한국전자현미경학회지 제 30 권 제 2 호 2000
Korean J. Electron Microscopy 30(2), 193~204(2000)

절수에 의한 Mongolain gerbil 뇌 Dopamine성 면역반응세포의 분포와 미세구조의 변화에 관한 연구

송치원, 이경열, 박일권, 권효정, 김무강*, 이강이[1]
충남대학교 수의과대학 조직학교실,
[1]대전대학교 한의과대학

The Study on the Ultrastructure and Distribution of Dopaminergic Cells in the Brain of Mongolian Gerbil after Water Deprivation

Chi-Won Song, Kyoung-Youl Lee, Il-Kwon Park,
Hyo-Jung Kwon, Moo-Kang Kim* and Kang-Iee Lee[1]
College of Veterinary Medicine, Chungnam National University
[1]College of Oriental Medicine, Taejon University
(Received April 16, 2000)

ABSTRACT

Nowadays, mongolian gerbil is widely utilized in the research of brain and water deprivation because of congenitally incomplete Willis' circle, audiogenic seizure in low noise, and special cholesterol metabolism without water absorption for a long time. In this study, we intended to identify the time lapse changes in the general morphoogy and ultrastructure of the catecholaminergic neurons of mongolian gerbil brain in after long-term water deprivation. Fifteen mongolian gerbils were divided into 3 groups (5, 10, and 20-day water deprivation groups), each with 5 mongolian gerbils. Additional 5 mongolian gerbils which received water without limitation were used as a control. The brain sections were immunostained using tyrosine hysroxylase (TH), dopamine-β-hydroxylase (DBH), and phenylethanolamine-N-methyltrasferase (PMNT) antibodies. And immunoreactive cells were observed by electromicroscopy for the ultrastructural changes. The TH-immunoreactive (TH-IR) nerve cells were observed in the para- and peri-ventricular nucleus of the 3 rd ventricle in the hypothalamus and the substantia nigra. The number of TH-IR neurons in these areas was decreased from the 5th day of the water deprivation to the 10 th day and reincreased until 20 th day water deprivation. The shape and density of the dopamine-secreting cells identified by immunohistochemistry showed changes in the continuous water deprivation. Electron microscopy revealed a round nucleus in the neurons of control group but 5-day water deprivation group showed a dense and irregularly shaped nucleus. Also in the 5-day water-deprived group, mitochondria was decreased in number and junctins were disappered. Endoplasmic reticulum, Golgi complex did not show changes after water-deprivation. In this

본 연구는 한국과학재단 핵심전문 지원비 (김무강 KOSEF971-0605-039-1)의 연구비 지원에 의해 이루어졌음.
* Corresponence should be addressed to Dr. Moo-Kang Kim, Department of Anatomy, Collgege of Veterinary Medicine, Chungnam National University, Taejon, 305-764, Korea. Ph.: (042) 821-6752, FAX: (042) 825-6752, E-mail: mgkim@hanbat.chungnam.ac.kr
Copyright 2000 Korean Society of Electron Microscopy

results, we can conclude that dopamine are involved in the water metabolism in mongolian gerbil, and mongolian gerbil could be used as an animal model for the researches of water deprivation.

Key words : Dopamine-β-hydroxylase (DBH), Mongolian Gerbil, Phenylethanolamine-N-methyltrasferase (PMNT), Tyrosine Hysroxylase (TH), Water-deprivation

서 론

Mongolian gerbil (*Merones unguiculatus*)은 흑갈색의 모색과 긴꼬리를 가진 설치류의 일종으로 외관상 우리가 일반적으로 사용하고 있는 설치류의 실험동물등과 크게 다르지 않다. 그러나 그 이용빈도는 대단히 한정적이어서 최근까지 Mongolian gerbil을 이용한 연구는 뇌경색 또는 체내콜래스테롤 대사등 일부 분야에 국한되어 왔다. 즉 선천적으로 뇌에 혈액을 공급하는 Willis circle 중 뒤교통동맥 (posterior commnicationg a.)이 결여된 불완전한 뇌바닥동맥고리 (Willis circle)을 가지고 있기 때문에 (Levine & Sohn, 1969) 총목동맥 (common carotid artery)을 결찰할 경우 인위적으로 뇌경색을 유발시킬 수 있어 최근 뇌신경학분야에서 이용이 증가하고 있으며, 기능적인면으로는 콜레스테롤대사가 다른 동물과는 다른것으로 알려져 있어 이 방면의 연구에도 사용빈도가 점차 증가되고 있다.

Dopamine은 tyrosine이 촉매제에 의해 epinephrine으로 변화되어 가는 과정중의 중간대사물인 catecholamine의 일종으로 자극이 복강내 실질장기내 혈류량을 조절함으로써 배뇨 또는 빈뇨 등을 만들 수 있을 것으로 사료된다. 이러한 관점에서 뇨량에 영향을 미칠 것이라 믿어지며 타실험동물에서 이미 밝혀져 있는 뇌에 분포하는 dopamine세포가 Mongolian gerbil의 극심한 절수상황에서는 뇌의 어느 부위에 있는 세포가 어떻게 그 분포를 변화시키며 그 세포의 미세구조 등이 어떻게 변화되는지, 더나아가 이세포들의 구조적 변화에 따르는 뇌내의 hormone변화 등을 광학현미경적, 전자현미경적 및 세포면역화학적 방법을 활용하여 이들의 관계를 상세히 규명하려 한다.

시상하부에서 수분대사와 관련이 있을것으로 예상되는 신경활성물질 (neuroactive substance)은 oxytocin, vasopressin 및 dopamine으로 요약된다. 이중 신경전달물질 (neurotransmitter)인 dopamine중 특히 타실험동물에서는 시상하부에 존재하는 dopamine의 기능에 대한 연구를 많은 학자들이 관심을 가져왔다. 최근까지 알려진 시상하부 dopamine의 기능은 몇종류의 뇌하수체 호르몬을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다. 즉, 시상하부의 정중융기 (median eminance)에 있는 dopamine신경섬유말단 (dopamine terminal)으로부터 방출되는 고농도의 dopamine은 뇌하수체문맥혈액 (pituitary terminal)에서 발견되는데 (Gudelsky & Porter, 1979; Haskins et al., 1981; Ben-Jonathan et al., 1997), 문맥혈액속으로 방출된 시상하부의 dopamine은 prolactin과 관련있는 것으로 알려져 있다 (Hokfelt & Fuxe, 1972; Boissin-Agasse et al., 1991). 즉 dopamine은 prolactin함유세포에 대해 억제적으로 작용하며 이는 steroid에 의해 조절될 것으로 예상된다고 하였다. 이와같이 prolactin방출에 대한 dopamine의 억제기전 때문에 dopamine을 prolactin에 대한 1차적인 억제인자 (primary prolactin-inhibiting factor)라고 한다 (Lloyd, 1975; Ojeda, 1977; Markey, 1980). 이와관련하여 임상적인 측면에서 사람과 실험동물의 경우 모두 prolactin분비세포가 포함된 뇌하수체종양 (pituitary tumor) 발생시 일반적인 임상치료에 dopamine항진제제를 투여한다는 점이다 (Giok, 1961; Waelbroeck-van Gaver, 1969; Meitews & Clenens, 1972). Dopamine은 또한 그 상태에 따라서 α-melanocyte-stimulating hormone (MSH) (Penny & Thody, 1978; Kastin et al., 1980), luteinizing hormone (LH), growth hormone (GH) 및 thyroid-stimulating hormone (TSH)과 같은 뇌하수체호르몬을 억제하거나 또는 방출을 촉진하는 것으로 알려져 있다 (Brown, 1972; Weiner & Ganon, 1978; Tilders, 1979; Nakai, et al., 1983). 이와같이 dopamine의 내분비조절기전은 아마

