

대뇌피질 또는 소뇌핵 병변에 따른 쥐 교핵내 연결구조의 변화

이현숙

건국대학교 의과대학 의예과

쥐의 교핵내에서 대뇌피질(또는 소뇌핵) 병변시 소뇌교핵계(또는 대뇌교핵계)의 연결구조의 변화에 대한 전자현미경적 관찰결과, 대뇌교핵계의 수입로 차단인 경우 소뇌교핵계의 신경섬유는 교핵세포의 원위 가지돌기쪽으로 발아하며, 소뇌핵 병변시 대뇌교핵계의 신경섬유는 근위 가지돌기와 연결을 형성하거나 또는 여러개의 가지돌기 부속물들과 사구체형 연결복합체를 형성함이 밝혀졌다.

이상의 연구는 광학현미경적 관찰에서 언급된 대뇌피질(또는 소뇌핵) 병변에 따른 교핵내 신경종말의 밀도증가에 대한 보고를 뒷받침해주며, 소뇌핵 병변시 운동결핍증의 시간경과에 따른 회복에 대한 신경해부학적 근거를 제시한다.

KEY WORDS: Basilar pons, Plasticity, Cerebellar function

포유류 중추신경계내의 여러 신경경로의 가소성과 관련하여 개체의 특정한 기능의 회복 또는 행동의 변화가 적핵(red nucleus), 치상회(dentate gyrus), 중격핵(septal nuclei) 등의 부위에서 연구되었다(Raisman and Field, 1973; Steward *et al.*, 1974; Murakami *et al.*, 1978). 교핵(pontine nuclei)은 대뇌피질과 소뇌피질 사이의 정보전달을 중계하는 부위로서 소뇌가 관여하는 운동의 예측(preprogramming), 발족(initiation) 및 최신화(updating)에 기여하는 것으로 알려져 왔다(Eccles, 1969; Evarts and Thach, 1969; Allan and Tsukahara, 1974).

한편 소뇌핵(cerebellar nuclei)으로부터 교핵으로의 피이드백 신경경로의 발견(Watt and Mihailoff, 1983)이후, 이 신경경로가 소뇌핵으로부터 시상(thalamus)이나 상구(superior colliculus) 또는 하 올리브핵(inferior olivary nucleus)로 전달되는 정보와 같은 정보를 교핵으로 전달하는 것이 밝혀졌다(Lee *et al.*, 1989). 특히 소뇌교핵계(cerebellopontine system)의 신경종말(terminal)이 대뇌교핵계의 신경종말과 교핵내의 특정부위로 수렴한다는 보고(Lee and Mihailoff, 1990)에 기초를 두고, 이 두 신경경로 사이에 생리학적 상호작용이 있음을 추측할 수 있다.

광학현미경적 관찰에 의하면 출생 즉시 쥐의 대뇌피질(또는 소뇌핵)에 병변을 가한 경우 교핵내에서 소뇌교핵계(또는 대뇌교핵계)의 신경종말의 밀도가 증가하는 것이 보고되었다(Leong, 1978; Castro and Mihailoff, 1983). 대뇌피질 병변시 실험동물의 운동기작에 특정결핍증이 관찰되지 않았으나, 소뇌핵 병변의 경우 관찰된 평형감각의 상실, 앞다리의 tremor, 환그리며 돌기(circling movement) 등을 포함한 일련의 운동결핍증은 시간이 지남에 따라 둔화하여 4-5개월 이후에는 정상인 쥐와 비슷한 행동양상을 나타내었다. 본 연구에서는, 병변후 신경종말의 밀도의 증가, 운동결핍증의 시간경과에 따른 회복과 관련하여, 대뇌와 소뇌사이의 정보교환의 교량 역할을 하는 교핵내에서(Allan and Tsukahara, 1974) 대뇌교핵계와 소뇌교핵계의 신경종말 사이에 상호작용이 존재하는지를 알아보기 위하여, 소뇌핵 또는 대뇌피질의 병변후 이들 교핵수입계의 연결구조의 변화를 전자현미경적으로 조사하였다.

재료 및 방법

암수의 쥐(Long-Evans black-hooded rats)를

교배상자를 만들어 교미시킨 후 이들로부터의 새끼쥐를 아래 두 집단으로 분류하여 실험하였다. 출생 직후의 새끼쥐는 얼음을 사용하여 저온마취하였으며, 생후 10일 이후의 쥐는 체중 100 g당 1 ml의 3.6% chloral hydrate를 사용하여 마취하였다.

