

흰쥐 전뇌 기저부 Meynert기저핵에서 출생 후 발육기간에 따른 콜린성 신경세포의 분화

함 영 옥, 김 수 진*
한림대학교 자연과학대학 생물학과

The Differentiation of the Cholinergic Nerve Cells at the Meynert Basal Nucleus of the Basal Forebrains in the Growth Period of Rat

Young Ok Hahm and Soo Jin Kim*

Department of Biology, College of Natural Science, Hallym University Chunchon,
Kangwon-Do 200-702. KOREA

(Received November 6, 2001)

ABSTRACT

This study was performed to investigate the distribution and differentiation on the immunoreacted cells of the ChAT (choline acetyltransferase) at the Meynert basal nucleus of the forebrains in the growth periods of rat, using the immunohistochemistic method. According to the cell shape and the ratio of long axis vs short axis of cell soma, the ChAT antibody reacted nerve cells in the Meynert basal nucleus of the rats were classified into six types. In the adult rats, the FD (frequency distributions) of round, oval and elongated cells were maximum. The FD of these types were shown to be progressively decreased during the postnatal development. In addition, the FD of elongated nerve cells in were observed in the adult rats respectively. This was thought to be the same phenomenon as those in the round and oval cells. The total mean volume of ChAT antibody reacted cell somata was lowest in the PND (postnatal days) 7 rats and was highest in the PND 21 rats. But, those were decreased to the adult. These results suggest that ChAT antibody reacted nerve cells grow up to PND 21 and then, differentiate into the various types by neurites outgrowing. On the electron micrography, the adult rat forebrain cells were obtained to be well developed ribosomes, polysomes, rough endoplasmic reticula and mitochondria. The immunoreactivities were observed in ribosomes, polysomes, rough endoplasmic reticula and outer membrane of mitochondria. Golgi complexes were poorly developed and not showed immunoreactivity. The ribosomes, polysomes and endoplasmic reticula are considered to be closely related to the inter cellular localization and biosynthesis of the ChAT but not Golgi complex. According to the results in the present study, it is considered that the ChAT-immunoreacted nerve cells in the Meynert basal nucleus of the rat forebrains are differentiated throughout the postnatal development with following processes of changes; 1) the cholinergic

* Correspondence should be addressed to Dr. Soo Jin Kim, Department of Biology, College of Natural Science, Hallym University Chunchon Kangwon-Do 200-702, Korea. Ph.: 033-240-1434, FAX: 033-241-1433, E-mail: sjkim@hallym.ac.kr
Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

nerve cells develop postnatally 2) cell soma volumes gradually increase during the early postnatal days 3) and then, cells differentiate into the various types by projecting the neurites to the appropriate area after PND 21.

Key words : Choline acetyltransferase, Differentiation, Frequency distributions, Meynert basal nucleus, Postnatal days

서 론

포유동물의 뇌에서 ChAT (choline acetyltransferase) 항체에 면역반응을 나타내는 신경세포, 즉 콜린성 신경세포의 분포 및 형태는 ChAT에 대한 단일클론항체를 이용한 면역조직화학적 연구로 밝혀지기 시작하였다. 흰쥐 전뇌 기저부에서 콜린성 신경세포는 내측중격핵, 수직 및 수평 대각 Broca대, 거대세포 시교차앞핵, 복부담창구, Meynert기저핵 그리고 신선조체 등에 분포하는 것으로 보고된 바 있다 (Dinopoulos et al., 1986; Ko et al., 1995; Chung & Choi, 1997).

Sofroniew et al. (1987)은 Meynert기저핵의 체부는 담창구 및 내포의 기저부, 그리고 이들과 접하는 무명질의 상부, 즉 이들 세 부위가 만나는 부위를 중심으로 큰 핵을 이루고 있으며, 위로는 담창구와 내포의 경계 부위를 따라 담창구의 내측 벽과 내포의 외측 벽을 이룬다고 하였다. 또한 흰쥐 전뇌 기저핵의 콜린성 신경세포들은 중간 또는 대신경세포 (18~43 μm)로서 긴 축삭을 갖고 있으며, 대다수 세포들의 모양이 난형이거나 방추형이라고 보고되었으며 (Butcher & Woolf, 1984), 출생 후 발생과정에서 콜린성 신경세포의 세포체 크기, 수상돌기의 숫자 등이 증가하여 출생 후 18일에 최대치를 보였다가 그 이후에는 점차 감소된다는 보고도 있다 (Gould et al., 1989).

Dinopoulos et al. (1988)은 전뇌 기저부에서 ChAT 항체 면역반응 신경세포를 원형과 난원형, 방추형과 삼각형 혹은 다각형의 3종류의 세포군으로 분류하였으며, Palacios (1990)는 전뇌 기저핵군에서 콜린성 신경세포를 원형, 난원형 및 다각형의 세포형으로 구분하였다. Ko et al. (1995)과 Chung & Choi (1997)은 콜린성 신경세포에 대한 연구에서 ChAT항체 면역반응 신경세포를 원형, 난형, 세장형, 방추형, 삼각형 그리고

다각형의 6종류의 세포형으로 세분화하기도 하였다 (Back & Chung, 1999).

그러나 흰쥐의 출생 후 발육기간에 따른 Meynert 기저핵에서 ChAT항체 면역반응 신경세포들의 발생, 분포, 형태, 형별 출현율 및 세포체의 부피, 조직학적 특성 등을 확인하고 미세구조적 특징을 관찰한 보고가 미비하였다. 따라서 본 연구에서 흰쥐 전뇌 기저부 Meynert기저핵에서 ChAT에 대한 항체를 이용한 면역조직 및 세포화학적 방법으로 광학현미경을 이용하여 신경세포들의 발생, 분포, 형태, 형별 출현율 및 세포체의 부피, 조직학적 특성 등을 확인하고자 하였다. 또한 전자현미경을 이용하여 ChAT항체에 대한 면역반응을 하는 신경세포의 미세구조적 특징을 관찰하여 출생 후 발생단계에 따른 Meynert기저핵에서 ChAT항체 면역반응 신경세포들의 분화를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에서 사용한 실험동물은 흰쥐 (Sprague-Dawley albino rat)로 출생 직후 (0일), 출생 후 7일, 14일, 21일, 28일, 35일 그리고 91일로 실험 군을 구별하였으며 각 실험 군에 각각 4마리씩을 사용하였다.

