

한국재래산양 혀에 분포하는 신경전달물질에 관한 면역조직화학적 연구

이흥식 · 이인세 · 강태천

서울대학교 수의과대학 해부학교실
(1996년 4월 23일 접수)

Immunohistochemical studies on the distribution of neuropeptides in the tongue of Korean native goat

Heungshik S. Lee, In-se Lee, Tae-cheon Kang

College of Veterinary Medicine, Seoul National University
(Received Apr 23, 1996)

Abstract : This study was performed to identify the localization of several neuropeptides; calcitonin gene-related peptide(CGRP), substance P(SP), vasoactive intestinal polypeptide (VIP), neuropeptide Y(NPY), serotonin(5-HT) and neurotensin in the tongue of Korean native goat(*Capra hircus*) by immunohistochemical method.

The results were summarized as follows: CGRP- and SP-immunoreactive fibers were observed as moderate immunoreactivity at the subepithelial plexus and subgemmal fibers in lamina propria of lingual papillae, but not seen in intragemmal, intergemmal, perigemmal fibers as well as in the supporting, basal and taste cells. Fibers around the acinus of the von Ebner's gland and blood vessels showed weak immunoreactivities against CGRP and SP. In the intrinsic ganglion cells, CGRP- and SP-immunoreactivities were not observed.

The distribution patterns of VIP- and NPY-immunoreactive fibers were similar to CGRP- or SP-immunoreactive fibers, but their immunoreactivities were stronger than those of CGRP- or SP immunoreactive fibers. The immunoreactivities to VIP or NPY were seen in the intrinsic ganglion.

Only a few serotonin immunoreactive fibers were seen in some filiform or fungiform papillae. Neurotensin immunoreactivity was not observed in the tongue of Korean native goat.

Key words : Immunohistochemistry, Korean native goat, tongue, neuropeptides.

서 론

혀(tongue)는 악구어류인 원구류 이상의 동물에서 관찰되는 구조로 고등척추동물에서는 잇몸에서 인두까지 이르는 구강바닥의 대부분을 차지하는 근육성 기관이다. 이는 소화의 가장 기초단계인 채식과 저작에 관여할 뿐아니라 고등동물에서는 발성기관과도 밀접한 관계가 있는 고도로 발달한 운동기관인 동시에 맛을 감지하는 감각기관으로서의 기능도 가지고 있다. 한편 혀에는 혈관분포가 풍부할 뿐아니라 동물의 종에 따라 동정맥연결(arteriovenous anastomosis)이 잘 발달하여 체열조절기관으로서의 역할을 담당하는 것으로도 알려져 있다¹⁻⁴.

이러한 운동 및 감각기능은 신경을 통해 이루어지는데 혀에 분포하는 신경으로는 삼차신경(trigeminal nerve), 안면신경(facial nerve), 설인신경(glossopharyngeal nerve), 미주신경(vagus nerve), 설하신경(hypoglossal nerve) 등이 있다. 이 중 혀의 운동을 맡아보는 일반내장수출섬유(general visceral efferent fiber)는 설하신경에서 유래하며, 혀섬의 분비를 조절하는 특수내장수출섬유(special visceral efferent fiber)는 안면신경 및 설인신경에서 유래된다. 그리고 혀의 일반내장수입섬유(general visceral afferent fiber)는 주로 삼차신경이 담당하며, 미각과 같은 특수내장수입섬유(special visceral afferent fiber)의 경우 혀의 앞쪽 2/3는 안면신경에서 유래되고 혀의 뒤쪽 1/3은 설인신경 및 미주신경에서 유래된다¹⁻⁵. 이처럼 다양한 신경분포로 인해 혀에는 calcitonin gene-related peptide(CGRP), vasoactive intestinal polypeptide(VIP), serotonin(5-HT), substance P(SP), neuropeptide Y(NPY) 등의 많은 신경전달물질(neurotransmitter)이 분포하여 혀의 운동 및 감각에 관여하고 있는 것으로 알려져 있다⁶⁻¹¹.

그러나 혀에서 관찰되는 신경전달물질의 기능적 의미는 동물의 종류와 혀의 부위에 따라 그 분포 및 존재 여부에 많은 차이가 있기 때문에 아직 논란의 대상이 되고 있다⁶⁻¹¹.

한편 우리나라 고유의 재래가축인 한국재래산양의 혀에 관한 연구는 이 등¹²이 한국재래산양 혀의 형태학적 특징을 보고한 것을 제외하고는 전무한 실정이고 한국재래산양 혀에 분포하는 신경전달물질에 관한 연구는 전혀 수행된 바 없다.

따라서 본 실험에서는 조사료의 이용률이 높고 질병에 강한 체질 때문에 젖소나 한우 또는 양을 대신하여 많은 연구에 이용되고 있는 한국재래산양¹²⁻¹⁷을 대상으로 하여 이들 신경전달물질의 분포상태를 면역조직화학적 기법을 이용하여 규명함으로써 새김질동물류를 대상으로 하는 각종 실험연구에 기초자료를 제공하고 나아가서 생물자원보호차원에서 한국재래산양 혀의 특성을 규명하여 우리나라 재래종 보호에 일익을 담당할 수 있는 생물정보를 구축코자 한다.

재료 및 방법

실험동물 및 조직채취 : 체중 15kg 내외의 수컷 한국재래산양 8마리를 사용하였으며 육안적 특징인 육수, 턱수염, 부유두, 유각유무, 뿔의 형태 및 체모의 특징 등에 의하여 한국재래산양(Capra hircus)으로 확인된 것만을 사용하였다. 실험동물은 Rompun으로 마취시킨 후 총목동맥을 통하여 먼저 0.9% 생리식염수로 관류한 다음, 4% paraformaldehyde 및 0.2% glutaraldehyde의 혼합 고정액으로 관류고정하고 혀를 적출하였다.

