

6-Aminonicotinamide 투여 후 햄스터 척수의 미세구조 변화

양 영 철

연세대학교 원주의과대학 해부학교실

Ultrastructural Changes of the Spinal Cord after Treatment with 6-Aminonicotinamide

Yang, Young Chul

Department of Anatomy, Yonsei University Wonju College of Medicine

(Received August 2, 1997)

ABSTRACT

The effects of antimetabolite, 6-aminonicotinamide (6-AN), on ultrastructural changes in the spinal cord of golden hamster were investigated. Intraperitoneal administration of 6-AN (10 mg/kg body weight) every two days gave rise to a marked reduction of about 30~40% in body weight after 26~28 days (13~14th injection).

In the lesions of the spinal cord, neuroglial cells such as astrocytes and oligodendrocytes were severely damaged, but neurons and blood vessels were not affected by 6-AN. The myelin sheath was also affected by 6-AN.

Vacuoles observed in the lesions were produced by the swelling and degenerating changes of neuropils and neuroglial cells. Numerous swollen mitochondria and cisterns of rough endoplasmic reticulum were observed in the watery cytoplasm of damaged neuroglial cells, but intermediate filaments were well preserved. Especially in the damaged astrocytes, the outer nuclear membrane were partially swollen and formed a halfmoon-like structure. It is suggested that as well as the multivesicular bodies protruding from the swollen dendrites, the conjugation of adjacent vacuoles also participated in the formation of large vacuoles.

Key words : 6-AN, Spinal cord, Vacuoles, Astrocytes, Oligodendrocytes

서 론

6-AN은 비타민 B 복합체의 일종인 nicotinamide와 구조적으로 유사하며, nicotinamide의 강력한 길

항제로 작용하고 (Johnson and McColl, 1955) 세포 내 중요한 조효소인 NAD⁺나 NADP⁺와 결합하여 6-amino-NAD(6-ANAD) 또는 6-amino-NADP(6-ANADP) 복합체를 형성 (Johnson and McColl, 1955; Köhler *et al.*, 1970), 산화환원 반응에서 전

자를 전달할 수 없게 하여 ATP 합성을 저해시킨다 (Dietrich *et al.*, 1958; Mayanil *et al.*, 1984). 또한 NAD⁺ 또는 NADP⁺를 조효소로 필요로 하는 효소의 활성을 억제하며 (Dietrich *et al.*, 1958; Köhler *et al.*, 1970), NAD⁺ 또는 NADP⁺ 생합성을 저해시킨다 (Hunting *et al.*, 1985). 6-AN은 특히 5탄당인산 회로에 관여하는 6-phosphogluconate dehydrogenase의 활성을 억제시켜 (Desphande *et al.*, 1978) 조직내 6-phosphogluconate의 축적을 초래시키므로써 (Kauffman and Johnson, 1974; Herken *et al.*, 1976; Griffiths *et al.*, 1981; Sudo *et al.*, 1984; Gaitonde *et al.*, 1987; Carmona and Freedland, 1990), 혈액내 glucose 농도를 현저히 증가시킨다 (Ammon and Steinke, 1972; Baba *et al.*, 1978; Park *et al.*, 1990).

6-AN은 특히 중추신경계에 크게 영향을 미치는 신경독성제로 알려져 있으며, 이에 대한 원인은 아직 명확하게 밝혀져 있지는 않으나 소뇌, 간뇌, 변연계통, 뇌줄기 및 척수회색질 등에 영향을 주어 공포의 발달로 인한 스폰지화 현상을 초래한다 (Wolf and Cowen, 1959; Schneider and Cervos-Navarro, 1974; Desphande *et al.*, 1978; Horita *et al.*, 1980; Aikawa and Suzuki, 1986). 중추신경계에서 6-AN의 영향으로 인한 형태적인 변화로 나타나는 공포는 주로 신경조직의 세포 및 신경망의 팽창 (Schneider and Cervos-Navarro, 1974; Horita *et al.*, 1980; Aikawa *et al.*, 1984), 세포외 공간의 팽창 등에 의해 형성된다고 알려져 있다 (Schneider and Cervos-Navarro, 1974). 세포 수준에서 6-AN은 주로 별아교세포 (Griffiths *et al.*, 1981; Horita *et al.*, 1981; Aikawa *et al.*, 1984; Ishiguri *et al.*, 1987; Politis, 1989), 회돌기아교세포 (Schaarschmidt and Lierse, 1975; Blakemore, 1978)와 같은 신경아교세포의 퇴행변화를 유도하며, 특히 회돌기아교세포의 퇴행변화에 수반하여 수초의 붕괴현상을 일으키기도 한다 (Blakemore, 1978; Miyoshi *et al.*, 1978). 신경아교세포에서 일어나는 이러한 변화는 세포질내 조면소포체 수조 및 핵주위 수조 등의 팽창과 사립체 등 다른 세포소기관들의 퇴행변화에서 연유한다 (Schneider and Cervos-Navarro, 1974; Horita *et al.*, 1980;

