

## 동면중인 박쥐의 시상하부에 대한 전자현미경적 연구

### I. 신경세포의 미세구조

姜浩錫 · 吳永根\* · 趙炳弼 · 李永敦

## An Electron Microscopic Study on the Hypothalamus of the Hibernating Bat

### I. Fine Structure of the Nerve Cell

Kang, H.S., Y.K. Oh\*, B.P. Cho and Y.D. Lee

(Received November 4, 1985)

#### Abstract

The posterior hypothalamus of the hibernating greater horseshoe bats (*Rhinolophus ferrumequinum korei* Kuroda) were observed with an electron microscope. The posterior hypothalamus is known to be closely related to the reflex responses activated by cold, and the following observations were obtained in the cellular type of nerve cells: there are three types of neurons in the posterior hypothalamus.

1. The first type of neuron was the largest, ovoid or conical in shape, the nucleus was elliptic and the nuclear envelope had many deep invaginations. The cell organelles were well developed, in particular there was an abundance of variously shaped mitochondria, and the Golgi complex and the polysomes were observed in the cytoplasm.
2. The second type of neuron was moderate in size, ovoid or elliptic in shape, the nucleus was located nearer to the plasma membrane and the nuclear envelope had a few invaginations. The cytoplasm was rich in amount compared with that of the third type of neuron, and the cell organelles, especially the rough endoplasmic reticulum were well developed. Also lipofuscin pigments were observed.
3. The third type of neuron was the smallest in size and round in shape. The nucleus and the nucleolus were observed in the central portion of the cell body and the nuclear envelope had a few invaginations. The cytoplasm was small compared with those of the first and second types, but the rough endoplasmic reticulum, the mito-

연세대학교 원주의과대학 해부학 교실. \*연세대학교 문리대학 생물학과  
Dept. of Anatomy, Wonju Medical College, Yonsei University, \*Dept. of Biology, College of Liberal Arts  
and Sciences, Yonsei University

본 연구는 1983년도 연세대학교 원주의과대학 교수 연구비로 이루어졌음.

chondria and the polysomes were relatively well developed. The cytoplasm was characterized by the presence of membrane-bound small bodies with a single membrane containing a fine particular substance around the rough endoplasmic reticulum and the Golgi complexes.

## 서 론

모든 동면동물은 오랜동안 먹이를 섭취하지 않아도 주위 환경의 낮은 기온조건하에서 체온을 일정한 수준으로 유지하는 것으로 알려져 있다. 이와같이 체온을 일정한 수준으로 유지할 수 있는 것은 시상하부의 기능에 의해서 이루어지는 것으로 알려져 있는데, 시상하부의 전부가 파괴된 동물은 체온이 상승되며 시상하부의 후부가 파괴되면 냉혈상태에 들어가는 사실(Ranson들, 1937)로 미루어 시상하부가 체온 조절에 중요한 역할을 하고 있음을 알 수 있다(Freeman과 Davis, 1959; Nakayama들, 1963).

Magoun들(1938)은 정상 체온을 지닌 동물에서, 시상하부의 전부에 고주파 전류를 흘려 이 부위의 온도를 높이면, 피부 혈관이 확장되고, 땀이 나며, 호흡이 잦아지는 등의 열 발산 현상이 일어나 체온이 정상보다 떨어진다고 보고하여, 시상하부의 전부에 더위에 예민하게 반응하는 신경세포가 있음을 시사하였다. 특히 시삭전핵(preoptic nucleus)과 후외측에 있는 세포군은 체온 조절에 관계하는데, 전자는 열의 방출, 후자는 열의 보존에 관계하는 것으로 알려져 있다. Hayward와 Baker(1968)는 정상 체온을 지닌 동물에서 시상하부 내지 시삭전부위가 자극되면 피부 혈관이 수축하고, 털이 일어서며, 체온이 정상보다 올라가는 한편 이뇨작용이 일어나 몸속에 있는 수분이 감소된다고 하였고, Squire와 Jacobson(1968)은 반대로 시삭전부위가 파괴되면 체내 산화작용이 저하되고 직장 온도가 떨어진다고 하였다.

이와같이 여러 학자들에 의한 연구 결과에 의하면 시상하부가 체온 조절에 관여하고 있음을 알 수 있고, 특히 동면시 박쥐 시상하부의 후부가 낮은 체온의 유지와 관계가 있을 것으로 사료되는바, 이 부위에 있는 신경세포의 미세구조적 특

을 밝힘으로써 그 체온 조절의 기구 해명에 대한 연구에 일조가 될 것으로 생각되어 본 실험을 시도하였다.

