

흰쥐의 삼차신경주감각핵에서 치수유래 일차들신경종말 및 이와 연결하는 연결이전신경종말의 연결소포 형태 비교

김윤숙, 백상규, 곽우경, 조이슬, 김지만, 박매자¹, 배용철*

경북대학교 치의학전문대학원 구강해부학교실, Brain Korea 21

¹경북대학교 의학전문대학원 해부학교실, Brain Korea 21

The Shape of Synaptic Vesicles in the Tooth Pulp Afferent Terminals and P-endings in the Rat Trigeminal Nucleus Principalis

Yun Sook Kim, Sang Kyoo Paik, Woo Kyung Kwak, Yi Sul Cho, Ji Man Kim, Mae Ja Park¹ and Yong Chul Bae*

Department of Oral Anatomy and Neurobiology, School of Dentistry, Brain Korea 21, Kyungpook National University, Daegu 700-412, Korea

¹Department of Anatomy, School of Medicine, Brain Korea 21, Kyungpook National University, Daegu 700-422, Korea

(Received November 28, 2008; Accepted December 19, 2008)

ABSTRACT

In order to investigate shape of synaptic vesicles of the tooth pulp afferent boutons and their presynaptic endings (p-endings), and the neuroactive substance of the p-endings in the trigeminal nucleus principalis, rat incisor tooth pulp afferents were labeled by the horseradish peroxidase (HRP) and quantitative ultrastructural analysis and postembedding immunogold labeling were performed.

Labeled tooth pulp afferent boutons contained clear, spherical synaptic vesicles (diameter: 45~55 nm) and occasionally dense core vesicles(diameter: 80~120 nm). They formed symmetrical synapses with unlabeled axon terminals (p-endings) containing pleomorphic synaptic vesicles. The ratio of short to long diameter (form factor) of synaptic vesicles of pulp afferent boutons was 0.6 to 0.99, whereas that of p-endings was 0.25 to 0.99. In addition, most of the p-endings showed GABA-like immunoreactivity.

These results indicate that the shape of synaptic vesicles is quite different between the tooth pulp afferent boutons and p-endings, and the p-endings may contain GABA as a neuroactive substance in the trigeminal nucleus principalis.

Keywords : Tooth pulp, Primary afferents, Trigeminal, Ultrastructure, Synapse

This work supported by the Korea Research Foundation Grant (YS KIM, KRF-2007-E00229) funded by the Korean Government (MOEHRD).

* Correspondence should be addressed to Dr. Yong Chul Bae, Department of Oral Anatomy and Neurobiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu 700-412, Korea. Ph.: (053) 660-6860, Fax: (053) 426-7731, E-mail: ycbae@knu.ac.kr

서 론

얼굴 및 입안의 감각은 삼차신경감각핵군으로 전달되며, 이 감각핵군은 세포구축학적으로 삼차신경주감각핵 (trigeminal nucleus principalis, Vp)과 삼차신경척수핵 (spinal trigeminal nucleus)으로 구성된다. 삼차신경척수핵은 다시 삼차신경입쪽핵 (trigeminal nucleus oralis, Vo), 삼차신경중간핵 (trigeminal nucleus interpolaris, Vi), 삼차신경꼬리핵 (trigeminal nucleus caudalis, Vc) 등 3부분으로 나누어진다 (Olszewski, 1950). 이 중 삼차신경주감각핵은 촉각이나 압각을 중계하여 시상의 뒤배쪽안쪽핵 (ventral posterior medial nucleus of thalamus)으로 전달하며, 분별 촉각 등 복잡한 감각의 처리에 관여한다 (Yasui et al., 1983). 이러한 기능적 특징은 삼차신경입쪽핵이나 삼차신경꼬리핵에 비하여 삼차신경주감각핵에서 훨씬 높은 빈도로 나타나는 연접이전신경종말 (presynaptic endings: p-endings)이 일차들신경종말을 통해 들어오는 감각의 전달을 미세하게 선택적으로 조절하기 때문인 것으로 생각되어지고 있다 (Bae et al., 2003).

