

## Colchicine 투여 후 흰쥐와 모래쥐 시각교차위핵내 bombesin에 대한 면역조직화학반응

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과  
김진상  
경북대학교 수의과대학 해부학교실\*  
이성준

## Bombesin Immunoreactivity in Suprachiasmatic Nucleus in Rat and Mongolian Gerbil after Colchicine Treatment

Kim, Jin-Sang, D.V.M., Ph.D.

Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Taegu University,

Yi, Seong-Joon, D.V.M., Ph.D.\*

Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University\*

### < Abstract >

This experiment was carried out to investigate the bombesin immunoreactivity in suprachiasmatic nucleus in rat and Mongolian gerbil hypothalamus after colchicine treatment and analyze the morphological difference between rat and Mongolian gerbil which is focused for experimental animal model of neuronal and circulatory diseases.

The results were as followings.

1. The shape of suprachiasmatic nucleus was triangle in rat, but oval or kidney-shape in Mongolian gerbil
2. The suprachiasmatic nucleus divided into ventrolateral portion and dorsomedial portion in rat, but dorsolateral portion and ventromedial portion or superior portion and inferior portion in Mongolian gerbil.
3. The area of suprachiasmatic nucleus of rat was greater than one of Mongolian gerbil.
4. The bombesin immunoreactivity showed after colchicine treatment in rat and Mongolian gerbil suprachiasmatic nucleus.
5. The bombesin immunoreactivity was stronger in ventrolateral portion than in dorsomedial portion of suprachiasmatic nucleus in rat, but in ventromedial or inferior portion than in dorsolateral or superior portion of suprachiasmatic nucleus in Mongolian gerbil.
6. The bombesin immunoreactivity showed at the oval, ellipsoid or triangular neurons and varicose nerve terminals in ventrolateral portion of rat, and only nerve terminals in dorsomedial portion of rat suprachiasmatic nucleus. But the bombesin immunoreactivity didn't show at neurons of Mongolian gerbil suprachiasmatic nucleus.

## I. 서론

시상하부의 시각교차위핵(suprachiasmatic nucleus, SCN)은 신체의 일주기조절중추(pacemaker of circadian rhythm)로서 최근 20여년 동안 중요한 연구과제 중 하나였다(김진상 등, 1997). 설치류의 시상하부는 뇌 전체 무게의 0.3%정도 밖에 되지 않는 작은 부분으로서, 시상하부의 등쪽은 불확정구역(zona incerta)과, 대뇌다리(cerebral peduncle)에 접하고 있으며, 꼬리쪽으로는 중뇌의 중간뇌수도관주위회백질(periaqueductal gray)과 중간뇌뒤판구역배쪽(ventral tegmental area)에, 시상하부 앞쪽의 대부분을 차지하는 시각교차앞구역(preoptic region)은 앞맛교차(anterior commissure)의 등쪽에 각각 접하고 있으며(Simerly와 Swanson, 1988). 기능적으로 시상하부는 체온, 체내수분, 자율신경, 각종 호르몬 분비, 식욕, 성욕 및 감정을 조절하는 중추신경계통에서도 매우 중요한 역할을 담당하고 있다(Simely, 1995).

시각교차위핵은 시상하부의 뇌실주위구역(periventricular zone) 중 앞구역(anterior region)에 위치하며 시각교차(optic chiasm) 위에 있는 신경핵이며 작고 매우 밀집한 신경세포들로 구성되어 있으며 시각교차에 의해 앞배쪽으로 경계지어 있고, 시각위교차(supraoptic commissure)에 의해 뒤배쪽으로 경계되어진다. 흰쥐에서 시각교차위핵은 전두면으로 절단된 뇌조직절편에서 일반적으로 Nissl 염색 또는 조직화학염색방법에 의해 세포구축학적으로 등쪽내측부(dorsomedial portion)와 배쪽외측부(ventrolateral portion)로 명확히 나뉘어 지는데 등쪽내측부는 배쪽외측부보다 상대적으로 더 작은 신경세포들로 구성되어 있다(van del Pol, 1980).

한편, 시각교차위핵은 포유류의 일주기성 행동리듬을 조절하는데 이 자발적인 리듬은 환경의 밤낮주기에 맞추어져 행동으로 나타난다(김재봉 등, 1996). 외과적으로 시각교차위핵이 제거된 동물에서 일주기의 소실 또는 심한 손상이 보고되었으며(Rusak와 Zucker, 1979), 또한 위의 동물에게 정상 시각교차위핵을 조직이식하였을 경우 공여동물의 일주기를 회복하는 연구도 발표되었다(Ralph 등, 1990). 또한, 일주기조절 외에 시각교차위핵은 환경조절의 변화에 민감하게 반응하는데 특히 빛 자극에 의한 내인성 시간조절에 관여한다. 이러한 활동은 시각교차위핵의 배쪽외측부가 망막시상하부로(retinohypothalamic tract, RHT)와 무릎시상하부로

(geniculohypothalamic tract, GHT)를 각기 수용하기 때문에 가능하다(Johnson 등, 1988).