대뇌피질 병변시 소뇌교핵계의 연결구조 조사

서로 다른 어미쥐로부터 출생한 15마리의 새끼쥐에 대하여, 생후 12-24 시간내에 흡기법 또는 전기소작법을 써서 좌측 감각 및 운동성 대뇌피질을 제거하였다. 2-3 개월 후, 이들 중 2마리를 사용하여 대뇌피질 병변에 따른 퇴화물질의 소거를 교핵내에서 확인하였으며, 병변이 완전하였는지를 알아보기 위하여 대뇌피질 절편을 Nissl 염색하여 관찰하였다. 생후 6-7 개월(몸무게 380-420 g)이 되었을 때 나머지 쥐들의 우측 소뇌핵을 제거시킨 뒤 좌측 교핵내에 존재하는 소뇌교핵계의 신경섬유의 종말을 관찰하였다. 직경 0.25 mm, 길이 0.5 mm인 전극을 이용하여 30 μ A의 전류를 3분씩 가하여 소뇌핵을 제거하였다. 이때 내측, 중간, 외측 소뇌핵의 좌표는 Paxinos and Watson(1986)의 부도를 참조하여 소뇌층부 5엽의 중앙으로부터 각각 1.5, 2.5, 3.8 mm로 하였으며 깊이는 표면으로부터 4.3 mm로 정하였다. 한편 출생 직후 아무런 처리를 하지 않은 생후 6-7 개월 된 쥐의 소뇌핵을 제거하여, 정상 소뇌교핵계의 교핵내의 연결구조를 관찰하기 위한 대조표준으로 사용하였다.

소뇌핵 병변시 대뇌교핵계의 연결구조 조사

생후 12-24 시간 내에 흡기법을 써서 서로 다른 어미쥐로부터 출생한 15마리의 새끼쥐의 소뇌핵을 제거하였다. 이들 중 2마리를 생후 2-3 개월에 고정시켜 병변에 따른 교핵내 퇴화물질의 제거를 확인하였으며, 이들의 소뇌절편은 Nissl 염색하여 병변이 완전하였는지를 조사하였다. 나머지 쥐들이 생후 6-7 개월(몸무게 380-420 g)이 되었을 때, 교핵내에 존재하는 대뇌교핵계의 신경종말을 조사하기 위하여 전기소작법을 써서 좌측 감각 및 운동성 대뇌피질을 제거하였다. 한편 출생 직후 아무런 처리를 하지 않은 생후 6-7개월 된

쥐의 대뇌피질에 병변을 가하여, 정상 대뇌교핵계의 연결구조를 관찰하기 위한 대조표준으로 사용하였다.

전자현미경적 관찰

이상 두 실험집단으로부터 7-10일의 생존기간이 지난 쥐를 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.2% procaine을 포함한 150 ml의 생리식염수와 1% paraform-glutaraldehyde(0.2 M cacodylate buffer, pH 7.2) 100 ml, 2% paraform-glutaraldehyde(0.2 M cacodylate buffer, pH 7.2) 400 ml를 차례로 관류시켰다. 뇌를 적출하여 2% paraform-glutaraldehyde에 저장하였다(4°C). 약 12-24 시간 후 뇌를 해부현미경 위에 놓고 교핵부위를 잘라낸 뒤 우선 좌, 우로 나누고, 다시 각각을 내측, 복측, 외측핵으로 나누었다. 이때 좌측교핵에서 신경세포종말의 퇴화를 관찰하였으며, 우측교핵은 대조표준으로 사용하였다. 각 조직절편을 0.2 M cacodylate buffer(pH 7.2)로 수세한 후, 2% OsO₄에 2시간 저장하였다. cacodylate buffer로 다시 수세한 후 1% uranyl acetate에서 2시간 반응하였다(4°C). 50%, 70%, 95%, 100%의 ethanol series와 propylene oxide를 사용하여 탈수시킨 후 Epon 812-Araldite를 써서 포매하였다. 미세절단기를 써서 ultrathin section을 만든 후 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 Philips 200이나 Jeol 100CX 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

광학현미경으로 관찰된, 대뇌피질(또는 소뇌핵)의 병변후 소뇌교핵계(또는 대뇌교핵계)의 교핵내 신경종말의 밀도증가와 관련하여, 병변 후 이들 교핵수입계의 연결구조의 변화를 조사한 결과는 다음과 같다.

