

발달중인 Mongolian gerbil의 전뇌에서 TH 면역반응세포의 분포에 관한 연구

이경열 · 박일권 · 권효정 · 박미선 · 송치원 · 김무강 · 장규태*
이강이** · 김원식*** · 박원학****

충남대학교 수의과대학, *생명공학연구원, **대전대학교 한의과대학
충남대학교 의과대학, *영남대학교 생물학과
(2001년 5월 28일 게재승인)

The study on the TH(tyrosine hydroxylase) immunoreactive cells in forebrain of developing mongolian gerbil

Kyoung-youll Lee, Il-kwon Park, Hyo-jung Kwon, Mi-sun Park, Chi-won Song,
Moo-kang Kim, Kyu-tae Chang*, Kang-iee Lee**, Won-sik Kim***, Won-hark Park****

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University

**Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology*

***College of Oriental Medicine, Taejon University*

****College of Medicine, Chungnam National University*

*****Department of Biology, Yeungnam University*

(Accepted by May 28, 2001)

Abstract : The immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase(TH) is examined in the developmental forebrain of mongolian gerbil in order to determine changes in the distribution and cytology of neurons. At each of the different developmental stage, including prenatal(E)14, E16, E18, E20, postnatal(P)0, P2, P4 days, mongolian gerbils were sacrificed. In E14, TH-IR cells were predominantly round or oval in shape and their processes were very short. In olfactory blub, TH-IR cells were begun to appear from E20. In the striatum, we observed only fibers of TH-IR at all ages. From E16, TH-IR perikarya and fiber were present in periventricular nucleus and paraventricular nucleus of hypothalamus. The changes from the early to the late prenatal stages of development appear to be the result of an increase in number of TH-IR perikarya and processes. These results were shown slight differences to other rodents.

Key words : mongolial gerbil, TH, development

서 론

Tyrosine hydroxylase(이하 TH)는 중추신경계통내에 존재하는 여러 종류의 신경전달물질중의 하나인 catecholamine 합성효소중의 하나로서 catecholamine은 TH, aromatic amino acid decarboxylase(AADC), Dopamine β Hydroxylase (DBH) 및 Phenylalanine N Methyltransferase (PNMT)와 같은 catecholamine 합성효소를 이용하는 일련의 생합성 경로를 통해 tyrosine으로부터 차례로 합

성되는 L-3,4-dehydroxyphenylalanine(L-DOPA), dopamine, noradrenaline 및 adrenaline을 총칭하는 용어로 정의될 수 있다¹. Catecholamine이 뇌, 교감신경, 교감신경절 및 크롬친화성세포에서 전구체 아미노산인 tyrosine으로부터 효소촉매 작용에 의해서 형성된다는 사실이 밝혀진 이후¹, Vogt (1954)²가 noradrenaline의 함량을 측정하여 중뇌와 시상하부에 높은 농도로 존재한다고 보고하였고, 이어 Carlsson (1959)³은 dopamine이 줄무늬체(corpus striatum) 내에 대단히 높은 농도로 존재함을 밝히고

catecholamine 길항제인 reserpine을 투여하면 dopamine이 고갈되어 Parkinson 씨병과 유사한 부작용이 나타남을 관찰 보고한 바 있다. 그 후 Nagatsu 등 (1964)⁴은 tyrosine이 DOPA로 전환될 때 TH가 관여하고 있음을 밝힘으로써 생합성 과정의 많은 부분이 밝혀지게 되었다.

Mongolian gerbil(*Meriones unguiculatus*, 이하 gerbil)은 마우스의 두 배 정도 크기로 성질이 매우 온순하며 선천적으로 불완전한 뇌바닥혈관인 Willis circle과⁵ 특이한 콜레스테롤 대사를 가지고 있을 뿐만 아니라⁶ 작은 자극에도 전간양 발작을 일으키며 오랜 기간 절수를 시켜도 생존할 수 있는 특수한 수분대사를 하고 있는 동물로써 알려져 있어⁷ 최근 뇌생물학연구방법에서 그 이용이 증가하고 있는 동물이다. 이에 본 연구에서는 gerbil의 발생에 따라 뇌에 분포하는 TH의 분포양상을 알아봄으로써 실험동물에 많이 사용되어지고 있는 gerbil이 다른 실험동물과 어떠한 차이를 나타내는지 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 태아와 신생아를 얻기 위하여 건강하고 성숙한 암수 gerbil을 이용하였다. 발정유발을 위하여 암컷에 PMSG(pregnant mare serum gonadotropin, 10IU)와 HCG(human chorionic gonadotropin, 10IU)를 주사한 후 수컷과 합사시켰으며 합사한 다음날 수컷을 분리한 후 이날을 임신 0일로 하였다. 태아 14일령(E14), 16일령(E16), 18일령(E18), 20일령(E20), 생후 0일령(P0), 2일령(P2), 4일령(P4)의 gerbil을 각각 2마리씩의 모체로부터 얻었다.

면역조직화학적 연구방법(광학현미경)

1. 실험동물 처리

태아의 경우에는 모체를 ethyl ether를 이용하여 마취를 시켜서 자궁을 적출하고 태아를 꺼낸 후, 태아의 심장을 통해 0.1M PBS로 관류수세 및 4% paraformaldehyde (in 0.1 M PBS, pH 7.4)로 관류 고정하였다. 그후 태아 전체(14-16 days) 혹은 두부를(18-20 days) 동일용액에 6시간~12시간 후고정하였다. 생후 일령은 ethyl ether로 전신 마취시킨 뒤 왼쪽심실로 0.1M PBS를 주입하여 관류수세시킨 후 4% paraformaldehyde로 관류 고정하였다. 이어 머리뼈를 절개하여 뇌를 적출하고 동일 고정액에 6~8시간 후고정하였다. 후고정이 끝나면 냉동절편시 병결방지를 위하여 10% sucrose(in 0.1M PBS)에 24시간 침적시키고 다시 30% sucrose(in 0.1M PBS)에 가라앉을 때까지 담가 놓았으며 가라앉은 조직은 냉동절편

을 하기 전까지 -70°C에 냉동보관하였다.