2. 광학현미경적 관찰을 위한 면역조직화학적 방법

흰쥐의 복강 내에 sodium pentobarbital (5 mg/체중 100 g)을 주사하여 전신마취 시킨 후, 0.1 M 인산염 완충생리식염수 (phosphate buffer saline, PBS pH 7.4)를 좌심실에서 대동맥으로 관류하여 혈관내의 혈액을 제거하고, McLeans and Nakane (1974)의 관류고정 방법에 따라 periodate-lysine-paraformaldehyde 고정

액으로 관류하여 고정하였다.

고정 후 뇌를 적출하여 vibratome를 이용하여 40 μm 의 두께로 연속 횡단 조직절편을 만들어 Hsu et al. (1981) 방법에 따라 면역항체를 반응시키고 avidin-biotin peroxidase를 반응시켰다. 발색반응은 0.003% 과산화수소에 diaminobenzidine 용액 (10 mg/PBS 20 ml, DAB)을 제작하여 조직절편을 5~10분 동안 처리하였다. 면역반응 된 조직들을 1% osmium tetroxide에 1시간 동안 4°C에서 후 고정하고, 상승 농도 순의 ethyl alcohol과 propylene oxide로 탈수하였다. 탈수

된 조직들은 epon-araldite 혼합물로 포매하고 60°C에서 48시간 동안 중합반응을 시켜 광학현미경으로 관찰하였다.

3. 전자현미경적 관찰을 위한 면역세포화학적 방법

전자현미경적 관찰을 위해 출생 후 28일 된 조직의 Meynert기저핵에서 면역반응이 일어난 부위를 선정하여, Reichert-Jung ultramicrotome으로 50~60 nm로 절편을 제작하여 nickel grid에 부착하였으며, Grid

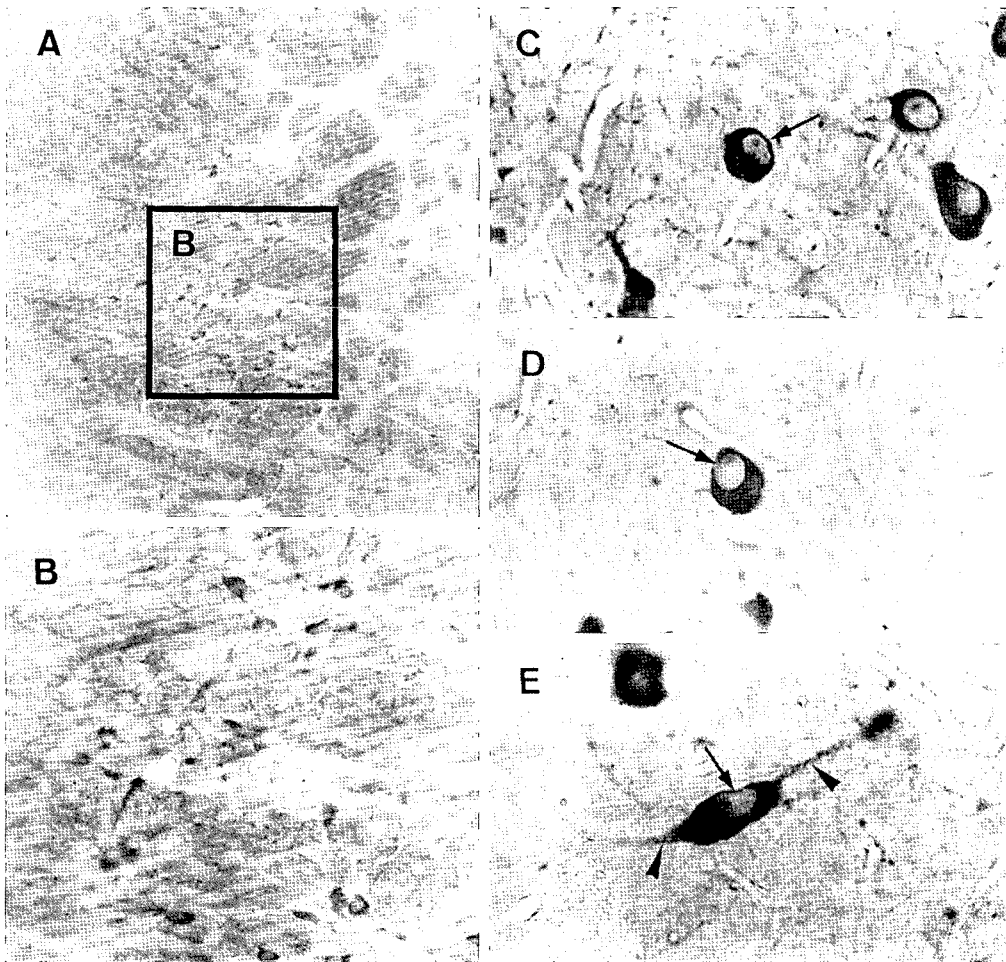


Fig. 1. Localization of the ChAT-immunoreactive nerve cells of the Meynert basal nucleus in the coronal sections of the adult rat forebrain. A, Immunoreactive nerve cells in the boundary between the internal capsule (IC) and globus pallidus (GP). $\times 130$. B, The enlarged part of figure A. $\times 240$. C, D and E, Round (C), oval (D) and elongated (E) immunoreactive neurons. The non-immunoreactive nucleus (arrows) and the immunoreactive dendrites (arrowheads) are seen. $\times 450$.

에 부착된 조직절편을 lead citrate로 염색하여 Zeiss EM109 투과전자현미경으로 관찰하였다.

4. 세포형 분류 및 통계처리

ChAT항체 면역반응 신경세포를 세포의 형태적 특징, 즉 세포의 모양과 장단축의 비(원형: 1.0~1.24, 난형: 1.5~11.74, 세장형: 1.75~2.74, 방추형: 2.75 이상)에 따라 분류하였다(Ko et al., 1995). 이들의 출현율은 백분율로 나타내었으며, 각 형의 세포체 부피는

Dinopoulos et al.(1988)이 사용한 공식, 즉 난형과 방추형 신경세포 경우는 $(\pi/6) \times \text{장축의 길이} \times (\text{단축의 길이})^2$, 삼각형과 다각형 신경세포의 경우는 $(\pi/3) \times (\text{밀변의 길이}/2)^2 \times \text{높이}$ 를 이용하여 산출하였다.

