

## 한국분리산 PRV-Ba를 이용한 가토 안구지배신경의 추적 연구

박일권 · 김무강 · 신광순 · 이경열 · 송치원 · 이강이\* · 현병화\*\* · 장규태\*\* · 정영길\*\*\*

충남대학교 수의과대학 · 대전대학교 한의과대학\*  
생명과학연구소\*\* · 건양대학교 의과대학\*\*\*  
(2000년 8월 3일 게재승인)

### Tracing study for the rabbit eye ball control nerve utilizing the PRV-Ba isolated in the Korea

Il-kwon Park, Moo-kang Kim, Kwang-soon Shin, Kyung-youll Lee, Chi-won Song,  
Kang-lee Lee\*, Byung-hwa Hyun\*\*, Kyu-tae Chang\*\*, Young-gil Jeong\*\*\*

*College of Veterinary Medicine, Chungnam National University*  
*College of Oriental Medicine, Taejon University\**  
*Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology\*\**  
*College of Medicine, Gonyang University\*\*\**

(Accepted by Aug 3, 2000)

**Abstract** : Until now pseudorabies virus(PRV) has been used a neurotracer, because of its properties of retrograde & anterograde transport. But its anterograde transport is not perfect, so we tested the applicability of the Bartha strain of PRV(PRV-Ba) isolated from South Korea as a neurotracer in the visual system. We performed immunohistochemical study of the rabbit brain after intravitreal injection of the PRV-Ba. After given survival time(24, 48, 72, 96, 120, 144hrs), the brain was removed and processed immunohistochemical stain for PRV-Ba. The strong PRV immunoreactivity(PRV-ir) were almost observed contralaterally in oculomotor neurons, for example Edinger-Westphal nucleus, trigeminal nucleus of pons and peritrigeminal zone but locus of innervating sensitive neurons. The latter were weak positive and selective. PRV-Ba immunoreactive neurons were stained strongly in nucleus compared to cytoplasm. This study suggests that PRV-Ba isolated from South Korea is also a useful neurotracer in the motor innervated system like other PRV-strain.

**Key words** : pseudorabies, rabbit, eye, neurotracer, South Korea.

## 서 론

시각의 수용기가 되는 안구는 사물의 형태를 망막으로부터 대뇌에 전달하기까지 여러 종류의 신경세포로 연결되어 있다. 안구에서 빛의 감각을 수용하는 망막은 태아의 발생과정중 간뇌(diencephalon)에서 파생되었기 때문에 시신경(optic nerve)과 시야계(visual system)는 중추신경계와 밀접하게 연관되어 있다<sup>1</sup>. 시신경섬유는 망막의 신경절세포층(ganglion cell layer)에 위치한 신경원의 축삭들이며, 이 축삭들은 시각원반(optic disk)에 모인 후 안구의 오목(fovea centralis)으로부터 약 3~4mm 내측에서 시신경이 되어 안구의 밖으로 나오게 된다. 이때 시신경은 중추신경계의 신경로에 해당되기 때문에 수초는 신경초세포(schwann cell)가 아니라 희소돌기아교세포(oligodendrocyte)에서 유래되며, 이미 면역염색<sup>2-20</sup> 등의 여러가지 방법에 의해서 여러 동물의 안구와 중추신경계 사이의 해부학적인 구조가 많이 알려져 있다<sup>4</sup>.

말초신경에 대한 중추신경계내의 지배부위를 알기 위하여 예전에는 신경축삭의 퇴행성변이 또는 재생 등을 응용하여 이용해 왔으나 축삭과 세포질 사이의 물질이동의 원리가 밝혀진 이후로는 추적물질들이 사용되어 신경로를 밝혀내는 방법이 개발되었다<sup>3</sup>. 이러한 물질이 바로 신경추적자(neurotracer)이며, 현재까지 이전의 신경추적물질들의 단점을 보완해오면서 많은 신경추적물질들이 사용되어 왔다. 추적자의 종류로서는 cholera toxin (CT)<sup>2,13</sup>, cholera toxin conjugated horseradish peroxidase(CT-HRP)<sup>4,5</sup>, Horseradish peroxidase(HRP)<sup>6-8</sup>, free Wheat germ agglutinin(WGA) 그리고 WGA-HRP 등이 사용되어 왔다.