조직처리 및 면역조직화학적반응 : 관류고정 후 적출한 혀를 동일 고정액 내에서 하룻밤 후고정한 후 조직을 다시 20% sucrose 용액으로 24시간 세척하여 동결박절기(cryostat)를 이용하여 30 ~ 50 μ m 두께의 절편을 만들었다. 제작된 조직절편은 자유부유법(free floating method)에 따라^{12,14,18} 조직절편을 32well plate에 담아 0.1M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.3)으로 3회 세척한 후 내인성 과산화효소(endogenous peroxidase)를 제거하기 위해서 0.5% hydrogen peroxide in methanol 용액에서 30분간 반응시켰다. 이어서 비특이적 반응을 방지하기 위하여 normal goat serum에서 2시간 반응시킨 후 streptavidin-biotin peroxidase(ABC)법을 이용한 면역조직화학적반응을 실시하였다.

1차항체는 rabbit anti-rat CGRP(Peninsula Ltd), VIP(Incstar Co), substance P(Incstar Co), NPY(Incstar Co), 5-HT(BioGenex Co), neurotensin(Dako Co)을 0.3% normal goat serum-0.1% Triton X 100-PBS용액으로 각각 1:10,000, 1:1,000, 1:10,000, 1:1,000, 1:320, 1:400으로 희석하여 상온에서 24시간 반응시켰다. 반응

Table 1. Regional localization of various neuropeptides in the tongue of Korean native goat

	CGRP	SP	VIP	NPY	5-HT
Tongue tip	++	++	+++	+++	±
Tongue body	++	++	+++	+++	±
Tongue root	++	++	+++	+++	-

* Remarks : - (no immunoreactivity), ± (very weak immunoreactivity), + (weak immunoreactivity)
 ++ (moderate immunoreactivity), +++ (strong immunoreactivity)

이 끝난 조직은 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Zymed Co)를 2차항체로 이용하여 상온에서 4시간 반응시킨 후 peroxidase conjugated streptavidin(Zymed Co)에 2시간 반응시켰다. 이상 각 단계의 반응 후에는 0.1% triton X-100 in 0.01M phosphate buffer(pH 7.4)로 4~5차례 세척하였다. 모든 반응이 끝난 조직은 0.003% H₂O₂가 함유된 0.05% DAB(3,3'-diaminobenzidine tetrachloride, Sigma Co) in Tris buffer(pH 7.4) 용액에서 10~15분간 발색시켰다. 발색반응이 끝난 조직절편은 충분히 세척한 후 gelatin-coated slide에 부착하여 통상방법에 따라 탈수, 투명화시킨 후 permount로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

한국재래산양 혀에서 CGRP, SP, NPY, VIP, 5-HT, neurotensin항체에 대한 면역반응을 실시한 결과 CGRP, SP, NPY, VIP에 대한 반응은 혀 전반에 걸쳐 관찰되어 고루 분포하고 있었지만 5-HT의 경우에는 혀끝 일부와 혀몸통 일부에만 매우 미약하게 분포하고 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 neurotensin의 분포는 관찰되지 않았다.

CGRP, 5-HT, SP, NPY 및 VIP양성반응은 주로 신경섬유에서 관찰되었으며 맛봉오리를 구성하는 지지세포(supporting cell), 기저세포(basal cell), 미각세포(taste cell)에서는 관찰되지 않았다. 한편 CGRP, SP, 5-HT면역반응이 신경절세포에서 관찰되지 않았으나 VIP와 NPY면역반응은 신경절세포에서 관찰할 수 있었다(Table 1, 2). 각종 신경전달물질의 양성반응과 분포상태는 다음과 같았다.

CGRP 양성반응 : CGRP양성반응은 혀끝, 혀몸통, 혀뿌리 등 혀전체에 걸쳐 고루 관찰되었으며 실유두, 렌즈유두, 원뿔유두와 같은 기계적유두의 점막고유관에 분포하는 점막밑신경절기(subepithe-

lial plexus)에서 중등도의 양성반응이 관찰되었다. 버섯유두와 성곽유두와 같은 미각유두에서는 점막밑신경절기 외에 맛봉오리밑신경섬유(subgemmal fiber)에서도 중등도의 양성반응이 관찰되었으나 맛봉오리를 형성하는 미각세포, 지지세포, 기저세포 그리고 맛봉오리사이신경섬유(intergemmal fiber), 맛봉오리주위신경섬유(perigemmal fiber) 및 맛봉오리속신경섬유(intragemmal fiber)에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다. 혈관주위나 미각샘(von Ebner's gland) 주위에 분포하는 신경섬유 그리고 내인성 혀 근육층에서는 미약한 양성반응이 관찰되었다. 그러나 내인성 혀근육 사이의 결합조직 내에 위치하는 내인성신경절(intrinsic ganglion)에서는 CGRP양성반응세포를 관찰할 수 없었다(Figs 1, 2).

Substance P 양성반응 : 한국재래산양 혀에서의 SP양성반응은 CGRP와 동일한 양상으로 관찰되었다. 즉, SP양성반응은 혀끝, 혀몸통, 혀뿌리의 혀전반에 걸쳐 고루 관찰되었으며 실유두, 렌즈유두, 원뿔유두와 같은 기계적유두에서는 점막고유관의 상피밑신경절기에서 중등도의 양성반응이 관찰되었으며 버섯유두와 성곽유두와 같은 미각유두에서는 맛봉오리밑신경섬유에서 중등도의 양성반응이 관찰되었을 뿐 맛봉오리를 형성하는 미각세포, 지지세포, 기저세포 그리고 맛봉오리사이신경섬유, 맛봉오리주위신경섬유 및 맛봉오리속신경섬유에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다. 그러나 혈관주위나 미각샘 주위에 분포하는 신경섬유에서는 미약한 양성반응이 관찰되었다. 또한 혀의 근육층에서는 극히 미약한 반응이 관찰되었으나 혀의 내인성신경절에서는 CGRP와 같이 SP 양성반응세포를 관찰할 수 없었다(Fig 3).

VIP 양성반응 : VIP양성반응도 CGRP양성반응과 마찬가지로 혀전체에서 고르게 관찰되었으며 그 반응정도는 CGRP양성반응이나 SP양성반응보

Table 2. Immunoreactivity of various neuropeptides in the tongue of Korean native goat

	CGRP	SP	VIP	NPY	5-HT
Subepithelial plexus					
Filiform papilla	++	++	+++	+++	+
Fungiform papilla	++	++	+++	+++	+
Vallate papilla	++	++	+++	+++	-
Lentiform papilla	++	++	++	++	-
Conical papilla	++	++	++	++	-
Subgemmal fibers	++	++	+++	+++	-
Ganglion cell	-	-	+++	+++	-
Blood vessel	+	+	+++	+++	-
von Ebner's gland	+	+	++	++	-
Duct of von Ebner's gland	-	-	++	++	-
Muscle layer	+	±	+	+	-

* Remarks : - (no immunoreactivity), ± (very weak immunoreactivity), + (weak immunoreactivity)
 ++ (moderate immunoreactivity), +++ (strong immunoreactivity)

다 강하였다.

