

야생등줄쥐(*Apodemus agrarius*) 후각망울의 neuropeptide Y 면역반응세포의 분포

정영길 · 김길수* · 정주영** · 이남섭 · 이경렬** · 김무강**

건양대학교 의과대학 해부학교실
아산생명과학연구소 실험동물연구실* · 충남대학교 수의과대학**
(1999년 1월 30일 접수)

Distribution of the neuropeptide Y immunoreactive neurons in the olfactory bulb of striped field mouse(*Apodemus agrarius*)

Young-gil Jeong, Kil-soo Kim*, Ju-young Jung**, Nam-seob Lee,
Kyeng-youl Lee**, Moo-kang Kim**

Department of Anatomy, College of Medicine, Konyang University
*Department of Laboratory Animal Research, ASAN Institute for Life Sciences**
*College of Veterinary Medicine, Chungnam National University***

(Received Jan 30, 1999)

Abstract : This study was carried out to investigate the NPY-immunohistochemical characteristics of the olfactory bulb in the striped field mouse(*Apodemus agrarius*). The animals were anesthetized with thiopental sodium and perfused with 4% paraformaldehyde through left ventricle and aorta. Brains were removed and transferred 10%, 20% and 30% sucrose. Sections were then cut on a cryostat into 40µm-thick. The tissue immunostained with avidin-biotinylated complex method.

The main olfactory bulb consisted of seven circumferential laminae : an olfactory nerve fiber layer, a glomerular layer with glomeruli surrounding by periglomerular cells, an external plexiform layer having granule and tufted cells, a mitral cell layer, a narrow internal plexiform layer, a granule cell layer forming several cell rows and a layer of white matter. The accessory olfactory bulb had four layers : an olfactory or vomeronasal nerve fiber layer, a glomerular layer consisting of small glomeruli, a mixed layer not distinguishing the external plexiform/mitral cell/granule cell layers and a granule cell layer.

Most of NPY-immunoreactive(NPY-IR) neurons in main olfactory bulb were localized in the deeper portion of granule cell layer, white matter and anterior olfactory nucleus. In addition, some NPY-IR neurons were identified in the external plexiform layer. The shape of NPY-IR neurons

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(과제번호 981-0705-038-1) 지원으로 수행된 과제의 일부임.

Address reprint requests to Dr. Young-gil Jeong, Department of Anatomy, College of Medicine, Konyang University, Nonsan, Republic of Korea.

of all olfactory bulb were predominant round or oval, sometime multipolar in shape. And most NPY-IR processes were parallel to long axis of white matter. In accessory olfactory bulb, NPY-IR neurons were not found in all region.

Key words : NPY, olfactory bulb, *Apodemus agrarius*, immunohistochemistry.

서 론

Tatemoto¹에 의해 돼지의 뇌에서 처음 분리추출된 neuro-peptid Y(NPY)는 생화학적 구조가 36-amino acid peptide로 조류 췌장에서 발견되는 avian pancreatic polypeptide (APP)와 유사한 것으로 알려졌다². 최근까지 이루어진 NPY에 대한 신경해부학적 연구는 흰쥐³와 같은 설치류는 물론 사람^{4,5} 및 원숭이^{6,7}와 같은 영장류에 이르기까지 많은 연구가 이루어져 왔으며 NPY를 함유하는 신경세포는 주로 중추신경계통중 대뇌피질과 줄무늬체에 분포하는 것이 알려졌다. 이러한 NPY는 기능적으로 알려진 내용은 아직 미미하나 NPY를 셋째뇌실내에 주입할 경우 섭식이 증가되는 것을 확인한 바 있고⁸⁻¹⁰ 시교차위핵(suprachiasmatic nucleus)에 NPY 주사할 경우 주기적 행위(circadian rhythm)에 영향을 미친다는 내용 등이 보고된 바 있다¹¹. 또한 시상하부의 정중용기에 높은 농도로 분포¹²하는 NPY는 noradrenalin 전달활성의 조절에도 관여할 뿐 아니라^{13,14} LHRH(luteinizing hormone releasing factor)의 분비를 촉진함으로써 황체형성호르몬에 대한 LHRH의 작용을 증진시킨다고 알려져 있다. 또한 성장호르몬의 분비에도 영향을 준다고 하며^{12,15-17} 중추신경계의 심혈관 조절^{18,19}, 뇌동맥의 수축²⁰ 및 인지기능에도 관여하는 것으로 알려져 있다²¹. 최근에는 우울증환자의 경우 뇌척수액에서 NPY 농도가 감소되는 것이 보고되었으며²² 이에 대해 항우울증약제(antidepressive agents)를 투여한 흰쥐의 대뇌피질에서 NPY가 증가됨이 관찰되어²³ 신경병리학적 질병상태에 따라 뇌척수액에서 NPY 농도가 다르다는 것을 보고함으로써 NPY가 Alzheimer병, Parkinson씨병, 심혈관계통 질환과 같은 질병에서 나타나는 신경성 식욕부진(anorexia nervosa)에도 중요한 역할을 할 것이라고 알려져 있다^{5,24,25}.