망막시상하부로는 망막신경절세포(retinal ganglion cell)에서 기시하여 시각신경과 시각신경교차(optic chiasm)를 지나 시각교차위핵으로 투사되는 섬유, 앞시상하부영역(anterior hypothalamic area)으로 투사되는 섬유, 뒤시각교차영역(retrochiasmatic area)으로 투사되는 섬유 및 외측시상하부영역(lateral hypothalamic area)으로 투사되는 섬유로 나눌 수 있다. 시각교차위핵으로 투사되는 섬유는 시각교차 바로위에 놓인 일련의 전종말 축삭돌기와 신경종말로 신경분포는 매우 일정하고 치밀하다. 전자현미경으로 관찰할 때 시각교차위핵에 중지하는 망막시상하부의 신경종말은 전형적인 관상의 사립체를 함유한 투명한 세포질내에 가끔 크고 치밀한 소포와 작고 구형의 소포를 지니고 있다. 이 망막시상하부의 신경종말은 연접후막인 가시돌기와 대칭적 및 비대칭적 연접을 하고 있으며, 시각교차위핵의 배쪽외측부에 치밀하게 중지하는 이외에 시각교차위핵의 등쪽내측부에도 산발적으로 중지하고 있다(김진상 등, 1997)

무릎시상하부로는 시상에 위치한 외측무릎핵(lateral geniculate nucleus) 내 등쪽핵(dorsal nucleus)과 배쪽핵(ventral nucleus) 사이에 위치하며 등측과 반대쪽 눈의 망막으로부터 시각정보를 받는 무릎사이작은핵(intergeniculate leaflet)의 신경원에서 기시하여 시각교차위핵의 배쪽외측부에 중지하는 이차적 시각전도로이다. 무릎사이작은신경핵내에는 neuropeptide Y(NPY)가 함유되어 있으며, 반대측의 외측무릎사이작은신경핵으로 가는 신경섬유도 내게 되는데 여기에는 신경전달물질인 enkephalin이 함유되어 있고, GABA는 반대측 외측무릎사이작은신경핵과 시각교차위핵으로 가는 신경섬유 모두에서 관찰되는 신경전달물질이다. 따라서 시각교차위핵으로 유입되는 모든 수입신경섬유들이 VIP 함유신경세포들과 신경연접을 이루고 있는 것으로 볼 때 배쪽외측부내의 VIP 함유 신경세포는 외부신호를 받아들이는데 중요한 역할을 수행하리라 생각된다(Okamura 등, 1987). 반면에 등쪽내측부는 수입신경섬유는 거의 관찰할 수 없고 주로 내재성 시각교차위핵 신경섬유로만 구성되어 있다. 따라서 VP함유 신경세포는 발진기(oscillator)로서의 역할을 수행한다고 생각된다(Yamase 등, 1991).

동물의 주관적인 암주기에 빛자극을 주면 위상이동(phase shift)이 일어난다. 이 때 시각교차위핵에서는 여러

가지 개재초기유전자(intermediate-early gene)의 발현이 일어나는데, c-fos나 jun-B 같은 것이 대표적인 것들이다 (Rusak 등, 1995). 망막시상하부와 망막무릎체로를 통한 빛 자극은 시각교차위핵과 무릎사이작은신경핵에서 세포성암유전자의 일종인 c-fos를 발현시킨다. 시각교차위핵의 c-fos 발현의 정도는 망막시상하부의 양과는 직접적으로 일치하지 않으며 c-fos 발현에 망막시상하부 이외의 다른 경로가 존재할 것이라는 가능성을 시사한다. 또한 흥분성 아미노산인 L-glutamate는 RHT에서 주된 흥분성 신경전달물질인데(Ebling, 1996). 따라서 NR1과 NR2 subunit으로 구성된 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체 등 여러 glutamate 수용체가 in situ hybridization 기법 등을 통해 NR1 mRNA와 NR2 mRNA 등이 시각교차위핵에서 발현된다고 알려지고 있다(Gannon과 Rea, 1994). 이러한 유전자발현에 관한 연구는 일주기의 분자적인 기전을 이해하는데 중요한 구심점이 되어 최근 이에 대한 연구가 활발히 진행 중이다. 이들 개재초기유전자 이외에도 c-AMP responsive element binding protein(CREB)의 인산화도 일어나며 이는 빛자극에 의해 protein kinase A(PKA) 계통의 신호전달체계의 변동이 동반됨을 시사한다 (Kornhauser 등, 1992).

