

광간섭 단층 영상기술을 이용한 생체 내 microneedle 삽입 구조 영상

High-resolution imaging of microneedles in biological tissue with optical coherence tomography

김 훈*, 허 정*, 이강주*, 유수호*, 류원형*, 주철민†

Hun Kim, Jung Heo, Kang Ju Lee, Su Ho Ryu, Won Hyoung Ryu and Chulmin Joo

(2013 년 3 월 15 일 접수; 2013 년 3 월 22 일 심사완료; 2013 년 3 월 24 일 게재 확정)

Abstract

Optical coherence tomography (OCT) allows non-invasive, cross-sectional optical imaging of biological tissue with high spatial resolution and acquisition speed. In principle, it is analogous to ultrasound imaging, but uses near-infrared light instead of ultrasound, measuring the time-delay of back-scattered light from within biological tissue. Compared to ultrasound imaging, it exhibits superior spatial resolution (1~10 μm) and high sensitivity. Therefore, OCT has been applied to a wide range of applications such as cellular imaging, ophthalmology and cardiology. Here, we describe a novel application of OCT technology in visualizing microneedles embedded in tissue that is developed to deliver drugs into the dermis without the injection mark in the human skin. Detailed three-dimensional structural images of microneedles and biological tissues were obtained. Examining structural modification of microneedles and tissues during insertion process would enable to evaluate performance of various types of microneedles *in situ*.

Key Words : Optical coherence tomography, Microneedle structural imaging

1. 서론

Microneedle 은 사용 시에 그 바늘 사이의 간격이 피부의 통점의 간격보다 좁고 또 진피 부분에서 통점의 깊이보다 Microneedle 의 투과 깊이가 짧은 경우가 많아 우리 몸에 큰 고통을 야기하지 않는다. 또 표피가 아닌 진피로 바로 약물을 전달할 수 있고 주사기 자국 등도 많이 남지 않아 미래 화장품 산업이나 피부과 치료 등에 사용 가능성이 큰 분야이다. 따라서 많은 곳에서 Microneedle

의 재질 및 모양을 변경하며 성능을 높이려는 연구가 꾸준히 진행되고 있다.[1]

그럼에도 불구하고, 지금까지 Microneedle 을 통한 약물 전달이 잘 이루어지는 지에 대한 판단이나 Microneedle 의 모양이 생체 조직에 들어감에 따라 구조의 변화가 어떻게 변하는지에 대한 판단 방법 개발 등의 관련 연구는 현재 많이 이루어지지 않았다.

전통적으로 Microneedle 의 성능이나 약물의 분포를 확인해보기 위해서는 약물이 들어간 피부 조직을 부분적으로 직접 떼어내거나 사용 후의 Microneedle 의 변형된 모양으로 유추하는 것과 같이 체내에 사용하고 있는 그대로의 상태에서 바로 이루어질 수도 없을뿐더러 직접적이지 않은 방법이 대다수이다.[2] 따라서 여러 산업에 각광받고 있는 Microneedle 기술의 빠른 성능 향상 및 개발을 위해서는, Microneedle 이 체내에 삽입되면서 체

† Biomedical Optics & Instrumentation Laboratory (BOIL)

E-mail : cjoo@yonsei.ac.kr

TEL : 82-2-2123-5822

* Department of Mechanical Engineering, Yonsei Univ

내에서 퍼지는 직접적인 약물 전달 과정이나 피부에 그 Microneedle 이 들어감에 따라 삽입 주변 부분의 피부 조직이나 Microneedle 의 구조적인 변화가 어떻게 이루어지는가를 고분해능과 실시간으로 판단할 수 있어야 한다.

이러한 관점에서, 광간섭 단층 영상기 (Optical coherence tomography)는 피부에 꽂혀있는 Micro-needle 의 구조를 별다른 조작 없이 확인할 수 있다는 점에서 이 분야에 응용 가능성이 큰 기술이다. 또한, 기존 초음파 영상기와 달리 향상된 해상도를 제공하기 때문에 크기가 작은 Micro-needle 의 tip 모양을 종류별로 체 내에서 찍어볼 수도 있거나 더 나아가 Microneedle 이 꽂혀있는 주변 조직들의 모양도 관찰 가능할 것으로 생각된다. 본 연구에서는 고분해능 OCT 영상 기술을 개발하고 이용하여 생체조직에 삽입된 Microneedle 의 구조적 영상을 실시간으로 관찰하여 보고자 한다.

