

박쥐 맨아래구역 띠뇌실막세포의 Glial Fibrillary Acidic Protein에 대한 면역조직화학 및 면역세포화학적 연구

양 영 철*, 조 병 필, 강 호 석
연세대학교 원주의과대학 해부학교실 및 기초의학연구소

Immunohistochemical and Immunocytochemical Study about the Glial Fibrillary Acidic Protein in the Tanycytes of the Area Postrema of Bat

Young Chul Yang*, Byung Pil Cho and Ho Suck Kang
Department of Anatomy and Institute of Basic Medical Science,
Yonsei University Wonju College of Medicine
(Received October 20, 2000)

ABSTRACT

There are a few tanycytes between the general ependymal cells lining the ependymal layer of the brain ventricle. These cells are considered as modified ependymal cells which possess a long basal process. Tanycytes are known to have an ability to communicate by absorbing substances from cerebrospinal fluid and transporting them to the blood vessels and/or to the neurons in the CNS. The third and fourth ventricular tanycytes were mainly studied as subjects but it's rare to find reports about the tanycytes of the area postrema. Glial fibrillary acidic protein is an intermediate filament protein that is expressed especially in astrocytes of the CNS. But GFAP is also found in filament of the tanycytes and its process. Therefore this study was carried out for the examination of the GFAP immunoreactive tanycytes lining the area postrema of the bat, and we also examined the ultrastructure of tanycytes using electron microscope.

GFAP immunoreactive tanycytes were located in the caudal portion of the fourth ventricle, and especially mainly in the transitional zone between the floor of the caudal fourth ventricle and ependymal layer lining the area postrema. A few GFAP immunoreactive tanycytes were also found in the ependymal layer lining the area postrema, and some groups of tanycytes were found in the ependymal layer of the area postrema near the floor of the caudal fourth ventricle. The processes of tanycytes were stained deeply with anti-GFAP antibody. Especially the GFAP immunoreactive tanycytes lining the area postrema had very long processes that cross the whole width of the area postrema.

이 연구는 1999년도 연세대학교 원주의과대학 교수연구비로 이루어졌음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Young Chul Yang, Department of Anatomy and Institute of Basic Medical Science, Yonsei University Wonju College of Medicine, Ilisan-Dong 162, Wonju-Si, Kangwon-Do, 220-701 Korea. Ph.: 033-741-0273, FAX: 033-742-1434, E-mail: chjyc@wonju.yonsei.ac.kr

Copyright © 2000 Korean Society of Electron Microscopy

In the electron microscope, the cell body of ependymal tanycyte was located on the ependymal layer and had a long basal process. Intermediate filaments were observed around the nucleus and well developed in the process of tanycyte. Longitudinal oriented long mitochondria and a few lipid droplets were also found in this process. After immunocytochemical staining, the gold particles were found only in the intermediate filaments. We could not determine the function of the tanycytes in the area postrema. Thus, further investigation is required to determine the functional relationship between the tanycytes and the area postrema in hibernating animal, the bat.

Key words : Area postrema, Basal process, Glial fibrillary acidic protein, Intermediate filaments, Tanycyte

서 론

태생기 뇌실막세포는 기저돌기를 갖고 있으나, 성체가 되면서 대부분 소실되어 일부 세포만 성체에서도 기저돌기를 갖고 있는 것으로 Ramón y Cajal (1911)에 의해 보고된 이후 Horstaman (1954)이 연골어류 성체의 제3뇌실에서 기저돌기를 갖고 있는 이 세포를 띠뇌실막세포라 (tanycyte)고 최초로 명명하였다. 이후 띠뇌실막세포는 대부분의 실험동물에서 제3뇌실 뿐 아니라 정중용기, 중뇌수도관, 제4뇌실 및 척수 중심관에도 존재하는 것으로 보고되었다 (Brawer & Walsh, 1982; Rafols & Goshgarian, 1985; Redecker, 1989; Lee et al., 1995).

뇌실막세포 사이에 산재되어 있는 띠뇌실막세포의 기원과 관련하여 이 세포는 뇌실막세포로 이행하는 일종의 변형된 뇌실막세포라는 주장이 있으나 (Gould et al., 1980), 태생기 방사아교세포 (radial glia cell)에서 유래하는 세포들인 별아교세포, Muller cell, 띠뇌실막세포 등이 모두 glial fibrillary acidic protein (GFAP) 항체에 양성반응을 보이거나 뇌실막세포는 GFAP에 양성반응을 보이지 않는 사실을 근거로 띠뇌실막세포가 방사아교세포에서 유래할 것이라는 주장도 있다 (Gould & Howard, 1987; Edward et al., 1990; Sarnat, 1992).

초기에 띠뇌실막세포는 통상적인 뇌실막세포 사이에 단독 혹은 무리를 이루어 존재하는 것으로 알려졌다. 이후 뇌실막층에도 뇌실막세포의 세포체가 존재한다는 사실이 밝혀져 세포체가 뇌실막면에 존재하는 띠뇌실막세포를 ependymal tanycyte라 하고, 세포체가 뇌실막층에 존재하는 띠뇌실막세포를

subependymal tanycyte로 분류하고 있다 (Felton et al., 1981; Rafols & Goshgarian, 1985). Subependymal tanycyte는 세포체가 뇌실막면에 존재하나 뇌실막면으로 꼭대기 돌기를 내어 뇌실과 접한다. Ependymal tanycyte는 특징적으로 긴 기저돌기 (basal process)가 나와 뇌의 실질에 존재하는 혈관이나 신경세포와 관련하여 종지한다 (Brawer & Walsh, 1982). 이 돌기에는 중간세사 및 미세소관이 잘 발달되어 있고, 세로로 길게 달리는 사립체가 존재하며, 지방방울이 산재되어 있다 (Brawer & Walsh, 1982).