VIP 양성 반응은 실유두의 상피밑신경절기는 강한 양성 반응을 보인 반면, 렌즈유두, 원뿔유두의 경우 상피밑신경절기에서는 중등도의 양성 반응이 관찰되었다. 성곽유두 및 버섯유두에서는 상피밑신경절기 외에도 맛봉오리밑신경섬유에서 강한 양성 반응이 관찰되었으며 혈관주위, 미각샘에서는 중등도의 양성 반응이 관찰되었다. 그리고 미각샘관(duct of von Ebner's gland) 주위를 둘러싸는 신경섬유에서도 중등도의 양성 반응을 관찰할 수 있었으며 혀의 내인성신경절에서는 강한 VIP 양성 반응을 보인 VIP 양성 반응 세포를 관찰할 수 있었으나 혀의 근육층에서는 미약한 반응만이 관찰되었다(Figs 4~8).

Neuropeptide Y 양성 반응 : NPY 양성 반응은 VIP 양성 반응과 동일한 양상으로 관찰되었으나 그 반응은 SP나 CGRP보다 강한 양성 반응을 나타내었다. NPY 양성 반응은 VIP 양성 반응과 마찬가지로 점막고유판에 분포하는 상피밑신경절기 또는 맛봉오리밑신경섬유에서 강하게 관찰되었으며 혈관주위에서는 강한 양성 반응이 관찰된 반면, 미각샘에서는 중등도의 양성 반응을 관찰할 수 있었다. 그리고 VIP와 마찬가지로 미각샘관 주위를 둘러싸는 신경섬유에서도 중등도의 양성 반응을 관찰할 수 있었다. 혀의 내인성신경절에서는 강한 양성 반응의 NPY 세포를 관찰할 수 있었으나 혀의 근육층에서는 미약한 반응이 관찰되었다(Figs 9~11).

Serotonin 양성 반응 : Serotonin(5-HT) 양성

반응은 일부 실유두와 버섯유두의 점막고유판의 신경섬유에서만 관찰되었으며 그 반응정도도 미약하였다. 그러나 5-HT에 양성 반응을 보인 신경섬유는 다른 신경전달물질에 양성 반응을 나타낸 신경섬유보다는 그 굵기가 매우 컸었다(Fig 12).

고 찰

혀는 채식 및 저작에 관여할 뿐 아니라 발성에도 관여하는 특수하게 분화된 근육기관으로서 촉각 및 통각과 같은 일반내장감각(general visceral sensation)과 맛과 같은 특수내장감각(special visceral sensation)를 담당하는 기관이다^{2,5}.

이러한 혀의 다양한 기능에는 CGRP, SP, NPY, VIP, 5-HT, somatostatin, acetylcholine 등과 같은 물질들이 신경전달물질로 관여하는 것으로 알려져 있으나 이러한 신경전달물질의 존재유무와 그 분포상태는 각 동물마다, 또 혀의 부위에 따라 차이가 있는 것으로 보고되어 있다^{6,11,18}.

근래에 랫드와 사람의 뇌에서 분리된 CGRP는 감각과 운동기능에 관련되어 있는 것으로 알려져 있으며 미각을 담당하는 신경핵인 고립로핵(nucleus of solitary tract)을 비롯한 뇌전반에 걸쳐 분포하며 혀에서는 혈관, 맛봉오리, 혀근육 등에서 관찰되는 것으로 알려져 있다^{6,7,19,20}.

한국재래산양에서 CGRP 양성 반응은 성곽유두와 버섯유두의 맛봉오리밑신경섬유에서 관찰되어 맛봉오리주위신경섬유나 맛봉오리속신경섬유에서 관찰되는 랫

드^{21,22}와는 차이를 나타내었다. 그러나 미각샘 주위 및 혈관주위에서의 분포상태 등은 랫드와 유사하였고 내인성신경절에서 CGRP양성세포가 관찰되지 않은 점도 랫드에서의 보고⁷와 유사한 결과를 보였다.

한편 한국재래산양의 경우 상피층보다는 점막고유판에서 CGRP양성반응이 중등도로 관찰된 점은 CGRP양성반응신경섬유가 상피층에서는 중등도 또는 다수가, 점막고유판에서 다수가 관찰되는 원숭이, 돼지, 소보다는 CGRP양성반응신경섬유가 중등도로 관찰되는 ferret에서의 분포²³와 유사하였다.

또한 미각샘 주위에서의 CGRP양성반응섬유가 미약하게 분포하고 있는 것으로 확인된 본 실험결과는 원숭이, 소, 돼지, ferret, 고양이, 랫드, 마우스 등의 동물에서 미각샘 주위에 CGRP양성반응세포가 미약하게 분포한다는 보고²³와 유사한 결과로 사료되는데 이는 미각샘을 포함한 혀샘 주위에서의 CGRP 양성반응신경섬유의 분포는 거의 모든 가축이 동일한 양상임을 나타내는 것으로 생각된다.

이러한 CGRP양성반응신경섬유의 분포는 하등척추동물인 불도마뱀에서도 보고⁶되었는데 이는 CGRP가 고등동물에서 뿐만 아니라 하등동물에서도 혀의 기능과 밀접히 연관되어 있음을 나타내는 것으로 생각된다.

한국재래산양 혀에서의 SP양성반응신경섬유는 맛봉오리밑신경섬유에서만 관찰되고 맛봉오리속신경섬유에서는 관찰되지 않아 맛봉오리속신경섬유에서도 SP양성반응신경섬유가 관찰되는 돼지²⁴와는 차이를 나타내었다. 이러한 결과는 동일한 신경전달물질이라도 동물에 따라 그 분포양상에 차이가 있음을 나타내는 결과로 생각된다.

