

석고를 이용한 한국재래산양 시각상핵과 방실핵의 입체적 재구성

이봉희* · 이홍식 · 이인세 · 이성준

경상대학교 의과대학 해부학교실*, 서울대학교 수의과대학 해부학교실
(1991. 2. 25 접수)

Three-dimensional reconstruction of the supraoptic and paraventricular nuclei of the Korean native goat using a plaster

Bong-hee Lee*, Heungshik S Lee, In-se Lee, Seong-joon Yi

College of Medicine, Gyeongsang National University*

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received Feb 25, 1991)

Abstract: This study was carried out to reconstruct three-dimensional plaster model of the supraoptic and paraventricular nuclei of 3 Korean native goats. The representative coronal sections of the hypothalamus were stained immunohistochemically with monoclonal antibodies to vasopressin and oxytocin simultaneously. Plaster models were reconstructed by schematic drawings which were made by tracing onto the tracing paper with the aid of a drawing attachment.

The results were as follows:

The configurations of the models of 3 supraoptic nuclei were slender spherical shape at their cranial parts, and the highest and widest size at middle parts, and became lower and narrow at caudal parts in two models, hence one was directed dorsolaterally.

The medial surfaces of the paraventricular nuclei were vertically flat, and lateral surfaces were more complex than medial with processes directed dorsolaterally at their cranial portion. They change positions dorsally at caudal portion, and there were no significant variations in shape between them.

Key words: plaster, reconstruction, supraoptic nuclei, paraventricular nuclei, Korean native goat.

서 론

조직 내 특정 구조물의 형태학적 특징을 인구하고 교육하기 위해서 흔히 현미경 관찰을 통하여 얻어진 결과를 재구성하여 입체 모형을 제작한다.

입체 모형 제작 기법은 wax를 이용한 방법을 비롯하여¹ polystyrene plate², acryl plate³, plastic plate⁴, lucite^{5,6}, hard board 판지⁷ 등이 오래전부터 이용되어 왔다.

그러나 이들의 대부분은 현미경 소견을 기본으로 한

특정 구조물의 입체형상화라는 점에서 비록 이들의 연구가 수 많은 연속절편을 관찰하여 얻어진 소견의 재구성이었다 하더라도 조직표본의 단면을 통하여 얻어진 단편적 자료의 종합화라는 점에서 단지 입체적 형태의 추정에 그친 것이 사실이다. 따라서 입체 구조모형 제작의 기본요건이 제작방법이 간편하고 비용이 저렴하며 사실의 재현성이 높아야 된다는 점에서 문제가 제기되어왔다.⁶

최근에는 computer의 발달과 보급으로 이를 이용한 computer graphics가 특정 구조물의 재구성에 널리 이

용되고 있으나 이들은 2차원적 평면 도형을 스크린 monitor에 제시한다는 점에서 그 활용에 한계를 보이고 있다.

근간에 이⁸는 석고를 이용하여 제작이 간단하고 용이하며 재현성이 높은 입체적 재구성을 시도하여 신경핵의 모형제작에 새로운 지견을 제시한 바 있다.

저자들은 지금까지 한국재래산양 시상하부(hypothalamus) 시각상핵(supraoptic nucleus)과 방실핵(paraventricular nucleus)의 광학현미경 및 전자현미경 소견에 관한 보고는 있으나^{9,10} 입체 모형에 관한 보고는 전무하여 이들 신경핵의 입체적 재구성을 석고를 이용하여 시도한 바 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

체중 15kg 내외의 한국재래산양 3마리를 대상으로하여 xylazine hydrochloride를 근육주사하여 마취시킨 뒤 총경동맥을 노출하여 방혈시키면서 좌심실을 통하여 0.9% 생리적 식염수와 10% neutral buffered formalin을 차례로 관류하였다. 그후 두개강을 열고 뇌를 적출한 후 시상하부를 절제하여 4°C의 동일 고정액에 15시간 후고정시키고 vibratome(DTK-2000, D.S.K.)을 이용하여 50μm 두께의 연속횡단절편을 제작하였다.

