

## 염증유발 지질다당류(LPS)와 자성비드가 주입된 토끼 프리모관의 자기장 영향 연구

이혜리<sup>1</sup>, 하예은<sup>2</sup>, 김지영<sup>3</sup>, 홍예지<sup>4</sup>, 김근호<sup>5</sup>, 강석윤<sup>6</sup>, 이상석<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>상지대학교 보건과학대학 한방의료공학과, <sup>2</sup>이공과대학 생명과학과,

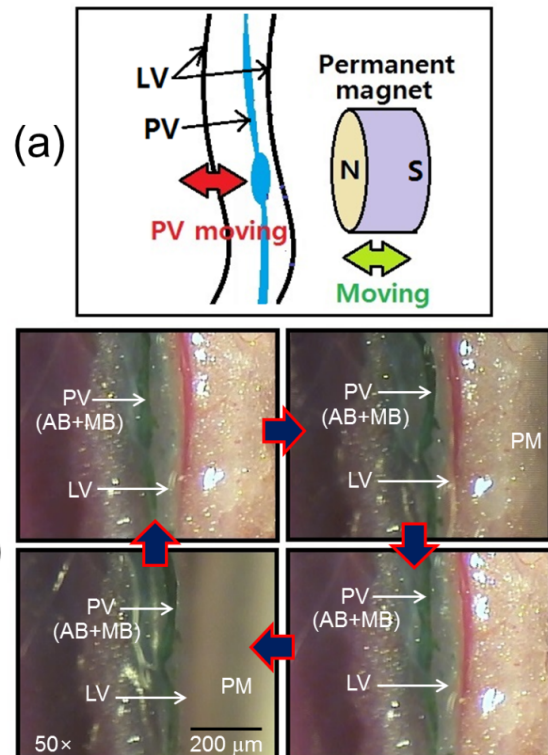
<sup>3</sup>생명자원과학대학 동물생명공학과, <sup>4</sup>한외과대학 한의학과, <sup>5</sup>일반대학원동서의료공학과, 원주 220-702,

<sup>6</sup>한국한의학연구원, 의료연구본부, 침구경락연구그룹, 대전 305-811

본 연구의 토끼 해부실험은 상지대학교 동물실험윤리위원회(IACUC)에서 심의를 거쳐 승인된 동물실험윤리규정(승인번호 : 2014-16)을 따라 진행되었다. 토끼는 태어난 지 10주가 지난 뉴질랜드산 암컷으로 몸무게는 약 1.5 kg ~ 1.7 kg이다. 해부실험에 필요한 마취제, 염색약, 알코올, 식염수, 전자저울, 형광현미경, 마이크로 핀셋, 실험용 가위, 실험용 집게, 마이크로 튜브를 준비하였다[1-2].

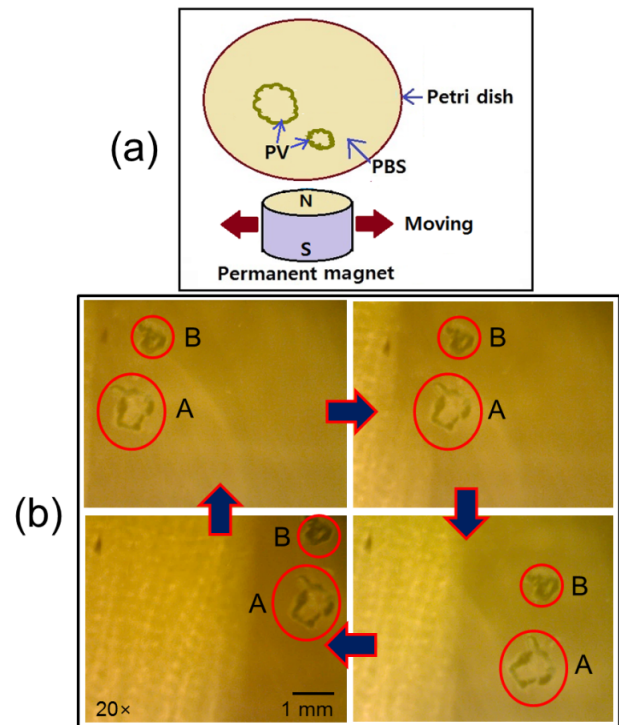
염색액 주입전에 림프관내 프리모관을 쉽게 발견하기 위해 토끼의 림프절인 림프노드(Lymph Node; LN)에 200 µg의 지질다당류인 LPS를 주입한다. 또한 염색액에 직경 1 µm의 크기를 갖는 1 ml 당 50 mg의 양으로 있는 1 µm의 초상자성체자성비드(Magnetic Bead; MB)인Co-Si-OH 용액을 골고루 섞어서 미세 주사기를 사용하여 혼재한 용액을 림프관을 따라 30 초간 서서히 주입한다. 림프관을 따라 현미경으로 관찰을 하면서 림프관 속에 발견된 프리모를 찾는다. 림프관 안에 가느다란 굵은 실 같은 모양의 프리모를 관찰한다. 프리모가 잘 보이지 않는다면, 혈관 근처 조직을 핀셋으로 찢어 가면서 찾아본다. 프리모는 토끼의 상태에 따라 여러 가지 복합적인 요인으로 항상 보이지만은 않는다. 자성비드가 혼합된 알시안블루 염색액이 흡착된 프리모관의 색깔을 관찰하여 두께를 확인한 후, 영구자석(Permanent Magnet ; PM)을 이용하여 생체 내에서 진행되는 *in vivo* 상태에서 자기장에 따라 프리모관이 운동하고 프리모관 내외에 흡착된 알시안블루와 자성비드의 혼합 염색액이 흐르는 모양을 조사한다. 프리모관을 발견하고 림프관 안에 있는 프리모관을 채취하기 위해서 핀셋을 이용해 조심스럽게 림프관을 제거한다. 림프관을 제거하면 프리모관은 수축되는 경우가 있다. 또한 마이크로 핀셋으로 림프관과 함께 필요한 부분을 추출해 생리식염수(Phosphate Buffered Saline; PBS) 1:100 비율의 5 ml가 담긴 마이크로 튜브(Eppendorf Tubes)에 넣어 냉장고에 보관한다. 그리고 분리된 프리모관이 자성에 의한 의존성을 조사하기 위한 생체 외에서 진행되는 *in vitro* 실험을 진행한다.