결 과

1. 신경세포의 분포 및 ChAT항체 면역반응

ChAT항체 면역반응은 출생 후 0일에는 관찰되지

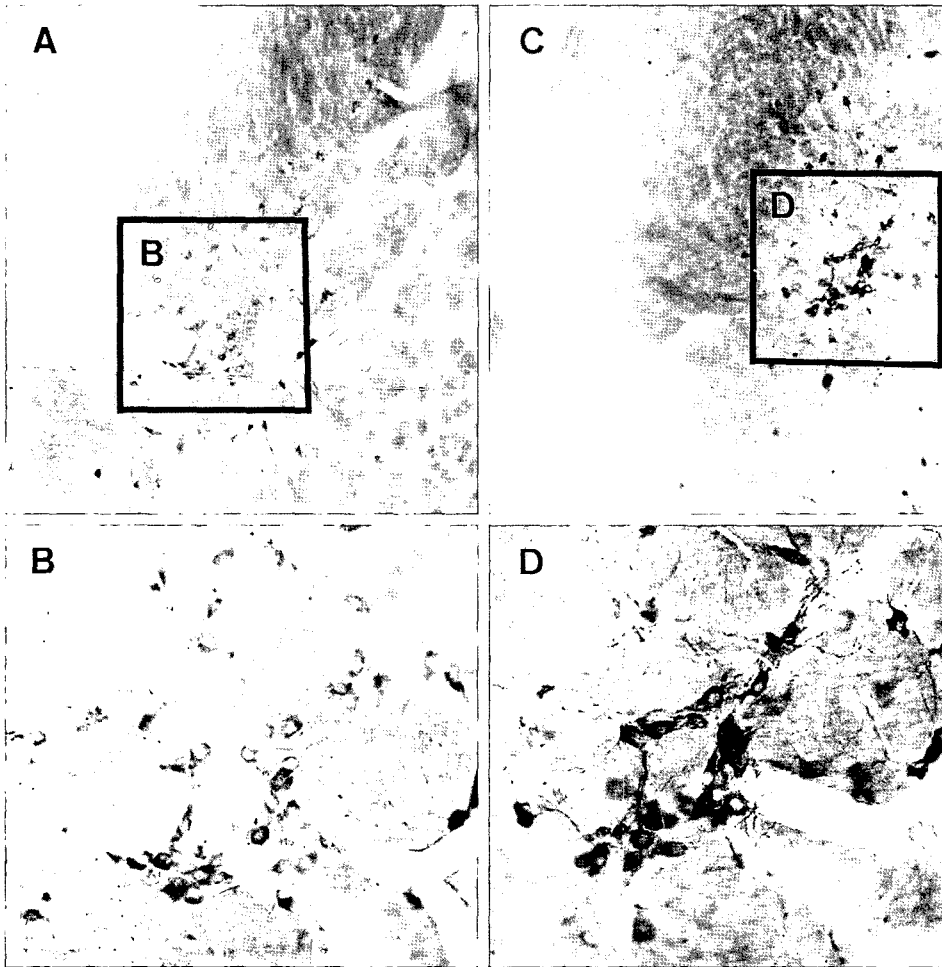


Fig. 2. Localization of the ChAT-immunoreactive nerve cells of the Meynert basal nucleus in the coronal sections of the PND 35 and PND 28 rat forebrains. A, Many immunoreactive nerve cells in the PND 35 rat are seen in the lateral and basal margins of the globus pallidus (GP). $\times 130$. B, The enlarged part of figure A. $\times 240$. C, Immunoreactive nerve cells in the PND 28 rat are seen. $\times 130$. D, The enlarged part of figure C. $\times 240$.

