

## 모래쥐 흑색질의 도파민성 신경세포의 분포와 미세구조\*

최 월 봉 · 윤 상 선 · 고 병 문  
조 승 목 · 남 성 안 · 최 창 도  
한림대학교 의과대학 해부학교실

### **Distribution and Ultrastructure of Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra of Mongolian Gerbil (*Meriones unguiculatus*)**

Choi, Wol-Bong, Sang-Seon Yoon, Byoung-Moon Ko  
Seung-Mook Jo, Seong-Ahn Nam and Chang-Do Choi

Department of Anatomy, College of Medicine, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea

(Received October 21, 1997)

#### **ABSTRACT**

The substantia nigra of the Mongolian gerbil was studied by tyrosine hydroxylase immunohistochemistry and immunoelectron microscopy with preembedding method. The purpose was to obtain information on the distribution and ultrastructure of the Tyrosine hydroxylase immunoreactive and dopaminergic neurons in the substantia nigra, in order to provide the necessary background for the gerbil.

Large number of tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons were located in the compact part of substantia nigra. Findings in the gerbil, compared to observations in the other species, included the presence of prominent bundles of tyrosine hydroxylase immunoreactive cytoplasmic processes passing in the dorsoventral direction from pars compacta into pars reticulata at middle and caudal levels of the substantia nigra, and the presence of a distinct tyrosine hydroxylase immunoreactive substantia nigra pars lateralis. Tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons had well-developed cell organelles, especially rough endoplasmic reticulum, free ribosome and poly-ribosome, and showed the infoldings of the nuclear envelope.

We anticipate that the present description of the cellular organization of the tyrosine hydroxylase immunoreactive dopaminergic area in the substantia nigra of gerbil will be useful for the animal experimental model of Parkinson's disease.

**Key words** : TH, Immunocytochemistry, Fine structure, SN, Gerbil

\* 본 연구는 1996년 한림대학교 학술연구비 지원으로 이루어졌음.

## 서 론

흑색질(substantia nigra)은 중뇌에서 대뇌섬유다리(crus cerebri)의 등쪽에, 중뇌뒤판(midbrain tegmentum)의 배쪽에 위치하며, 중뇌의 길이를 따라 뻗어 있다. 이 흑색질은 어류와 양서류에서는 흔적만 남아 있고, 파충류 및 조류에서는 육안으로 겨우 구분되지만 포유류, 특히 사람에서 가장 발달되어 있는 신경핵이다(Parent, 1986). 흑색질은 신경세포가 크며, 색소세포가 많은 치밀부분(compact part; SNc)과 세포의 수가 그보다 적은 그물부분(reticular part; SNr) 및 가쪽부분(lateral part; SNl)으로 구분된다.

중뇌에서 합성되는 monoamine계통 중에서 도파민은 주로 흑색질의 치밀부분과 배쪽뒤판구역(ventral tegmental area; VTA)에서 농도가 매우 높고, 11개의 아미노산으로 구성되어 있다(Chen, 1993). 그런데 도파민의 감소는 섬세한 운동의 혼란을 초래하는 파킨슨씨병(Parkinson's disease)을 유발한다(Marsden, 1983), 즉 파킨슨씨병은 운동완서(bradykinesia), 운동불능증(akinesia), 근육경직(muscular rigidity), 휴식진전(resting tremor) 및 자세반사결함(impairment of postural reflexes)과 같은 증세를 보이는데, 이 질병은 중뇌에서 도파민성 신경세포의 심각한 감소로 인해 유발되는 것으로, 특히 흑색질의 도파민성 신경세포의 감소가 가장 크다고 알려졌다(Hassler, 1939; German 등, 1989).

중뇌에서 도파민성 신경세포는 처음에 설치류에서 A8, A9 및 A10으로 분류하였다(Dahlström과 Fuxe, 1964). A8 세포집단은 뒤적색구역(retrobulbar area; RRA)에 위치하고, A9 세포집단은 흑색질에 존재한다. A10 세포집단은 등쪽뒤판구역, 팔결색소핵(nucleus parabrachialis pigmentus; PB), 흑색질결핵(paranigral nucleus; PN), 다발사이핵(interfasciculus nucleus; IF) 및 중심선핵(central linear nucleus; CLi)에 위치한다. 중뇌에 분포하는 이들 도파민성 신경세포들은 줄무늬체(striatum), 가장자리구역(limbic system) 및 대뇌결질로 투사되어 다양한 운동조절과 관련된 신경지배에 관여한다(Fallon과 Moore, 1978; Swanson, 1982).