대뇌피질 병변시 소뇌교핵계의 연결구조의 변화

출생 직후 대뇌피질 병변시 소뇌핵 기원의 신경종말의 연결형태(n = 104)는 전형적인 소뇌교핵계의 양상뿐만 아니라 비전형적인 구조도 관찰되

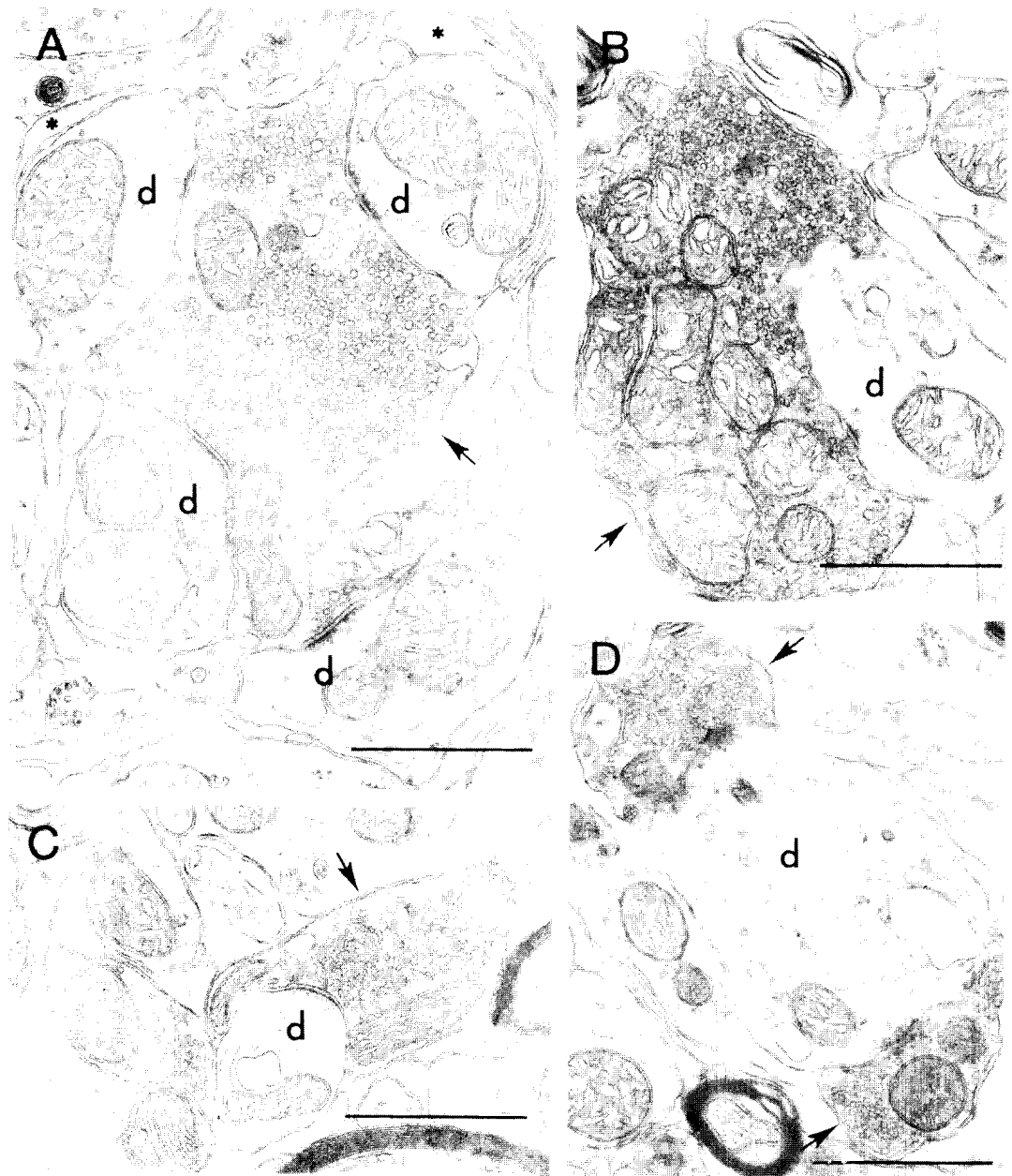


Fig. 1. Cerebellopontine terminal morphology in response to the neonatal cortical lesion. Glomerular synaptic complexes are the most frequently observed (A). Cerebellopontine terminals often form synaptic contact with small distal dendrites (B and C). The incidence of two or multiple boutons contacting a single postsynaptic profile is also observed (D). Arrows represent degenerating terminals and asterisks indicate glial processes. d, dendrites; bar, one micron.