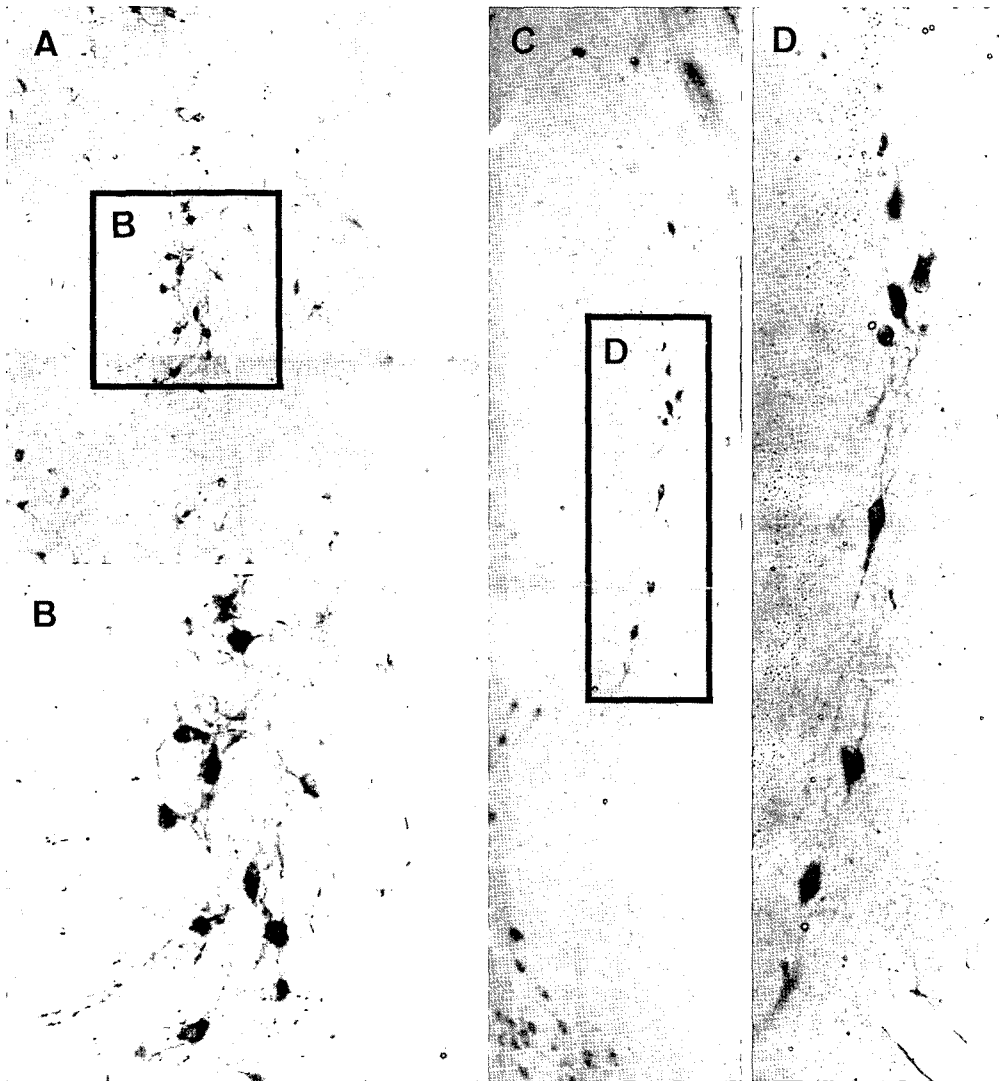


Fig. 3. Localization of the ChAT-immunoreactive nerve cells of the Meynert basal nucleus in the coronal sections of the PND 21 and PND 14 rat forebrains. A, Many immunoreactive nerve cells in the PND 21 rat are seen in the lateral and basal margins of the globus pallidus (GP). $\times 130$. B, The enlarged part of figure A. $\times 240$. C, Immunoreactive nerve cells in the PND 14 rat are seen. $\times 130$. D, The enlarged part of figure C. $\times 240$.

않았으며, 출생 후 7일에서는 전뇌의 측 내실과 가까운 부위의 무명질과 담창구에 존재하는 신경세포에서 세포질 부분에 약한 면역반응이 나타났다. 그러나 출생 후 14일 (Fig. 3C)에는 세포질에 비교적 강한 면역반응이 관찰되었다.

출생 후 21일 (Fig. 3A), 28일 (Fig. 2C) 그리고 35일

(Fig. 2A)에는 성체 (Fig. 1A)에서와 유사한 정도의 강한 면역반응이 세포질 뿐만 아니라 축삭 및 수상돌기에서도 관찰되었다.

ChAT항체에 반응하는 신경세포의 분포는 조직마다 부분적으로 상이하지만, 대부분 담창구가 내포와 접하는 부위, 또는 담창구와 무명질의 연결지역에 군

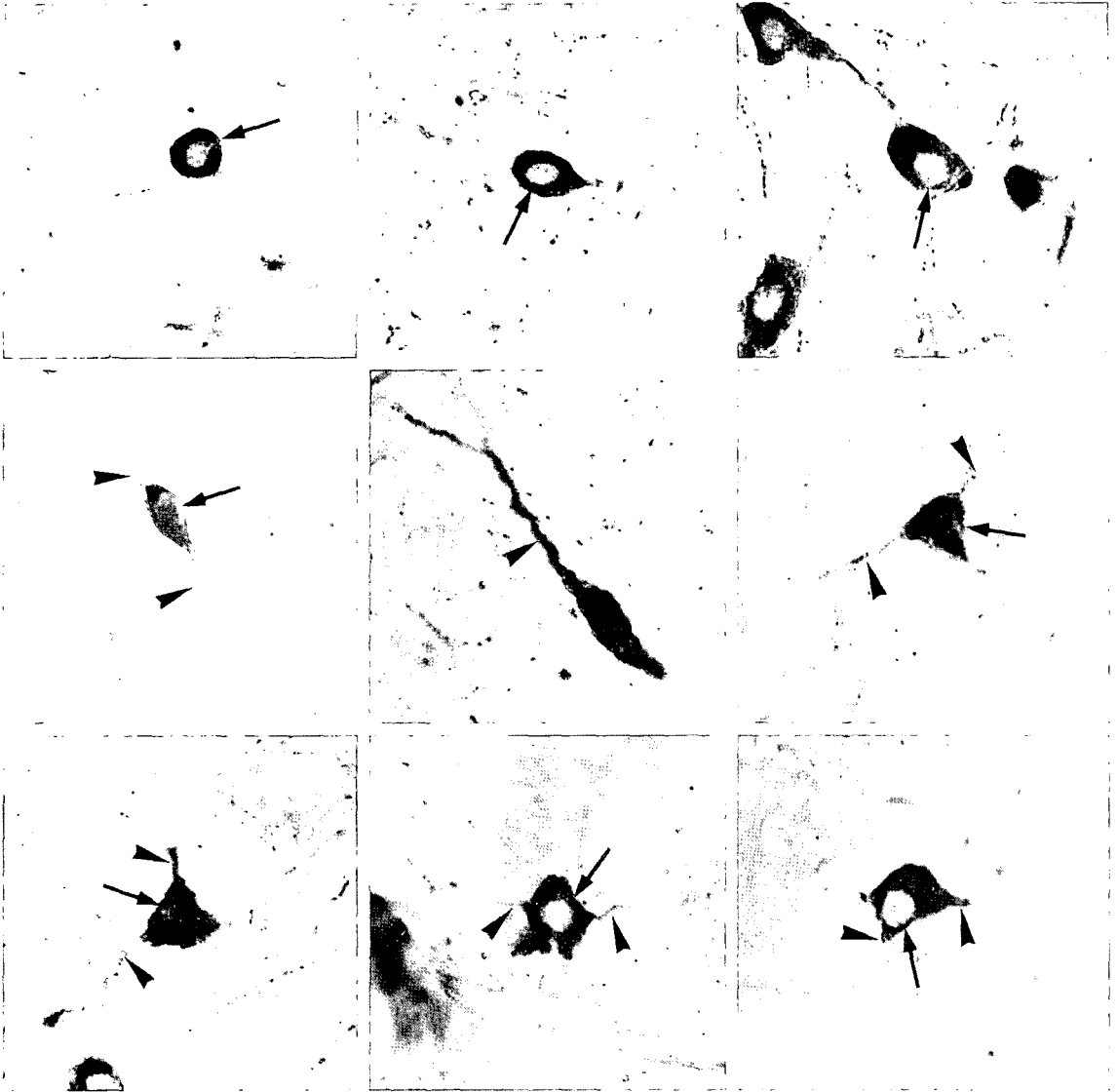


Fig. 4. The ChAT-immunoreactive nerve cells in the Meynert basal nucleus. The immunoreactive nerve cells are of various types. They have well-developed dendrites. ChAT-immunoreactive nerve cells in the Meynert basal nucleus are classified into round (A), oval (B), elongated (C), fusiform (D, E), triangular (F, G), polygonal (H, I). The non-immunoreactive nucleus (arrows) and the immunoreactive dendrites (arrowheads) are seen. $\times 450$.