도 dopamine이 시상하부에서 신경전달물질(neurotransmitter)로 작용하기 때문인 것으로 생각된다. 특히 시상하부의 배쪽내측부분에 있는 dopamine신경세포는 전체 시상하부의 dopamine세포로 볼 때 소규모군에 불과하지만 뇌하수체의 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며(Bjorklund, 1975), 기타 시상하부의 다른 영역에 존재하는 dopamine신경세포도 역시 내분비조절에 직, 간접적으로 관여하고 있다. 즉, 시상하부 내측바닥쪽의 dopamine신경세포는 기능적으로 tuberhypophysial 및 tuberoinfundibular신경세포의 두 주요군으로 나뉘며 상이한 내분비기능을 한다. tuberoinfundibular dopamine신경계는 활꼴핵(A12) 전체에 걸쳐 균등하게 기원하여(Bjorklund et al., 1973) 정중융기의 바깥층에 종지하며, 여기서 뇌하수체 문맥을 통하여 dopamine을 분비하는데 이것이 뇌하수체앞엽으로 수송되어 prolactin의 분비를 억제한다고 하며(Gudelsky, 1981; Ben-Jonathan, 1985), tuberohypophysial dopamine신경세포는 뇌하수체뒤엽의 중간부분 및 신경부분으로 투사하며(Bjorklund et al., 1973) 뇌하수체의 중간부분에서 dopamine은 멜라닌세포자극호르몬생산세포(melanotrophs)로부터 α-MSH 를포함하는 pro-opio-melano -cortin-derived peptide homone의 합성과 분비를 억제하고(Chronwell et al., 1986), 중간부분 dopamine신경세포의 활성변화는 이 호르몬 분비의 상호적인 변화를 동반한다고 하였다(Lindley et al., 1988). 뇌하수체 중간부분에 종지하는 tuberohypophysial dopamine 신경계 역시 일반적으로 활꼴핵(A12)의 앞부분에서 유래하는 것으로 알려져 있으나 그 중 일부는 뇌실주위핵(A14)으로부터 기원하거나 이를 통과하여 투사되며(Dawson et al., 1985; Goudreau et al., 1992), 중간부분의 멜라닌세포자극호르몬생산세포로부터 α-MSH분비를 억제하는 것은 주로 뇌실주위핵의 A14군 dopamine신경세포라고 한다(Goudreau et al., 1992). 이외에도 시상하부 dopamine은 gonadotrophin분비를 억제하고, 배란을 억제하며(Hokfelt & Fuxe, 1972; Moore et al., 1978; Lichtensteiger, 1979; McGeer et al., 1987), tuberoinfundibular dopamine신경세포의 활성은 발정주기 중 발절후기 및 발정정지기 동안에 증가된다고 알려져 있다(Lichtensteiger, 1970, 1979; Hokfelt & Fuxe, 1972).

또한 dopamin의 약리학적작용은 혈관 D_1-수용체에 작용하여 혈관 확장을 일으키며 용량을 증가시킬 경우 β_1- 및 α_1-수용체도 흥분시킨다. 혈관 D1-수용체가 흥분되면 adenylyl cyclase가 활성화되어 세포내 cyclic AMP가 증가하며 이로서 혈관 특히 콩팥혈관 및 내장 혈관이 확장된다. 따라서 소량의 dopamine을 주입하면 신혈류량, 사구체 여과율 및 Na^+ 배설이 증가한다. 그러므로 dopamine은 각종 shock에서 심박출량 감소로 인한 콩팥기능 장애를 예방 치료하는데 효과적으로 쓰인다. 용량을 증가하면 β_1-수용체가 흥분되어 심근 수축력이 증가하며 수축기 혈압이 상승한다. 그러나 말초저항 혈관의 수축이 미약하고 내장혈류량 및 신혈류량이 증가하므로 이완기 혈압은 중등도 용량까지에서는 별 변동이 없어 맥압(pulse pressure)은 증가한다. 그러나 대량을 주입하면 혈관 α_1-수용체가 흥분되어 혈관 수축이 일어나서 epinephrine과 비슷한 효과를 나타낸다. dopamine은 중추신경계에서 중요한 신경전달물질로 작용하며 기저핵(basal ganglia)에 대량 함유되어 parkinson병과 밀접한 관계가 있다. 그러나 dopamine은 혈액-뇌 장벽(blood brain barrier)을 통과하지 못하므로 말초혈관내에 투여할 경우 중추효과는 나타나지 않는다.

생체내에 흡수된 Tyrosine이 Epinephrine으로 촉매제에 의해 변화되어가는 과정중에 생기는 catecholamine중의 한 대사산물인 Dopamine은 소량의 자극에 의해서도 말초혈관 특히 간장과 신장 등의 혈관을 확장한다는 보고가 있다. 본 연구는 절수 및 탈수시에도 장기간 생존할 수 있는 신체내의 변화를 명확히 규명하기 위해 mongolian gerbil에서 dopamine분비세포의 자세한 변화를 밝히고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구방법

1) 실험동물

건강하고 성숙한 mongolian gerbil (50~80 g) 수컷 총 25마리를 사용하였다. brain 도보작성군 작성을 위하여 5마리를 표본으로 만든 후 흰쥐의 도보와 비교하여 도보를 작성 하였다. 대조군은 5마리를 물과 사

료를 정상적으로 공급하며 사육하였다. 실험군은 사료를 정상적으로 공급하되 물공급 중단 5일군, 10일군, 20일군으로 구분하고 각 군당 5마리씩 모두 15마리를 사용하였다.

2) 실험동물처치

대조군 및 실험군의 동물을 모두 다음과 같이 처리하였다.