태아의 경우(E14-E20)는 두부전체를 20 μm의 두께로 냉동절편(Leica사의 cryocut 이용)하여 2% silane으로 코팅 처리된 슬라이드에 부착한 후 면역염색을 시행하였으며 신생아(P0-P4)의 경우에는 40 μm의 두께로 절편을 내어 부유법으로 면역염색을 시행하였다.

2. 항체 및 시약

본 실험에 이용하는 1차 항체는 rabbit-anti TH(Instar)를 1% BSA(bovine serum albumin)와 0.3% Triton X-100이 함유된 0.1M PBS 용액으로(이하 T-PBS) 1:1000 희석하여 사용하였고, 2차 항체로는 biotinylated swine anti-rabbit Ig G(Vector)를 역시 T-PBS로 1:200 희석하였다. 발색을 위한 항체로는 peroxidase-conjugated avidin(Vector)을 같은 기질용액으로 1:100으로 희석하여 사용하였고 peroxidase와 반응하여 발색을 일으키게 하기 위하여 0.1M PBS 100 ml 당 3,3'-diaminobenzidine-4HCl(Sigma) 40 mg을 용해한 후, 2회 여과하여 과산화수소수를 0.0045% 되도록 첨가시켰다(이하 DAB 용액이라 함).

3. 면역염색

TH의 면역염색에 앞서 조직절편에 남아 있는 sucrose를 제거하기 위하여 0.1M PBS로 수세한 후 조직 내에 존재하는 peroxidase를 제거하기 위하여 0.5% 과산화수소수 용액(in 0.1M PBS)에서 30분~1시간 반응시켰다. 이어 비 특이성 항원에 대한 면역반응을 방지하기 위하여 0.1M PBS에 1% NGS(normal goat serum), 1% BSA 및 0.3% Triton X-100를 넣어 만든 preincubation 용액에서 1~2시간 반응시켰으며, 그 후 1차 항체를 4°C에서 48시간(슬라이드용 절편)~72시간(부유법용 절편) 반응시킨 후 0.1M PBS로 10분간 3회 수세하였다. 이어 2차 항체를 실온에서 6~10시간(슬라이드용 절편) 또는 4°C에서 12~16시간(부유법용 절편) 반응시키며 다시 0.1M PBS로 10분간 3회 수세하고 peroxidase-conjugated avidin을 실온에서 1~2시간(슬라이드용 절편) 또는 4°C에서 3~6시간(부유법용 절편) 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후에 0.1M PBS로 수세하고 DAB 용액으로 5~20분간 발색시켰다. 발색이 끝난 슬라이드에 부착시킨 절편은 실온 또는 37°C incubator에서 건조시키고 부유법을 이용한 절편은 3% gelatin 용액내에서 슬라이드에 부착시켜 역시 실온 또는 37°C incubator에서 건조시켰다. 24~48시간 후 알코올 탈수 및 xylene 투명과정을 거쳐 canadian balsam을 이용하여 봉입하고 현미경으로 관찰하였다.

공초점현미경적 연구방법

공초점현미경을 이용한 연구의 실험방법은 동물처리 및 조직절편의 1차 항체 처리과정까지 광학현미경적 연구의 실험방법과 동일하다.

1. 항체 및 시약

2차 항체는 biotinylated swine anti-rabbit IgG conjugated FITC(Vector)를 0.1M PBS로 1:200 희석하여 사용하였다. 형광이 빨리 발산되는 것을 막기 위하여 1% p-phenylenediamine(in 90% glycerin) 액을 이용하여 봉입하였다.

2. 면역염색

1차 항체 처리과정까지는 광학현미경적 연구방법과 동일하며 0.1M PBS로 수세한 후 FITC와 결합된 2차 항체를 실온에서 6~10시간(슬라이드용 절편) 또는 4°C에서 12~16시간(부유법용 절편) 반응시킨 후 0.1M PBS로 10분간 3회 수세하였다. 형광이 빨리 발산되는 것을 막기 위하여 1% p-phenylenediamine(in 90% glycerin) 액으로 봉입하였고 공초점현미경(Leica, TCS-NT)을 이용하여 관찰하였다.

결 과

면역조직화학적 관찰

1. TH 면역반응세포의 분포

(1) 태아 14일령 (E14)

TH 항체에 면역반응을 보인 세포는 간뇌(diencephalon)의 시상하부에서 신경세포체와 신경섬유들을 관찰할 수 있는데, 시상하부에서도 뇌실 아래에 존재하는 neuroepithelium 부위보다는 연막쪽인 differentiating field에서 나타났다(Fig 1). 이 부위의 TH 면역반응 세포체는 그 모양이 대개 원형이나 타원형을 띄고 있었으며 돌기는 매우 짧게 존재했다. 또한 간뇌의 줄무늬체 부위에서는 TH 면역반응 세포체는 관찰되지 않았고 돌기만이 관찰되었다(not shown).