연속절편 300μm마다 한장씩을 취하여 gelatin coating slide에 얹어 전조시킨 후 cresyl violet 염색을 하여 시각상핵과 방실핵을 확인하고 이들이 시작하는 부위로 부터 600μm마다 한장씩의 조직절편을 택하여 면역조직화학 반응을 시행하였다. 이때 제1항체는 조 등¹¹과 Lee와 Cho¹²가 개발한 vasopressin과 oxytocin에 대한 monoclonal anti-vasopressin과 monoclonal anti-oxytocin을 각각 1:100으로 희석하여 사용하였고 제2항체는 biotinylated anti-mouse IgG와 avidin-biotin peroxidase complex(Vector, PK 4002)를 사용하였다.

면역조직화학반응에 의한 염색은 먼저 연속절편을 monoclonal antivasopressin으로 처리한 후 nickel chloride가 0.04% 함유된 0.05M tris buffer(pH 7.2)에 3, 3-diaminobenzidine이 5mg/100cc 되도록 제조한 기질액에서 floating fluid method에 따라 vasopressin 분비세포에 대한 흑청색 정색반응을 야기한 후 0.2M glycine-HCl(pH 2.2)로 1시간 처리하였다. 그후 0.05M phosphate buffered saline으로 3회 세척하고 다시 monoclonal anti-oxytocin을 반응시키고 3, 3-diaminobenzidine 기질액에 hydrogen peroxide를 0.003% 첨가하고 실온에서 15분간 반응시켜 oxytocin 분비세포에 대한 갈색 정색반응을 실시하였다. 정색반응이 나타난

조직은 cresyl violet로 대조염색을 하고 투명화를 거쳐 wet mount로 봉입하였다.

시각상핵과 방실핵을 재구성하기 위해서는 이⁸의 방법에 따라 먼저 drawing attachment가 부착된 20배의 광학현미경하에서 vasopressin 분비세포와 oxytocin 분비세포로 구성된 시각상핵과 방실핵의 윤곽을 보면 서 이들 핵의 가장자리를 따라 tracing paper에 스케치하였다. 그후 묘사된 윤곽을 따라 다시 핵석판에 밀착시켜 스케치한 뒤 핵석판을 가위로 절단하였다. 절단된 단면의 모형들은 실제 크기와의 비율에 맞추어 일정간격으로 배열하고 가는 철사로 고정한 다음 석고반죽을 각 절편 사이에 채워 넣었으며 석고가 굳은 다음 각 절편들의 가장자리를 따라 석고면을 고르게 다듬어 입체모형을 완성하였다.

결 과

한국재래산양 시상하부 시각상핵의 입체 모형을 석고를 이용하여 재구성한 후 관찰한 바 시각상핵의 크기와 모양이 3예가 각기 달랐다. 첫번째 예는 최대길이 10cm, 최대폭 12cm, 최대높이 2cm였으며 전반부는 높이가 낮고 폭이 넓은 타원형이었으나 중간부는 높이와 폭이 제일 넓으며 후반부는 폭이 좁아지고 높이가 낮아졌다가 다시 넓어지는 불규칙한 모습을 보였다(Fig 1).

2번째 예는 최대길이 5cm, 최대높이 2cm에 불과하였으나 폭은 매우 커 15cm에 달하였다. 모형의 전반부는 첫번째 예와 같이 낮은 높이에 넓은 폭을 가진 타원형이었으나 중간부는 폭과 높이가 가장 넓고 높았으며 저면이 오목한 형태를 보였다. 후반부는 중간부보다 폭과 높이가 작았으나 첫번째 예와 달리 후반부 끝부분이 하복방을 향하였다(Fig 2).

3번째 예의 모형은 최대높이와 최대길이가 2번째 예와 비슷하였으나 최대폭은 10cm에 불과하였다. 이들 입체모형의 전체적인 윤곽은 전반부와 중간부는 2번째 예와 유사하였으나 후반부 형태는 2번째 예와 달리 매우 넓은 폭을 가진 타원형을 나타내었고 끝부분이 2부분으로 나누어졌다(Fig 3).

석고로 재구성한 방실핵의 입체 모형은 시각상핵과 달리 3예 모두 유사한 크기와 모양을 나타내어 최대길이 7cm, 최대폭 3cm, 최대높이 8cm였다. 입체모형의 전반부는 저변이 V자형으로 시작되는 단면을 나타내었으며 전반부가 중간부로 이행되는 부위에서는 외상방으로 향하는 3~4개의 작은 돌기가 돌출되었다. 중간부의 폭은 좁았으나 높이는 최대에 달하였으며, 후반부 상단은 최대폭 크기의 타원형으로 끝나는 불규칙

한 모습을 보였다(Figs 4, 5, 6).

