

Magnetic Property of Primo Vessel in Lymph Vessel of a Rabbit That Had Stained Alcian Blue and Fluorescent Nano-magnetic Particles

Jun-Young Shin, Sang-Heon Choi, Da-Woon Choi, Ye-Jin An, Jae-Hyuk Seo, Jong-Gu Choi, and Sang-Suk Lee*

Department of Oriental Biomedical Engineering, Sangji University, Wonju 26339, Korea

(Received 16 May 2018, Received in final form 14 June 2018, Accepted 14 June 2018)

For displaying the connectome of primo vasculature system (so called kyungrak circulatory system) of rabbit, the steady mixture solution of alcian blue with the fluid of fluorescent nano-magnetic particles was injected into the lymph node in the neighbor of the vena cava of a rabbit. After the mixed staining fluid had been injected into the lymph node, the color of the primo vessel inside the lymph vessel presented to a dark-green-blue one. We confirmed the presence of primo vessel floating inside the lymph vessel and observed the magnetic properties by using the periodic motion of the primo vessel according to the horizontal movement of a permanent magnet in vitro status. The attractive curvature of one isolated primo vessel depended on the intensity of magnetic field passed through inside of primo vessel that had adsorbed the alcian blue and fluorescent nano-magnetic particles.

Keywords : rabbit, fluorescent nano-magnetic particle, kyungrak circulatory system, lymph node, primo vascular system, magnetic field

알시안블루와 형광나노자성입자가 염색된 토끼의 림프관 프리모관의 자성특성 연구

신준영 · 최상헌 · 최다운 · 안예진 · 서재혁 · 최종구 · 이상석*

상지대학교 한방의료공학과, 강원 원주시 우산동 상지대길 83, 29633

(2018년 5월 16일 받음, 2018년 6월 14일 최종수정본 받음, 2018년 6월 14일 게재확정)

토끼의 프리모 순환계(경락순환계로 불리움)의 연결망을 표시하기 위해, 형광 나노자성입자의 유체와 안정되게 혼합시킨 알시안블루 용액을 토끼의 복대정맥 근처의 림프노드에 주입하였다. 림프노드에 혼합 염색액을 주입한 후, 림프관 내부 프리모관의 색이 진한 청록색으로 표시되었다. 림프관 내부에 떠있는 프리모관 존재를 확인되었고, 채취된 림프관과 프리모관을 체외에서 생리식염수를 패트리디쉬에 담아 놓은 후 영구자석의 수평 운동에 따라 프리모관의 주기 운동을 사용하여 자기적 특성이 관찰되었다. 분리되어 채취한 프리모관의 휘어짐 정도는 알시안블루와 형광 나노자성입자를 흡착한 프리모관 내부를 통과하는 자기장의 세기에 의존함을 알 수 있었다.

주제어 : 토끼, 형광 나노자성입자, 경락순환계, 림프절, 프리모 순환계, 자기장

I. 서 론

1628년 윌리엄 하비(William Harvey)가 발견하여 정립한 인체의 첫번째 순환계는 심장과 전체 혈관에 피가 흐르면서 인체의 모든 세포들의 활동에 필요한 영양공급과 기능 유지의 역할을 담당하는 혈관 조직이다. 그리고 다른 한 가지 순환계통은 1757년 알렉산더 먼로(Alexander Monroe)가 발견

한 림프순환계는 신체의 면역과 호르몬을 담당하여 인체의 조직으로부터 림프액이라고 하는 여분의 체액을 혈류로 다시 운반하는, 거미줄처럼 얽혀 있는 관들로 이루어진 것이다[1,2]. 반면에 인류 생명 존속의 핵심인 인체의 치유, 재생, 생성에 해당하는 경락과 경혈의 실체를 바탕으로 제3순환계로 일컬어지는 경락순환계의 구조와 기능 분석은 현대의학에 새로운 변화를 일으킬 수 있는 미래 의학을 향한 매우 중요한 연구 과제이다[3].

고령화에 따른 건강한 삶을 지지하는 전통의학의 경락이론과 침술은 역사적으로 우리나라와 중국 일본 등지에서 그 임

© The Korean Magnetics Society. All rights reserved.