중뇌에서 흑색질과 관련된 도파민성 신경원의 신경해부학적 위치, 형태, 수 및 축삭의 투사에 관한 연구는 고양이(Halliday와 Tork, 1986; Jimenez-Castellanos와 Graybiel, 1987), 원숭이(Halliday와 Tork, 1986; Arsenault 등, 1988; German 등, 1988; Lynd-Balta와 Haber, 1994) 및 사람(Hassler, 1939; McGeer 등, 1977; Bogerts 등, 1983; Pearson 등, 1983; German 등, 1989)에서도 이루어졌으나, 주로 생쥐(Bak, 1967; Ross 등, 1976; Baker 등, 1980; Seniuk 등, 1990)와 흰쥐(Ungersteft, 1971; Lindvall과 Bjorklund, 1974; Fallon과 Moore, 1978; Bentivoglio 등, 1979; Phillipson, 1979; Swanson, 1982; Gerfen 등, 1982; German과 Manaye, 1993)와 같은 설치류, 특히 흰쥐를 대상으로 대부분의 연구가 편중되어 왔다.

본 실험에서 사용한 모래쥐는 수분조절 대사나 콜레스테롤 대사 등과 같은 여러 방면에서 실험동물로써 흔히 사용되고 있다(Edwards, 1990; Ichimura 등, 1993). 특히 이 동물은 불안정한 대뇌동맥고리(Willis circle)를 가지고 있는 것으로 알려져 있어(Levine과 Sohn, 1969), 총목동맥의 결찰을 통하여 뇌경색을 인위적으로 유발시킬 수 있어서 최근 이 방면의 연구(Gajkowska, 1992; Vallet 등, 1995)에도 많이 이용되고 있는 동물이지만, 모래쥐의 뇌 및 척수에서 catecholamine을 함유하는 신경세포의 분포 및 형태학적 연구는 전 등(1995)이 슬기핵(raphe nucleus)에서 serotonin과 TH의 분포에 관해서만 연구되어 있을 뿐이다.

본 연구는 중추신경계통 내에서 광범위한 분포를 갖고 있고, 신경생물학적으로 매우 중요한 기능을 영위하고 있는 도파민 신경계통에 관한 계통발생학적인 연구의 일환으로써 최근 뇌신경해부학분야에 실험 동물로서 각광을 받고 있는 모래쥐의 흑색질에서 TH에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 방법으로 도파민을 함유하고 있는 신경세포의 분포를 밝히고, 이 세포체의 모양, 크기 및 세포질돌기의 분지상태 등을 광학현미경하에서 관찰하고, 포매전면염색을 시행하여 세포의 특징에 대한 미세구조를 전자현미경으로 관찰하여, 그 결과를 몇몇 다른 실험동물의 결과와 비교 검토하기 위해 본 실험을 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 조직처리

본 연구에 사용한 동물은 체중 70 gm 내외의 성숙한 수컷 모래쥐(Mongolian gerbil)로서 모두 30마리를 사용하였다. 뇌를 관류고정하기 위해 pentobarbital (7.5 ml/kg body weight)을 복강주사하여 마취시킨 후, 좌심실을 통하여 0.1% heparin이 포함된 0.9% 생리식염수로 관류수세한 후, 실험 목적에 따라 다음과 같은 용액으로 관류 고정하였다. 첫째, 면역조직화학적 관찰을 위해 pH 6.5의 4% paraformaldehyde (in phosphate buffer, PB)와 pH 11.0의 4% paraformaldehyde (in borate buffer)로, 둘째 전자현미경으로 흑색질의 미세구조를 관찰하기 위해 1% paraformaldehyde와 1% glutaraldehyde로, 셋째 세포면역화학적 관찰을 위해서는 4% paraformaldehyde와 0.2% glutaraldehyde로 각각 고정하였다.

### 2. 면역조직화학

고정 후, 뇌를 적출 하여 냉동박절기(Frigomobil, Reichert-Jung)로 40  $\mu$ m 두께의 연속 관상절편을 만들어 면역염색을 시행하였다. 면역염색의 전 과정은 부유법(free floating method)으로 시행하였으며, 반응과정은 4°C의 조건하에서 시행하였다. 40  $\mu$ m 두께의 연속절편은 PBS (0.1 M phosphate buffered saline)로 세척하고, 이어 0.3% Triton X-100이 함유된 PBS (T-PBS)로 수세한 후 면역조직화학염색을 시행하였다. 조직내 비특이적 면역반응을 막기 위하여 preincubation용액(0.3% Triton X-100, 1% normal goat serum 및 1% bovine serum albumin in 0.1 M PB)으로 처리하였다. 1차항체는 토끼에서 추출한 TH (Chemicon)를 1 : 2000으로 희석하여 사용하였고(4°C, 48hr), 2차 항체는 biotinylated swine anti-rabbit immunoglobulin (Biomaker)과 peroxidase-conjugated streptavidin (Biomaker)에 1% bovine serum albumin (Sigma) 및 0.3% Triton X-100을 첨가하여 각각 1 : 300으로 희석하여 실온에서 2시간 동안 반응시켜 PBS로 3회 세척하였고, peroxidase에 대한 발색은 3,3'-diaminobezidin-4HCl

(DAB, Sigma)을 0.1 M PBS (pH 7.4)에 용해하여 (50 mg/100 ml) 과산화수소수가 0.0045% 되도록 첨가시켜(DAB 용액) 사용하였다. 각 조직절편은 알콜 탈수 및 투명과정을 거쳐 영구표본을 작성하여 광학현미경으로 관찰하였다(D-7082 Oberkochen, Zeiss, Germany).