## 재료 및 방법

실험동물로는 무게 20 gm 내외의 동면중인 한국관박쥐(*Rhinolophus ferrumequinum korai* Kuroda)를 충남 공주군 계룡면 소재 금광굴(폐광)에서 2월초 채집하여 사용하였다.

광학현미경 표본은 10% 중성완충포르말린에 고정하고 일반조직표본 제작법을 이용하여 paraffin에 포매한 후 6  $\mu$ m 절편을 만들어 0.1% toluidine blue로 염색하였다.

전자현미경 표본은 1% paraformaldehyde-1% glutaraldehyde 혼합고정액(phosphate buffer, pH 7.4)에 전고정하고, 1% OsO<sub>4</sub>에 후고정한 후 ethanol의 농도 상승순으로 탈수하고 acetone으로 치환하여, Epon에 포매하였다. 포매후 LKB-III ultramicrotome으로 1 $\mu$ m 두께의 semithin section을 만들고, 이를 toluidine blue로 단일 염색한 후 광학현미경하에서 정확한 부위를 확인한 다음, 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 JEM 100CX-II (80kV) 전자현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 광학현미경적 소견

시상하부의 후부에 분포하는 신경세포는 크고 세포질이 풍부한 타원형 및 원추형인 제 1형 세포(Fig. 1a)와 난원형 또는 타원형의 형태를 가진 중간 크기의 제 2형 세포(Fig. 2a) 및 그 수가 가장 많으며 작은 구형, 혹은 타원형인 제 3형 세포(Fig. 3a)로 구분할 수 있었다.

### 2. 전자현미경적 소견

시상하부의 후부에 분포하는 신경세포는 그 크

기 및 미세구조적 특징에 따라 세 가지 유형의 세포로 구별되었다.

#### A. 제 1형 세포

세포의 형태는 타원형 혹은 원추형이었으며 세포의 크기는 장경 20~28  $\mu\text{m}$ , 단경 13  $\mu\text{m}$ 였다(Fig. 1a). 타원형의 핵은 다소 편재되어 위치하였고, 여러 곳에서 깊고 불규칙하게 핵막이 함입되어 있었으며, 염색질은 핵질 전반에 걸쳐 고루 분산되어 있었다. 세포질은 풍부하였으며 세포소기관들이 잘 발달되어 있었다. 특히 여러 형태의 많은 사립체가 존재하였고, polysome이 넓게 산재되어 있었으며, 핵 주위에는 Golgi체가 잘 발달되어 있었다(Fig. 1b).

#### B. 제 2형 세포

세포의 형태는 난원형 및 타원형이었고, 크기는 장경 16~23  $\mu\text{m}$ , 단경 11  $\mu\text{m}$ 였다(Fig. 2a). 핵은 다소 편재되어 있었고, 소수의 핵막함입부가 존재하였으며 염색질은 핵질내에 고르게 분산되어 있었다. 비교적 풍부한 세포질에는 세포소기관들이 대체로 잘 발달되어 있었는데, 구형의 사립체와 polysome이 세포질 전반에 걸쳐 분포되어 있었고, 잘 발달된 Golgi체가 핵 주위에 존재하였다. 또한 층판구조로 배열된 RER이 잘 발달되어 있었으며, lipofuscin 과립도 관찰되었다(Fig. 2b).

#### C. 제 3형 세포

구형 내지 타원형의 제 3형 세포는 장경 12~13  $\mu\text{m}$ , 단경 9  $\mu\text{m}$ 였으며(Fig. 3a) 세포의 중앙부에 위치한 핵은 주로 구형으로 소수의 핵막함입부를 갖고 있었고, 그 크기는 7.5  $\mu\text{m}$ 였다. 염색질은 핵질 전반에 고르게 분포하였고 핵소체는 핵의 중앙부에 위치하였으며, pars fibrosa와 pars granulosa가 잘 구분되었다. 세포질내에는 구형의 많은 사립체가 세포질 전반에 걸쳐 고루 분포되어 있었고, polysome 역시 고르게 산재되어 있었다. 또한 RER이 잘 발달되어 있었고, lysosome도 관찰되었다(Fig. 3b). 특히 제 3형 세포에서는 RER과 Golgi체 주위에 fine particular substance를 함유하고 있는 단일막성 소체(직경 0.9~1.4  $\mu\text{m}$ )가 다수 산재되어 있었다(Fig. 4).