축삭종말은 내부에 다양한 형태의 연접소포 (pleomorphic vesicle)를 가지며, 함유한 신경전달물질의 종류에 따라서 연접소포의 모양이 결정된다. 즉 glutamate 등 흥분성 신경전달물질을 함유한 경우 연접소포의 모양이 둥근 것이 일반적이며, GABA나 glycine 등 억제성 신경전달물질을 함유한 경우는 둥근 모양, 타원형, 납작한 모양 등이 섞여있는 다양한 형태의 연접소포 (pleomorphic synaptic vesicles)를 가지거나 납작한 형태 위주의 연접소포 (flattened synaptic vesicles)를 가진다 (Watson, 1988; Bae et al., 1999).

다른 신경종말과 축삭사이연접 (axoaxonic synapse)을 형성하는 연접이전신경종말 (p-ending)은 다양한 형태의 연접소포를 가지고 있다고 보고되고 있으나, 삼차신경계에 있어서 이에 대해 객관화된 지표를 이용한 연구는 없다. 연접소포의 모양을 객관적으로 나타내기 위하여 form factor라는 지수를 사용한다. 이 지수는 연접소포의 긴지름에 대한 짧은 지름의 비율을 나타낸 것으로 완전한 원에 가까울수록 1에 가까운 값을 가지며, 납작할수록 값이 작아진다. 또한 p-ending이 함유하는 신경전달물질의 종류에는 GABA (Maxwell et al., 1990), acetylcholine (Ribeiro-Da-Silva and Cuello, 1990), enkephalin (Ribeiro-Da-Silva et al., 1991), neuropeptide-Y (Doyle and Maxwell, 1994), glycine (Todd, 1990) 등이 있다고 보고되고 있으나 치수를 지배하는 신경섬유와 연접하는 p-ending에는 어떠한 신경전달물질을 함유하고 있는지에 대해서는 알려진 바가 없다.

본 연구에서는 삼차신경주감각핵에서 치수유래 신경종말에 함유된 연접소포 및 이와 연접하는 p-ending에 함유된 연접소포들을 대상으로 form factor를 측정하여 두 군의 형

태학적인 차이를 관찰하고 또한 이들 p-ending이 신경전달물질로 GABA를 사용하는지 확인하며, 그 미세구조적 특징을 밝히고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 조직처리

본 연구와 관련한 모든 실험동물의 보호 및 처치는 경북대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아서 진행하였다. 실험에서는 체중 약 260 g의 흰쥐 (Sprague-Dawley rats)를 사용하였다. 실험동물을 sodium pentobarbital (40 mg/kg)로 마취한 후 아래턱의 모서리를 따라 피부를 절개한 다음 아래턱 뼈를 노출시켰다. 노출된 아래턱 뼈의 모서리 부위를 치과용 드릴로 구멍을 뚫은 뒤 이어서 아래턱 앞니의 뿌리부분을 확인하고 구멍을 뚫어서 치수를 노출시킨 다음, 해밀턴 시린지 (Hamilton syringe)에 연결한 30 gauge의 치과용 주사바늘을 이용하여 신경추적자인 wheatgerm agglutinin conjugated horseradish peroxidase (WGA-HRP, 1% in saline, List co.) 0.3 μ L를 치수내에 약 30분간 주입하였다.

36시간 정도 실험동물을 생존시킨 후 헤파린을 함유한 생리식염수 100 mL를 실온에서 15초 동안 관류한 후 500 mL의 2.5% glutaraldehyde, 0.5% paraformaldehyde와 0.1% picric acid를 함유하는 고정액 (in 0.1 M phosphate buffer; PB, pH 7.4)으로 45분간 관류고정 하였으며, 뇌줄기를 제거한 다음 4°C의 동일 고정액에 3시간 정도 후고정을 행하였다.