한편 본 연구에 사용하고자 하는 야생등줄쥐(striped

field mouse, *Apodemus agrarius*)는 쥐과(Muridae), 붉은쥐속(*Apodemus*)에 속하는 설치류로 유럽쪽으로는 서독과 북부 이탈리아에서부터 바이칼호수까지, 동쪽으로는 만주와 대만에 서식하며 국내에서는 제주도뿐만 아니라 전역에 분포하고 있다²⁶. *Apodemus agrarius*는 유럽과 서부 아시아에서 21아종이 있으며 국내에 분포하고 있는 *Apodemus*속의 아계는 외형 및 모색에 따라서 지역별로 4군으로 구분할 수 있는데²⁷ 한반도 최북단에 서식하는 *Apodemus agrarius manchuria*, 한반도 내륙전역에 분포하는 *Apodemus agrarius coreae*, 남서쪽 해안지역에 서식하는 *Apodemus agrarius pallescens* 그리고 제주도에 서식하고 있는 *Apodemus agrarius chejuensis*로 분류하고 있다^{27,28}. 야생등줄쥐는 주로 한국형 출혈열의 원인인 한탄바이러스의 숙주로 널리 알려져 있으며²⁹ 한탄바이러스, 리켓치아 등 병원성 미생물의 감염경로, 발병기전³⁰ 등의 연구를 위해 많은 연구자들이 등줄쥐를 이용하여 여러 실험을 하고 있다. 최근들어 국내에 서식하는 등줄쥐를 실험동물화 하는데 성공하여 동물실에서 이 등줄쥐를 사육하면서 번식학적인 특성에 관한 연구가 이루어지고 있으며³¹ 무균등줄쥐의 개발까지도 이루어져 있다³². 그러나 이런 동물의 실험동물화에 비취볼 때 아직까지 등줄쥐에 대한 형태학적 특성이 많이 밝혀져 있지 않은 상태이므로 이에 관한 형태학적 연구가 필수적이라 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 야생등줄쥐의 후각망울에서의 NPY 면역반응신경세포의 분포부위 및 분포특징을 밝혀 중추신경계통의 신경전달물질에 대한 신경해부학적 기초자료 축적을 목표로 본 연구를 시도하게 되었다.

재료 및 방법

실험동물 및 뇌도보작성 : 본 실험에 사용한 실험동물은 동두천일대에서 포획한 체중 35~50g 내외의 야생등

줄쥐(*striped field mice*; *Apodemus agrarius corea*)를 암수 구별없이 모두 5마리를 사용하였다. 뇌도보작성을 위한 실험동물 2마리를 실험전 24시간동안 절식시킨 후 뇌를 관류고정하기 위하여 thiopental sodium(30mg/kg)을 복강 내주사하여 마취시킨 다음 cannula를 좌심실을 통하여 오른대동맥에 삽입하고 도보작성을 위하여 0.9% 생리식염수로 관류수세한 후 이어서 10% 중성완충포름알린(nutral buffered formaline)으로 관류고정한 다음 두개골과 뇌막을 제거하고 뇌를 적출하여 동일 관류고정액에 24시간 후고정시켰고 0.1M phosphate buffered saline(이하 PBS) 용액으로 만든 30% sucrose 용액(pH 7.2, 4℃)속에서 뇌가 가라앉을 때까지 침적시킨 후 냉동절편기(Reichert-Jung사)로 절편사이간격을 80µm 두고 40µm 두께의 관상 및 시상절편을 작성하여 gelatin으로 처리된 슬라이드에 부착시켜 cresyl violet 염색을 시행하였다. 염색이 끝난 표본은 탈수 및 투명과정을 거쳐 영구표본을 만들었다.

면역조직화학반응 :

조직처리 : 실험동물 3마리를 도보작성시와 같은 방법으로 관류고정하되 관류수세액에는 혈관확장을 위하여 0.1% sodium nitrite와 혈액응고방지를 위하여 0.005% heparin(녹십자)이 함유된 0.1M PBS(pH 7.4)를 사용하였다. 또한 관류고정액으로는 pH 6.5인 4% paraformaldehyde(in 0.1M PB)로 먼저 관류고정한 후 pH 차이에 의해서 고정 효과 높이기 위하여 바로 이어서 pH 11.0인 4% paraformaldehyde(in 0.1M borate buffer)로 연속 고정하였다. 고정이 끝난 후 뇌를 적출하여 pH 11.0인 4% paraformaldehyde에 다시 24시간 후고정하였고 이어서 PB로 완충시킨 10%, 20% sucrose 용액에 각 24시간씩, 30% sucrose 용액에서는 뇌가 완전히 가라앉을 때(약 3일)까지 담가두었다가 냉동절편기로 80µm 간격을 두고 40µm 두께의 관상 및 시상단면을 작성하였다. 이어 0.3% Triton X-100이 함유된 PBS(이하 T-PBS)로 각 10분간 5회 수세한 후 부유법(free floating method)⁷을 이용한 면역조직화학염색을 시행하였다.

