

Morphological Analysis of the Myelinated Parent Axons that Innervate Rat Upper Molar Pulp in the Trigeminal Ganglion

Sang Kyoo Paik, Jong Ho Kim, Tae Heon Kim, and Yong Chul Bae*

Department of Anatomy and Neurobiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu 700-412, Korea

(received October 30, 2015; revised November 19, 2015; accepted November 24, 2015)

Previous studies suggested that myelinated axons innervating rat molar pulps undergo morphological changes in their peripheral course. However, little information is available on the morphological feature of the parent axons at the site of origin. We therefore investigated the size of the myelinated parent axons and their morphological features at the proximal sensory root of the trigeminal ganglion by horseradish peroxidase (HRP) injection into rat upper molar pulps and subsequent light and electron microscopy. A total of 248 HRP-labeled myelinated axons investigated were highly variable in the size. Fiber area, fiber diameter, axon area (axoplasm area), axon diameter (axoplasm diameter), and myelin thickness were $11.32 \pm 8.36 \mu\text{m}^2$ (0.80~53.17 μm^2), $3.99 \pm 1.53 \mu\text{m}$ (1.08~9.26 μm), $8.70 \pm 6.30 \mu\text{m}^2$ (0.70~41.83 μm^2), $3.13 \pm 1.13 \mu\text{m}$ (0.94~7.20 μm) and $0.43 \pm 0.23 \mu\text{m}$ (0.07~1.06 μm), respectively. The g-ratio (axon diameter/ fiber diameter) of the labeled axons was 0.79 ± 0.05 (0.61~0.91). Axon diameter was highly correlated with myelin thickness (correlation coefficients, $r=0.83$) but little correlated with g-ratio ($r=-0.33$) of individual myelinated

parent axons. These results indicate that myelin thickness of the myelinated parent axons innervating rat molar pulps increase with increasing axon diameter, thus maintaining a constant g-ratio.

Key words: dental pulp, parent axons, g-ratio, ultrastructure

서 론

치수(tooth pulp)는 대다수의 외부자극을 통증으로 인식하며, 가장 극심한 통증이 발생하는 조직 중 하나이다. 이러한 이유로 치수는 통증전도를 연구하는 주요 연구모델이 되어왔다. 치수에는 삼차신경절의 신경세포체(trigeminal ganglion neuron)에서 유래하는 감각신경섬유가 고밀도로 투사되며, 치수 내에서 이들 신경섬유는 대부분 민말이집축삭(unmyelinated axon)이며, 일부 말이집축삭(myelinated axon)으로 구성되어 있다고 알려져 왔다 [1-4].

그러나 치수 내의 민말이집축삭의 상당수는 원래 말이집축삭이 말이집을 소실한 것이라는 결과가 다수 보고되고 있다. 예를 들면, 치수를 지배하는 신경섬유는 치수안쪽 부분에 비해 치수바깥 부분에서 전도속도(conduction velocity)가 더 빠르다[5,6]. 또한 전체 축삭 중 민말이집축삭의 구성 비율은 치수 내부에 비해 치수 밖의 아래이틀신경(inferior alveolar nerve)에서 훨씬 더 낮게 나타난다[7,8]. 가장 최근의 보고들에 따르면, 치수로 투사하는 신경섬유가 삼차신경절의 신경세포체에서 최초로 뻗어 나오는 지점인 삼차신경절 인접부의 치수

*Correspondence to: Yong Chul Bae, Department of Anatomy and Neurobiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, 188-1, 2-Ga, Samdeok-Dong, Jung-Gu, Daegu 700-412, Korea.
Tel.: +82-53-660-6860, Fax: +82-53-426-7731
E-mail: ycbae@knu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

지배 신경섬유들은 거의 대부분(95.6%)이 말이집축삭으로 구성되어 있으며[9], 이는 치수로 진입하기 직전의 아래이틀신경섬유에 함유된 말이집축삭의 구성비율(70%)보다 높다[8,10]. 또한 치수 내부의 말이집축삭들은 치수뿌리(radicular pulp)에서 치수머리(coronal pulp)로 주행하면서 말이집이 벗겨지거나 축삭의 크기와 말이집 두께가 감소하는 등의 급격한 형태학적 변화를 보이는 것으로 알려져 있다[11]. 이러한 기존 보고들은 치수로 투사하는 신경섬유는 치수 내부와 그 주변뿐만 아니라 치수 지배 신경섬유의 근원부인 삼차신경절에서부터 형태학적 변화가 발생할 가능성을 제기하고 있으나, 현재까지 삼차신경절의 신경세포체에서 신경섬유가 최초로 뻗어나오는 지점에서의 말이집축삭, 즉 말이집근원축삭(myelinated parent axon)이 어떤 형태를 보이는 지에 대해서는 정확히 분석되어 있지 않다. 이 말이집근원축삭에 대한 형태학적 정보가 제공된다면, 투사하는 신경섬유가 삼차신경절의 신경세포체로부터 치수머리에 이르는 전체 투사경로상에서 어떠한 형태적 변화를 보이는지를 파악할 수 있을 것이다.