## 고 찰

온도 변화에 특히 예민한 신경세포는 시상하부의 국한된 부위에서만 볼 수 있는 바, 일반적으로 냉각에 예민한 신경세포는 중격핵과 시삭전부위의 앞부분에, 그리고 가온에 예민한 신경세포는 시삭전부위에서부터 시상하부의 전부에 주로 분포되어 있는 것으로 알려졌다(김, 1969). 그러나 시상하부의 후부와 중뇌 등에도 온도변화에 다소 예민한 부위가 있다고 보고되었다(Schlag 등, 1957). Koski(1968)는 정상인 박쥐(*Myotis lucifugus*)가 동면에 들어가기 전 10시간 동안 심박동율이 증가하고 높은 체온을 유지하는데 반해, 시상하부의 후부가 손상된 박쥐에서는 심박동율이 증가하지 않고 체온 하강 속도가 정상 박쥐보다 빠르다는 것을 관찰하여, 박쥐 시상하부의 후부가 저온하에서도 높은 체온을 유지하도록 작용한다고 보고하였다. 한편 diphenylhydantoin(DPH)을 이용한 실험에서, 해마(hippocampus)는 뇌에서 발생한 seizure activity와 밀접하게 관련되어 있으며, DPH는 어느정도 이 activity의 전과와 hippocampal threshold를 변경, 억제할 수 있음이 밝혀졌다(Morrell 등, 1959; Nakamura와 Kurube, 1962; Schallek과 Kuehn, 1963; Riehl과 McIntyre, 1968). 또한 좌우의 해마가 모두 손상되면 박쥐는 대단히 늦게 동면에 들어가는데(Conover, 1969), 이는 해마가 기능을 제대로 발휘하지 못하면 체온을 낮추는 능력이 심각하게 손상됨을 의미한다. Gerhardt와 Koski(1973)는 electroencephalography를 이용한 실험에서 박쥐(*Eptesicus fuscus*)의 체온이 떨어지면 해마는 human epileptic에서 나타나는 전형적인 EEG pattern에 해당하는 파동을 형성하는 것을 관찰하였으며, Koski(1973)는 박쥐에 있어서 저온에 노출되는 것으로부터 오는 흥분은 결국 해마에서의 seizure를 유발시키고, 이 seizure는 뇌궁을 따라 시상하부의 후부에 도달하여 열보존기능을 상실케 함으로써 체온이 저하되고 동면이 시작될 것이라고 제안하였다. Oh와 Kang(1979)은 진경제인 DPH, 중추신경계 흥분제인 intermittent light stimulation(ILS)과 pen-

tylenetetrazed(Metrazol)이 저온에 노출된 박쥐 (*Vespertilio superans*, *Myotis sodalis*)의 체온에 미치는 영향을 조사하여 Koski(1973)의 seizure 이론을 지지하였다.

온도에 예민한 시상하부의 신경세포에 대한 실험에서 Eisenman과 Jackson(1967)은 고양이 시상전부 위와 중격핵의 정중선에 가까운 부분에는 세가지 종류의 신경세포가 있다고 하였다. 즉, 온도가 높아짐에 따라 흥분발사 빈도가 계속 증가하는 신경세포와 이 부위가 냉각될 경우에만 흥분 빈도가 많아지고 가온되면 흥분 빈도가 낮아지는 신경세포, 그리고 반대로 가온될 때만 흥분 빈도가 많아지고 냉각되면 흥분 빈도가 적어지는 신경세포가 발견된다고 하였다.

본 실험에서 동면중인 박쥐 시상하부의 후부에 분포하는 신경세포는 제1, 제2, 제3의 세가지 유형으로 구별될 수 있는 바 세포체의 크기, 모양 및 세포소기관의 발달 정도에 차이가 있었다. 제1형 세포는 제2형 및 제3형 세포에 비하여 그 수가 적었고, 세포의 형태는 원추형 혹은 타원형으로서 장경 20~28  $\mu\text{m}$ 였으며, 핵막은 여러 부위에서 크게 함입되어 있었고, 사립체와 Golgi체가 잘 발달되어 있었다. 제2형 세포는 제1형 세포보다 크기가 작았고(장경 16~23  $\mu\text{m}$ , 단경 11  $\mu\text{m}$ ), 소수의 핵막 함입부가 존재하였으며, 세포소기관의 발달은 제1형 세포와 유사하였다. 제3형 세포는 그 수에 있어서 제1형과 제2형 세포보다 많았으나 그 크기는 가장 작았다(장경 12~13  $\mu\text{m}$ , 단경 9  $\mu\text{m}$ ). 핵은 상당히 커서 세포의 대부분을 차지하여 세포질이 적었으며, 소수의 핵막 함입부가 관찰되었고, 핵소체는 핵의 중앙부위에 위치하였다. 특히 이 제3형 신경세포의 세포질에는 RER과 Golgi체 주위에 단일막을 가진 크고 작은 구형소체들이 존재하였으며, 이 소체들은 fine particular substance로 구성되어 있었다. 이와같은 분비성 구조가 출현하는 것은 아마도 동면시 필요한 체온 냉각의 기전과 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다.