뇌줄기를 진동절편기 (vibratome)를 이용하여 60 μ m 두께의 횡단 연속절편으로 만들었으며, tungstate/tetramethylbenzidine (TMB) protocol에 의해 HRP를 가시화 한 다음 diaminobenzidine (0.25 mg/mL in 0.1 M PB, pH 6.0)으로 절편을 안정화하였다. 그 후 광학현미경하에서 삼차신경주감각핵에서 HRP 반응산물이 풍부하게 존재하는 절편을 골라 0.5% osmium tetroxide 용액에서 1시간 정도 후고정을 시행하였다. 그 후 계열 에탄올을 거쳐 절편을 두 장의 Aclar plastic (Ted Pella co., Redding, CA) 사이에 넣어 Durcupan으로 포매하여 58°C에서 48시간 동안 경화하였다. 포식된 축삭이 함유되어 있는 절편부위를 선택적으로 취하여 수지 (resin) 막대에 접착제로 붙인 다음 연속 초박절편을 형성하였다.

2. 초박절편에서의 금입자 면역염색

(postembedding immunocytochemistry)

일부 절편을 골라내어 GABA에 대한 포매후 면역금입자법을 Broman & Ottensen (1992)의 방법을 약간 변형하여 시

행하였다. 이를 간단히 기술하면, 먼저 수지(resin)를 녹여내기 위하여 그리드(grid)를 1% periodic acid에 10분간 반응시켰다. 또한 OsO_4 를 제거하기 위하여 9% sodium periodate에 15분간 반응시켰다. 절편은 각 반응 사이에 증류수로 씻고 TBST (tris-buffered saline containing 0.1% triton X-100, pH 7.4) 용액 방울 위에 10분간 두었다. 2% human serum albumin (HSA in TBST, pH 7.4)에 10분간 반응시킨 뒤 연속절편이 없어서 있는 그리드를 항 GABA (Code, GABA 990) 혈청에 2시간 동안 실온에서 반응시켰다. 이 항혈청은 Storm-Mathisen (1983) 등의 방법에 의하여 만들어졌으며 항원의 처리에 glutaraldehyde만 사용하지 않고 glutaraldehyde와 formaldehyde를 혼합하여 사용하였다. 항 GABA 혈청은 1:800으로 TBST (containing 2% HSA, pH 7.4)에 희석하여 사용하였다. 교차반응을 방지하기 위하여 희석된 항 GABA 혈청을 아미노산과 glutaraldehyde의 결합물인 glutamate-G (500 μM)와 24시간 전에 반응시켰다 (Ottersen, 1987). TBST로 철저히 씻은 후 그리드를 15 nm 금입자가 결합된 goat anti-rabbit IgG (BioCell Co., Cardiff, UK)를 TBST (containing 0.05% polyethylene glycol, pH 7.4)에 1:25로 희석한 용액에 3시간 동안 반응시켰다. 그 후 증류수로 깨끗이 씻은 다음 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하였다. 일차 항혈청을 빠뜨리거나 비면역혈청 (normal rabbit serum)으로 대체한 경우, 또는 희석한 항 GABA 혈청을 GABA-G (200 μM)와 미리 반응시킨 경우에는 면역반응이 나타나지 않음을 확인하였다. 면역반응의 특이성은 또한 Ottersen (1987)의 방법에 따라 “sandwiches”로 불리는 test section을 이용하여 확인하였다. Sandwiches는 흰쥐 뇌의 거대분자와 glutaraldehyde 및 GABA, glutamate, taurine, glycine, aspartate, glutamine 등 각 아미노산과의 결합복합체이다. 또한 면역반응은 같은 신경종말이 인접절편에서 동일한 면역반응성을 보여서 일정하게 반응한다는 것으로 알 수 있었다.