항체 및 시약 : 본 실험에 사용한 1차 항체는 모두 토끼에서 추출한 것으로 NPY(Incstar) 항체를 1:3000으로 희석하여 사용하였다. 2차 항체는 biotinylated swine anti-rabbit immunoglobulins(Biomakor)과 peroxidase-conjugated streptavidin(Biomakor)을 PB 용액(pH 7.4)에 bovine serum albumin(이하 BSA; Sigma)이 1%, Triton X-100이 0.3% 되도록 첨가하여 각각 1:300 되도록 희석하여 사용하였

다. Peroxidase에 대한 발색은 3,3-diaminobenzidine-4HCl(DAB, Sigma)을 0.1M PBS(pH 7.4)에 용해하여(40mg/100ml) 여과한 후 과산화수소수가 0.0045% 되도록 첨가시켜(이하 DAB 용액) 사용하였다.

면역염색 : 면역염색의 모든 과정은 부유법을 이용하여 항원성의 손실을 최대한 방지하고자 하였으며⁷ 모든 반응과정을 4℃에서 시행하였다. 면역조직화학반응을 위한 조직처리과정을 끝낸 절편은 조직내에 존재하는 peroxidase를 제거하기 위하여 0.5% 과산화수소용액에서 1시간동안 반응시킨 후 증류수와 T-PBS(pH 7.4)로 다시 10분씩 3회 수세하였다. 이어서 비특이성 항원에 대한 면역반응을 방지하기 위하여 PBS에 0.3% Triton X-100, 1% normal goat serum 및 1% BSA를 첨가하여 조제한 preincubation 용액에 2~3시간 반응시켰다. 그후 1차 항체를 4℃에서 3일간 반응시킨 후 다시 T-PBS로 10분씩 5회 수세하였고 이어 2차 항체인 biotinylated swine anti-rabbit immunoglobulins(Biomakor)을 4℃에서 24시간 반응시킨 후 다시 T-PBS로 10분씩 5회 수세하였으며 peroxidase-conjugated streptavidin(Biomakor)에서도 역시 동일한 방법으로 반응시킨 후 PBS와 PB(Phosphate buffer)에서 각각 10분간 2회 수세하고 다시 T-PBS(pH 7.4)에서 15분간 2회 세척한 다음 발색제인 DAB용액에서 발색시켰다. 발색된 절편은 gelatin액 속에서 붓을 이용하여 슬라이드 위에 부착시킨 후 이 슬라이드를 50℃의 항온기내에 10분간 수분을 제거하면서 조직절편을 슬라이드에 완전히 부착시켰다. 조직절편이 부착된 슬라이드는 다시 실온으로 꺼내어 3일동안 실온에서 자연 건조하였다. 건조가 끝난 슬라이드 표본을 알콜을 이용한 탈수 및 Xylene에 의한 투명과정을 거쳐 permount로 봉입하여 영구표본을 제작하였다.

면역반응세포의 검색 : 후각망울은 각 층을 구분해서 작성한 뇌도보를 참고로 층별에 따른 NPY 면역반응세포의 위치를 관찰하고자 하였으며 이들 부위에 분포하는 면역반응신경세포의 분포영역과 그 신경세포섬유의 주행방향, 세포체의 크기, 분포하는 세포의 유형과 특징 등을 확인하기 위하여 micrometer가 장착된 광학현미경을 사용하여 관찰하였다.

결 과

등줄쥐의 후각망울은 전뇌의 바닥부분에서 후각망울

다리(olfactory peduncle)에 부착되어 있었으며 앞쪽으로 돌출되어 사골의 사골판에 접해 있었고 비교적 세로방향으로 납작하였다. 등줄리의 후각망울을 관상단면의 도보로 작성하여 관찰하였던 바 주후각망울(main olfactory bulb)과 부후각망울(accessory olfactory bulb)로 구분되었는데 주후각망울이 후각망울의 대부분을 차지하였다. 후각망울의 층배열은 바깥층에서 속층으로 가면서 윤상층배열의 구조가 뚜렷하였으며 후각망울 가운데에는 후각망울내계실(olfactory ventricle)이 이 동물에서는 존재하지 않았다(Fig 7).

주후각망울의 일반 조직학적 관찰조건 : Cresyl Violet 염색 관찰결과 주후각망울(main olfactory bulb)의 기본적인 층배열구조는 바깥층으로부터 속층으로 가면서 후각신경섬유층(olfactory nerve fiber layer), 사구체층(glomerular layer), 바깥겉기층(external plexiform layer), 승모세포층(mitral cell layer), 속겉기층(internal plexiform layer) 및 과립세포층(granule cell layer)의 6층으로 구분되었으며 가장 속층에서는 백색질이 관찰되었다(Fig 7). 주후각망울의 가장 바깥층인 후각신경섬유층은 후각부분의 후각세포로부터 나오는 무수초신경섬유인 후각신경섬유들이 사구체층 바깥쪽으로 분포하여 주후각망울 전체를 둘러싸고 있었는데 그중 주후각망울의 내측면과 외측면이 가장 두터웠고 등쪽 및 배쪽에서는 비교적 얇았다(Fig 7). 사구체층의 경우에는 직경이 약 50~100 μ m 정도의 다양한 크기의 사구체들이 대부분 단층으로 주후각망울을 둘러싸고 있었으며 간혹 단면상에서 2층으로 보이는 부위도 관찰되었다(Fig 7). 사구체 주변에는 6 μ m 내외의 크기가 작은 사구체 주위세포(periglomerular cell)들이 사구체에 밀착하여 둘러싸고 있었으며(Fig 7) 바깥겉기층에는 사구체 주위세포와 크기 및 모양이 유사한 과립세포들이 산재하고 있었다. 과립세포 사이에는 세포질돌기가 잘 발달된 슬모양세포가 관찰되었는데 그 크기는 14~18 μ m로 다양하였으며 바깥쪽으로부터 안쪽으로 갈수록 그 크기가 증가하였다(Fig 7). 승모세포는 주후각망울에서 관찰된 세포중 가장 큰 세포였으며 대개 1~2층으로 배열되어 승모세포층을 형성하고 있었다. 속겉기층에는 소수의 과립세포들이 산재하고 있었으나 잘 구분되지 않았으며 과립세포층에는 몇층의 과립세포들이 집단을 이루고 있었다. 한편 후각망울의 중앙부분에 위치하는 후각망울계실이 본 등줄리의 경우에는 관찰되지 않았다(Fig 7).