고 찰

형태학분야에서 조직내 특정구조물을 가시화시키기 위해 이미 오래전부터 polystyrene plate, lucite, acryl plate, plastic plate, hard board 판지 등의 여러가지 재질을 이용하여 3차원적 형태를 재구성하려는 노력이 시도되어왔으나,^{2~5,7} 광학현미경소견 또는 전자현미경 소견의 종합화에 의한 단면의 재구성이라는 점에서 모형의 추정에 그치고 있다. 근간에는 이와 같은 점을 보완하는 방법으로 개인용 computer나 CRT-터미널을 이용한 graphics 방법이 많이 보고되고 있다.^{13,14} computer를 이용한 computer graphics 및 graphics를 이용한 CAD/CAM 기법은 재구성 구조물 내부에 있는 다른 구조물까지도 각종 색채로 표현할 수 있을 뿐 아니라 2중, 3중의 복합영상처리를 할 수도 있으며 animation으로 물체 내 운동을 연속동작으로 관찰할 수 있는 장점이 있으나 그 어떤 것이던 computer graphics 그 자체는 2차원적인 모니터에 영상이 screening 되므로써 reality를 살릴 수 없다는 점에서, 그리고 실제로 graphics를 수행해야 할 SW program의 개발, 제작, 구독이 보편화되어 있지 못하다는 점에서 한계에 부딪하고 있다.¹⁵ 따라서 이는 Augustine이⁶ 주장하는 3차원적 입체 모형 재구성에서 가장 중요시되는 3요소 즉, 제작방법이 간단하고, 경제적이어야 하며, 재현성이 높아야한다는 점에 비추어 볼 때 역시 문제가 제기된다.

이⁸는 최근에 값이 저렴하고 쉽게 구득할 수 있는 석고를 이용하여 3차원적 모형을 충분히 사실성 있게 제작할 수 있고 더구나 입체 모형 제작자가 제작하고자하는 의도대로 크기를 조절하여 제작할 수 있는 기법을 개발한 바 있다.

본 연구에서도 이와 같은 석고 모형 기법을 이용하여 한국재래산양의 시삭상핵과 방실핵의 모형을 제작하였다. 그 결과 시삭상핵은 모두 크기와 모형이 달랐으나 대체로 전반부는 높이가 낮고 폭이 넓은 타원형이였으며 중간부는 최대높이와 최대폭을 나타내었고 후반부는 높이가 낮고 폭이 좁은 형태를 보였다. 그러나 방실핵은 모두 유사한 크기와 형태를 보여 전반부는 가장 높이가 낮고 후반부는 높았으며 중간부와 전반부 사이에는 외상방으로 3~4개의 돌기가 돌출된 것을 입체 모형을 통하여 확인할 수 있었다.

이 등⁹은 한국재래산양의 시삭상핵과 방실핵을 광학현미경상 관찰한 바 시삭상핵은 제3뇌실 하단부의 양측에서 시교차와 시삭의 배측에 위치하고 그 크기는

대체로 최대폭×최대높이×최대길이가 각각 $4.3 \times 0.5 \times 2.4\text{mm}$ 에 달하는 초승달모양이라고 하였고, 방실핵은 시삭상핵 출현부위로부터 0.6mm 뒤쪽에 출현되는 구조물로 그 크기는 $1.5 \times 3.3 \times 3.6\text{mm}$ 에 달하는 고추모양의 삼각추체라고 하였다.

한편 이⁸는 토끼 시삭상핵의 형태를 석고를 이용하여 입체적으로 재구성한 바 대체로 주걱모양(rice scoop)이라고 하였다.