또한 SP양성반응신경섬유가 한국재래산양의 경우 미각샘에서는 미약하게 분포하고 상피밑신경절기에는 중등도로 분포하고 있어, SP양성반응신경섬유가 상피층 및 점막고유판에서 다수 또는 중등도로 관찰되는 원숭이, 돼지, 소보다는 고양이²³에 더 유사한 양상으로 분포하는 것으로 생각된다.

한편 SP와 미각과의 관련성에 관해서 랫드의 맛봉오리에서는 SP신경섬유들과 기저세포들이 연결하고 있지 않아 SP양성반응신경섬유는 랫드의 경우 미각과 관련이 없다고 보고되어 있고^{9,10} 고양이의 경우에는 성곽유두에 분포하는 SP양성반응신경섬유가 맛봉오리 안에 존재하고 있어 SP가 미각과 관련있는 신경전달물질

이라는 상반된 보고²⁵도 있다. 이러한 보고 등으로 미루어 보아 SP는 동물종에 따라 미각과 관련있는 특수내장감각을 담당하기도 하고 미각과는 관련없이 혀의 통증 전달과 같은 일반내장감각에만 관여하기도 하는 것으로 생각된다.

따라서 본 연구결과 한국재래산양의 경우 맛봉오리 안에서는 SP양성반응신경섬유가 관찰되지 않은 점으로 미루어 볼 때 SP가 미각과 같은 특수내장감각을 담당하기 보다는 통증과 같은 일반내장감각의 신경전달물질로 기능을 하는 것으로 추측된다.

한편 CGRP양성반응섬유와 SP양성반응섬유가 혈관주위에서 관찰된 본 실험결과와 면양에서 혈관주위 특히 동정맥문합 주위에서 SP 및 CGRP양성반응섬유가 다수 관찰되었다는 보고^{26,27}로 미루어 보아 SP와 CGRP가 단순히 감각에만 관여하는 것이 아니라 혈관을 확장시킴으로써 체온조절기능에도 관여하는 것으로 생각된다.

이러한 SP양성반응신경섬유의 분포는 CGRP양성반응섬유의 분포상태와 매우 유사하였는데 이는 랫드의 삼차신경절에 CGRP와 SP가 공존하고 있으며 CGRP가 신경절에서의 SP분비를 증가시켜 SP작용을 촉진하거나 SP를 분해하는 효소인 SP endopeptidase의 활성을 저하시켜 SP의 작용을 증가시킨다는 보고^{20,28,29}에 비추어 하나의 신경섬유에 SP와 CGRP가 공존할 가능성도 있을 것으로 생각되며 혀에 분포하는 SP와 CGRP는 삼차신경절에서 유래한 것으로 생각된다.

그러나 본 실험결과 혀 근육층에서는 SP양성반응신경섬유보다 CGRP양성반응신경섬유가 다소나마 많이 관찰되었는데 이는 혀의 운동을 지배하는 설하신경핵(hypoglossal nucleus)에 CGRP가 분포한다는 보고¹⁹로 보아 혀 근육층에 분포하는 신경섬유에서 관찰된 CGRP는 혀의 감각을 지배하는 삼차신경절 외에도 혀의 운동을 지배하는 설하신경핵에서 유래되었음을 나타내는 결과로 생각된다.

평활근을 이완시켜 혈관이나 기관지를 이완시키는 것으로 알려진 VIP³⁰는 햄스터와 랫드 혀의 뒤쪽부분, 특히 잎새유두와 성곽유두의 맛봉오리에서 관찰되는데¹¹ 한국재래산양의 경우는 이와는 달리 혀 전체에 걸쳐 분포하고 있었으며 성곽유두의 경우에도 점막고유판에 분포하는 상피밑신경섬유나 맛봉오리밑신경섬유에서 VIP양성반응신경섬유가 관찰되어 설치류와는 다

른 분포양상을 나타내었다.

성곽유두에서의 VIP양성반응섬유의 분포는 원숭이와 마우스의 경우 점막고유판에서는 중등도로, 돼지에서는 상피층에서 중등도로, 점막고유판에서 다수가 관찰된다고 하였다²³. Ferret에서는 상피층에서 미약하게, 점막고유판에서는 중등도로 관찰되며, 고양이와 소에서는 상피층과 점막고유판에 미약하게 분포한다고 보고²³되고 있다. 이러한 사실에 비추어 볼 때, 한국재래산양을 비롯한 많은 동물에서 종에 따라 VIP의 분포양상은 매우 다양한 것으로 생각된다.

본 실험의 경우 성곽유두의 점막고유판에서 뿐만 아니라 버섯유두의 점막고유판에서도 VIP양성반응신경섬유가 관찰되었다.

이러한 결과는 Montavon 등²⁴이 VIP양성반응신경섬유는 랫드의 경우 점막고유판에서 주로 관찰되고, 돼지의 경우에는 상피층과 점막고유판에서 모두 관찰되었다고 보고한 점으로 보아 동물종에 따른 VIP양성반응신경섬유의 분포차이가 성곽유두에서 뿐만 아니라 버섯유두에서도 나타남을 시사하는 결과로 생각된다.

본 실험결과 VIP양성반응신경섬유는 혀유두 외에도 혈관의 바깥층을 둘러싸는 다수의 신경섬유에서도 관찰되었는데 이는 Molyneux와 Harmon²⁶ 및 Molyneux와 Haller²⁷가 면양에서 VIP는 혀의 혈관 특히 동정맥연결 부위에 분포하여 혈관을 이완시킴으로써 체온조절에 관여한다는 보고로 미루어 보아 한국재래산양도 면양의 경우와 마찬가지로 혈관주위에 분포하는 VIP 양성반응신경섬유는 SP나 CGRP와 함께 혈관을 확장시킴으로써 체온발산을 유도하여 체온조절에 관여하는 것으로 생각된다.

