한국전자현미경학회지 제 34 권 제 4 호 2004
Korean J. Electron Microscopy 34(4), 285~294(2004)

생쥐 망막에서 콜린성 무축삭세포의 분포 양상 및 연접회로에 대한 연구

강 화 선, 천 명 훈[1]
가톨릭대학교 의과대학 세포의학 · 생물학과, [1]해부학교실

Morphology and Synaptic Connectivity of Cholinergic Amacrine Cells in the Mouse Retina

Wha-Sun Kang and Myung-Hoon Chun[1]
Catholic University of Korea, College of Medicine, Department of Natural Science, [1]Department of Anatomy
(Received December 3, 2004; Accepted December 22, 2004)

ABSTRACT

We investigated the morphology, distribution and synaptic connectivity of cholinergic neurons in the mouse retina by immunocytochemistry, using antisera against choline acetyltransferase (ChAT).

ChAT immunoreactive amacrine cells fall into two groups according to the localization of their somas in the retina: one is situated in the inner nuclear layer (INL), near the border of the inner plexiform layer (IPL), and the other is displaced in the ganglion cell layer (GCL). The dendrites of amacrine cells from the INL ramify in sublamina a and that of the displaced amacrine cells ramify in sublamina b of the IPL. Double labeling with an antisera against ChAT and r aminobutyric acid (GABA) demonstrated that these labeled cells formed a subpopulation of GABAergic amacrine cells.

The synaptic connectivity of ChAT immunoreactive amacrine cells was identified in the IPL by electron microscopy. The most frequent synaptic input of ChAT labeled amacrine cells was from bipolar cells in both sublaminae a and b of the IPL, followed by labeled amacrine cells and unlabeled amacrine cells. Their primary output targets were onto ganglion cells in both sublaminae a and b and output onto ganglion cells was more frequently observed in sublamina b of the IPL.

Our results suggest that cholinergic amacrine cells in the mouse retina are very similar to their counter parts in other mammals, and they can attribute a major role in the pathway feeding into directionally selective ganglion cells.

Key words : Choline acetyltransferase, Immunocytochemistry, Mouse, Retina, Synaptic connectivity

* Correspondence should be addressed to Dr. Wha-Sun Kang, Department of Natural Science, College of Medicine, Catholic University of Korea, 505 Banpo-dong, Seocho-Gu, Seoul, 137-701, Korea. Ph.: (02) 590-1274, E-mail: wskang@catholic.ac.kr

서 론

척추동물 망막에서 무축삭세포(amacrine cells)는 두극세포(bipolar cells)에서 신경절세포(ganglion cells)로 시각정보가 전달되는 과정을 조정하는 사이신경세포(interneuron)이다. 무축삭세포는 두극세포로부터 흥분성 수입연접을 그리고 다른 종류의 무축삭세포로부터는 억제성 수입연접을 받으며(Wu & Maple, 1988), 두극세포에는 되먹이 연접을 그리고 신경절세포에는 진행성 연접을 이루는 것으로 알려져 있다(Zhang et al., 1997; Marc & Liu, 2000). 이러한 무축삭세포는 세포의 형태와 속얼기층(inner plexiform layer)에서 가지돌기의 층판 양상이 서로 다른 30여종으로 구분된다(MacNeil & Masland, 1998).

Acetylcholine (Ach)은 대부분의 척추동물 망막에서 신경전달물질로 작용하며, 흥분성 신경전달물질로 알려져 있다(Masland & Tauchi, 1985; Vaney, 1991). 포유류와 어류 그리고 몇 종류의 양서류에서 무축삭세포가 acetylcholine을 함유하고 있음이 acetylcholine의 합성 효소인 choline acetyltransferase (ChAT)에 대한 항체를 이용한 면역세포화학법으로 밝혀졌다. 이러한 콜린성 무축삭세포는 망막에서 세포체의 위치와 이들 돌기의 층판 양상에 따라 두 종류로 구분된다. 즉 속핵층(inner nuclear layer)에 세포체가 위치하고 세포돌기는 속얼기층의 a 아층판(sublamina)에 위치하는 세포와, 세포체가 신경절세포층(ganglion cell layer)에 위치하면서 이의 세포돌기는 속얼기층의 b 아층판에 위치하는 세포이다(Famiglietti & Tumosa, 1987; Guiloff & Kolb, 1992; Zhang & Wu, 2001).

콜린성 무축삭세포는 신경절세포의 방향선택성(directional selectivity)에 관여하는 것으로 보고된 바 있다(Masland & Tauchi, 1985). 그러나 망막에서 방향선택성 기전의 연구 결과는 대부분 전기 생리학적 및 약리학적 연구 결과로 이를 뒷받침할 수 있는 형태학적 결과는 매우 부족하다. 특히 실험동물로 널리 인정되고 있는 생쥐에서 콜린성 무축삭세포에 대한 형태학적 보고가 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 생쥐를 실험동물로 택하여 콜린성 무축삭세포를 동정하고, 이들 세포의 형태학적 특징 및 분포양상과 다른 신경전달물질과의 공존 양상 그리고 전자현미경 수준에서 이들 세포의 연접 회로를 밝히고자 한다.

재료 및 방법

4주령 생쥐(C52BL)를 실험동물로 사용하였다. 생쥐를 4% chloral hydrate (1 mL/100 g)로 마취한 후 안구를 적출하였다. 적출한 안구를 4% paraformaldehyde-0.2% picric acid (0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)에 2시간동안 고정하고 조심스럽게 망막 조직을 취하였다. 고정된 망막조직을 4°C에서 30% sucrose 용액에 24시간 처리한 후 liquid nitrogen으로 급속 냉동하고 다시 녹여서 0.01 M phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 세척한 후, 4% agar에 포매하였다. 면역염색을 시행하기 위하여 전체 봉함 표본과 40 μm 두께의 수직 절편을 작성하였다.