*Corresponding author: Tel: +82-33-730-0415,

Fax: +82-33-738-7610, e-mail: sslee@sangji.ac.kr

상결과가 축적되어 있으며, 생화학 생리학 물리학 분자생물학적 기초연구와 함께 상위단계의 연구로 진입하고 있다[4]. 미국에서는 이미 대체의학으로서 허브, 전기침 등과 같은 우리의 전통의학을 기초로 하는 미래의학의 도출에 집중하고 있으며, 중국에서도 경락체계의 과학화를 위한 분자수준의 연구가 진행되고 있다[5,6].

현대의학의 한계 극복을 위한 대체의학으로서 전통의학인 경락과 경혈의 연구가 새로운 차원에서 접근하여 침술 치료의 효과 기전에 관한 신경, 호르몬, 유전자 등의 연관 경로가 있는 연구결과가 국제 저명 전문학술지에서 발표되어 왔다 [7,8]. 경락순환계의 해부학적 실체에 대한 연구는 1965년 북한의 과학자 김봉한박사 연구팀이 발견한 봉환관 순환계가 그 시초이다[9-11]. 그 후 2000년대초 서울대 소광섭교수 연구팀에 의해 경락순환계 학설이 재조명되면서, 새로운 국제적 의학용어인 프리모 순환계(Primo Vascular Circulatory System; PVS)로 불리워져 이를 구성하는 미세관다발 형태의 새로운 연결망 구조가 인체에 존재한다는 것이 국내외적으로 알려지게 되었다[1,12].

인체의 모든 구조와 조직은 반드시 서로 상응하는 기능을 가지는데, 프리모 순환계는 장기와 장기, 체표와 장기를 연결하고 있어, 장기조직과 혈관 그리고 림프관 등에서 발견되는 프리모관은 경락순환계의 새로운 가능성을 제시하고 있다[1,9-12]. 하지만 특이 항체 제작과 유전자 단백질 분석을 위한 프리모관의 샘플이 정량적 단위(μg)로 밖에 채취되지 않아 연구의 진입장벽으로 존재한다. 따라서 프리모의 생체분자에 대한 기초물성적 접근 연구와 분자생물학과 한의학의 융합연구가 필요하다[13,14].

프리모관의 원천적인 기능을 물리적으로 규명하는 방법으로 경락의 전송 경로 추적을 침술에 적용하는 것이다. 본 연구진은 이미 음파 진동 및 두 경혈점에 침전기 자극을 통해 토끼의 림프관내 프리모관의 형태 구조학적인 관찰과 유전자 발현 특성을 연구결과로 발표하였으며, 프리모관 내에 존재하는 산알을 채취하여 낮은 정자기장 하에서 산알의 운동 특성을 조사하였다[15,16]. 또한 토끼의 림프관내 존재하는 프리모관의 영상을 확보하기 위해 사용한 알시안블루(Alcian blue, AB)에 $1\ \mu\text{m}$ 크기의 자성비드를 골고루 혼합한 염색용액을 림프절에 주입하여 토끼의 프리모관의 형상구조를 관찰하였다. 또한 자성비드가 흡착된 토끼의 체내와 체외상태에서 분리시킨 프리모관의 자성 특성을 관찰하여 그 연구결과를 논문으로 발표하였다[17].

본 연구는 토끼의 프리모 순환계의 연결망을 표시하여 경혈점 표적으로 유도하기 위한 기초적인 물성연구로서, 형광 나노자성입자의 유체와 안정되게 혼합시킨 알시안블루 용액을 사용하여 프리모관 만을 염색하였다. 염색된 프리모관을

외부에서 주기적으로 인가되는 자기장의 세기에 따라 의존하는 운동을 관찰하여 그 특성을 조사하였다.

II. 실험 방법

본 연구의 토끼 해부실험은 상지대학교 동물윤리위원회(IACUC)에서 심의를 거쳐 승인된 번호 2017-19의 규정을 따라 수행되었다. 토끼는 생애 10주의 뉴질랜드산 암컷으로 몸무게는 1.8 kg이었다. 형광 나노자성입자가 염색된 토끼의 림프관내 프리모관을 채취하기 위한 해부실험 순서는 다음과 같이 5단계에 걸쳐서 차례로 진행되었다[18,19].

