

# 디지털 홀로그래픽 현미경과 인공지능 기반의 혈구성 질환 진단

고태식 · 이상준\*

## AI-based diagnosis of hematological diseases using digital holographic microscopy

Taesik Go, Sang Joon Lee\*

**Abstract** : Abnormalities of red blood cells (RBCs) are cardinal symptoms used in identification of health disorders. Conventional methods for diagnosing hematological diseases are time consuming and rely on the skill of experts. Therefore, an automatic and simple diagnostic modality is essential for healthcare and biomedical fields. In the present study, a new automatic sensing method using digital holographic microscopy (DHM) combined with machine learning algorithms was proposed to sensitively diagnose RBC senescence due to long storage and malaria. Several features were quantitatively extracted from numerically reconstructed holographic images. Six machine learning algorithms were applied to combine the features and to greatly improve the diagnostic capacity of our method. This DHM-based artificial intelligence methodology is simple and does not require blood staining, and will be beneficial and valuable for computer-aided diagnosis of hematological diseases in clinic.

### 1. 서 론

질병 진단에 있어 혈액은 중요한 역할을 한다<sup>(1)</sup>. 특히, 적혈구의 생물리학적 특성은 혈구성 질환의 종류에 따라 다르다<sup>(2, 3)</sup>. 이러한 특성 변화는 혈액의 산소 전달능력 감소, 미세 순환 장애를 유발한다. 따라서, 정확하고 빠르게 적혈구의 상태를 감지할 수 있는 기법이 필요하다.

적혈구 유형을 식별하기 위해 기존에는 광학 현미경, 주사전자 현미경(SEM), 위상차 현미경(QPD)이 사용되었다. 그러나 광학 현미경과 SEM을 이용하여 검출하는 방법은 복잡한 시료 준비가 필요하고, 2D 영상 정보만을 제공하기 때문에 정확도가 떨어진다. QPD 기법은 3차원 형태학적 정보를 제공하나 광학 배치가 복잡하고 높은 처리량으로 결과를 얻는 것이 어렵다.

본 연구에서는 간단한 실험 배치를 가지는 디지털 인라인 홀로그래픽 현미경(DIHM)을 사용하여 적혈구의 3차원 용적 정보를 추출하고 이를 기계학습 알고리즘으로 학습시켜 전문가의 도움 없이 혈액의 노화, 말라리아와 같은 혈구성 질환들을 진단할 수 있는 기법

을 개발하였다.

### 2. 실험 방법

본 연구에서는 혈액의 노화를 진단하기 위해 생쥐에 서 전혈을 채취한 후, CPDA-1 보관 용액에 7:1 부피 비로 혼합하여 지온에 42일동안 보관하면서 적혈구의 변화를 관찰하였다. 또한 말라리아를 진단하기 위해 설치류 말라리아 원충의 일종인 *Plasmodium berghei* ANKA 259cl2를 생쥐에 복강 주사하여 말라리아를 유발하였다. 감염된 후, 쥐의 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하여 말라리아에 감염된 적혈구 (iRBC)와 감염되지 않은 적혈구 (hRBC)에 대한 정보를 획득하였다.

DIHM 시스템은 단일 광경로를 가지며 이를 사용하여 적혈구들의 홀로그램 영상들을 획득하였다. 독립 현미경의 광원으로 Nd : Yag 레이저 ( $\lambda = 532 \text{ nm}$ , 30 mW)를 사용하였다. 간섭 현상으로 만들어진 적혈구의 홀로그램 영상은 63배의 대물 렌즈로 확대되어 CCD 카메라를 통해 획득하였다 [Fig. 1].

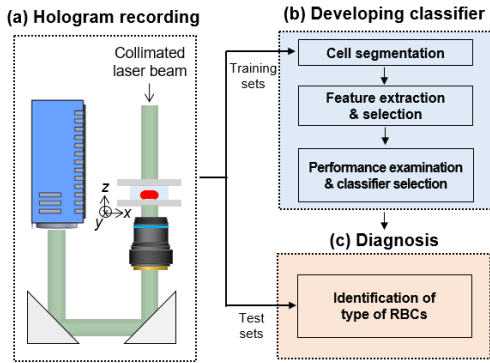


Fig. 1 Overall procedure for classification of RBCs using DIHM and machine learnings.