주후각망울의 NPY면역반응신경세포 관찰결과 : 등줄리 주후각망울의 경우 NPY 항체에는 신경세포와 신경섬유가 모두 면역반응을 보였다(Fig 1~6). NPY 면역반응세포들의 대다수는 백색질내에 분포하고 있었으며(Fig 3, 5). 이들의 모양은 원형 또는 난원형이 대부분으로 미약한 돌기들을 소유하고 있었다(Fig 3, 5). 또한 백색질에서 발견된 신경섬유의 경우 주로 혈관 가까이에서 잘 발달된 형태로 관찰되었으며 염주알모양(vericosity)을 형성한 경우도 있었다(Fig 5). 또한 많은 NPY 면역반응신경세포체가 앞쪽후각신경핵(ant. olfactory nucleus)에서 관찰되었으며(Fig 4, 6). 세포체의 모양은 백색질에서 관찰된 것과 유사한 원형 또는 난원형을 띄고 있었고 돌기의 발달은 역시 미약하였다(Fig 4, 6). 한편 소수의 NPY 면역반응신경세포체가 바깥겉기층과 과립세포층의 심층측, 백색질 가까이에서 관찰되었다(Fig 1, 2). 특히 바깥겉기층에서 관찰된 NPY 면역반응신경세포는 주로 타원형을 띄고 있었으며 그 세포질돌기들은 층의 주행방향과 평행하게 뻗고 있었다(Fig 1). 과립세포층의 심층에서 발견된 NPY 면역반응신경세포체는 백색질의 것과 차이가 거의 없었다(Fig 2).

NPY 면역반응 신경섬유들은 후각신경섬유층과 사구체층을 제외한 모든 부위에서 관찰되었는데 특히 과립세포층에서 매우 높았고 그 다음 백색질에서 다소 높았으며 속겉기층에서는 비교적 낮게 관찰되었다(Fig 1~4). NPY 반응신경섬유의 주행방향은 과립세포층과 백색질에서는 층배열에 평행하게 주행되 서로 사다리 모양으로 연결되는 것처럼 보였으며 여러 곳에 많은 염주알모양이 관찰되었다(Fig 3, 4).

부후각망울의 Cresyl Violet 염색결과 : 부후각망울은 바깥층으로부터 서골코신경섬유층(vomer nasal nerve fiber layer), 사구체층, 혼합층(바깥겉기층/승모세포층/속겉기층; mixed layer) 및 과립세포층의 4층으로 구분되었다. 서골코신경섬유층은 주후각망울의 후각신경섬유층과 같이 다수의 무수초신경섬유로 구성되었으며 신경세포는 관찰되지 않았다. 사구체층을 이루고 있는 사구체의 크기는 주후각망울의 것보다 작았고 그 경계도 분명히 관찰되지 않았으며 사구체 주변의 사구체 주위세포의 모양도 뚜렷하지 않았다. 또한 그 수도 주후각망울에 비해 소수였으며 주위에 흩어져 있는 신경아교세포와의 구분도 명확하지 않았다.

부후각망울의 NPY 면역반응신경세포의 분포 : NPY

면역반응세포는 출현하지 않았으며 과립세포층에 있는 소수의 신경섬유돌만이 양성반응을 보였다. 또한 드물게 혼합층을 향한 짧은 섬유들이 관찰되었다.

고 찰

일반적으로 포유동물의 후각망울은 전뇌 전두엽의 앞쪽바닥부분에서 돌출하여 사골의 사골판에 밀착되어 있으며 동물에 따라 후각이 생활에 중요한 역할을 하는 하등동물 일수록 후각망울이 크다. 후각망울에는 후각계통의 2차 신경세포들인 승모세포와 슬모양세포, 내재신경세포(*intrinsic neuron*)인 과립세포 및 사구체 주위세포를 비롯한 여러 종류의 세포들이 존재하며 이들은 같은 종류의 세포들이 모여 여러 층의 층판배열을 이루고 있다³³⁻³⁸. 본 연구에서 관찰한 등줄쥐의 후각망울의 경우에도 각 세포들이 7층의 뚜렷한 층판배열을 형성하고 있었지만 가장 속층인 백색질내에서 관찰되는 후각망울계실은 존재하지 않아 계실을 가지고 있는 아르마딜로³⁹, 족제비⁴⁰, 고슴도치^{33,34} 및 고양이⁴¹ 등과는 달랐다. 예민한 후각을 지닌 포유동물의 후각망울은 비강으로부터 1차 감각신경세포에서 오는 수입신경섬유를 받아들이는 곳이 주후각망울과 부후각망울의 2부분으로 구분되어 있는데 주후각망울은 후각부분(*olfactory portion*)의 점막에 있는 후각세포로부터 신경섬유를 받아들이는 곳이며 부후각망울은 비강하부에 존재하는 서골코기관(*vomeranase organ*)으로부터 신경섬유를 받아들이는 곳인데 하등동물의 경우 서골코기관의 기능은 주로 성행위와 동족식별에 관여하는 것으로 알려져 있다⁴²⁻⁴⁴.

