大韓獸醫學會誌(1992) 第32券 第4號
Korean J Vet Res (1992) 32(4) : 481~487

腦神經膠細胞 集團의 發生과 移動에 대한 放射線 自記法的 관찰
Ⅰ. 설치류 腦에 外胚葉性 神經膠細胞 集團의 出現에 대하여

郭 守 東
경상대학교 수의과대학
(1992년 7월 7일 접수)

Radioautographical observations of development and appearance of glia cells in brain
Ⅰ. Appearace of ectodermal glial cell aggregates in rodent brain

Soo-dong Kwak
College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University
(Received July 7, 1992)

Abstract : The present study was designed to investigate the appearance of the congenital aggregates of the ectodermal glial cells in the brain of the normal rodents.

The brain samples were taken from mice fetus, juvenile mice, rats and rabbits. The appearance regions of the glial cell aggregates (GCA) were investigated and the cells in the GCA were identified with electron microscope.

1. GCA in the mouse fetus tended to be higher in cell density, larger in size and lower frequency in appearance than juvenile mouse. The regions of higher appearance frequency of GCA in the juveniles of mice, rats and rabbits were ordered as subependymal layer in the collateral trigone of lateral ventricles, molecular layer of the neocortex, inner layer except the molecular layer in the neocortex, cerebral medulla, corpus callosum and hippocampus. Appearance frequency of GCA in the neonatal mice tended to be higher until 5 day after birth, and were markedly decreased on 10 and 15 day after birth.

2. GCA tended to be closed on one side of the blood vessels or neurons but not perivascular or perineuronal appearance.

3. In electron microscophy, GCA were composed of immature oligodendrocytes and astrocytes in the subependymal, and tended to be more mature and loose in the neocortex and to be appended some microglia cells with age. The cells in the GCA of older mice tended to be more mature than in young mice.

Key words : glial cells, aggregates, brain, rodent.

緖 論

腦의 神經膠細胞는 大膠細胞와 小膠細胞로 나눌 수 있고 小膠細胞는 태생기 中胚葉에서 기원되어 發生되지만 大膠細胞는 신경세포와 같이 外胚葉에서 유래되어 태생기에 腦室의 인접부위에 증식되어 移動分散되므로 정상적인 어린 동물에서 이들 세포들이 分散移動되지 않고 集團的으로 잔류하고 있는 경우가 있다.[1~8] 이런 소견은 신경계에 病變을 일으키는 傳染病의 腦組織 소견인 小膠細胞 增殖所見과 구별이 곤란하다고 돼지의

* 이 논문은 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모(지방대학육성)과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

뇌조직에서 보고된 바가 있다.[1,2,8] 가축에서 이러한 교세포 증식소견을 나타내는 전염병인 돼지의 돈코레라, 가성광견병, 日本腦炎, 羊의 Listeria병, 닭의 Marek's 병, Newcastle병, 鳥腦脊髓炎, 개의 광견병, Distemper 등은 우리나라 가축에 많은 피해를 주는 疾病이며 이들 疾病으로 인한 損失은 매년 막대하다.[9~17]

이들 傳染病의 발병시는 조기에 정확히 診斷하여 병에 따른 대책수립이 중요하다. 이들 전염병의 진단을 위하여는 病理解剖 및 組織學的 方法이 많이 응용되고 있다.[8~17] 이들 병의 腦의 組織學的 소견은 腦에서 神經膠細胞의 增殖과 集團出現, 血管의 圍管性 圓形細胞 침윤, 神經細胞 괴사와 탐식현상 등의 非化膿性 腦炎所見을 관찰하게 된다.[1~17]

神經膠細胞의 발생과정으로 보아 羊, 닭 등과 실험동물인 토끼, rat 및 mouse에서도 어린 동물의 腦에서 이러한 大膠細胞 集團이 分散되지 않고 잔류하고 있어 腦症狀을 나타내는 傳染病의 진단에 오진의 원인이 되고 있으리라고 보며 특히 실험동물로 많이 이용되는 rat와 mouse 등은 이들 所見이 어떤 實驗의 결과로 인해 病變이 發生된 所見으로 오인할 가능성이 많이 있다. 그래서 이들 實驗動物에서 神經膠細胞들의 集團的發生 移動樣相, 構成細胞 등의 조사가 필요하다.