### 3. 실험 결과

수치적으로 재생한 홀로그램 영상들을 하나의 영상 평면에 투영시킨 후 최대 빛 강도의 0.5 이상의 값을 갖는 픽셀 영상 정보만을 모아서 적혈구들의 경계에 대한 정보를 획득하였다 [Fig. 2a]. 이를 통해 적혈구들의 투영 면적과 둘레와 같은 분류 특징들을 추출하였다. 분류 특징들의 종들 간 차이의 정도를 파악하기 위해 분산 분석 (ANOVA)을 진행한 결과, 원관 적혈구, 유극 적혈구, 구상 적혈구의 투영면적과 둘레는 통계적으로 유의미한 차이를 보였지만 ( $p < 0.001$ ), hRBC와 iRBC의 투영 면적과 둘레는 통계적으로 유의미한 차이는 보이지 않았다 ( $p > 0.05$ ).

수치적으로 재생한 영상을 개개 적혈구의 중심을 기준으로 분할하고, 이미지 선명도를 계산하여 초점 평면의 위치를 찾는다. 적혈구들의 초점 평면 영상으로부터 Full-width at half maximum (FWHM), peak-to-peak distance (PPD), 최대 빛 강도, 평균 빛 강도, 빛의 강도 분포의 표준편차 (S.D.)와 같은 다섯 개의 분류 특징들을 추출한 결과, 모두 종들 간 유의미한 차이를 보였다 ( $p < 0.001$ ) [Fig. 2b].

빛 산란 패턴은 빛이 시료를 지나면서 어떻게 발산하고 수렴하는지를 나타낸다 [Fig. 2c]. 빛 산란 패턴을 통해 실초점 거리( $f_r$ ), 허초점 거리( $f_v$ ), 빛 산란 패턴의 최대 빛 강도, 평균 빛 강도, 빛 강도 분포의 표준편차와 같은 다섯개의 분류 특징들을 추출하였다. 그 결과, 빛의 산란 패턴에서 추출한 모든 분류 특징들이 적혈구의 종류 간 큰 차이를 보였다 ( $p < 0.001$ ).

적혈구들의 홀로그램 영상으로부터 획득한 12개의

분류 특징을 효과적으로 이용하여 분류체계를 구축하기 위해서 여러 기계학습 알고리즘을 적용하고 그 정확도를 비교하였다. 그 결과 의사 결정 트리 모델의 혈구 노화 진단 정확도가 98% 이상으로 가장 높았으며, SVM 알고리즘을 사용하여 구축한 분류 체계가 96% 이상의 말라리아 진단 정확도를 보였다.

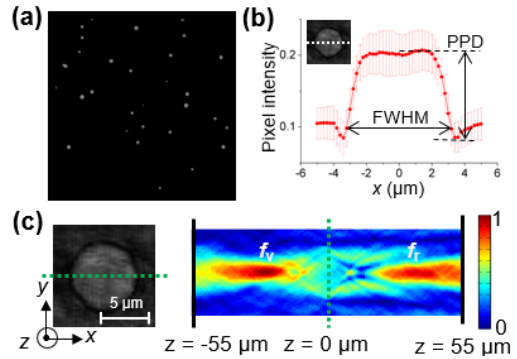


Fig. 2 Feature extractions from a (a) projection image, (b) focal plane image, (c) light scattering pattern of an RBC

### 4. 결론

본 연구에서는 간단한 광학 배치를 가지는 DIHM 기법과 기계학습 알고리즘을 결합하여 혈구의 노화 및 말라리아와 같은 혈구성 질환들을 정확하게 진단할 수 있는 기법을 개발하였다. 구축된 분류체계는 별도의 라벨링 과정과 전문가의 도움 없이 질환을 진단할 수 있어 의사의 진료를 받기 힘든 개발도상국 환자들의 현장 진단과 자동 진단에 활용될 수 있을 것이다.

### 참고 문헌

- (1) Tomaiuolo, G., 2014, "Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics", *Biomicrofluidics*, 8, 051501.
- (2) Park, H. et. al., 2016, "Measuring cell surface area and deformability of individual human red blood cells over blood storage using quantitative phase imaging", *Sci. Rep.*, 6, 34257.
- (3) Kim, K. et. al., 2013, "High-resolution three-dimensional imaging of red blood cells parasitized by *Plasmodium falciparum* and *in situ* hemozoin crystals using optical diffraction tomography", *J. Biomed. Opt.*, 19, 011005.