왼쪽 그림은 토끼의 림프노드에 LPS를 주입하고, 앞에서 언급한 림프관에 AB와 MB 혼합 용액을 주입하여 나타난 진한녹색의 프리모관 가까이 가져간 영구자석의 움직임에 따라 PV의 움직이는 것을 관찰한 것을 보여준 그림이다. 생체내의 실험으로 *in vivo* 조건 상태로 실험적 도시체계를 그림(a)에 나타내었다. 표면 자기장세기 500 G를 띄는 원통형 영구자석(PM)을 사용하여 프리모관에 약 80 G의



수평방향으로 주기적으로 진동했을 때, 그림(b)처럼 30  $\mu\text{m}$  굵기의 프리모관이 자석으로 움직임에 따라 주기적으로 변하는 것을 보여 주었다.

왼쪽 그림은 위의 그림과 마찬가지로 토끼의 림프노드에 LPS를 주입하고, 앞에서 언급한 림프관에 AB와 MB 혼합 용액을 주입하여 나타난 진한녹색의 프리모관을 림프관에서 분리하였다. 생체 외의 실험으로 *in vitro* 조건 상태로 실험적 도시체계를 그림(a)에 나타내었다. 그림(b)처럼 추출된 프리모관은 PBS 용액이 담긴 패트리디쉬(Petri Dish)에 담았을 때 긴 실 모양의 프리모관은 오그라들어 불규칙한 둥근 테 모양을 보인다. 투명한 패트리디쉬 뒤쪽에서 수직방향으로 가까이 가져간 영구자석의 움직임에 따라 PV의 움직이는 것을 관찰한 것을 보여주고 있다. 표면 자기장세기 200 G를 띠는 막대형 영구자석을 사용하여 프리모관에 약 50 G의 수직방향으로 인가된 자기장 방향에 수평방향으로 주기적으로 진동했을 때, 그림(b)처럼 30  $\mu\text{m}$  굵기의 분리되어 추출된 2가지 둥근 테 모양의 프리모관이 자석으로 움직임에 따라 주기적으로 변하는 것을 보여 주었다.



프리모관 내에 존재하는 산알(Sanal)은 각종 무기물 함유량 중 강자성체성분인코발트(Co)가 적지 않게 들어 있다[3]. 자체회전운동을 하는 산알은 외부에서 인가한정자기장에 영향을 받을 수 있게 된다고 사료된다. 프리모관 조직의 구조와 기능의 탐색은 침술 자극의 전달경로와 경락체계를 추적할 수 있는 유일한 수단으로, 이러한 시그널 전달경로를 모니터링하기 위해 프리모관에 들어간 자성비드를 통하여 장기 내부에 시작하여 피부표면에서 표적기관에 이르게 하는 프리모액의 이동 경로를 추적할 수 있다. 이는 프리모연결망 (Primo Connectome)을 제공할 수 있다. 본 연구의 결과로 프리모 조직의 마이크로 단위인 양적 제한한계를 극복하여 토끼의 복부 림프관에서 프리모 조직을 미세적출하고, 자성비드가 혼합된 염색액에 면역조직화학적 영상분석을 통한 프리모 시스템의 해부학적 자료를 축적할 수 있다. 이러한 추가연구를 통한 실험결과에서 도출되는 프리모 연결망 추적 연구는 세계 최초로 경락침술이 미래의학으로 진입하는 계기가 될 것이다.

**감사의 글:** 본 연구는 한국한의학연구원(KIOM) “2015년 학부생 연구프로그램”의 지원을 받아 수행되었습니다.

## 참고문헌

- [1] K. S. Soh, J. Acupunct. Meridian Stud. **2**, 93(2009).
- [2] Y. I. Noh, Y. M. Yoo, R. H. Kim, I. J. Hong, H. R. Lee, M. S. Rho, et al., Evid. Based Complement. Alternat. Med. Article **429106**. 1-5 (2013).
- [3] Y. I. Noh, Y. J. Hong, J. Y. Shin, J. K. Rhee, and S. S. Lee, J. Magnetics **18**, 188 (2013).