었는데, 전형적인 구조로서 우선 가지돌기 (dendrites)상의 여러개의 부속물(appendages)과 연결을 형성하는 사구체형 연결복합체(Fig. 1A)가 가장 많이 관찰되었다($n = 72$). 이들 퇴화하

고 있는 종말은 신경사(neurofilaments)가 응집하였거나 세포질의 전자밀도가 크며, 대부분의 경우 투명한 신경교세포(neuroglia)의 돌기(processes)에 의해서 둘러싸여 있었다.

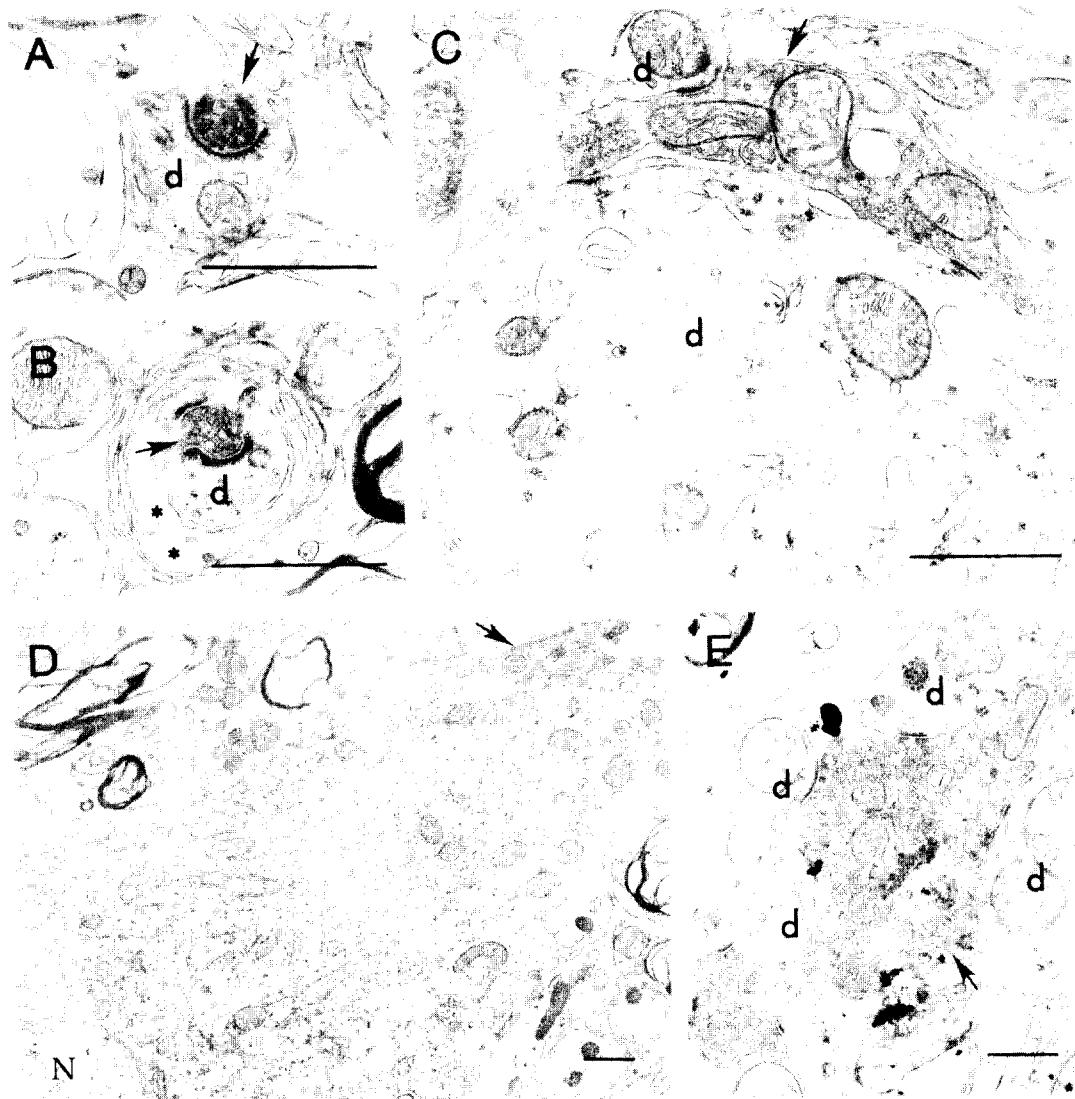


Fig. 2. Corticopontine boutons in response to the neonatal crebellar lesion. Small boutons contacting small distal dendrites are the most frequently observed (A and B). They also make synaptic contact with proximal dendrites or somata (C and D). Glomerular boutons involving several dendritic spines are also observed (E). Arrows indicate degenerating corticopontine boutons and asterisks represent glial lamellae. d, dendrites; N, nucleus; bar, one micron.

비전형적인 구조로서, 직경이 큰 소뇌교핵계의 신경종말이 직경 $1 \mu\text{m}$ 이하의 원위 가지돌기와 연결(Fig. 1B)을 형성하기도 하였다($n = 21$). 이들의 내부에는 부풀어 오른 연결소포체나 퇴화하고 있는 미토콘드리아가 존재하였다. 소뇌교핵계의 신경종말은 대부분 작고 둥근 형태의 연결소포체를 가진 비대칭형 연결을 형성하고 있었으나, 편평한(flattened) 연결소포체를 가지며 대칭

형 연결을 형성하는 경우도 관찰되었다(Fig. 1C). 한개의 원위 가지돌기에 대해 두개 이상의 신경종말이 연결을 형성하는 경우가 관찰되었는데(Fig. 1D), 이때 원위 가지돌기의 직경은 $1 \mu\text{m}$ 내외였으며 신경종말내의 전자밀도는 높았다($n = 11$). 특히 이 실험군의 동물들은 출생 직후 대뇌피질의 병변과 관련하여 어떠한 종류의 운동 결핍증도 나타내지 않았다.