Aikawa and Suzuki, 1986). 이외에도 6-AN의 영향으로 뇌실막세포가 공포화로 인해 팽창하고 중뇌수도관을 막아 수두증이 발생한다는 보고가 있다 (Aikawa and Suzuki, 1985). 중추신경계에 분포하는 혈관의 내피세포에 대한 6-AN의 작용과 관련하여 Ishiguri 등 (1987)은 영향이 없다고 하였으나, 내피세포의 미세음작용 (micropinocytosis)이 크게 증가한다는 주장도 있으며 (Sasaki, 1982), 비록 혈관주위에 분포하는 신경아교세포가 6-AN에 의해 퇴행변화를 일으킨다고 해도 단백질이 유출되는 현상은 일어나지 않으며 따라서 뇌혈관 장벽은 혈관내피세포에 의해 그대로 유지된다는 보고도 있다 (Krum and Rosenstein, 1993). 6-AN은 신경세포에는 영향을 주지 않는다는 보고가 있으나 (Griffiths *et al.*, 1981; Ishiguri *et al.*, 1987), 신경세포 역시 퇴행변화를 일으킨다는 보고 (Herken *et al.*, 1976; Horita *et al.*, 1981)도 있으며, 6-AN의 투여량에 따라 신경세포에 미치는 영향이 다르다는 견해 (Schneider and Cervos-Navarro, 1974)도 있어, 신경세포에 대한 6-AN의 영향은 아직 명확히 정립되어 있지 않다.

저자는 동면동물인 햄스터를 실험동물로 이용하여 6-AN을 장기 투여한 후 척수중심관을 감싸는 뇌실막세포가 지금까지의 보고와는 달리 6-AN에 의해 영향을 받지 않았음을 보고한 바 있다 (양영철 등, 1997). 본 연구는 6-AN을 장기 투여한 햄스터 척수의 실질 조직에서 일어나는 신경세포, 신경아교세포 및 혈관 등의 변화들을 전자현미경을 이용하여 밝히고자 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 출생 후 3.5개월 정도 경과한 체중 120~140 g 정도의 웅성 Golden hamster (*Mesocricetus auratus* Water)를 사용하였다. 햄스터를 실험군 (34마리)과 대조군 (15마리)으로 분리하고 실험군은 0.9% NaCl 용액에 용해시킨 6-aminonicotinamide (Sigma A0630, USA; 10 mg/kg body weight)를, 대조군은 실험군과 동량의 0.9% NaCl 용액을 각각 격일로 복강투여 하였으며, 과립 사료와 물은 충분

히 공급하였다.

6-AN 용액과 0.9% NaCl 용액을 각각 13~14회 투여한 후 실험군과 대조군을 희생시켰는데, 이 때 체중은 30~40% 정도 감소되었다. 실험군과 대조군을 각각 ethyl ether로 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.9% NaCl을 포함하는 0.1 M 인산염완충액 (pH 7.4, 4°C)으로 관류방혈시킨 다음 4°C의 2% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde 고정액으로 관류고정하였다. 이 후 척수를 적출하여 실험재료로 사용하였다.

2. 실험방법

관류고정한 후 적출한 척수 조직을 관류고정액과 동일한 용액에서 2시간 더 고정한 후, 1% OsO₄ 용액에서 1시간 동안 후고정하고 통상적인 방법에 따라 epon 혼합액에 포매하였다. 이어서 1μm 두께의 절편을 작성하고 광학현미경으로 공포가 발생한 척수부위를 확인한 후 초박절편을 제작하고 uranyl acetate 및 lead citrate로 이중 염색하여 Joel 1200 EX II 투과전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

6-AN에 의해 영향을 받은 부위에서 특히 신경망에 공포가 매우 발달하였으며 (Figs. 1-4), 공포내에는 사립체 등의 퇴행변화를 보이는 세포소기관도 소수 존재하였고 (Figs. 1, 2), 공포를 둘러싸는 경계구조가 부분적으로 소실되어 인접한 구조와 연결되어 있는 양상으로 관찰되는 경우도 있었다 (Fig. 1). 공포가 발달된 부위에서 공포에 인접한 축삭을 둘러 싸는 수초 중에는 부분적인 팽창이 일어나 공포내로 돌출된 모습이 관찰되었으며, 이와 같은 구조에서 축삭쪽 (내축삭간막쪽) 수초도 팽창되어 있기는 하지만 공포쪽 (외축삭간막쪽) 수초가 팽창되어 있는 경우를 자주 관찰할 수 있었다 (Figs. 1, 4). 퇴행하는 사립체를 가진 일부 팽창된 가지돌기가 관찰되었으며, 주변에는 비교적 온전한 축삭종말과 가지돌기 등이 존재하였고, 이들 사이에 이루어진 잘 보존된 신경연접이 관찰되었으며 (Fig. 2), 팽창된 가지돌기로부터 주위의 공포로 뭇소포체와 같은 구조가 돌출되어 있고, 이 돌출구조가 마

치 공포내로 탈락하는 것처럼 보이는 경우도 관찰할 수 있었다 (Fig. 3).