실험동물에 thiopental sodium을 체중 kg당 40 mg씩을 복강내 주사하여 전신마취 시킨 후 흉강을 열고 가슴대동맥(thoracic aorta)을 결찰한 후, 오른심방귀(right auricle)를 절개해서 좌심실을 통하여 0.85% 생리식염수를 500 ml정도 관류수세하였다. 이어 4% paraformaldehyde (in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4: 이하 PB라 함: 전자현미경관찰을 위하여 glutaraldehyde를 포함하여 관류)를 관류시켜 뇌를 고정하였다. 관류고정 후 골절단기를 이용하여 머리뼈를 절단한 후 뇌를 적출하여 동일 고정액에 담구어 2~12시간 정도 후고정하였다. 이어서 냉동시 생길 수 있는 빙결정 방지를 위해 10%, 20%, 30% sucrose (in 0.1 M PB, pH 7.4)용액에 차례로 넣어 뇌가 가라앉을 때까지 담가 두었다.

3) 일반염색 및 뇌 도보 작성

Mongolian gerbil 뇌의 가로단면도보를 작성하기 위해서 다음과 방법으로 조직표본을 제작하였다.

고정된 뇌를 냉동절편기(Reichert-Jung)로 40 μm 두께의 관상연속절편을 400 μm 간격당 작성하였다. 조직절편을 gelatin으로 처리한 슬라이드에 부착시켜, 냉장 건조시킨후 PB 및 증류로 수세하고, 일정한 과정을 거쳐 cresyl violet염색을 시행하였다. 염색이 끝난 표본을 봉입하여 영구표본으로 준비한 후, 직접 확대기(Omega, USA)를 이용하거나, 광학현미경으로 저배율 촬영하여, 현상 및 인화과정을 거친 다음 Mongolian gerbil 뇌의 관상도보를 작성하였다.

4) Dopamine면역조직화학 및 전자현미경 관찰을 위하여 포매전 염색법(Prembedding Method)실시하였다.

조직처리 : 광학현미경적 면역염색을 위하여 고정된 mongolian gerbil 뇌를 냉동절편기로 40 μm 두께로 관상연속절편을 작성하였다. 또한 전자현미경 관찰을 위한 절편은 vibratome을 이용하여 50 μm 절편을 작성하였다. 그리고 항체의 조직내 투과성을 증대시키기 위해 0.3% Triton X-100이 함유된 PB로 10분간 3회 수세하고 부유법(free floating method)을 이용하여 면역조직화학염색을 시행한다. (단, 전자현미경 관찰을 위한 조직처리시는 Triton X-100을 제외시켰다)

항체 및 시약 : 본 실험에 이용한 1차 항체는 토끼에서 추출한 dopamine 항체 [TH (Thyrosine hydroxylase) DBH (Dopamine β-hydroxlase, PNMT (Phenyletanolamin N-methyltransferase)]를 1% Triton X-100이 함유된 PB 용액으로 희석(1 : 1,000)하여 사용하였다 (단, 전자현미경 관찰을 위한 조직처리시는 Triton X-100을 제외시켰다). 2차 항체는 biotinylated swine anti-rabbit immunoglobulins (Biomaker 제품)를 이용하며, 이 항체를 1% bovine serum albumin, 0.3% Triton X-100이 함유된 PB로 희석(1 : 300)하여 사용하였다 (단, 전자현미경 관찰을 위한 조직처리시는 Triton X-100을 제외시켰다). 발색을 위한 항체로는 peroxidase-conjugated streptavidin (Biomaker 제품)을 같은 기질용액에 1 : 300으로 희석하여 사용하였다. Peroxidase와 반응하여 발색을 일으키게 하기 위하여 0.1 M (pH 7.4) 100 ml당 3, 3′-diaminobenzidine-4 HCL (Sigma 제품) 40 mg을 용해한 후, 기질액의 침전물이 없도록 하기 위하여 여과지로 2회 여과한 이 용액에 과산화수소수를 0.0045% 되도록 첨가시켜 (이하 DAB 용액이라 함) 사용하였다.

면역염색 : Dopamine에 대한 면역조직화학 반응을 하기 앞서 조직절편에 남아있는 sucrose를 제거하기 위하여 0.1 M PBS로 수세하였다. 조직절편내에 존재하는 Peroxidase를 제거하기 위해서 0.5% 과산화수소수 용액에서 30분간 조직을 반응시킨 후 다시 과산화수소수를 제거하기 위하여 0.1 M PBS로 10분 3회 수세하였다. 이어 비 특이성 항원에 대한 면역반응을 방지하기 위하여 PBS에 0.3% Triton X-100, 1% normal swine serum 및 1% bovine serum albumin이 희석된 혼합용액인 preincubation용액에서 1~2시간 반응시켰다. 그 후 TH, DBH, PNMT에 대한 1차항체를 4°C에서 48~72시간 반응시킨 후 0.1 M PBS로 10분간 3회 수세하여 반응이 되지 않고 남아 있는 1차항

체를 제거하였다. 이어 2차 항체인 biotinylated swine anti-immunoglobulin을 4°C에서 12시간 반응시킨 후에 조직에 남아있는 여분의 항체를 제거하기 위하여 다시 0.1 M PBS로 수세하고 peroxidase-conjugated streptavidine을 4°C에서 12시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후에 역시 0.1 M PBS로 수세하고 DAB 용액으로 5~20분간 반응시켜 발색했다. 발색이 끝난 절편은 gelatin이 입혀진 슬라이드에 얹어 부착시킨 후 24~48시간이 지난 다음 신경세포돌기의 염색성을 증가시키기 위하여 1% OsO_4 용액에 1~3분간 담갔다가, 일정한 알코올 탈수 및 투명과정을 거쳐 permount로 봉입하였다.

Dopamine면역반응세포의 검색 : 면역조직화학반응 결과 Mongolian gerbil 뇌의 각 부분에서 면역반응을 보인 dopamine신경세포체의 분포상태를 도보로 작성하여 세포체를 표시하였다. Dopamine신경핵의 위치에 따라 면역반응 신경세포의 유형, 세포돌기의 주행방향, 특징 등을 비교 관찰하였다.

전자현미경 관찰을 위한 조직은 flat embedding후 초박절편기로 semithin section상에서 위치 및 면역반응 세포를 확인한 다음 ultrathin section를 만들어 관찰한다. Dopamine세포의 세포질소기관들의 변화를 EM으로 비교 관찰하여 다른 실험동물의 결과와 비교 관찰하였다.

결 과

1. 면역조직화학염색에 의한 광학현미경적 관찰

대뇌부위에서부터 교뇌부위까지 TH, DBH, PNMT의 항체를 이용하여 면역조직화학염색을 하였으나 대부분의 부위에서 TH항체에 의한 면역반응만이 나타나고 적색핵척수로에서 DBH가 약한 면역반응을 일으켰으며 PNMT의 항체에 의한 면역반응은 관찰되지 않았다.

1) 간뇌 (Diencephalon)

간뇌에 대한 면역조직화학염색 결과 이 부위에서는 TH 면역반응신경세포체만이 관찰되었고 DBH나 PNMT항체에 대해 면역반응을 보이는 신경세포체는 관찰되지 않았다. 이것으로 보아 반응을 보인 면역세포들은 모두 dopamine성 신경세포라는것을 알 수 있었다.