본 연구는 정상적인 rat와 mouse 및 토끼 등의 腦에 大膠細胞 集團의 출현양상을 조직학적으로 조사하고 그 세포들을 電子顯微鏡的으로 동정한 결과를 보고코자 한다.

材料 및 方法

실험동물로 mouse(ICR)는 分娩 2~3일전, 1일령, 3일령, 5일령, 10일령 및 15일령을, rat(Wister)는 1일령, 3일령 및 5일령을, 토끼는 3일령 및 5일령을 각각 2~5수씩으로 하여 방혈한후 腦組織을 摘出하고 10% 중성 formalin에 고정하여 paraffin절편을 만들거나 또는 sucrose액에 浸漬한후 cryo-embedding medium(Miles Inc)로 포매하여 동결절편을 만들었다. 다음 H-E염색, cresyl echt violet 염색 또는 Cajal's gold sublimate 염색하여 膠細胞 集團의 출현양상을 光學顯微鏡으로 관찰하였다.

電子顯微鏡的 관찰을 위하여는 1일령 및 3일령 mouse (C57 BL)의 뇌를 1~2㎣ 크기로 잘라 2.5% glutaraldehyde액에 4℃에서 2시간 전고정하고 0.2M phosphate buffer(pH 7.2)로 같은 시간동안 수세하고 1% osmium tetroxide에 1시간동안 후고정하였다. 그리고 alcohol 농도의 단계적 탈수를 하여 Epon 812 포매하고 ultramicrotome으로 70nm의 超迫切片을 만들어 urany acetate와 lead citrate로 2중 염색한후 電子顯微鏡(Hitachi, H-600)로 膠細胞 集團의 구성세포들을 同定하였다.

結 果

實驗動物의 腦에 외배엽성 神經膠細胞인 大膠細胞의 增殖, 移動分散 등의 양상을 조사하기전에 우선 정상적인 어린 토끼, rat, mouse의 뇌내 외배엽성 先天性 神經膠細胞 集團의 출현양상을 조사하고 그 集團의 구성세포를 電子顯微鏡으로 동정하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

Mouse에서 관찰한 바 分娩 2~3일전의 胎兒의 腦室쪽은 全部位가 세포밀도가 높아 조사대상이 되지 않았고 皮質部는 교세포집단이 세포밀도가 높고 크기는 크나 그 出現頻度는 낮은 경향이었고 集團의 형태는 원형, 타원형 또는 불규칙형이었고 그 직경은 10~50개 정도의 세포폭을 합한 길이었다. 출생후에는 胎生期때보다 크기는 감소하였으나 집단의 수는 더 많은 경향이였고 5일령까지는 높았으나 10~15일령에서는 細胞密度가 낮아지고 세포간의 간격이 느슨해지고 膠細胞 集團의 크기가 작아지고 출현빈도가 현저히 감소되었고 上衣下層도 아주 좁아졌다.

部位別로는 上衣下層에 膠細胞 集團의 出現率이 가장 많고 側腦室 側三角部 주변은 세포밀도가 느슨하면서 上衣下層이 넓으며 이 내부에 세포가 밀집소로 되어 膠細胞 集團으로 나타나는 例가 많았다(Fig 1). 다음은 新皮質部의 分子層(Figs 2, 3)內가 膠細胞 集團의 크기도 크며 그 出現率도 높았다. 神經細胞나 혈관주위에 나타난 膠細胞 集團들은 圍管性으로 둘러싸는 예는 적었고 한쪽에 접하고 있었다. 그 다음은 大腦皮質에서 分子層을 제외한 內側層에 출현이 많았고(Fig 2), 髓質部(Fig 4), 腦梁과 海馬角에는 오히려 출현빈도가 가장 낮고 集團의 크기도 작았다. 上衣下層에 교세포들은 세포가 밀집되어 경계가 불명확하고 新皮質部 등의 膠細胞 集團(Fig 2)은 세포별 간격도 느슨하고 境界도 명확하여 細胞分裂이 없이 세포가 소멸되어 수가 감소하고 있었고 이러한 現狀은 연령이 증가할수록 더 진행되었다.