집을 이루거나 혹은 단독으로 관찰되었으며, 무명질에는 시교차앞핵의 면역반응 세포와 혼재하는 것으로 관찰되었다. 면역반응이 일어난 신경세포의 수는 뇌 전정 아래쪽 1.8mm 앞 부위에서는 신경세포들의 다수가 군집을 이루며 분포하였으나, 뇌 전정 위쪽에

는 독립적으로 소수의 세포들이 산재하고 있는 것으로 관찰되었다(Fig. 2A, B, C).

2. ChAT항체에 반응하는 신경세포의 형별 출현을 ChAT항체에 반응하는 신경세포들은 장·단축의

Table 1. The frequency distributions (%) of the round, oval, elongated, fusiform, triangular and polygonal ChAT antibody reacted neurons in the Meynert Basal Nucleus of the rat during the postnatal development

Postnatal age (days)	Postnatal frequency distribution (%) of different neuronal types						Total
	Round	Oval	Elongated	Fusiform	Triangular	Polygonal	
0	0	0	0	0	0	0	0
7	26.6	42.8	26.3	2.9	1.4	0	100
14	17.6	51.1	19.2	3.2	6.9	2.0	100
21	13.6	38.1	30.6	3.7	8.8	5.2	100
28	10.4	39.3	29.7	3.9	9.8	6.9	100
35	11.8	37.7	28.5	4.6	9.3	8.1	100
adult	10.2	35.7	27.8	5.1	11.8	9.4	100

Table 2. The volumes (μm^3) of the round, oval, elongated, fusiform, triangular and polygonal ChAT antibody reacted neuronal somata in the Meynert Basal Nucleus of the rat during the postnatal development

Postnatal age (days)	Number of cells scored	Neuronal somata volumes (μm^3 , mean \pm S.E.M.) of different neuronal types						Average
		Round	Oval	Elongated	Fusiform	Triangular	Polygonal	
0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	117	1,283 \pm 114	1,123 \pm 72	1,569 \pm 132	1,437 \pm 96	722 \pm 71	0	1,268 \pm 107
14	326	5,609 \pm 329	4,988 \pm 158	3,985 \pm 307	2,171 \pm 166	3,571 \pm 291	3,389 \pm 309	4,453 \pm 189
21	617	6,315 \pm 334	5,143 \pm 157	4,232 \pm 148	2,931 \pm 380	4,940 \pm 343	4,050 \pm 264	4,640 \pm 160
28	292	5,408 \pm 316	4,288 \pm 161	3,118 \pm 177	2,179 \pm 194	2,649 \pm 147	2,763 \pm 207	3,706 \pm 157
35	282	4,371 \pm 355	3,917 \pm 137	2,760 \pm 103	1,907 \pm 129	2,803 \pm 282	2,668 \pm 306	3,297 \pm 159
adult	267	3,218 \pm 235	3,203 \pm 116	2,576 \pm 116	1,455 \pm 214	2,516 \pm 154	2,329 \pm 166	2,774 \pm 122

비에 따라 원형, 난형, 세장형, 방추형으로 구별하고 세포의 모양에 따라 삼각형, 다각형으로 분류하였다.

출생 후 발육단계에 따라 세포 유형별 최대 출현율은 각 세포 유형마다 시기적으로 다르게 관찰되었다. 원형의 신경세포는 출생 후 7일에서 26.6%로 나타났으며 성체로 되면서 10.2%로 감소하는 것으로 관찰되었다. 난형은 출생 후 14일에서 51.1%, 세장형은 출생 후 21일에서 30.6%로 나타났으며, 역시 성체로 되면서 각각 35.7%, 27.8%로 감소하는 것으로 관찰되었다. 방추형, 삼각형 그리고 다각형의 세포들은 발육초기에 다소 적은 수로 관찰되지만, 성체로 되면서 세포의 수가 증가되는 것으로 관찰되어 성체에서 방추형 5.1%, 삼각형 11.8%, 다각형 9.4%의 증가율로 관찰되었다 (Table 1).

3. ChAT항체 반응 신경세포의 세포체 부피

ChAT항체 반응 신경세포의 부피는 세포체의 형별에 따라서 출생 후 14일과 21일 사이에서 최대치로 관찰되었고 성체로 발육되면서 신경세포의 부피가

감소하는 것으로 관찰되었다 (Table 2). ChAT항체 반응 신경세포의 부피는 실험쥐의 출생 후 유생에서 성체까지 모든 발육과정에서 원형과 난형의 신경세포들이 다른 유형의 신경세포 보다 부피가 큰 것으로 관찰되었다. 그리고 출생 후 성체까지 발육과정에서 모든 유형에서 세포의 부피가 감소하는 것으로 관찰되었다 (Table 2).

면역반응 신경세포의 평균부피가 가장 큰 세포 유형은 출생 후 21일의 원형세포로 부피가 $6,315 \mu\text{m}^3$ 이었고, 제일 작은 부피의 신경세포 유형은 출생 후 7일의 삼각형으로 $722 \mu\text{m}^3$ 였다. ChAT항체 반응 신경세포들의 평균부피는 출생 후 21일에서 $4,640 \mu\text{m}^3$ 로 최대치로 관찰되었고, 그 후 발육이 진행되면서 세포들의 평균부피는 점차 감소하여 성체에서 $2,774 \mu\text{m}^3$ 로 최소치로 관찰되었다 (Table 2).

