

## 한국재래산양 시각교차위핵 내 몇 가지 칼슘결합단백질과 신경전달물질의 분포에 관한 면역조직화학적 연구

송승훈 · 이흥식 · 이인세

서울대학교 수의과대학 및 농생명공학부  
(2001년 5월 20일 게재승인)

### Immunohistochemical study on some calcium binding proteins and neurotransmitters in suprachiasmatic nucleus of the Korean native goat

Seung-hoon Song, Heungshik S. Lee, In-Se Lee

College of Veterinary Medicine and School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University,  
Suwon 441-744, Korea

(Accepted by May 20, 2001)

**Abstracts :** This study was carry out to identify the distribution of calcium binding proteins; calbindin(CB), calretinin(CR) and parvalbumin(PA) in the suprachiasmatic nucleus(SCN) of the Korean native goat by immunohistochemical methods. The expression of substance P(SP), calcitonin gene-related peptide(CGRP), neuropeptide Y(NPY), vasoactive intestinal polypeptide(VIP) and galanin(GAL) were also investigated. CR-immunoreactivity was found in both of the cell bodies and fibers in the SCN, which the CB-immunoreactivity was observed only in the fibers. The immunoreactivity for VIP was observed in both the cell bodies and fibers, but SP-, NPY-, GAL-immunoreactivities were only found in the fibers. CGRP-immunoreactivity was not seen in cell body and fibers. These results suggest that VIP, SP, NPY and GAL play a neuromodulatory or/ and neurotransmitter roles in cooperation with CB and CR in SCN of the Korean native goat.

**Key words :** suprachiasmatic nucleus, calcium binding protein, neurotransmitter, immunohistochemistry, Korean native goat

## 서 론

시각교차위핵(suprachiasmatic nucleus)은 망막, 변연계, 시상하부, 솔기핵, 망막바깥시각로(extraretinal visual system) 등에서 수입신경섬유를 받는 신경핵으로<sup>1,2</sup> 시상앞구역(preoptic area), 뇌실옆핵(paraventricular nucleus), 깔때기핵(infundibular nucleus), 궁상핵(arcuate nucleus) 등 여러 부위와 연결하여 빛감각에 대한 정보 전달에 관여한다.<sup>3,4,5</sup>

즉, 망막에서 받아들인 빛에 대한 감각정보는 망막시상하부로, 시각교차위핵, 시상, 시상하부, 척수를 거쳐 앞쪽목신경절(cranial cervical ganglion) 등으로 전달되어

송과샘(pineal body)의 멜라토닌(melatonin) 분비를 자극하여 일주기리듬(circadian rhythm)에 영향을 주며 번식과 관련된 호르몬의 분비에 영향을 미친다.<sup>5,6,7</sup>

따라서 시각교차위핵이 손상을 입는 경우 동물의 행동, 내분비기능 및 생리적 일주기리듬 등의 기능이 손실될 뿐 아니라<sup>8,9</sup>, 시각교차위핵을 구성하는 신경세포들의 단백질 합성이나 전기적 활성 및 글루코스(glucose)의 함량 변화도 야기되어 일주기 리듬이 변화를 나타낸다.<sup>5,10,11,12</sup> 이와 같은 기능에 따라 일부 학자는 시각교차위핵은 내인성 일주기리듬 향도잡이(endogenous circadian pacemaker)로써 기능을 한다고 주장하기도 한다.<sup>6,8,12</sup>

한편 시각교차위핵에는 여러 가지의 신경전달물질이

분포하는데 동물 종에 따라 이들 신경전달물질의 분포가 차이를 나타내고 있다 즉, 설치류에서는 세로토닌과 neuropeptide Y(NPY)에 강한 면역반응을 보이는 신경섬유가 시각교차위핵의 배쪽외측에서 관찰되지만 면양에서는 NPY에 약한 면역반응을 보이는 신경섬유가 일부 관찰될 뿐이다<sup>5,13,14,15,16</sup>.

최근에는 여러 동물 종의 시각교차위핵에 몇 가지 칼슘결합단백질(calcium binding proteins)이 분포하는 것도 관찰되고 되었는데 이들은 일주기리듬을 조절하는데 영향을 미치는 것으로 알려져 있다<sup>17,18,19,20,21,22</sup>.

지금까지 한국재래산양의 시각교차위핵의 형태학적 특성과 세포구조학적 연구는 보고된 바 있으나<sup>23</sup>, 이들에 분포하는 신경전달물질과 칼슘결합단백질의 분포에 관한 연구는 보고된 바 없다.

따라서 이 연구는 한국재래산양 시각교차위핵에 분포하는 칼슘결합단백질과 신경전달물질의 분포를 확인하여 시각교차위핵과 관련한 각종 연구에 대한 기초자료를 제공하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

체중 15 kg 내외의 한국재래산양(*Capra hircus*) 수컷 4 마리를 비번식 계절인 6월에서 8월 사이에 사용하였다. 각 실험동물은 24시간 절식시킨 후 xylazine hydrochloride (Bayer, Korea)를 체중 kg 당 0.3 mg 씩 근육주사하여 전신마취시킨 후 왼쪽 목부위의 피부를 절개하고 왼쪽 총목동맥을 분리노출시켜 캐눌라(cannula)를 삽입하여 방혈시켰다. 방혈시킨 후 계속 1,000 ml 당 heparin 1,000 IU를 함유한 생리식염수로 관류세척하였다. 관류세척이 끝난 동물은 즉시 0.1M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)에 녹인 4% paraformaldehyde 용액으로 관류고정하였다.

