CBF 분석에 충분한 정보를 제공한다.

-영상처리(수집)보드 : CCD 카메라에서 나오는 NTSC 영상 신호는 PC에서 분석 가능하도록 PC에 장착된 영상처리보드에 의해 디지털화된 영상 신호로 바뀐다. 디지털화된 영상의 한 화소는 8비트로 표시되므로 256가지의 밝기로 표시된다. 현미경의 배율이 1000배일 경우에도 전체 영상에는 섬모 세포가 동시에 다수가 나타날 수 있기 때문에, 특정 부분의 세포에 대해 운동 특성을 분석하기 위해서는 전체 영상에서 측정하고자 하는 부분만을 수집하여 분석한다. 이 때 수집되는 영상은 보통 가로 128화소, 세로 100화소의 초당 30프레임(60필드)으로 이루어진다.

-PC : 수집된 영상은 분석을 위해 PC의 메모리로 옮겨진다. 이때 필요한 모든 데이터를 모두 옮길 수 있도록 PC의 데이터 전송속도가 충분히 빨라야 하는데 현재 상용화되고 있는 PC(Pentium)는 이것을 가능하게 한다. 일단 메모리로 데이터가 전송되면 모든 정보처리는 개발된 응용 프로그램에 의해 이루어진다.

-응용 프로그램 : 수집된 영상에서 도출된 데이터로부터 필요한 결과를 계산 분석하며, 획득된 데이터와 분석된 결과를 시각화시켜서 사용자에게 보여준다.

1) 데이터 추출 방법

수집된 영상으로부터 크게 두 가지 방법으로 분석에 필요한 데이터를 도출한다. 하나는 수집되는 영상 화소들의 밝기의 전체적인 총합의 변화량을 이용하는 방법이다. 다른 하나는 기준이 되는 초기 영상에 대한 다른 영상의 상대적인 밝기의 변화량을 이용하는 방법이다. 여기서 도출된 밝기의 시간에 따른 변화량 또는 상대적 밝기의 시간에 따른 변화량은 섬모 운동 주파수를 추출하기 위해 FFT분석을 한다.

수집된 영상(128*100)은 직사각형의 구역(block)으로 나누어져 각각 영역별로 분석한다. 이때 구역의 크기는 64*50으로부터 1*2까지 다양하게 구분하며 최적의 결과를 도출할 수 있는 구역의 크기를 선택한다. 이 방법을 이용하면 한 개의 섬모 세포의 운동 특성을 주위의 영향을 배제하고서 분석할 수 있다. 연속적으로 수집되어 분석되는 영상의 개수는 보통 64(약 2초)개 이거나 또는 128(약 4초)개 이다.

전체 밝기의 변화량을 이용하는 방법은 연속적으로 수집된 각 영상의 분리된 구역의 전체 화소의 밝기를 모두 더한 후 그 변화량을 분석하는 방법이다. 즉 구역 전체의 밝기 변화량을 분석한다. 이 방법은 광전효과(photoelectric effect) 방법과 연속선상에 있는 방법으로서 단지 광량의 변화량을 나타내는 영역이 분석하고자 하는 세포에 정확하게 한정시킬 수 있다는 것만이 다를 뿐이다. 구역의 크기가 작을 경우에는 추출된 데이터의 변화량이 유의한 차이를 보이지 않을 수 있고, FFT분석을 해도 지배적인 주파수 성분을 분명하게 나타내지 못할 수 있다. 기본적인 데이터 추출식은 다음과 같다.

$$b(k) = \sum_{x,y} g_k(x,y), \quad k=0 \dots 63 \text{ or } 127$$

k : Number of frame

$g_k(x,y)$: Brightness of pixel(x,y)

상대적인 밝기의 변화량을 도출하기 위해서는 첫 번째 영상으로부터 연속적으로 수집된 영상의 화소 대 화소 밝기의 차이를 구한 다음 제곱한 뒤, 모든 값을 더해서 시간에 따른 변화량을 본다. 섬모 운동이 주기성을 보인다면 이 데이터 또한 주기성을 갖게 되고 따라서 FFT 분석시 특정한 주파수에 해당하는 값에서 최고치를 얻게 있다. 이 방법을 이용하면 추출되는 데이터는 다음과 같이 표현된다.