### 3. 미세구조의 관찰

고정한 재료를 vibratome으로 100  $\mu$ m 두께의 연속절편을 만들었고, 흑색질 부위를 1 mm<sup>2</sup> 내외의 크기로 절제한 후, 절제한 조직절편을 1% O<sub>8</sub>O<sub>4</sub>로 후고정하였다(4°C, 1hr). 통상방법에 따라 alcohol 탈수과정 및 propylene oxide를 거쳐 resin-araldite mixture로 포매한 후 각 표본을 1  $\mu$ m 두께의 준박절편을 작성하였다. 준박절편에서 신경세포를 확인한 후 초박절편(ultracut E, Reichert-Jung, Germany)을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 전자현미경으로 관찰하였다(EM 109, Zeiss, Germany).

### 4. 면역세포화학을 이용한 전자현미경적 관찰

고정한 재료를 vibratome으로 40  $\mu$ m 두께의 연속절편을 만들어 면역조직화학과 같은 방법으로 포매전염색(pre-embedding immunostaining)을 시행하였으며, 이때 사용한 모든 항체에는 Triton X-100을 첨가하지 않았다. 포매전염색이 끝난 절편을 현미경하에서 양성구조의 출현부위를 1 mm<sup>2</sup> 내외의 크기로 절제한 후, 절제한 조직절편을 1% O<sub>8</sub>O<sub>4</sub>로 후고정 하였다. 이어 탈수과정을 거친 후 flat embedding하고, 박절편에서 양성구조가 확인되는 부위를 초박절편(Ultracut E, Reichert-Jung, Germany)을 제작하고 lead citrate로 염색하여 전자현미경으로 관찰하였다(EM 109, Zeiss, Germany).

## 결 과

광학현미경으로 관찰한 흑색질은 앞쪽으로는 유두핵(mammillary nucleus)의 뒷부분부터(Fig. 1a), 뒤쪽으로는 안쪽섬유띠(medial lemniscus)가 시작되는 부위(Fig. 1c)까지 납작한 방추형을 띠고 있었다.

또한 TH 면역반응 신경세포는 흑색질의 치밀부분(compact part; SNC), 그물부분(reticular part; SNr) 및 가쪽부분(lateral part; SNl) 모두에서 출현하였는데, 그 중에서도 치밀부분에서 가장 많이 출현하였다. 기타 부위 즉 그물부분에서는 극히 적은 수의 TH 면역반응 신경세포들만이 배쪽에서 관찰되었고, 가쪽부분에는 적은 수가 산재하고 있었다.

유두체핵의 뒷부분, 즉 흑색질 치밀부분의 앞부분은 TH 면역반응 신경세포들이 가쪽에서 안쪽으로 수평하게 치밀한 띠를 형성하고 있었고, 일부는 배쪽 뒤판 구역까지 연속되어 있었으며, 이 수평한 띠를 형성하는 TH 면역반응 신경세포들이 흑색질의 등쪽에서 매우 촘촘하게 밀집되어 있었다(Fig. 1a). 다시 이 띠를 이룬 일부 세포 무리들은 그물부분 쪽으로 연속되어 내려가면서 마치 기둥과 같은 모양을 하고 있었다(Fig. 1a, d). 이들 기둥을 형성하는 TH 면역반응 신경세포들에서부터 기시하는 굵은 세포질돌기가 여러 다발들을 형성하여 그물부분의 배쪽을 향하여 평행하게 뻗어 있었으며, 이 세포질돌기들은 비교적 매끄럽고 그물부분을 따라서 불규칙하게 가지를 내고 있었다(Fig. 1a, d). 또한 흑색질 그물부분에서는 특이한 섬유상의 형태를 만들면서 매우 많은 가지들을 내고 있었는데, 이들 가지들은 염주알모양을 이루고 있었다(Fig. 1d). 이들보다 꼬리 쪽인 다발사이핵(interfascicular nucleus; IF in Fig. 1b)이 있는 흑색질 치밀부분의 등쪽에서도 TH 면역반응 신경세포들이 많이 출현하였는데, 바깥쪽으로 갈수록 밀집되어 있었으나, 그 안쪽은 약간 산만하게 흩어져 있었는데, 전체적인 면역염색성은 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 앞쪽 흑색질의 치밀부분에서는 그물부분으로 향하던 세포 무리들은 더욱 길게 뻗어 그물부분의 바닥까지 연장되어 내려와 그물부분의 배쪽을 따라서 계속 뻗고 있었으며, 흑색질의 가쪽부분에서는 소수의 TH 면역반응 신경세포들이 분산 분포하고 있었다(Fig. 1b). 안쪽 섬유띠가 시작되는 부위에 위치하는 흑색질의 꼬리쪽 치밀부분에서는 TH 면역반응 신경세포들이 흑색질의 앞쪽 및 중간부분보다는 그 수가 적고 밀집도도 낮았으며, 균일하게 분포하는 긴 띠를 형성하고 있었다. 이 띠는 흑색질의 안쪽에 위치하는 안쪽섬유띠(medial lemniscus)에서부터 가쪽에 있는 다리주위핵

(peripeduncular nucleus; PP in Fig. 1c)까지 뻗어 있었다. 그밖에 흑색질 그물부분의 배쪽에서도 TH에 면역반응 신경세포들이 극소수 관찰되었다(Fig. 1c).