관류고정이 끝난 동물은 환추축추관절부위에서 머리를 분리한 후 해부용 톱을 이용하여 정중시상절개로 두개골을 절개한 후 뼈 절단 가위를 이용하여 두개강을 열고 경질막을 제거하여 뇌를 노출시켰다. 이후 뇌를 신속히 적출한 후 시각교차를 중심으로 시각교차위핵을 포함한 뇌조직을 절제한 후 동일 고정액에 8시간 후고정하였다.

고정이 끝난 뇌조직은 30% sucrose (in 0.1M PBS)에 옮겨 조직이 바닥에 완전히 가라앉은 것을 확인한 후 -70°C에서 OCT compound (Reichert-Jung, Germany)로 포매하였다. 그 후 동결박절기(Cryostat, Reichert-Jung, Germany)를 이용하여 20 µm의 두께로 연속절편을 만들어 gelatin을 입힌 slide에 부착한 후 -70°C에 보관하여

일반 및 면역조직화학염색에 이용하였다.

### 일반조직학적 관찰

Slide에 부착된 연속절편 중 200 µm 단위 간격으로 하나의 조직절편을 선택하여 상온에서 2시간 동안 말린 후 통상적인 방법에 따라 1% cresyl violet 염색을 실시하고 탈수와 투명화 과정을 거친 후 Canada balsam (Kanto, Japan)으로 봉입하였다. 그 후 Axioplan 현미경 (Carl Zeiss, Germany)으로 관찰하였다.

### 면역조직화학적 연구

일반조직학적 관찰에서와 같이 200 µm 단위마다 하나의 조직 절편을 택하여 상온에서 2시간 동안 건조시킨 후 0.1% Triton X-100이 함유된 0.01M phosphate buffer(PBT, pH 7.4)에 10분간 담근 후 다시 증류수로 10분간 세척하였다. 세척이 끝난 조직은 조직 내의 내인성 peroxidase를 제거하기 위해 0.3% 과산화수소수가 함유된 methanol 용액에서 30분간 반응시켰다. 이후 증류수와 PBT로 10분씩 세척한 후 비특이적 반응을 방지하기 위하여 10% normal goat serum(Dako, USA)에서 30분간 반응시킨 후 streptavidin-biotin peroxidase 법을 이용한 면역조직화학염색을 실시하였다<sup>24,25</sup>. 면역조직화학염색에 이용된 모든 항체는 2% normal goat serum 및 0.1% Triton X-100이 함유된 0.1M PBS(pH 7.4)에 희석하여 사용하였다.

이 때 사용된 1차 항체로는 rabbit anti-substance P(SP), rabbit anti-calcitonin gene-related peptide(CGRP), rabbit anti-NPY, rabbit anti-vasoactive intestinal polypeptide(VIP), rabbit anti-galanin(GAL), rabbit anti-calbindin(CB), rabbit anti-calretinin(CR), rabbit anti-parvalbumin(PA)을 사용하였으며 각 항체의 희석배수는 Table 1과 같다.

조직절편은 1차 항체로 4°C에서 24시간 반응시킨 후 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG(Sigma, USA)를 1:200으로 희석하여 상온에서 2시간동안 반응시켰다. 이어서 1:200으로 희석한 streptavidin biotin complex

**Table 1.** The list of primary antibodies

Antibody	Host	Titer	Company
Calbindin	Rabbit	1 : 10,000	Sigma, USA
Calretinin	Rabbit	1 : 5,000	Sigma, USA
Parvalbumin	Rabbit	1 : 5,000	Sigma, USA
Substance P	Rabbit	1 : 10,000	Peninsula, USA
CGRP	Rabbit	1 : 10,000	Peninsula, USA
Neuropeptide Y	Rabbit	1 : 10,000	Peninsula, USA
VIP	Rabbit	1 : 10,000	Peninsula, USA
Galanin	Rabbit	1 : 20,000	Peninsula, USA

(Vector, USA)에 상온에서 1시간동안 반응시켰다. 이상 각 단계의 반응 후에는 0.01M PBT로 10분간 3차례 세척하였다.

항원항체반응이 끝난 조직은 0.003% 과산화수소수와 0.05% DAB (Sigma, USA)가 함유된 Tris buffer(pH 7.4) 용액으로 1~5분간 발색한 다음 통상적인 탈수과정을 거쳐 Canada Balsam(Kanto, Japan)으로 봉입하였다. 봉입을 마친 조직은 Axioplan 현미경(Carl Zeiss, Germany)으로 관찰하고 필요에 따라 사진촬영을 하였다.

### 결 과

Cresyl violet 염색 결과 한국재래산양 시각교차위핵을 구성하는 신경세포는 평균  $9.6 \pm 1.45 \mu\text{m}$  크기의 원형 또는 타원형 세포로 관찰되었다. 한편 시각교차위핵을 구성하는 신경세포와 신경섬유에서 CB, CR 및 PA의 칼슘결합단백질들과 SP, CGRP, NPY, VIP 및 GAL 등의 신경전달물질들에 대한 분포상태를 면역조직화학적 방법으로 관찰한 결과는 다음과 같았다 (Table 2).