1단계: 마취단계로써 졸레틸(zoletil 1.5 mL)과 림폰(Rompun 0.5 mL)을 혼합하여 만든 마취제를 다리 근육에 주사한다.

2단계: 개복단계로써 제모기를 사용하여 마취된 토끼의 복부의 털을 깎고 복부의 중앙선을 따라 방광부터 위가 보이는 곳까지 가른다.

3단계: 주입단계로써 형광 자성나노입자를 담은 유체를 알시안블루와 혼합한 염색액 0.5 mL를 복대정맥 부근의 림프노드에 주입한다.

4단계: 관찰단계로써 림프노드를 따라 주입된 염색액이 림프관으로 퍼져나가 림프액의 흐름을 타고 검푸른색의 액이 연하게 되고 림프관 내에 굵기가 가는 프리모관만 진하게 염색된 것을 확인하고 찍은 영상을 저장한다.

5단계: 추출 및 분리단계로써 림프관내에 있는 염색된 프리모관을 마이크로 핀셋을 이용하여 조심스럽게 림프관과 프리모관을 분리시킨다. 트위저를 이용하여 관찰한 림프관을 필요한 크기 만큼 자르고 완전히 분리시켜 생리식염수가 담긴 마이크로 튜브에 담그어 보관한다.

5단계에서 형광 나노자성입자가 흡착된 프리모관의 자성실험은 분리하기 전에 림프관내에 있는 림프액 안에 떠있는 프리모관을 생체내 *in vivo* 상태에서 영구자석을 가까이 움직이면서 자성의 세기에 따른 프리모관의 운동을 관찰한다. 분리한 프리모관을 패트리디쉬에 생리식염수와 같이 넣어 생체외 *in vitro* 상태에서 영구자석을 이용하여 접근거리에 따른 자기장 세기에 의존하는 프리모관의 운동특성을 조사한다.

III. 실험결과 및 논의

염기성 시약인 염색을 위한 대표 염기성 시약인 알시안블루 염색액과 혼합시킬 형광 나노자성입자는 미국의 Illinois 주 Lake Forest 시에 있는 Spherotech 회사의 제품(SPHERO™, FCM-0552-2H)으로 카르복실기(Carboxyl, -COOH)가 붙은 자성입자의 평균 직경이 약 460 nm이다[20]. 구입회사에서 지원한 자성입자의 SEM 영상은 Fig. 1(a)과 같다. Fig. 1(b)에

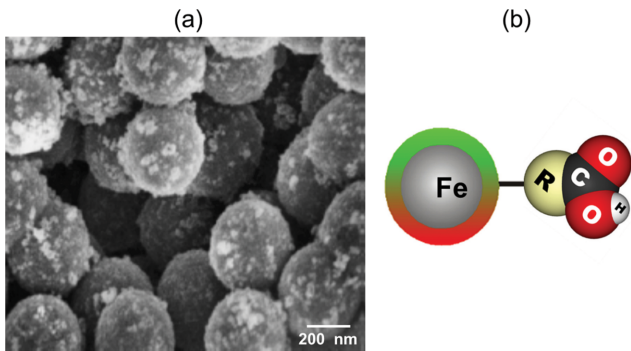


Fig. 1. (Color online) (a) SEM photo of Spherotech Cat. No. FCM-series (Carboxyl Magnetic Particles, concentration of 0.5 % w/v, mean particle size of 0.46 μm , total liquid volume of 2 mL, and storage buffer of deionized water with 0.05% sodium azide). (b) Structure of one fluorescent (green, yellow, pink, or Nile red color) carboxyl (-COOH) magnetic particle composed of with one high Iron (Fe).