6-AN에 의해 별아교세포는 심한 영향을 받은 것으로 관찰되었다 (Figs. 5-8). 손상을 받은 별아교세포의 비어 있는 것처럼 보이는 세포질 (watery cytoplasm)에는 퇴행하는 사립체와 팽창된 조면소포체의 수조 등이 존재하였고, 중간세사는 비교적 잘 보존되어 있었다 (Figs. 5-8). 별아교세포중에는 핵의 외막이 팽창되어 외막과 내막 사이에 독특한 공간구조를 형성하는 경우도 있었으며, 이러한 구조에는 대부분 비교적 높은 전자밀도의 균질한 물질로 차 있었으나 (Figs. 7, 8), 이런 물질을 소실한 구조도 관찰되었다 (Fig. 5).

손상 받은 대부분의 별아교세포 주변에서 비교적 온전한 신경망이 관찰되었고 (Figs. 5-8), 이웃한 신경세포 역시 정상 소견을 보였다 (Fig. 8).

최소돌기아교세포 역시 심하게 손상받았으며 세포질에는 퇴행하는 사립체가 존재하고 매우 큰 공포가 발달되어 있었으며, 공포와 공포사이의 경계가 부분적으로 소실되어 마치 이웃한 공포끼리 융합하는 것처럼 보이는 양상도 나타났다 (Figs. 9, 10).

혈관 주변에도 공포가 매우 발달하여 공포에 의해 혈관이 완전히 둘러 싸여 있는 것처럼 보이는 경우도 있었다. 이러한 공포는 혈관을 둘러 싸는 신경망의 팽창 및 퇴행변화에 의해 이루어진 것이었으나 혈관내피세포가 직접 공포에 노출되는 현상은 거의 관찰되지 않았으며, 혈관내피세포는 비교적 정상이었다 (Figs. 11, 12).

신경세포 주변에도 공포는 발달되어 있었으나, 신경세포는 6-AN에 의해 영향을 받지 않은 것으로 보였다 (Figs. 13-16). 신경세포 세포질에는 깊게 함입을 이룬 불규칙한 핵, 핵소체, 사립체, 색소과립, 조면소포체, 자유리보솜 및 골지장치 등이 발달되어 있어서 전형적인 신경세포의 형태를 유지하고 있음을 알 수 있었으며 (Figs. 13-16), 특히 골지장치는 핵주위를 따라 발달되어 있었고 (Figs. 13-16), 신경세포 주위에서 부분적으로 공포가 발달되지 않은 부위에서는 축삭종말과의 사이에 축삭-세포체 신경연접도 관찰되었으며 (Figs. 14, 15), 일부 신경세포에서 주위의 공포로 돌출된 세포질돌기도 관찰할 수 있었다 (Fig. 15).

고 찰

6-AN에 의해 손상된 뇌와 척수 등 중추신경계에 분포하는 신경세포 및 신경아교세포에 대한 6-AN의 영향은 다양하게 나타난다. 별아교세포와 희소돌기아교세포의 손상에 대해서는 여러 연구자들이 일치된 주장을 하고 있으나, 신경세포에 대해서는 손상을 받는다는 주장과 (Schneider and Cervos-Navaro, 1974; O'Sullivan and Blakemore, 1980; Horita *et al.*, 1981; Aikawa and Suzuki, 1986), 영향을 받지 않는다는 주장이 있어 서로 상반되고 있다 (Griffiths *et al.*, 1981; Ishiguri *et al.*, 1987). 본 실험의 결과 햄스터 척수의 6-AN에 의한 손상부위에서 별아교세포, 희소돌기아교세포 등의 신경아교세포는 심한 퇴행변화를 보였으나, 신경세포는 비교적 정상적인 구조를 유지하는 것으로 보아 신경세포에는 별로 영향을 주지 못하는 것으로 생각되었다. 6-AN의 영향으로 ATP의 농도가 유의하게 감소하고 (Kauffman and Johnson, 1974; Bielicki and Krieglstein, 1976; Sudo *et al.*, 1984), 단백질 함량 (Zeits *et al.*, 1978) 및 purine, pyrimidine nucleotide 그리고 poly ADP-ribose의 합성도 현저하게 줄어 들고 (Hunting *et al.*, 1985), 대뇌와 소뇌에서 RNA 합성도 저하된다고 알려져 있다 (Knoll-Köhler *et al.*, 1980). 햄스터의 경우 6-AN에 의해 영향을 받은 별아교세포와 희소돌기아교세포의 세포질에는 특히 사립체가 파괴되어 있어서 ATP 합성능력의 상실을 초래한다고 생각되었으며, 조면소포체 및 핵막 등 단백질 합성에 관여하는 것으로 알려진 세포소기관의 형태적인 변화에 의해 단백질 합성이 감소될 것으로 사료되며, 이는 6-AN의 영향으로 나타나는 신경아교세포의 미세구조 변화에 대한 다른 보고자들의 견해와 일치하는 것이다 (Schneider and Cervos-Navaro, 1974; O'Sullivan and Blakemore, 1980; Aikawa and Suzuki, 1986).