CB에 대한 면역반응은 시각교차위핵을 구성하는 신경세포체에서는 관찰되지 않았으나, 신경섬유에서는 중등도의 면역반응이 관찰되었다(Fig. 1). CR에 대한 면역반응은 일부 신경세포체에서 관찰되었으나 면역반응 정도는 미약하였으며 신경섬유에서의 면역반응은 아주 미약하였다(Fig. 2). 그러나 PA에 대한 면역반응은 시각교차위핵을 구성하는 신경세포체와 신경섬유 모두에서 전혀 관찰할 수 없었다.

한편 시각교차위핵에서의 VIP 면역반응은 미약하나 다수의 신경세포체에서 관찰되었고 신경섬유에서는 아주 강한 면역반응을 관찰할 수 있었다(Fig. 5). 그러나 SP, NPY 및 GAL에 대한 면역반응은 시각교차위핵을 구성하는 신경세포체에서는 전혀 관찰할 수 없었고 신경섬유에서만 관찰할 수 있었다. 그 반응 정도는 NPY는 아주 강한 면역반응을 보인 반면 SP와 GAL의 면역반응은 미약하였다(Fig. 3, 4, 6). 한편 CGRP에 대한 면역반응은 신경세포나 신경섬유 모두에서 관찰할 수 없었다.

### 고 찰

CB, CR 및 PA는 칼슘이온( $\text{Ca}^{++}$ )에 높은 친화성을 지니며 세포질에서 높은 농도로 분포하여 효소와 이온채널의 활성을 조절하는 방아쇠역할(triggering role)을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 신경전달에 중요한 세포질 내 칼슘농도를 조절하는 완충역할(buffering role)을 하며, 신경세포의 보호와 퇴행성변화 조절 등에 중요한 조절자(modulator)로서의 기능을 하는 것으로 보고된 바 있다<sup>26,27,28</sup>.

한국재래산양의 시각교차위핵에서는 CB에 면역반응을 보인 신경세포체는 관찰되지 않았으나 신경섬유에서는 CB에 대한 면역반응을 관찰할 수 있었다. 이는 랫드<sup>17</sup>, 사람<sup>18</sup>, 햄스터<sup>19</sup>, 원숭이<sup>20,21</sup>의 시각교차위핵을 구성하는 신경세포체와 신경섬유 모두에서 CB 면역반응이 관찰된다는 보고와 상이한 결과였다. 한편 CR은 원숭이 시각교차위핵의 신경세포체와 신경섬유 모두에서 관찰된다고 보고된 바 있는데<sup>21</sup> 한국재래산양 시각교차위핵에서도 신경세포체와 신경섬유가 모두에서 CR 면역반응을 관찰할 수 있었다.

Costa와 Britto<sup>20</sup>는 망막으로부터 역행성 추적을 한 연구 결과 시각교차위핵의 신경세포에 분포하는 CB 면역반응세포가 망막과 연결하는 것을 확인하였으며, LeSauter와 Silver<sup>22</sup>는 햄스터의 시각교차위핵에 분포하는 CB 면역반응세포의 양에 따라 일주기 리듬이 차이를 보이는 것을 관찰하여 보고한 바 있다. 이같은 주장에 비추어 볼 때 한국재래산양 시각교차위핵의 신경섬유와 세포체에서 각각 관찰된 CB와 CR의 면역반응은 CB나 CR이 신경조절물질로서 기능을 할 것이라는 가능성을 시사하는 자료가 될 것으로 사료된다.