3. 전자현미경 관찰 및 형태학적 분석

투과전자현미경 (Hitachi H-600)으로 결정형태의 HRP의 반응 산물이 함유되어 있는 표식된 축삭 종말을 모든 연속절편에서 촬영한 후 인화하여 (촬영배율: 15,000 \times , 인화배율: 25,000 \times) 표식종말과 연결세포의 모양 그리고 연결양식 등을 관찰하였다. 삼차신경주감각핵에서 관찰되는 신경종말 중에서 신경종말의 형태가 비교적 명확히 관찰되는 치수유래 일차신경종말을 선택하고 이에 연결하는 p-ending 중에서 23개를 임의로 선택하여 이들 신경종말에 함유된 연결세포의 형태를 분석하였으며, 이를 위해서는 컴퓨터에 연결한 디지털화장치 (digitizer) 및 화상분석프로그램 (NIH image 1.60, NIH, Bethesda, MD)을 이용하였다.

결 과

본 연구에서는 삼차신경주감각핵에서의 치수유래 표식종말을 대상으로 분석을 수행하였다. 광학현미경을 이용하여 관찰한 결과, WGA-HRP에 대한 TMB 반응산물은 길쭉한 막대모양 혹은 결정 (crystal) 형태로 나타나 쉽게 표식된 축삭 및 종말을 구분할 수 있었다 (Figs. 1, 2). WGA-HRP에 의해 표식된 치수유래 신경종말은 둘째 목뼈 부위의 뒤뿔안쪽, 꼬리핵의 뒤뿔, 중간핵, 입쪽핵 및 주감각핵의 등쪽안쪽 (dorsomedial) 부위에서 주로 밀집되어 분포하였다. 반면, 가지돌기 및 연결특색에서는 거의 관찰되지 않아서 신경연접을 통하여 다음 신경세포에 표식되는 경우 (trans-synaptic labeling)는 관찰되지 않았다.

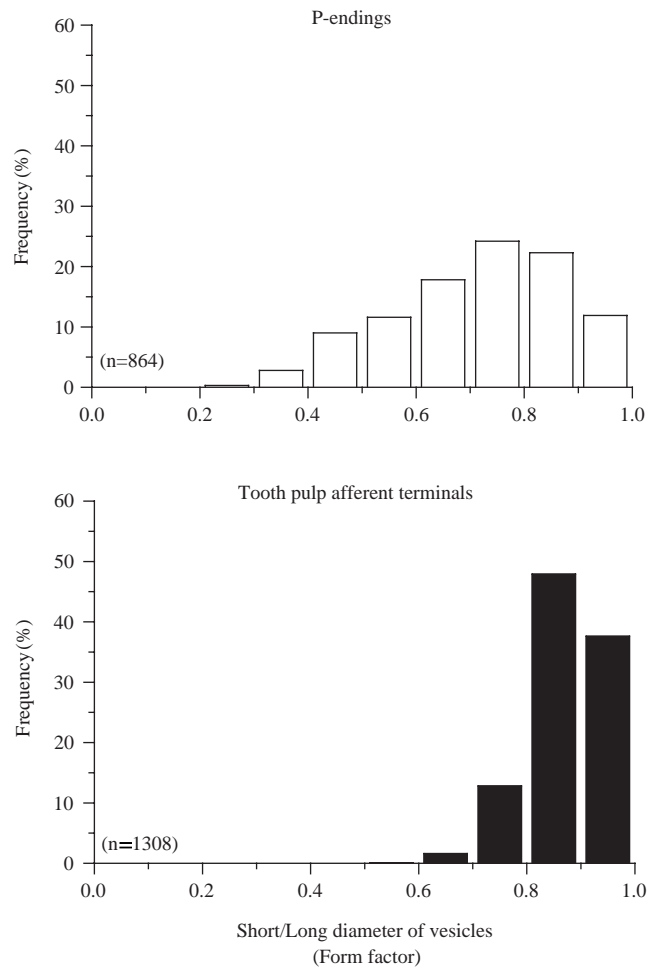


Fig. 3. The distribution of the values of the short/long diameter for vesicles (form factor) in the tooth pulp afferent terminals (0.9 ± 0.1) and their presynaptic endings (p-endings, 0.7 ± 0.2). N indicates the number of vesicles measured. Experimental data were calculated as the mean \pm SD.