(2) 태아 16일령 (E16)

줄무늬체에 해당하는 부위에서는 TH 항체에 반응을 보인 신경섬유들만을 관찰할 수 있었다(not shown). 시상하부(hypothalamus)에서는 뇌실곁핵쪽(paraventricular nucleus, PVN)으로 TH 면역반응신경세포들이 분포하였고 세포체와 세포돌기들이 뚜렷하게 나타나는 것이 많았다(Fig 2). 또한 시상하부의 ventral hypothalamus 부위에서 TH에 염색된 세포체 및 섬유를 다수 관찰할 수 있었으며 세포체의 형태는 대부분이 타원형이고 두극형의 세포돌기를 가지고 있었다(Fig 3).

(3) 태아 18일령 (E18)

대조군 E16에 비해 TH 면역반응세포체의 수가 증가하였으며 그 세포체의 형태도 뚜렷하며 많은 세포돌기들이 발달되어 있는 것을 관찰할 수 있었다. 줄무늬체 부위에서는 TH 면역반응 신경세포체는 관찰되지 않았지만 많은 섬유들이 분포하고 있었다(Fig 4). 시상하부

뇌실곁핵쪽으로는 신경세포체와 신경섬유가 많이 증가하였고 세포의 돌기도 못극형을 나타냈다(Fig 5). 또한 시상하부의 바깥부위(lateral hypothalamus)에는 많은 수의 TH 면역반응세포들이 나타났으나 내측부(anterior hypothalamus)에는 거의 존재하지 않았다(not shown).

(4) 태아 20일령 (E20)

① 후각망울(olfactory bulb)

후각망울은 바깥층으로부터 속층으로 가면서 후각신경섬유층(olfactory nerve fiber layer), 사구체층(glomerular layer), 바깥얼기층(external plexiform layer), 승모세포층(mitral cell layer), 속얼기층(internal plexiform layer) 및 과립세포층(granule cell layer)의 6층으로 구분되었으며 가장 속층에는 백색질(white matter)이 관찰된다.

E20에서 처음으로 후각망울에 TH 면역반응세포가 관찰되었는데, 그 위치는 바깥얼기층에서 나타났다. 그러나 TH 면역반응 세포체의 수는 매우 적었다. 염색된 세포체는 타원형에 가까운 다각형으로 긴 세포돌기를 가지고 있었으며 이 돌기는 연결막과 평행으로 바깥얼기층 및 사구체층으로 뻗어 있었다(Fig 6).

② 줄무늬체(striatum)

줄무늬체는 꼬리-조가비핵과 창백핵의 두 부분으로 구분되며 고등포유류의 경우처럼 꼬리핵과 조가비핵이 나누어 구분되지 않는다.

이 부위에서는 TH 면역반응신경세포체들은 관찰되지 않았지만 TH 항체에 반응을 나타내는 많은 신경섬유들이 밀집해 있었다. 또한 이러한 신경섬유들은 창백핵(globus pallidus)에는 존재하지 않고 꼬리-조가비핵(caudate-putamen, CPu)과 편도체핵(amygdaloid nucleus)에서만 나타났다(Fig 7).

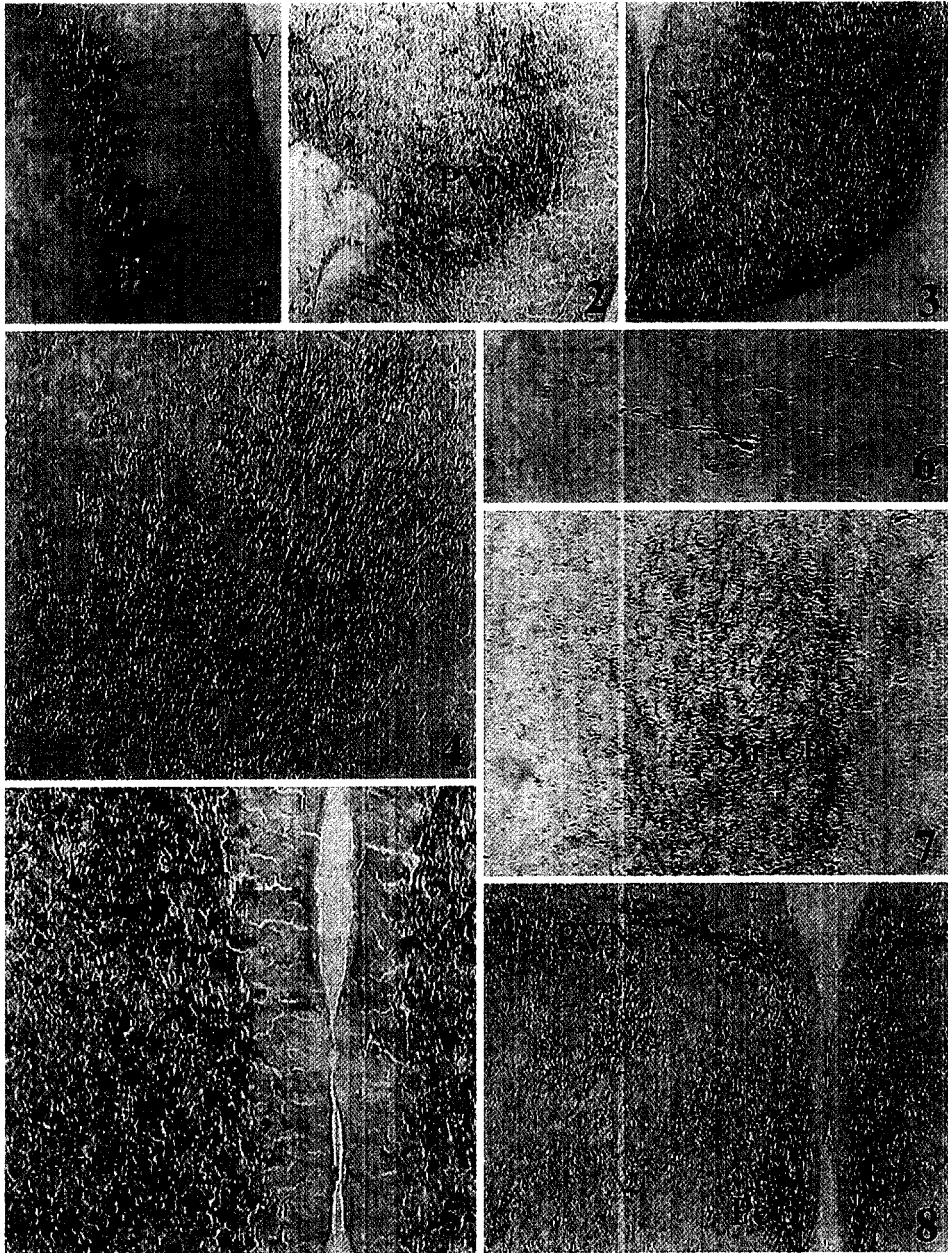
③ 간뇌의 시상하부(hypothalamus)