면역염색은 avidin-biotin-peroxidase complex 방법을 시행하였다. 먼저 조직내 비특이 면역 반응을 제거하기 위하여 10% normal donkey serum을 적용하였으며 1차 항체로는 anti-ChAT (Chemicon)를 1 : 200으로 희석하여 사용하였다. 비특정 면역반응을 제거한 조직 절편에 1차 항체를 적용하여 4°C의 온도에서 하룻밤동안 처리시킨 다음, 0.01 M PBS로 3회 세척하였다. 세척된 절편에 2차 항체인 biotin 표지 donkey anti-rabbit을 실온에서 2시간동안 처리한 다음 PBS로 3회 세척하였으며 이어서 3차 시약으로 avidin-biotin-peroxidase complex를 실온에서 1시간동안 처리하였다. 항체 처리에 의한 면역반응 정도를 0.05% 3, 3′-diaminobenzidine-0.01% H_2O_2 혼합액으로 정색하였다.

이중 면역염색을 위하여 수직 절편에 anti-ChAT 항체와 1 : 2000으로 희석된 γ-aminobutyric acid (GABA) (Sigma, Saint Louis, MO) 항체를 항체의 host를 달리하여 혼합한 것을 1차 항체로 사용하였고, 2차 항체로는 rhodamine-conjugated donkey anti-rabbit IgG와 fluorescein (FITC)-conjugated donkey-anti-mouse IgG 혼합액을 사용하였다. 염색된 표본은 confocal laser scanning microscope으로 관찰하였다.

전자현미경을 이용한 관찰을 위하여 망막 중심부위에서 일정 크기의 망막을 취한 후 4% paraformalde-

hyde-0.2% picric acid에 2시간 고정하였다. 고정된 망막 조직을 0.01 M phosphate buffer (pH 7.4)로 세척하고, 24시간동안 30% sucrose 액에 처리 후 액체질소로 급속 냉동하고 녹여서 40 μm 두께의 수직 절편을 작성하여 위와 동일한 방법으로 면역염색을 시행하였다. 면역염색된 망막 조직을 1% glutaraldehyde (0.1 M phosphate buffer)액과 1% osmium tetroxide (0.1 M phosphate buffer)액에 각 1시간동안 후 고정하였다. 세척과 고농도 경사로의 알코올 탈수과정을 거친 조직을 epon에 포매하고 Reichert-Jung ultramicrotome을 이용하여 초박 절편 (70~90 nm 두께)을 작성한 후 전자현미경 (JEOL 1200EX, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

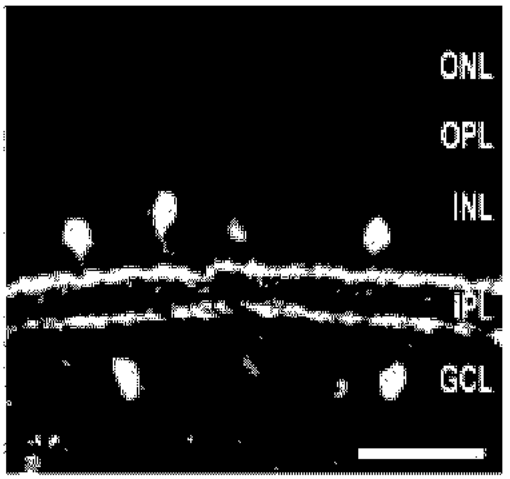

Fig. 1. Photomicrograph showing vertical vibratome section processed for ChAT immunocytochemistry in the mouse retina. Primary dendrites originate from somata located in the inner nuclear layer (INL) and ganglion cell layer stratify in sublamina a and b of the inner plexiform layer (IPL), forming a prominent band. Scale bar = 50 μm.

결 과

1. 광학현미경 관찰

생쥐 망막의 수직 절편 (vertical vibratome section)과 전체 봉함 표본에서 ChAT에 대한 면역염색을 실시하였다. 수직 절편에서 면역염색 결과 ChAT에 대한 염색성을 보이는 세포의 세포체가 속핵층과 신경절세포층에서 관찰되었으며, 속얼기층에서는 면역염색성을