최근까지 정방향이동(anterograde)과 역방향이동(retrograde)으로 추적이 모두 가능한 HRP 등의 추적물질이 많이 사용되고 있으나 신경추적물질로서 사용되기에는 몇 가지 단점을 지니고 있어 다른 신경추적물질의 개발이 요구되었다. 신경추적물질은 신경연접을 잘 통과해야 하는데 HRP의 경우 연접을 통과하면서 그 수가 감소하기 때문에 여러 단계의 신경연접을 지나 올바른 상위신경을 찾기 위해서는 신경추적물질을 말로장기부위에 2번 이상 주입해야 하는 불편함과 부정확설이 있었다<sup>3</sup>. 이에 반하여 pseudorabies virus(PRV)를 신경추적자로 이용할 시에는 바이러스가 신경연접을 건널 수 있고 신경세포내에서 증식됨<sup>3</sup>으로 상위신경에도 하위신경과 동등

한 정도의 결과를 보여 최근까지 신경추적자로서 많은 연구가 진행되고 있는 상태이다. 그러나 이 바이러스를 이용한 타 연구자들의 최근 연구결과가 PRV의 strain에 따라 다를 뿐 아니라 다른 신경추적자와도 다른 결과를 나타내기도 하여 더 많은 비교연구를 필요로 하였다. 또한 감각신경을 통한 정방향이동보다는 운동신경을 통한 역방향이동이 더 우수하여 현재는 운동신경에 대한 역방향 신경추적연구에 많이 사용하고 있다<sup>36</sup>. 그러므로 각각의 상위신경 세포막단백질 구조에 적합한 strain을 찾거나 만들어야 할 필요성도 있다.

PRV에 감염된 돼지는 개의 광견병 증상과 비슷하다 하여 이름이 붙여졌으며 1913년 헝가리의 오제스키(Aujeszký)가 개, 고양이에서 최초로 발생을 보고하여 Aujeszký 병이라고도 명명하였다<sup>10</sup>. 그후 소, 돼지, 양 등의 가축과 토끼, 멧돼지, 마우스, 랫트, 조류 및 야생동물에서도 발생되는 숙주성이 매우 넓은 급성 전염병을 일으키는 바이러스임이 밝혀졌으며 PRV는 alpha herpes 바이러스의 한 종류로서 일종의 large enveloped DNA 바이러스이며, 병독성을 지닌 Becker 계통(PRV-Be)과 envelope에 몇몇 당단백질이 빠진 병독성이 없는 Bartha 계통 등 크게 두 종류로 나누어졌다<sup>2-4,9-20</sup>. 1990년 Card *et al*<sup>16</sup>에 의해서 PRV-Ba의 신경친화성이 밝혀진 이후 신체의 여러 부위에 분포되어 있는 말초신경을 지배하는 중추신경계에 대하여 많은 연구논문이 발표되었다<sup>2,18</sup>.

본 연구는 신경추적자로 밝혀진 PRV 중에서도 국내에서 분리된 PRV-Ba를 토끼의 안구에 접종시킨 후 안구와 관련된 감각신경 및 운동신경의 중추신경계 지배부위를 밝혀내어 추적자로서의 효용에 관해서 알아보고자 본 연구를 실시하였다.