지금까지 후각망울에서 보고된 신경활성물질로는 *enkephalin*⁴⁵, *somatostatin*⁴⁶, *GABA*⁴⁷, *GAD*⁴⁷ 등으로 다양한데 본 연구의 대상인 NPY도 연구대상 신경활성물질중 하나이다. 후각망울에 분포하는 NPY 분포에 대한 연구는 흰쥐⁴⁸, 기니피그⁴⁹, 고양이⁵⁰, 원숭이⁵¹ 및 사람⁵² 등의 설치류로부터 영장류에 이르기까지 다양한 종류의 동물을 대상으로 그 분포에 대한 연구가 이루어져 왔다. 먼저 본 연구에서 시행한 등줄쥐 후각망울에 분포하는 NPY 면역반응신경세포체에 대한 결과를 보면 NPY 면역반응세포들의 대다수는 원형 또는 난원형의 형태로 백색질과 앞쪽후각신경핵에서 관찰되었다. 또한 소수이기는 하나 바깥말기층과 과립세포층의 심층에서도 NPY 면역반응신경세포체가 관찰되었다. 이러한 결과를 다른 동

물과 비교하여 보면 흰쥐의 경우 NPY 함유신경세포는 주로 과립세포층의 심층과 백색질에서 관찰되며 그 형태는 뾰족형 신경세포라고 하였다. 뿐만 아니라 이들의 세포질 돌기는 주로 과립세포층과 백색질에 평행한 방향으로 주행한다고 하였다⁵³. 또 다른 연구자의 흰쥐에 대한 연구를 보면 소수의 NPY 면역반응신경세포체가 후각신경핵에서 관찰된다고 보고한 바 있다⁴⁸. 이와같은 흰쥐의 결과를 본 등줄쥐의 결과와 비교하여 볼 때 일반적으로 백색질과 과립세포층의 심층에서 다수의 NPY 면역반응신경세포체가 관찰됨에는 같은 결과를 보였다. 그러나 등줄쥐의 경우 앞쪽후각신경핵에서 다수의 NPY 면역반응신경세포체가 관찰된 반면 흰쥐의 경우 *Chromwall*⁴⁸이 소수의 면역반응신경세포를 후각신경핵에서 관찰하였다고 하여 다소 차이를 보였다. 또한 등줄쥐의 경우 바깥말기층에서도 소수이기는 하지만 NPY 면역반응신경세포체가 관찰되어 흰쥐의 경우와 차이를 보였다. 한편 기니피그의 후각망울에 분포하는 NPY 면역반응신경세포에 대한 연구에서는 NPY 항체에 면역반응을 보이는 신경세포체는 과립세포층의 깊은층 및 속말기층과 과립세포층 사이에 많이 분포한다고 하였으며 그 모양은 등굴거나 타원형으로 세포돌기는 수평방향으로 주행한다고 보고된 바 있다⁴⁹. 이러한 결과는 본 등줄쥐의 연구와 많은 유사점을 가지고 있었으나 등줄쥐의 경우 속말기층에서는 면역반응신경세포체가 관찰되지 않아 차이가 있었다. 설치류보다 고등한 고양이의 경우 NPY 면역반응신경세포는 백색질, 과립세포층의 깊은층 및 종종 바깥말기층에서도 발견된다고 하였으며⁵⁰ 사람의 경우 NPY 면역반응세포체는 주로 백색질에 가장 많이 존재하고 과립세포층 및 속말기층에서도 관찰된다고 하여 영장류와 설치류간에도 후각망울의 신경활성물질의 분포에 있어 유사성이 있었다⁵².

본 연구의 결과와 기타 다른 동물의 연구결과를 비교하여 볼 때 대부분 동물의 후각망울에서 관찰된 NPY 면역반응신경세포체는 과립세포층 심층과 백색질에 가장 많았으며 이와같은 결과는 등줄쥐에서도 같은 결과를 보였다. 반면 등줄쥐의 경우 앞쪽후각신경핵에서 다수의 면역반응신경세포가 관찰되었으며 바깥말기층에서도 소수가 관찰되어 다른 동물과 차이점을 보이기도 하였다. 이와같이 동물의 종에 따라 차이가 나타나는 것은 유전적 환경적 차이에서 오는 것이라 생각되며 차후 기능적 연구가 병행되어야 할 것으로 사료된다.