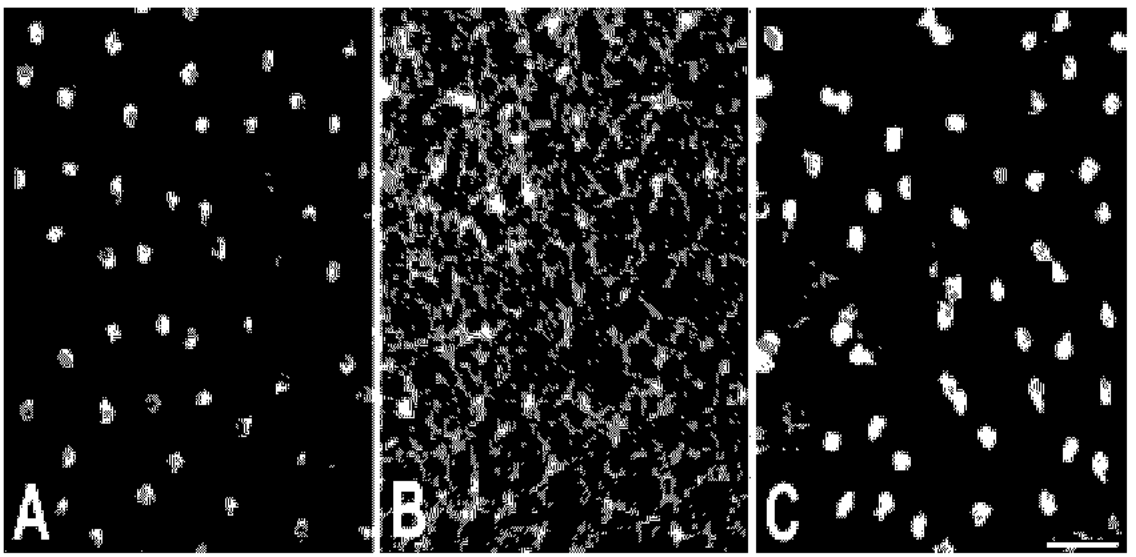

Fig. 2. Photomicrographs taken at different focal planes in the same field of wholemount of mouse retina. A: The focal plane is at the INL close to the IPL. Mosaics of ChAT-immunoreactive cells are seen. B: The focal plane is at the IPL showing ChAT-immunoreactive process. C: Mosaics of ChAT-immunoreactive cells are seen in the GCL. Scale bar = 50 μm.

보이는 세포의 돌기들의 분포가 두 개의 좁고 뚜렷한 줄로 구분되어 관찰되었다. 두 줄의 면역염색의 정도는 유사하였다(Fig. 1).

전체 봉합 표본의 면역염색 결과를 confocal laser scanning microscope으로 관찰하였다(Fig. 2). Fig. 2A는 전체 봉합 표본의 속얼기층에 가까운 속핵층에 초점을 맞춘 것으로 ChAT에 면역염색성을 보이는 세포체가 균일하게 분포하였다. 신경절세포층에 초점을 맞춘 경우 ChAT에 면역염색성을 보이는 또 다른 세포군의 세포체가 균일하게 분포하였다(Fig. 2C). 속얼기층에서는 콜린성 무축삭세포들의 돌기들이 서로 겹쳐 비교적 조밀한 형태의 망상구조를 나타내었다(Fig. 2B).

생쥐 망막의 콜린성 무축삭세포가 GABAergic에 속하는지 확인하기 위하여 ChAT와 GABA의 이중 면역을 시도하였다. GABA에 대한 면역염색에서 염색성을 띠는 세포체를 속핵층과 신경절세포층에서 볼 수 있었으며, 서로 겹치고 얽힌 형태의 세포돌기들이 속얼기층을 채우고 있는 것으로 관찰되었다(Fig. 3B). ChAT와 GABA에 대한 이중 면역염색 결과 속핵층에 위치하는 것은 물론 신경절세포층에 위치하는 ChAT에 대한 면역염색성을 보이는 모든 무축삭세포가 GABA에도 면역염색된 것이 관찰되어(Fig. 3C), 생쥐 망막의 콜린성 무축삭세포는 GABAergic 아군임을 알 수 있었다.

2. 전자현미경 관찰

전자현미경 관찰에서 ChAT에 대한 면역 반응성은 전자밀도가 높은 반응 산물로 쉽게 확인되었다. 면역

Table 1. Kinds of synapses made by ChAT-immunoreactive neurons in the inner plexiform layer of the mouse retina

	Sublamina a	Sublamina b	Total (%)
Input from			
Amacrine cells	5	2	7 (3.8)
Bipolar cells	91	85	176 (96.2)
Subtotal	96	87	183 (100.0)
Output onto			
Ganglion cells	43	74	117 (49.2)
Amacrine cells	40	38	78 (32.8)
Bipolar cells	4	7	11 (4.6)
Unidentified cells	21	11	32 (13.4)
Subtotal	108	130	238 (100.0)
Labeled to Labeled	20	13	33
Total	224	230	454

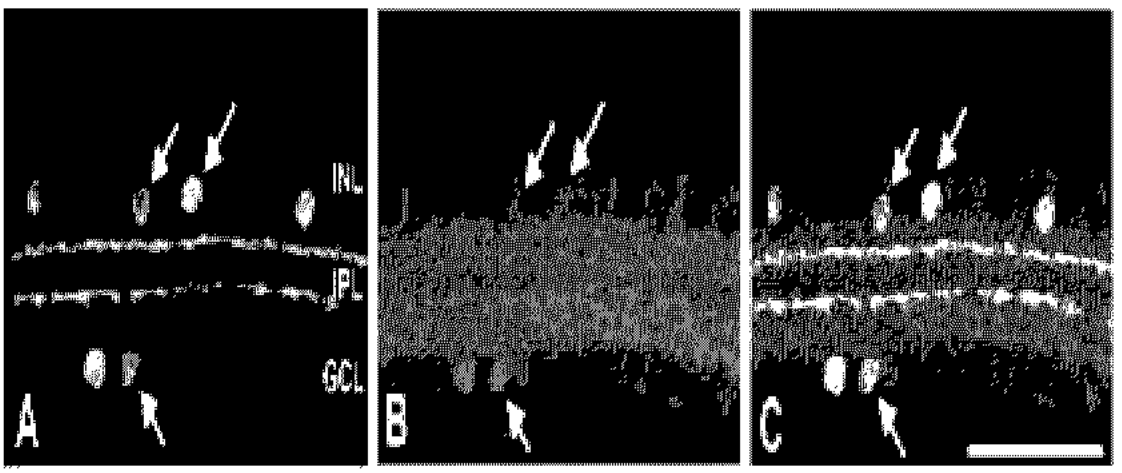

Fig. 3. Confocal micrographs taken from 50 μm thick vertical vibratome sections processed for ChAT (A) and GABA (B) immunoreactivities. ChAT immunoreactivity was visualized using a FITC-conjugated secondary antibody. GABA immunoreactivity was visualized using a Cy3-conjugated secondary antibody. A: Labeled cell bodies (green, arrows) are seen. B: GABA immunoreactive cell bodies (red, arrows) are visible. C: Double exposure of A and B. Colocalization (yellow) of ChAT and GABA within the same cell (arrows) is clearly noted. Scale bar = 30 μm.