띠뇌실막세포의 기능은 아직 확실하게 밝혀지지 않았으나, 물질의 분비 (Merchant & Dollar, 1981), 흡수 및 수송 (Tu et al., 1997)에 관여하고 신경세포를 기능적으로 분리하며 (Redecker, 1989), 이외에 도파민 D1 수용기 (Ouimet et al., 1992) 및 EGF 수용기 (Ma et al., 1994)를 갖고 있어서 신경호르몬 분비를 조절하는 기작에도 관여할 것으로 추측하고 있다. 특히 제3뇌실을 감싸는 띠뇌실막세포는 광주기 (Lee et al., 1995), 동면주기 (Brawer & Gustafson, 1979) 및 생식주기 (Merchant & Dollar, 1981)에 따라 형태적인 변화를 보여 동면 및 생식주기와 관련한 생리적인 기능을 담당할 수도 있음을 암시하고 있다. 맨아래구역은 동면동물의 동면시 체온조절에 관여하는 것으로 알려진 시상하부와 관련되어 있고 (Robert & Richard, 1985), 수면유도에도 관여한다고 알려져 있으므로 (Joseph et al., 1976) 동면을 수면의 생리적인 연장으로 볼 때, 맨아래구역은 동면과도 관련이 있는 것으로 추론할 수 있다.

지금까지 보고된 띠뇌실막세포는 주로 제3뇌실, 중뇌수도관, 제4뇌실 및 척수 중심관에 분포하는 세포

를 대상으로 연구가 이루어졌으며, 맨아래구역을 감싸는 띠뇌실막세포에 대한 보고는 매우 드물다. 보고된 연구결과들을 종합해 보면 박쥐 제3뇌실의 띠뇌실막세포가 동면주기에 따라 형태적인 변화를 보이므로 (Brawer & Gustafson, 1979) 동면과 관련이 있을 것으로 사료되는 맨아래구역의 띠뇌실막세포 역시 동면주기에 따라 형태적인 변화를 보일 것으로 추측하고 있다. 또한 이전에는 띠뇌실막세포의 분포여부 및 광학현미경적인 연구는 주로 도은법을 이용하여 수행하여 왔으나, 이 세포가 glial fibrillary acidic protein (GFAP) 항체를 이용한 면역조직화학 염색법에 양성반응을 보인다는 보고 (Redecker, 1989) 이후 띠뇌실막세포를 확인하는데 GFAP 면역염색법을 많이 사용하고 있다. 따라서 본 연구에서는 띠뇌실막세포의 맨아래구역에서의 기능과 관련한 형태적인 연구의 일환으로 우선 GFAP 항체를 이용한 면역조직 및 면역세포화학 염색법과 투과전자현미경을 이용하여 박쥐를 대상으로 GFAP 면역염색성 및 미세구조를 밝히고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 강원도 원주시 신림면 소재 자연동굴에서 포획한 안주애기박쥐 (*Vespertilio superans*)를 사용하였다. 포획한 박쥐를 ether로 마취시킨 후 좌심실을 통하여 0.9% NaCl을 포함하는 0.1 M 인산염완충액 (PBS; pH 7.4, 4°C)으로 관류방혈시킨 다음 4°C의 4% paraformaldehyde 고정액 (pH 7.4) 및 2% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde 고정액으로 각각 관류고정한 후 뇌를 적출하였다. 이후 해부현미경하에서 맨아래구역을 확인하고 이를 절취하여 실험재료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 면역조직화학적 방법

4% paraformaldehyde로 고정한 재료를 동일한 고정액에 4°C에서 1~2일 더 고정하였다. 이후 0.1 M PBS로 수세한 다음 통상적인 방법에 따라 파라핀에

포매하였다. 이어서 7 μ m 두께의 연속절편을 제작한 후 일부는 광학현미경적 형태를 관찰하기 위하여 HE 염색을 시행하고, 일부는 GFAP에 대한 면역조직화학 염색을 시행하였다.

면역조직화학염색을 시행하기 위해 절편을 유리슬라이드에 붙여 37.5°C에서 3일간 항온처리한 후 xylene으로 파라핀을 제거하였다. 면역염색은 ABC kit (Vecter, USA)를 이용하였으며, 각 단계의 과정이 끝난 다음에는 항체의 조직투과성을 높이기 위해 0.1% triton X-100을 포함하는 0.1 M PBS로 10분간 수세하였다. 면역조직염색에 앞서 우선 paraformaldehyde에 의한 항원성의 차단을 제거하기 위하여 0.4% pepsin을 포함하는 0.01 N HCl 용액에 37°C에서 30분간 처리하고, 내재하고 있는 조직내 과산화효소의 활성을 제거하기 위하여 0.5% 과산화수소를 포함하는 methyl alcohol에 30분간 처리하였다. 이어서 조직내 비특이 면역반응을 없애기 위해 normal goat serum에 2시간 동안 처리한 후 1차 항체로는 mouse anti-GFAP antiserum (Biogenex, USA)을 사용하였으며, 이어서 2차 항체로 biotinylated IgG를, 3차 항체로 avidin-biotin-peroxidase complex (ABC)를 사용하였다. 면역염색이 끝난 조직절편은 0.05% diaminobenzidine을 용해한 0.05 M tris-HCl 완충액 (pH 7.6)에 0.01% 과산화수소를 첨가한 용액으로 발색시킨 후 광학현미경으로 관찰하였다.