결론

국내 서식하는 등줄쥐 후각망울에 분포하는 neuropeptide Y 함유신경세포를 관찰하기 위하여 등줄쥐 5마리를 대상으로 4% paraformaldehyde로 관류고정하여 먼저 도보작성 및 cresyl violet 염색으로 일반조직학적 관찰을 시행하여 후각망울의 구분 및 세포특징을 관찰하였으며 이를 기초로 NPY 항체를 이용하여 ABC 면역염색을 실시한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

Cresyl Violet 염색 관찰결과 주후각망울의 기본적인 층판구조는 바깥층으로부터 속층으로 가면서 후각신경섬유층, 사구체층, 바깥열기층, 승모세포층, 속열기층 및 과립세포층의 6층으로 구분되었으며 가장 속층에서는 백색질이 관찰되었다. 부후각망울은 바깥층으로부터 서클코신경섬유층, 사구체층, 혼합층(바깥열기층/승모세포층/속열기층) 및 과립세포층의 4층으로 구분되었다.

등줄쥐 주후각망울의 NPY 면역반응세포들의 대다수는 백색질에 분포하고 있었다. 백색질에 분포하는 대부

분의 NPY 면역반응신경세포는 원형 또는 난원형이 대부분이었으며 돌기의 발달은 미약한 편이었다. 또한 백색질에서 발견된 신경섬유의 경우 주로 혈관 가까이에서 잘 발달된 형태로 관찰되었으며 염주알 모양을 형성한 경우도 있었다. 또한 많은 NPY 면역반응신경세포체가 앞쪽후각신경핵에서 관찰되었다. 세포체의 모양은 백색질에서 관찰된 것과 유사한 원형 또는 난원형을 띄고 있었으며 돌기의 발달은 역시 미약하였다. 한편 소수의 NPY 면역반응신경세포체가 바깥열기층과 과립세포층의 심층 즉, 백색질 가까이에서 관찰되었다. 특히 바깥열기층에서 관찰된 NPY 면역반응신경세포는 주로 타원형을 띄고 있었으며 그 세포질돌기를 층의 주행방향과 평행하게 뻗고 있었다. 과립세포층의 심층에서 발견된 NPY 면역반응신경세포체는 백색질의 것과 차이가 없었다. 부후각망울의 경우 NPY 면역반응세포는 출현하지 않았으며 과립세포층에 있는 소수의 신경섬유들만이 양성반응을 보였다. 또한 드물게 혼합층을 향한 짧은 섬유들이 관찰되었다.

Legends for figures

- Fig 1. NPY-IR neuron in the external plexiform layer of main olfactory bulb of the striped field mouse. EPL : external plexiform layer, GL : glomerular layer, MCL : mitral cell layer, OL : olfactory nerve fiber layer, Inlet : $\times 100$, NPY-immunohistochemistry. $\times 50$
- Fig 2. NPY-IR neuron in the deep portion of granule cell layer of main olfactory bulb of the striped field mouse. GCL : granule cell layer, IPL : internal plexiform layer, MCL : mitral cell layer, WM : white matter. NPY-immunohistochemistry. $\times 50$
- Fig 3. NPY-IR neuron in the white matter of main olfactory bulb of the striped field mouse. WM : white matter. NPY-immunohistochemistry. $\times 50$
- Fig 4. NPY-IR neuron in the anterior olfactory nucleus of the striped field mouse. NPY-immunohistochemistry. $\times 50$
- Fig 5. High power photomicrograph of NPY-IR neuron(oval bipolar neuron) in the white matter of main olfactory bulb of the striped field mouse. NPY-immunohistochemistry. $\times 200$
- Fig 6. High power photomicrograph of NPY-IR neuron in the anterior olfactory nucleus of the striped field mouse. NPY-immunohistochemistry. $\times 200$
- Fig 7. Cresyl violet staining of the main olfactory bulb of the striped field mouse. EPL : external plexiform layer, GCL : granule cell layer, GL : glomerular layer, IPL : internal plexiform layer, MCL : mitral cell layer, OL : olfactory nerve fiber layer, WM : white matter. cresyl violet staining. $\times 50$