반응 산물은 세포질 전반에 걸쳐 고르게 분포하였으며, 미토콘드리아의 막, 핵막, 부정형의 세포질 기질 그리고 연접소낭(synaptic vesicles)과 근접하여 위치하였다.

속얼기층에 위치하는 돌기들과 연접구조들은 다음과 같은 기준으로 구분하였다(Kolb, 1979; McGuire et al., 1984, 1986). 리본연접(synaptic ribbons)을 가지는 종말(terminals)은 두극세포로, 연접소낭을 가지고 통상수출연접(conventional chemical output)하는 돌기들은 무축삭세포의 돌기로 그리고 연접소낭 대신에 미세섬유(microtubules)를 가지는 돌기는 신경절세포의 가지돌기로 간주하였다.

ChAT에 염색된 돌기들에 의해 형성된 연접을 속얼기층에서 관찰할 수 있었다(Table 1). 이 돌기들은 높은 전자밀도를 보이는 반응산물로 둘러싸인 연접소낭들로 채워져 있었으며 리본연접을 가지지 않았으므로 무축삭세포의 돌기로 구분되었다. 총 454개의 연접 구조를 관찰하였는데 이중 183개가 연접이전돌기이고 238개는 연접이후돌기이며, 33개의 콜린성 무축삭세포 간의 연접도 볼 수 있었다(Fig. 5D).

가장 많은 수의 두극세포가 콜린성 무축삭세포로 신경자극을 전도하는 것으로 관찰되었다(96.2%). 이

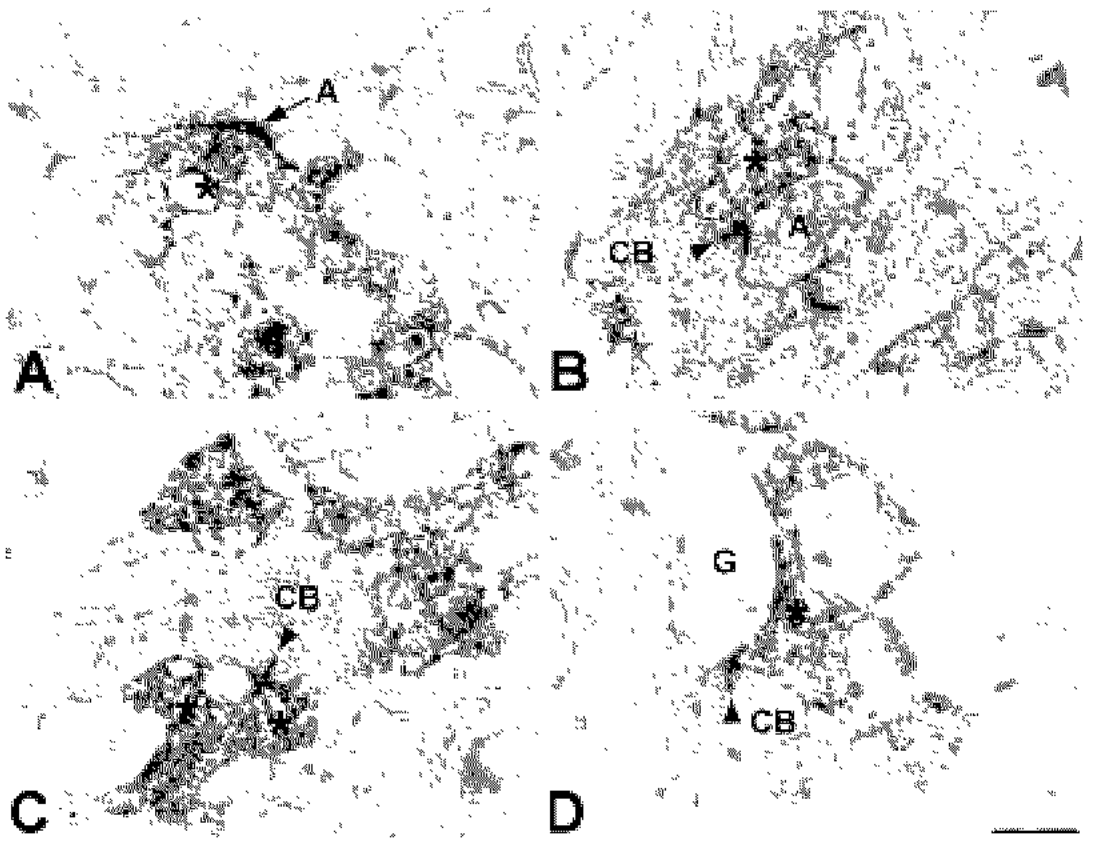

Fig. 4. Electron micrographs showing input synapses of ChAT labeled amacrine cells through the IPL (inner plexiform layer) of mouse retina. A: A cell process (star) receives synaptic input (arrow) from an unlabeled amacrine cell processes (A) in sublamina b of the IPL. B: A labeled amacrine cell process (star) forms a postsynaptic dyad with unlabeled amacrine cell process (A) at the ribbon synapse (arrowhead) of a cone bipolar axon terminals (CB) in sublamina a of the IPL. C: Two labeled amacrine cell processes (stars) form a postsynaptic dyad at the ribbon synapse (arrowhead) of a cone bipolar axon terminals (CB) in sublamina b of the IPL. D: A labeled amacrine cell process (star) forms a postsynaptic dyad with ganglion cell process (G) at the ribbon synapse (arrowhead) of a cone bipolar axon terminal (CB) in sublamina b of the IPL. Scale bar = 0.5 μm