2) Immunogold labelling법

4% paraformaldehyde로 관류고정한 재료를 동일한 고정액에 2시간 동안 더 고정한 다음 오스미움산에 의한 후고정 없이 알콜 농도순으로 탈수하고 LR white를 침투시킨 후 60°C에서 24시간 동안 중합시켜 포매하였다. 이후 Sorvall MT-5,000 ultramicrotome을 이용하여 1 μ m 두께의 절편을 제작하고 광학현미경으로 맨아래 구역을 확인한 후 초박절편을 작성하고 nickel grid에 부착시켰다.

조직절편을 포함하고 있는 nickel grid를 증류수에 잠깐 띄워 합수시킨 다음 0.01 M 인산염완충액 (pH 7.2)에 용해시킨 1% bovine serum albumin에 10분간 처리하여 비특이면역염색반응을 차단하였다. 이후 절편을 rat anti-GFAP antiserum (1 : 200, Zymed, USA)

에 실온에서 2시간 동안 처리한 후, 0.01 M 인산염완충액 (pH 7.2)으로 세척하고 이어서 입자크기 6 nm의 금입자를 포함하는 gold-conjugated IgG (1:100, Jackson, USA)를 실온에서 1시간 동안 처리하여 금입자를 표지시켰다. 위의 전과정에서 각 단계의 시약처리 는 조직절편이 아래쪽을 향하도록 grid를 띄워서 실시하였다.

Immunogold labelling이 끝난 조직절편은 인산염완충액과 증류수로 각각 세척하고 건조시킨 후 uranyl acetate 및 lead citrate로 이중 염색하여 Joel 1,200 EX II 투과전자현미경으로 관찰하였다.

3) 통상적인 전자현미경 표본

2% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde로 관류 고정된 재료를 동일한 고정액에서 2시간 동안 더 고정시키고, 0.1 M 인산염완충액 (pH 7.4, 4°C)으로 수세하였다. 이어서 4°C의 1% 오스미움산 용액에서 1시간 동안 후고정하고 동일한 완충액으로 수세한 후, 통상적인 방법에 따라 epon 혼합액에 포매하였다. 포매된 시료를 ultramicrotome으로 1 µm 두께의 절편을 제작한 후 toluidin blue로 염색하여 광학현미경으로 맨아래구역을 확인하고 초박절편을 작성하여 uranyl acetate 및 lead citrate로 이중 염색한 후 Joel 1200 EX II 투과전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

세로절단하여 HE 염색을 시행한 절편을 광학현미경으로 관찰한 결과 제4뇌질의 꼬리쪽을 감싸는 뇌실막세포는 낮은 입방형이었으나, 맨아래구역으로 이행하는 부위에서는 형태가 다양하였으며, 이 부위에서 멀어질수록 맨아래구역을 감싸는 뇌실막세포는 납작한 모양을 하고 있었다 (Fig. 1). 세로절단한 절편에서 맨아래구역을 감싸는 뇌실막세포층에 GFAP 양성반응을 보이는 세포가 비교적 잘 관찰되었으며, 특히 맨아래구역의 목 부분에는 GFAP 양성반응을 보이는 세포들이 집단을 이루고 있음을 알 수 있었다. GFAP 양성반응 세포들은 대부분 긴 기저돌기를 갖고 있었으며, 기저돌기 역시 GFAP에 양성반응을 보였다. 세포체에서는 주변부에서 양성반응을 보여 핵

주위에 GFAP를 함유하는 구조가 존재함을 알 수 있었고, 기저돌기는 특히 맨아래구역의 목부분에서 매우 길게 신장되어 맨아래구역을 가로지르는 형태로 관찰되기도 하였다 (Fig. 2).

전자현미경을 이용하여 관찰한 결과 맨아래구역의 뇌실막세포는 대부분 세포체가 뇌실면에 존재하는 ependymal tanyocyte였으며, subependymal tanyocyte는 관찰할 수 없었다. 맨아래구역을 감싸는 일반적인 뇌실막세포는 비교적 납작한 모양을 이루는데 비해 뇌실막세포는 불규칙한 원주모양이었다. 뇌실면에는 소수의 미세용모가 존재하였고, 간혹 세포질돌기 (protrusion)가 뇌실로 돌출되어 있었다. 핵은 세로로 길게 뻗은 난원형이었으며, 핵주위에 발달한 중간세사를 관찰할 수 있었다. 핵주위 세포질에는 사립체와 골지체 및 소수의 지방방울이 관찰되었다 (Figs. 3-5). 뇌실막세포의 기저돌기는 혈관주위나 (Fig. 4) 신경세포와 (Fig. 3) 관련하여 주행하는 것으로 관찰되었으며, 이 돌기의 세포질에는 중간세사와 세로로 길게 달리는 사립체가 발달하여 있었고, 산재된 지방방울을 관찰할 수 있었다 (Figs. 6, 7).