## 재료 및 방법

**실험동물 및 재료** : 실험동물로는 체중 1~2kg 되는 domestic rabbit(*Oryctolagus cuniculus*)을 사용하여 환경사육적용치에 부합한 환경조절장치에서 명암주기를 12:12 시간으로 하고 사료는 자유급식케 하였다. 안구내에 바이러스를 주입한 실험동물은 바이러스 주입후 24, 48, 72, 96, 120, 144시간군으로 나누어 감각신경과 운동신경에 대한 중추신경계를 조사하기 위해 각 시간군마다 5마리씩 6군에서 총 30마리를 이용하였다. 본 실험에 사용한 바이러스인 PRV-Ba 계통은 한국의 남양주에서 분리

된 바이러스이며, 평균농도는  $1 \times 10^9$  TCID<sub>50</sub>/ml로써 중앙가측미생물연구소로부터 분양받아 사용하였다. 바이러스는 -70℃ 냉동고에 보관하였다가 주입직전에 녹여서 사용하였다.

**바이러스 주입 및 조직처리 :** 토끼의 안구에 바이러스를 접종시에는 마취하지 않고 보정틀을 이용해 보정하였다. 감각신경을 통한 정방향이동과 모양체근의 운동신경을 통한 역방향이동을 관찰하기 위해서는 26 게이지 주사바늘이 달린 해밀턴(hamilton) 주사기로 각막윤부(limbus)를 통하여 PRV-Ba 10-20 $\mu$ l를 좌측의 초자체강(vitreous body)내에 역류하지 않도록 천천히 접종하였다. 바이러스 주입후에는 생리식염수로 결막낭내를 약 5-10회 세척한 다음 terramycin 안연고를 점안하여 다른 세균의 감염을 방지하였다. 조직은 PRV를 안구내에 주입한 24, 48, 72, 96, 120, 144시간 후에 Ketamine(10mg/kg)과 Xylazine(1mg/kg)을 이정맥에 주입하여 마취한 다음 흉강을 열고 좌심실내로 PBS(Phosphate buffer saline, pH 7.4)를 심장으로 관류하여 혈액을 제거하였으며, 확실한 고정을 하기 위하여 하행대동맥을 결찰한 뒤 4% paraformaldehyde로 뇌를 관류고정하였다. 관류고정후에는 동일한 고정액으로 12-24시간 후고정하였으며, 적출한 고정된 뇌를 동결절편시 빙결을 방지하기 위해 10%, 20% sucrose에 각각 24시간 담근 후, 30% sucrose에 뇌가 가라앉을 때까지 담가 두었다.

**면역염색 :** 면역염색을 위한 모든 과정은 부유법(floating methods)으로 실시하였다<sup>35</sup>. 우선 불필요한 peroxidase 반응을 없애기 위해 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액에 15분간 반응시킨 다음 primary antibody인 swine anti-PRV를 1% normal goat serum, 1% bovine serum albumin(Sigma) 및 Triton-X을 첨가한 0.1M PBS에 각각 1:200으로 희석하여 24-48시간 동안 반응시켰다. 그후 PBS로 5분씩 3회 수세한 다음 곧이어 1:200으로 희석된 secondary antibody인 goat biotinylated anti-swine IgG(Vector, BA 9020)을 12-24시간동안 처리하였고, 1차 때와 똑같은 PBS로 수세작업을 실시하였다. 이어서 1:200으로 희석된 avidin-peroxidase complex 용액에 1시간 30분간 반응시켰다. 발색을 위하여 3, 3'-diamino-benzidide-4HCl(DAB, Sigma)을 PBS에 용해하여 (40mg/100ml) 2번 여과한 후 과산화수소수가 0.0045% 되도록 첨가시켜 발색하고, 탈수과정을 거쳐 canada balsam으로 mounting을 실시한 후 광학현미경으로 검정하였다.

## 결 과

한국에서 분리된 PRV-Ba를 토끼의 안구에 주입하여 이와 관련된 감각신경 및 운동신경의 중추신경내 지배부위를 알아보고자 본 실험을 수행하였으며 그 결과 아래와 같은 결과를 얻을 수 있었다.