Rat와 토끼는 1일령에서 5일령까지 선천성 膠細胞 集團의 부위별 出現頻度의 순은 mouse와같이 側腦室 주변의 側三角部 주변 上衣下層(Fig 1), 分子層(Figs 2, 3), 內側層(Fig 2), 髓質層部과 海馬角의 순이였고 연령별 출현빈도는 토끼, rat, mouse순이였다.

電子顯微鏡的으로 上衣下層에는 두 가지 세포가 주를 이루고 있었다. 그 하나는 난원형의 평활한 세포체를 가졌고 核이 편재해있고 核染色質은 농축되고 주변부로

핵막에 접하며 배치되고 세포질은 밝고 소기관의 발달이 적은 미숙형 稀突起膠細胞로 인정되었고 또 하나는 세포질은 밝고 소기관이 발달되고 ER가 세포질내에 산재해 있고 이 cisternae는 넓고 보다 치밀한 물질로 충만되고 ribosomes이 수가 적으며 불규칙하게 배열되고 농축된 핵염색질이 핵막에 인접해 좁게 밀집되고 미숙형 星膠細胞로 인정되어 전체가 미숙형 稀突起膠細胞와 星膠細胞로 구성되었고 新皮質部에 膠細胞 集團(Figs 6, 7)은 세포질이 더 밝고 核染色質은 分散되고 핵은 보다 더 원형 또는 난원형화하였고 ER는 集團化하고 microtubules은 속상을 형성한 성숙한 稀突起膠細胞(Fig 6)와 核染色質은 밀도가 다소 높고 균일하였고 핵막쪽에는 좁게 밀집되었고 세포질은 밝으며 rER의 분포가 적은 성숙형의 星膠細胞(Fig 7)로 인정되는 세포와 그외 핵의 크기가 적고 核染色質이 치밀하고 集團化되어 용해소체와 ER가 발달되어 小膠細胞(Fig 6)로 인정되는 세포가 소수 혼재하고 있어 上衣下層과 같은 세포로 구성되었으나 보다 더 성숙되고 小膠細胞가 소수 함유되고 있었다.

考　察

先天性 神經膠細胞 集團의 출현부위에 관하여서는 rat에서 Private와 Leblond[7]는 下衣下層, 腦梁 및 上衣下層의 인접층(free subependymal layer)이라 하였고, Ling et al[5,6]은 上衣下層 및 下衣下層의 인접층이라고 하였고, Ling과 Leblond[18]는 rat에서 側腦室주변 미상핵 인접부와 腦梁에 출현하였으나 大腦皮質에서는 출현하지 않는다고 하였다. 돼지[14]에서는 上衣下層과 그 주변부 大腦灰白質部와 白質部 등에서 관찰되었다고 하였다.

본 觀察에서는 mouse, rat 토끼에서 부위별 출현빈도는 上衣下層, 新皮質의 分子層 및 그 內側層, 腦梁, 海馬角 순으로 많이 출현하였고, 側腦室의 側3角部位의 上衣下層은 위 보고의 上衣下層의 인접층과 같은 부위로 사료되어 위 보고들과 유사한 결과였으나 그러나 Ling과 Leblond[18]가 大腦皮質에 출현하지 않는다고 한 예와는 차이가 있었으며 全腦에서 出現하고 있음을 알 수 있었다.