6-AN은 NAD⁺ 혹은 NADP⁺와 결합하여 각각 6-ANAD와 6-ANADP를 형성하는데, 이는 5탄당인 산회로에 관여하는 6-phosphogluconate dehydrogenase의 활성을 억제시키며 (Kauffman and Johnson, 1974; Bielicki and Krieglstein, 1976; Desph-

ande *et al.*, 1978), 이러한 억제작용은 6-AN의 투여농도와 상관없이 이루어진다 (Herken *et al.*, 1976). 그리고 중추신경계에 분포하는 신경아교세포의 세포체와 세포질돌기 등에서는 6-phosphogluconate dehydrogenase와 같은 NADP-dependent dehydrogenase에 대한 조직화학적 반응이 나타났으나, 신경세포에서는 이러한 반응이 나타나지 않았다는 보고 (Sims *et al.*, 1974) 등 조직화학적 및 생화학적 견해는 신경아교세포가 6-AN에 의해 심한 손상을 받는다는 사실을 시사하여 주는 것이다. 또한 조직화학적 및 생화학적 위와 같은 결과들과 6-AN에 의해 신경세포는 영향을 받지 않은 것으로 나타난 본 실험의 결과를 종합하여 볼 때, 6-AN은 신경세포에는 직접적인 영향을 미치는 것은 아니며, 만일 신경세포가 영향을 받는다면 이는 신경아교세포의 손상에 의한 2차적인 결과로 추측할 수 있다.

아직까지 6-AN의 정확한 작용기작에 관해 보고된 바는 없으나, 특정세포에 대하여 특이적으로 영향을 주는 원인은 그 세포의 세포막이 6-AN에 대한 수용성이 높기 때문이라고 추론한 견해 (Schotland *et al.*, 1965)와 6-AN에 의해 세포막의 투과성이 변하고 (Herken *et al.*, 1966), 물에 대한 흡수능력이 증대된다는 보고 (Sasaki, 1982) 등이 있다. 따라서 6-AN이 신경아교세포의 세포막에 대해 직접적으로 물리적인 작용을 주는지의 여부는 확인할 수 없으나, 별아교세포 및 희소돌기아교세포의 세포막이 6-AN에 대한 수용성이 높으며, 이로 인해 투과성이 변하고 물에 대한 흡수능력이 증대한 결과 세포질 팽창이 일어나며, 결과적으로 세포질 공포화를 유도하는 한 원인으로 작용할 것으로 사료된다.

6-AN의 영향으로 인하여 형태적인 변화로서 나타난 공포는 주로 신경망을 이루는 구조의 팽창 및 퇴행변화와 신경아교세포 세포질에서 핵주위 수조나 조면소포체 수조 및 사립체와 같은 세포소기관의 팽창과 퇴행변화로 인해 형성된다고 알려져 있다 (Schneider and Cervos-Navarro, 1974; Horita *et al.*, 1980; Aikawa *et al.*, 1984). 햄스터 척수의 경우에도 별아교세포와 희소돌기아교세포 등 신경아교세포의 세포질에서 조면소포체 수조의 팽창과 핵막중 외막의 팽창으로 인한 핵주위 수조의 형성 등은 이들의 결과와 일치하

는 것으로 보인다. 6-AN의 영향을 받은 신경아교세포의 핵막중 외막의 일부가 크게 팽창하여 독특한 공간구조를 형성하였는데 (Figs. 22-25), Schneider와 Cervos-Navarro (1974)는 이를 반월상 구조 (half moon-like structure)라 하였다. 6-AN에 영향을 받은 부위의 신경망에 공포가 매우 발달하였으며, 이들 중 일부에서 퇴행하는 사립체 등이 관찰되는 경우도 있었으므로 신경망에 발달된 공포는 세포질돌기의 팽창 및 퇴행변화에 의해 형성되었다는 것을 알 수 있었다. 햄스터 척수에서 6-AN에 영향을 받은 부위의 신경망에서 공포로 형성되어지는 것으로 추측되는 구조와 이에 이웃한 공포와의 사이에 존재하는 경계구조가 부분적으로 소실되어 있었으며, 또한 신경아교세포의 세포질에 분포하는 공포인 경우에도 이웃한 공포 사이의 경계가 부분적으로 붕괴되는 점 등은 공포가 생성되는 과정이나 생성된 후에도 공포 사이에 융합이 일어나 큰 공포로 형성되는 것으로 사료된다.