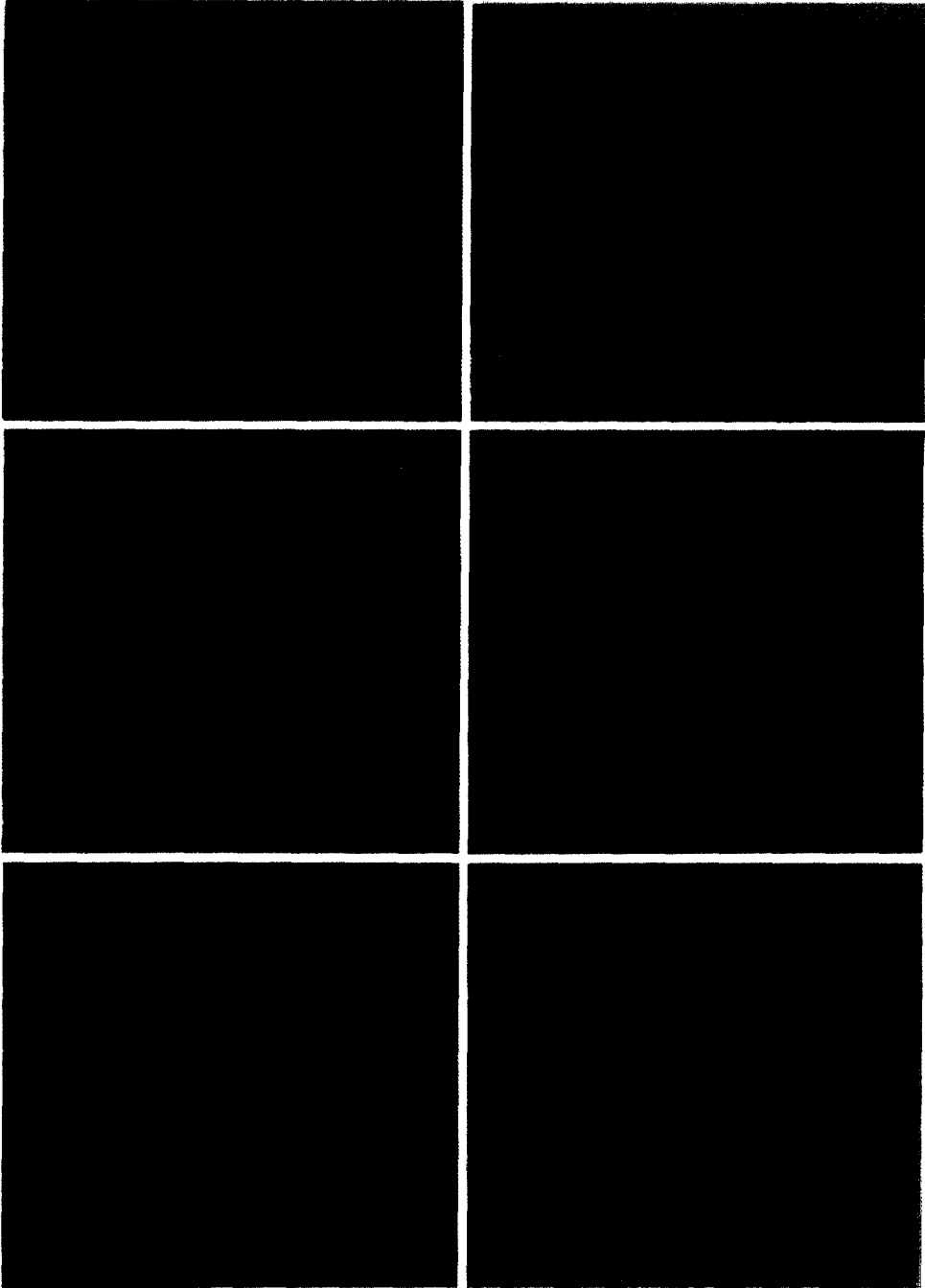
한편 한국재래산양에서 PA는 신경세포체와 신경섬유 모두에서 면역반응을 관찰할 수 없었다. 이는 원숭이를 비롯한 기타 다른 동물의 시각교차위핵에서 PA를 관찰한 보고가 아직까지 없다는 점에서 PA가 CB와 CR과는 달리 시각교차위핵에서 아무런 기능을 수행하지 않는 것으로 사료된다<sup>21</sup>.

랫트<sup>15,29</sup>, 원숭이<sup>30</sup>, 햄스터<sup>31</sup>의 시각교차위핵에서는 SP에 대한 면역반응이 신경세포체와 신경섬유 모두에서

**Table 2.** Immunoreactivities for some calcium binding proteins and neurotransmitters in the suprachiasmatic nucleus of the Korean native goat

	CB	CR	PA	SP	CGRP	NPY	VIP	GAL
cell body	-	+	-	-	-	-	+	-
fibers	++	±	-	+	-	+++	+++	+