2) 시상하부

시상하부 앞구역 (anterior hypothalamic area)과 시각교차부위 (preoptic area)에서 관찰된 TH 면역반응신경세포영역은 시상하부뇌실곁핵 (paraventricular hypothalamic nucleus)과 뇌실주위회색질 (periventricular gray)이었다 (Fig. 1).

정상군의 시상하부뇌실곁핵에는 세포체가 많고 형태가 다양하며 세포의 돌기도 사방으로 뻗는 뭇극형이 주로 많았으며 신경섬유들이 많이 모여있었다. 뇌실주위회색질의 세포체들은 방추형의 세포들이 많고 그 세포돌기는 뇌실의 방향으로 길게 뻗어 있었다 (Fig. 1).

절수 20일군 : 뇌실곁핵과 뇌실주위회색질 전체적으로 세포체, 세포돌기들이 감소함으로 존재하지 않았다 (Fig. 2).

3) 흑색질 (Substantia nigra)

정상군 : 흑색질 치밀부에 가장 많은수의 TH 면역반응세포체가 관찰되었으며, 세포체 및 세포돌기의 방향은 대개 흑색질 치밀부분의 긴축을 따라 주행하고 있었다 (Fig. 3).

절수 20일군 : TH 면역반응세포체는 다시 감소하는 양상을 보였고 신경세포돌기와 신경섬유도 감소되었다 (Fig. 4).

2. 전자현미경적 소견

뇌에서의 TH 면역반응세포체의 변화를 보기 위해서 전자현미경을 통하여 관찰하였다. 가장 크게 감소되었던 절수 5일군 (Fig. 6)과 정상군 (Fig. 5)을 비교하여 보았을 때 우선 TH 면역반응세포 핵의 모양이 정상군에서는 둥근 형태로 존재하였는데 비해서 절수 5일군에서는 핵이 농축되어 불규칙한 형태로 존재하였다. 또한 세포질 소기관인 사립체의 수가 감소되었으며 신경연접부위도 관찰되지 않았다. 그러나 ER, 골지체 등의 변화는 정상군과 절수 5일군에서 크게 변화된 차이가 없음을 관찰했다. 아울러 이러한 세포소기관의 형태적인 변화는 절수에 의한 신경전달물질의 분비와 밀접한 관계를 지니고 있으며 특히 5일

군에 있어서 핵의 형태적인 변화, 일반적인 세포 퇴화의 과정과 분비상태의 변화를 보여주고 있었다.

고 찰

뇌에 분포하는 Catecholamine신경세포에 관한 연구는 면역형광항체법, 면역조직화학법, 자기방사측정법을 이용하여 많은 연구자들에 의해서 수행되어져 왔다(Dahlstrom et al., 1965; Lichtensteiger, 1966; Lidbrink et al., 1974; Hokfelt et al., 1975; Fallon and Moore, 1978; Halasz et al., 1978; Priestly et al., 1979; Baker et al., 1983; Macrides and Davis, 1983).

Dopamine은 tyrosine이 촉매제에 의해 epinephrine으로 변화되어 가는 과정중의 중간대사물인 catecholamine의 일종으로 자극이 복강내 실질장기내 혈류량을 조절함으로써 배뇨 또는 빈뇨 등을 만들 수 있을것으로 사료되었다. 이러한 catecholaminergic neuron은 TH, DBH, P NMT 항체를 이용하여 뇌에서 그 분포를 알고자 많은 연구자들이 연구를 수행하여 왔다.

Mongolian gerbil 간뇌의 catecholamine신경세포에 대한 연구는 Dahlstrom and Fuxe (1964)가 간뇌의 catecholamine신경세포군을 A11-A13군으로 구분한 이후 Bjorklund and Nobin (1973)이 신경세포의 형태 및 amine함량을 근거로 흰쥐의 간뇌를 A11-A14의 네군으로 구분하였다. 그후 catecholamine합성과정의 첫 번째 효소인 TH항체를 이용한 면역형광항체법을 이용해서 이러한 신경세포가 dopamine성 신경세포임을 확인하게 되었고(Hokfelt et al., 1976) Swanson and Hartman (1975)은 이러한 세포들은 DBH에는 반응하지 않으므로 norepinephrine성 신경세포는 아니라고 보고해 dopamine 성임을 재확인 하기도 하였다. 또한 햄스터(Vincent, 1988), 흰쥐 (Chan-Palay et al., 1984; Hokfelt et al., 1984),마우스(Baker et al., 1983; Russchen et al., 1984), 다람쥐원숭이, 비단털원숭이 (marmoset), 고양이, 주머니쥐 (opossum) 및 토끼 등의 몇몇 포유류의 시상하부에서 Catecholamine세포의 분포에 대해 연구된 바 있다(Fuxe, 1964; Bjorklund, 1973; Felten et al., 1974; Cheung & Sladek 1975; Hokfelt et al., 1976; Blessing, 1978; Crutcher & Humbertson, 1978; Hokfelt, 1978; Moore, 1978; Jacobowitz & Ols-chowka, 1982).

중뇌 dopamine신경계는 흑색질-줄무늬체계통(nigrostriatal system)과 중간변역-중간줄무늬체계통(mesolimbic-mesostriatal system)으로 대별된다(McGeer et al., 1987). 흑색질-줄무늬체계통은 행동학적 반응과 운동의 시작을 조절하는데 중요한 역할을 하며 이 계통의 손상시에는 수의적 운동의 시작에 장애가 있는 것이 특징인 파킨슨씨병이 유발되는 것으로 알려져 있다(Marsden, 1982). 배쪽피개영역의 세포는 중간변역-중간피질계통(mesolimbic-mesocortical system)에 포함되는데 이 계통의 기능은 아직 많은 부분이 밝혀지지 않았으나 사고, 감정 및 인식에 관한 요소를 포함하고 있을것으로 추측되며 자가자극(self stimulation), 먹고 마시는 것과 같은 소비성 행동을 포함하는 다수의 행위와 관련이 있는 것으로 보인다(Mcgeer, 1987). 흰쥐의 중뇌에서 dopamine성 신경세포의 분포를 보면 적색핵뒤영역, 흑색질 및 배쪽피개영역에서 관찰된다(Dahlstorm & Fuxe 1964; Ungerstedt, 1971; Lindvall et al., 1974; Hokfelt et al., 1984). 본 연구에서의 흑색질과 배쪽피개의 dopamine성 신경세포는 흑색치밀부분군, 배쪽피개군 및 흑색질그물부분군의 3군으로 분류되었으며 이와같은 연구결과는 흰쥐에 대한 연구보고에서 흑색질 및 배쪽피개영역에서 dopamine성 신경세포군이 관찰되었다는 연구보고와 유사하였다(Dahlstrom & Fuxe, 1964; Hokfelt, 1976, 1984).