GFAP 항체에 대한 면역금입자 표지 후 전자현미경 관찰 결과 금입자는 뇌실막세포의 중간세사에서만 표지되었다 (Figs. 8, 9). 세포체에서 핵을 둘러싸는 중간세사에서 나타났으며, 핵이나 이외의 세포질 소기관 혹은 세포질에서도 표지된 금입자를 관찰할 수 없었다 (Fig. 8). 기저돌기에서도 중간세사에서만 표지되었으며, 이외의 세포질에서는 나타나지 않았다 (Fig. 9).

고 찰

그리스어로 길게 신장 (elongation)된 것을 나타내는 "tanus"에서 유래한 뇌실막세포 (tanyocyte)는 주로 제3뇌실을 대상으로 연구되었으며, 이들의 기능은 제3뇌실의 뇌척수액과 뇌하수체문맥 사이의 물질교환에 관여한다는 것이 일반적인 견해이며 (Piligrim, 1978; Ugrumov & Mitskevich, 1980), 따라서 뇌하수체에서의 호르몬 분비 조절에 기능적인 관계를 맺을 것으로 추론하고 있다 (Brawer & Gustafson, 1979; Merchant & Dollar, 1981). 이러한 기능 이외에 특히 제4

뇌질의 뇌실막면에 존재하는 띠뇌실막세포는 긴 기저돌기를 뇌의 실질로 보내 monoamine성 신경원과 뇌척수액과의 사이에 물질교환을 매개한다는 보고가 있다(Cunnings & Felton, 1979; Felton et al., 1981). 본 실험에서 동면동물인 박쥐의 맨아래구역을 감싸는 뇌실막에서 일반적인 뇌실막세포 사이에 긴 기저돌기를 갖고 있는 세포를 관찰할 수 있었는데 전자현미경하에서 이 세포는 띠뇌실막세포의 특징인(Brawer & Walsh, 1982; Flament-Durand & Brion, 1985) 기저돌기에 발달한 중간세사와 세로로 길게 달리는 사립체가 관찰되었고, 세포체 및 기저돌기에서 지방방울이 관찰되었다. 또한 GFAP 항체를 이용한 면역염색에 이 세포가 양성반응을 보여 띠뇌실막세포임을 확인할 수 있었고, 면역금입자를 표지한 후 전자현미경하에서 관찰한 결과 금입자는 이 세포의 중간세사에 서만 나타났다. 이처럼 GFAP에 대한 면역양성반응으로 인해 띠뇌실막세포를 태생기 방사아교세포에서 유래하였을 것이라는 주장이 있으나(Edward et al., 1990; Sarnet, 1992), 일반적으로 방사아교세포에서 유래한 세포들은 복잡한 돌기를 갖고 있으나 띠뇌실막세포는 기저돌기가 매우 단순하게 달리므로 방사아교세포와는 상관 없이 뇌실막세포의 변형이라고 주장도 있어 아직 확실하게 정립되어 있지 않다(Roessmann et al., 1980).

띠뇌실막세포의 기능과 관련하여 이 세포가 steroid (Brawer & Walsh, 1982)나 serotonin (Knigge et al., 1976) 등을 합성하여 분비하는 것으로 주장하는 연구자도 있으나, 본 연구에서 띠뇌실막세포의 세포질에 이들을 합성하는 세포소기관인 rER이나 sER 혹은 polyribosome 등의 발달을 관찰할 수 없었으므로 띠뇌실막세포가 물질을 합성하는 기능이 있다면 매우 한정된 범위일 것으로 사료된다. 박쥐 맨아래구역의 뇌실막층에 분포하는 띠뇌실막세포의 자유면에서 섬모가 전혀 관찰되지 않았고 세포질 돌기와 미세융모가 관찰되었는데 이는 이미 다른 연구자들이 보고한 제3뇌실, 제4뇌실 및 척수중심관 등 뇌실계통의 결과들과 일치하는 것이다(Knigge et al., 1976; Flament-Durand & Brion, 1985; Rafols & Goshgarian, 1985). 이와 같은 띠뇌실막세포 자유면의 특징은 일반적인 뇌실막세포의 주요 기능인 섬모운동에 의한 뇌척수액

의 순환에는 이 세포가 크게 기여하지 못하며, 세포질돌기나 미세융모에 의한 물질흡수 및 기저돌기를 통한 맨아래구역 실질내로의 물질수송을 할 수 있는 형태적인 증거라 할 수 있다. 또한 세포질 및 기저돌기에서 관찰된 발달된 사립체와 기저돌기에 발달한 GFAP 양성 반응을 보이는 중간세사 등은 기저돌기를 통한 물질수송을 할 수 있는 또다른 증거라 할 수 있다. 이에 연관하여 제4뇌실의 띠뇌실막세포의 기저돌기는 뇌실질의 monoaminergic 신경원과 뇌척수액 사이에 물질교환을 매개한다는 보고(Cunnings & Felton, 1979)로 미루어 맨아래구역 띠뇌실막세포도 맨아래구역 실질의 혈관은 물론 monoamine 성 신경원과 관계를 이룰 수 있는 것으로 사료되며, 본 연구에서도 이 구역의 띠뇌실막세포의 기저돌기가 혈관이나 신경원과 관계하여 주행하는 것을 전자현미경하에서 확인할 수 있었다.