말이집축삭은 축삭(axon)과 축삭을 감싸는 말이집(myelin)으로 구성되어 있다. 축삭을 감싸는 말이집의 형성(myelination)은 생리적, 구조적 측면에서 축삭이 수행하는 기능에 큰 영향을 준다. 예를 들면, 하나의 축삭에 말이집이 두껍게 형성될수록 그 축삭의 전기적 전도속도는 비례적으로 증가하는 생물리화학적 성질의 변화를 보인다[12]. 말이집축삭의 형태적 특성은 말이집과 축삭의 개별적인 크기뿐만 아니라 'g-ratio(축삭의 직경/전체 신경섬유의 직경)'라는 척도를 통해 표현된다. 이 말이집축삭의 g-ratio는 특정 축삭의 말이집형성 정도를 평가하는 매우 신뢰할 만한 척도이며, 또한 생체 내 특정부위에서 특정 집단의 신경섬유가 생리적으로 최적화되기 위해 그리고 최대의 기능적 효율을 나타내기 위해 필요한 구조적 특징을 나타낸다. 이러한 개념은 탈말이집 현상을 유발하는 질병에서 신경섬유가 재생(regeneration)되는 동안에 혹은 발달과정 초기에 말이집축삭이 축삭의 크기에 비해 과다하게 말이집을 형성한 이후 성숙하면서 축삭의 크기가 증가함에 따라 그 말이집축삭 고유의 g-ratio를 획득한다는 결과를 보이는 연구를 통해 현재까지 지지를 받고 있다[13-16].

이 연구에서는, 삼차신경절 인접부에서 말이집근원축삭의 형태적 특징에 대한 정보를 제공함으로써 치수로 투사하는 신경섬유가 삼차신경절의 신경세포체로부터 치수머리에 이르는 전체 투사경로상에서 어떠한 형태학적 변화를 보이는지를 파악하고자 한다. 이를 위해, 흰쥐 어금니 치수로 투사하는 신경섬유를 신경추적자를

주입하여 표식하고, 삼차신경절 인접부에서 표식된 말이집축삭들을 대상으로 축삭의 크기와 말이집 두께, 축삭과 말이집 사이에 나타나는 상관관계, 그리고 g-ratio값을 제시함으로써 말이집근원축삭의 형태적 특징에 대해서 분석하고자 한다.

재료 및 방법

1. 동물실험

몸무게 300~330 g 사이의 Sprague-Dawley계 흰쥐 3마리를 사용하여 실험을 수행하였으며, 실험동물의 보호 및 처치는 경북대학교 동물실험윤리위원회(Intramural Animal Care and Use Committee)의 승인을 받아서 진행하였다. 실험동물은 sodium pentobarbital (40 mg/kg, i.p.)로 마취한 후, atropine sulfate (0.2 mg/kg, i.p.)를 주사하여 수술 시 점액분비로 인한 호흡장애 현상을 방지하였으며, 수술 도중 지속적으로 마취를 유지하기 위해서 sodium pentobarbital (10 mg/kg, i.p.)을 추가적으로 주사하였다.

2. 치수 지배 신경섬유에 대한 표식

흰쥐 3마리를 대상으로 좌측 위턱 1~2번째 어금니에 치과용 bur를 이용하여 상아질에 구멍을 내어 치수를 노출시켰다. 이후 식염수에 녹인 30% horseradish peroxidase (HRP; type IV, Toyobo, Japan) 0.5~1.0 μ l를 Hamilton syringe 바늘 끝에 고무관(tubing)으로 연결한 30-gauge needle에 흡입한 뒤, 약 10분간 서서히 30% HRP를 치수 내에 주입하였다. 이후 약 30분이 경과한 뒤, 잔여 HRP 용액을 제거한 다음, 다시 새로운 30% HRP를 동량 주입하는 과정을 2회 반복하였으며, 이후 노출된 치수를 치과용 시멘트(dental cement)를 사용하여 밀봉하였다. 주입한 HRP가 충분히 이동하도록 실험동물을 약 24~36시간 동안 생존시켰다. 이후 sodium pentobarbital (80 mg/kg, i.p.)을 주사하여 깊이 마취시킨 다음, 헤파린을 함유한 식염수 100 ml와 0.1 M 인산완충용액(phosphate buffer; PB, pH 7.4)에 녹인 2.5% glutaraldehyde와 1% paraformaldehyde를 함유하는 고정액 500 ml로 관류고정하였다. 좌측 위턱어금니 치수를 지배하는 근원축삭을 분석하기 위하여, 좌측의 삼차신경절에 인접하는 눈-위턱지배신경가지(ophthalmomaxillary branch)를 적출하여, 앞서 언급한 고정액으로 4°C 에서 2시간 동안 고정한 후 0.1 M PB에 세척하여 보관하였다.

HRP가 치수 밖의 다른 조직으로 누출되지 않고 치수 내에서만 국한되어 있음을 확인하기 위해서, 실험한 동물의 위턱부분을 0.1M PB에 녹인 8% ethylenediaminetetraacetic acid

(EDTA) 용액으로 약 3주간 탈회를 진행한 후, 치수조직이 포함된 치아 및 주위조직을 동결절편기(cryostat)를 이용하여 30 μm 두께의 절편을 제작하였다. 이후 치수와 주변 연조직에 남아있는 HRP를 Mesulam [17]이 제안한 tetramethylbenzidine (TMB) 발색반응으로 가시화하였다. 그 다음, 절편들을 젤라틴(gelatin)으로 도포된 슬라이드글라스 위에 올려서 광학현미경하에서 검경하였다.