와 같은 콜린성 무축삭세포와 두극세포간의 연접은 속얼기층 a와 b 아층판에 비교적 비슷한 비율로 위치하였다. Fig. 4의 B, C 그리고 D 에서 속얼기층 아층판 b의 두극세포로부터 수입연접을 받는 콜린성 무축삭세포를 볼 수 있다. 대부분의 두극세포의 축삭 종말에 리본연접과 닿아 있는 두 개의 연접이후돌기가 관찰되는데, Fig. 4B에서는 콜린성 무축삭세포와 염색되지 않은 무축삭세포를, Fig. 4C의 경우 두 개의 콜린성 무축삭세포를 그리고 Fig. 4D에서는 신경절세포와 콜린성 무축삭세포가 위치하는 것을 볼 수 있었다.

콜린성 무축삭세포로 신경자극을 전도하는 염색되지 않은 무축삭세포는 드물게 관찰되었는데, 전체 연접 중 3.8% (n =7)를 차지하였으며 (Fig. 4A) 아층판 a에서 더 많이 관찰되었다.

본 연구에서 관찰한 454개의 연접 중 238개의 콜린성 무축삭세포가 신경절세포, 염색되지 않은 무축삭세포 그리고 두극세포와 통상수출연접을 형성하였다. 대부분의 연접은 아층판 a와 b에 비교적 균일하게 분포하였으나, 신경절세포와의 연접은 아층판 b에서 더 많이 볼 수 있었다. 콜린성 무축삭세포가 수출연접하고

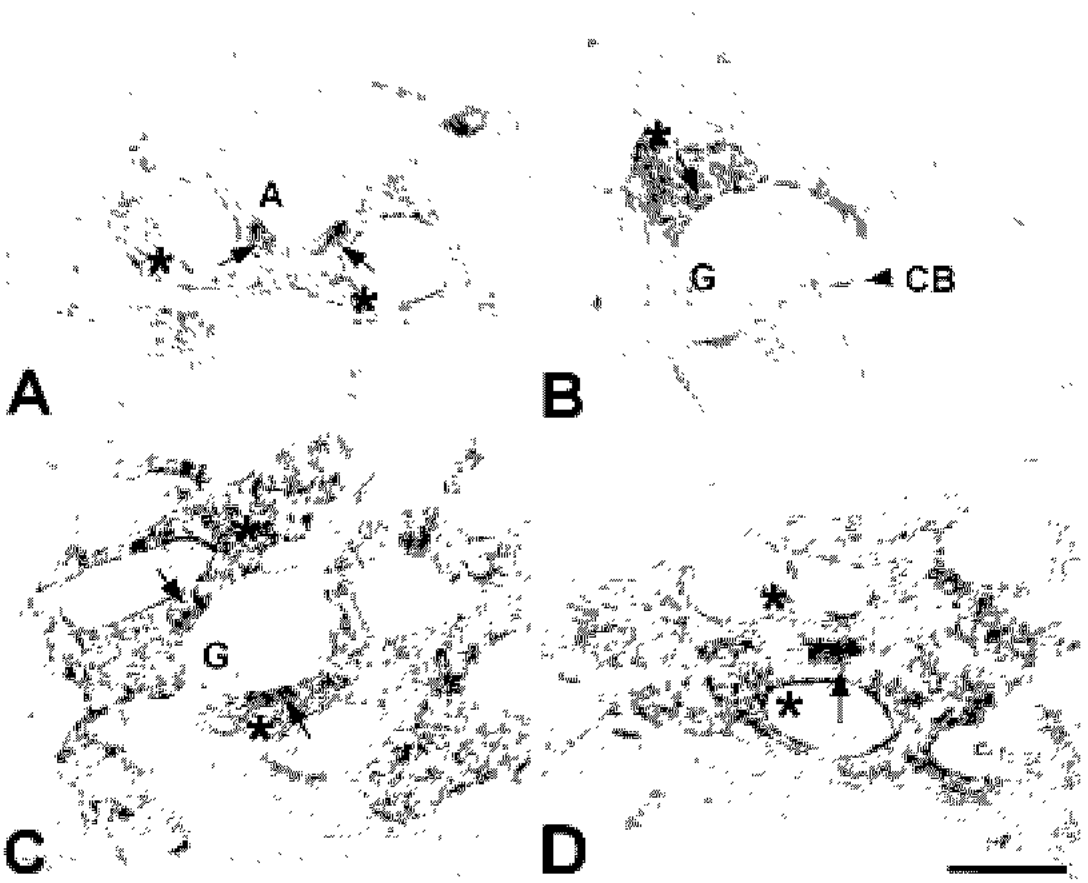

Fig. 5. Electron micrographs showing output synapses of ChAT labeled amacrine cells. A: Two labeled amacrine cells (stars) make output synapses (arrows) onto an unlabeled amacrine cell process (A) in sublamina a of the IPL. B: A labeled amacrine cell process (star) makes an ouput synapse (arrow) onto ganglion cell process (G), which is postsynaptic to the ribbon synapse (arrowhead) of a cone bipolar axon terminals (CB) in sublamina b of the IPL. C: Two labeled amacrine cell processes (stars) make output synapses (arrows) onto a ganglion cell process (G) in sublamina b of the IPL. D: A labeled amacrine cell process (star) makes an output synapse (arrow) onto a labeled amacrine cell process (star) in sublamina a of the IPL. Scale bar = 0.5 μm