6-AN을 투여한 후 햄스터 척수에서 가지돌기로 추측되는 구조로부터 못소포체와 같은 구조가 공포내로 이입되는 경우를 관찰할 수 있었는데, 이는 공포의 생성과 관련하여 매우 흥미로운 결과이다. 즉 공포에 인접한 가지돌기로부터 이 구조물의 일부가 탈락되고 탈락된 구조가 새로운 공포의 형성이나, 공포의 크기를 증대시키는데 관여하는 것으로 추측된다. 6-AN의 영향으로 형성된 공포중에 신경아교세포의 세포질내에 형성된 공포를 제외하고, 혈관이나 신경세포 주변 혹은 신경망에서 관찰되는 대부분의 공포가 단위막으로 둘러싸여 있는 것으로 보아 6-AN에 의해 형성된 공포는 세포의 공간의 팽창으로 인해 형성되는 것은 아니라고 사료되며, 이는 Horita 등 (1980)의 보고와 일치하는 결과이나 Schneider와 Cervos-Navarro (1974)는 세포의 공간이 팽창하여 공포의 형성에 관여한다는 이견을 제시하기도 하였다. 따라서 공포와 관련한 본 실험결과를 종합하여 볼 때, 6-AN에 의한 영향으로 생성되는 공포는 신경망과 신경아교세포의 팽창 및 퇴행변화, 신경세포 가지돌기의 부분적인 탈락 등에 의해 이루어진다고 추론할 수 있으며, 공포와 공포사이의 융합 역시 공포의 형성과 밀접한 관계를 갖고 있다고 사료된다.

수초 신경섬유가 6-AN의 영향을 받으면 내측삭간

막 (inner mesaxon)과 축삭 사이에 부분적인 분리현상 및 팽창과 퇴행변화가 나타난다고 알려져 있으며 (Schneider and Cervos-Navarro, 1974; Friede and Bischausen, 1978; Miyoshi *et al.*, 1978; O'Sullivan and Blakemore, 1980), 또한 수초의 가장 바깥층 역시 팽창한다는 연구결과가 있다 (Schneider and Cervos-Navarro, 1974; O'Sullivan and Blakemore, 1980). 본 연구 결과 햄스터인 경우 축삭과 수초사이에 공포가 형성되고, 내측 수초의 팽창 및 퇴행변화가 관찰되기는 하였으나, 공포에 인접한 수초에서는 축삭의 바깥층이 공포쪽으로 심하게 팽창되는 양상으로 나타났으며, 부분적으로 내층에서 외층으로 이어지는 모든 층에서 변화가 관찰되었다. 따라서 6-AN은 수초의 내외층 모든 부위에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 수초는 주로 지질과 단백질로 구성되어 있으며, 특히 지질이 많이 분포되어 있다. 6-AN에 의해 야기되는 수초의 퇴행변화에 따른 지질함량의 변화가 예상되나 뇌에서 측정된 결과 지질함량의 변화가 없었다는 보고가 있다 (Desphande *et al.*, 1978). 또한 6-AN 투여 후 간에서도 지질의 합성물에 변화가 없었다는 보고가 있으나 (Carmona and Freedland, 1990), 6-AN과 기능적으로 유사한 3-acetylpyridine을 투여한 결과 뇌에서 총지질량은 변하지 않았으나 수초에 관련된 지질로 알려진 cerebroside (Nonaka and Kishimoto, 1979)는 감소하였다는 보고도 있다 (Nakashima and Suzue, 1984). 따라서 본 실험 결과 6-AN 투여 후 햄스터 척수에서도 수초의 퇴행변화를 초래하였으므로 수초 지질 함량의 변화를 예상할 수 있으나, 이를 확인하기 위해서는 6-AN 투여 후 총지질량 및 cerebroside 함량 변화에 관한 연구가 필요하다고 사료된다.

6-AN의 영향으로 인한 형태적인 변화의 발생부위 및 변화의 양상은 thiamine 결핍으로 초래되는 결과와 유사한 것으로 알려져 있다 (Schneider and Cervos-Navarro, 1974; O'Sullivan and Blakemore, 1980). 그러나 thiamine 결핍에 의해 흰쥐 뇌줄기의 혈관을 둘러싸는 신경아교세포의 세포질돌기가 파괴되어 혈관 내피세포의 기저막과 척수 실질사이에 공포가 존재한다는 견해 (Robertson *et al.*, 1968)와는 다르게 6-AN에 의해 손상 받은 햄스터 척수인 경우 혈관주위