이와 같은 보고들은 본 연구결과와 상이한 것으로 우선 크기에 있어서 이 등⁹의 보고에 의해 시삭상핵의 경우 40배, 방실핵의 경우 20배에 달하는 크기였다. 이는 본 실험의 경우 실제 크기의 20배로 확대된 모형을 제작한 것과 비교하여 시삭상핵의 경우 2배의 차이를 보였다. 이와 같이 결과는 아마도 Rhodes et al¹⁶이 지적한 바와 같이 시상하부 신경핵의 크기나 형태가 개체에 따라 차이가 있다고 한 보고에 비추어 개체 차이에 의한 것으로 사료된다. 아울러 형태에 있어서도 이 등⁹은 시삭상핵의 모양은 평면상 초승달 모양이라고 하였으며, 방실핵은 삼각추체라고 하였고, 이⁹는 토끼의 경우 시삭상핵의 입체 모형이 주걱 모양이라고 하여 본 실험결과와 차이를 보였다. 이와 같은 결과도 전술한 바와 같은 대상동물이나 개체 차이에 의한 결과에 기인한 것으로도 사료되나 그보다는 오히려 본 실험의 경우 입체 모형을 제작하므로써 평면구조의 단면으로는 관찰할 수 없는 입체 구조를 재현하므로써 가시화된 구조로 생각된다. 즉, 이 등⁹은 단지 평면 구조를 종합하여 조직 내 구조물을 추정한 것에 반하여 본실험에서는 평면과 평면사이를 석고로 완전히 충만시켜 모형을 도출하였다는 점에서 입체 모형 재구성에 무엇보다 유용한 기법으로 사료된다. 그 예로 이 등⁹은 방실핵의 경우 돌기 유무를 보고한 바 없었으나 본 실험의 경우 뚜렷한 돌기를 관찰할 수 있었던 바 이는 입체 모형으로써만 확인할 수 있는 재구성의 장점으로 생각된다.

아울러 실물대비 20배크기로 한국재래산양의 시삭상핵과 방실핵을 재현한 본 실험 결과의 입체 모형의 경우 최대길이, 최대폭, 최대높이 등이 10cm 내외의 적당한 크기가 되므로써 취급과 보관이 편리한 점이 있어 한국재래산양의 시삭상핵과 방실핵의 형태학적 연구나 교육자료로써 충분한 가치가 있다고 생각된다.

결 론

한국재래산양 3마리를 대상으로 시상하부내의 시삭상핵과 방실핵의 입체적인 모형을 재구성하기 위하여 시상하부 조직의 관상 연속 절편은 단세포군 항체를

이용하여 면역조직화학 반응을 시행하고 셜고를 이용하여 이 두께를 최대길이, 최대폭, 최대높이가 10cm 내외인 약 20배 크기의 모형을 재구성하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

시각상 핵의 모형은 3예에서 모두 전반부는 낮고 넓게 펴진 타원형이었으며 중간부에서는 최대폭과 최대

높이를 이루며, 후반부는 2예에서는 낮고 높이 좁게 끝났으나 1예에서는 외측이 외상방을 향하고 있었다.

방설핵은 3예 모두 내측은 수직으로 평면하였으나 외측은 외상방으로 향하는 돌기가 전반부에 있었으나 전반부에서 후반부로 갈수록 상부로 향하고 있었고 개체에 따라 형태에는 큰 차이가 없었다.

Legends for figures

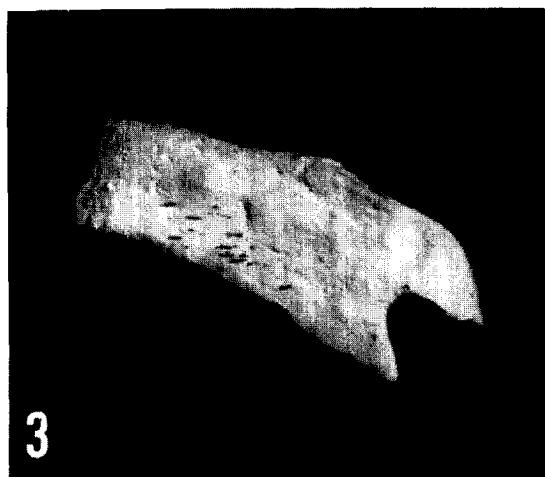
- Fig 1.** Photograph of a plaster model showing the supraoptic nucleus(model I) of a Korean native goat from frontolateral view.
- Fig 2.** Photograph of a plaster model showing the supraoptic nucleus(model II) of a Korean native goat from frontolateral view.
- Fig 3.** Photograph of a plaster model showing the supraoptic nucleus(model III) of a Korean native goat from frontolateral view.
- Fig 4.** Photograph of a plaster model showing the paraventricular nucleus(model I) of a Korean native goat from frontolateral view.
- Fig 5.** Photograph of a plaster model showing the paraventricular nucleus(model II) of a Korean native goat from frontolateral view.
- Fig 6.** Photograph of a plaster model showing the paraventricular nucleus(model III) of a Korean native goat from frontolateral view.