있는 세포들기 중에서 신경절세포와의 연접이 가장 많이 관찰되었으며(49.2%), 염색되지 않은 무축삭세포(32.8%), 그리고 두극세포(4.6%) 순이었다. Fig. 5B에서 b 아층판의 콜린성 무축삭세포가 신경절세포와 연접을 이루고 있으며, 이 신경절세포는 원추형 두극세포 축삭 종말의 리본연접과 연접이후(postsynaptic) 연접을 이루고 있다. Fig. 5C에서는 두 개의 콜린성 무축삭세포가 염색되지 않은 신경절세포로 수출연접하고 있는 것을 볼 수 있다.

콜린성 무축삭세포의 수출연접 중 78개가 염색되지 않은 무축삭세포와 연접을 이루고 있었다. Fig. 5A에서 두 개의 콜린성 무축삭세포로부터 염색되지 않은 무축삭세포로 수출연접하고 있는 것을 볼 수 있다. 원추형 두극세포로의 수출연접은 연접이후 두동이(postsynaptic dyad)의 존재와 연접이 속얼기층에 위치하는 것으로 구분이 가능한데(Euler & Wassle, 1995), a와 b 아층판 모두에서 볼 수 있었으나 드물게 관찰되었다. 또한 13.4%의 수출연접이 작은 돌기와 연접하고 있었는데, 크기가 작아 세포의 종류를 확인하기가 어려워 미확인으로 분류하였다.

고 찰

본 연구에서 생쥐 망막의 콜린성 무축삭세포의 형태, 분포양상 그리고 연접회로를 면역세포화학법을 이용하여 관찰하였다. ChAT에 대한 면역염색 결과 콜린성 무축삭세포는 두 종류의 세포 집단으로 구성된다는 것을 확인하였다. 즉 한 종류의 콜린성 무축삭세포는 속핵층에 세포체가 위치하고 세포돌기는 속얼기층의 a 아층판에 위치하며, 또 다른 종류의 세포는 세포체가 신경절세포층에 위치하면서 세포돌기는 b 아층판에 위치한다. 이와 같은 콜린성 무축삭세포의 분포양상은 지금까지 알려진 다른 종류의 포유류의 것과 일치하는 것으로 포유류에서의 콜린성 무축삭세포들과 동일한 특성을 보여주었다(rabbit: Famiglietti, 1983; cat: Schmidt et al., 1985; shrew: Conley et al., 1986; Pourcho & Osman, 1986; rat: Voigt, 1986; Brandon, 1987; Famiglietti & Tumosa, 1987; primate: Mariani & Hersh, 1988; Mitrofanis & Stone, 1988; Rodieck & Marshak, 1992; tree Sandmann et al., 1997; Kim et al., 1998). 이와 같은 콜린성 무축삭세포의 분포양상은 양서류와 파충류에서도 보고된 바 있어(Guiloff & Kolb, 1992; Zhang & Wu, 2001), 콜린성 무축삭세포를 통한 시각정보 전달 과정이 척추동물 여러 종(species)간에 보존됨을 시사한다.

생쥐 망막에서 콜린성 무축삭세포를 GABAergic 무축삭세포 표지 물질로 이중 면역을 시도하여 동정하였다. 모든 콜린성 무축삭세포가 GABA에 대한 면역염색성을 나타내었으며, 이로써 콜린성 무축삭세포가 GABAergic 무축삭세포의 아군임을 알 수 있다. 이와 같은 결과는 다른 포유류에서 보고 된 결과와도 일치하는 것이다(Brecha et al., 1988; Freed, 1992). r-aminobutyric acid (GABA)는 무축삭세포의 주요 억제성 신경전달물질로 알려져 있다. GABA는 $GABA_A$ 수용체에 의해 매개되는 방향선택성 기전에 중요 요소로서, 포함하는 신경활성물질에 따라 여러 아군으로 분류되며 콜린성 무축삭세포도 GABAergic 무축삭세포의 아군으로 보고 되어 있다(Brecha et al., 1988; Freed, 1992). 성체의 망막에서 GABA는 측면 저해(Gryzwacz et al., 1997), 반응 지연(Werblin et al., 1988) 그리고 방향선택성(Burgi & Gryzwacz, 1997; Gryzwacz et al., 1997) 등의 기능 수행에서 중요한 전달 물질로 기능한다고 보고되어 있으나, 콜린성 무축삭세포의 GABA의 기능은 아직 확실하지 않다. 다만 몇 연구에서 GABA가 아세틸콜린의 방출에 영향을 줄 것이라고 제안된 바 있다(Ariel & Adolph, 1985; Neal et al., 1992; Zucker et al., 1998). 본 연구에서 콜린성 무축삭세포가 통상연접을 형성하는 것을 관찰하였으므로, GABA가 실제로 이 부분에서 조절 전달물질로 방출되며 연접이후 세포에 전형적인 억제성 효과를 줄 수 있을 것이라고 생각한다.