흑색질 치밀부분의 TH 면역반응 신경세포체의 모양은 구형, 방추형 및 별모양이었고(Fig. 1d~1f), 신경세포체의 크기는 대개  $20\ \mu\text{m} \times 17\ \mu\text{m} \sim 35\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$  정도 였다. 구형 및 방추형세포의 경우 굵고 짧은 2개의 세포질돌기들이 세포체의 양쪽 극에서 각각 뻗어 있었고(Fig. 1e), 별모양의 못구형 신경세포는 여러 개의 가는 세포질돌기들이 길게 뻗고 있었다(Fig. 1f).

전자현미경으로 관찰한 흑색질 치밀부분의 신경세포의 미세구조를 보면, 전반적으로 매끄러운 세포막을 갖고 있었으나, 핵막의 경우 부분적으로 함입되어 있어 모양이 불규칙하였다. 핵은 대부분 신경세포의 중앙에 위치하고 있었고, 그 크기는 세포질의 반 이상을 차지하고 있었다. 핵내에는 매우 크고 선명한 1개의 핵소체가 위치하고 있었으며 핵질은 퍼진염색질(euchromatin)로 구성되어 있어 밝게 보였다. 세포질 내에는 세포소기관들이 잘 발달되어 있었으며, 특히 다양한 형태 및 크기의 사립체가 세포질내 전반에 걸쳐 분포하고 있었으며, 과립세포질세망은 세포막과 평행하게 위치하고 있었고, 전형적인 층판모양의 골지복합체(Golgi complex)도 세포질 내의 여러 곳에서 관찰되었다. 한편 포매전면역염색한 표본에서, 흑색질 치밀부분의 양성반응 신경세포를 관찰한 결과, TH항체에 특이적인 면역반응을 나타내었는데, 이러한 세포들은 DAB(3, 3-diaminobezidin-4HCl) 반응산물이 세포질 전반에 표지되어 전자밀도가 매우 높았기 때문에 어렵게 관찰되었다(Fig. 2a). DAB의 침착은 과립세포질세망, 자유리보소체 및 핵질 등에 표지되어 있었고, 이들 침착물 때문에 세포질 내에서는 사립체 및 골지체와 같은 다른 소기관들은 관찰하기 어려웠으나, 과립세포질세망은 일반 미세구조를 관찰할 때보다 더욱 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 2b).

## 고 찰

TH에 대한 면역화학적 방법으로 모래쥐 흑색질에서 도파민성 신경세포의 분포와 미세구조를 추정하기

위하여 본 연구를 실행하였다. TH는 tyrosine, 3, 4-dihydroxyphenyl-alanine, dopamine, norepineprine, catecholamine으로 이어지는 생합성 경로의 첫 번째 효소로서, TH에 대한 면역세포화학은 모든 카테콜라민성 신경세포와 돌기들을 염색할 수 있다. 조직형광법과 약리학적 연구(Dahlström and Fuxe, 1964; Björklund and Lindvall, 1984)로 흰쥐 중뇌의 카테콜라민성 신경세포는 도파민성이라는 것이 밝혀졌고, Dahlström and Fuxe (1964)는 카테콜라민 생합성 경로의 첫 번째 효소인 TH와 세 번째 효소인 dopamine- $\beta$ -hydroxylase를 이용하여 면역조직화학적 방법으로 관찰하였던 바, TH가 3, 4-dihydroxyphenylalanine의 합성경로를 거쳐 도파민으로 합성되므로 흑색질을 포함한 중뇌에서 TH 면역반응 신경세포는 도파민성이라고 결론지었다. 고양이(Miachon 등, 1984), 햄스터(Vicent, 1988), 양(Tillet and Thibault, 1989) 및 돼지( $\phi$ stergaard 등, 1992)에서도 이를 확인한 바 있기 때문에, 본 연구에서도 TH 면역반응세포들은 카테콜라민성일 뿐만 아니라 도파민성이라고 생각된다.