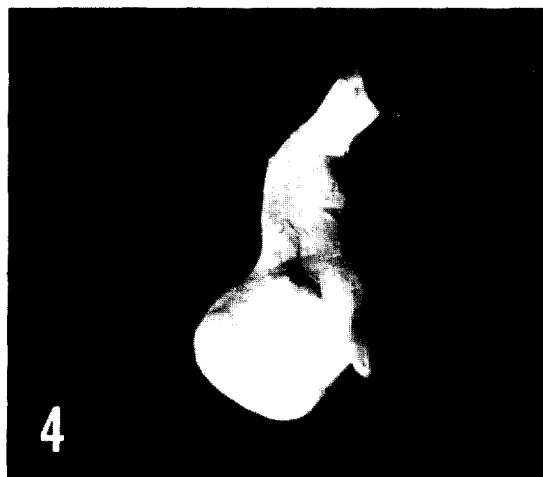
1



2



3



4



5



6

참 고 문 헌

1. Werner G, Morgenstern E. Three-dimensional reconstruction of human blood platelets using serial sections. *Europ J Cell Biol* 1980; 20: 276~282.
2. Gribnau AAM, Lammers GJ. The preparation of graphical and three-dimensional reconstructions of the developing central nervous system. *Acta Molphol Neerl Scand* 1976; 14:1~18.
3. Jorgensen M. Three-dimensional reconstruction in histology. *Acta Path Microbiol Scand Section A* 1971; 79:298-302.
4. Sjöstrand FS. A search for the circuitry of directional selectivity and neural adaptation through three-dimensional analysis of the outer plexiform layer of the rabbit retina. *J Ultrastuct Res* 1974; 49:60~156.
5. Baetens D, Malaisse-Lagae F, Perrelet A, et al. Endocrine pancreas: Three-dimensional reconstruction shows two types of islets of Langerhans. *Science* 1979; 206:1323~1325.
6. Augustine JR. A lucite plate method for 3-dimensional reconstruction of neuronal populations. *J Neurosci Met* 1981; 4:63~71.
7. Los JA. A new method of three-dimensional reconstruction of microscopical structures based on photographic technique. *Acta Morphol Neerl Scand* 1971; 8:273~279.
8. 이봉희. 석고를 이용한 토끼 시각상핵의 입체적 재구성. *대한해부학회지* 1986; 19:229~234.
9. 이홍식, 이인세, 조사선 등. 단크론 항체를 이용한 한국재래산양의 vasopressin 및 oxytocin 분비 세포 동정에 관한 조직화학적 연구. *농시논문집(농업산학협동편)* 1987; 25~35.
10. 이인세, 이홍식, 조사선 등. 單크론 抗體를 利用한 韓國在來山羊 oxytocin 分泌細胞의 電子顯微鏡的 研究. *農試論文集(農業產學協同編)* 1988; 31:29~40.
11. 조사선, 차중익, 장가용 등. 세포융합에 의한 vasopressin항체생산. *서울의대 학술지* 1984; 25: 23~28.
12. Lee SR, Cho SS. Production of monoclonal antibody to oxytocin for immunohistochemical use. *Seoul J Med* 1986; 27:19~26.
13. Levinthal C, Macagno E, Tountas C. Computer-aided reconstruction from serial sections. *Pedroc* 1976; 33:2336~2340.
14. Müller E, Stempfel S. A three-dimensional reconstruction of high endothelial venules in the mouse lymph node: An enzyme-histochemical study. *Anat Rec* 1985; 212:424~429.
15. Augustine JR, Huntsberger T, Moore M. Computer-aided reconstructive morphology of the baboon abducens nucleus. *Anat Rec* 1985; 212: 210~217.
16. Rhodes CH, Morrell JI, Pfaff DW. Immunohistochemical analysis of magnocellular elements in rat hypothalamus: Distribution and numbers of cells containing neurophysin, oxytocin, and vasopressin. *J Comp Neurol* 1981; 198:45~64.