3. 전자현미경용 시편 제작

위턱어금니 치수로 투사하는 신경섬유가 삼차신경절의 신경세포체에서 뻗어나가는 부위에 해당하는 삼차신경절 인접부에서, 말이집근원축삭을 전자현미경으로 분석하기 위해서, 삼차신경절에 인접한 눈-위턱지배신경가지 부위의 축삭을 진동절편기(Vibratome)를 이용해 70 μm 두께의 횡단절편을 형성하였다. 이후, 치수로부터 삼차신경절로 역방향으로 이동한 HRP는 tungstate/tetramethylbenzidine 발색법을 이용하여 가시화한 뒤, diaminobenzidine (DAB) 반응을 통해 발색산물을 안정화시켰다[18]. 이후 절편들을 1% osmium tetroxide를 함유한 PB 용액(pH 6.0)에서 후고정(post-fixation)하였고, 여러 농도의 에탄올을 순차적으로 처리하여 탈수과정을 거쳤으며, Durcupan ACM (Fluka, Switzerland) 수지로 평판포매(flat embedment)한 뒤, 60°C에서 2일간 경화시켰다. 경화된 절편에서 목적하는 부분만을 미세하게 절단하여 수지 블록 위에 접착시키고, ultramicrotome을 이용해 약 60 nm 두께의 연속절편을 형성한 후, 단공 니켈그리드에 형성한 formvar 지지막에 흡착시켰다. 이후 연속절편을 uranyl acetate와 lead citrate를 이용한 이중염색법으로 염색하고, 투과전자현미경(Hitachi H-7500; 80kV)으로 관찰하였다.

4. 형태학적 분석

전자현미경 검경을 통해, 준비된 연속초박절편들에서 HRP에 의해 표식된 말이집축삭이 가장 많은 초박절편을 각 실험동물별로 한 절편씩 선택하고, 그 절편내의 모든 표식된 말이집축삭을 전자현미경에 부착된 디지털 카메라(SC1000; GATAN, Pleasanton, CA, USA)와 Digital Micrograph software (GATAN)를 이용하여 6000배에서 촬영하여 사진을 저장하였다. 측정은 횡단면을 보이는 말이집축삭만을 대상으로 하였으며, Schwann cell 구조물이 측정에 포함되지 않도록 하였다. 모두 248개의 표식된 말이집축삭을 대상으로 말이집 두께와, 축삭 및 전체 말이집축삭의 직경과 단면적을 측정하였으며, 이를 위해 Image J software (v1.38; NIH, Bethesda, MD, USA)를 사용하였다. 산출한 각 축삭의 직경값을 전체 말이집축삭의 직경값으로 나눔으로써 g-ratio를 구하였다. 실험동물별로 나타난 측정결과는 서로 유의한 차이가 없었

으며, 이에 결과들은 통합하여 분석하였다. 측정 결과에 대한 통계학적 분석과 비교는 one-way ANOVA (Scheffe 검정)를 사용하여 신뢰수준 95%에서 실시하였다.

결 과

광학현미경 관찰에서, 흰쥐의 위턱어금니 치수에 주입된 HRP 반응산물은 치수 내에 국한되어 나타났으며, 치근막으로 스며들어간 흔적은 관찰되지 않았다(Fig. 1A). 전자현미경 검색에서, 삼차신경절세포체에 인접한 눈-위턱지배신경가지 부위에서 치수에 주입된 HRP에 의해 표식된 근원축삭들을 관찰할 수 있었으며, 이들은 축삭질 내에 전자밀도가 치밀한 결정 형태의 HRP 반응산물이 존재함으로써 쉽게 동정할 수 있었다. 표식된 근원축삭들은 대부분 말이집축삭이었으며, 축삭의 크기와 말이집의 두께가 다양하였다(Fig. 1B-D).

표식된 모두 248개의 말이집근원축삭을 대상으로, 말이집을 포함하는 전체 신경섬유의 단면적(fiber area), 축삭의 단면적(axon area) 그리고 말이집 두께(myelin thickness)를 측정된 결과, 평균과 표준편차가 각기 $11.32 \pm 8.36 \mu\text{m}^2$ ($0.80\sim 53.17 \mu\text{m}^2$), $8.70 \pm 6.30 \mu\text{m}^2$ ($0.70\sim 41.83 \mu\text{m}^2$) 그리고 $0.43 \pm 0.23 \mu\text{m}$ ($0.07\sim 1.06 \mu\text{m}$)으로서 폭넓은 크기 분포를

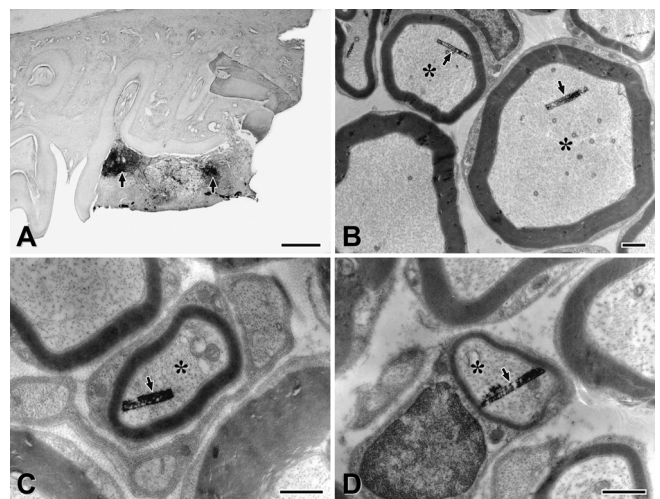


Fig. 1. Light (A) and electron micrographs (B-D) showing HRP injected within the rat upper molar pulps and HRP-labeled myelinated axons, respectively, in the proximal sensory root of the rat trigeminal ganglion (TG). HRP reaction products (arrows) were confined within the upper molar pulps (A). Retrogradely labeled parent axons (asterisks) innervating upper molar pulps could be identified by the presence of crystalline HRP reaction products (arrows; B-D). They were mostly comprised of large (B) and small myelinated axons (C, D). Scale bars = 0.5 mm in A; 0.5 μm in B-D.