에 공포는 발달해 있었으나, 혈관 내피세포가 직접 공포에 노출되어 있는 경우는 드물었으며, 대부분 소량이나마 신경아교세포의 세포질 돌기에 의해 싸여 있었다. 일반적으로 별아교세포의 세포질돌기가 뇌혈관장벽에 관여하는 것으로 생각되어져 왔으며, 뇌에 분포하는 혈관의 내피세포는 음작용이 활발하지 않다고 알려져 있으나(Junqueira *et al.*, 1992), 6-AN을 투여하면 혈관벽이 변하고(Wolf and Cowen, 1959), 혈관주위 신경아교세포의 세포질돌기가 부풀어지고 세포막의 능동수송에 장애가 생기며, 혈관내피세포의 음작용이 증대되어 이를 통해 혈관내 외래성 단백질이 뇌의 실질로 이동된다는 보고도 있다(Sasaki, 1982). 또한 Herken 등(1976)은 6-AN 투여 초기에는 혈관을 둘러 싸는 신경아교세포가 6-AN에 대한 장벽 역할을 하나, 시간이 경과한 후 신경아교세포의 세포질돌기가 팽창 하고 퇴행함에 따라 장벽으로서의 역할을 할 수 없다고 주장하기도 하였다. 그러나 최근 6-AN을 투여하면 중추신경계에서 혈관주위를 둘러 싸는 신경아교세포의 돌기가 파괴되고 혈관 내피세포가 직접 공포에 노출되기는 하지만 horse raddish peroxidase (HRP)를 투여하여 조사한 결과 중추신경계에서 혈관 외부로 유출된 HRP가 관찰되지 않은 점으로 보아 신경아교세포와는 관계없이 혈관 내피세포 사이에 이루어지는 폐쇄연접에 의해 뇌혈관장벽이 정상적인 기능을 한다는 보고도 있다(Krum and Rosenstein, 1993), 또한 본 실험에서도 6-AN에 의한 영향으로 비록 혈관 주위에 공포가 많이 형성되기는 하나 혈관 내피세포가 직접 공포에 노출되는 경우는 드물었으며, 혈관 내피세포 역시 변화가 없는 것으로 보아 6-AN에 의해 혈액에 분포되어 있는 외래성 거대분자가 혈관 외부로 유출되지는 않을 것으로 사료된다.

결 론

6-AN의 영향으로 유도되는 신경세포, 신경아교세포, 혈관 등의 미세구조적 변화를 관찰하기 위하여 6-AN을 장기 투여한 후 척수의 손상부위를 투과전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

6-AN에 의해 영향을 받은 척수 부위에서 별아교세포 및 희소돌기아교세포 등은 심하게 손상을 받았으며

수초 역시 영향을 받았으나, 신경세포는 영향을 받지 않았으며, 혈관주변에도 공포는 발달하였으나 혈관은 비교적 정상적인 형태를 유지하고 있었다. 손상된 부위에 발달한 공포는 신경망, 별아교세포 및 희소돌기아교세포 등의 팽창 및 퇴행변화에 의해 형성되는 것으로 관찰되었다. 6-AN에 의해 손상받은 신경아교세포의 세포질에는 팽창 및 퇴행변화를 보이는 조면소포체의 수조와 사립체 등이 관찰되었으며, 특히 심하게 손상받은 별아교세포의 바깥쪽 핵막이 부분적으로 팽창하여 독특한 halfmoon-like structure를 이루었다. 가지돌기의 부분적인 탈락이 공포이나 크기의 증가에 관여하는 것으로 나타났으며, 공포끼리의 융합 역시 공포의 크기를 증가시키는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

- 양영철, 조병필, 황태선, 강호석, 1997. 6-Aminocotinamide 투여 후 헵스터 척수 중심관의 형태변화, 한국전자현미경학회지 27(2), 177-187
- Aikawa H, Suzuki K, 1986. Lesions in the skin, intestine and central nervous system induced by an antimetabolite of niacin, *Am. J. Pathol.* 122, 335-342
- Aikawa H, Suzuki K, 1985. Aqueduct stenosis induced by a single injection of antivitamin, *Brain Res.* 354(2), 284-287
- Aikawa H, Suzuki K, Ito N, Iwasaki Y, Novaka I, 1984. 6-AN induced hydrocephalus in suckling mice, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 43(5), 511-521
- Ammon HPT, Steinke J, 1972. 6-AN as a diabetogenic agent: *in vivo* and *in vitro* studies in the rat, *Diabetes* 21(3), 143-148
- Baba A, Baba T, Matsuda T, Iwata H, 1978. Centrally mediated hyperglycemia by 6-AN, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 24, 429-435
- Bielicki L, Krieglstein J, 1976. Decreased GABA and glutamate concentration in rat brain after treatment with 6-AN, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 294, 157-160
- Blakemore WF, 1978. Lesions in the cat spinal cord following local injections of 6-AN, *Res.*