탈수에 관한 연구로는 VP(vasopressin)과 OT(Oxytocin)의 변화에 관하여 많은 연구자들에 의해 수행되어왔다(Dunn et al., 1973; Guzek et al., 1976; Sofroniew et al., 1979) Guzek et al. (1976)과 Choy & Watkin (????) 등의 보고에 의하면 고장성의 식염수 투여후 흰쥐시상하부의 VP, OT분비신경세포수와 그 함량이 신경하수체와 같이 초기부터 점차 감소한다고 보고하였고 본 연구자들이 예전에 연구했던 절수에 따른 VP와 OT의 변화도 절수일이 지날수록 감소되는 것으로 증명되었다. 이것은 본 실험결과인 뇌에 분포하는 Dopamine이 절수에 따라 감소한다는 것과 유사함을 볼수 있으나 dopamine의 경우는 절수 10일 이후 다시 증가하는 양상을 보이기 때문에 수분대사외

에 다른 기전에도 관여하는 것으로 생각된다.

생체내에 흡수된 tyrosine이 촉매제에 의해 epinephrine으로 변화되어가는 과정중에 생기는 catecholamine중의 한 대사산물인 Dopamine은 소량의 자극에 의해서도 말초혈관 특히 간장과 신장 등의 혈관을 확장한다고 하였다. 본 절수연구의 결과를 볼 때 절수초기에 뇌에서 dopamine면역반응세포체가 감소되고 세포의 핵, 사립체 등의 형태적인 변화가 생기는 것은 신장 등의 혈관이 수축하고 혈류가 감소하여 배뇨의 감소가 수반되고 빈뇨가 있는것으로 사료된다. 그러다가 다시 dopamine면역반응세포체가 증가하는 것은 생체유지를 위한 반응으로 생각되며 구체적인 기능은 앞으로 더 많은 연구를 병행해야 할 것이다.

참 고 문 헌

Baker H, Joh TH, Ruggiero DA, Reis DJ: Variations in number of dopamine neurons and tyrosine hydroxylase activity in hypothalamus of two mouse strains. J Neurosci 3 : 832-843, 1983.

Ben-Jonathan N, Oliver C, Weiner HJ, Mical RS, Porter JC: Dopamine in the hypophysial portal plasma of the rat during the estrous cycle and throughout pregnancy. Endocrin 100 : 452-458, 1977.

Ben-Jonathan N: Dopamine: A prolactin-inhibiting hormone. Endocrine Rev 6 : 564-588, 1985.

Bjorklund A, Lindvall O, Nobin A: Evidence of an incerto-hypothalamic dopamine neuron system in the rat. Brain Res 89 : 29-42, 1975.

Bjorklund A, Lindvall O: Dopamine-containing system in the CNS. In Handbook of chemical neuroanatomy, Vol. 2. Classical transmitters in the CNS (Part I), eds. Bjorklund A, Hokfelt T, Amsterdam, Elsevier Science Publishers BV, pp. 55-122, 1973

Bjorklund A, Nobin A: Fluorescence histochemical and microspectro- fluorometric mapping of dopamine and noradrenaline cell groups in the rat diencephalon. Brain Res 51 : 193-205, 1973.

Blessing WW, Chambers JP, Howe PRC : Distribution of catecholamine-containing cell bodies in the rabbit central nervous system. J Comp Neurol 179 : 407-424, 1978.

Boissin-Agasse L, Tappaz M, Roch G, Gril C, Boissin J: Morphofunctional evidence for the involvement of hypothalamic dopaminergic and GABAergic neurons in the mechanisms of photoperiod-dependent prolactin release in the mink. Neuroendocrinology 53(6) : 537-42, 1991.

Brown GM, Krigstein E, Dankova J, Hornykiewicz O: Relationship between hypothalamic and median eminence catecholamines and thyroid function. Neuroendocrinology 10 : 207-217, 1972.

Chan-Palay V, Zaborskey L, Kohler C, Goldstein M, Palay SL: Distribution of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive neurons in the hypothalamus of the rats. J Comp Neurol 227 : 467-496, 1984.

Choy VJ, Watkin WB: Immunocytochemical study of the hypothalamo-neuro hypophyseal system. Cell Tiss Res 180 : 467-490, 1977.

Cheung Y, Sladek JR: Catecholamine distribution in feline hypothalamus. J Comp Neurol 174 : 339-360, 1975.

Crutcher KA, Humbertson AO: The organization of monoamine neurons within the brainstem of the North American Opossum (Didelphis virginiana). J Comp Neurol 179 : 195-222, 1978.

Dahlstrom A, Fuxe K: Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in cell bodies of brainstem neurons. Acta Physiol Scand 62 (suppl. 232) : 1-55, 1964.

Dahlstrom AK, Olson FL, Ungerstedt U: On the distribution and possible function of monoamine nerve terminals in the olfactory bulb of the rabbit. Life Sci 4 : 2071-2074, 1965.

Dawson R Jr, Valdes JJ, Annau Z : Tuberohypophyseal and tuberoinfundibular dopamine systems exhibit differential sensitivity to neonatal monosodium glutamate treatment. Pharmacology 31(1) : 17-23, 1985.

Dunn Gl, Brennan TJ, Nelson AE, et al.: The role of blood osmolality and volume in regulatind vasopressin secretion in the rat. J Clin Invest 52 : 3212, 1973.

Fallon JH, Moore RY: Catecholamine innervation of the basal r forebrain. m. Olfactory bulb, anterior olfactory nuclei, olfactory tubercle and piriform cortex. J Comp Neurol 180 : 533-544, 1978.

Felten DL, Laties AM, Carpenter MB: Monoamine-containing cell bodies in the squirrel monkey brain. Am J Anat 139 : 153-165, 1974.

Fuxe K: Cellular localization of monoamines in the median eminence and infundibular stem of some mammals. Z

Zellforsch mikrosk Anat 61 : 710-724, 1964.

Giok KH: An Experimental Study of Pituitary Tumors. Springer, Berlin. 1961.

Goudreau JL, Lindley SE, Lookingland KJ, Moore KE: Evidence that hypothalamic periventricular dopamine neurons innervate the intermediate lobe of the rat pituitary. Neuroendocrinology 56(1) : 100-5, 1992.

Gudelsky GA: Tuberoinfundibular dopamine neurons and the regulation of prolactin secretion. Psychoneuroendocrinology 6(1) : 3-16, 1981.

Gudelsky GA, Porter JC: Morphine- and opioid peptide-induced inhibition of the release of dopamine from tuberoinfundibular neurons. Life Sci 25 : 1697-1702, 1979.

Guzek JW, Orlowska-Majdak M, Wdziczak J: The vasopressin and oxytocin content in the hypothalamus and neurohypophysis as influenced by reserpine treatment during long-term dehydration in the white rat. Endokrinologie 67(1) : 36-50, 1976.

Halasz N, Ljungdahl A, Hokfelt T: Transmitter histochemistry of the rat olfactory bulb. II . Fluorescence, histochemical, autoradiographic and electron microscopic localization of monoamines. Brain Res 154 : 253-271, 1978.