4. ChAT항체 반응 신경세포의 투과전자현미경 관찰

출생 후 28일의 ChAT항체 반응 조직에서 Meynert 기저핵 부위의 ChAT항체 반응 신경세포를 투과전자

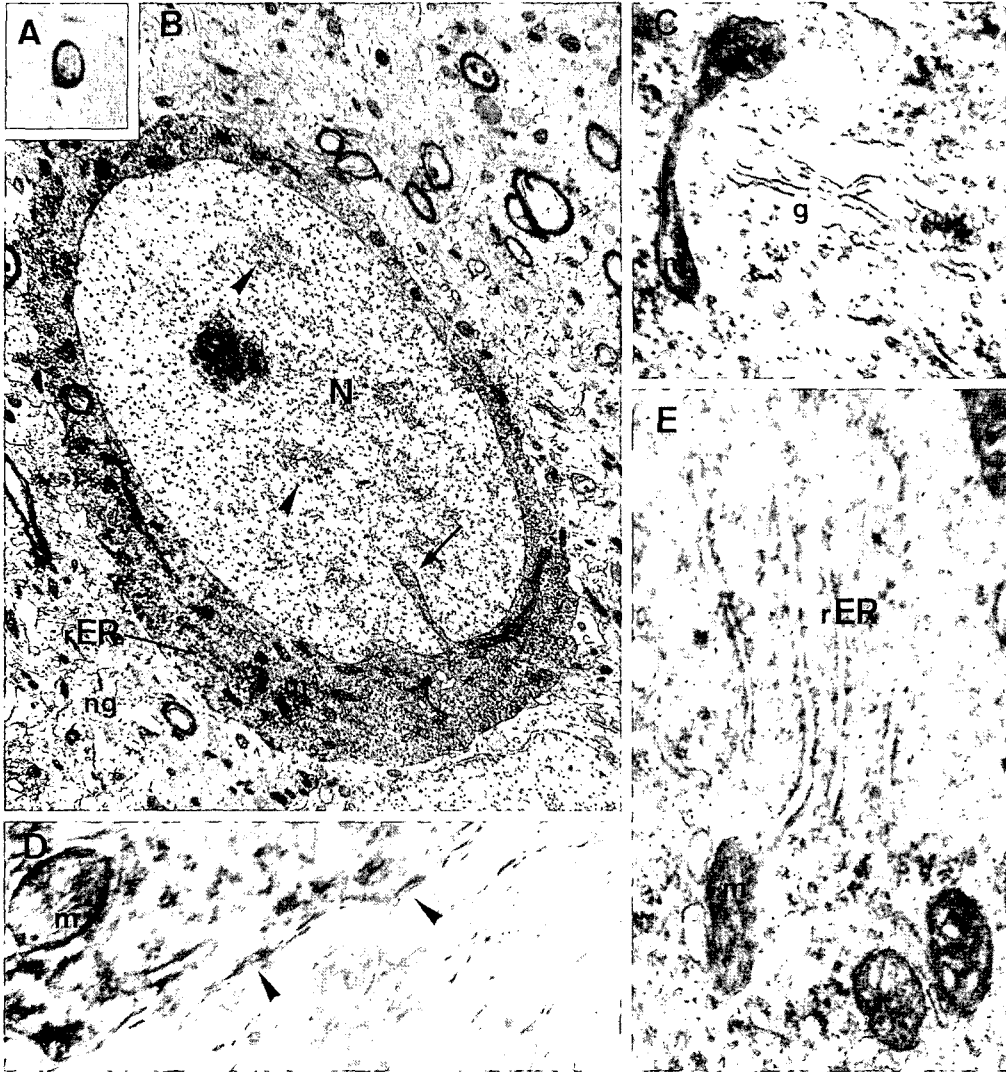


Fig. 5. Micrographs of ChAT-immunoreactive nerve cell in the Meynert basal nucleus. A, A light micrograph of oval ChAT-immunoreactive nerve cell. It shows dark immunoreactive cytoplasm and a dark nucleus. B, Electron micrograph of the same cell shown in figure A. It show a deep indentation (arrow) of the nuclear envelope and heterochromatin (arrowhead) in the large nucleus (N) with conspicuous nucleolus. C, Developed Golgi complex (g) and mitochondria (m) are seen. D, Symmetric synapses (arrowheads) and nearby mitochondria (m) are seen. E, Well differentiated rough endoplasmic reticulum (rER) and mitochondria (m) are seen.

현미경으로 관찰한 결과 핵은 타원형으로 세포 중앙 대부분을 이루고 있었으며 핵막의 핵공은 잘 발달되어 핵막의 함입이 분명하게 관찰되었다. 세포의 중앙에 분포한 핵은 핵막 주변의 이질염색질과 핵 중앙의 인을 포함하는 핵소체가 관찰되었다(Fig. 5).

핵막 주변의 세포질은 전자밀도가 낮은 부분이 핵을 둘러싸는 형태로 관찰되었으며, 세포소기관들 중에는 mitochondria가 세포질 모든 부위에서 다양한 형태로 많은 수가 분포하고 있는 것으로 관찰되었다. 조면소포체들은 군집형태를 이루는 부위와 독립적

으로 산재한 형태로 세포질에 분포하고 있는 것으로 관찰되었으며, 세포의 세포막에 가까운 부위에는 글리복합체가 다양한 구조적 특징을 나타내며 분포하고 있는 것으로 관찰되었다(Fig. 5).

고 찰

Mesulam (1990)은 영장류의 콜린성 신경원이 Meynert기저핵에서 군집을 이루며, ChAT 면역반응 신경세포는 Acetylcholinesterase (AChE)에도 면역반응을 보인다고 하였으며, Gould et al. (1991)은 Meynert기저핵의 ChAT 면역반응 신경세포들은 출생일(0일)부터 출생 후 7일에서도 확인되지만, 출생초기에 Meynert기저핵과 무명질을 구분하기 어렵고, 출생 후 1일에 AChE 면역반응 신경세포가 관찰되나, ChAT 면역반응 신경세포는 출생 후 5일에 전뇌 기저부의 미부에서 관찰된다고 보고하였는데, 본 실험에서는 ChAT항체 면역반응은 출생 후 0일에는 관찰되지 않았으며, 출생 후 7일에서 전뇌의 측내실과 가까운 부위의 무명질과 담창구에 존재하는 신경세포에서 세포질 부분에 약한 면역반응이 나타났다. 또한, ChAT 항체 반응 신경세포는 출생 후 10일에서 관찰되기 시작하여 18일에 이르러 비교적 많은 수가 관찰된다고 보고하였는데, 본 실험결과 출생 후 14일 이후를 지나면서 세포질에 비교적 강한 면역반응이 관찰되었을 뿐만 아니라, 출생 후 21일, 28일 그리고 35일에서도 성체에서와 유사한 정도의 강한 면역반응이 세포질 뿐만 아니라 축삭 및 수상돌기에서도 관찰되었다.

전뇌 기저부의 다른 핵들에서는 ChAT 면역반응 신경세포의 출현은 각기 다른데, 내측중격핵, 수직대각 Broca대의 콜린성 신경세포는 출생 후 0일에도 나타나지만(Ko et al., 1995), 신선조체의 콜린성 신경세포는 Meynert기저핵보다 늦게 출현하는 것으로 알려져 있다(Gould et al., 1991). 따라서 ChAT 면역반응 신경세포는 출생 후 7일 이전에 출현하는 것으로 생각되며, 전뇌기저부 여러 핵들의 콜린성 신경세포의 출현이 서로 다른 것은 각 핵들의 분화시기가 서로 다르기 때문으로 생각된다. 그리고 본 연구의 출

생 후 21일 이후의 발생단계와 성체의 Meynert기저핵 면역반응 신경세포의 분포는 콜린성 신경세포의 분화에 따른 구배와 관계가 깊은 것으로 생각된다.