年齡別 出現頻度에 관하여서는 Ling과 Leblond[18]은 rat에서 연령이 증가할 수록 감소하였으나 연령별 조사한 바는 없고 5개월령의 예에서는 관찰되지 않았다고만 하였다.

본 관찰에서는 3~5일령에서는 胎兒期때보다 集團의 크기는 감소하고 수는 증가한 것은 교세포가 分散되는 과정에서 나타나는 현상으로 사료되었고 mouse의 10~15일령에서 현저히 감소된 것은 細胞分裂이 없이 소멸이 일어나고 있는 것으로 사료되었고 연령별로는 토끼가 가장 높은 것은 어린 동물일수록 出現率이 높은 점을 볼 때 성장기간이 가장 길기 때문일 것으로 생각된다.

先天性 膠細胞 集團과 腦炎소견의 膠細胞 集團의 차이에 관하여는 뇌염소견의 교세포 집단은 소교세포와 임파구가 주를 이루므로 세포밀도가 높고 염색성이 진하고 혈관주위에는 圍管性으로 출현하고 신경세포 주위는 위성상으로 출현한다.[9,12] 先天性 膠細胞 集團은 어린 동물에서는 密度가 높고 세포가 밀집되어 있으며 有絲分裂이 많이 일어나는 미숙형이므로 光學顯微鏡的으로는 세포들의 규명이 거의 불가능하고[4] 반면에 연령이 증가되면 分散되어 각 세포별 간격이 느슨하면서 경계가 명확하고 신경세포와는 인접하는 예가 적게 나타나고 혈관에도 圍管性으로 보다는 血管壁 일부에 접하는 경향이다.

構成細胞에서도 非化膿性 뇌염의 膠細胞 集團은 주로 小膠細胞와 淋巴球로 구성되는 반면에 先天性 膠細胞 集團은 미숙형 集團에서 연령이 증가할 수록 성숙된 星膠細胞와 稀突起膠細胞로 분화된다.[3,4,7] 小膠細胞는 核이 치밀한 긴 장방형이며[4] 星膠細胞와 稀突起膠細胞는 다같이 외배엽성 기원이고 혼재하고 있는데 星膠細胞는 核이 창백한 난원형이고 稀突起膠細胞보다 크다. 그러나 rat에서[6] 星膠細胞는 6.3 μm인데 稀突起膠細胞 3종중 가장 큰 것은 7.0 μm라고 하였고, 닭에서[19]는 星膠細胞는 6.3×5.2 μm인데 稀突起膠細胞는 6.3×4.6 μm였고, 창백한 색의 核이 나타나서 통상기준으로는 구별하기 어렵다는 것을 말하고 있다.

電子顯微鏡的으로는 Skoffa et al[20,21]의 기준에 의거 관찰한 바 稀突起膠細胞와 星膠細胞의 미숙세포로 구성되었음이 확인되었고 新皮質部에 보다 느슨한 集團에서는 이들 성숙된 세포들과 소수의 小膠細胞들이 관찰되었다.

結　論

實驗動物인 토끼, rat, mouse의 腦內 외배엽성 先天性 膠細胞 集團의 출현양상을 光學顯微鏡的으로 조사하고 그 集團을 구성하는 세포들을 電子顯微鏡으로 동정하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 胎兒에서 膠細胞 集團은 크기가 크고 細胞密度가 높았으나 出現頻度는 낮은 경향이었고 출생후 膠細胞 集團은 出現頻度는 5일령까지는 높았으나 10~15일령에서는 현저히 감소되었고 부위별로는 上衣下層, 新皮質의 分子層, 新皮質에서 分子層을 제외한 內側層, 腦梁, 大腦髓質部, 海馬角 순이었다.

2. 神經膠細胞 集團이 혈관이나 신경세포 주위에 출

현할 때는 완전히 둘러싸지 않고 접하고 있었다.