간뇌의 시상하부뇌실곁핵과 뇌실주위회색질(periventricular gray, PeG)에서 많은 수의 TH 면역반응신경세포체들이 관찰되었으며(Fig 8) 활꼴핵(arcuate nucleus, AN)과 정중용기(median eminence, ME)에서도 관찰되었다. 시상하부뇌실곁핵에서의 세포체는 형태가 뚜렷하였으며 원형 혹은 타원형이었고 못극형의 발달된 세포돌기를 가지고 있었다(Fig 8). 뇌실주위회색질과 활꼴핵에서는 세포체는 적지만 세포돌기를 가지고 있었고 많은 신경섬유를 관찰할 수 있었다(Fig 8). 시상하부 바깥쪽부위에서는 TH 항체에 반응을 보인 신경섬유들만이 모여 있는 것을 볼 수 있었다.

(5) 신생아 0일령 (P0)

① 후각망울

후각망울에서 TH 면역반응세포는 주로 바깥얼기층에서 관찰되었으며 세포체는 원형 혹은 원형에 가까운 형태를 보였다. 다른 부위의 세포체들에 비해 크기가 크고



- Fig 1.** TH-immunoreactive cells in diencephalon, E14 of mongolian gerbil. $\times 400$
Df : differentiating field, Ne : neuroepithelium, V : ventricle
- Fig 2.** TH-immunoreactive cells in hypothalamus, E16 of mongolian gerbil. $\times 200$ (PVN : paraventricular nucleus)
- Fig 3.** TH-immunoreactive cells in hypothalamus, E16 of mongolian gerbil. $\times 200$
Ne : neuroepithelium, VH : ventral hypothalamus
- Fig 4.** TH-immunoreactive cells in caudate-putamen, E18 of mongolian gerbil. $\times 400$
- Fig 5.** TH-immunoreactive cells in hypothalamus, E18 of mongolian gerbil. $\times 400$ (Str : striatum)
- Fig 6.** TH-immunoreactive cells in olfactory bulb, E20 of mongolian gerbil. $\times 400$
- Fig 7.** TH-immunoreactive cells in caudate-putamen, E20 of mongolian gerbil. $\times 200$
Str-CPU : caudate-putamen of striatum
- Fig 8.** TH-immunoreactive cells in hypothalamus, E20 of mongolian gerbil. $\times 400$
PVN : paraventricular nucleus, PeG : periventricular gray