2. 광간섭 단층 영상기

2.1 광간섭 단층 영상기

광간섭 단층 영상기술 (OCT)은 근적외선 파장 (0.8~1.3 μm) 대의 저간섭 광원(Low coherence Light Source)을 사용한 Michelson 간섭계를 이용하여 물체의 내부 단층 구조와 기능적 정보를 비침습, 실시간, 고해상도로 측정할 수 있는 기술이다.

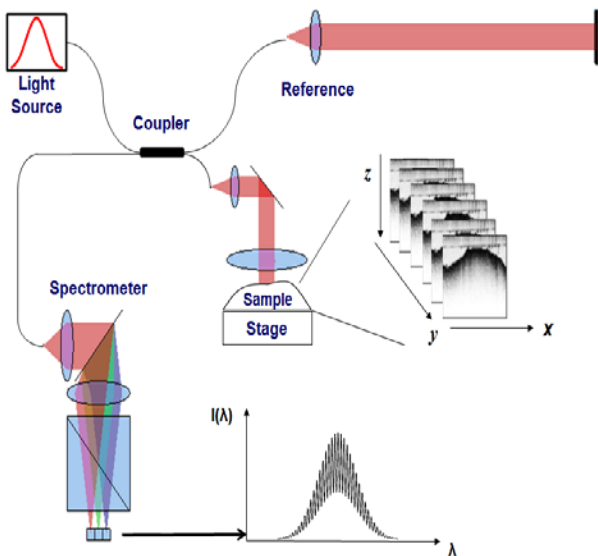


Fig. 1 Schematic of optical coherence tomography.

Huang et al. 이 최초로 개발한 OCT 기술은 급속한 속도로 발전하여 다양한 임상분야로 적용되었다.[3] OCT 기술은 동작 원리를 기준으로 시간 영역 OCT 기술과 주파수 영역 기술로 분류할 수 있으며, de Boer et al. 이 증명한 바와 같이 주파수 영역 기술이 시간영역 기술과 비교하여 향상된 민감도와 속도를 제공하여 많은 연구진들이 주파수 영역 OCT 기술 연구를 진행하고 있다. [4] Fig.1 는 광간섭 단층 영상기의 기본 구성도로 크게 광대역 파장의 저간섭 광원과 탐지기(Detector), 시료 관찰대(Sample Arm)와 기준 관찰대(Reference Arm), 이를 연결해 줄 광섬유 기반 광분리기(Beam Splitter) 또는 간섭계(Coupler)로 구성된다.

광대역 파장 광원에서 나온 빛은 광분리기 혹은 간섭계에서 시료 관찰대와 기준 관찰대로 나뉘어진다. 시료 관찰대로 입사된 빛은 렌즈를 통해 생체조직에 입사되고 입사된 광은 조직 내부 모든 깊이 층에서 반사된다. 반사된 빛 중에서 렌즈의 초점 심도 주변에서 산란된 빛만이 효과적으로 시스템으로 재반사되며, 기준 거울에 의해 반사된 빛과의 간섭 신호를 측정한다.

여기서 깊이 정보를 얻는 방법에 따라 시간 영역 광간섭 단층 영상기와 주파수 영역 광간섭 단층 영상기로 구분된다. 시간 영역 광간섭 단층 영상기의 경우 기준 거울을 시간에 따라 선형적으로 왕복시켜 간섭 거리가 위치하는 깊이를 변화시켜 깊이 정보를 얻는다. 이러한 방법은 구성하기 쉬우나 거울의 관성으로 인해 스캔 속도의 제한을 가지고 기계적 움직임에 의한 노이즈를 가지는 한계를 가지고 있다. 이에 반해 주파수 영역 광간섭 단층 영상기는 기준 거울을 고정시켜 둔 채 파장에 대한 간섭파 주기가 깊이에 따라 서로 다른 점을 이용하여 깊이 정보를 얻는다. 주파수 영역의 광간섭 단층 영상은 빠른 속도로 영상을 얻을 수 있으며, 기계적인 진동 또한 적어 더욱 선명한 영상을 얻을 수 있다.