소뇌핵 병변시 대뇌교핵계의 연결구조의 변화

출생 직후 소뇌핵 병변시 대뇌피질 기원의 신경종말의 연결형태($n = 110$)는 전형적인 대뇌교핵계의 것 뿐만 아니라 비전형적인 구조도 관찰되었는데, 전형적인 구조로서는 작은 크기의 신경종말이 직경 $1 \mu\text{m}$ 이하의 원위 가지돌기와 비대칭형 연결(Fig. 2A, B)을 형성하였다($n = 68$). 이들 연결복합체는 식세포 작용을 하는 투명한 신경교세포의 돌기에 의해서 둘러싸여 있었다.

비전형적인 구조로서 대뇌교핵계의 신경종말이 직경 $3 \mu\text{m}$ 이상의 중간크기 또는 근위 가지돌기와 비대칭형 연결(Fig. 2C)을 형성하였는데($n = 25$), 이때 직경 $1 \mu\text{m}$ 이하의 원위 가지돌기와도 동시에 연결을 형성하였다. 대뇌교핵계의 신경종말이 핵주위에서 연결(Fig. 2D)을 형성하는 경우도 관찰되었으며($n = 7$), 여러개의 가지돌기 부속물과 동시에 연결(Fig. 2E)을 형성하는 사구체형 연결복합체도 관찰되었다($n = 10$). 이 실험군의 동물들은 병변지후 평형감각의 상실, 앞다리의 사용시 tremor의 동반, 환그리며 돌기 등의 운동결핍증을 보였으나 시간이 지남에 따라 점차 회복하여 4-5 개월 이후에는 정상의 쥐와 비슷한 행동 양상을 나타내었다.

고 찰

쥐의 대뇌피질의 병변에 반응하여 소뇌교핵계의 신경섬유는 교핵세포의 원위 가지돌기를 따라 존재하는 대뇌교핵계의 신경종말이 점령하던 위치를 차지하기 위하여 발아현상을 보였음을 알 수 있다. 즉 근위 가지돌기의 부속물들과 연결복합체를 형성하던 소뇌교핵계의 신경종말이 원위 가지돌기와 연결을 형성하거나(Fig. 1B, C), 한개의 가지돌기에 두개 이상의 신경종말이 연결을 형성하는 복합체(Fig. 1D)가 높은 비율(11%)로 존재하였다. 또한 대뇌교핵계의 신경종말은 정상적으로는 직경 $1 \mu\text{m}$ 이하의 원위 가지돌기와 연결을 형성하나(Fig. 2A, B), 소뇌핵 병변에 반응하여 근위 가지돌기(23%)나 교핵세포의 핵주위(6%)에 연결을 형성하였으며 여러개의 가지돌기

부속물과 사구체형 연결복합체를 형성하였다(9%).