- Vet. Sci. 24(3), 390-391
- Carmona A, Freedland RA, 1990. Effects of 6-AN on pentose cycle activity in isolated hepatocytes, *Int. J. Biochem.* 22(6), 595-599
- Desphande SS, Albuquerque EX, Kauffman FC, Guth L, 1978. Physiological, biochemical and histological changes in skeletal muscles, neuromuscular junction and spinal cord of rats rendered paraplegic by administration of 6-AN, *Brain Res.* 140, 89-109
- Dietrich LS, Friedland IM, Kaplan LA, 1958. Pyridine nucleotide metabolism: Mechanism of action of the niacin antagonist, 6-aminonicotinamide, *J. Bio. Chem.* 233, 964
- Friede RL, Bischausen R, 1978. How do axons control myelin formation? The model of 6-AN neuropathy, *J. Neurol. Sci.* 35(2-3), 341-353
- Gaitonde MK, Jones J, Evans G, 1987. Metabolism of glucose into glutamate via the hexose monophosphate shunt and its inhibition by 6-AN in the rat brain in vivo, *Proc. R. Soc. Lond.* B231, 71-90
- Griffiths IR, Kelly PAT, Grome JJ, 1981. Glucose utilization in the CNS in the acute gliopathy due to 6-AN, *Lab. Invest.* 44(6), 547-552
- Herken H, Meyer-Estorf G, Halbhüner K, Loos D, 1976. Spastic paresis after 6-aminonicotinamide: Metabolic disorders in the spinal cord and electromyographically recorded changes in the hind limbs of rats, *Naunyn-Schmeiderberg's Arch. Pharmacol.* 293, 245-255
- Herken H, Senft G, Zemisch B, 1966. Der Einfluß von 6-aminonicotinsäureamid auf die Verteilung der Natrium- und Kaliumionen zwischen dem extra- und intracellulären Raum in der Leber und der Skelettmuskulatur, *Naunyn-Schmeiderberg's Arch. Pharmacol.* 253, 364-371
- Horita N, Ishii T, Izumiyama Y, 1980. Ultrastructure of 6-AN induced lesions in the CNS of rats, II. Alterations of the nervous susceptibility with aging, *Acta. Neuropathol (Berl.)* 49, 19-27
- Horita N, Ishii T, Izumiyama Y, 1981. Ultrastructure of 6-AN induced lesions in the CNS of rats. III. Alterations of the spinal gray matter lesions with aging, *Acta. Neuropathol (Berl.)* 53(3), 227-235
- Hunting D, Gowans G, Henderson JF, 1985. Effects of 6-aminonicotinamide on cell growth, poly-(ADP-ribose) synthesis and nucleotide metabolism, *Pharmacologist* 34, 3999-4004
- Ishiguri H, Kuchiwaki H, Takada S, Itoh J, Nagasaka M, Kagegawa N, 1987. Distribution and constitutional changes of edema fluid in cytotoxic brain edema analyzed by electron microscopy and differential scanning calorimetry, *No. To. Shinkei* 39(5), 463-470
- Johnson WT, McColl JD, 1955. 6-aminonicotinamide a potent nicotinamide antagonist, *Science* 122, 834
- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, 1992. *Basic Histology*, 7th ed. Tokyo, Appleton & Lange, pp. 218-222
- Kauffman FC, Johnson EC, 1974. Cerebral energy reserves and glycolysis in neural tissues of 6-AN treated mice, *J. Neurobiol.* 5(5), 379-392
- Knoll-Köhler E, Wojnowicz F, Sarkander HJ, 1980. Correlated changes in neuronal cerebral rat brain RNA synthesis and hypo- and hypermotric disorders induced by 6-AN, *Exp. Brain Res.* 38, 173-179
- Knoll-Köhler E, Barrach HJ, Neubert D, 1970. Inhibition of NADP dependent oxidoreductases by the 6-AN analogue of NADP, *FEBS Letters* 6(3), 225-228
- Krum JM, Rosenstein JM. 1993. Effects of astroglial degeneration on the blood-brain barrier to protein in neonatal rats, *Develop. Brain Res.* 74(1), 41-50
- Mayanil CK, Kazmi SMI, Baous NZ, 1984. Effects of 6-AN on monoamine oxidase and Na⁺ K⁺ ATPase activity in different regions of rat brain, *Biochem. Pharmacol.* 33(19), 3021-3023
- Miyoshi K, Takauchi S, Hayashi S, 1978. Experimental spongy degenerations of the white matter induced by 6-AN intoxication, *Folia. Psy-*