2.2 Optical Frequency Domain Imaging (OFDI)

주파수 영역 OCT 기술은 간섭 신호를 측정하는 방법에 따라 Spectral-domain OCT 와 OFDI 로 분류되며, 본 연구를 위하여 개발하고 사용한 OCT 기술은 OFDI(Optical Frequency Domain Imaging, OFDI)이다. OFDI 는 초고속 파장 가변 레이저(Wavelength

swept laser)와 초고속 탐지기를 동기화하여 빠른 속도로 시간의 함수로 변하는 파장별 간섭 신호를 고속으로 측정하고 신호처리를 통하여, 높은 해상도의 영상을 얻을 수 있는 장치이다.[5-6]

Fig.2 는 본 연구를 위하여 사용된 OFDI 시스템의 기본 구성도이다. 초고속 파장 가변 광원 (Wavelength-Swept light source) 는 중심파장 1310nm, 파장 영역대 1250nm 부터 1360nm 를 가지는 AXSUN 사의 SSOCT-1310 을 사용하였다. 1310nm 근처의 영역은 생체 조직에 의한 흡수와 산란이 적어 깊은 영상 투과가 가능하다. 초고속 탐지기로는 Thorlabs 사의 Balanced Detector 인 PDB410C 를 사용하였으며, 신호 취득에 있어서는, 최고 속도 250MHz 까지 제공하는 AlazarTech 을 ATS9350 Digitizer 를 사용하였다. 개발된 OFDI 기술은 최고 3mm 의 깊은 투과 깊이를 가지고 있으며, 공간 해상도 25 μ m, 깊이 해상도는 5 μ m, 신호-잡음비는 90dB 이다.

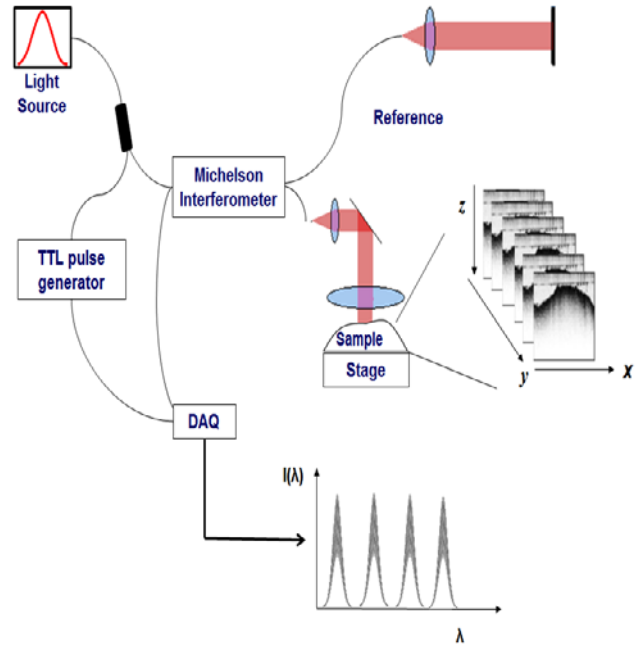


Fig. 2 Block diagram of Optical Frequency Domain Imaging.