도시한 것처럼 중앙부분에는 철(Fe, Iron)이 있고 그 옆에 -COOH가 붙어있으며 녹색, 노란색, 핑크색 또는 나일적색 중 하나인 나일적색을 띠는 형광색을 선택하였다. 2.5 mL 용기에 들어있는 자성입자는 0.5 % w/v의 농도를 유지하며 버퍼(buffer)로는 0.05 % 아지드화나트륨(Sodium Azide)이 포함된 증류수로 상온에서 저장되어 있다. 형광 나노자성입자를 볼텍싱(vortexing)으로 재현하여 알시안블루와 합성하여 사용한다 [21]. 이러한 형광형 나노자성입자는 광범위한 분석 및 응용 분야에서 생체 분자의 분리 및 친화성 정제 중에 활용되며, 공유결합을 위한 카르보디이미드(carbodiimide) 활성화(예: EDC(endocrine disrupting chemicals) 배분비계 교란물질)에

사용될 수 있는 카르복실산기를 함유하고 있다. 또한 핵산, 펩티드, 단백질 또는 다른 표적 분자의 1차 아미노기와 결합되어 있다[20-22].

Fig. 2(a)는 토끼의 혈관에서 정맥순환계를 도시화 한 것이다. 림프계의 림프관은 주로 피부나 점막 점막 하층에 생긴 결합조직에서 액체와 물질을 혈관계로 수송하는 한쪽 방향이 막힌 투명한 관이다. 림프관은 모세혈관보다 투과성이 더 높아 항원과 세포를 포함한 거대분자를 모세혈관보다 더 쉽게 흡수한다. Fig. 2(a)에서 보여 주듯이 심장의 우심방으로 합류되는 정맥 혈관계와 최종 연결된다. 림프관은 중간 중간 림프절과 연결되어 있으며, 림프관의 액체는 가슴 림프관(Thoracic duct)을 거쳐 결국 혈관계로 흘러 들어가게 된다. 동맥과 정맥이 서로 반대방향으로 흐르는 혈관계는 달리 림프관은 한쪽 방향이 막혀있어 조직에서 심장 혈관쪽 방향으로만 흐른다[1,2]. 두 개의 인체 순환계들인 혈관순환계와 림프순환계는 상호 보완적으로 연결되어 있다. 심장에서 나와 흐르는 혈액은 동맥을 거쳐 정맥을 지나 다시 심장으로 순환되는 과정에서 림프관에 흐르는 림프액이 정맥으로 합쳐서 순환액의 보존을 유지하게 된다[1,2].

알시안블루와 노란색을 띤 형광 나노자성입자 용액을 1 : 1로 균일하게 혼합한 0.25 mL + 0.25 mL = 0.5 mL를 복대정맥 부근에 림프노드에 주입하기 전후 실제의 영상들을 Fig. 2(b)와 Fig. 2(c)에 각각 나타내었다. Fig. 2(b)에 보여준 눈금자를 참조하면 67 mm 크기의 정맥 근처의 림프관이 이어지고 있음을 알 수 있다. Fig. 2(c)는 알시안블루와 형광 나노입자 용액을 원모양의 흰색 점선으로 표시된 복대림프 노드에 주입한다. Fig. 2(c)는 림프액의 흐름을 충분히 기다리는 시간인