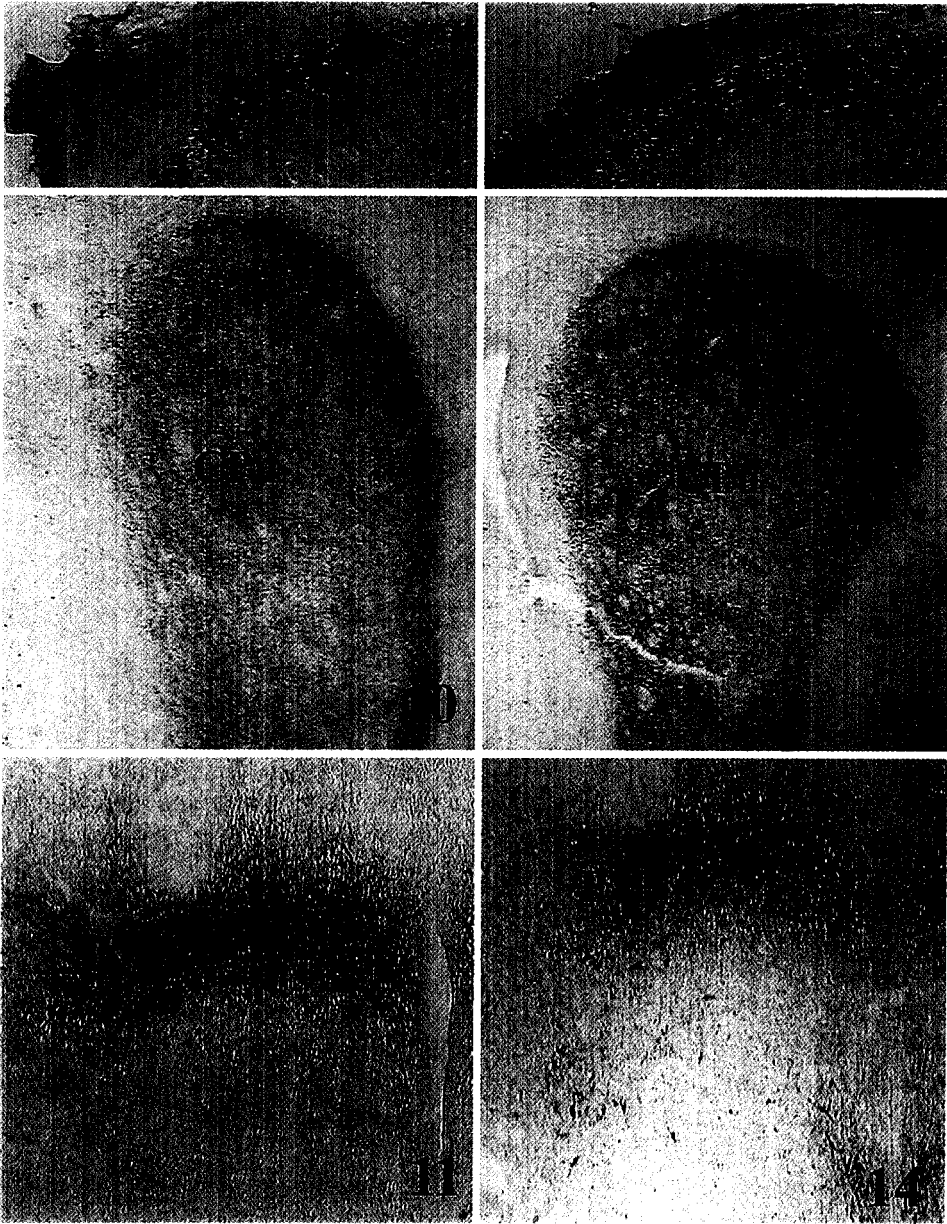


Fig 9. TH-immunoreactive cells in olfactory bulb, P0 of mongolian gerbil. $\times 200$

Fig 10. TH-immunoreactive cells caudate-putamen, P0 of mongolian gerbil. $\times 150$
 CPu : caudate-putamen

Fig 11. TH-immunoreactive cells in hypothalamus, P0 of mongolian gerbil. $\times 200$
 PVN : paraventricular nucleus

Fig 12. TH-immunoreactive cells in olfactory bulb, P2 of mongolian gerbil. $\times 200$

Fig 13. TH-immunoreactive cells in caudate-putamen, P2 of mongolian gerbil. $\times 100$
 CPu : caudate-putamen

Fig 14. TH-immunoreactive cells in hypothalamus, P2 of mongolian gerbil. $\times 150$
 PVN : paraventricular nucleus

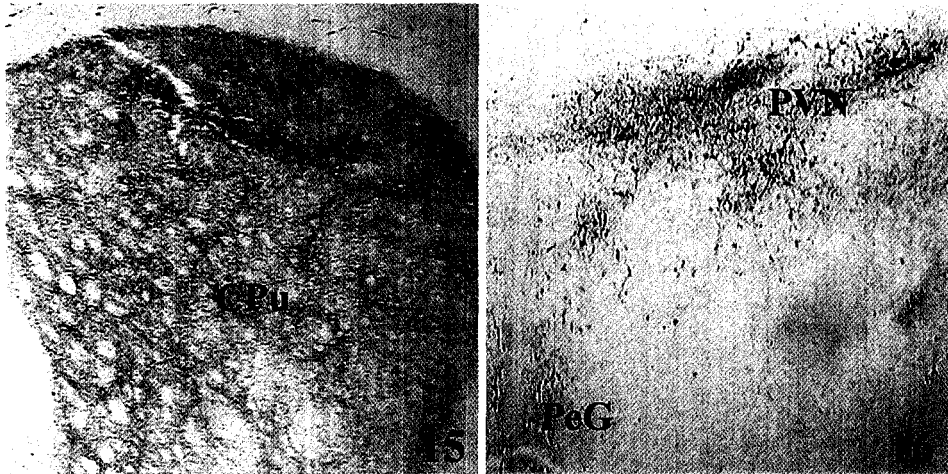


Fig 15. TH-immunoreactive cells in caudate-putamen, P4 of mongolian gerbil. ×100
CPu : caudate-putamen

Fig 16. TH-immunoreactive cells in hypothalamus, P4 of mongolian gerbil. ×100
PVN : paraventricular nucleus

뚜렷했으며 세포돌기는 짧거나 거의 없고 신경섬유들도 바깥쪽기층을 중심으로 산재되어 있었다(Fig 9).

② 줄무늬체

이 부위에서는 TH 면역반응신경세포들이 관찰되지 않았지만 TH 항체에 반응을 나타내는 많은 신경섬유들이 밀집해 있는 것을 볼 수 있었다. 이러한 신경섬유들은 창백핵에는 존재하지 않고 꼬리-조가비핵에만 나타났다(Fig 10).

③ 간뇌의 시상하부

태아 20일령과 마찬가지로 시상하부 뇌실결핵, 뇌실주위회색질 그리고 활꼴핵에서 주로 관찰하였다.

시상하부 뇌실결핵에서는 많은 수의 TH 면역반응신경세포들이 관찰되었으며 그 돌기 및 섬유들도 많이 분포하였다(Fig 11). 세포체는 원형 및 타원형이었으며 세포돌기는 여러 방향으로 뻗어 있는 것이 관찰되었다. 뇌실주위회색질에서는 소수의 세포만이 TH 항체에 면역반응을 보였지만 그 세포돌기들은 뇌실을 따라 주행하고 있었고 활꼴핵에서는 염색성이 약하고 크기도 다른 부위에 비해 작은 세포들이 보였다.

(6) 신생아 2일령 (P2)

① 후각망울

후각망울에서 TH 면역반응세포는 P0에서보다 많고 염색성이 더 강했으며 주로 바깥쪽기층에서 관찰되었다. 세포체는 P0에서와 마찬가지로 대부분 원형이었다(Fig 12).