3. Microneedle

3.1 실험에 사용한 Microneedle

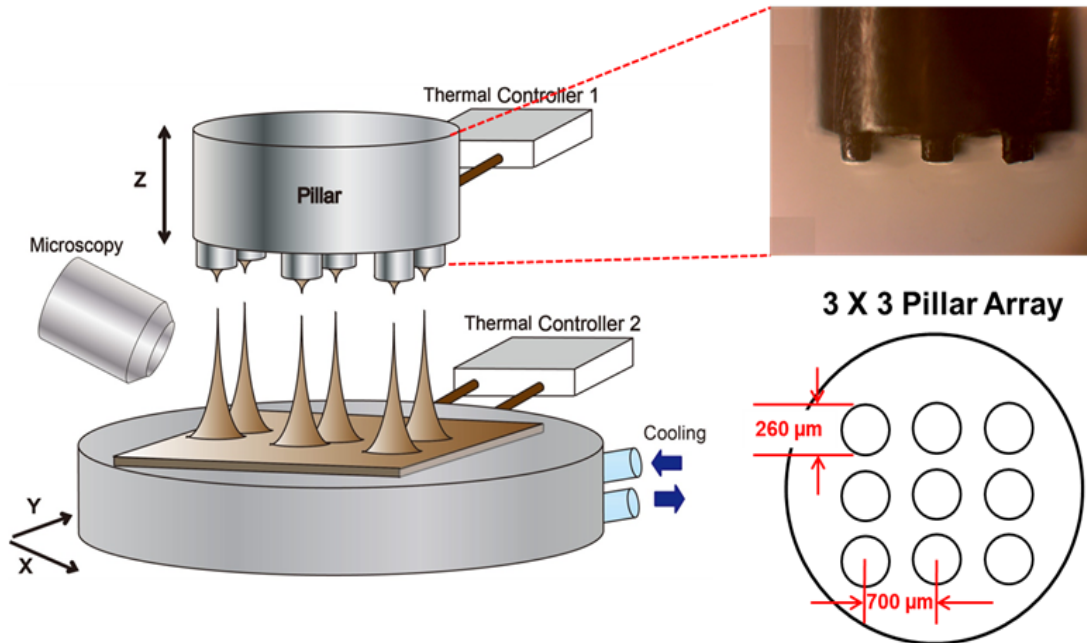


Fig. 3 Thermal drawing system for fabricating microneedle.

같은 생체조직이라도 위치에 따라 조직 morphology 나 dimension 이 다르고 용도에 따라 다른 종류의 생체조직에 적용되어야 하는 Microneedle 의 쓰임새에 미루어볼 때, thermal drawing 방식을 이용한 Microneedle 공정법은 형태에 따른 기타 부속품이나 다른 시스템이 필요치 않고 하나의 시스템 상에서 drawing speed 및 온도의 변경 만으로 목적에 맞는 다양한 형태의 Microneedle 을 만들 수 있는 장점이 있다.

본 실험에서 사용된 Microneedle 은 Fig. 3 과 같이 생분해성 고분자 poly(lactic-co-glycolic)acid 90/10 (PLGA90/10) 을 필름 형태로 가공한 후 유리전이온도(Glass transition temperature) 이상의 열을 가해 viscous 한 고분자를 Micro-pillar 에 접촉하여 위로 들어올려 needle 구조를 형성하게 하는 thermal drawing 방식을 사용하여 제작한다. 이전 소개된 연구들과 같이 [2] 고분자 필름을 들어올릴 Micro-pillar 와 substrate 위에 놓인 고분자 필름의 온도를 조절하여 표면에너지 차이를 제어하며 원하는 body profile 의 Microneedle 구조를 만들어 낼 수 있다.

이번 실험에서 생체조직에 삽입된 Micro-needle 은 총 세 단계의 drawing 과정을 거쳐 만들어진다. 고분자 필름의 온도를 200°C 까지 올린 후 120°C 로 가열된 Micro-pillar 를 고분자 필름에 접촉 후 100µm 를 들어 올린다. 이후 Micro-pillar 온도를 150°C 로 올린 후 이미 들어올려진 고분자를 높이 700µm 까지 들어 올린다. 그 후 고분자 필름이 놓여진 substrate 을 상온으로 내리는 동시에 Micro-pillar 온도를 200 도로 올려 needle tip 을 만들어내며 Microneedle 을 형성한다. (Fig. 4)

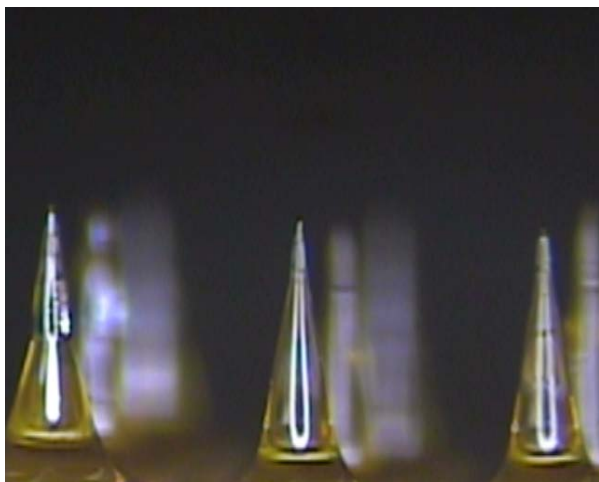


Fig. 4 Stereoscopic image of microneedle array.