또한 시각교차위핵은 망막시상하부와 무릎시상하부로부터 오는 수입신경섬유외에 다른 시상하부신경핵, serotonin을 함유한 솔기핵(raphe nucleus) 등으로부터 수입신경섬유를 받으며, 송과체에서 분비되는 호르몬인 melatonin에 대한 많은 수용체가 존재하는데 melatonin은 시각교차위핵의 정확한 일주기조절의 되먹이 기전에 관여한다. 이에서 시각교차위핵에 중지하는 망막시상하부의 신경종말내에는 흥분성 신경전달물질로서 glutamate가 함유되어 있는데 이는 NMDA 수용체 길항제가 빛에 대한 일주기조절기능을 차단한다는 보고와 깨어있는 동물의 시각교차위핵에 glutamate를 투여하면 통상적으로 빛에 의해생산되는 것과는 다른 위상반응 곡선(phase response curve)을 생산한다는 보고에서 확인되었다. 그리고 N-acetylglutamate 도 시각교차위핵에 중지하는 망막시상하부의 신경종말에서도 확인되었는데 이는 시각신경의 자극과 유사한 효과를 산출하는 것으로 알려졌으며, 그 외에도 substance P 가 시각교차위핵에 중지하는 망막시상하부의 신경종말에 함유되어 있다.

한편, bombesin은 개구리(*Bombina bombina*)의 피부에서 처음으로 분리된 tetradecapeptide인데(Anastasi 등,

1971) gastrin releasing peptide(GRP)로도 불리며 시상하부의 중상핵(arcuate nucleus), 중간뇌다리사이핵(midbrain interpeduncular nucleus), 고립로핵(solitary tract nucleus), 삼차신경척수핵(nucleus tractus spinalis of trigeminal nerve) 등에서 관찰된다(Moody 등, 1981). 또한 최근에 bombesin이 흰쥐 시각교차위핵의 배쪽외측부에서 관찰되어 VIP 뿐만아니라 bombesin 또한 시각교차위핵의 일주기조절에 어떤 역할을 수행할 것으로 기대된다(Mikkelsen 등, 1991, Earnest 등, 1993, Shinohara 등, 1993). Bombesin은 포유류 중추신경계(Brown 등, 1978), 소화기계(Polak 등, 1976), 척수(Minamino 등, 1983) 및 교감신경절(Schultzberg, 1983) 등에서 동정되었고, Bombesin 주입은 동물의 물기(biting)와 핏대 긁기(scratching) 등의 행동양상을 나타내지만(O'Donohue 등, 1984), bombesin의 중추적 기능에 대해서 알려진 바가 거의 없다.

따라서 bombesin이 시각교차위핵으로 유입되는 수입신경종말에서 분비되어 일주기조절에 깊게 관여하고 있다는 것에 대한 연구가 진행되고 있으나 모래쥐의 시각교차위핵내 bombesin의 면역반응성에 대한 연구는 이루어지고 있지 않아 본 연구는 colchicine 처리후 흰쥐와 모래쥐 시각교차위핵내 bombesin의 면역조직화학반응 정도를 비교관찰함으로써 일주기조절에서의 bombesin의 역할을 규명하는 기초연구로 활용하기 위해 시도되었다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험동물

Sprague Dawley 계 웅성 흰쥐(B.W. : 200 - 350 gm) 10 마리와 웅성 모래쥐 10 마리를 본 실험에 사용하였다. 사료와 물은 실험 전과정을 통해 자유로이 공급하였고, 광주기는 12시간은 밝게, 12시간은 어둡게 하여 표준화하였다. 실험관리는 American Association for accreditation of Laboratory Animal Care 와 Animal Welfare (Public Law 99-198)의 관리지침에 준했다. 모든 실험동물은 각 실험의 전과정을 통해 Biosafety level 2 laboratory 내로 국한시켰다.

### 2. 물시킨 주입

실험동물은 Ketamine (50 mg/ml)과 Xylazine

hydrochloride (20 mg/ml)를 각각 체중 gm 당 0.15 ml와 0.05 ml 씩 혼합시켜 복강내 주사하여 마취시킨 후 stereotaxic apparatus를 이용해 실험동물 머리의 위치를 고정시켰다. Colchicine 주입부인 뇌축뇌실 (Bregma AP-0.8 mm, L-1.5 mm, H-3.3~3.6 mm)에 Hamilton 주사기를 이용해 흡수된 50 ug/100 gm B.W.을 주입한 후 24~48 시간 생존시킨 뒤 실험에 이용했다.