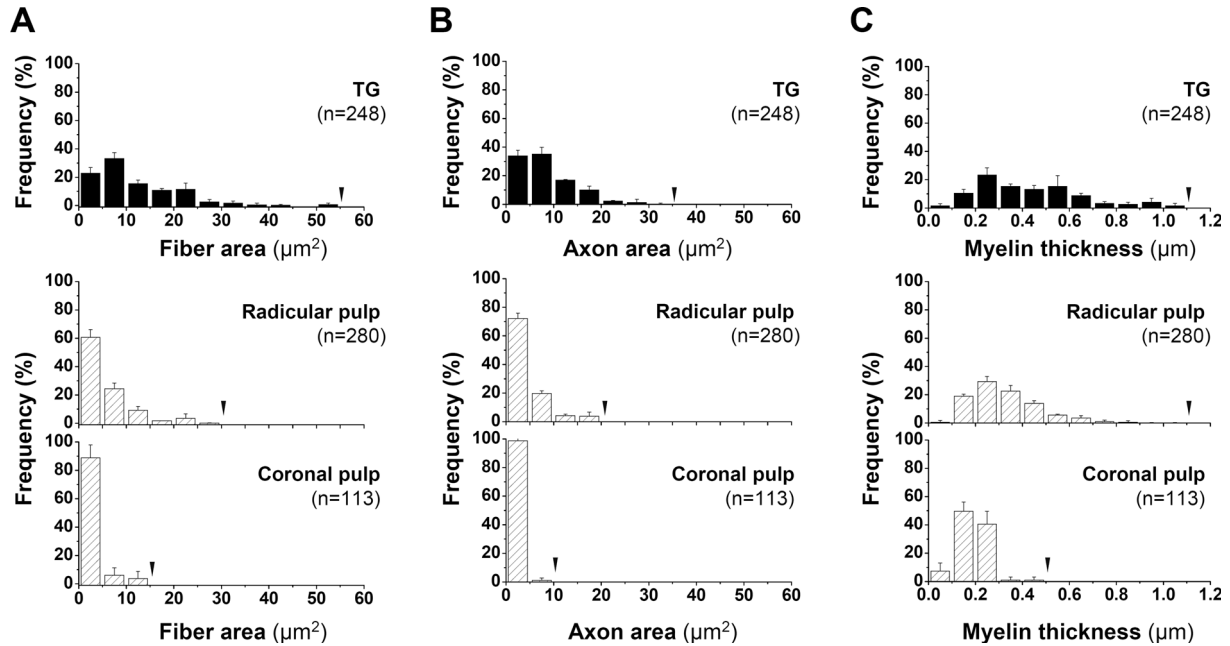


Fig. 2. Size distribution of the areas of fiber (axon + myelin; A) and axon (B), and myelin thickness (C) of the myelinated axons innervating rat upper molar pulps in the proximal sensory root of the trigeminal ganglion (TG) and in the rat molar pulps. Cross-sectional areas and myelin thickness of the myelinated axons were more widely distributed and showed higher frequency (%) in large sized ones in the proximal sensory root of the TG than in the molar pulp. Arrowheads indicate maximal end of each size distribution. Data for myelinated axons in radicular and coronal pulps were cited from a previous study [11].

Table 1. Size (mean ± SD) of myelinated axons innervating rat upper molar pulps in the proximal sensory root of the trigeminal ganglion (TG) and in the upper molar pulp

Sites examined	N	Fiber (axon+myelin)		Axon		Myelin thickness (μm)	g-ratio
		Area (μm ²)	Diameter (μm)	Area (μm ²)	Diameter (μm)		
TG	248	11.32 ± 8.36 ¹ (0.80-53.17)	3.99 ± 1.53 ¹ (1.08-9.26)	8.70 ± 6.30 ¹ (0.70-41.83)	3.13 ± 1.13 ¹ (0.94-7.20)	0.43 ± 0.23 ¹ (0.07-1.06)	0.79 ± 0.05 ² (0.61-0.91)
Radicular pulp*	280	5.26 ± 4.80 ¹ (0.35-28.07)	2.70 ± 1.16 ¹ (0.74-7.04)	3.95 ± 3.65 ¹ (0.28-19.0)	2.05 ± 0.90 ¹ (0.60-4.92)	0.32 ± 0.15 ¹ (0.06-1.06)	0.76 ± 0.06 (0.57-0.90)
Coronal pulp*	113	2.02 ± 1.55 ¹ (0.17-10.0)	1.70 ± 0.59 ¹ (0.04-4.06)	1.58 ± 1.28 ¹ (0.08-7.44)	1.32 ± 0.52 ¹ (0.33-0.52)	0.19 ± 0.06 ¹ (0.04-0.49)	0.77 ± 0.07 (0.54-0.90)

* Data for myelinated axons in radicular and coronal pulps were cited or calculated from the raw data in a previous study [11].

“N” indicates number of myelinated axons examined.

“g-ratio” denotes the ratio of axonal diameter to fiber diameter.

¹significantly different among myelinated axons in the TG, radicular and coronal pulp (one-way ANOVA, Scheffe’s F test, *P*<0.001).

²significantly different between myelinated axon in the TG and radicular or coronal pulp (one-way ANOVA, Scheffe’s F test, *P*<0.01).

보였다(Fig. 2, Table 1). 또한 전체 신경섬유의 직경(fiber diameter)과 축삭의 직경(axon diameter)은 각기 3.99 ± 1.53 μm (1.08~9.26 μm)과 3.13 ± 1.13 μm (0.94~7.20 μm)이었다 (Table 1). 표식된 말이집근원축삭들의 g-ratio는 0.79 ± 0.05 (0.61~0.91)로 나타났다(Table 1).