4. 실험 결과

4.1 실험 조건

OCT 기술을 이용한 비침습적 실시간 영상화를 검증하기 위하여 생체조직에 삽입된 Micro-needle 을 영상화 하는 실험을 수행하였다. 본 실험을 위하여 지름 260µm, 높이 700µm 의 3 x 3 배열 구조의 Microneedle 을 사용하였다. 이 Microneedle 은 Fibrous 소재로 빛을 잘 투과하는 물질이다.

Microneedle 이 들어가는 것을 관찰할 시료로는 돼지 목살 부위를 사용하였다.

2cm x 2 cm 면적을 50000 깊이정보/sec 의 속도로 촬영하였으며, 이 때 초당 100 개의 깊이 단면 영상을 얻을 수 있다 (100 frames/sec). 실험은 상온 (25°C)에서 수행하였다.

4.2 실험 결과

Fig.5 은 위의 조건으로 촬영한 생체 내 삽입된 Microneedle 배열의 측면 단층 영상이다. 그림에서 관찰 가능하듯이 Microneedle 배열은 생체 조직에 직접적으로 재반사되는 강한 빛을 피하고자 다소 비스듬히 꽂혔으며, 3 개의 Microneedle tip 이 한 번에 보이지 않는 이유는 스캔하는 방향이 Microneedle 이 꽂혀있는 배열 판과 평행하지 않고 대각선으로 진행되기 때문이다. Fig. 5 의 측면 단층 영상에서 대각선으로 밝게 빛나는 Microneedle 배열 판을 보면, Microneedle 이 샘플에 대해 비스듬히 꽂혀있음을 보여준다. Microneedle 의 표면에서 빛의 반사가

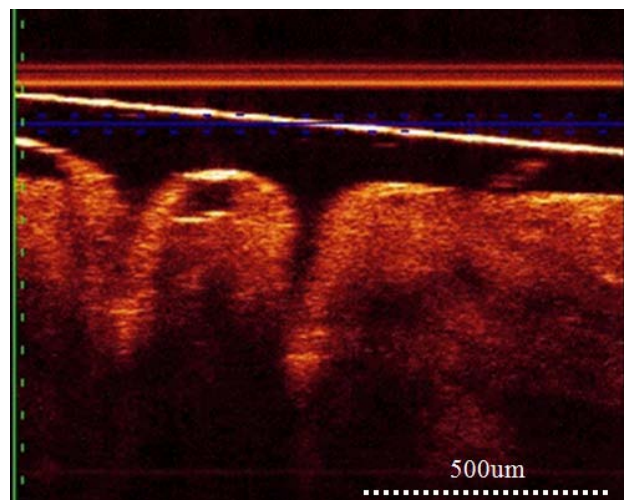


Fig. 5 Cross-sectional side OCT image of microneedle array

많이 일어나 밝게 나타나며 Microneedle 의 내부는 빛을 대부분 통과시키므로 어둡게 나타난다. 돼지 목살 조직의 단층 구조를 관찰할 수 있으며 이는 각 층의 조직의 밀도 및 성분에 따라 다른 광학 성질을 가지고 있기 때문이다. Microneedle 과 돼지 목살의 이러한 대조되는 성질을 통해 Microneedle 이 돼지 목살 조직에 꽂힌 모양을 정확히 관찰할 수 있었다.

Fig. 6 은 깊이에 따른 윗면 단층 영상이다. 이 영상에서 3 x 3 개의 Microneedle 배열을 확인할 수 있으며 깊이가 내려감에 따라 점점 뾰족해지며 반지름이 줄어드는 Microneedle 의 모양을 확인할 수 있다. 또한 표면의 Microneedle 배열 판보다 깊은 부분의 단층 영상인 Fig. 6b 나 Fig. 6c 를 보면 Microneedle 의 삽입으로 인하여 생긴 주변 조직의 주름도 확인할 수 있다.