이와같은 교핵내에서의 발아현상은 고양이(cat)의 적핵에서 관찰된 대뇌피질의 병변에 따른 소뇌교핵계의 연결구조의 변화와도 상당히 유사하다(Tsukahara *et al.*, 1975; Murakami *et al.*, 1978). 발아현상에 대한 기작은 아직 밝혀지지 않았으나 대뇌교핵계의 신경세포는 글루타민산에 대하여, 소뇌교핵계는 글루타민산 또는 GABA(gamma-aminobutyric acid)에 대하여 면역세포 화학적 양성 반응을 보이므로(Border and Mihailoff, 1987), 이들 교핵수입계의 글루타민산을 포함한 신경섬유와 교핵세포의 원위 또는 근위 가지돌기상의 세포막에 존재하는 글루타민산 수용기(receptor) 사이의 상호작용이 이에 기여하는 것으로 추측된다. 한편 교핵세포의 가지돌기상의 세포막에 존재하는 글루타민산 수용기는 N-methyl-D-aspartate나 quisqualate에 대해서는 반응하지 않으며, kainate에 대해서 반응하는 것으로 알려져 있다(Monaghan and Cotman, 1986).

한편 교핵은 중소뇌각(middle cerebellar peduncle)을 통해서 모든 정보를 소뇌피질에 전달하는 가장 중요한 precerebellar nuclei중의 하나이며, 교핵내에 존재하는 GABA를 함유한 일련의 억제성(inhibitory) 신경세포들이 여러 교핵수입계로부터의 정보를 조종하며(Border and Mihailoff, 1990), 소뇌교핵계의 신경종말이 대뇌교핵계의 신경종말과 교핵내의 특정 부위로 수렴한다는 일련의 보고(Lee and Mihailoff, 1990)에 기초를 두고, 본 연구에서 관찰된 교핵내에서의 연결구조의 변화는 소뇌핵 병변시 관찰된 운동결핍증의 시간에 따른 둔화에 상당한 역할을 하는 것임을 추측할 수 있다. 대뇌피질 병변시 쥐의 운동기작에는 어떠한 특결핍증도 관찰되지 않았으나, 학습이나 인지 등 대뇌피질이 관여하는 기능이 소뇌교핵계의 신경섬유종말의 발아와 관련하여 회복 내지는 향상될 것으로 사료된다.

또한 본 연구는 대뇌피질(또는 소뇌핵) 병변시 교핵내에서 소뇌교핵계(또는 대뇌교핵계)의 밀도가 증가한다는 광학현미경적 보고(Leong, 1978; Castro and Mihailoff, 1983) 와도 일치하며, 편

평한 연결소포체를 가진 신경종말의 존재는(Fig. 1C) 소뇌교핵계가 흥분성(excitatory) 뿐만 아니라 억제성(inhibitory) 작용을 하는 신경경로임을 밝힌 전기생리학적, 면역세포화학적 보고(Azizi *et al.*, 1986; Border *et al.*, 1986)를 뒷받침하기도 한다. 한편 이상의 대뇌교핵계(또는 소뇌교핵계)의 발아현상과 관련하여 교핵세포내에서도 적핵에서 관찰된 바와 같은(Tsukahara *et al.*, 1975; Murakami *et al.*, 1978) 평균정점도달시간(mean value of time-to-peak)을 포함한 일련의 전기생리학적 변화가 일어날 것인지가 앞으로 연구해야 할 과제들이다.