전자현미경 관찰을 통해 콜린성 무축삭세포의 미세구조와 속얼기층에서 콜린성 무축삭세포들에 의해 형성된 연접구조를 확인하였다. 콜린성 무축삭세포는 대부분의 수입연접을 두극세포와 형성하였으며, 일부 무축삭세포와의 연접도 볼 수 있었다. 이러한 관찰 결과로 비록 두극세포가 신경전달물질이나 신경조절물질로 사용되는 물질들이 확인되지는 않았으나, 콜린성 무축삭세포는 주로 원뿔두극세포에 의해 조절되고 있

다는 것을 알 수 있었다(Euler & Wassle, 1995). 두극세포로부터의 수입연접은 a와 b 아층판 모두에서 비교적 비슷한 수로 관찰되었는데(Table 1), 이는 콜린성 무축삭세포들이 ON과 OFF 원뿔두극세포로부터 신경자극을 전도 받는다는 것을 의미한다.

본 연구에서 콜린성 무축삭세포의 수출연접 대상은 대부분 신경절세포와 무축삭세포들인 것으로 관찰되었다. 이 연접구조들은 a와 b 아층판 모두에서 관찰가능하였으며, 신경절세포의 경우 b 아층판에서 더 많이 볼 수 있었다. 일반적으로 a 아층판에 분지하는 신경세포는 OFF형이고, b 아층판에 분지하는 신경세포는 ON형이며, a와 b 경계에 분지하는 신경세포는 ON-OFF 형으로 구분된다. 하지만 'OFF' beta 신경절세포의 경우 세포체와 첨부의(apical) 가지돌기가 b 아층판에서 수입연접을 형성한다. 그러므로 이 결과로는 어떠한 종류의 신경절세포가 콜린성 무축삭세포에 대해 연접이후 연접을 형성하는지 알 수 없다.

포유류를 비롯한 척추동물의 망막에서 특정 방향의 움직임에 대해서 반응을 나타내는 방향선택성 신경절세포(directional-selective ganglion cell)가 존재하고, 빛 자극이 주어질 때와 사라질 때 반응을 나타내는 ON-OFF 형태와 빛 자극이 주어질 때만 반응을 보이는 ON 형태의 세포가 있음이 알려져 있다(Vaney, 1991; Amthor & Gryzwacz, 1993). 이와 같은 방향선택성을 일으키는 세포로 세포체가 망막에 걸쳐 균일하게 분포하고 세포돌기가 방사상으로 균일하게 뻗으면서, 동시에 비대칭적인 분포 양상을 보이는 콜린성 무축삭세포가 이러한 방향성을 부여하는 일차적인 세포로 보고된 바 있다(Masland & Tauchi, 1985; Famiglietti, 1991; Vaney, 1991; Amthor & Gryzwacz, 1993). 본 연구에서 생쥐에서도 다른 종류의 포유류에서와 형태적으로 그리고 분포 면에서 동일한 특징을 보이는 콜린성 무축삭세포의 존재가 확인되었다. 또한 전자현미경으로 콜린성 무축삭세포들이 주로 두극세포로부터 신경자극을 전달받고, ON과 OFF 신경절세포와 다른 종류의 무축삭세포들과 수출연접을 형성하는 것을 관찰하여 이 연접회로에서 콜린성 무축삭세포의 방향선택성을 제안할 수 있다. 그러나 현재 토끼에서 콜린성 무축삭세포의 방향선택성에서의 기능에 대해 의문이 제기되어 있는 상태로(Gryzwacz et al., 1997; He & Masland, 1997) 방향선택성에서 콜린성 무축삭세포의 확실한 기능을 확인하기 위해서는 콜린성 무축삭세포의 연접전과 연접후 세포들의 세밀한 확인 및 이 연접회로의 세포들이 사용하는 신경전달물질이나 신경조절물질이 밝혀져야할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

Amthor FR, Grzywacz NM: Directional selectivity in vertebrate retinal ganglion cells. Rev Oculomot Res 5 : 79 100, 1993.

Ariel M, Adolph AR: Neurotransmitter inputs to directionally sensitive turtle retinal ganglion cells. J Neurophysiol 54 : 1123 1143, 1985.

Brandon C: Cholinergic neurons in the rabbit retina: dendritic branching and ultrastructural connectivity. Brain Res 426 : 119 130, 1987.

Brecha N, Johnson D, Peichel, Wassle H: Cholinergic amacrine cells of the rabbit retina contain glutamate decarboxylase and r aminobutyrate immunoreactivity. Proceedings of National Acad Sci U.S.A. 85 : 6187 6191, 1988.

Burgi PY, Grzywacz NM: Possible roles of spontaneous waves and dendritic growth for retinal receptive field development. Neural comput 9 : 533 553, 1997.

Conley MD, Fitzpatrick D, Lachica EA: Laminar asymmetry in the distribution of choline acetyltransferase immunoreactive neurons in the retina of the tree shrew (*Tupaia belangeri*). Brain Res 399 : 332 338, 1986.

Euler T, Wassle H: Immunocytochemical identification of cone bipolar cells in the rat retina. J Comp Neurol 36 : 461 478, 1995.

Famiglietti EV: "Starburst" amacrine cells and cholinergic neurons: mirror symmetric ON and OFF amacrine cells of rabbit retina. Brain Res 261 : 138 144, 1983.

Famiglietti EV, Tumosa N: Immunocytochemical staining of cholinergic amacrine cells in rabbit retina. Brain Res 413(2) : 398 403, 1987.

Famiglietti EV: Synaptic organization of starburst amacrine cells in rabbit retina: analysis of serial thin sections by electron microscopy and graphic reconstruction. J Comp Neurol 309(1) : 40 70, 1991.

Freed MA: GABAergic circuits in the mammalian retina.

Prog Brain Res 90 : 107 131, 1992.

Guiloff GD, Kolb H: Neurons immunoreactive to choline acetyltransferase in the turtle retina. Vision Research 32 : 2023 2030, 1992.