저자들의 이전의 연구에서 박쥐 맨아래구역을 대상으로 조사한 결과 수면유도에 관여하는 것으로 인식되고 있는 세로토닌 신경세포는 동면주기에 따라 형태계측학적인 차이가 없었으나 각성에 관여하는 것으로 알려진 카테콜아민 신경세포는 동면주기에 따라 숫적 분포의 차이를 보여 맨아래구역이 동면 혹은 수면이라는 생리적인 기능과 관계되었을 것이라고 추론한 바 있다(Kang et al., 1992, 1996). 일반적으로 띠뇌실막세포의 기저돌기는 혈관근처에 종지한다고 알려졌고, 박쥐의 제3뇌실 띠뇌실막세포는 활동기에 기저돌기가 발달하였으나 동면기에 세포체에서 탈락하여 큰포식세포에 의해 제거되는 것으로 추측하고 있다(Brawer & Gustafson, 1979). 또한 저자 등은 동면기의 박쥐 맨아래구역에서 포식성 세포의 활성이 특히 혈관근처에서 증가하였음을 보고한 바 있고(Kang et al., 1997), 본 연구에서 띠뇌실막세포의 기저돌기가 혈관과 연관되게 분포하는 것이 관찰되었으므로 맨아래구역 띠뇌실막세포의 동면에 따른 형태변화를 추론할 수 있다. 본 연구에서 확인된 맨아래구역 띠뇌실막세포의 기저돌기가 신경세포와 관여하며 주행하는 결과와 제4뇌실 띠뇌실막세포가 뇌실질의 monoamine 성 신경세포와 관여한다는 사실(Cunnings & Felton, 1979)을 연계시켜 볼 때 맨아래구역의 띠뇌실막세포 역시 이 구역에 존재하는 mon-

oamine성 신경세포 특히 세로토닌이나 카테콜아민 신경세포와 관여할 수도 있는 것으로 사료되며, 따라서 락타아제세포가 수면 또는 동면과도 기능적인 연관성을 갖고 있을 것으로 추론할 수 있으나, 이를 확인하기 위해서는 앞으로 각 monoamine에 대한 항체와 GFAP 항체를 이용한 이중 금표지 방법 등으로 보다 자세한 연구가 요구되는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Brawer JR, Gustafson AW: Changes in the fine structures of tanycytes during the annual reproductive cycle of the male little brown bat. *Am J Anat* 154: 497-508, 1979.
- Brawer JR, Walsh RJ: Response of tanycytes to aging in the median eminence of rat. *Am J Anat* 163: 247-256, 1982.
- Cunnings JP, Felton DL: A raphae dendritic bundle in the rabbit medulla. *J Comp Neurol* 183: 1-24, 1979.
- Edwards MA, Yamamoto M, Caviness VS: Organization of radial glia and related cells in the developing murine CNS. *Neuroscience* 36: 121-144, 1990.
- Felten DL, Cunnings JP, Burnett BT: Ontogeny of caudal fourth tanycytes in the rabbit brain: a Golgi study. *Anat Rec* 200: 321-330, 1981.
- Felten DL, Harrigan P, Burnett BT, Cummings JP: Fourth ventricular tanycytes: A possible relationship with monoaminergic nuclei. *Brain Res Bull* 6: 427-436, 1981.
- Flament-Durand J, Brion JP: Tanycytes: Morphology and functions: A review. *International Rev Cytol* 96: 121-155, 1985.
- Flament-Durand J, Brion JP: Tanycytes: Morphology and functions: A review. *International Rev Cytol* 96: 121-155, 1985.
- Gould SJ, Howard S, Papadaki L: The development of ependyma in the human fetal brain: An immunohistological and electron microscopic study. *Brain Res Develop Brain Res* 55(2): 255-267, 1990.
- Hortsman E: Die faseriglia des Selachiegehirns. *Z Zellforsch* 39: 588-617, 1954.
- Joseph DB, Warren CS, Patrick L, Peter JM: Sleep cycles in cats during chronic electrical stimulation of the area postrema and the anterior raphae. *Brain Res Bull* 1: 235-239, 1976.
- Kang HS, Cho BP, Yang YC, Hwang TS: Immunohistochemical study on the serotonergic neurons in the brain stem of the Korean horse-shoe bat. *Korean J Anat* 25(1): 50-62, 1992. (Korean)
- Kang HS, Cho BP, Yang YC: Distribution of catecholamine neurons in the bat brain. *Korean J Anat* 29(2): 181-199, 1976. (Korean)
- Kang HS, Yang YC, Cho BP, Hwang TS: Ultrastructure of the area postrema of the bat. *Korean J Anat* 30(6): 659-671, 1997. (Korean)
- Knigge KM, Joseph SA, Sladek JR, Notter MF, Morris M, Sundberg DK, Holzworth MA, Hoffman GE, O'Brien L: Uptake and transport activity of the median eminence of the hypothalamus. *Int Rev Cytol* 45: 383-408, 1976.
- Lee W, Watanabe M, Glass JD: Photoperiod affects the expression of neural cell adhesion molecule and polysialic acid in the hypothalamus of the siberian hamster. *Brain Res* 690: 64-72, 1995.
- Ma YJ, Hill DF, Junier MP, Costa ME, Felder SE, Ojeda SR: Expression of epidermal growth factor receptor changes in the hypothalamus during the onset of female puberty. *Mol Cell Neurosci* 5: 246-262, 1994.
- Merchant RE, Dollar JR: The median eminence in normal, ovariectomized and ovariectomized-estradiol treated hamsters: An ultrastructural study. *Am J Anat* 160: 1-16, 1981.
- Ouimet CC, Lamantia AS, Goldman-Rakic P, Rakic P, Greengard P: Immunohistochemical localization of DARPP-32, a protein and cyclic AMP regulated phospho-protein, in the primate brain. *J Comp Neurol* 323: 209-218, 1992.
- Piligrim C: Transport function of hypothalamic tanycyte ependyma: how good is the evidence? *Neuroscience* 3: 277-283, 1978.
- Rafols JA, Goshgarian HG: Spinal tanycyte in the adult rat: correlation Golgi-Gold tonning study. *Anat Rec* 211: 75-86, 1985.
- Ramony Cajal S: *Histologie du Systeme Nerveux de l'Homme et des Vertebres. Vol I.* Maloine, Paris. 1911.
- Redecker P: Immunogold electron microscopic localization of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in neurohypophyseal pituicytes and tanycytes of the Mongolian gerbil. *Histochemistry* 91: 333-337, 1989.
- Robert ES, Richard RM: The central neural connections of the area postrema of the rat. *J Comp Neurol* 234: 344-364, 1985.
- Sarnat HB: Regional differentiation of the human fetal epen-