토끼는 가장 긴 생존군인 144시간까지 어떠한 임상증상 혹은 신경증상도 관찰되지 않았다. 면역염색은 DAB를 이용하여 PRV 양성반응은 갈색으로 나타났으며 이를 광학현미경으로 관찰한 결과, 양성반응의 신경섬유와 신경핵은 거의 대부분이 주입한 좌측과 반대측인 우측에서 관찰되었다(Fig 1). Fig 1에서 나타나듯이 동안신경핵에서 관찰된 핵들은 고배율로 관찰시 크기와 모양이 다양하게 관찰되었으며(Fig 2), PRV-Ba의 양성반응신경원은 고배율로 확인시 핵이 좀더 강하게 염색되는 것이 관찰되었으며 대부분 많은 수로 관찰되는 신경원들보다 단독으로 존재하는 신경원들이 강하게 염색되었음이 관찰되었다(Fig 3).

PRV-Ba를 주입한 후 24, 48, 72, 96, 120, 144시간군중 면역반응은 운동신경에서는 48시간 이후부터 감각신경과 관련된 부위에서는 96시간 이후부터 관찰되었다. 면역반응은 시간이 지날수록 신경돌기가 아직 발달하지 않은 미성숙한 신경원들의 증가가 관찰되었다. 각 시간에 따른 부위는 감각신경을 지배하는 부위에서보다는 운동신경과 관련된 부위에서 더 많이 관찰되었다. 운동지배신경의 경우는 안구의 성모체근을 지배하는 제3뇌신경인 동안신경(oculomotor nerve)핵의 운동섬유들이 있는 중뇌수도관 또는 Sylvian 수도관의 아래 중심회백질(central gray matter) 배쪽부분에 있는 위치한 에딩거웨스트팔핵(Edinger-Westphal nucleus)의 위치에서 양성반응신경원이 관찰되었다(Fig 7-9). 48시간군에서부터 PRV-Ba 면역반응세포가 관찰되었으나 양성반응세포수가 많지 않았다. 72시간 이후에는 거의 대부분의 중뇌의 중뇌수도관 주변의 회색질에서 신경핵이 관찰되었으며 신경세포의 돌기는 모두 중뇌수도관과 소뇌의 다리(peduncle of cerebellum)쪽으로 신경돌기들을 뻗고 있었다. 소뇌의 아래에 위치하는 교뇌의 동안신경핵은 보통 5-6개의 숫자로 관찰되었으며 신경돌기들이 관찰되었다(Fig 4-6). Fig에는 확실히 나타나지 않았지만 시간이 지날수록 양성반응신경세포의 수는 증가하였으며, 주입 144시간군

에서는 양성반응신경원 주위에 신경원의 돌기가 관찰되지 않는 세포가 많이 관찰되었다(Fig 7-9).

감각신경과 관련된 부위는 시각로핵(Nucleus of optic tract)과 위둔덕(superior colliculus), 부시각로의 내측종말핵(Medial terminal nucleus of accessory optic tract)의 신경핵에서 관찰되었으나 시신경교차부위를 포함한 간뇌부위에서는 면역반응이 관찰되지 않았다. PRV에 친화성 있는 부위는 주입후 96시간후부터 관찰되었으며, 시간이 지날수록 이러한 부위에서도 면역반응신경원이 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 시신경교차부위의 신경섬유에서는 면역반응이 나타나지 않았으며 마찬가지로 시각교차위핵(suprachiasmatic nucleus)에서 관찰되지 않았다. 또한 셋째 뇌실주변에서는 Fig로 나타나지 못했지만 시간이 지날수록 양성반응이 증가하는 경향을 나타내었다. 부시각로의 신경핵에서는 내측종말핵과 불확정구역(zona incerta)에서 신경원들이 줄을 서있는 양상으로 관찰되었으며(Fig 10, 11) 중뇌에 존재하는 위둔덕 부위에서는 중간층에 주입후 96시간에 처음으로 한 개의 신경원이 관찰되었으며 그 이후 군에서도 몇 개의 신경원만이 관찰되었다(Fig 12).