말이집근원축삭들 각각의 축삭 직경과 말이집 두께 사이의 상관계수(correlation coefficients, r)는 0.83으로서 매우 높은 적정상관관계(positive correlation)를 나타내었다(Fig. 3A). 말이집근원축삭들 각각의 축삭 직경과 g-ratio 사이에는 비교적 약한 부적상관관계(negative correlation; r=-0.33)를 보

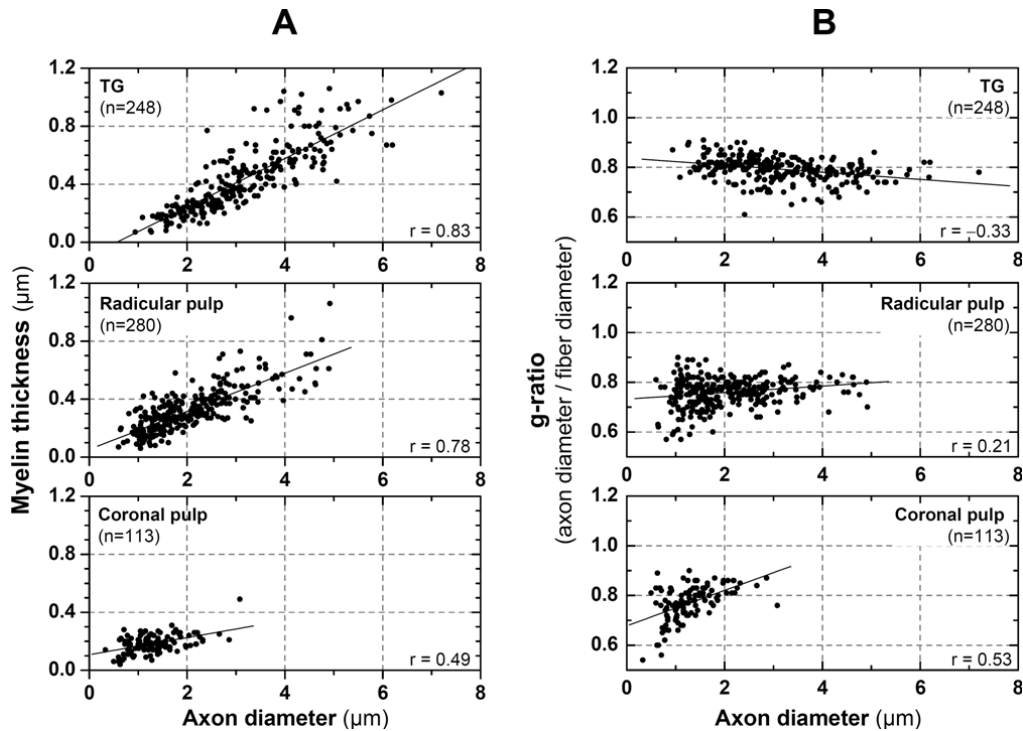


Fig. 3. Scatterplots showing correlations between axon diameter and its myelin thickness (A) or g-ratio (B) of individual myelinated axon innervating rat upper molar pulps in the proximal sensory root of the trigeminal ganglion (TG) and in the upper molar pulp. The data for individual myelinated axons in radicular and coronal pulps were cited or calculated from raw data of a previous study [11]. There was a strong positive correlation between axon diameter and myelin thickness (correlation coefficient, $r=0.83$; $P<0.0001$) of the myelinated parent axons in the TG. However, there was a weak positive correlation ($r=0.49$; $P<0.0001$) between them in the coronal pulp. The g-ratio and axon diameter of myelinated parent axons in the TG were negatively correlated ($r=-0.33$; $P<0.0001$), indicating that most axons had similar g-ratios regardless of the differences in their axon diameter. However, it was progressively changed to weak positive correlation during their course from radicular ($r=0.21$; $P<0.0001$) to coronal ($r=0.53$; $P<0.0001$) pulp.

이는 것으로 분석되었다(Fig. 3B).

고찰

이 연구에서는 삼차신경절 인접부에서 분석한, 흰쥐의 어금니 치수로 투사하는 말이집근원축삭의 형태학적 특징이 1) 축삭과 말이집의 폭넓은 크기 분포를 보인다는 점과, 2) 축삭이 클수록 말이집 또한 두꺼운 경향을 보임으로써 대다수의 말이집근원축삭은 축삭의 크기와는 상관없이 비교적 일정한 g-ratio (0.79)를 보인다는 점을 보여주었다.

최근 연구에서 흰쥐 어금니 치수내의 말이집축삭들은 치수뿌리에서 치수머리 영역으로 주행하는 과정에서 축삭 및 말이집의 크기가 급격히 감소하는 형태적 변화를 겪는다고 보고한 바 있다[11]. 이 보고와 본 연구에서 제시한 결과를 비교하면, 흰쥐 어금니 치수를 지배하는 삼차신경절 인접부의 말이집근원축삭은 치수뿌리로 주행하는 과정에서 전체 신경섬유의 평균 단면적/직경은

약 54%/32%, 축삭의 평균 단면적/직경은 약 55%/35%, 평균 말이집 두께는 약 35%가 감소하였다. 또한 삼차신경절 인접부에서 치수머리에 이르는 전체 주행과정에서는 전체 신경섬유의 평균 단면적/직경은 약 82%/57%, 축삭의 평균 단면적/직경은 약 82%/58%, 평균 말이집 두께는 약 56% 정도가 감소하였다. 따라서, 본 연구를 통하여 말이집축삭을 구성하는 축삭과 말이집이라는 두 인자 모두가 치수뿌리에서 치수머리영역까지 주행하는 과정뿐만 아니라, 삼차신경절 인접부에서 치수뿌리 영역에 이르는 주행과정에서도 점진적으로 그 크기가 감소함을 알 수 있었다. 특히, 축삭 직경의 감소폭이 말이집 두께의 감소폭과 매우 유사하며, 삼차신경절 인접부와 치수뿌리 사이에서 보다 큰 감소폭을 나타내는 특징을 보였다. 기존에 알려진 형태학적 변화를 분석해보면, 말이집축삭의 구성비율이 삼차신경절 인접부(96.5%) [9], 아래이틀신경(70%) [8,10], 치수뿌리(22~50%) [4,11,19], 치수머리(5%) [11]에 이르는 치수 지배 신경섬유의 주행과정에서 점차 감소한다는 것을 알 수 있다. 기존 보고들과 본 연구결과를 종합해보면, 흰쥐 어금니 치수를 지