strong: + + +, moderate: + +, weak: +, very weak: ±, negative: -

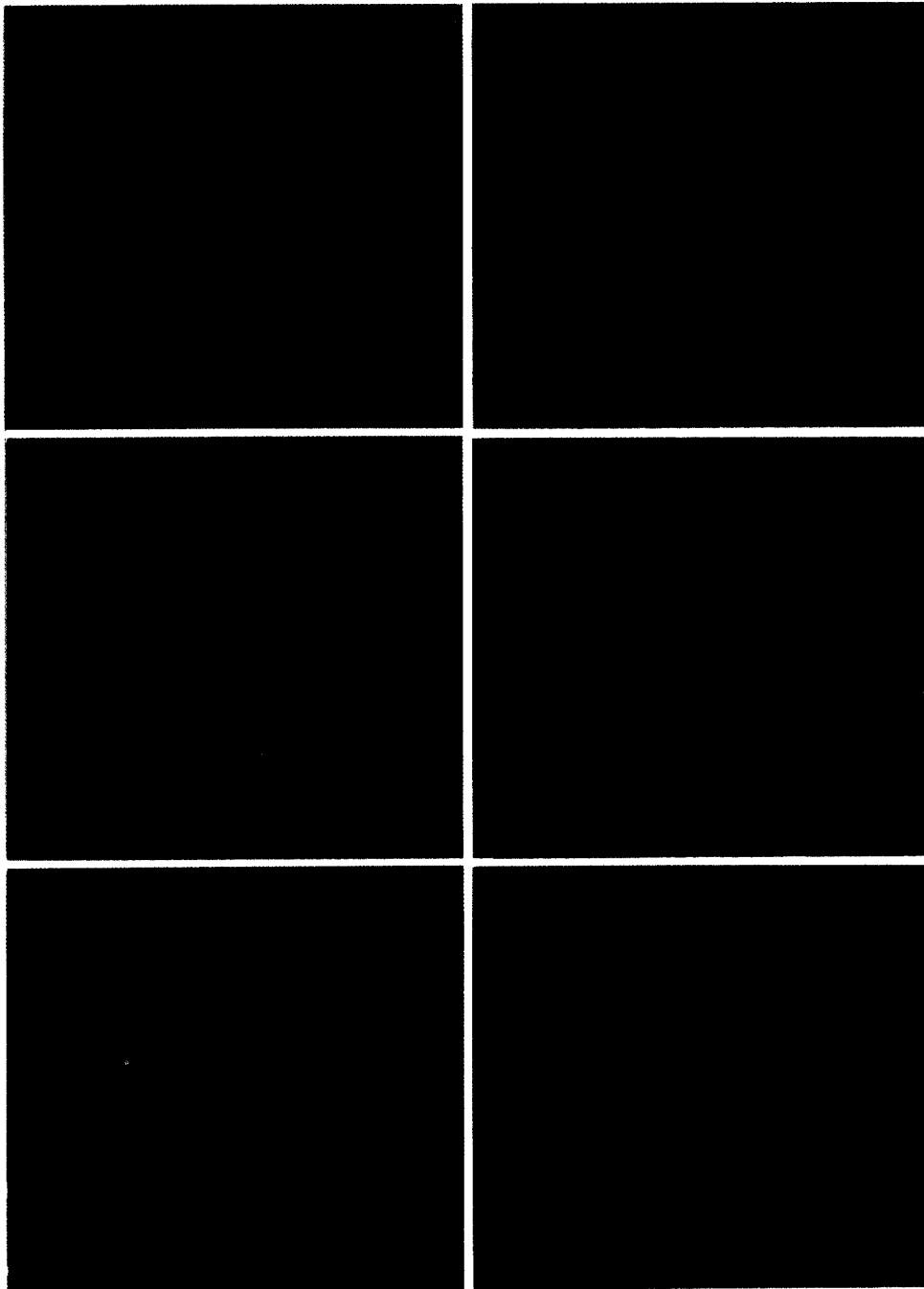


**Fig 1-6.** Immunoreactivities for some calcium binding proteins and neurotransmitters in the suprachiasmatic nucleus(SCN) of the Korean native goat. The asteric marks in the regions of figures a(left plates) are magnified in figures b(right plates). OC: Optic chiasm, V: Third ventricle, a:  $\times 50$ , b:  $\times 400$ .

**Fig 1.** Calbindin immunoreactive fibers of the SCN.

**Fig 2.** Calretinin immunoreactivity in cell bodies and fibers of the SCN.

**Fig 3.** Substance P immunoreactive fibers in the SCN.



**Fig 4.** Neuropeptide Y immunoreactive fibers showing very dense network in the SCN.

**Fig 5.** Vasoactive intestinal polypeptide immunoreactivity showing dense network in fibers and cell bodies in the SCN.

**Fig 6.** Galanin immunoreactive fibers of the SCN.

관찰된다고 보고되고 있는 반면 사람<sup>18</sup>의 경우 SP 면역 반응을 보이는 신경세포체는 관찰되지 않고 일부 신경 섬유만이 SP에 면역반응을 보였다는 보고가 있다. 그러

나 면양<sup>16</sup>과 마우스<sup>32</sup>에서는 신경세포체와 신경섬유 모두가 SP에 면역반응을 보이지 않는다는 보고도 있어 동물종에 따라 SP 분포에 많은 차이가 있음을 시사하고

있다. 한국재래산양의 경우 시각교차위핵에서 SP에 면역반응을 보인 신경세포체는 관찰되지 않았으나 신경섬유는 일부에서 반응이 관찰되어 사람에서의 보고와 유사한 결과를 보였다.

Takatsuji 등<sup>29</sup>은 랫드에서 안구적출술(eye enucleation)을 실시한 후 시각교차위핵 내의 SP 면역반응신경섬유가 현저히 줄어들었다는 사실에 근거하여 이들 신경섬유들은 주로 망막에서 기원한다고 주장하고 있다. 한편 Reuss와 Bürger<sup>31</sup>는 햄스터에서 시각교차위핵의 SP 면역반응신경세포의 분포 변화를 관찰한 결과 빛에 오래 노출시킨 군이 짧게 노출시킨 군보다 많이 관찰되었다고 하였다.

이와 같은 사실에 비추어 볼 때 시각교차위핵에서 SP의 분포가 동물 종에 따라 차이를 보이는 것은 일주기리듬에 따라 SP의 분포가 달리 나타날 수도 있으며, 또한 동물의 생리적 특성에 따라서도 차이를 보일 수 있을 것으로 사료된다.

Park 등<sup>33</sup>은 마우스의 시각교차위핵에서 CGRP에 면역반응을 보인 신경세포체와 신경섬유가 관찰된 것으로 보아 CGRP가 마우스의 일주기 리듬을 조절하는데 일조를 할 것으로 주장하였다. 그러나 Tillet 등<sup>34</sup>은 면양의 시각교차위핵에서 CGRP에 대한 면역반응성은 신경세포체나 신경섬유 모두에서 관찰되지 않았다고 보고하였다. 한국재래산양의 시각교차위핵에서는 CGRP에 대한 면역반응을 보인 신경세포체와 신경섬유를 모두 확인할 수 없었는데 이는 면양에서와 같은 결과로 CGRP가 마우스와는 달리 면양에서는 시각교차위핵의 기능을 조절하는데 이용되지는 않는 것으로 사료된다.