## 고 찰

여러 종류의 신경추적자들에 대한 정방향이동과 역방향이동을 추적검증하기 위해서 안구는 좋은 실험대상으로 사용되어 왔다<sup>1-20</sup>. 안구는 중추신경계와 직접 연결되어 있어 시신경을 통한 감각신경과 안구를 움직이는 여러 근육들을 통하여 신경추적자의 양방향추적에 대해서 연구할 수 있었다. 최근까지도 많은 신경추적물질 등이 발견해오고 있으나 이동성에 있어 몇몇 단점들이 발견되어 이를 보완하기 위해 바이러스를 이용하는 연구가 이루어졌다. PRV-Ba는 초기연구에서는 감각신경을 통한 정방향이동과 운동신경을 통한 역방향이동에 대해 모두 연구가 이루어졌으나 최근에 와서는 근육을 통한 역방향이동이 훨씬 우세한 것으로 밝혀져 이에 대한 연구가 더 많이 이루어지고 있다<sup>20</sup>. PRV-Ba의 envelope에 몇몇 단백질의 결손은 침입성과 복제과정 및 병독성의 감소에 영향을 미치며 특히 PRV-Ba에 비하여 신경친화성과 독성에 중요한 역할을 하는 gI의 결손이 있어 안구에 PRV-Ba와 여러 변이체를 주입하면 바이러스가 망막신경절세포의 수용체와 결합하여 세포내함입

(endocytosis)을 통하여 세포내로 들어간 후 핵내에서 DNA가 증식되었으며, 그 strain에 따라 망막과 시상하부와의 사이 신경로에 대해서는 서로 다른 친화성을 나타내었다<sup>2</sup>. 이러한 사실은 여러 변이체의 PRV와 바이러스 표면중의 당단백질인 gI이 결손된 PRV를 쥐의 초자체강 내에 주입하여 비교하여 봄으로써 신경추적된 중추신경계내의 부위차이가 있음이 증명된 바 있으며<sup>14,15</sup>, 1995년 Sams JM *et al*<sup>5</sup>은 PRV-Ba와 그 변이체의 추적연구에서 특이성과 감염성이 최상의 결과를 나타낼 수 있는 이들 바이러스의 농도를 밝혀냈다.

PRV는 다른 신경추적물질에 비해 바이러스의 특징인 증식 및 복제가 가능하여 한번의 주입만으로도 상위신경에 도달할 수 있다고 알려져 있으며, 특히 역방향이동에 있어 여러 연결을 통과할 수 있는 우수성이 보고되었다<sup>1,2,7,9,15</sup>. 또한 1993년 Card *et al*<sup>15</sup>에 의하여 PRV-Ba 계통을 실험동물의 말초장기에 주입했을 때 신경연접 사이에 주위의 다른 세포에 감염없이 상위지배신경으로만 선택적으로 이동할 수 있는 이유는 신경연접 이외의 다른 세포로의 이동을 그 주위의 아교세포 및 대식세포가 관여하여 제한하기 때문임이 밝혀졌으며 이러한 이유때문에 이들을 신경추적자로서 손쉽게 이용할 수 있었다.

안구를 지배하는 신경경로를 연구하기 위해서 최근까지 많은 추적물질들이 사용되어 왔으며 그 예로서는 1985년 Gonzalo *et al*가 흰토끼와 얼룩토끼 안구의 초자체에 HRP를 투여한 후의 면역염색결과가 다르게 나타날 수 있음을 보고하였으며(Rev Esp Fisiol, 41: 161-70, abstract), 1987년 Miller *et al*는 흰쥐와 토끼에서 4종류의 신경추적물질 즉, rhodamine B isothiocyanate, rhodamine labelled latex microspheres, HRP와 CT-HRP를 각각 이용하여 망막과 시상하부 사이의 연결관계를 규명하였다(Exp Brain Res, 67: 2, 339-51). 1992년에는 Mikkelsen JD가 흰쥐, 마우스, 저빌, 햄스터의 안구에 CT를 주입하여 면역염색한 결과, 안구의 운동신경에 친화성을 가지기는 하나 변성과 특이성 등의 단점을 보고(Brain Res Bull, abstract)하여 CT를 대체할 수 있는 추적물질에 대한 연구의 필요성을 주장하였다. 1995년에는 유지명 등<sup>1</sup>이 흰쥐의 초자체부위에 CT-HRP와 PRV-Ba를 주입하여 비교 실험한 결과 기존의 신경추적자인 HRP가 시각지배신경로에 전반적인 양성반응을 나타내 반면, PRV-Ba는 시각지배신경로에 선택적으로 면역반응이 나타나 HRP와 PRV-Ba를 똑같은 방법으로 안구의 초자체부위에 주입