Haskins JT, Gudelsky GA, Moss RL, Porter JC: Iontophoresis of morphine into the arcuate nucleus: effects of dopamine concentrations in hypophysial portal plasma and serum prolactin concentrations. Endocrin 108 : 767-771, 1981.

Hokfelt T et al.: Aminergic and peptidergic pathways in the nervous system with special reference to the hypothalamus. In The Hypothalamus (eds Reichlin S, Baldessarini RJ and Martin JB). Raven Press, New York, 69-135, 1978.

Hokfelt T, Fuxe K: Effects of prolactin and ergot alkaloids on the tubero-infundibular dopamine (DA) neurons. Neuroendocrinology 9(2) : 100-22, 1972.

Hokfelt T, Halasz N, Ljungdahl A, Jogansson O, Goldstein M, Park D: Histochemical support for a dopaminergic mechanism in the dendrites of certain periglomerular cells in the rat olfactory bulb. Neurosci Lett 1 : 85-90, 1975.

Hokfelt T, Johansson O, Fuxe K, Goldstein M, Park D: Immunohistochemical : studies on the localization and distribution of monoamine neurons systems in the rat brain. I. Tyrosine hydroxylase in the mes-and diencephalon. Med Biol 54 : 427-453, 1976.

Hokfelt T, Johansson O, Fuxe K, Goldstein M, Park D: Immunohistochemical studies on the localization and distribution of monoamine neuron systems in the rat brain: I. Tyrosine hydroxylase in the mes-and diencephalon. Med Biol 54 : 427-453, 1976.

Hokfelt T, Johansson O, Fuxe K, Goldstein M, Park D: Immunohistochemical studies on the localization and distribution of monoamine neuron, systegns in the rat brain: m Three catecholamine synthesizing enzymes in the rhinencephalon. In H.J. De Ajuriaguerra and R. Tissot (eds): Rhinencephale Neurotransmetteurs et Psychoses. Geneva: Georg 79-113, 1976.

Hokfelt T, Marternsson R, Bjorklund A, Kleinau S, Goldstein M: Distributional maps of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive neurons in the rat brain. In Handbook of chemical neuroanatomy. Vol. 2. Classical transmitters in the CNS (Part I), eds. Bjorklund A, Hokfelt T, Amsterdam, Elsevier Science Publishers BV 277-379, 1984.

Hokfelt, T, Johansson O, Fuxe K, Goldstein M: Catecholamine neurons-distribution and cellular localization as revealed by immunohistochemistry. In U. Trendelenberg and N. Weiner (eds): Catecholamines. Springer Verlag NY, 1984.

Jacobowitz DM, Olschowka JA: Coexistence of bovine pancreatic polypeptide-like immunoreactivity and catecholamine in neurons of the ventral aminergic pathway of the rat brain. Brain Res Bull 9 : 391-406, 1982.

Kastin AJ, Schally AV, Kostrzewa RM: Possible aminergic mediation of MSH release and of the CNS effects of MSH and MIF-1l2. Fed Proc 39 : 2931-2936,1980.

Levine S, Sohn D: Cerebral ischemia in infant and adult gerbils. Relation to incomplete circle of Willis. Arch Pathol 87(3) : 315-7, 1969.

Lichtensteiger W: Uptake of norepinephrine in periglomerular cells of theolfactory bulb of the mouse. Nature 210 : 955-956, 1966.

Lidbrink P, Jonsson G, Fuxe K: Selective reserpine-resistant accumulation of catecholamines in central dopamine neurons after DOPA administration. Brain Res 67 : 439-456, 1974.

Lindley SE, Gunnet JW, Lookingland KJ, Moore KE : Effects of alterations in the activity of tuberohypophysial dopaminergic neurons on the secretion of alpha-melanocyte stimulating hormone. Proc Soc Exp Biol Med 188(3) : 282-6, 1988.

Lindvall O, Bjorklund A: The organization of the ascending catecholamine neuronsystems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. Acta Physiol Scand 412 : 1-48, 1974.

Lloyd HM, Meares JD, Jacobi J: Effects of oestrogen and bromocryptine onsecretion and mitosis in prolactic cell. Nature 255 : 497-498, 1975.

Macrides F, Davis BJ: The olfactory bulb. In: Chemical neuroanatomy. Eirnson, P.C. ed., Raven Press NY pp. 391-426, 1983.

Markey KA, Kondo S, Shenkman L, Goldstein M: Purification and characterization of tyrosine hydroxylase from a clonal pheochromocytoma cell line. Molec Pharmac 17 : 79-85, 1980.

Marsden CD: The mysterious motor function of the basal ganglia: the Robert Wartenberg Lecture. Neurology 32 : 514-539, 1982.

McGeer DL, Eccleo JC, McGeer EG: Molecular neurobiology of the mammalian brain. 2nd ed. Plenum Press, NY, pp. 337-338, 1987.

Meites J, Lu KH, Wattke W, Welsch CW, Nagasawa H, Quadic SK: Recent studies of functions and control of prolactin secretion in rats. Recent Prog Horm Res 28 : 471-516, 1972.

Millington WR, O'Donohue TL, Chappell MC, Roberts JL, Mueller GP: Coordinate regulation of peptide acetyltransferase activity and proopiomelanocortin gene expression in the intermediate lobe of the rat pituitary. Endocrinology 118(5) : 2024-33, 1986.

Moore RY, Bloom FE: Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the dopamine systems. Am Rev Neurosci 1 : 129-69, 1978.

Nakai Y, Shioda S, Ochiai H, Kudo J, Hashimoto A: Ultrastructural relationship between monoamine and TRH-containing axons in the rat median eminence as revealed by combined autoradiography and immunocytochemistry in the same tissue section. Cell Tissue Res 230 : 1-14, 1983.

Ojeda SR, Costro VA, Jameson HE: Prolactin release in response to biockade of dopaminergic receptors and to TRH injection in developing and adult rats: role of estrogen in determining sex differences. Endocrin 100 : 427-439, 1977.

Penny RJ, Thody AJ: An improved radioimmunoassay for alpha-melanocyte-stimulating hormone (alpha-MSH) in the rat: serum and pituitary alpha-MSH levels after drugs which modify catecholaminergic neurotransmission. Neuroendocrinology 25(4) : 193-203, 1978.

Priestly JV, Kelly JS, Cuello AC: Uptake of [3H]dopamien in periglomerular cells of the rat olfactory bulb: An autoradiographic study. Brain Res 165 : 149-155, 1979

Russchen FT, Bakst I, Amaral DG, Price JL: The amygdalostriatal projections in monkey. An anterograde tracing study. Brain Res 329 : 241-257, 1985.

Sofroniew MV, Weindl A, Schinko I, et al.: The distribution of vasopressin-oxitocin and neurophysin-produsing neurons in the Guinea pig brain. Cell Tissue Res 196 : 367-384, 1979.