### 3. 조직처리

Cochicine 주입 후 24~48 시간의 생존기간을 준 다음 다시 동일 마취액으로 마취시키고 심장을 통해 관류고정을 실시하였다. 관류고정은 먼저 0.1 M sodium phosphate buffer (PB)에 heparin (1000IU/1000 ml)을 섞은 용액을 10분간 관류시키고 4% paraformaldehyde-llysine-periodate (PLP)를 30분간 관류시켰다. 관류고정이 끝난 후 대뇌, 소뇌 및 뇌줄기와 척수를 등을 적출한 다음 동일 고정액에 넣어 4 C에서 4시간 후고정을 실시하였다. 그 후 다시 0.1 M PB로 1시간 동안 수세하고 20% phosphate buffered sucrose 용액에 담가 4 C에서 12시간 내지 48시간 동안 보관하였다. 보관된 뇌조직들은 동결절편기 (Cryostat, AO)를 이용하여 약 35  $\mu$ m 두께의 연속 횡단절편을 만들어 6 well plate에 순서대로 보관하여 약 500장의 조직절편을 자유부유법 (Free floating method)으로 Hsu 등 (1981)의 방법에 의해 면역조직화학염색을 실시하였다.

### 4. 면역조직화학염색

일차항체인 rabbit anti-bombesin (1:5,000)에 조직절편들을 담가 실온에서 12 시간 내지 24시간동안 반응시켰다. 이 때 일차항체의 희석은 0.1 M PB에 1% normal donkey serum (Vector Lab.)과 0.3% Triton X-100(Sigma)이 혼합된 것을 사용하였다. 그 후 조직절편들을 실온에서 10분간 3회 0.1 M PB로 세척하여 2차항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector Lab.)를 1:200으로 희석하여 실온에서 1시간 가량 반응시켰다. 그 후 다시 0.1M PB로 15분간 2회의 수세과정을 거친 후 peroxidase가 표지된 Avidin-Biotin Complex (ABC) 용액에 담가 실온에서 1시간 가량 반응시켰다. 그 후 다시 0.1M PB로 15분간 2회 수세하고 나서 30  $\mu$ l의 3'3' diaminobenzidine(DAB)을 150 ml의 0.1 M PB에 녹인 용액에서 5분간 반응시킨 후 과산화수소수(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 0.005%

되게 첨가하여 갈색의 발색반응을 약 10분간 시행하였다. 반응이 끝난 조직들은 다시 0.1 M PB에 여러차례 수세하고 gelatin이 입혀진 슬라이드 위에 차례대로 얹어 4 C에서 12시간 이상 건조시켰다. 그 후 통상적인 방법에 따라 ethanol과 xylene의 탈수와 투명화 과정을 거친 후 permount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

## III. 결 과

시각교차위핵은 시상하부의 뇌실주위구역(periventricular zone) 중 앞구역(anterior region)에 위치하는 신경핵이며 작고 매우 밀집한 신경세포들로 구성되어 있으며 시각교차에 의해 앞배쪽으로 경계지어 있고, 시각위교차(supraoptic commissure)에 의해 뒤배쪽으로 경계되어진다. 원위에서 시각교차위핵은 전두면으로 절단된 뇌조직절편에서 일반적으로 Nissl 염색 또는 조직화학염색방법에 의해 세포구축학적으로 등쪽내측부(dorsomedial portion)와 배쪽외측부(ventrolateral portion)로 명확히 나뉘어 지는데 등쪽내측부는 배쪽외측부보다 상대적으로 더 작은 신경세포들로 구성되어 있다(van del Pol, 1980).

세포배대 중 액틴섬유와 미세관을 파괴하여 신경전달물질 또는 신경펩티드의 축삭내 이동을 억제시키는 물질로 알려진 colchicine을 모래쥐와 흰쥐의 측뇌실에 투여한 후 colchicine이 시각교차위핵내 bombesin에 대한 면역조직화학반응에 미치는 영향을 규명하고, 최근 신경계와 혈관계 질환의 징복을 위해 유용한 실험동물로 각광을 받고 있는 모래쥐와 흰쥐의 시각교차위핵내 bombesin 면역조직활성도를 비교관찰 하고자 수행된 본 연구의 결과에서 모래쥐와 흰쥐는 상당한 차이점을 나타내었다.