하였을 경우, 신경추적자로서의 PRV-Ba가 HRP와는 다른 양상을 나타냄을 보고하였다. 1996년에는 일본의 tak-abashi *et al*<sup>10</sup>가 BALB/c 마우스의 연구에 PRV-Ba를 주입하여 해당되는 뇌의 양성반응세포와 Substance P, CGRP, NPY 등에 양성반응을 보이는 세포들의 분포를 비교함과 동시에 지배부위와의 관계를 보고하여 신경추적자로서 이용가능함을 제시해주었다.

본 연구에서 토끼의 안구에 PRV-Ba를 주입한 후 24시간에서 144시간에 이르기까지 시간별로 안구와 관련된 뇌부위에서의 세포를 관찰한 결과 바이러스 주입후 48시간에 모양체근을 지배하는 중뇌의 에딩거웨스트팔핵에서 약한 면역반응이 관찰되기 시작하여 72~96시간에는 PRV가 증식하여 더 뚜렷하게 관찰되었다. 시신경과 관련된 뇌부위에서는 중뇌의 위둔덕부위에서 약한 면역반응이 96시간째에서 처음으로 관찰되어 1996년 유지명 등<sup>1</sup>이 보고한 결과와 실험동물의 차이(흰쥐와 토끼)를 감안하더라도 운동신경을 통한 역방향이동에서는 동일한 반응을 보였으나 감각신경을 통한 정방향이동에 대해서는 보통 48시간후에 나타나는 바이러스의 제2증폭기는 관찰되지 않아 다른 양상을 나타내었다. 운동신경 지배핵에서의 PRV-Ba 양성반응세포들은 주입후 48시간부터 중뇌수도관 하부의 제3뇌신경인 동안신경핵에서 관찰되기 시작하여 시간이 경과함에 따라 그 수가 증가하였고, 유지명 등<sup>1</sup>의 연구에서 감각신경이 바이러스를 주입한 안구의 반대측에 양성반응을 보였던 것과 같이 본 연구에서도 동일한 결과를 나타내었으며, 운동신경원 역시 반대측의 뇌부위에서 더욱더 강한 양성반응을 나타내었다. 이전까지는 PRV-Ba의 경우 다른 추적물질과 지배부위에서 면역반응이 약간 다르게 나타나고 있던 했어도 정방향이동과 역방향이동을 모두 하는 것으로 밝혀져 있다<sup>1,2,10,12,14,19</sup>. 그러나 최근의 연구<sup>20</sup>와 본 실험에 사용한 바이러스는 국내분리주 PRV-Ba이면서도 감각신경을 통한 정방향이동이 운동신경을 통한 역방향이동에 비해서는 약한 것으로 나타났으며 감각신경을 통한 정방향이동중에 위둔덕의 중간층에 나타난 본 연구에서의 신경원은 Card *et al*<sup>14</sup>이 설명한 바에 의한 것처럼 감각신경을 통해 이동하였다기 보다는 안와내 감염을 통해 운동신경을 타고 올라갔을 것으로 사료된다.

또한 PRV-Ba는 약독화백신이긴 하지만 안구 주입후

뇌염증상으로 실험동물이 생존하지 못했던 기존 논문에서의 것과는 달리 한국분리산 PRV-Ba는 신경증상이 나타나지 않아 생존기간이 길게 필요한 연구에 적합한 것으로 사료되었다. 본 연구에서 사용한 국내분리주 PRV-Ba는 역방향이동에서는 강한 면역반응이 관찰되어 근육의 상위신경을 나타내는 연구에 효과적이지만 감각신경을 통한 정방향이동성에 대해서는 선택적인 부위만을 나타내었으므로 한국분리산 PRV-Ba를 신경추적자로 사용하기 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것이다.