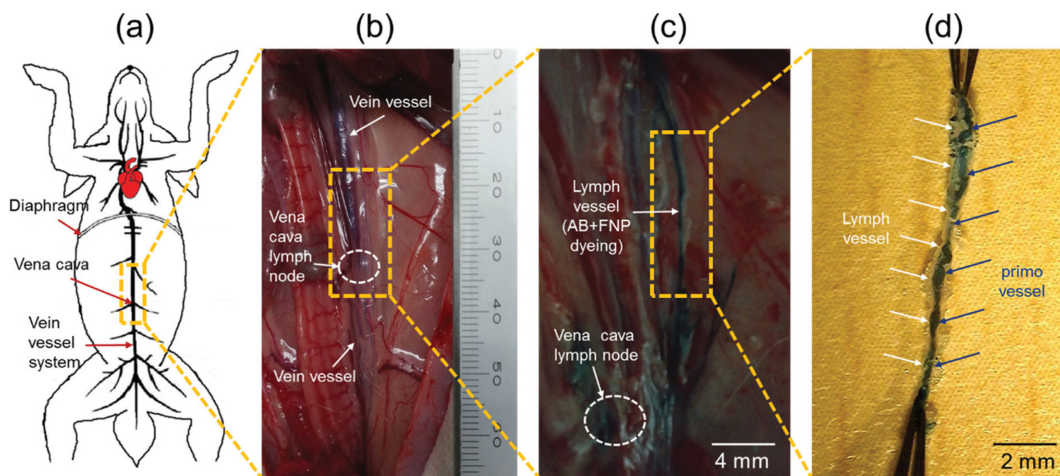


Fig. 2. (Color online) (a) The vein system of the rabbit. Images of vein and lymph vessel in the neighborhood of vena cava lymph node (b) before and (c) after the injection of Alcian blue+magnetic particle dyeing. (c) Magnified view of the rectangular area in (b). (d) An isolated primo vessel stained by Alcian blue and fluorescent (Nile red color) carboxyl (-COOH) magnetic particle (FNP) composed of with one high iron. The image was visualized in the lymph vessel (white arrows) and primo vessel (black blue arrows). Magnified view of the rectangular area in (c).

10분 정도 지난 후 Fig. 2(b)의 큰 점선의 노란색 사각형 부근을 확대한 영상이다. 염색액의 색깔이 진한 청록색을 띤 직경 200 μm 정도의 굵은 선이 있음을 볼 수 있다. Fig. 2(d)는 염색 림프관내 프리모관을 채취해서 따로 분리한 상태의 영상이다. 염색된 림프관내의 프리모관이 분리되면서 안에 있던 림프액이 빠져나와 관의 직경은 쪼그라지고 길이 10 mm 정도의 수축된 모양을 보이고 있다. Fig. 2(d)에서 흰색 화살표와 진한 청록색 화살표들은 각각 림프관과 프리모관이며, 프리모관만 흡착되어 알시안블루의 청색과 검은색인 노란색 형광 나노자성입자 용액이 염색된 색깔이 진한 청록색으로 나타나게 된다.

토끼의 복대정맥 부근의 림프관으로부터 채취되어 알시안블루와 형광 나노자성입자로 염색된 림프관과 프리모관의 형태학적 구조를 자세히 관찰하기 위하여 Fig. 3(a)처럼 양쪽의 Cu판 지지대 위해 공기 중에 띄웠다. Fig. 3(b)는 채취 분리된 프리모관과 림프관을 중앙부분을 확대한 영상이다. 진한 청록색은 프리모관을 나타내며 이것은 형광 나노자성입자가 알시안블루 염색액과 같이 포함한 것이다. Fig. 3(c)는 Fig. 2(b)의 중앙부분을 4배로 확대한 영상이다. 림프관과 형광 나노자성입자가 포함된 프리모관이 중앙 부분으로 완전히 구별되어 나타났다. Fig. 3(d)에서 보여준 영상은 340 nm 파장의 자외선 빛을 조사하여 찍은 것으로 Fig. 3(c)보다 확연하게 중앙부분과 양쪽 상하의 가장자리 부분으로 나누어져 중앙부

분인 림프관과 프리모관의 직경크기가 각각 약 150 mm와 40 mm를 유지하면서 형광색이 분홍색으로 보여짐을 알 수 있다.