- chiatr. Neurol. Jpn. 32(2), 251-261
- Nakashima Y, Suzue R, 1984. Effect of 3-acetylpyridine on the content of myelin in the developing rat brain, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 30, 441-451
- Nonaka G, Kishimoto Y, 1979. Levels of cerebroside, sulfatides and galactosyl glycerides in different regions of rat brain, *Biochem. Biophys. Acta.* 572, 432-441
- O'Sullivan BM, Blakemore WF, 1980. Acute nicotinamide deficiency in the pig induced by 6-AN, *Vet. Pathol.* 17, 748-758
- Park IK, Lee CS, Lee SH, Song YK, Shin S, 1990. Effects of 6-AN on the levels of some metabolites and related enzymes in rabbit serum, *Kor. J. Zool.* 33, 493-498
- Politis MJ, 1989. 6-AN selectively causes necrosis in reactive astroglia cells in vivo. Preliminary morphological observations, *J. Neurosci.* 92(1), 71-79
- Robertson DM, Wasan SM, Skinner DB, 1968. Ultrastructural features of early brain stem lesions of thiamine-deficient rats, *Am. J. Pathol.* 52(5), 1081-1097
- Sasaki S, 1982. Brain edema and gliopathy induced by 6-AN intoxication of the CNS of rats, *Am. J. Vet. Res.* 43(9), 1691-1695
- Schaarschmidt W, Lierse W. 1975. Ultrastructural reaction of the multipotential glia in the cerebellum of the rat after treatment with 6-AN, *Acta. Anat(Berl).* 93(2), 184-193
- Schneider H, Cervos-Navarro J, 1974. Acute gliopathy in spinal cord and brain stem induced by 6-AN, *Acta. Neuropathol(Berl).* 27, 11-23
- Schotland DL, Cowen D, Geller LM, Wolf A, 1965. A histochemical study of the effects of an antimetabolite, 6-AN on the lumbar spinal cord of the adult rats, *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 24, 97-107
- Sims KL, Kauffman FC, Johnson EC, Pickel VM, 1974. Cytochemical localization of brain NADP (oxidized)-dependent dehydrogenases. Quantitative and qualitative distributions, *J. Histochem. Cytochem.* 22(1), 7-19
- Sudo J, Ishihara A, Tanabe T, 1984. Inhibitory effects of 6-AN on the renal transport of Para-Aminohippurate in the rat, *Jpn. J. Pharmacol.* 36, 491-498
- Wolf A, Cowen D, 1959. Pathological changes in the central nervous system produced by 6-AN, *Bull. NY. Acad. Med.* 35(12), 814-817
- Zeits M, Lange K, Keller K, Herken H, 1978. Effects of 6-AN on growth and acetylcholinesterase activity during differentiation of neuroblastoma cells in vivo, *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 305, 117-121

FIGURE LEGENDS**Figs. 1-4.** Neuropils affected by 6-AN.

Fig. 1. Partial destructions of boundaries between the adjacent two vacuoles (V1 and V2) are observed. Some myelin sheaths are collapsed into the vacuoles (arrow). M, mitochondria. Bar indicates 1 μ m.

Fig. 2. Degenerating swollen mitochondria (M) and neurofilaments (asterisk) are observed in the dendrites (D). Near these dendrites, intact axon terminals and dendrites existed and the axo-dendritic synapses (arrow heads) are observed. Bar indicates 1 μ m.

Fig. 3. The multivesicular body like structure is projecting from the dendrites into the vacuoles. Bar indicates 1 μ m.

Fig. 4. Swollen myelin sheath (arrow) are collapsed into the vacuole. Bar indicates 1 μ m.

Figs. 5-8. Astrocytes affected by 6-AN.

Swollen cisterns of rough endoplasmic reticulum (arrowheads) and degenerating mitochondria (M) are observed in the watery cytoplasm of the astrocytes (As). Outer nuclear membranes are swollen and are forming the semilunar-like structure filled with homogeneous electron dense materials (double arrows in Figs. 7, 8), but loss of these electron dense materials are also observed in some astrocytes (double arrows in Fig. 5). Intermediate filaments (asterisk) are well preserved in the damaged astrocytes. Some myelin sheath facing the severely damaged astrocytes are swollen and collapsed into the astroglial cytoplasm (arrow in Fig. 5), but neurons (NC) adjacent to the damaged astrocytes are not affected by 6-AN (Fig. 8). N, nucleus. Bar indicates 2 μ m.

Figs. 9, 10. Oligodendrocytes affected by 6-AN.

Well developed vacuoles (V) and degenerating mitochondria (M) are observed in the damaged oligodendrocytes (Ol). The boundary between the adjacent two vacuoles is partially collapsed (double arrows in Fig. 10). N, nucleus. Bar indicates 2 μ m.

Figs. 11, 12. Blood vessels in the lesions of the spinal cord.

Well developed vacuoles (V) are observed around the blood vessels (BV), but endothelial cells (En) of the blood vessels are well preserved. Bar indicates 2 μ m.

Figs. 13-16. Neurons in the lesions of the spinal cord.

Well developed vacuoles (V) are observed around the neurons (NC), but the neurons are not damaged by 6-AN. Indented nucleus (N), prominent nucleolus (No), mitochondria (M), lipofuscin pigment granules (PG), rough endoplasmic reticulum and free ribosomes are well preserved in the neurons. Axo-somatic synapses (arrow heads) are seen, and a cytoplasmic process (arrow) protruding into the vacuoles is also observed. Bar indicates 2 μ m.