## 결 론

PRV는 herpes 바이러스의 일종으로 바이러스의 특징인 증식특성이 있어 신경의 지배부위를 알아보는 신경추적자로서 최근까지 많은 연구가 진행되고 있다. 이러한 PRV중 한국산 PRV-Ba를 신경추적물질로서의 가능성에 대해 알아보려 본 연구에서는 건강한 토끼의 초자체내에 PRV-Ba를 주입한 후 24, 48, 72, 96, 120, 144시간에 토끼를 관류고정하고 뇌를 적출하여 냉동절편기로 절단한 후에 면역염색을 시행하였던 바 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 한국분리산 PRV-Ba는 운동신경에 대한 친화성은 상당히 강했지만 감각신경에 대한 친화성은 운동신경에 비해 낮았다.
2. 토끼에서는 다른 신경증상을 나타내지 않았다.
3. PRV-Ba의 정방향이동과 역방향이동을 관찰할 수 있었으며 특히 역방향이동은 모양체근을 통해 많은 부위 즉, 에딩거웨스트팔핵과 동안신경지배핵 등에서 관찰되었지만 감각신경을 통해서는 위둔덕 등 일부 지배부위에서만 발견되었다.
4. 이상의 결과로 보아 한국분리산 PRV-Ba는 감각신경에는 친화성이 낮았지만 운동신경에 대해서는 친화성이 높아 근육과 관련된 지배경로에 대해서 관찰하고자 할 때에는 효과적으로 쓰일 수 있을 것이다. 이러한 한국분리산 PRV-Ba를 이용해서 정방향과 역방향이동을 모두 관찰하고자 할 때에는 본 바이러스에 관한 세심하고 많은 연구가 더 필요할 것이며 이때에는 다른 신경추적물질과의 면역염색부위도 비교되어야 할 것이다.

## Legend for figures

- Fig 1. PRV-Ba immunoreactive neurons (PRV-Ba-ir) in mesencephalic oculomotor neurons at 96hrs,  $\times 40$ .  
PRV-Ba-ir observed in the only contra region.
- Fig 2. PRV-Ba-ir in mesencephalic oculomotor neurons at 96hrs,  $\times 100$ .
- Fig 3. PRV-Ba-ir in mesencephalic oculomotor neurons at 96hrs,  $\times 100$ . A greater intensity of immunocytochemistry staining was observed in the region of the cell nucleus compared with cytoplasm of the neuron.
- Fig 4-6. PRV-Ba-ir in mesencephalic oculomotor neurons at 120hrs,  $\times 100$ . A variety morphologic neurons observed in the region.
- Fig 7. PRV-Ba-ir in Edinger-Westphal nucleus at 48 hours,  $\times 100$ .
- Fig 8. PRV-Ba-ir in Edinger-Westphal nucleus at 120 hours,  $\times 100$ .
- Fig 9. PRV-Ba-ir in Edinger-Westphal nucleus at 144 hours,  $\times 100$ .  
PRV-Ba observed like-replication form.
- Fig 10. PRV-Ba-ir in pretectal nucleus at 120hrs,  $\times 40$ .
- Fig 11. PRV-Ba-ir in medial terminal nucleus 120hrs,  $\times 40$ .
- Fig 12. PRV-Ba-ir in intermediate in superior colliculus at 96hrs  $\times 100$ .