Fig. 4에 보인 프리모관은 알시안블루와 형광 나노자성입자가 혼합된 염색용액을 흡착시킨 Fig. 3에서 보인 동일한 것이다. 프리모관 한쪽 끝부분만 고정시켜서 다른 한쪽이 자유롭게 움직일 수 있도록 생리식염수(phosphate buffer saline, PBS)가 담긴 페트리디쉬에 잠기도록 하였다. 페트리디쉬 바깥에 영구자석을 수평으로 주기적으로 움직여 자기장이 프리모관을 지나도록 하였다. Fig. 4(a)는 영구자석이 PBS에 담긴 프리모관에 가장 가까워진 때 프리모관이 자석에 자기장의 세기에 인력 생겨 가장 크게 휘어진 프리모관 상태를 보여준 영상이다. 프리모관 내부에 흡착된 형광 나노자성입자는 철이 중심부에 있기 때문에 영구자석의 N자기력선에 따라 쌍극자 자기모멘트로 배열하여 인력이 작용하여 염색된 프리모관이 영구자석 쪽으로 휘어지게 된다. 영구자석의 극성을 바꾸더라도 Fe 나노자성입자의 쌍극자 자기모멘트의 재배열로 인하여 인력이 작용하여 같은 모양의 휘어짐 형태로 움직임을 확인하였다. Fig. 4(b)와 4(c)처럼 영구자석이 프리모관과 사이가 멀어질수록 프리모관의 휘어짐이 작아지면서 프리모관과 페트리디쉬 경계와 움직인 거리로 정의된 D_{PVM} 의 값이 점점 커짐을 보여준다. Fig. 4(d)는 영구자석을 아무 멀리 떨어진 경우 염색된 프리모관에 자기장 영향을 받지 않을 때 해당하는 영상이다. 프리모관 이 자기장의 영향을 벗어나기 때문에 D_{PVM} 값이 가장 크게 나타났다.

알시안블루와 형광 나노자성입자가 혼합된 염색용액을 흡

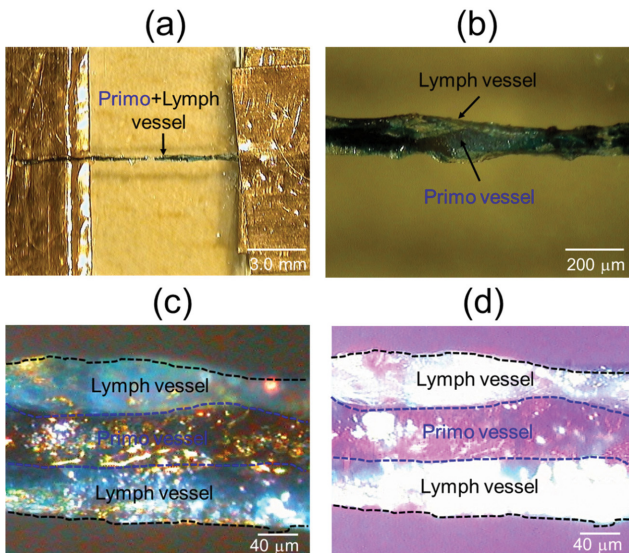


Fig. 3. (Color online) (a) Photo of the primo vessel that had stained the mixture dye of Alcian blue and fluorescent nano-magnetic particles supported to two plates. (b) The lymph vessel and primo vessel separated images as magnification in the center part of (a). Two separated images of (c) white lamp light and (d) ultraviolet lamp light for the lymph vessel and primo vessel as magnification in the center part of (b).

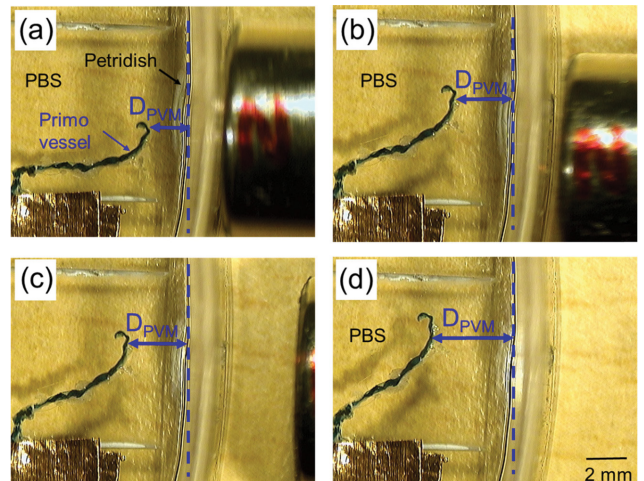


Fig. 4. (Color online) The observation for four different attractive curvatures of primo vessel immersed in the phosphate buffer saline (PBS) in the petridish depend on the magnetic field of permanent magnet *in vitro* status. The change of an isolated primo vessel that had stained the mixture dye of Alcian blue and fluorescent nano-magnetic particles noticed the distance of primo vessel motion (D_{PVM}) according to the horizontal motion of permanent magnet.