시각교차위핵의 NPY 면역반응에 대하여 땅다람쥐에서는 신경세포체와 신경섬유 모두에서 관찰된다고 보고된 바 있으나<sup>35</sup>, 사람에서는 신경세포체에서만<sup>18</sup>, 면양에서는 신경섬유에서만 약한 NPY 면역반응을 보인다고 보고되었다<sup>36</sup>. 그러나 한국재래산양 시각교차위핵에서는 NPY에 면역반응을 보인 신경세포체는 관찰되지 않았으나, 신경섬유에서는 NPY에 강한 면역반응을 보인 것을 관찰할 수 있었다. 시각교차위핵에서 NPY에 면역반응을 보인 신경섬유는 망막에서 유래한 것이라기 보다는 외측무릎체(lateral geniculate body)의 신경세포에서 유래한 것이라고 주장되고 있다<sup>13,37</sup>. 이는 망막을 통해 들어온 빛 정보가 직접 망막시상하부로를 통하여 시각교차위핵으로 전달되는 것이 아니라, 외측무릎체를 거쳐 시각교차위핵으로 들어간다는 것을 시사해 주는 것이다. 그러나 면양에서 신경섬유에서의 NPY 면역반응이 약하게 관찰된 것에 대하여는 NPY가 신경섬유에서 소멸된 후 관찰된 결과이거나 또는 면양은 설치류와 달리 NPY의 주된 경로인 외측무릎체에서 시각교차위핵으로 오는

신경로의 발달이 미약할 수도 있다는 두 가지 가능성이 제시되고 있다<sup>16</sup>.

한편 빛의 양이 증가할 때 시각교차위핵에서 NPY가 증가하는 것으로 보아 NPY가 시각교차위핵에서 일주기리듬의 기능에 관여할 것이라는 주장이 보고되고 있다<sup>12,38</sup>.

VIP는 시각교차위핵의 신경세포에 분포하는 주요한 신경전달물질 가운데 하나이다<sup>4</sup>. 한국재래산양 시각교차위핵에서는 VIP에 면역반응을 보인 신경세포체가 다수 관찰되었으며 신경섬유에서도 VIP에 강한 면역반응이 관찰되었다. 이는 VIP 면역반응이 시각교차위핵의 신경세포체와 신경섬유에서 관찰되었다는 랫드<sup>4,15</sup>, 땅다람쥐<sup>35</sup> 및 면양<sup>16,39,40</sup> 등의 보고와 동일한 결과였다.

설치류에서 VIP를 함유하는 망막신경절세포는 빛의 정보를 망막시상하부로를 통해 시각교차위핵으로 전달하고, 시각교차위핵의 VIP 면역반응 신경세포들은 들어온 빛 정보를 조절하며, 따라서 일조량에 따라 VIP의 분포에는 차이를 보인다고 보고되고 있다<sup>41,42</sup>.

한국재래산양의 시각교차위핵에서는 GAL에 면역반응을 보인 신경세포체는 관찰되지 않았으나 신경섬유는 소수 관찰되었다. 이는 사람과 영장류<sup>43,44</sup> 및 랫드<sup>45</sup>에서 GAL에 면역반응을 보인 신경세포체가 관찰되었다는 보고와는 다른 결과이다. Mitchell 등<sup>46</sup>은 랫드에서 GAL에 대한 mRNA의 분포를 확인하고 이들이 바소프레신(vasopressin)과 공존하며 시각교차위핵에서 일주기리듬을 포함한 신체의 자율적인 조절에 관여한다고 주장하고 있다.

한편 한국재래산양 시각교차위핵에서 일반조직염색을 통한 신경세포의 크기는 Van den pol<sup>9</sup>을 비롯한 여러 연구자들이 보고한 결과와 비슷하였다<sup>13,23,40</sup>.

이상의 여러 보고들을 본 연구결과와 종합해 보면 한국재래산양 시각교차위핵에서 면역반응이 관찰된 칼슘 결합단백질 중 CB를 함유하는 신경섬유와 CR을 함유하는 신경세포체와 신경섬유들은 일주기리듬 등의 시각교차위핵의 기능을 조절하는데 이용될 것으로 생각되나 PA는 이 신경핵에서 아무런 기능도 하지 않을 것으로 생각된다.

나아가서 한국재래산양 시각교차위핵에서 일부의 신경전달물질만이 신경세포체와 신경섬유에서 제한적으로 관찰된 것은 이들 물질이 모두 신경전달물질 또는 신경조절물질로 기능을 하는 것이 아니라 면역반응이 관찰된 SP, NPY, VIP 및 GAL 등 일부 물질만이 CB 나 CR의 도우에 의해 신경전달물질 또는 신경조절물질로써 작용할 것으로 생각된다. 아울러 신경전달물질과 칼슘 결합단백질은 동물 종의 생리적 특성에 따라 분포와 기능의 차이를 나타낼 것으로도 추정된다.