영상 처리 방법을 이용한 후각 상피 세포의 섬모 운동 특성 분석에 관한 연구

$$c(k) = \sum_{x,y} [g_k(x,y) - g_0(x,y)]^2,$$

$$k = 0 \dots 63 \text{ or } 127$$

k : Number of image frame

$g_k(x,y)$: Brightness of pixel(x,y)

2) 데이터 분석 방법

도출된 데이터로부터 푸리에 변환(FFT분석)을 통해 CBF를 찾아낸다. 푸리에 변환은 시간 변화에 따른 데이터 값(시간 신호)을 주파수 변화에 따른 주파수 분포(주파수 신호)로 변환하는 방법이다. 시간 신호가 한 개의 주파수(주기)를 가지면서 변한다면 푸리에 변환 결과는 해당하는 주파수의 한 개의 값 만이 0이 아닌 값을 가지게 된다. 일반적인 생체 신호는 여러 주파수 대에 걸쳐서 다양한 분포를 갖는다. 그러나 섬모 세포의 운동처럼 주기적으로 반복되는 신호에 대해서는 일반적으로 특정한 주파수 값에서 최고치를 나타낸다. 따라서 이 주파수 값을 섬모 세포 운동의 특성을 나타내는 CBF로 볼 수 있다. 푸리에 변환을 하는 식은 다음과 같다.

$$F(w) = \sum_{k=0}^{N-1} a(k) e^{-j \frac{2\pi k w}{N}}, \quad w = 0 \dots N-1$$

FFT 변환의 결과는 N을 주기로 가지는 주기 함수가 된다. 실제로 변환 대상이 복소수가 아닌 실수일 경우에는 결과는 주기의 절반을 기준으로 해서 대칭적인 양상을 나타낸다. 따라서 반복되는 한 주기 가운데 절반만이 의미 있는 정보를 제공한다. 즉 30Hz(30 images/sec)의 속도로 영상을 수집해서 분석했을 때는 15Hz(CBF)까지 만이 의미 있는 정보를 제공한다.

3. 결론

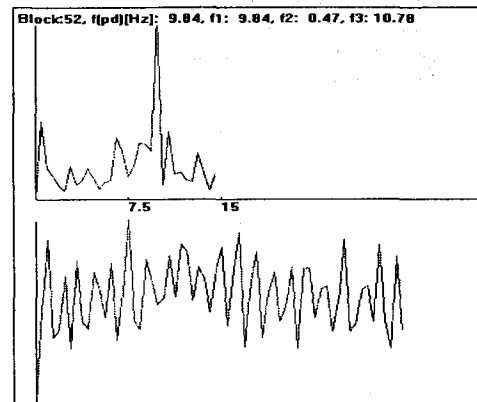
밝기 차이의 시간에 따른 변화량을 분석한 결과가 아래의 그림1에 나타나 있다. 그림1의 아래 그래프는 특정한 구역(16*12크기 구역의 52번째 block)에 대한 시간에 따른 데이터를 도시했으며 위 그래프는 아래 그래프의 데이터를 FFT한 결과이다. 시계열 데이터는 30Hz로 획득된 64개(약 2초) 동안의 데이터이다. 따라서 FFT된 그래프의 주파수 간격은 64/30이 되고 15Hz까지만 의미가 있다.

구역으로 나누어진 뒤 분석된 다음 전체적인 주파수 분포를 보기 위해 주파수 지도(map)를 구성한 것이 그림2와 그림3에 보여지고 있다. 즉 구역(16*12)의 FFT한 결과의 최고치 주파수를 색깔로 구분해서 해당하는 구역 전부를 같은 색으로 표시한 것이다. 그림2는 지도를 구성할 때 FFT 결과의 두 번째로 높은 값이 최고치의 80% 이하인 구역만을 나타낸 것이다. 나머지 구역은 실제의 영상으로 채워진다. 대부분의 구역에서 첫 번째 최고치와 두 번째 최고치 사이에 유의한 차이를 보이지만 여러 가지 잡음의 영향으로 확실한 최고치를 구분할 수

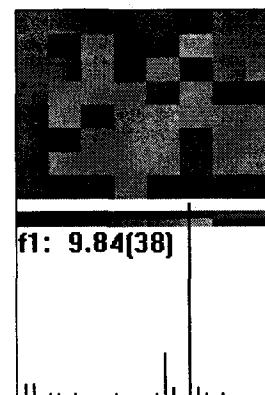
없는 구역을 제외시킨 것이다. 그림3은 더욱 확실한 주파수 분포를 보기 위해 최고치의 60% 이하인 구역만을 그린 것이다.