Tilders FJH, Van der Woude HA, Swaab DF, Mulder AH: Identification of MSH release-inhibiting elements in the neurointermediate lobe of the rat. Brain Res 171 : 425-435, 1979.

Ungerstedt U: Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. Acta Physiol Scand 367 : 1-48, 1971.

Vincent SR: Distributions of Tyrosine hydroxylase-, Dopamine-β-Hydroxylase-, and Phenylethanolamine-N-Methylatransferase- Immunoreactive Neurons in the Brain of the Hamster (Mesocricetus auratus). J Comp Neurol 268 : 584-599, 1988.

Waelbroeck VC: Tumeurs hypothysaires induites par les oestroogenes Chez le rat-II. Etude cytogenetique Eur J Cancer 5 : 119-127, 1969.

Weiner RI, Ganong WR: Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion. Physiol Rev 58 : 905-976, 1978.

Wright AK, Arbuthnott GW: The pattern of innervation of the corpus striatum by the substantia nigra. Neuroscience 6 : 2063-2067, 1981.

<국문초록>

Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*)은 선천적으로 불완전한 뇌바닥동맥고리와 특이한 콜레스테롤 대사를 가진 동물로서 수분의 섭취없이도 장기간 생존이 가능하기 때문에 최근 뇌신경학 연구방면에 많이 이용되는 동물이다. 따라서 본 연구는 mongolian gerbil을 절수시켰을 때 시간의 경과에 따라 뇌에서의 catecholaminergic neuron의 형태적인 변화에 관하여 알아보고자

50~80 g의 mongolian gerbil 25마리를 이용하여 5마리는 뇌도보를 작성하였으며 나머지는 정상군, 5일군, 10일군, 20일군으로 각각 5마리씩 나누어 TH, DBH, PNMT항체를 이용하여 면역조직화학염색하여 절수의 시간에 따른 뇌에서의 catecholaminer-gic neuron의 형태적인 변화를 광학 및 전자현미경적으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상군의 경우 시상하부의 제3뇌실주위에 있는 뇌실곁핵과 뇌실주위회백질에 TH 면역반응세포들이 나타났고 이들의 신경세포돌기 및 신경섬유들도 많이 분포하였으나 20일군에서 감소되는 양상을 보였다.

2. 중뇌 및 교뇌에서는 catecholamine성 신경세포중 dopamine성 신경세포가 뚜렷히 관찰되었으나 noradrenalin성 신경세포는 약하게 관찰되었다.

3. 흑색질의 치밀부분과 배쪽피개영역에서 TH항체에 대한 면역반응을 보이는 Dopamine성 신경세포 밀집도가 높았으며 그물부분에서도 소수 관찰되었다. 그러나 이 부위에서 dopamine성 신경세포도 절수에 따라 5일군까지 신경세포체와 돌기 및 섬유들이 감소되었으나 10일군에서는 다시 증가하였으며 20일군에서부터 감소하는 양상을 보였다.

4, 절수에 의한 뇌의 TH 면역반응세포체의 전자현미경적 소견은 정상군에 비해 5일군에서 핵의 농축 및 변형, 신경연접의 소실, 사립체의 감소, 축삭 수의 감소 등이 나타나 TH의 분비에 영향을 주는 것으로 보인다. 그러나 ER 등의 변화는 크게 관찰할 수 없었다.

이러한 연구결과는 정상군의 경우 다른 동물과 유사했으나 다른 동물에서는 청색반점이나 교뇌부위에서 noradrenaline성 신경이 많다고 하였지만 본 연구에서는 그러한 차이를 발견하지 못했으며 이것은 동물간의 유전적, 환경적 차이로 사료된다. 그러므로 mongolian gerbil의 수분대사에 dopamine이 관여할 것으로 보고 탈수질환모델로 개발하기 위한 기능적인 연구와 더불어 많은 형태학적인 연구가 병행되어야 할 것이다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. TH-Immunoreactive cell of hypothalamus on the normal group. ×25 3V: 3 rd Ventricle, arrow : TH-immunoreactive cell.

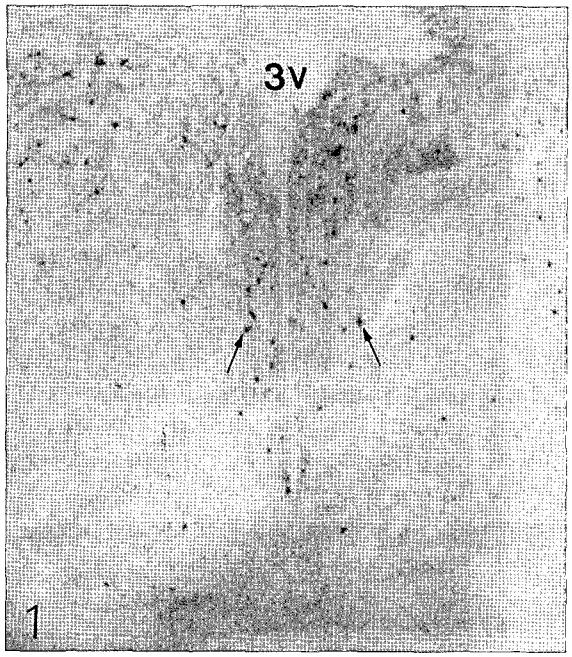
Fig. 2. TH-Immunoreactive cell of hypothalamus on the 20 th day water-deprivation group. ×25 3V: 3 rd Ventricle, arrow : TH-immunoreactive cell.

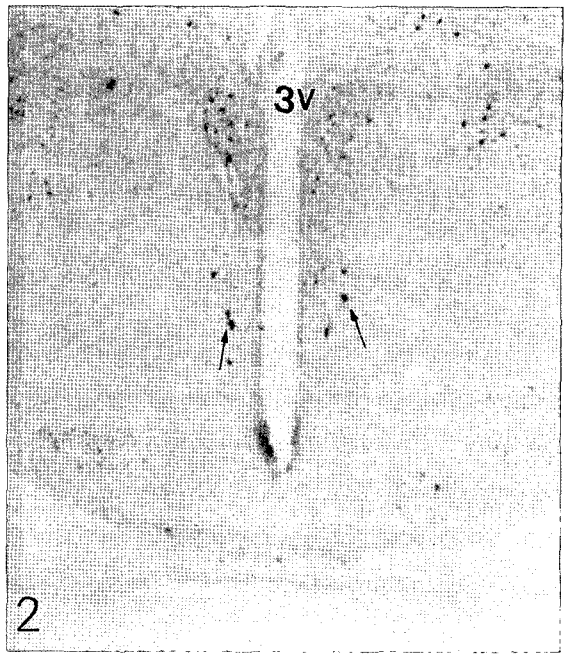
Fig. 3. TH-immunoreactive neuron of substantia nigra on normal group. ×25 SNC: substania nigra.

