

광음향 현미경을 이용한 국소 코르티코스테로이드에 의한 혈관 변화 모니터링

김동규¹, 안중호¹, 박은우¹, 김진영¹, 김철홍^{1*}

포항공과대학교 전자전기공학과, IT융합공학과, 기계공학과

Monitoring of vascular changes by topical corticosteroid using photoacoustic microscopy

Donggyu Kim¹, Joongho Ahn¹, Eunwoo Park¹, Jin Young Kim¹, Chulhong Kim^{1*}

Department of Electrical Engineering, Convergence IT Engineering, Mechanical Engineering, and Medical Device Innovation Center, Pohang University of Science and Technology (POSTECH), Korea

*chulhong@postech.edu

Abstract

Topical corticosteroid is a common medication prescribed by dermatologists for skin problems. The corticosteroid mechanism exhibits anti-inflammatory action by constricting the capillaries of the shallow dermis. The potency of the corticosteroid is determined according to the degree of skin blanching effect caused by vasoconstriction. Since the potency of corticosteroid can be evaluated by quantifying the vasoconstriction mechanism, several studies have been attempted to more accurately analyze the mechanism. Most of the existing methods, however, have approached in a way of quantifying the blanching effect caused by vasoconstriction. Here, we directly visualized and quantitatively evaluated vasoconstriction using photoacoustic microscopy.

1. 연구 배경

국소 코르티코스테로이드 (topical corticosteroid)는 피부과 질환에 처방되는 일반적인 약물로, 여러 매개체 (mediator)의 합성 및 기능에 영향을 미쳐 염증 및 면역 반응을 비특이적으로 감소시키는 항염증제이다. 일반적으로 코르티코스테로이드는 아토피 피부염, 천식 및 류마티스 관절염 등에 치료 효과가 있는 것으로 알려져 있고, 특히 염증성 피부 질환에 대한 코르티코스테로이드의 효능은 1951년 Sulzberger 등에 의해 발견되어 지금까지 널리 사용되고 있다[1]. 최근 코르티코스테로이드는 피부과 질환 외에도 패혈성 쇼크, 급성호흡곤란증후군, 기도부종 등을 가진 중환자에게도 사용된다[2].

코르티코스테로이드는 혈관수축 (vasoconstriction)과 항염 (anti-inflammatory)을 주요 기전으로 작용하며, 프로스타글란딘 (prostaglandin)과 같은 혈관확장제의 분비를 억제함으로써 모세혈관을 수축시켜 항염 작용을 나타낸다[3]. 이 때, 모세혈관 수축에 기인한 피부의 blanching effect의 정도에 따라 코르티코스테로이드의 역가 (potency)가 결정된다. 이처럼 국소 코르티코스테로이드 제품은 항진균제나 항균제와 같은 다른 치료 계열의 약물과 달리 역가에 따라 등급이 매겨지고 분류된다[4].

모세혈관을 수축시켜 피부를 희게 하는 스테로이드의 기작을 정량화 하여 코르티코스테로이드의 역가를 평가할 수 있기 때문에 blanching effect를 보다 정확하게 분석하기 위한 여러 연구들이 시도되었다[5]. 하지만, 혈관 수축에 기인하는 blanching effect를 정량화하는 기존의 간접적인 접근 방식들과 달리 혈관 변화를 직접 정량적으로 모니터링하는 방법은 시도되지 않았다.

광음향 영상 (photoacoustic imaging)은 샘플에 펄스 레이저를 조사하여 열팽창을 통해 생성된 초음파를 감지하는 영상 기법이다. 혈액의 헤모글로빈이 광음향 신호를 만들어내는 흡수체 (absorber)이기 때문에 광음향 영상은 혈관을 직접 시각화 할 수 있으며, 광학 해상도 광음향 현미경 (optical-resolution photoacoustic microscopy)을 이용하여 생체 내에서 미세 혈관의 정량적 이미징을 제공할 수 있다[6]. 또한, 최근 고속 펄스 레이저와 고속 스캐너의 개발과 함께 광음향 현미경의 이미징 속도가

향상됨에 따라[7], 본 논문에서는 광음향 현미경을 이용하여 국소 코르티코스테로이드 로션의 도포에 의한 혈관 변화를 정량적으로 모니터링 했다.