Amstrong et al. (1983)은 흰쥐 성체 Meynert기저핵의 콜린성 신경세포는 2~4개의 수상돌기를 가지며, 문부쪽은 군집의 양상을 보이지만, 미부쪽은 독립적으로 면역반응 신경세포가 담창구에 소수 관찰된다고 하였다. Gould et al. (1989)은 출생 후 발육이 이루어지는 동안 전뇌 기저부의 콜린성 신경세포에서 수상돌기의 형태에도 많은 변화가 관찰되어지며, 점차 강해지는 면역반응성을 갖는다고 보고하였다. 본 연구에서도 출생 후 발생단계에 따른 수상돌기의 변화가 관찰되었다. 출생 후 7일에서 관찰되는 형태는 주로 단극성 또는 이극성이며, 세포체에 비하여 약한 면역반응성을 보인 반면, 출생 후 14일 이후 성체로 되면서 비교적 강한 면역반응을 보이는 수상돌기가 출현하였다. 따라서 전뇌 기저부의 콜린성 신경세포의 수상돌기의 형태에 변화가 일어나며, 점차 콜린성 신경세포의 특징을 나타내는 것으로 확인되었다.

ChAT항체에 반응하는 신경세포들은 장·단축의 비에 따라 원형, 난형, 세장형, 방추형으로 구별하고 세포의 모양에 따라 삼각형, 다각형으로 분류하였다. 출생 후 발육단계에 따라 세포 유형별 최대 출현율은 각 세포 유형마다 시기적으로 다르게 관찰되었다. 원형의 신경세포는 출생 후 7일에서 26.6%로 나타났으며 성체로 되면서 10.2%로 감소하는 것으로 관찰되었다. 난형은 출생 후 14일에서 51.1%, 세장형은 출생 후 21일에서 30.6%로 나타났으며, 역시 성체로 되면서 각각 35.7%, 27.8%로 감소하는 것으로 관찰되었다. 방추형, 삼각형 그리고 다각형의 세포들은 발육 초기에 다소 적은 수로 관찰되지만, 성체로 되면서 세포의 수가 증가되는 것으로 관찰되어 성체에서 방추형 5.1%, 삼각형 11.8%, 다각형 9.4%의 증가율로 관찰되었다.

Gould et al. (1989)은 출생 후 발생이 이루어지는 동안 세포체와 수상돌기의 많은 변화가 전뇌 기저부의 콜린성 신경세포에서 발견된다고 하였는데, 이런 결과들로 미루어 출생 후 발생이 진행됨에 따라 원형, 난형 그리고 세장형 세포가 방추형, 삼각형 그리고 다각형의 복잡한 형태로 변형된다고 생각된다.

ChAT항체 반응 신경세포의 부피는 세포체의 형벌에 따라서 출생 후 21일에서 최대치로 관찰되었고 성체로 발육되면서 신경세포의 부피가 감소하는 것으로 관찰되었다. ChAT항체 반응 신경세포의 부피는 출생 후 유생에서 성체까지 모든 발육과정에서 원형과 난형의 신경세포들이 다른 유형의 신경세포보다 부피가 큰 것으로 관찰되었고, 출생 후 성체까지 발육과정에서 모든 유형에서 세포의 부피가 감소하는 것으로 관찰되었다. 면역반응 신경세포의 평균부피가 가장 큰 신경세포 유형은 출생 후 21일의 원형세포로 부피가 $6,315 \mu\text{m}^3$ 이었고, 제일 작은 부피의 신경세포 유형은 출생 후 7일의 삼각형으로 $722 \mu\text{m}^3$ 였다. ChAT항체 반응 신경세포들의 평균부피는 출생 후 21일에서 $4,640 \mu\text{m}^3$ 로 최대치로 관찰되었고, 그 후 발육이 진행되면서 세포들의 평균부피는 점차 감소하여 성체에서 $2,774 \mu\text{m}^3$ 로 최소치로 관찰되었다.

Gould et al. (1989)은 Meynert기저핵을 포함한 전뇌 기저부 콜린성 신경세포의 세포체 크기는 출생 후 10일~14일을 거치면서 점차적으로 증가하여 18일에 최대 부피를 보이며, 출생 후 21일 이후에 점차적인 감소를 보고하였으며, Ko et al. (1995)은 수직 대각 Broca대와 내측 중격핵에서 ChAT 면역반응 신경세포에 관한 연구에서 출생 후 21일에 세포체 부피가 최대를 이룬다고 보고하였다. 본 연구에서 Meynert기저핵의 면역반응 신경세포의 형벌에 따른 부피의 최대 값은 출생 후 21일에 나타났으며, 이러한 부피 변화가 관찰되는 동시에 수상돌기가 복잡하게 분화하는 현상도 관찰되었는데, 이는 발생 중 세포체 크기의 변화가 수상돌기의 형태적 변화와 관련되어 있다는 이들의 보고와도 같은 현상이라고 생각된다.

이러한 세포체 크기와 형태의 발생 과정중 변화에 대하여 Gould et al. (1989)은 콜린성 세포의 근본적 발생양식이 세포체가 수축되기 전에 세포체 비대 시기를 거치도록 되어 있기 때문이라고 보았다. 또한, 몇몇 연구에서는 같은 신경세포계에서 세포체의 수축은 수상돌기의 변형(Herrmann & Bischof, 1988; Gould et al., 1989)이나 시냅스의 소실과 동시에 일어날 수 있다는 보고들과 본 연구의 결과들로 미루어 세포체의 수축이 수상돌기의 분화와 밀접한 관계가 있다고 생각된다.

출생 후 28일의 ChAT항체 반응 조직에서 Meynert기저핵 부위의 ChAT항체 반응 신경세포를 투과전자현미경으로 관찰한 결과 핵은 타원형으로 세포 중앙 대부분을 이루고 있었으며 핵막의 핵공은 잘 발달되어 핵막의 함입이 분명하게 관찰되었다. 세포의 중앙에 분포한 핵은 핵막 주변의 이질염색질과 핵 중앙의 인을 포함하는 핵소체가 관찰되었다.

