

## Mongolian gerbil과 랫드 시상하부핵에서 bombesin 면역반응세포의 분포양상 비교

이 성 준 · 김 진 상\*

경북대학교 수의과대학 해부학교실  
대구대학교 재활과학대학 물리치료학과\*  
(1999년 9월 18일 접수)

### Comparison of the distribution pattern of the bombesin-immunoreactive neurons in the hypothalamic nucleus of the Mongolian gerbil and rat

Seong-joon Yi, Jin-sang Kim\*

Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University  
Department of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Taegu University\*

(Received Sep 18, 1999)

**Abstract** : This study was carried out to compare the distribution pattern of the bombesin immunoreactive neurons of the hypothalamic nucleus in the rat and Mongolian gerbil.

The bombesin immunoreactive neurons in the rat were located in the dorsal part of the dorsomedial hypothalamic nucleus, but in the Mongolian gerbil in the compact part of dorso-medial hypothalamic nucleus.

From this results, we could get an evidence that there were some differences in the distribution of peptide between rat and Mongolian gerbil.

**Key words** : Mongolian gerbil, bombesin, hypothalamic nucleus.

## 서 론

Bombesin은 양서류에서 분리된 이후 조류에서도 주로 위장관에서 분포하는 것으로 알려진 peptide로서 포유류에서는 gastrin-releasing peptide(GRP)로 명명되어 폐와 갑

상선 등에서 존재가 확인되고 있다<sup>1-3</sup>. 최근에는 bombesin이 신경계통에서도 호르몬 분비를 유도한다는 보고로서 랫드에서 *in vitro*로 실험한 결과 bombesin이 시상하부(hypothalamus), 샘뇌하수체(anterior hypophysis) 및 부신(adrenal gland)을 잇는 내분비축(endocrine axis)을 통해 부신피질호르몬(adrenocorticotrophin, ACTH)과 cortico-

Address reprint requests to Dr. Seong-joon Yi, Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Republic of Korea.

sterone의 분비증가를 유도한다고 보고되어 있으며 시상하부에 존재하는 bombesin은 샘뇌하수체의 호르몬 분비를 조절하는 기능을 한다고도 알려져 있다<sup>4,5</sup>. 이와같은 연구는 대부분 생리학적 및 약리학적 접근일 뿐 근본적으로 형태학적 접근은 미미한 실정이다.

일부 형태학적인 연구로는 역행성추적자(retrograde tracer)를 이용하여 뇌실연핵(paraventricular nucleus)에 있는 bombesin 면역반응세포가 연수(medulla oblongata)에 있는 등쪽미주신경핵(dorsal vagal nucleus)으로 투사되어 bombesin을 신경말단에서 분비하는 것으로 보고되어 있다<sup>6</sup>.

한편 근래에 뇌신경학 분야에서 이용이 증가되고 있는 Mongolian gerbil은 뇌경색(stroke)을 비롯하여 허혈(ischemia) 및 체내의 수분대사에 대한 질환모델동물로 개발이 시도되고 있는 실험동물이다<sup>7-9</sup>.

따라서 본 연구는 최근 신경학 분야에서 각광을 받고 있는 Mongolian gerbil과 랫드의 시상하부핵에서 bombesin 면역반응세포의 분포를 서로 비교하여 Mongolian gerbil의 특성을 관찰하고자 시행하였다.

## 재료 및 방법

**실험동물** : 본 실험에서는 Sprague-Dawley 계통의 성숙한 수컷 랫드(체중 300-350g) 4마리와 체중 60g 내외의 성숙한 수컷 Mongolian gerbil 4마리를 사용하였다.

**면역조직화학반응** :

1) 조직처리 : 실험동물은 urethane(7.5ml/kg)으로 심취한 다음 흉강을 열고 심장의 왼쪽심실을 통해 관류용 canula를 오름대동맥(ascending aorta)으로 삽입하여 0.1M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)에 heparin(250 unit/ml)을 혼합한 용액으로 맑은 액체가 흐를 때까지 관류수세하였다. 수세가 끝난 후에 계속해서 면역조직화학적 염색을 위해 4% paraformaldehyde(in PBS)로 관류고정하였다. 고정이 끝난 후 뇌를 적출하여 동일 고정액에 침적시켜 4℃에서 2시간동안 후고정한 다음 30% sucrose(in PBS)에 넣어 뇌가 완전히 가라앉을 때까지 약 24시간 정도를 4℃에 보관한 다음 냉동절편기(Leica)를 이용하여 40μm 두께의 관상연속절편을 제작하여 6-well plate에 차례로 담아 준비하였다.