② 줄무늬체

이 부위에서도 P0과 마찬가지로 TH 면역반응신경세포들이 관찰되지 않았지만 TH 항체에 반응을 나타내는 많은 신경섬유들이 밀집해 있었다. 또한 이러한 신경섬유들은 창백핵에는 존재하지 않고 꼬리-조가비핵에만 나타나는 것을 관찰할 수 있었다(Fig 13).

③ 간뇌의 시상하부

간뇌의 시상하부뇌실결핵 많은 수의 TH 면역반응신경세포들이 관찰되었으며 P0에 비해 세포체의 형태가 더 뚜렷했다(Fig 14). 세포돌기와 신경섬유들도 많이 분포하고 있었다. 뇌실주위회색질에서도 약간의 세포체와 돌기, 신경섬유들을 관찰할 수 있었으며 활꼴핵에서는 TH 면역반응신경세포의 수가 다소 감소되어 있었다.

(7) 신생아 4일령 (P4)

① 후각망울

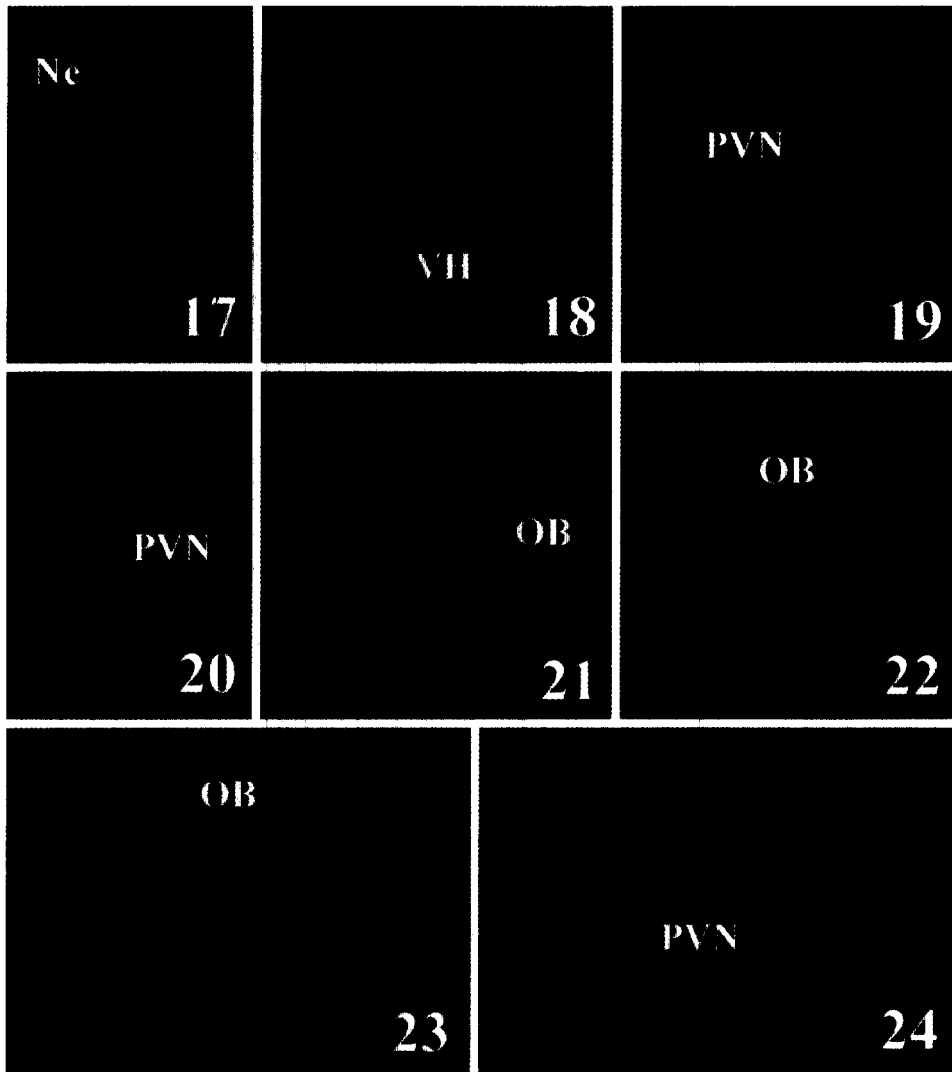
후각망울에서 TH 면역반응세포는 P2와 유사하였다(not shown).

② 줄무늬체

이 부위에서도 P2와 마찬가지로 TH 면역반응신경세포들은 관찰되지 않았지만 꼬리-조가비핵에 많은 신경섬유들이 밀집해 있었다(Fig 15).

③ 간뇌의 시상하부

간뇌의 시상하부뇌실결핵 많은 수의 TH 면역반응신경세포들이 관찰되었으며 P2에 비해 세포체의 형태가 더 뚜렷했다(Fig 16). 세포돌기와 신경섬유들도 많이 분포하고 있었다. 뇌실주위회색질에서도 약간의 세포체와 돌기, 신경섬유들을 관찰할 수 있었다.