dyma: Immunocytochemical markers. *J Neuropathol Exp Neurol* 51 : 58-75, 1992.

Tu HM, Kim SW, Salvatore D, Bartha T, Legradi G, Larsen PR, Lechan RM : Regional distribution of type 2 thyroxine deiodinase messenger ribonucleic acid in rat hypothalamus and pituitary and its regulation by thyroid hormone. *Endocrinology* 138(8) : 3359-3368, 1997.

Ugrumov MV, Mitskevich MS: The absorptive and transport capacity of the tanycytes during the perinatal period rat. *Cell Tissue Res* 201(3) : 493-501, 1980.

< 국문초록 >

뇌실을 감싸는 뇌실막층은 대부분이 일반적인 뇌실막 세포로 이루어졌으나, 이들 세포 사이에 간혹 락시타르세 세포(tanycyte)가 분포하고 있다. 락시타르세 세포는 일반적인 뇌실막세포와는 달리 뇌의 실질로 뻗은 매우 긴 기저돌기를 갖고 있다. 특히 제3뇌실의 뇌실막층에서 주로 연구된 락시타르세 세포는 뇌실과 뇌실질의 혈관 혹은 신경세포와의 사이에 물질교환을 담당하는 것으로 추측되고 있으며, 락시타르세 세포는 일반적인 뇌실막세포와는 달리 glial fibrillary acidic protein (GFAP) 항체에 대해 양성 반응을 보이는 것으로 알려져 있다.

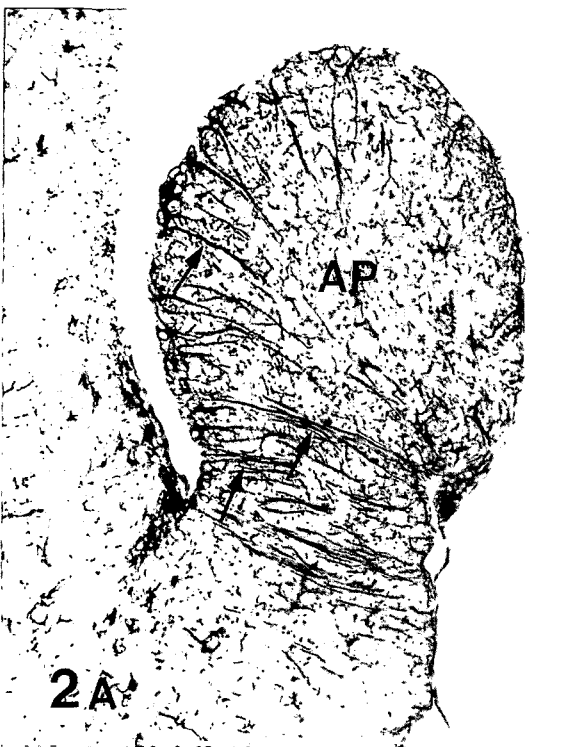
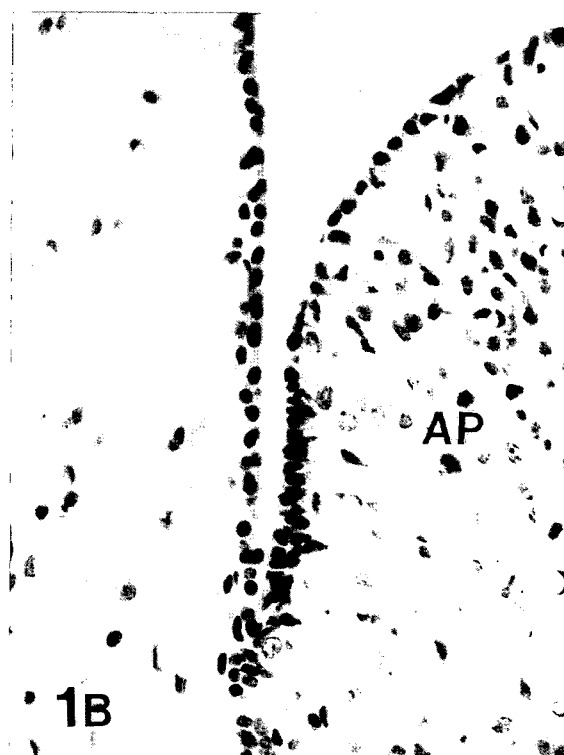
본 연구는 면역조직화학 및 면역금표지법을 이용하여 박쥐 맨아래구역을 감싸는 뇌실막층에서 GFAP 항체에 대해 양성 반응을 보이는 세포의 분포 여부 및 이의 미세 구조를 확인하고자 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었