Dahlström과 Fuxe (1964)는 포유류의 뇌에서 도파민 신경세포를 15집단으로 구분하였는데, 이 가운데 중뇌에 존재하는 집단은 A8, A9 및 A10으로 각각 적색핵 뒷부분의 그물체 (retrobulbar field), 흑색질 (substantia nigra), 배쪽뒤관구역 (ventral tegmental area)에 해당한다. 과거 중뇌에서 TH 또는 도파민 양성 신경세포의 분포에 대하여 여러 연구자들에게 의해 보고되어 왔다. 즉 동물별로 보면 흰쥐 (Voorn 등, 1986; 최와 원, 1990; Dabadie 등, 1990), 햄스터 (Vicent, 1988), 고양이 (Miachon 등, 1984), 양 (Tillet and Thibault, 1989), 원숭이 (Arsenault 등, 1988), 사람 (Nobin and Björklund, 1973; Olson 등, 1973; Gaspar 등, 1983; Pearson 등, 1983; Haber and Groenewegen, 1989) 등 다양한 동물에서 이루어져 왔다. 모래쥐 중뇌에서 TH 또는 도파민 면역반응 신경세포의 분포는 배쪽뒤관구역, 흑색질 및 적색핵 뒤쪽구역에 밀집되어 분포하였고, 이들 사이의 경계는 뚜렷하지 않아 서로 연속되어 있었다. 앞서 언급된 다른 여러 동물의 중뇌에서도 TH 면역반응 신경세포의 분포가 이들 세 구역에 집중적으

로 분포하고, 경계도 불명확하다고 보고된바, 모래쥐 중뇌의 TH 면역반응 신경세포의 분포와 큰 차이가 없는 것으로 생각된다.

모래쥐 흑색질은 치밀부분, 그물부분 및 가쪽부분으로 구분되는데, 앞서 기술한 다른 동물에서와 같이, 치밀부분에서 TH 면역양성 신경세포가 가장 많이 분포하였고, 그물부분과 가쪽부분에는 소수 관찰되었다. 흑색질의 치밀부는 TH 면역반응 신경세포의 세포질 돌기가 수평으로 뻗은 등쪽부분과 수직으로 뻗은 배쪽부분으로 구성되어 있었는데, 이는 흰쥐 (Fallon and Loughlin, 1985) 및 돼지 흑색질의 치밀부 ( $\phi$ stergaard 등, 1992)와 일치하였으나, 배쪽부분의 수직으로 뻗은 세포질돌기가 불규칙한 돌기를 내고 있어 돼지 흑색질 치밀부분보다는 좀 더 복잡한 양상을 띠고 있었다. 흑색질 그물부분으로 뻗은 세포질돌기 다발의 면역염색성은 원숭이 (Arsenault, 1988)와 사람 (Gaspar 등, 1983; Pearson 등, 1983; Haber and Groenewegen, 1989)보다는 진하였고, 흰쥐 (Voorn 등, 1986; 최와 원, 1990; Dabadie 등, 1990)와는 비슷한 면역반응을 보였다. 그밖에 그물부분으로 투사되는 세포질돌기는 매우 많은 가지를 내고 있었고, 이들 가지에는 염주알 모양의 팽대가 관찰되었는데 이러한 면역반응 세포질돌기의 집단은 그물부분으로 도파민을 전도하는 세포질돌기로 알려진 것 (Cheramy 등, 1981; Björklund and Lindvall, 1983)으로 보아 세포질돌기의 다발이 도파민성일 것으로 추측된다. 사람 태아의 뇌를 조직형광법으로 연구한 초기에 카테콜라민성 형광세포는 흑색질 그물부분에서 발견되지 않았으나 (Nobin and Björklund, 1973; Olson 등, 1973), 그 후 사람 성체의 흑색질 실험연구에서 TH항체에 반응을 보이는 신경세포가 관찰 보고되었다 (Haber and Groenewegen, 1989). 더욱 도파민항체를 이용한 면역화학적 연구에서, Arsenault 등 (1988)은 다람쥐원숭이 (squirrel monkey)의 흑색질 치밀부분에서 그물부분으로 지나가는 세포질돌기가 배쪽으로 뻗은 것을 제외하고는 흑색질 그물부분에서 도파민에 면역반응을 보이는 신경세포는 없다고 보고한 바 있다. 본 실험에서 모래쥐 흑색질의 중간부분과 꼬리쪽 부분에서 소수의 TH 면역반응 신경세포가 관찰되었는데 이는 흰쥐의 소견과 같은 것이라 여겨진다 (Gerfen 등, 1982).

흑색질의 가쪽부위는 하등 포유동물에서와 같이 모래쥐에서도 비교적 잘 발달되어 있다. 그러나, 사람 (Nobin and Bj rklund, 1973; Pearson 등, 1983) 이나 원숭이 (Arsenault 등, 1988; Garver and Sladek, 1975; Jacobowitz and McLean, 1978; Satoh and Fibiger, 1985)에서는 기술된 바가 없으나, 최근 출판된 성서(成書)에 의하면 사람 중뇌에서 TH 면역 양성반응 세포의 출현을 기술하여, 도파민 양성 신경세포의 존재 가능성을 시사한 바 있다 (Pearson 등, 1990).

모래쥐 흑색질에 출현하는 TH 양성 신경세포의 모양은 방추형, 못극형 등이었으며, 신경세포체의 크기는 대개  $20\ \mu\text{m} \times 17\ \mu\text{m} \sim 35\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$  정도였다. 이는 흰쥐 (Voorn 등, 1986; 최와 원, 1990; Dabadie 등, 1990)에서의 결과와 유사하였으며, 세포의 크기에 대한 계측치는 연구자에 따라 다소간의 차이가 있었다.