미소주사 방법으로 고양이 시상하부의 전부에 serotonin을 작용시키면 피부 혈관이 수축하고 몸이 떨리며 곧 체온이 올라가는데, 같은 부위에

epinephrine을 작용시키면 체온이 떨어진다(Feldberg와 Myers, 1965)는 점으로 미루어 보아 체온 조절에 관여하는 시상하부의 후부에도 이와 같은 물질이 작용할 것으로 생각되며 따라서 제3형 세포에서 관찰된 분비성 소체는 epinephrine이나 serotonin을 포함할 것이라 추측된다.

본 연구에 있어서 시상하부 후부의 신경세포는 광학현미경하에서도 세가지 유형으로 구분할 수 있었다. 그러나 아직 동면동물인 박쥐 시상하부 후부의 신경세포의 미세구조적 특징을 밝힌 연구 보고는 찾아 볼 수 없었으므로 저자들의 관찰 소견과 비교할 수는 없었다.

이와같이 체온 조절, 특히 동면시 저체온 유지에 관여하는 것으로 알려진 박쥐 시상하부 후부의 신경세포의 미세구조적 특징을 밝힘으로써 체온 조절의 기전을 규명하는데 하나의 형태학적 근거를 마련하여 동면 연구 분야에 기여할 것으로 사료된다. 앞으로 본 연구의 결과와 활동중인 박쥐의 시상하부 후부의 신경세포를 비교 검토함으로써 이 부위의 신경세포의 미세구조와 동면 기전과의 관계가 보다 명확히 밝혀질 것으로 생각된다.

## 결 론

동면중인 한국관박쥐(*Rhinolophus ferrumequinum korai* Kuroda) 시상하부의 후부에 존재하는 신경세포를 관찰하여 그 크기 및 미세구조적 특징에 따라 세가지 세포 유형으로 구분하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 제1형 세포는 세가지 세포형 중에서 가장 크고 타원형 내지 원추형의 모양이었으며 핵은 타원형이었고 핵막은 깊은 함입부를 여러개 이루고 있었다. 세포질내에는 세포소기관, 특히 여러 형태의 사립체가 풍부하였으며 Golgi체와 polysome도 잘 발달되어 있었다.

2. 제2형 세포는 제1형과 제3형의 중간 크기로서 난원형 내지 타원형이었고 핵은 다소 편재되어 있었으며 소수의 핵막함입부를 갖고 있었다. 세포질은 제3형 세포에 비해 다소 풍부하였고 세포소기관의 발달 정도는 제1형 세포와 유사하였

으며 특히 RER이 잘 발달되어 있었고 lipofuscin 과립이 관찰되었다.

3. 제 3형 세포는 그 크기가 가장 작고 구형 내지 타원형이었으며 핵 및 핵소체는 세포체 중앙부에 위치하였고 소수의 핵막 함입부가 관찰되었다. 세포질의 양은 제 1형이나 제 2형보다 적었으나 RER, 사립체 및 polysome은 비교적 잘 발달되어 있었다. 특히 세포질내에는 단일막으로 싸여있고 fine particular substance로 차있는 소체들이 RER 및 Golgi 체 주위에서 관찰되었다.