### 1. 시각교차위핵의 형태적 차이

모래쥐와 흰쥐 모두 시각교차위핵은 시상하부의 아래, 시각교차(optic chiasm) 위에 위치하여 위치에 대한 차이점은 관찰할 수 없었다. 그러나 시각교차위핵의 모양과 크기는 상당한 차이를 보여 시각교차위핵의 면적은 흰쥐의 경우가 모래쥐의 경우보다 다소 크게 관찰되었다. 시각교차위핵의 모양은 흰쥐의 경우 대체로 밀변보다 양변이 긴 삼각형 모양이었으나, 모래쥐의 경우는 가운데 부분의 지름이 긴 타원형, 또는 안쪽은 불룩한 콩팥 모양

이었다. 또한 시각교차위핵의 구획에 있어서도 현저한 차이를 보였는데 흰쥐의 시각교차위핵은 배쪽의측부와 동쪽내측부로 나뉘어지지만, 모래쥐의 경우 시각교차위핵이 배쪽내측부와 동쪽의측부, 또는 위쪽부와 아래쪽부로 나뉘어졌다(Fig.A).

## 2. Bombesin에 대한 면역반응성 차이

흰쥐와 모래쥐 시각교차위핵의 bombesin 면역조직화염색성은 colchicine 처리한 경우가 colchicine 처리를 하지 않은 경우보다 강하게 관찰되어 colchicine이 축삭돌기내 미세관을 통한 bombesin의 이동을 차단하는 효과를 나타내었으며, 흰쥐와 모래쥐 모두 시각교차위핵의 세포구축학적 두부분 모두 유의한 차이를 보였다. 흰쥐와 모래쥐의 시각교차위핵의 bombesin에 대한 면역조직화염색성 비교에서 흰쥐의 경우 배쪽의측부가 동쪽내측부보다 강한 양성반응을 보였고, 모래쥐의 경우 배쪽내측부 또는 아래쪽이 동쪽의측부 또는 위쪽보다 염색성이 강했다. 또한 시각교차위핵내 bombesin에 양성반응을 보인 세포와 신경섬유의 흰쥐와 모래쥐의 비교에서 흰쥐의 경우 시각교차위핵의 배쪽의측부에는 난원형, 타원형, 삼각형 또는 방추형의 신경세포체와 정맥류 모양의 신경섬유가 동시에 강한 양성반응을 나타냈지만, 동쪽내측부에는 신경섬유만이 양성반응을 나타내었다. 그러나 모래쥐의 경우 시각교차위핵내 배쪽내측부 또는 아래쪽과 동쪽의측부 또는 위쪽 모두에서 bombesin의 면역조직화염색반응에 양성반응을 보인 신경세포체는 관찰되지 아니하여 흰쥐와 상당한 차이를 나타내었다(Fig. A).

## IV. 고찰

시각교차위핵은 포유류의 일주기조절 중추로서 작용하는데 이는 외과적으로 시각교차위핵이 제거된 동물에서 일주기가 소실되거나 또는 심하게 손상이 되며 (Rusak 와 Zucker, 1979), 일주기조절이 소실되거나 손상된 동물에게 정상 시각교차위핵을 조직이식하였을 경우 공여동물의 일주기가 회복된다(Ralph 등, 1990). 또한, 일주기조절 외에 시각교차위핵은 환경조절의 변화에 민감하게 반응하는데 특히 빛 자극에 의한 내인성 시간조절에 관여하는데 이러한 활동은 시각교차위핵으로 유입되는 수입신경섬유들의 협응작용으로 가능하게 된다 (Johnson 등, 1988). 따라서 시각교차위핵의 VIP 함유 신경세포가 망막시상하부로(geniculohypothalamic tract)와 무릎시상하부로(geniculohypothalamic tract)를 통해 망막으로부터 신경전도를 받는 것으로 보아 VIP는 신경원은 일주기조절 신호전달의 주된 세포일 가능성 있다. 이러한 일주기조절 중추로서 작용하는 시각신경위핵도 VIP, VP, NPY, GABA, L-glutamate 등 30 여 종이 넘는 신경전달물질 또는 신경펩티드 등의 정확한 분비조절을 통해 그 활성이 유지되고 있어 이에 대한 연구를 통해 아직 명확하게 밝혀져 있지 않은 밤낮 행동리듬의 신호전달의 기전이 차츰 밝혀지고 있다.