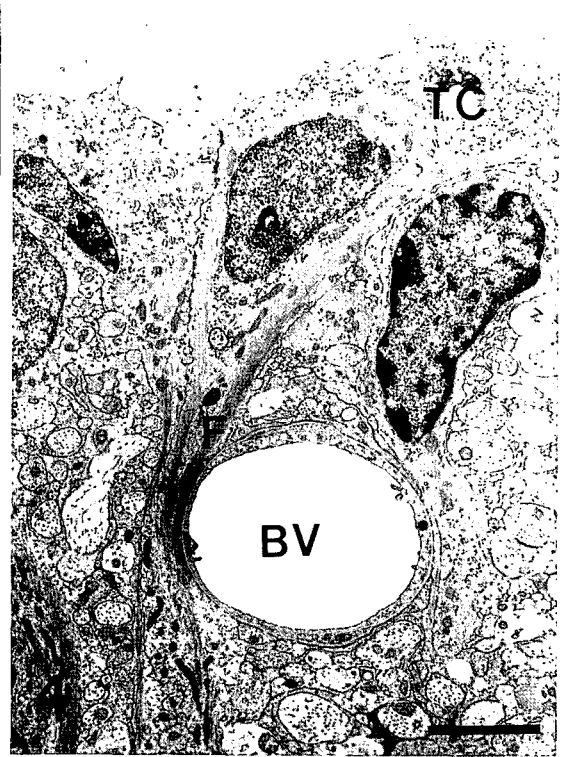
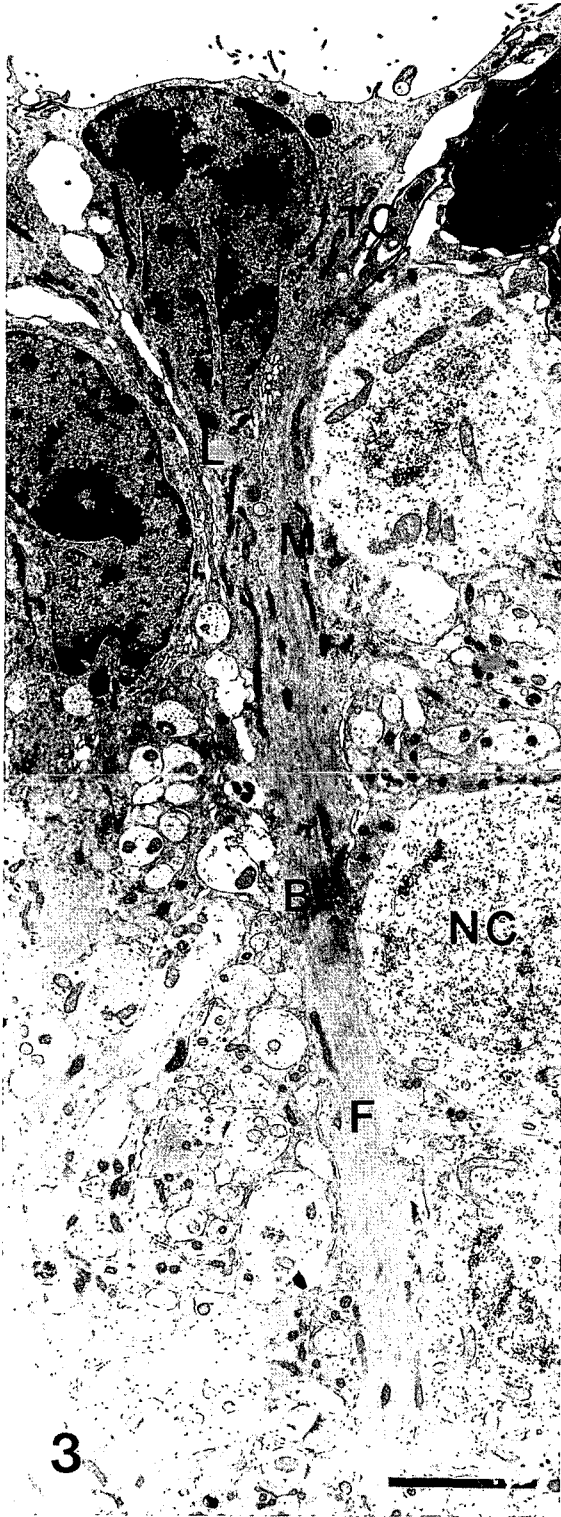
다.