분석하는 구역의 크기를 줄이면 좀 더 자세한 주파수 분포를 볼 수 있다. 그러나 최고치 주파수 분포는 전반적으로 더욱 랜덤화되어 간다. 구역의 크기가 4*3일 때의 주파수 지도가 그림4에 나타나 있고 1*2일 때의 결과가 그림 5에 나타나 있다.

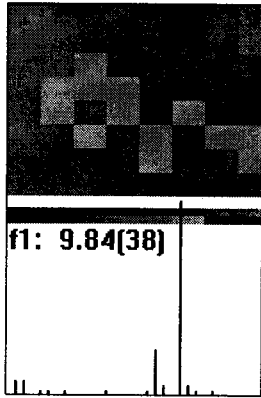
전체적인 밝기의 시간에 따른 변화를 분석하는 방법과 밝기의 차이의 시간에 따른 변화를 분석하는 방법이 서로 거의 유사한 결과를 보였으나, 분석에 포함되는 구역의 크기가 작아짐에 따라 전체 영상에 나타나는 최고치 주파수의 분포가 전체적인 밝기 변화량을 분석하는 방법에 있어서 더 쉽게 랜덤화하는 경향을 나타냈다.



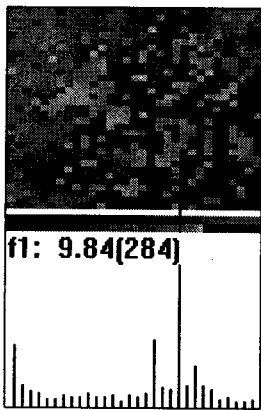
(그림1) 밝기 차이의 변화량과 FFT한 결과



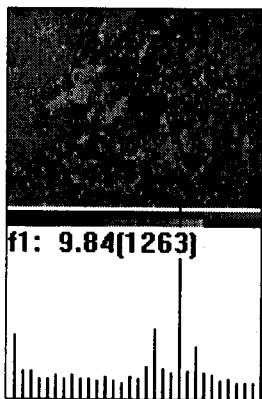
(그림2) 주파수 지도(80%)와 최고치의 통계



(그림3) 주파수 지도(60%)와 최고치의 통계



(그림4) 주파수 지도(4*3)와 최고치의 통계



(그림5) 주파수 지도(1*2)와 최고치의 통계

측정할 수 있는 방법을 개발하였다. 이 연구는 후각 상피 세포의 섬모 운동과 비슷한 양상을 띠는 체내의 다른 세포에도 응용될 수 있으며 임상에서 여타의 다른 분석 방법에 비해 경제적으로 사용될 수 있다는 장점이 있다. 그러나 아직도 미진한 부분이 없지는 않아서 부가적인 연구 과제가 남겨져 있다. 즉 15Hz가 넘는 섬모 운동 주파수를 측정하기 위한 방법의 연구와 이것에 대한 검증, 분석되는 영상의 범위를 관찰되는 영상 전체로 확대시키는 문제, 또 체내의 섬모 세포의 운동 측정을 위한 방법의 확립 등이 그것이다.

參 考 文 獻

- [1] K.J.A.O Ingels, et al A study of the photoelectrical signal from human nasal cilia under several conditions, Acta Otolaryngol 1992; 112:831-838.
- [2] John R. Kennedy, et al The study of ciliary frequencies with an optical spectrum analysis system, Experi Cell Res 1981; 135:147-156.
- [3] Jean Yager, M.S. et al Mesurement of frequency of ciliary beats of human respiratory epithelium, Chest 1978; 73:627-633
- [4] A. Reimer, N.G. Toremalm The mocociliary activity of the upper respiratory tract, Acta Otolaryngol 86:283-288
- [5] M. Rautiainen, et al Degeneration of human respiratory cell ciliary beat in monolayer cell cultures, Eur Arch Otorhinolarygol 1993; 250:97-100
- [6] Koen J.A.O. Ingels, et al Influence of cocaine and lidocaine on human nasal cilia, Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1994; 120:197-201
- [7] A. Gyi, et al Effect of halothane on cilia beat frequency of ciliated human respiratory epithelium in vitro, Brit Jou Anaesthesia, 1994; 73:507-510
- [8] K.J.A.O. Ingels et al Ciliary beat frequency and the nasal cycle, Eur Arch Otorhinolaryngol, 1990; 248:123-126
- [9] K. Hisamatsu, Factors Relevant to Ciliary Activity of the Airway Mucosa, 山梨医大紀要, 1995; 12:23-34

본 연구는 지금까지 쉽게 분석할 수 없었던 후각 상피 세포의 섬모 운동 주파수를 자동적으로 쉽게