2. 연구 방법

실험에 사용된 광음향 현미경 시스템은 그림 1과 같다. 시스템에는 532 nm 파장의 나노 초 펄스 레이저 (AWAVE532-1W-10K, Advanced Optowave, NY, USA)가 탑재되어 있다. 레이저 빔은 단일 모드 광섬유 (single-mode fiber)를 통해 광음향 현미경 시스템으로 전달된다. 반사 콜리메이터(reflective collimator)에 의해 시준 (collimation)된 레이저 빔은 초점 렌즈 (AC127-050-A, Thorlabs, NJ, USA)와 MEMS 스캐닝 모듈 (OpticoM-MS, Optcho, Republic of Korea)에 의해 이미징 대상에 초점이 맞춰진다. 스캐닝 모듈에서 레이저 빔은 광-초음파 결합기 (opto-ultrasound beam combiner)와 MEMS 스캐너에 반사되어 목표물을 조사하고 광음향 신호를 생성한다. 광음향 신호는 광-초음파 결합기를 통과하여 초음파 센서 (V214-BC-RM, Olympus NDT, MA, USA)로 수신되어 광음향 이미지를 만들어낸다.

마우스 실험의 경우 모든 실험 절차는 포항공과대학교 IACUC의 승인을 받았다. 실험에는 6주령 누드 마우스가

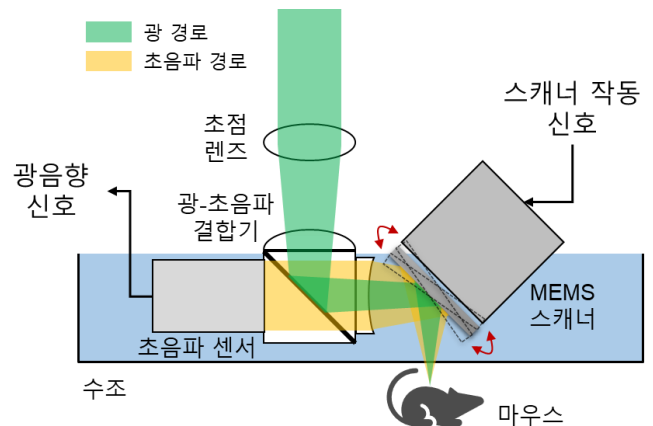


그림 1. 광음향 현미경 모식도

사용되었으며, isoflurane으로 마취된 마우스의 왼쪽 다리가 이미징을 위해 현미경 스테이지에 고정되었다. 실험에 사용된 국소 코르티코스테로이드 로션은 2.5% 히드로코르티손 (hydrocortisone) 로션 (코디케어, 동구바이오제약, Republic of Korea)으로, 0.1 fingertip unit (FTU) 만큼 마우스의 허벅지에 도포되었다. 히드로코르티손 로션을 도포한 후 로션이 피부에 충분히 흡수될 때까지 기다렸다. 이후 남은 로션을 닦아내고 초음파 젤을 허벅지의 같은 위치에 도포한 뒤 혈관 변화를 모니터링하기 위해 10분 간격으로 광음향 이미지를 얻었다. 총 60분 간 7장의 이미지를 획득하였으며, 정상 대조군 모델은 별도의 처리 없이 60분 동안 모니터링 되었다.

3. 연구 결과

히드로코르티손 로션 도포 전과 60분 후 마우스 허벅지의 동일한 영역의 광음향 이미지가 그림 2에 나타나 있다. 각 이미지의 크기는 x 및 y 축을 따라 각각 4 mm x 6 mm이고 x 및 y 축을 따라 step size는 각각 5 μm, 10 μm이다. 각 이미지는 광음향 MAP (maximum amplitude projection)의 결과이다. 히드로코르티손 로션 도포 후 점진적인 혈관 수축을 확인할 수 있었다. 특히, 그림 2의 광음향 이미지의 가운데 위치하고 있는 상대적으로 혈관 두께가 두꺼운 동맥과 정맥에서는 수축이 나타나지 않았지만, 주변의 모세혈관에서 변화가 크게 나타나는 것을 확인할 수 있다. 또한, 히드로코르티손 로션 도포 후 시간이 지남에 따라 전체 혈관 밀도가 줄어들면서, 가운데 위치하고 있는 동맥과 정맥에 더 많은 빛이 들어가 이들의 광음향 강도(PA intensity)가 증가하는 것을 확인할 수 있다.

혈관 변화를 정량화 하기 위해 ImageJ를 사용하여 임계값 (threshold)을 기반으로 혈관 밀도 (vascular density)를 계산했다. 정규화 (normalization) 된 혈관밀도의 변화는 그림 3에 나타나 있다. 국소 코르티코스테로이드의 혈관 수축 효과로 인해 정규화 된 혈관 밀도는 히드로코르티손 로션 도포 60분 후 약 30% 감소했고, 반면에 정상 대조군 모델에서는 혈관수축이 유의하게 발생하지 않았다.