- Fig 17.** TH-immunofluorescence reactive cells in diencephalon by confocal microscope, E14 of mongolian gerbil. $\times 400$
Ne : neuroepithelium
- Fig 18.** TH-immunofluorescence reactive cells in hypothalamus by confocal microscope, E16 of mongolian gerbil. $\times 400$
VH : ventral hypothalamus
- Fig 19.** TH-immunofluorescence reactive cells in hypothalamus by confocal microscope, E18 of mongolian gerbil. $\times 200$
PVN : paraventricular nucleus
- Fig 20.** TH-immunofluorescence reactive cells in hypothalamus by confocal microscope, E20 of mongolian gerbil. $\times 100$
PVN : paraventricular nucleus
- Fig 21.** TH-immunofluorescence reactive cells in olfactory bulb by confocal microscope, P0 of mongolian gerbil. $\times 100$
OB : olfactory bulb
- Fig 22.** TH-immunofluorescence reactive cells in olfactory bulb P2 by confocal microscope. $\times 100$
OB : olfactory bulb
- Fig 23.** TH-immunofluorescence reactive cells in olfactory bulb P4 by confocal microscope. $\times 100$
OB : olfactory bulb
- Fig 24.** TH-immunofluorescence reactive cells in hypothalamus P4 by confocal microscope. $\times 100$
PVN : paraventricular nucleus

공추점 현미경적 관찰

1. 대조군에서의 TH 면역형광반응세포의 분포

전 일령에서 TH 면역형광반응세포를 공추점 현미경으로 관찰한 결과 TH 면역반응세포가 나타나는 부위는 광학현미경에서 관찰한 부위와 일치하였다.

E14에서는 간뇌부위에서 주로 관찰되었으며(Fig 17) E16(Fig 18)과 E18(Fig 19)에서는 시상하부 부위의 TH 면역반응세포들이 E14에 비해 세포체의 크기가 커졌고 수도 증가하였으며 돌기도 발달한 것을 볼 수 있었다. E20에서의 TH 면역반응세포도 E18에 비해 크기 및 수가 증가하였으며 후각망울부위에서는 광학현미경에서 관찰했던 것보다 많은 세포체들을 관찰할 수 있었다(Fig 20)

E0(Fig 21), E2(Fig 22) 및 E4(Fig 23 and Fig 24)에서는 광학현미경에서 관찰한 것과 큰 차이를 보이지 않았으며 일령이 증가할수록 각 부위에 나타나는 TH 면역형광반응세포들의 세포체의 수와 크기가 점점 증가하고 세포돌기들도 발달하고 있는 것을 관찰할 수 있었다.

고 찰

전뇌에 분포하는 catecholamine 신경세포에 관한 연구는 면역조직화학법, 자기방사측정법 등을 이용하여 많은 연구자들에 의해서 수행되어져 왔다^{8,9}. 본 실험에서는 뇌연구방면에서 사용이 증가하고 있는 gerbil의 발생과정에서 TH 항체를 이용하여 전뇌의 발달과정에 있어서 dopamine 성 신경의 분포를 알아보고자 하였다.

우선 TH 면역반응세포의 경우 발생단계에서의 분포를 살펴보면 본 실험에 사용한 gerbil의 경우 이미 태아 14일령의 간뇌에서 TH 면역반응세포가 관찰되었다. 이 일령의 간뇌에서는 영역의 구분은 뚜렷하지 않았지만 뇌실쪽보다는 바깥쪽에 위치하고 있는 활꼴액 부위로 여겨지는 부위에 많은 신경세포들이 밀집되어 있었다. 다른 동물에서의 TH 면역반응세포발생을 보면 랫드의 경우 Borisoxa 등¹⁰이 TH 면역반응세포가 태아 13일령에서 활꼴액(arcuate nucleus)에서 처음으로 관찰하였다고 하여 본 연구와 상당히 유사함을 알 수 있었다. 또한 Reisert 등¹¹은 rat의 태아 14일령에서 mesencephalo-hypothalamic 부위로 뻗어있는 TH 면역반응세포를 관찰했다고 하였으며, Specht 등¹²은 rat의 태아 12.5일령에서 처음으로 관찰되고 13.5일-14.5일에는 세포체와 돌기를 가진 신경세포가 꼬리조가비핵에 분포한다고 하였다. 본 연구에서는 줄무늬체의 꼬리조가비핵의 경우 태아 16일령부터 TH 면역반응이 확인되었으나 세포체는 존재하지 않고 신경섬유만이 나타났다. Mouse의 경우에는 Porzio 등¹³이 태아 8.5-9일령에서 dopamine 성 신경이 처

음 나타났다고 하였다. Biffo S 등¹⁴은 rat의 olfactory bulb에서는 태아 17일령에 처음 관찰된다고 하였으며 Berger와 Verney¹⁵는 rat의 태아 16일령에 대뇌피질의 앞쪽 전두엽에서도 dopamine 성 신경을 관찰하였다. 그러나 Linda 등¹⁶은 olfactory bulb에서는 태아 21일령까지 TH 면역반응세포를 관찰할 수 없었지만, 대뇌피질에서는 태아 18일령에서 관찰되었다고 하였다. Mongolian gerbil의 후각망울에서는 태아 20일령에 처음 나타났고 그 형태는 다른 전뇌부위는 달리 세포체의 모양이 뚜렷하고 크기가 큰 특징을 가지고 있었다. Daikoku 등¹⁷은 rat에서 태아 13.5일째에 lateral hypothalamic wall에서 태아 15.5-16.5일에는 anterior periventricular 부위와 활꼴액에서 TH 면역반응세포들을 관찰하였다.

이러한 연구들과 본 연구와를 비교해 볼 때 gerbil은 mouse 보다는 rat의 발생과 유사하였지만 mongolian gerbil의 경우 꼬리조가비핵에서는 TH 면역반응세포체를 관찰할 수가 없었고 대뇌피질에서도 관찰할 수가 없었다. 후각망울에서는 태아 20일령이 되어서야 TH 면역반응세포를 소수 관찰할 수 있었고 생후 0일령부터 olfactory bulb 내에 그 수가 급격히 증가하는 것을 볼 수 있었다. TH 면역반응세포는 임신 16일령과 18일령을 거치면서 뇌의 분화와 함께 크기가 커짐에 따라 그 수 및 돌기가 점점 발달하고 증가하는 것을 관찰할 수 있었고 이는 생후 4일령에 이르기까지 계속되었다.