Grzywacz NM, Tootle JS, Amthor FR: Is the input to a GABAergic or cholinergic synapse the sole asymmetry in rabbit's retinal directional selectivity? Vis Neurosci 14 : 39 54, 1997.

He SG, Masland RH: Changes in the responses of directionally selective ganglion cells in the rabbit retina induced by laser ablation of starburst amacrine cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 38 : S949, 1997.

Kim I B, Oh S J, Na W K, Lee M Y, Chun M H: Distribution pattern and synaptic circuitry of cholinergic neurons in the rat retina. Korean J Anat 31 : 136 150, 1998.

Kolb H: The inner plexiform layer in the retina of the cat: electron microscopic observation. J Neurocytol 8 : 295 329, 1979.

MacNeil MA, Masland RH: Extreme diversity among amacrine cells implications for function. Neuron 20(5) : 971 982, 1998.

Marc RE, Liu W: Fundamental GABAergic amacrine cell circuitries in the retina: nested feedback, concatenated inhibition, and axosomatic synapses. J Comp Neurol 2000 425 (4) : 560 582, 2000.

Mariani AP, Hersh LB: Synaptic organization of cholinergic amacrine cells in the rhesus monkey retina. J Comp Neurol 267 : 269 280, 1988.

Masland RH, Tauchi M. A: Possible amacrine cell substrate for the detection of stimulus motion. Neurosci Res Suppl 12 : S185 199, 1985.

McGuire BA, Stevens J, Stering P: Microcircuitry of bipolar cells in cat retina. J Neurosci 4 : 2920 2938, 1984.

McGuire BA, Stevens J, Stering P: Microcircuitry of beta ganglion cells in cat retina. J Neurosci 6 : 907 918, 1986.

Mitrofanis J, Stone J: Distribution of cholinergic amacrine cells in the retinas of normally pigmented and hypopigmented strains of rat and cat. Vis Neurosci 1 : 367 376, 1988.

Neal MJ, Cunningham JR, Hutson PH, Semark JE: Calcium dependent release of Acetylcholine and gamma aminobutyric acid from the rabbit retina. Neurochem Int 20 : 43 53, 1992.

Pourcho RG, Osman K: Cytochemical identification of cholinergic amacrine cells in the cat retina. J Comp Neurol 247 : 497 504, 1986.

Rodieck RW, Marshak DM: Spatial density and distribution of choline acetyltransferase immunoreactive cells in human, macaque, and baboon retinas. J Comp Neurol 321 : 46 64, 1992.

Sandmann D, Englemann R, Peichl L: Starburst cholinergic amacrine cells in the tree shrew retina. J Comp Neurol 389 : 161 176, 1997.

Schmidt M, Wassle H, Humphrey M: Number and distribution of putative cholinergic neurons in the cat retina. Neurosci Lett 59 : 235 240, 1985.

Vaney DI: Many diverse types of retinal neurons show tracer coupling when injected with biocytin or Neurobiotin. Neurosci Lett. 29; 125(2) : 187 90, 1991.

Voigt T: Cholinergic amacrine cells in the rat retina. J. Comp. Neurol. 351 : 374 384, 1986.

Werblin FS, Maguire A, Lukasiewicz PD, Eliasof S, Wu SM: Neural interactions mediating detection of motion in the retina of the tiger salamander. Vis Neurosci 1 : 317 329, 1988.

Wu SM, Maple BR: Amino acid neurotransmitters in the retina: a functional overview. Vision Res 38(10) : 1371 1384, 1988.

Zhang J, Jung CS, Slaughter MM: Serial inhibitory synapses in retina. Vis Neurosci 14(3) : 553 563, 1997.

Zhang J, Wu SM: Immunocytochemical analysis of cholinergic amacrine cells in the tiger salamander retina. Neuro Report 12(7) : 1371 1375, 2001.

Zucker CL, Ehinger B, Grzywacz NM: GABA receptors are localized to starburst amacrine and ganglion cells in the rabbit retina. Soc Neurosci Abstr 24 : 136, 1998.

<국문초록>

생쥐의 망막에서 아세틸콜린의 합성효소인 choline acetyltransferase(ChAT)에 대한 항체를 이용한 면역세포화학법으로 콜린성 무축삭세포를 동정하고 분포양상을 조사하였다.

콜린성 무축삭세포는 망막에서 세포체의 위치에 따라서 두 종류로 구분된다. 즉 속핵층에 세포체가 위치하고 세포돌기는 속얼기층의 a 아층판에 위치하는 세포와 세포체가 신경절세포층에 위치하면서 세포돌기는 b 아층판에

위치하는 세포이다. GABA 항체를 이용한 이중 면역염색 결과 모든 콜린성 무축삭세포가 GABA에 대한 염색반응성을 나타내었다. 전자현미경 관찰 결과 콜린성 무축삭세포의 연접회로가 속얼기층에서 관찰되었다. 콜린성 무축삭세포는 두극세포와 가장 많은 수입연접을 형성하고 있었으며, 이 외에 콜린성 무축삭세포와 염색되지 않은 무축삭세포와의 연접도 관찰되었다. 콜린성 무축삭세포의 수출연접의 주요 대상은 신경절세포로 속얼기층의 b 아층판에서 더 빈번하게 관찰되었다.

이러한 연구결과로 생쥐 망막의 콜린성 무축삭세포도 다른 종류의 포유류와 매우 유사한 특징을 가지고 있으며, 방향선택성 신경절세포로 신호가 전달되는 과정에서 중요한 역할을 할 것으로 생각된다.