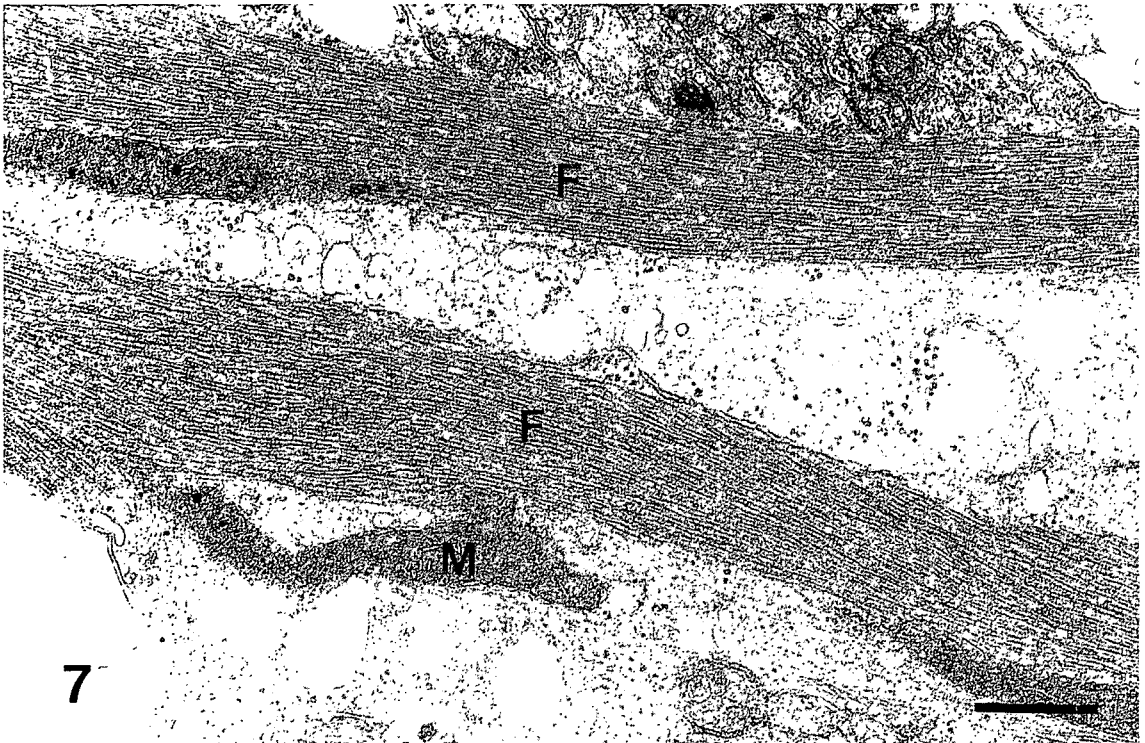
새로 절단한 절편을 대상으로 GFAP 항체를 이용하여 면역염색한 후 광학현미경으로 확인한 결과 맨아래구역을 감싸는 뇌실막층에 GFAP 양성 반응을 보이는 세포가 관찰되었으며, 특히 맨아래구역의 목부분에서 양성 반응 세포가 많이 모여 있었다. GFAP 양성 반응을 보이는 세포들은 매우 긴 기저돌기를 갖고 있었으며, 기저돌기에서도 매우 강한 GFAP 양성 반응을 보였다. 세포체에서는 주변부에서 양성 반응을 보였다. 전자현미경하에서 맨아래구역 락시타르세 세포는 주로 ependymal tanycytes였으며, 자유면에 소수의 미세융모 및 세포질돌기가 관찰되었으나, 섬모는 관찰되지 않았다. 기저부에 특징적으로 긴 기저돌기를 갖고 있었으며 이 돌기에는 중간세사 및 세로로 길게 달리는 사립체가 발달되어 있었고, 세포체와 돌기에 지방방울이 산재되어 있었다. 금입자를 표지한 GFAP 항체를 사용하여 면역 염색한 후 전자현미경으로 관찰한 결과 세포체에서 핵을 둘러싸는 중간세사에서 금입자를 관찰할 수 있었으며, 나머지 핵을 비롯한 다른 세포소기관이나 세포질에서는 관찰되지 않았다. 또한 기저돌기에서도 중간세사에서만 금입자를 관찰할 수 있었다. 이와 같은 본 실험의 결과는 박쥐 맨아래구역 뇌실막층에도 락시타르세 세포가 존재하고 있으며, 이 세포의 발달된 긴 기저돌기는 락시타르세 세포가 일반적인 뇌실막세포와는 다른 기능을 동면동물인 박쥐의 맨아래구역에서도 수행하고 있음을 암시하고 있으나 이를 확인하기 위해서 더욱 자세한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Light micrographs of the area postrema (AP) of bat. HE stain. A × 100, B × 200
- Fig. 2.** GFAP-immunoreactivities in the area postrema (AP) of bat. Positively stained basal processes of tanycytes (arrows) are well observed. A × 100, B × 200
- Figs. 3-5.** Electron micrographs of the tanycytes (TC) of the area postrema. The long basal processes (BP) of the tanycytes are well observed. BV: blood vessel, F: intermediate filament, L: lipid droplet, M: mitochondria, NC: nerve cell. Bar = 2.5 μm
- Figs. 6, 7.** Electron micrographs showing the intermediate filaments (F) of the basal processes of the tanycytes. Lipid droplet (L), longitudinal oriented mitochondria (M) and well developed intermediate filaments (F) are observed. Bar = 0.4 μm
- Figs. 8, 9.** Electron micrographs of immunogold labelled tanycytes of the area postrema. Gold particles are observed only in the intermediate filaments (F). N: nucleus. Bar = 0.2 μm







7