그러나 이들을 확인하기 위해서는 신경추적자법에 의한 일조시기와 일조량과의 관계를 밝히는 연구 등이 추가로 수행되는 것이 바람직할 것으로 생각된다.

## 결 론

한국재래산양 시각교차위핵에 분포하는 CB, CR 및 PA 등의 칼슘결합단백질과 SP, CGRP, NPY, VIP 및 GAL 등의 신경전달물질을 확인하기 위하여 cresyl violet 염색과 면역조직화염색을 수행한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

한국재래산양 시각교차위핵에서 CR과 VIP는 신경세포체와 신경섬유 모두에서 면역반응이 관찰되었으나 CB, SP, NPY, 및 GAL은 신경섬유에서만 면역반응이 관찰되었다. 그러나 PA와 CGRP는 신경세포체와 신경섬유 모두에서 면역반응을 관찰할 수 없었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 한국재래산양 시각교차위핵에서 관찰된 VIP, SP, NPY, GAL 등은 CB 나 CR의 도움을 받아 신경전달물질이나 또는 신경조절물질로서의 기능을 할 것으로 사료된다. 또한 이들 물질의 분포 상태와 면역반응성이 다른 동물과 다소 다르게 관찰된 것으로 보아 한국재래산양 시각교차위핵은 형태학적으로나 기능적으로 다른 동물 종과는 차이를 보일 것으로 사료된다.

## 참고문헌

- Pickard GE. The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. *J Comp Neurol*, 211:65-83, 1982.
- Moga MM, Moore RY. Organization of neural inputs to the suprachiasmatic nucleus in the rat. *J Comp Neurol*, 389:508-534, 1997.
- Sofroniew MV, Weindl A. Projections from the parvocellular vasopressin- and neurophysin-containing neurons of the suprachiasmatic nucleus. *Am J Anat*, 153:391-430, 1978.
- Watts AG, Swanson LW. Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: II. Studies using retrograde transport of fluorescent dyes and simultaneous peptide immunohistochemistry in the rat. *J Comp Neurol*, 258:230-252, 1987.
- Klein DC, Moore RY, Reppert SM. *Suprachiasmatic nucleus, The mind's clock*. Oxford University Press, New York, 1991.
- Rusak B, Zucker I. Neural regulation of circadian rhythms. *J Am Physiol*, 59(3):449-526, 1979.
- 이홍식, 이인세, 송승훈 등. 한국재래산양 송과체와 앞쪽복신경절과의 관계 규명을 위한 조직화학적 연구. *대한수의학회지*, 40:197-211, 2000.
- Stephan FK, Zucker I. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc Nat Acad Sci USA*, 69(6):1583-1586, 1972.
- Van den pol AN. The hypothalamic suprachiasmatic nucleus of rat: intrinsic anatomy. *J Comp Neurol*, 191:661-702, 1980.
- Schwartz W, Gainer H. Suprachiasmatic nucleus: use of 14C-labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science*, 197:1089-1091, 1977.
- Gillette MU. The suprachiasmatic nuclei: circadian phase-shifts induced at the time of hypothalamic slice preparation are preserved in vitro. *Brain Res*, 379:176-181, 1986.
- Meijer JH, Rietveld WJ. Neurophysiology of the suprachiasmatic circadian pacemaker in rodents. *J Am Physiol*, 69(3):671-707, 1989.
- Card JP and Moore RY. The suprachiasmatic nucleus of the golden hamster: immunohistochemical analysis of cell and fiber distribution. *Neuroscience*, 13(2):415-431, 1984.
- Steinbusch HWM. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat - cell bodies and terminals. *Neuroscience*, 6(4):557-618, 1981.
- Van den pol AN, Tsujimoto KL. Neurotransmitters of the hypothalamic suprachiasmatic nucleus: immunocytochemical analysis of 25 neuronal antigens. *Neuroscience*, 15(4):1049-1085, 1985.
- Tillet Y, Caldani M, Tramu G. Immunohistochemical characterization of the sheep suprachiasmatic nucleus. *J Chem Neuroanat*, 2:215-226, 1989.
- Celio MR. Calbindin D-28k and parvalbumin in the rat nervous system. *Neuroscience*, 35(2):375-475, 1990.
- Mai JK, Kedziora O, Teckhaus L, Sofroniew MV. Evidence for subdivisions in the human suprachiasmatic nucleus. *J Comp Neurol*, 305:508-525, 1991.
- Silver R, Romero MT, Besmer HR, Leak R, Nunez JM, LeSauter J. Calbindin-D28K cells in the hamster SCN express light-induced Fos. *NeuroReport*, 7:1224-1228, 1996.
- Costa MS, Britto LR. Calbindin immunoreactivity delineates the circadian visual centers of the brain of the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Brain Res Bull*, 43(4):369-373, 1997.
- Fortin M, Parent A. Distribution of calretinin, calbindin-D28k and parvalbumin in the hypothalamus of the squirrel monkey. *J Chem Neuroanat*, 14(1):51-61, 1997.
- LeSauter J, Silver R. Localization of a suprachiasmatic nucleus subregion regulating locomotor rhythmicity. *J Neurosci*, 19(13):5574-5585, 1999.
- 송승훈, 이홍식, 이인세 등. 한국재래산양 시각교차위핵에 관한 형태학적 연구. *대한수의학회지*, 40:665-670, 2000.
- Duc C, Walter IB, Droz B. Innervation of putative