2) 항체, 시약 및 면역염색 : 면역염색은 free-floating method 를 이용하였다. 6-well plate에 차례로 담겨있는 뇌조직 절편들은 PBS로 수세한 다음 조직내 endogenous

peroxidase를 제거하기 위해 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(in PBS)로 처리하였다. 이후 조직내 비특이적 반응을 차단하고 투과성을 높이기 위해 PBS에 0.3% Triton X-100, 1% normal goat serum 및 1% bovine serum albumin이 되도록 조성한 용액에 1시간동안 반응시켰다. 1차 항체는 rabbit anti-bombesin (Chemicon)을 1:1000으로 희석하여 실온에서 24시간 반응시켰으며 그후 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Vector)와 3차 항체인 peroxidase-conjugated streptavidin (Vector)을 1% bovine serum albumin(Sigma) 및 0.3% Triton X-100을 첨가한 0.1M PBS에 1:100으로 희석하여 각각 24시간동안 반응시켰다. 이후 3'-3' diaminobenzidine · HCl(DAB, Sigma)을 0.1M PBS에 0.004% 되게 녹인 용액에 침적한 뒤 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 0.0003%가 되게 첨가하여 정색반응을 시행하였다.

반응이 끝난 조직은 gelatin이 coating된 slide glass 위에 없어서 통상적인 탈수와 투명화 과정을 거쳐 permount로 봉입한 다음 영구표본을 제작하여 광학현미경(Nikon)으로 관찰하였으며 랫드의 뇌 부위는 Swanson<sup>10</sup>의 뇌부도를 참조하였다.

## 결 과

랫드와 Mongolian gerbil의 시상하부핵(hypothalamic nucleus)에서 bombesin 면역반응세포의 분포를 비교한 결과 랫드의 경우는 등쪽내측시상하부핵의 등쪽부분(dorsal part of dorsomedial hypothalamic nucleus)에서 bombesin 면역반응세포가 관찰되었고(Fig 1a, b), Mongolian gerbil은 등쪽내측시상하부핵의 치밀부분(compact part of dorso-medial hypothalamic nucleus)에서 bombesin 면역반응세포가 관찰되었다(Fig 2a, b).

## 고 찰

Bombesin은 포유류에서 gastrin-releasing peptide(GRP)로도 알려진 신경펩타이드로서 이제까지 양서류와 조류의 위(stomach)에서 그리고 포유류에서는 폐(lung)에 있는 내분비세포에 존재하는 것으로 보고되고 있다<sup>11</sup>. 뿐만 아니라 중추신경계통 내에서도 시상하부를 비롯하여 시상(thalamus), 연수(medulla) 및 척수(spinal cord)에서 radioimmunoassay를 통해 비교적 높은 정도의 양이 존재하고 있음을 보고한 바가 있다<sup>12</sup>.

Bombesin의 기능을 연구하기 위한 접근으로는 시상하부, 뇌하수체 및 부신을 연결하는 내분비축에서 bombesin의 투여가 부신피질자극호르몬과 corticosteron의 분비를 촉진한다는 보고<sup>4,5</sup>가 있고, 아울러 stress를 가했을 시에도 bombesin의 증가로 유도된 부신피질자극호르몬의 증가도 보고되어 있다<sup>11</sup>. 이외에도 시상하부를 통한 bombesin의 투여시 뇌실옆핵(paraventricular nucleus)에 주입했을 경우는 투여량에 의존하여 혈당치의 상승이 있었지만 외측시상하부나 꼬리핵(caudate nucleus)으로 주입했을 경우에는 혈당치 상승에 그리 효과적이지 않다는 보고 등도 있다<sup>4</sup>.

이와같은 기능적 접근과 병행하여 중추신경계통내에서 bombesin의 분포에 대한 형태학적 연구도 시상하부에 있는 여러 신경핵인 뇌실옆핵, 시각교차위핵(suprachiasmatic nucleus) 등에 대해 보고되어 있다<sup>15</sup>.

본 실험에서는 시상하부핵에서 bombesin 면역반응세포의 분포에 있어 최근에 신경학 분야에서 많이 사용하고 있는 Mongolian gerbil과 랫드 사이의 차이를 비교하

고자 하였다. 랫드의 경우는 등쪽내측시상하부핵의 등쪽부분에서 bombesin 면역반응세포가 관찰된 반면 Mongolian gerbil에서는 등쪽 내측시상하부핵이 치밀부분에서 관찰되어 차이를 보였는데 이와같은 결과는 앞으로 시상하부에 microinjection을 통해 자율신경계통내에서 bombesin의 역할을 규명하고자 하는 연구에 있어 랫드와는 다른 접근방법을 사용해야 할 것임을 시사하고 있으며 또한 신경로 추적자를 이용한 중추신경계통내의 신경회로의 재구성을 위한 연구에 있어서도 랫드와는 다른 접근방법이 필요할 것으로 사료된다.