Bombesin은 Gastrin releasing peptide(GRP)로도 불리며 개구리(*Bombina bombina*)의 피부에서 처음으로 분리된 tetradecapeptide로서(Anastasi 등, 1971), 위장관계통(Polak 등, 1976), 척수(Minamino 등, 1983) 및 교감신경절(Schultzberg, 1983) 등에서 동정될 뿐만아니라, 중추

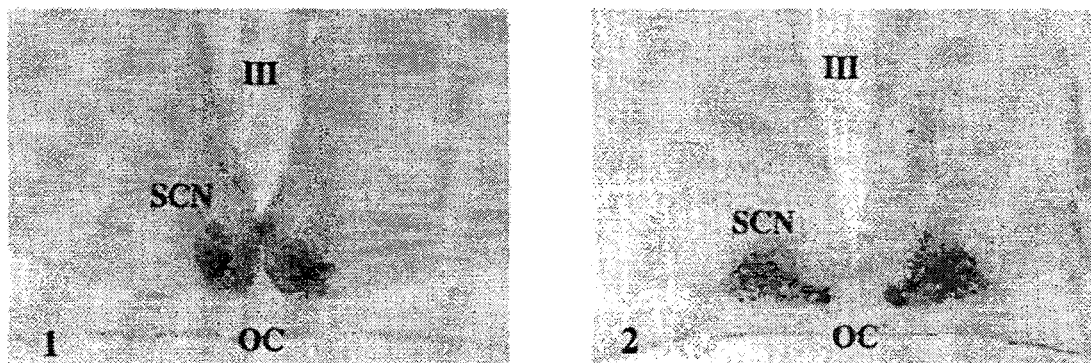


Fig A. The morphological and immunoreactivity differences of suprachiasmatic nucleus in hypothalamus between Mongolian gerbil(1) and rat after colchicine treatment.

III : Third ventricle, OC : Optic chiasm, SCN : Suprachiasmatic nucleus

신경계에서도 다수 동정이 가능한데 시상하부의 궁상핵(arcuate nucleus), 중뇌다리사이핵(midbrain interpeduncular nucleus), 고립로핵(solitary tract nucleus) 및 삼차신경척수핵(nucleus tractus spinalis of trigeminal nerve) 등에서 관찰된다(Moody 등, 1981, Brown 등, 1978). 그러나 bombesin의 중추신경계내 기능에 대한 연구는 미비하여, bombesin의 주입이 동물의 무는 행위(biting)와 핥기는 행위(scratching) 등의 행동양상을 나타내지만(O'Donoghue 등, 1984), bombesin의 중추성 기능에 대해서 알려진 바가 거의 없었다. 그러나 최근 bombesin도 흰쥐 시각교차위핵의 배쪽외측부에서 관찰되어(Mikkelsen 등, 1991, Earnest 등, 1993, Shinohara 등, 1993), bombesin이 시각교차위핵으로 유입되는 수입신경중말에서 분비되어 일주기조절에 깊게 관여하고 있다는 것에 대한 연구가 진행되고 있으나 모래쥐의 시각교차위핵내 bombesin의 면역반응성에 대한 연구는 이루어지고 있지 않아 본 연구는 cochlincine 처리후 흰쥐와 모래쥐 시각교차위핵내 bombesin의 면역조직화학반응 정도를 비교관찰함으로써 일주기조절에서의 bombesin의 역할을 규명하는 기초연구로 활용하기 위해 시도되었다.

한편, 세포배대 중 액틴섬유와 미세관을 파괴하여 신경전달물질 또는 신경펩티드의 축삭내 이동을 억제시키는 물질로 알려진 colchicine을 모래쥐와 흰쥐의 축삭실에 투여 후 bombesin에 대한 면역조직화학반응을 실행한 바 시각교차위핵의 면적은 흰쥐의 경우가 모래쥐의 경우보다 다소 크게 관찰되었으며 시각교차위핵의 모양은 흰쥐의 경우 대체로 밀변보다 양변이 긴 삼각형 모양이었으나, 모래쥐의 경우는 가운데 부분의 지름이 긴 타원형, 또는 안쪽은 불룩한 콩팥 모양으로 관찰되었다. 또한 시각교차위핵의 구획에 있어서도 현저한 차이를 보여 흰쥐의 시각교차위핵은 배쪽외측부와 등쪽내측부로 나뉘어지지만, 모래쥐의 경우 시각교차위핵이 배쪽내측부와 등쪽외측부, 또는 위쪽부와 아래쪽부로 나뉘어져 관찰되었다. 이는 흰쥐와 모래쥐의 시각교차위핵이 형태학적으로 많은 차이를 보인 것으로 이에 수반하여 일주기 조절에 관여하기 위해 시각교차위핵으로 투사되는 수입신경섬유의 분포도 상당한 차이를 보일 것으로 사료된다. 그 증거로 본 연구를 통한 실험에서 흰쥐와 모래쥐 시각교차위핵의 bombesin 면역조직화학염색성은 colchicine 처리한 경우가 colchicine 처리를 하지 않은 경우보다 강하게 관찰되어 cochlincine이 축삭들기내 미세관을 통한 bombesin의 이동을 차단하는 효과를 나타내었