TH 양성 신경세포의 미세구조를 관찰하기 위하여 포매전면역염색을 시행하였다. TH 양성 신경세포는 광학현미경 하에서 그 위치를 확인한 후 전자현미경으로 관찰한 결과, DAB반응에 의해 핵질과 세포질이 어둡게 보여 비면역반응세포와 쉽게 구분되었다. 이들 세포는 방추형 모양이 많았고 세포질소기관도 비교적 잘 발달되어 있었다. 특히 세포질세망이 잘 발달되어 세포막과 병행하여 여러 겹 배열되어 있었으며 잘 발달된 자유리보솜체 (free ribosome)도 세포질 전반에 걸쳐 고루 분포하고 있었는데 이는 흰쥐 흑색질 신경세포의 미세구조의 결과와 대동소이 하였다 (Domesicket 등, 1983; 최와 원, 1990). 그러나, 다람쥐원숭이 (Arsenault 등, 1988)의 경우에는 세포질세망이 중등도로 발달되어 있어 다소 차이가 있었다. Domesicket 등(1983)의 흰쥐 흑색질 연구에 의하면 비면역반응세포의 경우 세포질세망과 자유리보솜체의 발달이 면역반응 세포에 비해 매우 미약하여 큰 차이를 보였다. 핵막의 모양은 흰쥐에서 심하게 주름져 있었는데 (Voorn 등, 1986; 최와 원, 1990; Dabadie 등, 1990), 다람쥐원숭이에서는 평활하였고 (Arsenault 등, 1988), 모래쥐에서는 다소 불규칙하여 이들의 중간 정도였다.

흰쥐의 흑색질 치밀부분과 그물부분의 도파민성 신

경세포의 섬유는 편도체, 가쪽중격, 대뇌겉질로, 가쪽부분은 편도체와 줄무늬체 등으로 투사한다고 한다 (Fallon and Loughlin, 1995). 도파민성 신경세포의 투사가 모래쥐에서 보고된 적은 없으나 흰쥐와 비슷하리라 추측된다. 이는 앞으로 역방향 신경추적자인 horseradish peroxidase, cholera toxin B와 정방향 신경추적자인 biotinylated dextranamine 등을 이용하여 좀 더 상세한 연구가 계속 되어져야 할 것으로 사료된다.

## 결 론

모래쥐 중뇌의 흑색질에서 면역조직화학법과 면역세포화학법으로 tyrosine hydroxide (TH) 양성 신경세포를 광학 및 전자현미경으로 관찰하여, TH 양성 신경세포의 분포, 모양, 크기, 세포질돌기 및 미세구조를 조사하였다.

중뇌 흑색질은 치밀부분 (compact part), 그물부분 (reticular part) 및 가쪽부분 (lateral part)으로 구성되어 있고, 치밀부분에서 TH 양성 신경세포가 밀집 분포하고 있었다. 치밀부분의 TH 양성 신경세포의 세포질돌기는 수평으로 뻗은 등쪽부분과 수직으로 뻗은 배쪽부분으로 구성되고, 수직으로 뻗은 배쪽부분의 세포질돌기가 그물부분으로 뻗어 다발을 형성하는데, 이들이 도파민을 방출하는 세포질돌기들의 집단으로 생각된다. 흑색질에 출현하는 TH 양성 신경세포의 모양은 다양하였으나 방추형 모양의 세포가 가장 많았고, 크기는  $20\ \mu\text{m} \times 17\ \mu\text{m} \sim 35\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$  정도였다. TH 양성 신경세포는 세포질세망이 세포막과 평행으로 위치하여 잘 발달되어 있었고, 자유리보솜체가 세포질 전반에 고루 분포하고 있었다. 핵막은 불규칙하고 부분적으로 함입되어 있었다.

모래쥐 중뇌 흑색질에서 TH 양성반응을 보이는 신경세포와 세포질돌기에 대한 이들 결과는 파킨슨씨병의 실험동물 모델로서 유용한 기초자료가 되리라 생각된다.