위의 결과와 같이, gerbil의 전뇌에서 dopamine 성 신경이 나타나는 시기는 다른 설치류들과 조금 다른 양상을 나타냈지만 발생별 분포는 다른 설치류와 유사한 형태를 보였다.

결 론

TH는 중추신경계에 존재하는 catecholamine 합성효소 중 하나로써 dopamine을 생성하는 신경세포의 표지물질로서 사용된다. 이에 본 연구에서는 발달에 따라 mongolian gerbil의 전뇌에서 TH 면역반응세포의 나타나는 시기 및 부위를 알아보기 위하여 면역조직화학 및 공추점현미경적으로 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

Mongolian gerbil의 전뇌중 간뇌부위에서 TH 면역반응세포가 임신 14일령에서부터 관찰되기 시작하였고, 이러한 TH 면역반응세포들은 일령이 높아질수록 더 많은 세포체 및 발달된 돌기들을 가지게 되었다. 후각망울에서의 TH 면역반응세포는 임신 20일령에서부터 나타나기 시작했고 생후 0일령 이후부터는 거의 성체와 유사한 분포양상을 보였다. 이러한 결과는 다른 설치류의 경우와 유사하였다. 그러나 임신 16-18일령에서 대뇌피질

과 줄무늬체에서 TH 항체에 대한 세포체를 나타낸다는 rat와는 달리 mongolian gerbil에서는 줄무늬체에서 만이 신경세포체가 아닌 섬유들이 관찰되어 rat의 발달에 따른 TH 면역반응세포의 분포와는 약간의 차이를 보였다. 공춧점현미경상에서의 TH 면역반응세포체와 돌기의 주행방향 역시 면역염색결과와 동일하게 나타났다. 이와 같은 결과를 볼 때 mongolian gerbil의 발생에 따른 TH의 발현이 rat나 mouse와는 약간의 차이를 나타내었고, 이는 mongolian gerbil의 종특이성으로 사료된다.

참고문헌

1. McGeer DL., Eccleio JC, McGeer EG. Molecular neurobiology of the mammalian brain. 2nd ed. New York, Plenum Press, 337-338, 1987.
2. Vogt M. The concentration of sympathin indifferent parts of the central nervous system and normal conditions and after the administration of drugs. *J Physiol(London)*, 123:451-481, 1954.
3. Carlsson A. the occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharm Rev*, 11:490-493, 1959.
4. Nagatsu I, Inagaki S, Kondo Y, et al. Immunofluorescent studies on the localization of tyrosine hydroxylase and dopamine-B-hydroxylase in the fcs-, di-, and telencephalon of the rat using unperfused fresh frozen sections. *Acta Histochem Cytochem*, 12:20-37, 1964.
5. Levine S and Sohn D. Cerebral ischemia in infant and adult gerbils. Relation to incomplete circle of Willis. *Arch Pathol*, 87(3):315-317, 1967.
6. Hegsted DM, Gallagher A. Dietary fat and cholesterol and serum cholesterol in the gerbil. *J Lipid Res*, 8(3):210-4. 1967.
7. Kim MK, Lee KJ, Jeong YG. et al. Immunohistochemical study on the vasopressinergic and oxytocinergic neurons in the hypothalamus of water-deprived mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) *The Korean J Anat*, 31(1):21-36, 1998.
8. Dahlström A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol Scand*, 62(suppl 232):1-55, 1964.
9. Björklund A, Nobin A. Fluorescence histochemical and microspectro-fluorometric mapping of dopamine and noradrenaline cell groups in the rat diencephalon. *Brain Res*, 51:193-205, 1973.
10. Borisova NA, Ugrumov MV, Balan IS, et al. Development of the tuberoinfundibular system in rats: birthdates of the tyrosine hydroxylase-immunopositive neurons. *Brain Res Dev Brain Res*, 73(2):173-176, 1993.
11. Reisert I, Schuster R, Zienecker R, et al. Prenatal development of mesencephalic and diencephalic dopaminergic systems in the male and female rat. *Brain Res Dev Brain Res*, 53(2):222-9, 1990.
12. Specht LA, Pickel VM, Joh TH, et al. Light-microscopic immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase in prenatal rat brain. I. Early ontogeny. *J Comp Neurol*, 199(2):233-53, 1981.
13. Porzio DU, Zuddas A, Cosenza-Murphy DB, et al. Early appearance of tyrosine hydroxylase immunoreactive cells in the mesencephalon of mouse embryos. *Int J Dev Neurosci*, 8(5):523-532, 1990.
14. Biffo S, Marti E, Fasolo A. Carnosine, nerve growth factor receptor and tyrosine hydroxylase expression during the ontogeny of the rat olfactory system. *J Chem Neuroanat*, 5(1):51-62, 1992.
15. Berger B, Verney C. Recent contributions concerning the development and distribution of dopaminergic innervation in the cerebral cortex of the rat. *Cellule*, 74:291-305, 1987.
16. Linda AS, Virginia MP, Tong HJ et al. Reis, Light-microscopic immunochemical Localization of tyrosine hydroxylase in prenatal rat brain. II. late ontogeny. *J Comp Neuro*, 199-255, 1981.
17. Daikoku S, Kawano H, Okamura Y, et al. Ontogenesis of immunoreactive tyrosine hydroxylase-containing neurons in rat hypothalamus. *Brain Res*, 393(1):85-98, 1986.