이와 같이 본 그룹은 광음향 현미경을 이용하여 국소 코르티코스테로이드의 기전인 혈관 수축을 직접 시각화하고 정량적으로 평가할 수 있었다. 따라서 광음향 이미징에

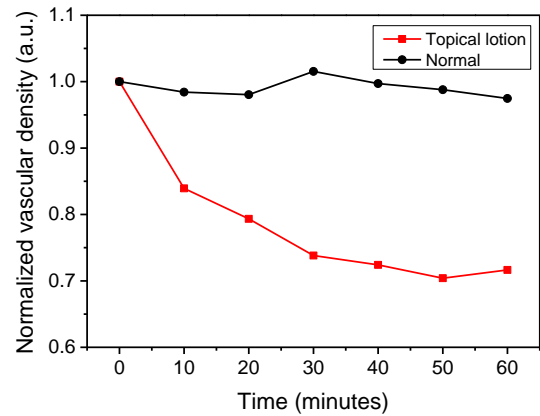


그림 3. 국소 코르티코스테로이드에 의한 혈관 변화 정량

기반하여 국소 코르티코스테로이드의 역할을 예측하기 위한 새로운 방법을 제안할 수 있다.

4. Acknowledgements

이 연구는 National Research Foundation (NRF) of Korea 과제 (2019R1A2C2006269, 2021M3C1-C3097624, 2020R1A6A1A03047902), Korea Medical Device Development Fund 과제 (9991007019, KMDF_PR_20200901_0008), and Korea Institute for Advancement of Technology (KIAT) grant (P0008763) by the BK21 FOUR project의 지원을 받아 수행하였음.

5.참고 문헌

- [1] SULZBERGER, M B et al. "Cortisone acetate administered orally in dermatologic therapy." *AMA archives of dermatology and syphilology*, Vol 64, No.5, p.573-579, 1951
- [2] Cooper MS, Stewart PM. "Corticosteroid insufficiency in acutely ill patients." *New England Journal of Medicine*, Vol 348, No.8, p.727-734, 2003
- [3] Guin, J D et al. "Quantitative vasoconstrictor assay for topical corticosteroids: the puzzling case of fluocinolone acetonide." *Journal of the American Academy of Dermatology*, Vol 29, No.2, p.197-202, 1993
- [4] Humbert, Philippe, and Alexandre Guichard. "The topical corticosteroid classification called into question: towards a new approach." *Experimental dermatology*, Vol 24, No.5, p.393-395, 2015
- [5] Zvidzayi M, Rath S, Bon C, Abboo S, Kanfer I. "A Novel Approach to Assess the Potency of Topical Corticosteroids." *Pharmaceutics*, Vol 13, No.9, 2021
- [6] Wang, L., Yao, J. "A practical guide to photoacoustic tomography in the life sciences." *Nature methods*, Vol 13, p.627-638, 2016
- [7] Kim, J., Lee, C., Park, K. et al. "Fast optical-resolution photoacoustic microscopy using a 2-axis water-proofing MEMS scanner." *Sci Rep*, Vol 5, 2015

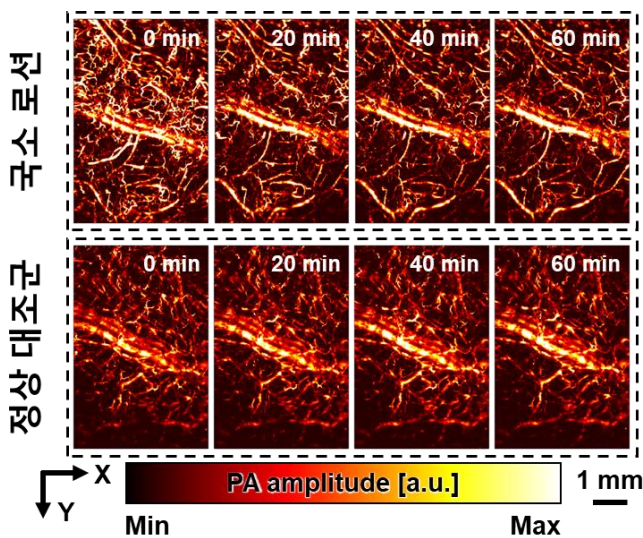


그림 2. 국소 코르티코스테로이드 로션 도포 직후, 20/40/60분 후 마우스 허벅지 혈관 이미지