으며, 흰쥐와 모래쥐 모두 시각교차위핵의 세포구축학적 두부분 모두 유의한 차이를 보였다. 흰쥐와 모래쥐의 시각교차위핵의 bombesin에 대한 면역조직화학염색성 비교에서 흰쥐의 경우 배쪽외측부가 등쪽내측부보다 염색성이 강했고, 모래쥐의 경우 배쪽내측부 또는 아래쪽이 등쪽외측부 또는 위쪽보다 염색성이 강했다. 또한 시각교차위핵내 bombesin에 양성반응을 보인 세포와 신경섬유의 흰쥐와 모래쥐의 비교에서 흰쥐의 경우 시각교차위핵의 배쪽외측부에는 난원형, 타원형, 삼각형 또는 방추형의 신경세포체와 정맥류 모양의 신경섬유가 동시에 강한 양성반응을 나타냈지만, 등쪽내측부에는 신경섬유만이 양성반응을 나타내었다. 이는 흰쥐의 시각교차위핵내에서 bombesin 함유 신경세포는 등쪽보다 배쪽에 더욱 많이 분포하고 있고, VIP 함유신경세포보다 더욱 외측으로 신경섬유를 투사한다는 보고와 상당히 일치하는 것으로 나타났다. 그러나 모래쥐의 경우 시각교차위핵내 배쪽내측부 또는 아래쪽과 등쪽외측부 또는 위쪽 모두에서 bombesin의 면역조직화학반응에 양성반응을 보인 신경세포체는 관찰되지 아니하여 흰쥐와 상당한 차이를 나타내었다. 따라서 이러한 차이가 의미하는 바를 조속히 밝혀내어 모래쥐를 질환모델동물로 적극 개발하여 여러 질환 예방에 대한 치료방법을 개발할 수 있는 연구활동의 기본동물로 널리 이용되어 그 가치를 높일 수 있도록 집중적 연구가 수행되어야 한다고 생각된다.

## V. 결 론

Colchicine 투여가 흰쥐와 모래쥐 시각교차위핵의 bombesin 면역조직화학염색성에 미치는 영향을 관찰하고, 최근 실험동물로서 중요한 모델이 되고 있는 모래쥐와 흰쥐의 차이를 비교관찰하기 위하여, Sprague Dawley 계 웅성 흰쥐 10마리 (200 - 350 gm B.W.)와 웅성 모래쥐 10마리를 12시간 낮주기와 12시간 밤주기로 키운 다음, colchicine 투여 후 bombesin 항체를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 시각교차위핵의 모양은 흰쥐의 경우 밀변보다 양변이 긴 삼각형 모양이었으나, 모래쥐의 경우는 가운데 부분의 지름이 긴 타원형, 또는 안쪽은 불룩한 콩팥 모양이었다.
2. 흰쥐와 모래쥐의 시각교차위핵은 배쪽외측부와 등

쪽내측부로 나뉘어지지만, 모래쥐의 경우 배쪽내측부와 등쪽외측부, 또는 위쪽부와 아래쪽부로 나뉘어졌다.

3. 시각교차위핵의 면적은 흰쥐의 경우가 모래쥐의 경우보다 다소 크게 관찰되었다.

4. 흰쥐와 모래쥐 시각교차위핵의 bombesin 면역조직화학염색성은 colchicine 처리한 경우가 colchicine 처리를 하지 않은 경우보다 잘 염색되었으며 시각교차위핵의 두부분 모두 유의한 차이를 보였다.

5. 흰쥐와 모래쥐의 시각교차위핵의 bombesin 면역조직화학염색성은 흰쥐의 경우 배쪽 외측부가 등쪽내측부보다 염색성이 강했고, 모래쥐의 경우 배쪽내측부 또는 아래쪽이 등쪽외측부 또는 위쪽보다 염색성이 강했다.

6. 시각교차위핵의 bombesin 면역조직화학염색성은 흰쥐의 경우 배쪽외측부에는 난원형, 타원형, 삼각형 또는 방추형의 신경세포체와 정맥류 모양의 신경섬유가 동시에 관찰되었지만 등쪽내측부에는 신경섬유만이 관찰되었고, 모래쥐의 경우 배쪽내측부 또는 아래 쪽과 등쪽외측부 또는 위쪽 모두에서 신경세포체는 관찰되지 아니하였다.