참 고 문 헌

1. Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V. Neuropeptide Y. A novel brain peptide with structural similarities to peptide Y and pancreatic polypeptide. *Nature(London)*, 296: 659-660, 1982.
2. Lin TM. *Pancreatic polypeptide: Isolation, chemistry and biological function*. In: *Gastrointestinal hormones*. Glass BJ ed. Raven Press NY pp.275-306, 1980.
3. De Quidt ME, Emson PC. Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central nervous system. II. Immunohistochemical analysis. *Neuroscience*, 18:545-618, 1986.
4. Adrian TE, Allen JM, Bloom SR, Ghatei MA, Rosser MN, Roberts GW, Crow TJ, Tatemoto K, Polak JM. Neuropeptide Y distribution in human brain. *Nature (London)*, 306:584-586, 1983.
5. Chan-Palay V, Allen YS, Lang W, Haesler U, Polak JM. Cytology and distribution in normal human cerebral of neurons immunoreactive with antisera against neuropeptide Y. *J Comp Neurol*, 238:382-389, 1985.
6. Reuss S, Edward C, Hurlbut JC, Speh and Moore RY. Neuropeptide Y localization on telencephalic and Diencephalic structures of the Ground Squirrel Brain. *American J of Ana*, 188:163-174, 1990.
7. Kuljis RO, Rakic P. Distribution of neuropeptide Y-containing perikarya and axons in various neocortical areas in the macaque monkey. *J Comp Neurol*, 280(3): 383-392, 1989.
8. Clark JJ, Kalra PS, Crowley WR, Kalra SP. Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. *Endocrinology*, 115:427-431, 1984.
9. Stanley BG, Leibowitz SF. Neuropeptide Y injected in the paraventricular hypothalamus: A powerful stimulant of feeding behavior. *Neurobiology*, 82:3940-3943, 1985.
10. Gray TS, Morley JE. Neuropeptide Y. Anatomical distribution and possible function in mammalian nervous system. *Life Sci*, 38:389-401, 1986.
11. Albers HE, Ferris CF. Neuropeptide Y: Role in light-dark cycle entrainment of hamster circadian rhythms. *Neurosci Lett*, 50:163-168, 1984.
12. Kalra SP, Crowley WR. Norepinephrine-like effects of neuropeptide Y on LH release in the rat. *Life Sci*, 35: 1173-1176, 1984.
13. Lundberg JM, Terenius L, Hökfelt T, Marthing CR, Tatemoto K, Mutt V, et al. Neuropeptide Y(NPY)-like immunoreactivity in peripheral noradrenergic neurons and effects of NPY on sympathetic function. *Acta Physiol Scand*, 116:477-480, 1982.
14. Allen JM, Adrian K, Tatemoto K, Polak JM, Hughes J, Bloom SR. Two novel related peptides, neuropeptide Y(NPY) and peptide YY(PYY), inhibit the contraction of the electrically stimulated mouse vas deferens. *Neuropeptides*, 3:71-77, 1982.
15. Allen LG, Kalra PS, Crowley WR, Kalra SP. Comparison of the effect of neuropeptide Y and adrenergic transmitters on LH release and food intake in male rats. *Life Sci*, 37:617-623, 1985.
16. McDonald JK, Lumpkin MD, Samson WK, McIlann SM. Neuropeptide Y affects secretion of luteinizing hormone and growth hormone in ovariectomized rats. *Proc Natl Acad Sci*, 82:561-564, 1985.
17. Crowley WR, Hassid A, Kalra SP. Neuropeptide Y enhances the release of luteinizing hormone induced by luteinizing hormone-releasing hormone. *Endocrinology*, 120:941-945, 1987.
18. Higuchi H. Neuropeptide Y functions and biosynthesis as a peptidergic neurotransmitter and the regulation of neuron-specific expression of NPY gene. *Folia Pharmacol Jpn*, 93: 203-218, 1989.
19. Edvinsson L, Copeland JR, Emson P, McCulloch J, Uddman R. Nerve fibres containing neuropeptide Y in the cerebrovascular bed: Immunocytochemistry, radioimmunoassay and vasomotor effects. *J Cerebr Blood Flow Metabol*, 7:45-57, 1987.
20. Fuxe K, Agnati LF, Harfstrand A, Zini I, Tatemoto K, Pich EM, Hökfelt T, Mutt V, Terenius L. Central administration of neuropeptide Y induces hypotension bradypnea and EEG synchronization in the rat. *Acta*