5. 결론

Fibrous 소재의 Microneedle 을 사용하여 생체 조직에 꽂혀있는 상태로 그 구조 영상을 관찰하려 하였다. 그를 위해 광 주파수 영역 OFDI 시스템을 구성하였다. 또 사용한 Microneedle 은 새로운 제작 방식인 Spatially discrete thermal drawing(SDTD)

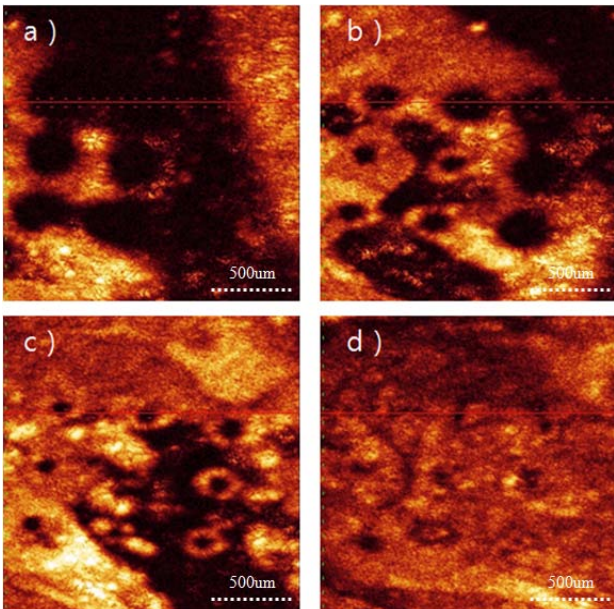


Fig. 6 Cross-sectional OCT images of 3 x 3 Microneedle array in response to depth. OCT tomograms obtained from a) 0um b) 75um c) 150um d) 300um.

을 이용해 제작되었다. 제작한 OFDI 장치를 이용해 3 x 3 배열의 Microneedle 들의 측면 단층 영상 및 깊이에 따른 단층 영상을 확인하였으며 주변 조직들의 모습도 확인할 수 있었다. 더 나아가, 본 연구에서 영상 촬영한 것을 바탕으로 하여, Microneedle 의 구조나 주변 조직들이 피부에 들어간 깊이에 따라 어떻게 변화하는 지도 확인해 볼 수 있을 것이다. 또 그러한 연구는 선행 연구를 통해 알려진 각 위치의 위상 변화를 고려해 보다 민감한 OFDI 시스템을 사용할 수도 있을 것이다.[6]

후 기

이 논문은 2012 년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2012-8-0671).

참고문헌

- [1] R. F. Donnelly, M. J. Garland, D. I. Morrow, K. Migalska, T. R. Singh, et al., 2010, "Optical coherence tomography is a valuable tool in the study of the effects of microneedle geometry on skin penetration characteristics and in-skin dissolution", *Journal of Controlled Release*, Vol. 147, No.3, pp. 333-341
- [2] Chang Kuk Choi, Kang Ju Lee, Young Nam Youn, Eui Hwa Jang, Woong Kim, et al., 2013, "Spatially discrete thermal drawing of biodegradable microneedles for vascular drug delivery", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol.83, No.2, pp224-233
- [3] D. Huang et al., 1991, "Optical coherence tomography." *Science*, Vol. 254, No. 5035, pp. 1178-1181
- [4] Johannes F. de Boer, Barry Cense, B. Hyle Park, Mark C. Pierce, Guillermo J. Tearney, et al., 2003, "Improved signal-to-noise ratio in spectral-domain compared with time-domain optical coherence tomography," *Optics Letters*, Vol. 28, Issue 21, pp. 2067-2069
- [5] S. H. Yun, G. J. Tearney, J. F. de Boer, N. Iftimia, and B. E. Bouma, 2003, " High-speed optical frequency-domain imaging", *Optics Express*, Vol.11, No.22, pp. 2953-2963
- [6] B. J. Vakoc, S. H. Yun, J. F. de Boer, G. J. Tearney, and B. E. Bouma, 2005, "Phase-resolved optical frequency domain imaging", *Optics Express*, Vol.13, No.14, pp.5483-5493.