3. 電子顯微鏡的으로 上衣下層의 膠細胞 集團은 미숙한 稀突起膠細胞와 星膠細胞로 구성되고 新皮質部 등의 세포밀도가 낮은 膠細胞 集團은 성숙된 稀突起膠細胞와 星膠細胞로 되고 소수의 小膠細胞도 함유되었으며 이러한 현상은 연령이 증가할 수록 더 진행되었다.

Legends for figures

Fig 1. Neuroglial cell aggregates were seen on the subependymal layer on the collateral trigone of the lateral ventricle in a 3-day-old mouse. Cresyl echt violet. X 100.

Fig 2. A few neuroglial cell aggregates(arrows) in a 10-day old rat were seen and the cells in these aggregats were loosely croweded. H-E stain. X 50.

Fig 3. A large aggregate of neuroglia cells was seen on the cerebral molecular layer in a 3-day-old rat. Cresyl echt violet stain. X 125.

Fig 4. A large aggregate of neuroglial cells was seen on the cerebral medulla in a 3-day-old rabbit. H-E stain. X 100.

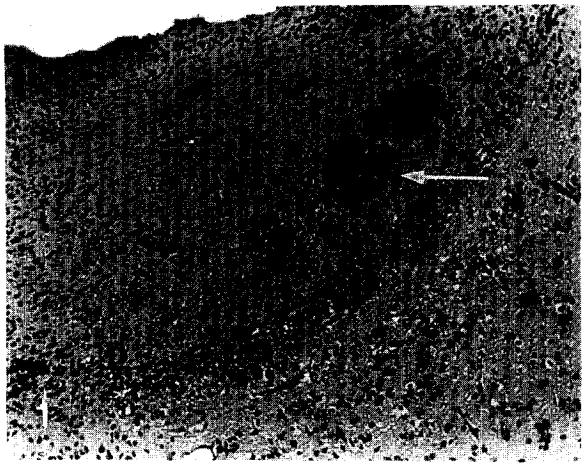
Fig 5. In the electron microscope, immature cells in the glial cell aggregate of 3-day-old mouse showing small variable nuclei, few organells, many small mitochondria. X 5,100.

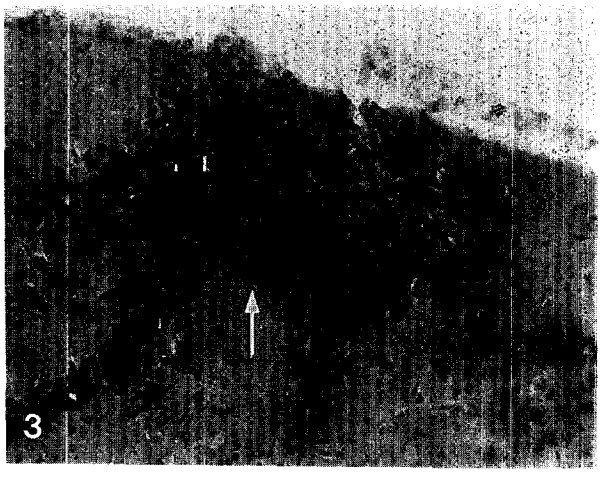
Fig 6. In electron micrograph, immature oligodendrocytes(arrows) and a microglia (M) in a glial cell aggregate of the neocortex of neonate mouse. These oligodenrocytes showing oval smooth cell body, eccentric nucleus, clumped chromatin, relatively light cytoplasm. A microglia cell(A) showing long cell body and long nucleus, more dense cytoplasm and nucleus, clumped chromatin. X 4,250.