배하는 삼차신경절 인접부의 말이집축삭들은 치수머리로 투사하는 과정에서 점진적으로 말이집이 소실되고, 또한 축삭의 크기와 말이집 두께 측면에서 그 크기 또한 점진적으로 감소하는 형태학적 변화가 동시에 복합적으로 나타날 것을 알 수 있다.

이 연구에서는 삼차신경절 인접부의 치수 지배 말이집근원축삭은 축삭이 클수록 말이집도 두꺼우며, 이에 따라 대부분 축삭의 크기와는 상관없이 g-ratio는 0.79 수준에서 비교적 일정하다는 결과를 보여주었다. G-ratio는 전체 신경섬유 중 축삭 혹은 말이집이 차지하는 비율을 나타내는 척도로서, g-ratio 값이 1에 근접할수록 축삭의 크기에 비해 상대적으로 말이집 두께가 얇다는 것을 나타낸다. 이 g-ratio는 Rushton [20]이 신경섬유의 전도속도를 극대화하는 가장 이상적인 g-ratio는 0.6이라는 이론적인 계산치를 유도해냄으로써 최초로 제시하였으며, 이후 고양이(의 허리신경섬유(lumbar nerve) 혹은 생쥐의 시신경섬유(optic nerve) 등에서 일반적으로 큰 축삭일수록 높은 g-ratio값을 보임으로써 축삭이 클수록 말이집의 두께가 상대적으로 얇다는 결과를 제시하고 있다[21,22]. 그러나 삼차신경절 인접부의 말이집축삭에서는 축삭이 클수록 말이집 또한 두꺼운 경향을 보임으로써 기존 보고들의 결과와는 달리 축삭의 크기와 상관없이 비교적 일정한 g-ratio 값을 보인다는 것이 특징적이다. 또한, 중추신경계의 말이집축삭에 대한 g-ratio 측정치는 0.72~0.81로 비교적 좁은 범위에서 나타난다[23-28]. 또한, 척수(spinal cord)에서는 0.79 [29], 뇌줄기(brainstem)에서는 0.81 [30]의 값을 보인다. 반면 말초신경계에서, 말이집축삭에 대한 실제 g-ratio 측정치는 0.5~0.8 사이에서 나타나며[30], 중추신경계의 신경섬유가 비교적 좁은 범위의 g-ratio값을 보이는 것과는 달리 말초신경계는 다양한 g-ratio값의 분포를 보인다. 이는 중추신경계에 비해 말초신경계에서 전체 신경섬유 중 말이집이 차지하는 비율이 큰 신경섬유가 상대적으로 많다는 것을 나타낸다. 예를 들어, 교감신경인 위목신경절(superior cervical ganglion) 인접부의 말이집축삭의 경우에는 g-ratio가 실험동물의 종(species)에 따라 0.63-0.74 [31], 궁둥신경섬유(sciatic nerve)에서는 다양한 실험환경별로 0.55-0.68 [32-35]의 g-ratio값을 보임으로써 중추신경계에 비해 크게 낮은 g-ratio 값을 보인다. 말초신경계의 신경섬유 중 이 연구에서 제시한 결과와 가장 가까운 신경섬유는 g-ratio 값이 0.78인 혀인두신경섬유(glossopharyngeal nerve)이다[36]. 이러한 기존 보고들과 비교해 보면, 삼차신경절 인접부의 치수 지배 말이집근원축삭이 나타내는 g-ratio값 0.79는 대다수의 다른 말초신경계의 신경섬유에 비해 높은 편이며, 이는 치수지배

말이집신경섬유에서 말이집이 차지하는 비율이 상대적으로 낮다는 것을 나타낸다.

이 연구에서 삼차신경절 인접부의 치수 지배 말이집근원축삭이 보이는 g-ratio (0.79)는 치수뿌리(0.76)와 치수머리(0.77) 영역의 말이집축삭들의 g-ratio에 비해 유의하게 높았다. 이는 치수 지배 말이집근원축삭의 g-ratio가 삼차신경절 인접부에서 치수뿌리에 이르는 주행경로에서 유의하게 감소한다는 것과, 삼차신경절 인접부의 말이집축삭이 치수 내부의 말이집축삭에 비해 전체 신경섬유 중 말이집이 차지하는 비율이 상대적으로 낮다는 것을 나타낸다. 기존 보고에 따르면, g-ratio는 동일한 신경섬유에서도 나이[21,37], 동물의 종별 차이[31] 혹은 질병의 유무[38]에 따라 달라질 수 있다고 한다. 그러나 본 연구와 기존 흰쥐 어금니 치수내의 연구보고[11]는 종, 연령, 건강상태, 성별 등이 동일한 조건 즉, 특정 변화요인이 없는 조건에서도 단순히 동일한 신경섬유의 투사경로상의 위치에 따라 말이집축삭의 g-ratio값이 유의하게 변화할 수 있다는 것을 나타내고 있다.