또한 VIP 양성반응섬유는 한국재래산양의 경우 미각샘에서 다수 관찰되었으며 다른 신경전달물질과는 다르게 미각샘관 주위를 둘러싸는 신경섬유에서도 양성반응이 관찰되었는데 이러한 결과는 Luts 등²³이 원숭이, 돼지, 소, ferret, 고양이의 경우에 VIP양성반응신경섬유가 미각샘에서 다수 관찰되고, 랫드와 마우스에도 미약하거나 또는 중등도로 관찰되었다고 보고한 점으로 미루어 보아 한국재래산양을 포함한 대다수의 가족에서 VIP는 혈관 뿐만 아니라 미각샘과 그 도관에 신경전달물질로 작용하여 침분비조절에 밀접히 관여하여 미각을 돕는 것으로 생각된다.

한편 VIP양성반응은 한국재래산양 혀의 내인성신경

절세포에서도 관찰되었는데 이는 혀에 분포하는 VIP는 CGRP와 같이 고립로핵이나 설하신경핵과 같은 뇌신경핵 또는 삼차신경절같은 신경절에서 유래할 뿐 아니라 혀의 내인성신경절에서도 유래되는 것을 시사하는 것으로 사료된다.

랫드의 혀에서 acetylcholine이 신경전달물질 또는 신경조절물질로 작용한다는 보고¹⁸와 침샘에서 VIP가 acetylcholine과 공존하여 acetylcholine의 분비를 조절할 가능성이 있다는 보고^{31,32}로 미루어 보아 본 실험에서 관찰되는 VIP양성반응신경섬유 중 일부는 cholinergic fiber일 가능성이 있지만 랫드¹⁸의 경우는 acetylcholine이 맛봉오리속신경섬유에서도 관찰되는 것과는 달리 한국재래산양에서는 VIP가 맛봉오리속신경섬유에서는 관찰되지 않는 것으로 보아 acetylcholine과 공존하지 않을 가능성도 배제할 수는 없다.

그러나 VIP가 콜린성 신경이 자극될 때 함께 유리되어 침샘의 혈류량을 증가시켜 부교감신경에 의한 침의 분비를 증강시킨다는 보고³²로 미루어 보아 미각샘에서 관찰된 VIP양성반응섬유는 cholinergic fiber로 추측되어지며 또한 내인성 신경절세포 역시 cholinergic neuron으로 생각된다.

본 실험에서 VIP 양성반응신경섬유가 맛봉오리에서는 관찰되지 않았지만 상피밑신경열기나 맛봉오리밑신경섬유로서 다수 관찰된 것은 VIP의 기능이 한국재래산양의 경우에는 일반내장감각인 촉각 또는 통각과 관련된 신경전달물질 또는 신경조절물질일 가능성이 있음을 시사하는 것으로 추측된다.

한국재래산양의 혀에서 NPY의 분포는 VIP의 분포와 동일한 양상으로 나타나 혀전반에 걸쳐 고르게 관찰되었으며 그 반응도는 CGRP양성반응이나 SP양성반응보다 강하게 관찰되었다. 이러한 결과는 Montavon 등²⁴이 돼지의 버섯유두에서 NPY양성반응신경섬유의 존재를 보고한 점과 유사한 결과로 생각된다. 그러나 Luts 등²³이 각종 동물을 대상으로 NPY분포에 대해 조사한 결과, 원숭이, 돼지, 랫드에서는 점막고유판에서 미약하게, 소에서는 상피층과 점막고유판에서 미약하게 관찰되었고, ferret, 고양이, 마우스의 경우에는 NPY양성반응섬유가 관찰되지 않았다는 보고와는 많은 차이를 나타내고 있다.

뿐만 아니라 미각샘에서의 분포양상도 원숭이, 돼지, 고양이, 랫드, 마우스에서는 미약하게 관찰되었고

소에서는 중등도로 관찰되었으며 ferret에서는 NPY양성반응섬유를 관찰할 수 없었다는 보고²³와도 많은 차이를 나타내고 있는데 이는 한국재래산양에서는 다른 동물과는 달리 NPY가 혀에 분포하는 신경전달물질 중 그 기능면에서 중요한 위치를 차지하고 있음을 나타내는 결과로 사료된다.

또한 본 실험에서 NPY양성반응섬유가 VIP양성반응섬유와 매우 유사한 분포를 하고 있었으며 특히 혈관주위에서 잘 관찰되었는데 이는 Molyneux와 Haller²⁷가 면양에서 VIP와 NPY의 분포를 보고한 것과 매우 유사하였다. 이러한 결과는 혈관확장 및 수축에 CGRP, SP, VIP, NPY가 모두 관여하지만 한국재래산양의 혀에서는 CGRP나 SP보다 VIP나 NPY가 더 중요한 기능을 담당하는 것으로 생각된다. 또한 랫드, 마우스, 돼지의 경우는 소장에서 VIP와 NPY가 공존하고 있는 신경섬유가 관찰된다는 보고³³로 미루어 보아 한국재래산양의 혀에서도 이들 두 신경전달물질이 공존할 가능성을 시사하는 것으로 생각되나 이에 대해서는 보다 자세한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

한편 NPY는 교감신경에서 유래되는 노어아드레날린(noradrenaline)과 공존하여 신경연접이전수준(presynaptic level)에서는 노어아드레날린의 분비를 억제하고 신경연접이후수준(postsynaptic level)에서는 혈관확장 기능을 하는 VIP와는 반대로 혈관수축기능을 증가시킨다고 보고되고 있다³⁴.

이에 비추어 볼 때 본 실험에서 관찰된 NPY양성반응신경섬유와 내인성신경절세포는 VIP와는 달리 교감신경유래의 noradrenergic fiber나 noradrenergic neuron으로 생각된다. 그러므로 한국재래산양의 침샘주위나 혈관주위에 교감신경과 부교감신경이 거의 같은 양상으로 분포하고 있음이 추론된다. 또한 이러한 결과는 자율신경의 지배를 받는 장기 주위에 분포하는 신경섬유가 교감신경성인지 또는 부교감신경유래의 신경섬유인지를 구분하는데 있어 NPY나 VIP에 대한 면역조직화학적 방법의 적용 가능성을 나타내는 것으로 생각된다.