## 참 고 문 헌

전창훈, 정영길, 조승목, 최창도, 최월봉, 1995, Mon-

- golian gerbil 등쪽솔기핵의 serotonin 및 tyrosine hydroxylase 면역반응 세포의 분포, 대한해부학회지 28, 623-633
- 최월봉, 원무호, 1990. 흰쥐 중뇌의 dopamine, serotonin, substance P 및 VIP에 대한 면역조직화학적 연구, 대한해부학회지 23(4), 469-523
- Arsenault M, Parent A, Seguela P, Descarries L, 1988. Distribution and morphological characteristics of dopamine-immunoreactive neurons in the midbrain of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*), J. Comp. Neurol. 267, 489-506
- Bak IJ, 1967. The ultrastructure of the substantia nigra and caudate nucleus of the mouse-and the cellular localization of catecholamines, Exp. Brain Res. 3, 40-57
- Baker H, Johd TH, Reis J, 1980. Genetic control of number of midbrain dopaminergic neurons in inbred strains of mice: Relationship to size and neuronal density of the striatum, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4369-4373
- Bentivoglio M, Kooy VD, Kuypers D, 1979. The organization of the efferent projections of the substantia nigra in the rat. A retrograde fluorescent double labeling study, Brain Res. 174, 1-17
- Björklund A, Lindvall O, 1984. Dopamine-containing systems in the CNS. In A. Björklund and T.H. Kfelt (eds): Handbook of Chemical Neuroanatomy. Vol. II: Classical Transmitters in the CNS, Elsevier, Amsterdam, Part I., pp.55-122
- Bogerts B, Hantsch J, Herzer M, 1983. A morphometric study of the dopamine-containing cell groups in the mesencephalon of normals, Parkinson patients, and schizophrenics, Biol. Psychiat. 18, 951-979
- Chen JF, Aloyo YJ, Weiss B, 1993. Continuous treatment with the D2 dopamine receptor agonist quinpirole decreases D2 dopamine receptor messenger RNA and proenkephalin messenger RNA, and increase opioid receptor in mouse striatum, Neurosci. 54, 669-680
- Cheramy A, Leviel V, Holwinski J, 1981. Dendritic release of dopamine in the substantia nigra, Nature 289, 5337-542
- Dabidie H, Mons N, Geffard M, 1990. Simultaneous detection of tryptamine and dopamine in rat, Brain Res. 512, 537-542
- Dahlstrom A, Fuxe K, 1964. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the cell bodies of brain stem. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons, Acta. Physiol. Scand. Suppl. 232, 1-55
- Domesick VB, Stinus L, Paskevich PA, 1983. The cytology of dopaminergic and nondopaminergic neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat, Neuroscience 8, 743-765
- Edwards BA, 1990. The distribution of water in the intracellular and extracellular compartments and the lipid and protein composition of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) during water deprivation, Comp. Biochem. Physiol. A 100, 901-906
- Fallon JH, Loughlin SE, 1995. The rat system. 12. Substantia nigra, 2nd ed., Academic Press, pp. 215-237
- Fallon J, Moore RY, 1978. Catecholamine innervation of the basal forebrain and neostriatum, J. Comp. Neurol. 180, 545-580
- Gajkowska B, 1992. Effect of gamma butyrolactone on the hypothalamo-neurophyseal system of the gerbil brain after ischemic injury, J. Hirnforsch. 33, 277-294
- Garver DL, Sladek JR, 1975. Monoamine distribution in primate brain. I. Catecholamine-containing perikarya in the brain stem of *Macaca speciosa*, J. Comp. Neurol. 159, 289-304
- Gaspar P, Berger B, Gay M, Hamon M, Cesselin F, Vigny A, 1983. TH and methionine-enkephalin in the human mesencephalon, J. Neurol. Sci. 58, 247-267
- Gerfen CR, Staines WA, Arbuthnott GW, Fibiger HC, 1982. Crossed connections of the substantia nigra on the rat, J. Comp. Neurol. 207, 283-303
- German. DC, Manaye KF, 1993. Midbrain dopaminergic neurons (nuclei A8, A9 and A10):