또한, 삼차신경절 인접부의 말이집근원축삭에서 축삭의 크기와 말이집 두께 사이에 나타나는 높은 적정상관계는 치수뿌리 영역에서는 유지되었으나, 치수뿌리에서 치수머리 영역으로 주행하면서 크게 약화되었다. 또한 삼차신경절 인접부에서는 축삭의 크기와 g-ratio 사이에 약한 부적상관관계를 보이던 것이 치수 내에서는 적정상관계로 급격하게 변화하였다. 즉, 삼차신경절 인접부에서 축삭의 크기와 상관없이 비교적 일정한 g-ratio 값을 보이던 것이, 치수 내에서는 축삭이 클수록 높은 g-ratio를 보이는 형태학적 변화를 나타낸다. 치수 지배 말이집근원축삭이 삼차신경절 인접부에서 치수머리로 주행하는 과정에서 그 축삭과 말이집의 크기가 지속적으로 감소한다는 점을 감안하면, 이러한 축삭과 말이집 혹은 g-ratio간 상관관계의 변화들은 주행과정에서 형태적 변화를 통해 축삭 직경에 비해 상대적으로 두꺼운 말이집을 형성하고 있는 작은 크기의 축삭들이 보다 많아졌음을 반증하는 것이다.

결론적으로, 이 연구와 더불어 기존의 보고들이 제시하는 것은, 치수 지배 말이집축삭들이 삼차신경세포체에서 감각기능을 수행하는 위치인 치수머리 영역까지 투사하는 과정에서 점진적으로 축삭의 크기와 말이집 두께가 감소하며, 또한 축삭의 직경과 말이집 두께 사이에 혹은 축삭의 직경과 g-ratio 사이에 나타나는 상관관계 또한 변화한다는 것이다. 이러한 형태적 변화는 주행경로에 따라 신경섬유의 전도속도에 영향을 미친다. 즉, 신경섬유의 전도속도는 축삭의 크기와 말이집 두께가 증가할수록 증가하며, 동일한 크기의 신경섬유 내에서는

말이집 두께가 두꺼울수록 전도속도 또한 빠르다는 것을 감안하면[12], 이러한 말이집축삭의 형태적 변화는 치수 지배 신경섬유의 전도속도가 치수안쪽 부위에 비해 치수바깥 부위에서 더 빠르다는 기존 전기생리학적 연구결과들[5,6]에 대한 형태학적인 근거를 제공하는 것이다. 더불어, 동일한 치수신경섬유의 경우에도 투사경로상의 위치에 따라 말이집축삭의 형태적 특징이 다르다는 점은 향후 치수 신경의 재생과 신경손상으로 인한 치수신경의 탈말이집 현상을 비롯한 형태적 변화에 대한 연구를 수행시에 분석위치를 차이점에 대해 충분히 고려해야 할 부분이라는 점을 제시한다.

감사의 글

이 논문은 2012학년도 경북대학교 학술연구비와 2014년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2008-0062282).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicting interest.

References

- Holje L, Hildebrand C, Fried K. Proportion of unmyelinated axons in the rat inferior alveolar nerve and mandibular molar pulps after neonatal administration of capsaicin. *Brain Res.* 1983;266:133-136.
- Holland GR, Robinson PP. The number and size of axons at the apex of the cat's canine tooth. *Anat Rec.* 1983;205:215-222.
- Nair PN, Luder HU, Schroeder HE. Number and size spectra of myelinated nerve fibers of human premolars. *Anat Embryol (Berl).* 1992;186:563-571.
- Naftel JP, Bernanke JM, Qian XB. Quantitative study of the apical nerve fibers of adult and juvenile rat molars. *Anat Rec.* 1994;238:507-516.
- Lisney SJ. Some anatomical and electrophysiological properties of tooth-pulp afferents in the cat. *J Physiol.* 1978;284:19-36.
- Cadden SW, Lisney SJ, Matthews B. Thresholds to electrical stimulation of nerves in cat canine tooth pulp with A-beta-, A-delta- and C-fibre conduction velocities. *Brain Res.* 1983;261:31-41.
- Fried K, Hildebrand C. Axon number and size distribution in the developing feline inferior alveolar nerve. *J Neurol Sci.* 1982;53:169-180.
- Johansson CS, Hildebrand C, Povlsen B. Anatomy and developmental chronology of the rat inferior alveolar nerve. *Anat Rec.* 1992;234:144-152.
- Paik SK, Park KP, Lee SK, Ma SK, Cho YS, Kim YK, Rhyu IJ, Ahn DK, Yoshida A, Bae YC. Light and electron microscopic analysis of the somata and parent axons innervating the rat upper molar and lower incisor pulp. *Neuroscience.* 2009;162:1279-1286. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.05.046.
- Naftel JP, Richards LP, Pan M, Bernanke JM. Course and composition of the nerves that supply the mandibular teeth of the rat. *Anat Rec.* 1999;256:433-447.
- Paik SK, Lee DS, Kim JY, Bae JY, Cho YS, Ahn DK, Yoshida A, Bae YC. Quantitative ultrastructural analysis of the neurofilament 200-positive axons in the rat dental pulp. *J Endod.* 2010;36:1638-1642. doi: 10.1016/j.joen.2010.05.005.
- Waxman SG. Determinants of conduction velocity in myelinated nerve fibers. *Muscle Nerve.* 1980;3:141-150.
- Blakemore WF. Remyelination of the superior cerebellar peduncle in the mouse following demyelination induced by feeding cuprizone. *J Neurol Sci.* 1973;20:73-83.
- Merkler D, Boretius S, Stadelmann C, Ernsting T, Michaelis T, Frahm J, Brück W. Multicontrast MRI of remyelination in the central nervous system. *NMR Biomed.* 2005;18:395-403.
- Perrot R, Lonchamps P, Peterson AC, Eyer J. Axonal neurofilaments control multiple fiber properties but do not influence structure or spacing of nodes of Ranvier. *J Neurosci.* 2007;27:9573-9584.
- Kloppfleisch S, Merkler D, Schmitz M, Kloppner S, Schedensack M, Jeserich G, Althaus HH, Brück W. Negative impact of statins on oligodendrocytes and myelin formation in vitro and in vivo. *J Neurosci.* 2008;28:13609-13614. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2765-08.2008.
- Mesulam MM, Rosene DL. Sensitivity in horseradish peroxidase neurohistochemistry: a comparative and quantitative study of nine methods. *J Histochem Cytochem.* 1979;27:763-773.
- Weinberg RJ, van Eyck SL. A tetramethylbenzidine/tungstate reaction for horseradish peroxidase histochemistry. *J Histochem Cytochem.* 1991;39:1143-1148.
- Fried K, Aldskogius H, Hildebrand C. Proportion of unmyelinated axons in rat molar and incisor tooth pulps following neonatal capsaicin treatment and/or sympathectomy. *Brain Res.* 1988;463:118-123.
- Rushon WA. A theory of the effects of fibre size in medullated nerve. *J Physiol.* 1951;115:101-122.
- Berthold CH, Nilsson I, Rydmark M. Axon diameter and myelin sheath thickness in nerve fibres of the ventral spinal root of the seventh lumbar nerve of the adult and developing cat. *J Anat.* 1983;136:483-508.
- Chatzopoulou E, Miguez A, Savvaki M, Lévassour G, Muzerelle A, Muriel MP, Goureau O, Watanabe K, Goutebroze L, Gaspar P, Zalc B, Karageorgos D, Thomas JL. Structural requirement of TAG-1 for retinal ganglion cell axons and myelin in the mouse optic nerve. *J Neurosci.* 2008;28:7624-7636. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1103-08.2008.