## 참 고 문 헌

1. 유지명, 김한규, 이봉희. 흰쥐 시로추적연구에 있어 신경추적자로서의 CT-HRP와 Pseudorabies 바이러스의 비교. 대한안과학회지, 36(1):172-183, 1995.
2. 조경제, 김명옥, 강형채 외 5인. 신경계 추적자인 Pseudorabies 바이러스에 관한 전자현미경적 연구. 대한해부학회지, 26:469-476, 1993.
3. Moore RY. Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Res*, 49:403-409, 1973.
4. Johnson RF, Lawrence PM, Moore RY. Retinohypothalamic projections in the hamster and rat demonstrated using cholera toxin. *Brain Res*, 462:301-312, 1988.
5. Levine JD, Zhao XS, Miselis RR. Direct and indirect retinohypothalamic projections to the supraoptic nucleus on the female albino rat. *J Comp Neurol*, 341:214-244, 1994.
6. Levine JD, Weiss ML, Rosenwasser AM. Retinohypothalamic tract in the female albino rat: A study using horseradish peroxidase conjugated to cholera toxin. *J Comp Neurol*, 306:344-360, 1991.
7. 이봉희, 조경제, 최완성 외 5인.  $\beta$ -galactocidase의 유전자를 주입한 Pseudorabies 바이러스 변종의 신경추적자로서의 활용에 대한 연구. 대한해부학회지, 28(5):487-494, 1995.
8. Sams JM, Jansen AS, Mettenleiter TC, et al. Pseudorabies virus mutants as transneuronal markers. *Brain Res*, 687:182-190, 1995.
9. 조경제, 노승만, 김명옥 외 5인. Pseudorabies 바이러스를 신경추적자로 한 중추신경계에서의 흰쥐 십이지장 지배신경축의 재구성. 대한해부학회지, 28(5):521-531, 1995.
10. Takahashi H, Kai C, Yoshikawa Y. Immunohistochemical analysis of pseudorabies virus spread through neurons innervating the eyeball. *Comp Immuno Micro Infect Dis Abstract*, 18(4):275-281, 1995.
11. Margolis TP, Lavail JH, Setzer PY. Selective spread of herpes simplex virus in the central nervous system after ocular inoculation. *J Virol*, 63(11):4756-4761, 1989.
12. Card JP, Moore RY. Organization of lateral geniculate-hypothalamic connections in the rat. *J Comp Neuro*, 284:135-147, 1989.
13. Kucera P, Dolivo M, Coulon P. Pathways of the early propagation of virulent and avirulent rabies strains from the eye to the brain. *J Virol*, 55:158-162, 1985.
14. Card JP, Whealy ME, Robbins AK. Pseudorabies virus envelope glycoprotein gI influences both neurotropism and virulence during infection of the rat visual system. *J Virol*, 60(5):3032-3041, 1992.
15. Card JP, Rinaman L, Lynn RB. Pseudorabies virus infection of the rat central nervous system: Ultrastructural characterization of viral replication, transport, and pathogenesis. *J Neurosci*, 13(6):2515-2539, 1993.
16. Mikkelsen JD. Visualization of efferent retinal projections by immunohistochemical identification of cholera toxin subunit B. *Brain Res Bull*, 28(4):619-623, 1992.
17. Kritas SK, Nauwynck HJ, Pensaert MB. Dissemination of wild-type & gc-, gE- & gI-deleted mutants of Aujeszky's disease virus in the maxillary nerve & trigeminal ganglion of pigs after intranasal inoculation. *J Gen Vir*, 76:1063-1066, 1995.
18. Rotto-Perceley DM, Wheeler JG, Osorio FA. Transneuronal labeling of spinal interneurons and sympathetic preganglionic neurons after pseudorabies virus injection in the rat medial gastrocnemius muscle. *Brain Res*, 574:291-306, 1991.
19. Card JP, Rinamann L, Schwaber JS, Miselis RR, Whealy ME, Robins AK, Enquist LW: Neurotropic properties of pseudorabies virus: Uptake and transneuronal passage in the rat central nervous system. *J Neurosci*, 10:1976-1994, 1990.
20. Card JP, Levit P, Enquist LW. Different patterns of neuronal infection after intracerebral injection of two strains of Pseudorabies virus. *J Virol*, 72:4434-4441, 1998.