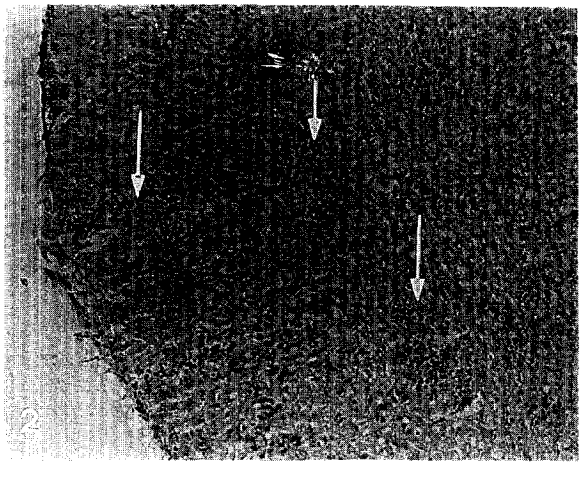
Fig 7. In electron micrograph, two astrocytes(A) in the glial cell aggregate of the neocortex of 3-day-old mouse showing electron -lucent cytoplasm, condensed chromatin and it's thin rim, a few mitochondria. X 5,100.

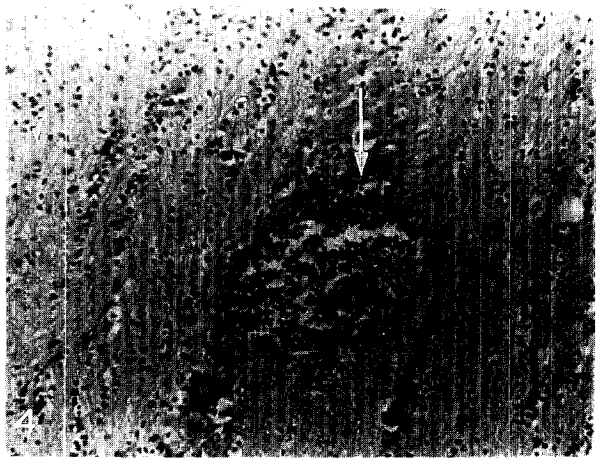
參 考 文 獻

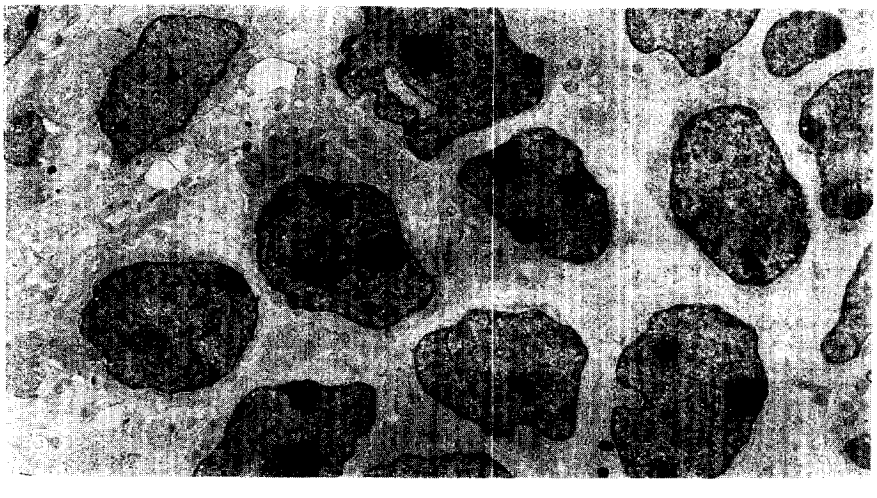
1. Helmboldt CF, Jungherr EH. The neuropathologic diagnosis of hog cholera. *Am J Vet Res* 1950 ; 11 : 41~49.
2. Helmboldt CF, Jungherr EH. Furdther observations on the neuropathological diagnosis of hog cholera. *Am J Vet Res* 1952 ; 13 : 309~317.
3. Imamoto K, Paterson JA, Leblond CP. Radioautographic investigation of gliogenesis in the corpus callosum of young rats. *J Comp Neur* 1978 ; 180 : 115~138.
4. Imamoto K. Leblond CP. Radioautographic investigation of gliogenesis in the corpus callosum of young rats. Ⅱ. Origin of microglial cells. *J Comp Neur* 1978 ; 180 : 139~164.
5. Ling EA. Presence of a fourth glial type considered to be spongioblast (glia precursor) in the corpus callosum of rats of various ages. *Anat Rec* 1972 ; 172 : 356(Abstr)