23. Blakemore WF. Pattern of remyelination in the CNS. *Nature*. 1974;249:577-578.
24. Guy J, Ellis EA, Kelley K, Hope GM. Spectra of G ratio, myelin sheath thickness, and axon and fiber diameter in the guinea pig optic nerve. *J Comp Neurol*. 1989;287:446-454.
25. Arnett HA, Mason J, Marino M, Suzuki K, Matsushima GK, Ting JP. TNF α promotes proliferation of oligodendrocyte progenitors and remyelination. *Nat Neurosci*. 2001;4:1116-1122.
26. Mason JL, Langaman C, Morell P, Suzuki K, Matsushima GK. Episodic demyelination and subsequent remyelination within the murine central nervous system: changes in axonal calibre. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2001;27:50-58.
27. Balabanov R, Strand K, Kemper A, Lee JY, Popko B. Suppressor of cytokine signaling 1 expression protects oligodendrocytes from the deleterious effects of interferon-gamma. *J Neurosci*. 2006;26:5143-5152.
28. Chomiak T, Peters S, Hu B. Functional architecture and spike timing properties of corticofugal projections from rat ventral temporal cortex. *J Neurophysiol*. 2008;100:327-335. doi: 10.1152/jn.90392.2008.
29. Benninger Y, Colognato H, Thurnherr T, Franklin RJ, Leone DP, Atanasoski S, Nave KA, Ffrench-Constant C, Suter U, Relvas JB. Beta1-integrin signaling mediates premyelinating oligodendrocyte survival but is not required for CNS myelination and remyelination. *J Neurosci*. 2006;26:7665-7673.
30. Chomiak T, Hu B. What is the optimal value of the g-ratio for myelinated fibers in the rat CNS? A theoretical approach. *PLoS One*. 2009;4:e7754. doi: 10.1371/journal.pone.0007754.
31. Little GJ, Heath JW. Morphometric analysis of axons myelinated during adult life in the mouse superior cervical ganglion. *J Anat*. 1994;184:387-398.
32. Chau WK, So KF, Tay D, Dockery P. A morphometric study of optic axons regenerated in a sciatic nerve graft of adult rats. *Restor Neurol Neurosci*. 2000;16:105-116.
33. Wallace VC, Cottrell DF, Brophy PJ, Fleetwood-Walker SM. Focal lyssolecithin-induced demyelination of peripheral afferents results in neuropathic pain behavior that is attenuated by cannabinoids. *J Neurosci*. 2003;23:3221-3233.
34. Grandis M, Leandri M, Vigo T, Cilli M, Sereda MW, Gherardi G, Benedetti L, Mancardi G, Abbruzzese M, Nave KA, Nobbio L, Schenone A. Early abnormalities in sciatic nerve function and structure in a rat model of Charcot-Marie-Tooth type 1A disease. *Exp Neurol*. 2004;190:213-223.
35. Michailov GV, Sereda MW, Brinkmann BG, Fischer TM, Haug B, Birchmeier C, Role L, Lai C, Schwab MH, Nave KA. Axonal neuregulin-1 regulates myelin sheath thickness. *Science*. 2004;304:700-703.
36. Fahrenkamp I, Friede RL. Characteristic variations of relative myelin sheath thickness in 11 nerves of the rat. *Anat Embryol (Berl)*. 1987;177:155-121.
37. Jeronimo A, Jeronimo CA, Rodrigues Filho OA, Sanada LS, Fazan VP. A morphometric study on the longitudinal and lateral symmetry of the sural nerve in mature and aging female rats. *Brain Res*. 2008;1222:51-60. doi: 10.1016/j.brainres.2008.05.055.
38. Friede RL, Beuche W. Combined scatter diagrams of sheath thickness and fibre calibre in human sural nerves: changes with age and neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1985;48:749-756.