- Anatomica*, 118(2):189-192, 1984.
21. Aguirre JA, Fuxe K, Hedlund P, Narvasz JA, Cintra A, Rosen L, Agrati LF. Neuropeptide Y/angiotensin II interaction in central cardiovascular regulation of the rat. *Brain Res*, 566:61-69, 1991.
 22. Widerlöv E, Lond ström LH, Wahelesstedt C, Ekman R. Neuropeptide Y and peptide YY as possible cerebrospinal makers for major depression and schizophrenia, respectively. *J Psychiatric Res*, 22:69-79, 1988.
 23. Heilig M, Wahlestedt C, Ekman R, Widerlöv E. Antidepressant drugs increase the concentration of neuropeptide Y(NPY)-like immunoreactivity in the rat brain. *Eur J Pharmacol*, 147:465-467, 1988.
 24. Beal MF, Martin JB. Neuropeptides in neurological disease. *Ann Neurol*, 20: 547-565, 1986.
 25. Constantinidis J, Bouras C, Vallet PG. Neuropeptides in Alzheimer's and in Parkinson's disease. *Mount Sinai J Med*, 55:102-115, 1988.
 26. Corbet GB. *The mammals of the Palaearctic region : a taxonomic review*. British Museum(Nature Hist). Cornell Univ. Press London, 1978
 27. Jones JK, Johnson DH. Synapsis of the lagomorphs and rodent of Korea. *Univ Kansas Publ. Mus Nat Hist*, 16:327-407, 1965.
 28. Won BH. *Illustrated encyclopedia of fauna and flora of korea*. Ministry of education republic of Korea 1967.
 29. Lee HW, Lee PW, Johnson Km. Isolation of the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever. *J Infec Dis*, 137:298-308, 1978.
 30. Shin HK, Jeong EB, Jang MB, Kim SI, Chung SI, Suh SD. Study on hemorrhagic fever with renal syndrom(I). *Report of NIH Korea*, 24:439-449, 1987.
 31. 조정식, 채갑용, 임철주, 김철규, 장인석, 조용연, 견인, 이영선. 한국에 서식하는 야생등줄쥐(*Apodemus agrarius pallas*)의 실험동물화에 관한 연구. I. 등줄쥐의 사육 및 번식학적 특성. *한국실험동물학회지*, 11:1-6, 1995.
 32. 김철규, 채갑용, 임철주, 장인석, 조용연, 황진희, 김용규, 황승준, 오양석, 조정식. 무궁등줄쥐의 개발에 관한 연구(II). *국립보건안전연구원보*, 8:382-389, 1995.
 33. Lopez-Mascaraque L, De Cariso JA, Valverde F. Structure of the olfactory bulb of the hedgehog(*Ernaceus europaeus*): Description of cell types in the granular layer. *J Comp Neurol*, 253:135-152, 1986.
 34. Lopez-Mascaraque L, De Cariso JA, Valverde F. Structure of the olfactory bulb of the hedgehog(*Ernaceus europaeus*): A Golgi study of the intrinsic organization of the superficial layers. *J Comp Neurol*. 301:243-261, 1990.
 35. Macrides F, Schneider SP. Laminar organization of mitral and tufted cells in the main olfactory bulb of the adult hamster. *J Comp Neurol*, 208:419-430, 1982.
 36. Mori K, Kishi K, Ojima H. Distribution of dendrites of mitral, displaced mitral, and tufted and granule cells in the rabbit olfactory bulb. *J Comp Neurol*, 219: 339-355, 1983.
 37. Royet CE, Jourdan F, Ploye H. Morphometric modification associated with early sensory experience in the rat olfactory bulb : I. Volumetric study of the bulbar layers. *J Comp Neurol*, 289:586-593, 1989.
 38. Schneider SP, Macrides F. Laminar distribution of interneurons in the main olfactory bulb of the adult hamster. *Brain Res Bull*, 3:73-82, 1978.
 39. Travis MNG. Telencephalon of an endentate. In : comparative correlative neuroanatomy of the vertebrates telencephalon. Crosby, EC and Schmitzlein HN ed, Macmillian publishing Co, NY, pp338-372, 1983.
 40. Lockard BI. Telencephalon of canivores. Section B. Telencephalon of the ferret(*Mustela Furo*). In : Comparative correlative neuroanatomy of the vertebrates telencephalon. Crosby, E.C and Schnitzlein, H.N. ed, Macmillian Publishing Co, NY. pp.484-500, 1983.
 41. Kinney FC. Telencephalon of canivores. Section A. Noncortical nuclear groups and hippocampal formation in the telencephalon of the cat(*Felis domestica*). In : Comparative correlative neuroanatomy of the vertebrates telencephalon. Crosby, E.C and Schnitzlein, H.N. ed, Macmillan Publishing Co, NY, pp.463-484, 1983.
 42. Land LJ. Localized projection of olfactory nerves to rabbit olfactory bulb. *Brain Res*, 63:153-166, 1973.
 43. Macrides F, Davis BJ. The olfactory bulb. In : Chemical neuroanatomy. Emson, P.C. ed, Raven Press NY,

pp.391-426, 1983

44. Tilders FJH, Van der Woude HA, Swaab DF, Mulder AH. Identification of MSH release-inhibiting elements in the neurointermediate lobe of the rat. *Brain Res*, 171:425-435, 1979.
45. Bogan N, Brecha N, Gall C, Karten HJ. Distribution of enkephalin-like immunoreactivity in the rat main olfactory bulb. *Neurosci*, 2(4):895-906, 1982.
46. Seroogy K, Hokfelt T, Buchan A, Brown JC, Terenius L, Norman AW, Goldstein M. Somatostatin-like immunoreactivity in rat main olfactory bulb: extent of coexistence with neuropeptide Y-, Tyrosine hydroxylase- and immunoreactivities. *Brain Res*, 496:389-396, 1989.
47. Chang KH, Kim BW. Immunocytochemical identification of the GABAergic Neurons in the Olfactory Bulbs of Rodents. *Bull Clin Res CMC*, 18(2):160-169, 1990.
48. Chronwall BM, Dimaggio DA, Massari VJ, Pickel VM, Ruggiero DA, O'Donohue TL. The anatomy of neuropeptide Y-containing neurons in rat brain. *Neuroscience*, 15(4):1159-1181, 1985.
49. Matsutani S, Senba E, Tohyama M. Distribution of Neuropeptidlike immunoreactivities in the Guinea pig Olfactory Bulb. *J Comp Neurol*, 280:577-586, 1989.
50. Sanides-kohlrausch C, Wahle D. Morphology of neuropeptide Y immunoreactive neurons in the cat olfactory bulb and olfactory peduncle postnatal development and species comparison. *J Comp Neurol*, 291:468-489, 1990.
51. Smith Y, Parent A. Neuropeptide Y-immunoreactive neurons in the striatum of cat and monkey: Morphological characteristics, intrinsic organization and colocalization with somatostatin. *Brain Res*, 372:241-252, 1986.
52. Ohm TG, Braak E, Probst A, Weindl A. Neuropeptide Y-like immunoreactive neurons in the human olfactory bulb. *Brain Res*, 451:295-300, 1988.
53. Gall C, Kim B, Seroogy K, Brecha N. Distribution of VIP- and NPY-like immunoreactivities in rat main olfactory bulb. *Brain Res*, 374:389-394, 1986.