콜린성 신경세포에서 Kiss et al. (1988)은 성체 흰쥐의 전뇌 기저부에서 ChAT 면역반응이 관찰되는 신경세포에서 반응산물의 위치는 세포체라 하였고, Batchelor et al. (1989)도 ChAT 면역반응 산물은 핵 주변 부위의 세포질 전체에 균일하게 분포한다고 하였다. 본 연구에서도 역시 ChAT 면역반응 산물은 핵막 주변의 세포질에서 핵을 둘러싸는 형태로 관찰되었으며, 세포소기관들 중에는 mitochondria가 세포질 모든 부위에서 다양한 형태로 많은 수가 분포하고 있는 것으로 관찰되었다. 조면소포체들은 균집형태를 이루는 부위와 독립적으로 산재한 형태로 세포질에 분포하고 있는 것으로 관찰되었으며, 세포의 세포막에 가까운 부위에는 골지복합체가 다양한 구조적 특징을 나타내며 분포하고 있는 것으로 확인되었다.

참 고 문 헌

- Armstrong DM, Saper CB, Levey AI, Wainer BH, Terry RD: Distribution of cholinergic neurons in the rat brain: Demonstrated by the immunocytochemical localization of cholineacetyltransferase. *J Comp Neurol* 216 : 53-68, 1983.
- Back S, Chung YW: Immunohistochemical and Ultrastructural Characterization of the Choline Acetyltransferase-immuno-reactive Nerve Cells in the Digonal Band of the Rat Basal Forebrains, *Korean J Electron Micr* 29(3) : 383-403, 1999.(Korean)
- Batchelor PE, Armstrong DM, Blaker SN Gage FH: Nerve growth factor receptor and choline acetyltransferase colocalization in neurons within the rat forebrain: Response to fimbria-fornix transection. *J Comp Neurol* 284 : 187-204, 1989.
- Chung YW, Choi YJ: Differentiation and distribution of the choline acetyltransferase-immunoreactive nerve cells in

- the magnocellular preoptic nucleus of the rat forebrains during postnatal development. *Korean J Biol Sci* 1 : 483-489, 1997.
- Dinopoulos A, Parvavelas JG, Ekenstein F: Morphological characterization of cholinergic neurons in the diagonal band of Broca in the basal forebrain of the rat. *J Neurocytol* 15 : 619-628, 1986.
- Gould E, Farris TW, Butcher LL: Basal forebrain neurons undergo somatal and dendritic remodeling during postnatal development: A single section Golgi and Choline acetyltransferase analysis. *Dev Brain Res* 46 : 297-302, 1989.
- Gould E, Woolf NJ, Butcher LL: Postnatal development of cholinergic neurons in rat: I. Forebrain. *Brain Res Bull* 27 : 767-789, 1991.
- Herrmann K, Bischof HJ: The development of neurons in the ectostriatum of normal and monocularly deprived zebra finches: a quantitative Golgi study. *J Comp Neurol* 277 : 141-154, 1988.
- Kiss J, McGovern J, Patel AJ: Immunohistochemical localization of cells containing nerve growth factor receptors in the different regions of the adult rat forebrain. *Neurosci* 27 : 731-748, 1988.
- Ko CY, Chung YW, Hong YH: Immunohistochemical study of the cholinergic nerve cells in the medial septal nucleus and diagonal band of Broca of the postnatal and adult rats. *Korean J Zool* 38 : 248-268, 1995. (Korean)
- Mesulam M-M: Human brain, cholinergic pathways. *Progress in Brain Res* 84 : 231-241, 1990.
- Palacios G: The endomembrane system of cholinergic and non-cholinergic neurons in the medial septal nucleus and vertical limb of the diagonal band of Broca: A cytochemical and immunocytochemical study. *J Histochem Cytochem* 38 : 563-571, 1990.

< 국문초록 >

흰쥐 전뇌 기저부에서 콜린성 신경세포는 내측중격

핵, 수직 및 수평 대각 Broca대, 거대세포 시교차앞핵, 복부담창구, Meynert기저핵 그리고 신선조체 등에 분포하는 것으로 알려져 있다. 저자 등은 흰쥐 전뇌 기저부 Meynert기저핵에서 ChAT항체를 이용한 면역조직 및 세포화학적 방법으로 신경세포들의 발생, 분포, 형태, 형질 출현율 및 세포체의 부피, 조직학적 특성 등을 확인하였다. 또한 전자현미경을 이용하여 ChAT항체에 면역반응을 하는 신경세포의 미세구조적 특징을 관찰하여 출생 후 발생단계에 따른 Meynert기저핵에서 ChAT항체 면역반응 신경세포들의 분화를 관찰하고 다음과 같은 결과를 얻었다.

ChAT항체에 반응하는 신경세포의 분포는 조직마다 부분적으로 상이하지만, 대부분 담창구가 내포와 접하는 부위, 또는 담창구와 무명질의 연결지역에 군집을 이루거나 혹은 단독으로 관찰되었으며, 무명질에는 시교차앞핵의 면역반응 세포와 혼재하는 것으로 확인되었다.

ChAT 면역반응 신경세포들은 세포의 모양과 세포체의 장·단축의 비에 따라 6가지형으로 분류되었다. 원형의 신경세포 출현율은 출생 후 7일에서 가장 높았고, 성체로 되면서 점차적으로 감소하였으며, 난형 신경세포는 출생 후 14일에 가장 높게 나타났고, 원형의 신경세포와 같이 성체로 되면서 점차 감소하였다. 또한, 세장형 신경세포의 출현율은 출생 후 21일에 가장 높게 나타났다. 삼각형, 방추형 그리고 다각형 신경세포는 성체에서 출현율이 높았다.

ChAT 면역반응 신경세포체의 부피는 출생 후 7일에 $1,268 \mu\text{m}^3$ 로 제일 작았으나, 출생 후 21일에서는 $4,453 \mu\text{m}^3$ 로 최대치를 보였다. 그 후 성체로 되면서 점차 감소되었다. 전자현미경 관찰에서 성체의 ChAT항체 반응 신경세포의 핵외막, rER의 막, 자유리보솜 그리고 polysome 등이 관찰되었으며, 대칭 및 비대칭 신경연접이 관찰되었다.

이상의 결과들로 미루어 흰쥐 전뇌 기저부 Meynert기저핵에서의 ChAT 면역반응 신경세포들은 출생 후 발생과정에서 세포소기관과 신경돌기들의 분화에 따른 세포체 부피의 증가, 분화된 세포형들의 출현율의 증가 및 세포의 손실이 없는 상태에서 세포 응축 등의 과정을 통하여 세포들이 분화한다고 생각된다.