### <참 고 문 헌>

김재봉, 박환태, 임미경, 등 : 흰쥐 시각교차위핵에서 c-AMP responsive element modulator의 발현 및 조절에 관한 연구. 대한해부학회지, 29(4):349-356, 1996.  
김진상 : 흰쥐의 일주기조절중추내 바이러스 감염에 대한 매개변수 분석. 대한물리치료 학회지 10(2):113-125, 1998  
김진상, 이성준, Card JP : 설치류에서 알파 Herpes 바이러스의 신경친화성과 침습. 대한 물리치료학회지 9(1):59-70, 1997.  
Boulos Z, Rusak B : Circadian phase response curves for dark pulses in the hamster. J Comp physiol 146 : 411-417, 1982.  
Cassone VM, Chesworth MJ, Armstrong SM : Entrainment of rat circadian rhythms by daily injection of melatonin depends on the hypothalamic suprachiasmatic nuclei. Physiol Behav 36 : 523-529, 1976.  
Hsu SM, Raine L, Fanger H : Use of avidin-biotin peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase technique: A comparison between ABC and unlabelled antibody(PAP) procedure. J Histochem Cytochem 29 : 577-580. 1981.

Ichimura E, Ogawa K, Taniguchi K : Morphological studies on the effects of dehydration on the renin-immunoreactive cells in the kidney of the Mongolian gerbil(Meriones unguiculatus). Jikken Dobutsu 42:327-335, 1993.

Johnson RF, Morin LP, Moore RY : Retinohypothalamic projections in the hamster and rat demonstrated using cholera toxin. Brain Res 462 : 301-312. 1988a

Jin-Sang Kim, Enquist LW, Card JP : Circuit-specific coinfection of neurons in the rat central nervous system with two pseudorabies virus recombinants. J Virology 73: 1999.

Johnson, RF, Moore, RY, Morin LP : Lateral geniculate lesions alter circadian activity rhythms in the hamster. Brain Res Bull 22 : 411-422, 1989.

Kornhauser SM, Nelson DE, Mayo KE, et al : Regulation of jun-B messenger RNA and AP-1 activity by light and a circadian clock, Science 225: 1581-1584, 1992.

Meijer JH & Rietveld WJ : The neurophysiology of the suprachiasmatic circadian pacemaker in rodents. Physiol Rev 69 : 671-702.

Moody TW, O'Donohue TL, Jacobowitz DM : Biochemical localization and characterization of bombesin-like peptides in discrete regions of rat brain. Peptides, 2:75-79.

Nauta WJ, Haymaker W : Hypothalamic nuclei and fiber connections. In : The hypothalamus. eds. pp. 136-209, Springfield, 1967.

Norris M, Barnard RR, Sain LE : Osmotic mechanisms regulating cerebrospinal fluid vasopressin and oxytocin in the conscious rat. Neuroendocrinol 39: 377-384, 1984

Mikkelsen JD, Larsen PJ, O'hare NMT, et al : Gastrin releasing peptide in the rat suprachiasmatic nucleus : an immunohistochemical, chromatographic and radioimmunological study. Neuroscience 40:55-66, 1991.

Pickard GE : The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. J Comp Neurol 211 : 65-83, 1987.

Okamura H, Takahashi T, Terabayashi H, Hamada S, et al : VIP-like immunoreactive neurons and retinal projections in the suprachiasmatic nucleus. Biomed Res 8:253-262, 1987.

Riley JN, Card JP, Moore RY : A retinal projection to the lateral hypothalamus in the rat. Cell Tiss Res

- 241 : 257-269, 1981.
- Rusak B, Zucker I : Neuronal regulation of circadian rhythm. *Physiol Rev* 59:449-526, 1979.
- Ralph MR, Foster RG, Davis FC, et al : Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247:975-978, 1990.
- Swanson LW , Sawchenko PE : Hypothalamic integration : organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Ann Rev Neurosci* 6 : 269-324. 1983.
- Takatsuji K, Miguel-Hidalgo JJ , Tohyama M : Substance P-immunoreactive innervation from the retina to the suprachiasmatic nucleus in the rat. *Brain Res* 568 : 223-229.
- van del Pol AN : The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat intrinsic anatomy. *J Comp Neurol* 191: 661-702, 1980.
- Watts AG, Swanson LW : Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus :II. Studies using retrograde transport of fluorescent dyes and simultaneous peptide immunohistochemistry in the rat. *J Comp Neurol* 258:230-252, 1987.
- Yamase K, Takahashi S, Nomura K, et al : Circadian changes in arginine vasopressin level in the suprachiasmatic nucleus in the rat. *Neurosci Lett* 130:255-258, 1991.