인용문헌

- Allan, G. I. and N. Tsukahara, 1974. Cerebrocerebellar communication system. *Physiol. Rev.* **54**: 957-1006.
- Azizi, S. A., R. J. Kosinski, and G. A. Mihailoff, 1986. Discrete receptive fields and physiological properties of neurons within the basilar pons: Correlation between direct peripheral and cortical inputs. *Neurosci. Abstr.* **12**: 1417.
- Border, B. G., R. J. Kosinski, S. A. Azizi, and G. A. Mihailoff, 1986. Certain basilar pontine afferent systems are GABA-ergic: Combined HRP and immunocytochemical studies in the rat. *Brain Res. Bull.* **17**: 169-179.
- Border, B. G. and G. A. Mihailoff, 1987. Evidence for multisynaptic glutaminergic pathways involving the corticopontine as well as other basilar pontine afferent systems. *Neurosci. Abstr.* **13**: 1263.
- Border, B. G. and G. A. Mihailoff, 1990. GABA-ergic neural elements in the rat basilar pons: Electron microscopic immunocytochemistry. *J. Comp. Neurol.* **295**: 123-135.
- Castro, A. J., and G. A. Mihailoff, 1983. Corticopontine remodelling after cortical and/or cerebellar lesions in newborn rats. *J. Comp. Neurol.* **219**: 112-123.
- Eccles, J. C., 1969. The dynamic loop hypothesis of movement control, *In*: Information processing in the nervous system (Leibovic, K. N., ed.). Springer-Verlag, New York, pp. 245-269.
- Evarts, E. V. and W. T. Thach, 1969. Motor mechanisms of CNS: Cerebro-cerebellar relations. *Ann. Rev. Physiol.* **31**: 451-498.
- Lee, H. S., R. J. Kosinski, and G. A. Mihailoff, 1989. Collateral branches of cerebellopontine axons reach the thalamus, superior colliculus, or inferior olive: A double-fluorescence and combined fluorescence-horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience* **28**: 725-734.
- Lee, H. S. and G. A. Mihailoff, 1990. Convergence of cortical and cerebellar projections on single basilar pontine neurons: A light and electron microscopic study in the rat. *Neuroscience* **39**: 561-577.
- Leong, S. K., 1978. Effects of deafferentiating cerebellar or cerebral inputs to the pontine and red nuclei in the albino rat. *Brain Res.* **155**: 357-361.
- Monaghan, D. T. and C. W. Cotman, 1986. Anatomical organization of NMDA, kainate, quisqualate receptors, *In*: Excitatory amino acids (Roberts, P. J., J. Storm-Mathisen, and H. F. Bradford, eds.). The Macmillan Press Ltd., London, pp. 279-299.
- Murakami, F., N. Tsukahara, and Y. Fujito, 1978. Properties of synaptic transmission of the newly formed cortico-rubral synapses after lesion of the nucleus interpositus of the cerebellum. *Exp. Brain Res.* **30**: 245-258.
- Paxinos, G. and C. Watson, 1986. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed. Academic Press, Australia.
- Raisman, G. and P. M. Field, 1973. A quantitative investigation of collateral reinnervation after partial deafferentation of the septal nuclei. *Brain Res.* **50**: 241-264.
- Steward, O., C. W. Cotman, and G. S. Lynch, 1974. Growth of a new fiber projection in the brain of adult rats: Reinnervation of the dentate gyrus by contralateral entorhinal cortex following ipsilateral entorhinal lesions. *Exp. Brain Res.* **20**: 45-66.
- Tsukahara, N., H. Hultborn, F. Murakami, and Y. Fujito, 1975. Electrophysiological study of formation of new synapses and collateral sprouting in red nucleus neurons after partial denervation. *J. Neurophysiol.* **38**: 1359-1372.
- Watt, C. B. and G. A. Mihailoff, 1983. The cerebellopontine system in the rat. I. Autoradiographic studies. *J. Comp. Neurol.* **215**: 312-330.

(Accepted May 18, 1991)

Cerebral Cortical or Cerebellar Nuclear Lesion-induced Synaptic Reorganization in the Basilar Pons of the Rat

Hyun Sook Lee (Department for premedical courses, College of Medicine, Kon-Kuk University, Chungju 380-701, Korea)

In the rat basilar pons, synaptic reorganization of the cerebellopontine (or corticopontine) terminals in response to neonatal cortical (or cerebellar nuclear) lesion is as follows: In response to neonatal cortical lesion, cerebellopontine fibers sprouted to occupy distal dendritic locations along pontine neurons. Following cerebellar nuclear lesions, corticopontine fibers sprouted to occupy proximal dendritic locations or made glomerular synaptic complexes with several dendritic appendages. Above results correlate well with the light microscopic study which indicated increased terminal density in the basilar pons following cortical (or cerebellar) lesions and provide a neuroanatomical evidence for gradual recovery of cerebellar functions following neonatal cerebellar nuclear lesions.