Monoamines계의 물질로 국소호르몬(local hormone) 또는 신경전달물질로서 위장관 및 중추신경계 등에 널리 분포하여 위액분비, 체온조절, 수면, 감각전도 등의 중요한 생리기능을 갖는 것으로 알려져 있는 5-HT³⁰은 볼도마뱀, 개구리 등에서 맛봉오리의 기저세포 및 맛

봉오리와 주변상피에 분포하여 미각을 담당하는 신경전달물질로 작용하는 것으로 보고되어 있다³⁵. 또한 토끼, 원숭이, 마우스 등에서도 맛봉오리에 5-HT양성반응세포 및 신경섬유가 관찰되어 이들 동물에서도 신경전달물질로 사용되는 것으로 보고되어 있다^{36~38}.

그러나 본 실험에서는 그 5-HT양성반응신경섬유가 점막고유판에만 국한되어 관찰되었을 뿐만 아니라 5-HT 양성반응세포는 전혀 관찰되지 않아 이들 보고와는 많은 차이를 나타내었다. 통증억제기전에 관여하는 5-HT^{30,39}가 이처럼 한국재래산양의 혀에서는 미약하게 관찰된 점으로 보아 한국재래산양 혀의 경우에는 혀의 감각 특히 통증에 매우 민감할 것으로 생각되나 신경전달물질로서의 작용여부와 그 유래에 대해서는 본 실험결과만으로 확인하기에는 아직 의문에 여지가 많아 추후 보다 자세한 연구가 요구된다.

결 론

한국재래산양 혀에 분포하는 CGRP, SP, VIP, NPY, 5-HT, neurotensin 등 신경전달물질의 분포상태를 면역조직화학적 기법으로 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

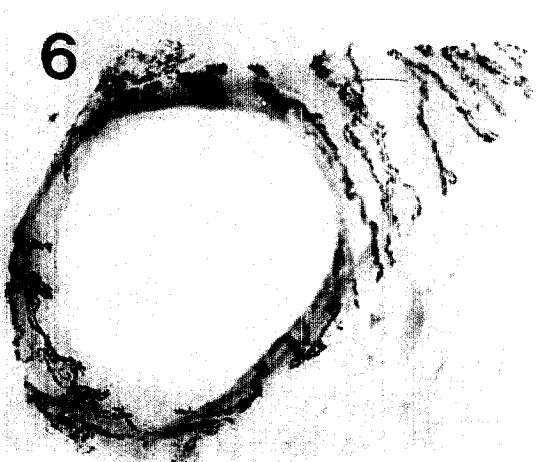
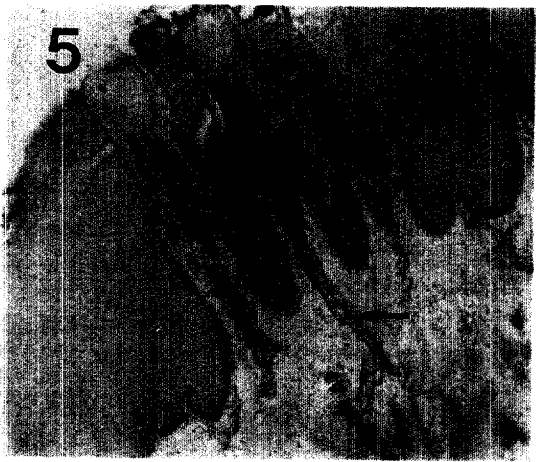
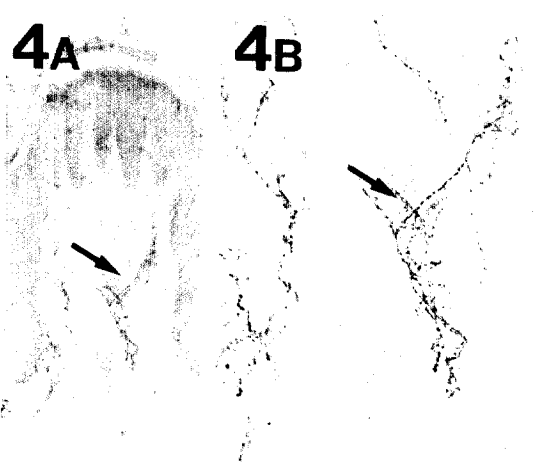
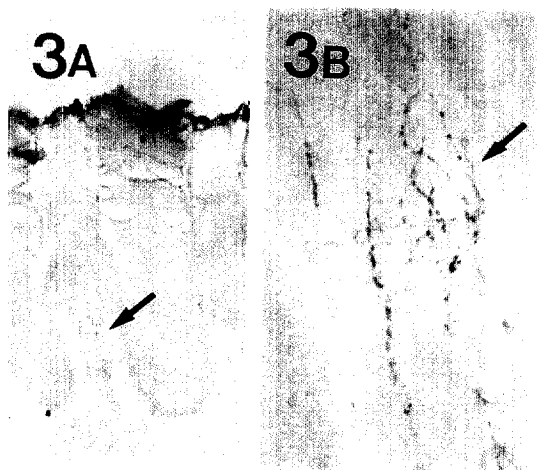
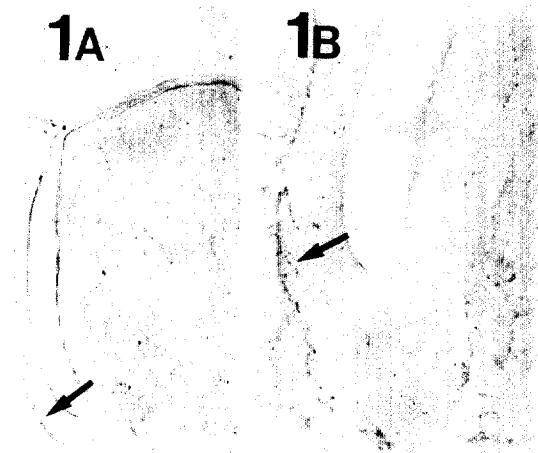
1. CGRP와 SP 양성반응섬유는 혀전반에 걸쳐 고루 관찰되었으며 점막고유판에 분포하는 상피밑신경절기 및 맛봉오리밑신경섬유에서 중등도의 양성반응이 관찰되었다. 그러나 맛봉오리를 형성하는 맛세포, 지지세포, 기저세포 그리고 맛봉오리사이신경섬유, 맛봉오리주위신경섬유 및 맛봉오리속신경섬유에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다. 혈관주위나 미각샘 주위에 분포하는 신경섬유에서는 미약한 양성반응이 관찰되었다. 또한 혀의 근육층에서는 미약한 반응이 관찰되었으나, 혀의 내인성 신경절에서는 CGRP 또는 SP양성반응세포를 관찰할 수 없었다.