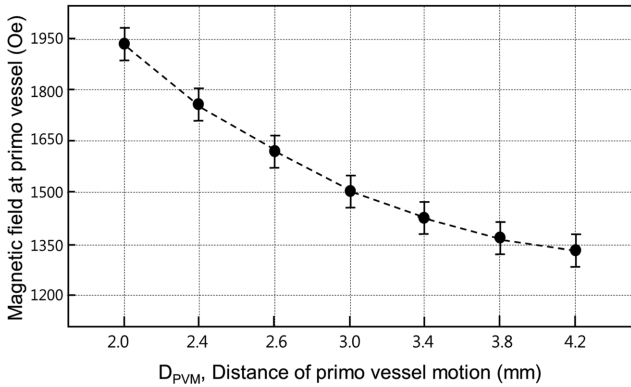


Fig. 5. The distance of primo vessel motion (D_{PVM}) versus the magnetic field at primo vessel. Here primo vessel had stained the mixture dye of Alcian blue and fluorescent nano-magnetic particles. The change of D_{PVM} dependent on magnetic field of showed at Fig. 4.

착시된 프리모관 영구자석의 주기적인 움직임에 따라 프리모관을 지나는 자기장에 의존하여 프리모관의 운동모습을 Fig. 4에서 보였다. 이것을 Fig. 4에서 프리모관과 패트리디쉬 경계와 움직인 거리인 D_{PVM} 의 값과 프리모관이 영구자석과 가장 가까운 곳에서의 자기장의 의존성을 Fig. 5에 나타내었다. 프리모관의 휘어짐 정도와 흡착된 형광 나노자성입자의 농도에 기인할 수 있으므로 영구자석이 멀어질수록, 즉 D_{PVM} 의 값이 2.0 mm부터 4.2 mm까지 프리모관을 지나는 자기장 1910 Oe에서 1340 Oe로 비선형적으로 변하는 경향성을 나타낸 곡선은 특이한 경우일 것으로 보인다.

경락순환계는 경혈점을 연결시킨 연결망이므로 본 실험연구의 결과를 바탕으로 기존 알려진 표적 경혈점을 타겟으로 하여 그곳에 영구자석을 붙인다. 림프순환계에 형광 나노자성입자가 혼합된 알시안블루 염색을 다량으로 주사하여 림프액을 따라 염색액이 순환되다가 표적 경혈점에 나노자성입자가 모이게 될 수 있음을 예측할 수 있다. 이로써 토끼 또는 더 나아가 인체의 경락순환계의 실체를 규명할 수 있도록 형광 나노자성입자를 사용하여 프리모 연결망을 가시화하는 기술로 발전할 수 있는 기초가 될 것으로 기대할 수 있다.

IV. 결 론

토끼의 경락순환계인 프리모 순환시스템의 연결망을 표시하기 위해 알시안블루 용액에 형광 나노자성입자의 유체와 안정되게 혼합시킨 염색액을 토끼 복대정맥 근처의 림프절인 림프노드에 주입하였다. 림프노드에 주입된 염색액이 림프관을 따라 퍼져나가 림프관 내부에 존재하는 프리모관만 진한 청록색으로 표시됨을 확인하였다. 염색된 부분만 채워진 림프관과 프리모관을 자세하게 관찰한 영상을 통하여 각각 약 150 μm 과 40 μm 크기의 직경으로 완전하게 분리됨을 알 수 있

었다. 체외실험을 위해 패트리디쉬에 담은 생리식염수 안에 분리된 프리모관을 잠기게 하여, 프리모관 근처로 영구자석을 수평으로 움직여서 자기장의 세기를 변화시켰다. 나노자성입자를 흡착한 프리모관으로 자기장이 지나가는 세기가 변함에 따라 프리모관의 휘어짐의 정도도 비선형적으로 비례하여 변한다는 결과를 보였다. 이러한 결과는 경락순환계의 실체를 규명할 수 있는 방안으로 형광 나노자성입자를 사용하여 프리모 연결망을 가시화할 수 있는 기술로 개발할 수 있을 것으로 기대할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 한국과학기술정보통신부(MSIT)의 한국연구재단(NRF) “2016년도 하반기 X-프로젝트(과제번호: 2016R1E1A2A01953467)”의 지원을 받아 수행되었습니다.