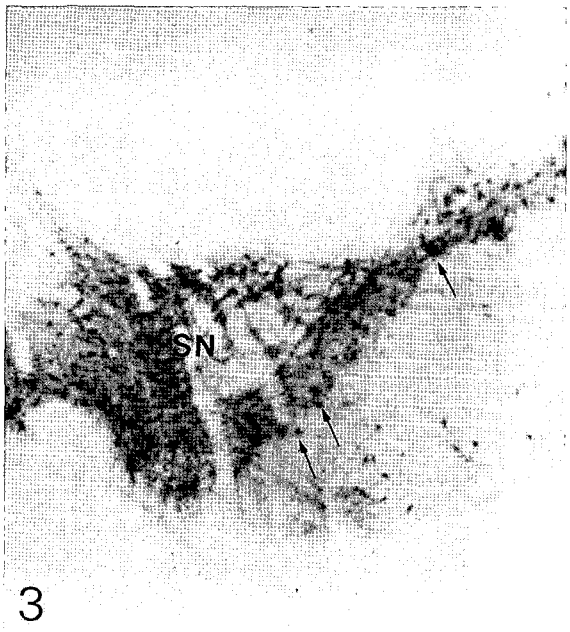
Fig. 4. TH-Immunoreactive cell of substantia nigra on the 20th day water- deprivation group. ×25 SNC: substania nigra.

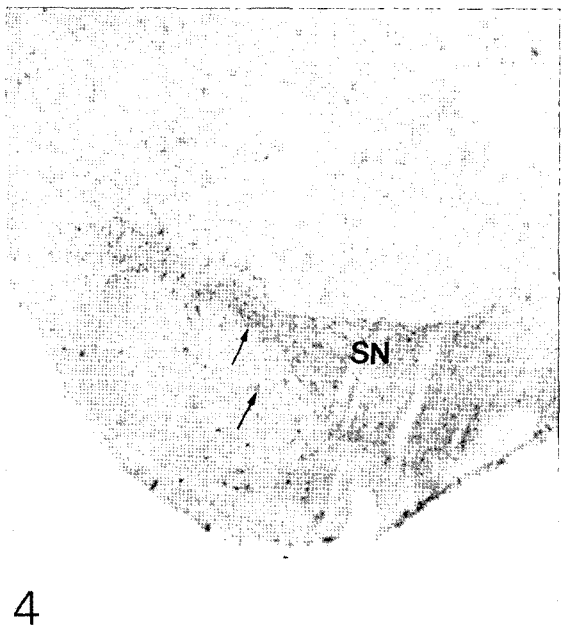
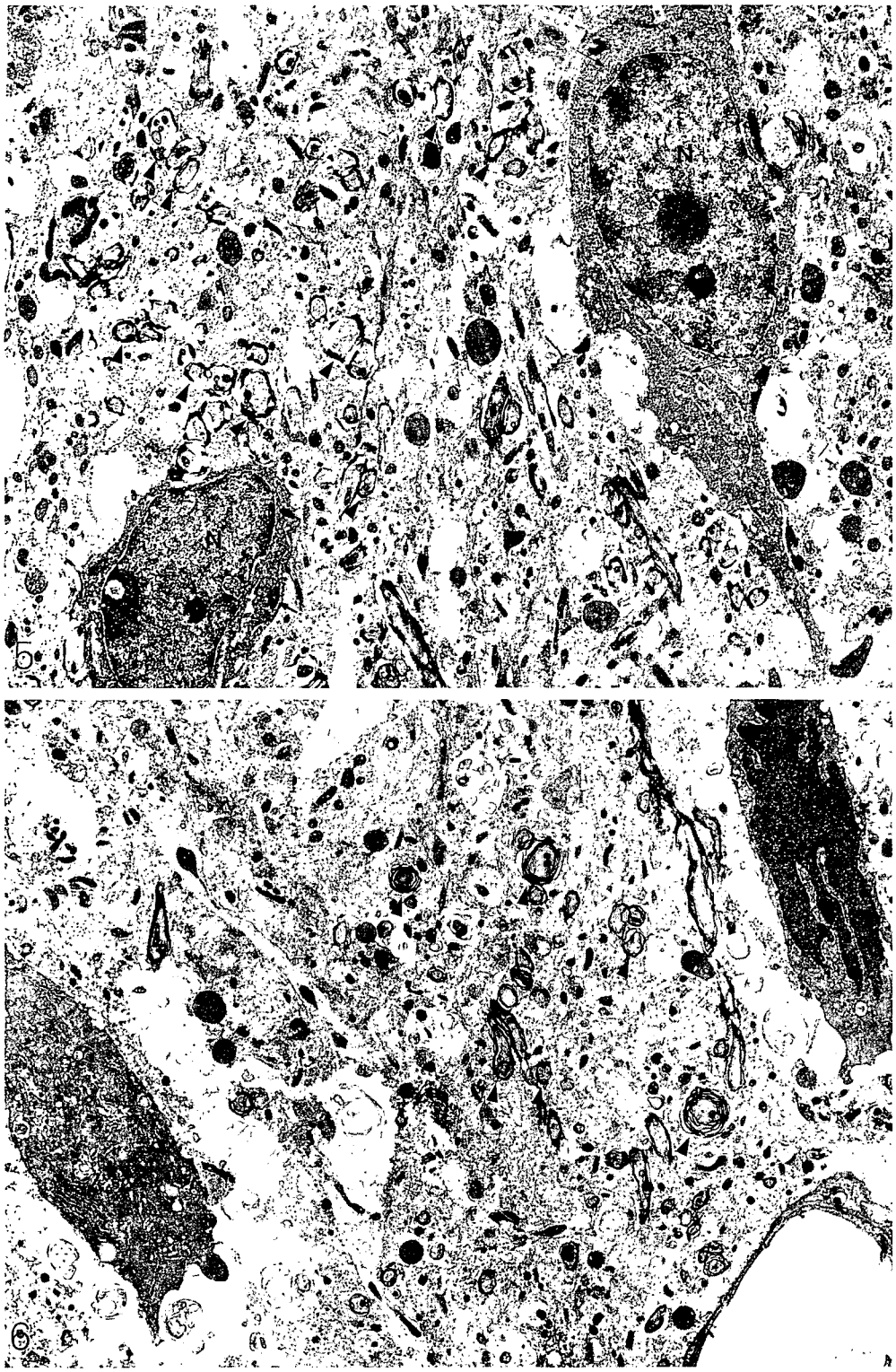
Fig. 5. Electronmicrograph of the TH-immunoreative neurons on normal group. ×10,000 N : Nucleus, arrow : Endoplasmic Reticulum arrow head : myelin sheath.

Fig. 6. Electronmicrograph of the TH-immunoreative neurons on 5th day water- deprivation group. ×10,000 N : Nucleus, arrow : Endoplasmic Reticulum arrow head : myelin sheath.


3V
1


3V
2


SN
3


SN
4