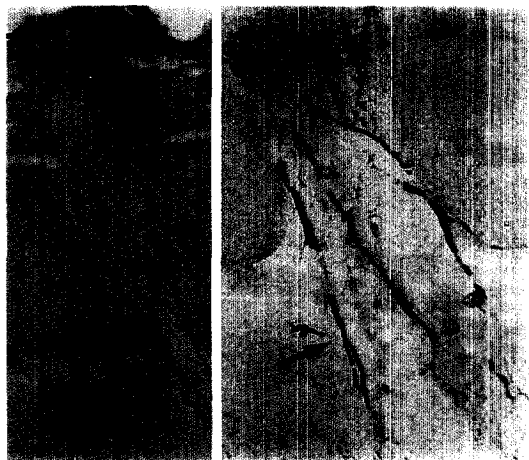
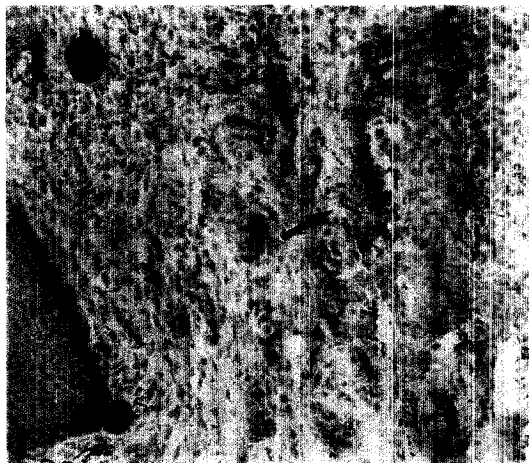
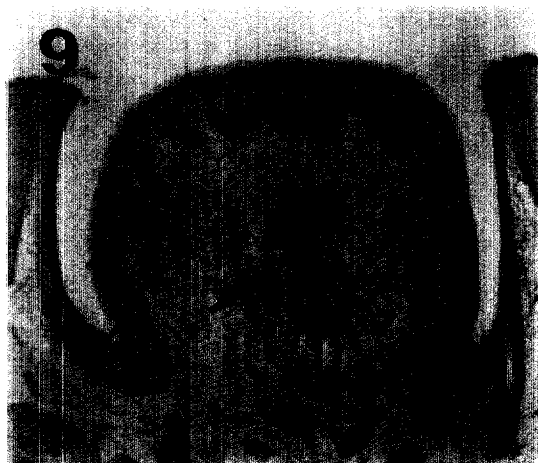
2. VIP와 NPY양성반응신경섬유는 혀 전체에 걸쳐 점막고유판에 분포하는 상피밑신경절기 또는 맛봉오리밑신경섬유에서 강한 양성반응이 관찰되었으며 혈관주위에서도 강한 양성반응을 관찰할 수 있었다. 그러나 미각샘과 미각샘관 주위를 둘러싸는 신경섬유에서는 중등도의 양성반응을 관찰할 수 있었고 혀의 내인성 신경절에서는 강한 양성반응을 보인 VIP양성반응세포를 관찰할 수 있었다.

3. 5-HT 양성 반응 신경 섬유는 일부 실유두와 버섯유두의 점막밑조직의 신경 섬유에서만 관찰되었으며 그 반응 정도는 미약하였다. Neurotensin 양성 반응 신경 섬유는 관찰할 수 없었다.

Legends for figures

- Fig 1. CGRP immunoreactive fibers (arrow) in vallate papilla. (A) $\times 40$, (B) $\times 100$.
Fig 2. CGRP immunoreactive fibers around the blood vessel. $\times 200$.
Fig 3. SP immunoreactive fibers (arrow) in filiform papilla. (A) $\times 40$, (B) $\times 100$.
Fig 4. The fibers showing VIP immunoreactivity in fungiform papilla. (A) $\times 40$, (B) $\times 100$.
Fig 5. VIP immunoreactive fibers (arrow) in filiform papilla. $\times 40$.
Fig 6. VIP immunoreactive fibers around the blood vessel. $\times 200$.
Fig 7. The ganglion cells and fibers in intrinsic ganglion showing VIP immunoreactivity. $\times 200$.
Fig 8. VIP immunoreactive fibers (arrowhead) around the acinus of von Ebner's gland and its duct. $\times 100$.
Fig 9. NPY immunoreactive fibers (arrow) in vallate papilla. $\times 40$.
Fig 10. High magnification of fig 9. $\times 100$.
Fig 11. NPY immunoreactive neurons in intrinsic ganglion. Arrowheads indicate NPY immunoreactive fibers around the blood vessel. $\times 100$.
Fig 12. 5-HT immunoreactive fibers (arrow) in filiform papilla. (A) $\times 40$, (B) $\times 100$.