### References

- Conover, G.R. 1969. The effects of dorsal hippocampal lesions on the entry into hibernation in the bat. Thesis for Doctor of Philosophy, The University of Michigan. U.S.A.
- Eisenman, J.S. and D.C. Jacson. 1967. Thermal response patterns of septal and preoptic neurons in cat. *Exptl. Neurol.* 19, 33~45.
- Feldberg, W. and R.D. Myers. 1965. Changes in temperature produced by microinjections of amines into the anterior hypothalamus of cats. *J. Physiol. (London)* 177, 239~245.
- Freeman, W.J. and D.D. Davis. 1956. Effect on cats of conductive hypothalamic cooling. *Am. J. Physiol.* 197, 145~148.
- Gerhardt, S.J. and J.Jr. Koski. 1973. Personal communication.
- Hayward, J.N. and M.A. Baker. 1968. Diuretic and thermoregulatory responses to preoptic cooling in the monkey. *Am. J. Physiol.* 214, 843~850.
- 김철. 1969. 체온 조절의 기전과 발열의 병태생리. *한국의과학* 1(5, 6), 333~338.
- Koski, J.Jr. 1968. The effects of hypothalamic lesions on hibernation in the little brown bat, *Myotis lucifugus*. Thesis for Doctor of Philosophy, The Temple University. U.S.A.
- Koski, J. Jr. 1973. Personal communication.
- Magoun, H.W., F. Harrison, J.R. Brobeck and S.W. Ranson. 1938. Activation of heat loss mechanisms by local heating of the brain. *J. Neurophysiol.* 1, 101~114.
- Morrell, F., W. Bradley and M. Ptashne. 1959. Effect of drugs on discharge characteristics of chronic epileptogenic lesions. *Neurology* 9, 492~498.
- Nakamura, K. and M. Kurube. 1962. Differential effects of antiepileptics on hippocampal and pallidal after-discharges in cats. *Jap. J. Pharmacol.* 12, 180~190.
- Nakayama, T., H.T. Hammel, J.D. Hardy and J.S. Eisenman. 1963. Thermal stimulation of electrical activity of single units of the preoptic region. *Am. J. Physiol.* 204, 1122~1126.
- Oh, Y.K. and H.S. Kang. 1979. A study of the mechanism on hibernation. *Yonsei Med. J.* 20(1), 17~32.
- Ranson, S.W., C. Fisher and W.R. Ingram. 1937. Hypothalamic regulation of temperature in the monkey. *Arch. Neurol. Psychiat.* 38, 445~446.
- Riehl, J. and H.B. McIntyre. 1968. A quantitative study of the acute effects of diphenylhydantoin on the electroencephalogram of epileptic patients: Theoretical considerations for its use in the treatment of status epilepticus. *Neurology* 18, 1107~1112.
- Schallek, W. and A. Kuehn. 1963. Effects of trimethadione, diphenylhydantoin and chlor-diazepoxide on after-discharges in brain of cat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 112, 813~816.
- Schlag, J., J.C. Kridelka, O. Quadens and J. Philippot. 1957. Temperature et activité neuronique dans le système nerveux central. *Arch. Intern. Pharmacodyn.* 110, 155~153.
- Squires, R.D. and F.H. Jacobson. 1968. Chronic deficits of temperature regulation produced in cats by preoptic lesions. *Am. J. Physiol.* 214, 549~560.

### Figure Legends

- Fig. 1a.** Semithin section showing the largest and pyramidal shaped type I cell (arrow). The large and eccentrically placed nucleus has a distinct nucleolus and the cytoplasm is abundant. (toluidine blue,  $\times 1,150$ )
- Fig. 1b.** Electron micrograph of a type I cell. A large and ovoid shaped nucleus (Nu) has many deep indentations and distinct nucleolus (ncl). The cytoplasm shows numerous mitochondria (mit) of varying sizes and shapes and well developed Golgi complexes (G). But the cisternae of the rough endoplasmic reticulum (RER) are moderately developed. Several axon terminals (At) contact with the surface of the cell body. ( $\times 8,000$ )
- Fig. 2a.** Semithin section showing two kinds of neurons, a medium sized type II cell (arrow) and a small type III cell (arrowhead). The cytoplasm of the type II cell is more abundant than that of the type III cell. (toluidine blue,  $\times 1,150$ ).
- Fig. 2b.** Electron micrograph of a type II cell. The cell has a deeply indented nucleus (Nu) with a distinct nucleolus (ncl). The cytoplasm contains the Golgi complex (G) and a relatively large number of mitochondria (mit). The rough endoplasmic reticulum (RER) composed of parallel cisternae is well developed. Some lipofuscin pigments (If) are found in the perinuclear region. ( $\times 10,000$ )
- Fig. 3a.** Semithin section showing a type III cell (arrow). The cell is the smallest and relatively round in shape. Most of the cell body is occupied with the nucleus and the very little cytoplasm appears as narrow rim around the nucleus. (toluidine blue;  $\times 1,150$ )
- Fig. 3b.** Electron micrograph of a type III cell. A centrally located nucleus (Nu) is round in shape and shows a deep indentation. The nucleolus (ncl) is placed in the center of the nucleus and exhibits distinct pars fibrosa and granulosa. Relatively large number of mitochondria (mit) and polysomes are evenly distributed throughout the cytoplasm. ( $\times 10,000$ )
- Fig. 4.** A perinuclear region of a type III cell. A membrane bound granule (Gr) showing low electron density and made up of fine particles is found in the zone between the Golgi complex (G) and the well developed rough endoplasmic reticulum (RER). But small bodies which are not limited by the membranes are also observed (arrows). Some mitochondria (mit) and lysosome (Ly) are observed in this region. ( $\times 20,000$ )