- rapidly adapting mechanoreceptors by calbindin- and calretinin-immunoreactive primary sensory neurons in the rat. *Eur J Neurosci*, 6:264-271, 1994.
25. Ichikawa H, Helke CJ. Parvalbumin and calbindin D-28K in vagal and glossopharyngeal sensory neurons of the rat. *Brain Res*, 675:337-341, 1995.
  26. Persechini A, Monerief ND, Kretsinger RH. The EF-hand family of calcium-modulated proteins. *Trends Neurosci*, 12:462-467, 1989.
  27. Baimbridge KG, Celio MR, Rogers JH. Calcium-binding proteins in the nervous system. *Trends Neurosci*, 15:303-308, 1992.
  28. Satriotomo I, Miki T, Itoh M, Xie Q, Ameno K, Takeuchi Y. Effect of short ethanol exposure on the suprachiasmatic nucleus of hypothalamus: immunohistochemical study in mice. *Brain Res*, 847:124-129, 1999.
  29. Takatsuji K, Miguel-Hidalgo JJ, Tohyama M. Substance P-immunoreactive innervation from the retina to the suprachiasmatic nucleus in the rat. *Brain Res*, 568:223-229, 1991.
  30. Mick G, Najimi M, Girard M, Chayvialle JA. Evidence for a substance P containing subpopulation in the primate suprachiasmatic nucleus. *Brain Res*, 573:311-317, 1992.
  31. Reuss S, Bürger K. Substance P-like immunoreactivity in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus of *Phodopus sungorus* - relation to daytime, photoperiod, sex and age. *Brain Res*, 638:189-195, 1994.
  32. Stoeckel ME, Porte A, Klein MJ and Cuello AC. Immunocytochemical localization of substance P in the neurohypophysis and hypothalamus of the mouse compared with the distribution of other neuropeptides. *Cell Tissue Res*, 223(3):533-544, 1982.
  33. Park HT, Baek SY, Kim BS, Kim JB, Kim JJ. Calcitonin gene-related peptide-like immunoreactive (CGRPLI) elements in the circadian system of the mouse: an immunohistochemistry combined with retrograde transport study. *Brain Res*, 629:335-341, 1993.
  34. Tillet Y, Thibault J, Krieger M. Aromatic L-amino decarboxylase immunohistochemistry in the suprachiasmatic nucleus of the sheep. Comparison with tyrosine hydroxylase immunohistochemistry. *Brain Res*, 648:319-323, 1994.
  35. Reuss S, Hurlbut EC, Speh JC, Moore RY. Immunohistochemical evidence for the presence of neuropeptides in the hypothalamic suprachiasmatic nucleus of ground squirrels. *Anat Rec*, 225:341-346, 1989.
  36. Tillet Y. Distribution of neurotransmitters in the sheep brain. *J Reprod Fertil Suppl*, 49:199-220, 1995.
  37. Swanson LW, Cowan WM, Jones EG. An autoradiographic study of the efferent connections of the ventral lateral geniculate nucleus in the albino rat and the cat. *J Comp Neurol*, 156:143-164, 1974.
  38. Rusak B, Bina KG. Neurotransmitters in the mammalian circadian system. *Annu Rev Neurosci*, 13:387-401, 1990.
  39. Tessonneaud A, Bonnefond C, Monnerie R, Viguier-Martinez MC. Distribution of arginine-vasopressin and vasoactive intestinal peptide messenger RNA in the suprachiasmatic nucleus of the sheep. *Neurosci Lett*, 191:5-8, 1995.
  40. Tessonneaud A, Cooper HM, Caldani M, Locatelli A, Viguier-Martinez MC. The suprachiasmatic nucleus in the sheep : retinal projections and cytoarchitectural organization. *Cell Tissue Res*, 278:65-84, 1994.
  41. Albers HE, Minamitani N, Stopa E, Ferris CF. Light selectively alters vasoactive intestinal peptide and peptide histidine isoleucine immunoreactivity within the rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res*, 437:189-192, 1987.
  42. Iyata Y, Takahashi Y, Okamura H, Kawakami F, Terubayashi H, Kubo T, Yanaihara N. Vasoactive intestinal peptide (VIP)-like immunoreactive neurons located in the rat suprachiasmatic nucleus receive a direct retinal projection. *Neurosci Lett*, 97:1-5, 1989.
  43. Gai WP, Geffen LB, Blessing WW. Galanin immunoreactive neurons in the human hypothalamus: colocalization with vasopressin-containing neurons. *J Comp Neurol*, 298(3):265-280, 1990.
  44. Kordower JH, Le HK, Mufson EJ. Galanin immunoreactivity in the primate central nervous system. *J Comp Neurol*, 319(4):479-500, 1992.
  45. Skofitsch G, Jacobowitz DM. Immunohistochemical mapping of galanin-like neurons in the rat central nervous system. *Peptides*, 6:509-546, 1985.
  46. Mitchell V, Habert-Ortoli E, Epelbaum J, Aubert JP, Beauvillain JC. Semiquantitative distribution of galanin-receptor (GAL-LI) mRNA-containing cells in the male rat hypothalamus. *Neuroendocrinology*, 66(3):160-172, 1997.