참고 문헌

1. 박희천, 이봉희, 이홍식 등. 척추동물비교해부학, 정문사, 서울 : 221~224, 1992.
2. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. *Textbook of veterinary anatomy*. Philadelphia : Saunders, 100~224, 1988.
3. Nickel R, Schummer A, Seiferle E. *The viscera of the domestic mammals*. Berlin : Verlag Paul Parey, 27~31, 1986.
4. Getty R. *The anatomy of domestic animals*. 5th ed. Philadelphia : Saunders, 105 :457~460, 865~866, 1267~1270, 1975.
5. Evans HE. *Miller's anatomy of the dog*. 3rd ed. Philadelphia : Saunders, 396~405, 962~986, 1538~1539, 1993.
6. Welton J, Taylor R, Porter AJ, et al. Immunocytochemical survey of putative neurotransmitters in taste buds from *Necturus maculosus*. *J Comp Neurol*, 324 : 509~521, 1992.
7. Terenghi G, Polak JM, Rodrigo J, et al. Calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerves in the tongue, epiglottis and pharynx of the rat: occurrence, distribution and origin. *Brain Res*, 365 : 1~14, 1986.
8. Yamasaki H, Kubota Y, Takagi H, et al. Immunoelectron-microscopic study on the fine structure of substance P-containing fibers in the taste buds of the rat. *J Comp Neurol*, 227 : 380~392, 1984
9. Yamasaki H, Tohyama M. Ontogeny of substance P-containing fibers in the taste buds and the surrounding epithelium. I. Light microscopic analysis. *Brain Res*, 350 : 301~305, 1985
10. Yamasaki H, Kubota Y, Tohyama M. Ontogeny of substance P-like immunoreactive fibers in the taste buds and their surrounding epithelium of the circumvallate papillae of the rat. II. Electron microscopic analysis. *J Comp Neurol*, 241 : 493~502, 1985
11. Herness MS. vasoactive intestinal peptide like immunoreactivity in rodent taste cells. *Neuroscience* 33 : 411~419, 1989.
12. 이홍식, 이인세, 강태천. 한국재래산양 혀에 관한 형태학적 연구. *대한수의학회지*, 36 : 255~264, 1996
13. 이홍식, 이인세, 강태천 등. 한국재래산양 췌장의 insulin, glucagon, somatostatin 및 pancreatic polypeptide 분비세포에 관한 면역조직화학적 연구. *대한수의학회지*, 35 : 45~54, 1995
14. 이인세, 이홍식, 강태천 등. 한국재래산양 중뇌 수도관주위회색질의 serotonin 분포에 관한 면역조직화학적 연구. *대한해부학회지*, 28 : 413~422, 1995.
15. 이성준, 이홍식, 강태천. 한국재래산양의 골성골반 계측에 관한 해부학적 연구. *대한수의학회지*, 35 : 427~436, 1995.
16. 이성준, 이홍식. 한국재래산양머리뼈에 대한 두개 계측학적 연구. *대한수의학회지*, 34 : 705~714, 1994.
17. 이성준, 이홍식. 한국재래산양 뇌두개의 분리골에 대한 해부학적 연구. *대한수의학회지*, 34 : 421~433, 1994.
18. 김대중, 김용길. 생쥐 혀의 성곽유두에 분포하는 Choline acetyltransferase에 대한 면역조직화학적 연구. *대한해부학회지*, 28 : 651~658, 1995.
19. Lee HS, Lee IS, Kang TC. Calcitonin gene-related peptide immunoreactive neurons in lower nuclei innervating rat stomach. *World Veterinary Congress Abstracts, 25th International Congress of the World Veterinary Association. 3~9th September, Yokohama, Japan, 246, 1995.*
20. Lee Y, Kawai Y, Shiosaka S, et al. Coexistence of calcitonin gene-related peptide and substance P-like peptide in single cells of the trigeminal ganglion of the rat: immunohistochemical analysis. *Brain Res*, 330 : 194~196, 1985.
21. Silverman JD, Kruger L. Calcitonin gene-related peptide immunoreactive innervation of the rat head with emphasis on specialized sensory structures. *J Comp Neurol*, 280 : 303~330, 1989.
22. Silverman JD, Kruger L. Analysis of taste bud innervation based on glycoconjugate and peptide neuronal markers. *J Comp Neurol*, 292 : 575~584, 1990.

23. Luts A, Montavon P, Lindstrand K, et al. Peptide-containing nerve fibers in the circumvallate papillae. *Regul Pep*, 27 : 209~226, 1990.
24. Montavon PH, Lindstrand K, Luts A, et al. Peptide-containing nerve fibers in the fungiform papillae of pigs and rats. *Regul Pep*, 32 : 141~150, 1991
25. Lundberg JM, Kökfelt T, Änggård A, et al. Immunohistochemical evidence for substance P immunoreactive nerve fibres in the taste buds of the cat. *Acta Physiol Scand*, 107 : 389~391, 1979.
26. Molyneux GS, Harmon BV. Substance P nerves in the tongue of the sheep. *J Anat*, 136 : 662, 1983.
27. Molyneux GS, Haller CJ. Innervation of arteriovenous anastomoses in the sheep tongue: immunocytochemical evidence for coexistence of neural transmitters. *J Anat*, 157 : 203~216, 1988.
28. Greves PE, Nyberg F, Terenius L, et al. Calcitonin gene-related peptide is a peptide is potent inhibitor of substance P degradation. *Eur J Pharmacol*, 115 : 309~331, 1985.
29. Ishida-Yamamoto A, Tohyama M. Calcitonin gene-related peptide in the nervous tissue. *Prog Neurobiol*, 335~386, 1989.
30. Kruk ZL, Pycocck CJ. *Neurotransmitters and Drugs*. 3rd ed. Great Britain : Champman and Hall, 160-194, 1991
31. Eva C, Meek JL, Costa E. Vasoactive intestinal peptide which coexists with acetylcholine decreases acetylcholine turnover in mouse salivary glands. *J Pharmacol Exp Thera*, 232 : 670~674, 1985.
32. Landberg JM, Änggård A, Fahrenkrug J, Hökfelt T, et al. Vasoactive intestinal polypeptide in cholinergic neurons of exocrine gland: Functional significance of coexisting transmitters for vasodilation and secretion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 77 : 1651~1655, 1980.
33. Said SI, Mutt V. Vasoactive intestinal peptide and related peptides. *Ann N Y Acad Sci*, 527 : 143~167, 1988.
34. Mutt V, Fuxe K, Hökfelt T, et al. *Neuropeptide Y*. New York :Raven Press, 13~18, 432~438, 1989.
35. Jain S, Roper SD. Immunocytochemistry of gamma-aminobutyric acid, glutamate, serotonin and histamine in Necturus taste bud. *J Comp Neurol*, 307 : 675~682, 1991.
36. Fujimoto S, Ueda H, Kagawa H. Immunohistochemistry in the localization of 5-hydroxytryptamine in monkey and rabbit taste buds. *Acta Anat*, 128 : 80~83, 1987.
37. Takeda M, Kitao K. Effect of monoamines on the taste buds in the mouse. *Cell Tissue Res*, 210 : 71~78, 1980.
38. Kim DJ, Roper SD. Localization of serotonin in taste buds: a comparative study in four vertebrates. *J Comp Neurol*, 352 : 1~7, 1995.
39. Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. *Principles of neural science*. 3rd ed. Connecticut : Appleton and Lange, 385~398, 1991.