- Three-dimensional reconstruction in the rat, *J. Comp. Neurol.* 331, 297-309
- German DC, Manaye KF, Smith WK, Woodward DJ, Saper CB, 1989. Midbrain dopaminergic cell loss on Parkinson's disease: Computer visualization, *Ann Neurol.* 26, 507-514
- German DC, Dubach M, Askari S, Speciale SG, Bowden D, 1988. 1-Methyl-4-phenyl -1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonian syndrome in *Macaca fascicularis*: Which midbrain dopaminergic neurons are lost? *Neuroscience* 24, 161-174
- Haber SN, Groenewegen HJ, 1989. The interrelationship of the distribution of neuropeptides and tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the human substantia nigra, *J. Comp. Neurol.* 290, 53-68
- Halliday GM, Tork I, 1986. Comparative anatomy of the ventromedial mesencephalic tigmintum in the rat, cat, monkey and human, *J. Comp. Neurol.* 252, 423-445
- Hassler R, 1939. Zur pathologischen anatomie des senilen und des parkinsonistischen tremor, *J. Psychol. Neurol.* 49, 117-127
- Ichimura E, Ogawa K, Taniguchi K, 1993. Morphological studies on the effects of dehydration on the renin-immunopositive cells in the kidney of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*), *Jikken Dobutsu* 42, 327-335
- Jacobowitz DM, MacLean PD, 1978. A brainstem atlas of catecholaminergic neurons and serotonergic perikarya in a pygmy primate (*Cebuella Pygmaca*), *J. Comp. Neurol.* 177, 397-416
- Jimenez-Castellanos J, Graybiel AM, 1987. Subdivisions of the dopamine-containing A8-A9-A10 complex identified by their differential mesostriatal innervation of striosomes and extrastriosomal matrix, *Neuroscience* 23, 223-242
- Levine S, Sohn D, 1969. Cerebral ischemia in infant and adult gerbils: Relation to incomplete circle of Willis, *Arch Pathol.* 87, 315-317
- Lindvall O, Björklund A, 1974. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method, *Acta Physiol. Scand.* [Suppl] 412, 1-48
- Lynd-Balta E, Haber SN, 1994. The organization of midbrain projections to the ventral striatum in the primate, *Neuroscience* 59, 609-623
- Marsden CD, 1983. Neuromelanin and Parkinson's disease, *J. Neural Transm.* 19, 121-144
- McGeer PL, McGeer EG, Suzuki JS, 1977. Aging and extrapyramidal functions, *Arch. Neurol.* 34, 33-35
- Miachon S, Berod A, Leger L, Chat M, Hartman B, Pujol JF, 1984. Identification of catecholamine cell body in the pons and pons-mesencephalon junction of cat brain, using TH and DBH immunohistochemistry, *Brain Res.* 305, 369-374
- Nobin A, Björklund A, 1973. Topography of monoamine neuron systems in the human brain as revealed in fetuses, *Acta Physiol. Scand.* 388, 259-282
- Olson L, Boreus LO, Seiger A, 1973. Histochemical demonstration and mapping of 5-hydroxytryptamine and catecholamine-containing neuron systems in the human fetal brain, *Z. Anat. Entwickl. Gesch.* 139, 259-282
- Østergaard K, Holm IE, Zimmer J, 1992. TH and acetylcholinesterase in the domestic pig mesencephalon, *J. Comp. Neurol.* 322, 149-166
- Parent A, 1986. Comparative neurobiology of the basal ganglia, New York: Wiley
- Pearson J, Goldstein M, Markey K, Brandeis L, 1983. Human brain stem catecholamine neuronal anatomy as revealed by immunocytochemistry with antibodies to tyrosine hydroxylase, *Neuroscience* 8, 3-32
- Phillipson OT, 1979. The cytoarchitecture of the interfascicular nucleus and ventral tegmental area of Tsai in the rat, *J. Comp. Neurol.* 187, 85-98
- Ross RA, Judd AC, Pickel VM, Joh TH, Reis DJ, 1976. Strain-independent variations in number of midbrain dopaminergic neurons, *Nature* 264, 654-656
- Satoh K, Fibiger HC, 1985. Distribution of cen-



- tral cholinergic neurons in the baboon (*Papio papio*). II. Aa topographic atlas correlated with catecholamine neurons, *J. Comp. Neurol.* 236, 215-233
- Seniuk, NA, WG Tatton, CE Greenwood, 1990. Dose-dependent destruction of the coeruleus-cortical and nigral-striatal projections by MPTP, *Brain Res.* 527, 7-20
- Swanson LW, 1982. The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: A combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat, *Brain Res. Bull.* 9, 321-353
- Tillet Y, Thibaut J, 1989. Catecholamine-containing neurons in the sheep brainstem and diencephalon, *J. Comp Neurol.* 290, 69-104
- Ungerstedt U, 1971. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain, *Acta. Physiol. Scand.* [Suppl] 367, 1-48
- Vallet P, Bouras C, Barberis C, Dreifuss JJ, Dubois-Dauphin M, 1995. Vasopressin Binding in the cerebral cortex of the mongolian gerbil is reduced by transient cerebral ischemia, *J. Comp Neurol.* 362, 223-232
- Vincent SR, 1988. Distribution of TH-, dopamine -B-hydroxylase-, and phenylethanolamine -N-methyltransferase-immunoreactive neurons in the brain of hamster, *J. Comp. Neurol.* 268, 584-599
- Voorn P, Jorritsma-Byham B, Buijs RM, 1986. The dopaminergic innervations of the ventral striatum in the rat: A light and electron microscopical study with antibodies against dopamine, *J. Comp. Neurol.* 251, 84-99

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Light microscopic photographs showing the distribution (a~c) and the shape (d~f) of the TH (tyrosine hydroxylase)-immunoreactive neurons in the substantia nigra of the mongolian gerbil. Majority of TH-immunoreactive neurons in substantia nigra are distributed in the midpoint of the this nucleus (a~c). Shapes of TH-immunoreactive neurons are variable, oval(1d), fusiform (arrow of 1e), triangular (arrow head of 1e) and multipolar (1f). CP, cerebral peduncle; IF, interfascicular nucleus; IP, interpeduncular nucleus; SNc, compact part of substantia nigra 2; SNl, lateral part; SNr, reticular part; VTA, ventral tegmental area. a~c, 40; d~f, 400.
- Fig. 2.** Electron micrographs showing a typical large neurons in the substantia nigra, compact part, of the mongolian gerbil. a: Normal cell body have well developed organells like Golgi apparatus (G), rough endoplasmic reticulum (RER) and mitochondria (M). b: TH-immunoreactive cell body. For DAB reaction products, somata display indistinct nuclear envelope and cell membrane. And cytoplasmic organells except RER are faded in the cytoplasm. N, nucleus; NL, nucleolus, Scale bar, 3  $\mu$ m.