References

- [1] P. Davidovits, *Physics in Biology and Medicine*, 3rd ed. (Academic Press, 2008).
- [2] I. F. Stuart, *Human Physiology*, 7th ed. (Academic Internet Publisher, 2009).
- [3] K. S. Soh, *J. Acupunct. Meridian Stud.* **2**, 93 (2009).
- [4] Z. H. Cho, S. C. Chung, J. P. Jones, J. B. Park, H. J. Park, H. J. Lee, E. K. Wong, and B. I. Min, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **103**, 2670 (2006).
- [5] K. A. Kang, C. Maldonado, G. Perez-Aradia, P. An, and K. S. Soh, *Adv. Exper. Med. Bio.* **789**, 289 (2013).
- [6] X. J. Ren, H. Y. Chen, B. G. Wang, B. X. Zhao, S. W. Li, L. Zhang L, J. P. Dai, X. Y. Liu, and F. Luo, *Chin. Med. J.* **125**, 1627 (2012).
- [7] L. M. Yin, Y. Wang, Y. Wang, Y. D. Xu, Y. Y. Liu, W. R. Jin, Q. H. Zhang, and Y. Q. Yang, *Mol. Med. Rep.* **6**, 345 (2012).
- [8] Y. Guo, X. Xie, C. Guo, Z. Wang, and Q. Liu, *J. Trad. Chin. Med.* **35**, 285 (2015).
- [9] B. H. Kim, *J. Acad. Med. Sci. DPR Kor.* **90**, 1 (1963).
- [10] B. H. Kim, *J. Jo Sun Med.* **9**, 1 (1962).
- [11] B. H. Kim, *J. Jo Sun Med.* **108**, 1 (1965).
- [12] B. C. Lee and K. S. Soh, *Lymphology* **41**, 178 (2008).
- [13] S. J. Lee, S. H. Park, Y. I. Kim, S. Hwang, P. M. Kwon, I. S. Han, and B. S. Kwon, *Stem Cells and Development* **23**, 2831 (2014).
- [14] J. Y. Shin, J. O. Ji, D. W. Choi, S. H. Choi, J. G. Choi, M. Rho, J. Y. Lee, and S. S. Lee, *J. Acupunct. Meridian Stud.* **11**, Online Published (2018).
- [15] Y. I. Noh, M. Rho, Y. M. Yoo, S. J. Jung, and S. S. Lee, *J. Acupunct. Meridian Stud.* **5**, 201 (2012).
- [16] S. S. Lee and K. S. Soh, *J. Korean Magn. Soc.* **21**, 219 (2011).
- [17] H. R. Lee, J. W. Kim, J. E. Kim, Y. I. Noh, D. Y. Park, M. S. Rho, S. S. Lee, J. Y. Kim, Y. E. Ha, Y. J. Hong, and S. Y. Kang,

- New Phys.: Sae Mulli **65**, 1134 (2015).
- [18] Y. I. Noh, Y. M. Yoo, R. H. Kim, Y. J. Hong, H. R. Lee, M. Rho, and S. S. Lee, *Evid. Com. Alter. Medi.* **2012**, Article ID 429106 (2012).
- [19] H. R. Lee, M. Rho, Y. J. Hong, Y. E. Ha, J. Y. Kim, Y. I. Noh, D. Y. Park, C. K. Kim, E. J. Kim, I. H. Jang, S. Y. Kang, and S. S. Lee, *J. Acupunct. Meridian Stud.* **8**, 301 (2015).
- [20] Fluorescent Magnetic – Spherotech, http://www.spherotech.com/fluor_mag_par.htm.
- [21] SPHERO™ Magnetic Particles, <http://www.spherotech.com/new%20downloadable%20notes/Magnetic%20Particles%202008-2009.pdf>.
- [22] P. L. Johansen, F. Fenaroli, L. Evensen, G. Griffiths, and G. Koster, *Nature Commun.* **7**, Article number: 10974, 1 (2016).