6. Ling EA, Jean A, Paterson A, et al. Investigation of glial cells in semithin sections. Ⅰ. Identification of glial cells in the brain of young rats. *J Comp Neur* 1973 ; 149 : 43~72.
7. Privat A, Leblond CP. The subependymal layer and neighboring region in the brain of the young rat. *J Comp Neur* 1972 ; 146 : 277~302.
8. 곽수동. 자돈뇌실 주위의 subependymal layer의 형태에 관한 관찰. 대한수의학회지 1988 ; 28(2) : 221~226.
9. 곽수동, 여상건, 서명득 등. 재래산양의 Listeria병에 관한 임상 및 병리조직학적 연구. 경상대학교 축산진흥연구소보 1987 ; 14 : 71~78.
10. 곽수동, 이차수. Hog Cholera 병돈의 뇌 및 임파장기에 관한 병리학적 연구. Ⅰ. 임상 및 병리해부학적 관찰. 대한수의학회지 1982 ; 22(1) : 31~36.
11. 곽수동, 이차수. Hog Cholera 병돈의 뇌 및 임파장기에 관한 병리학적 연구. Ⅱ. 임파장기의 괴사와 봉입체 출현. 대한수의학회지 1982 ; 22(1) : 37~52.
12. 곽수동, 이차수. Hog Cholera병돈의 뇌 및 임파장기에 관한 병리학적 연구 Ⅲ. 뇌염소견에 대하여. 대한수의학회지 1982 ; 22(2) : 197~209.
13. 곽수동. Hog Cholera 병돈의 병변출현에 관한 관찰. 한국수의공중보건학지 1984 ; 8(2) : 41~46.
14. 곽수동, 김순복, 여상건. 정상자돈 뇌의 신경교세포 집단출현에 관한 연구. 대한수의학회지 1988 ; 28(1) : 125~135.