## 결 론

랫드와 Mongolian gerbil에서 시상하부핵중 bombesin 면역반응세포의 분포는 랫드의 경우 등쪽내측시상하부핵의 등쪽부분에 존재하였으며 Mongolian gerbil에서는 등쪽내측시상하부핵의 치밀부분에 존재하였다.

## Legend for figures

Fig 1. Bombesin immunoreactive neurons in the -3.25mm from bregma in the rat under low(a, ×10) and high(b, ×25) magnification.

DMD: Dorsal part of dorsomedial hypothalamic nucleus.

MTT: Mammillothalamic tract.

Fig 2. Bombesin immunoreactive neurons which are located same area to figure 1 in the Mongolian gerbil under low(a, ×10) and high(b, ×25) magnification. Note the MTT(a), which is an evidence that this is same area to the rat.

DMD: Dorsal part of dorsomedial hypothalamic nucleus.

## 참고 문헌

1. Lechago J, Holmquist AL, Rosenquist GL, *et al.* Localization of bombesin like peptides in frog gastric mucosa. *Gen Comp Endocrin*, 36:553-558, 1978.
2. Timson CM, Polak JM, Wharton J, *et al.* Bombesin-like immunoreactivity in the avian gut and its localisation to a distinct cell type. *Histochemistry*, 61:213-221, 1979.
3. Wharton J, Polak JM, Bloom SR, *et al.* Bombesin-like immunoreactivity in the lung. *Nature*, 273:769-700, 1978.
4. Garrido MM, Manzanares J, Fuentes JA. Hypothalamus, anterior pituitary and adrenal gland involvement in the activation of adrenocorticotropin and corticosterone secretion by gastrin-releasing peptide. *Brain Res*, 828:20-26, 1999.
5. Garrido MM, Martin S, Ambrosio E, *et al.* Role of corticotropin-releasing hormone in gastrin-releasing peptide-mediated regulation of corticotropin and corticosterone secretion in male rats. *Neuroendocrinology*, 68(2):116-122, 1998.
6. Costello JF, Brown MR, Gray TS. Bombesin immuno-

- reactive neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus innervate the dorsal vagal complex in the rat. *Brain Res*, 542(1):77-82, 1991.
7. Norris ML. *The VFAW handbook on the care & management of laboratory animals*. 6th eds, Poole T, Robinson R, Longman Scientific & Technical. New York :360-376, 1987.
  8. 김무강, 이근좌, 정영길 등. 절수에 의한 Mongolian gerbil 시상하부의 Vasopressin 및 Oxytocin 분비세포 변화에 관한 면역조직화학적 연구. *대한해부학회지*, 31(1):21-36, 1998.
  9. 최창도, 조승목, 남성안 등. 모래쥐 중뇌의 위둔덕과 수도관 주위 회색질내 substance P 및 vasoactive intestinal polypeptide 면역반응 신경세포의 분포. *대한해부학회지*, 29(6):565-573, 1996.
  10. Swanson LW. *Brain maps: Structure of the Rat Brain*, Elsevier Science Publisher BV, NY, 1992.
  11. Solcia E, Usellini R, Buffa G, et al. *Endocrine cells producing regulatory peptides*. In Polak JM, ed *Regulatory Peptide*, Verlag, Basel : 223-224, 1986.
  12. Decker MW, Towle AC, Bissette G, et al. Bombesin-like immunoreactive in the central nervous system of capsaicin-treated rats: a radioimmunoassay and immunohistochemical study. *Brain Res*, 342(1):1-8, 1985.
  13. Merali Z, McIntosh J, Kent P, et al. Aversive and appetitive events evoke the release of corticotropin-releasing hormone and bombesin-like peptides at the central nucleus of the amygdala. *J Neurosci*, 18(12): 4758-4766, 1998.
  14. Gunion MW, Tache Y, Rosenthal MJ, et al. Bombesin microinfusion into the rat hypothalamic paraventricular nucleus increases blood glucose, free fatty acids and corticosterone. *Brain Res*, 478(1):47-58, 1989.
  15. Panula P, Yang HY, Costa E. Comparative distribution of bombesin/GRP- and substance-P-like immunoreactivities in rat hypothalamus. *J Comp Neurol*, 224(4): 606-617, 1984.