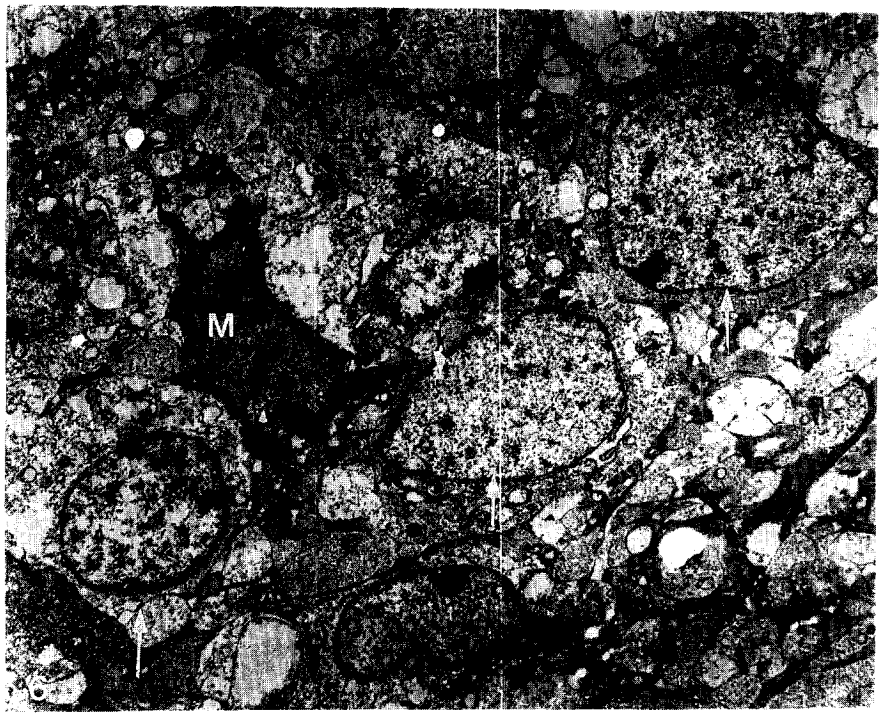


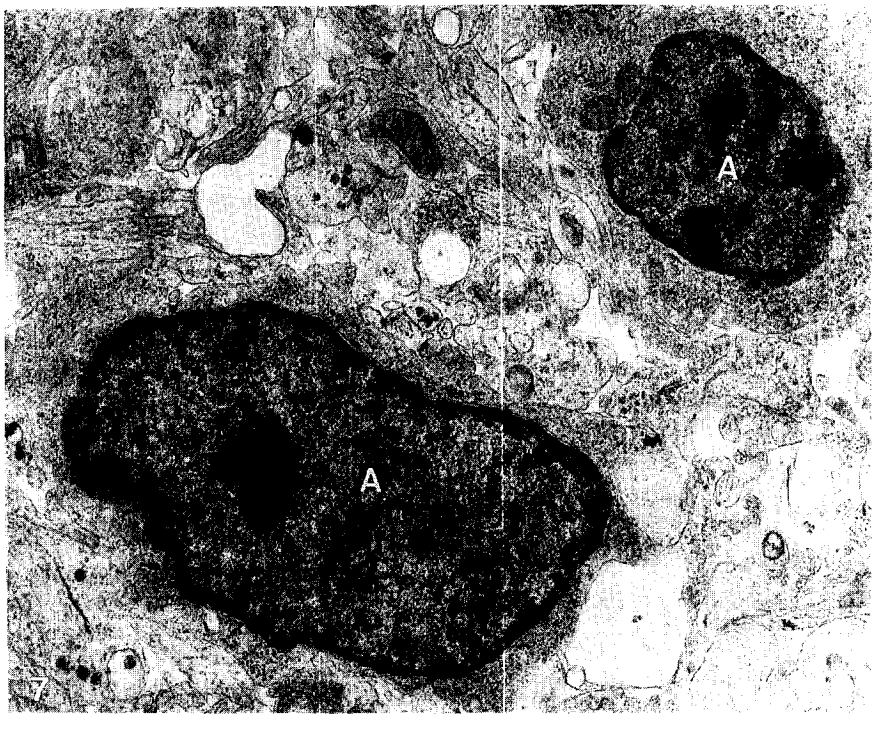









M


A
A

15. 김순복, 곽수동, Wittmann, G., Olinger, V. 가성광견병에 관한 병리학적연구. Ⅰ. 인공감염돈의 병리조직학적 소견. 대한수의사회지 1986 ; 22(5) : 294~298.
16. Monlux WS, Graves JH, Mckercher PD. Brain and spinal cord lesions in pig inoculated with swine vesicular disease virus. *Am J Vet Res* 1974 ; 35 : 615~617.
17. Takeda M, Hirasawa K, Doi K. Lesions in the nervous system of DBA/2 mice infected with D variant of encephalomyocarditis virus (EMC-D). *J Vet Med Sci* 1991 ; 53(6) : 1013~1017.
18. Ling EA, Leblond CP. Investigation of glial cells in semithin section. Ⅱ. Variation with age in the number of the various glial cell types in rat cortex and corpus callosum. *J Comp Neur* 1973 ; 149 : 73~82.
19. Uehara M, Ueshima T. Morphological features and frequencies of various types of glial cells in the ventral horn of the chicken spinal cord. *Jan J Vet* 1985 ; 47 : 791~798.
20. Skoff RP, Price DL, Stocks A. Electron microscopic autoradiographic studies of gliogenesis in rat optic nerve. Ⅰ. Cell proliferation. *J Comp Neur* 1976 ; 169 : 291~312.
21. Skoff RP, Price DL, Stocks A. Electron microscopic autoradiographic studies of gliogenesis in rat optic nerve. Ⅰ. Time of origin. *J Comp Neur* 1976 ; 169 : 313~334.