표식종말에서는 직경 45~55 nm의 둥근 모양의 소포를 함유하고 있었으며, 일부분에서 직경 90~120 nm의 큰 치밀 소포 (dense-cored vesicles)가 관찰되었다. 표식종말의 모양은 둥근 지붕(dome) 모양이 많이 관찰되었으며, 토리(glomerulus) 형태도 일부분에서 관찰되었다. 표식종말은 대부분이 중간부분 가지돌기 혹은 먼쪽 가지돌기와 연결을 이루었다. 이들 연결은 연결이후치밀질 (postsynaptic density)이 잘 발달되었으며, 연결틈새 (synaptic cleft)가 넓고, 연결하는 부위가 넓은 비대칭연접 (asymmetric synapse) 양상을 보였다. 표식종말은 때때로 타원형, 납작한 모양, 둥근 모양 등 다형성 연결소포를 함유하는 신경종말 (p-endings)과 대칭연접 (symmetric synapse)을 이루었는데 이들 종말내의 연결부위에서 소포들이 밀집되어 있는 것으로 보아 표식종말이 이들로부터 연결신호를 전달받는 것으로 나타났으며, 상호연접 (reciprocal synapse)은 관찰되지 않았다 (Figs. 1, 2).

GABA에 대한 금입자면역반응을 시행한 경우 주로 p-ending에서 금입자가 밀집되어 관찰되었으며, 일차들신경종말이나 기타 부분에서는 낮은 밀도를 보였다 (Fig. 2). 금입자는 연결소포가 밀집되어 있는 부위 및 사립체의 내강에서 밀도가 높게 관찰되었다. 또한 금입자는 혈관의 내강 등 조직이 존재하지 않는 부위에서는 거의 관찰되지 않았다.

일차들신경종말의 1,308개 연결소포들의 형태를 분석한 결과, 긴지름에 대한 짧은 지름의 비율, 즉 form factor가 0.6~0.99의 분포를 보였으며, 대부분의 연결소포에서는 0.8 이상의 form factor (0.9 ± 0.1)를 보였다. 이에 비하여 864개의 연결소포를 분석한 p-ending에서는 연결소포의 form factor (0.7 ± 0.2)가 0.25~0.99까지 다양하게 나타났다 (Fig. 3).

고 찰

1. 치수유래 들신경섬유종말에 함유된 연결소포의 형태

치수유래 표식종말에서는 투명하고 둥근 연결소포가 밀집되어 나타났으며, 때때로 치밀연접소포가 1~2개 함유되어 있었다. 이는 삼차신경주감각핵에서 관찰되는 고양이 코털 유래 신경종말 (Nakagawa et al., 1997), 삼차신경주감각핵 및 입쪽핵에서 서순응형 치아인대 유래 신경종말 (Bae et al., 1994), 삼차신경입쪽핵에서 속순응형 치아인대 유래 신경종말 (Bae et al., 1993), 삼차신경입쪽핵에서 서순응형 입술 유래 신경종말 (Sugimoto et al., 1991), 삼차신경운동핵 및 삼차신경핵에서 치아인대 및 깨물근 근육방추 유래 신경종말 (Bae et al., 1996)들에서 함유되어 있는 연결소포의 형태와 유사한 양상을 보였다. 이런 결과는 동통의 전달에

관여하는 일차들신경섬유 종말내에 함유되어 있는 연결소포의 형태는 기계자극 수용기나 근육방추에서 유래하는 촉각 및 고유수용성감각을 전달하는 A β 신경섬유의 종말내에 함유되어 있는 연결소포의 형태와 유사하거나 동일하다는 것을 의미한다.

관찰된 표식종말에 연결하는 p-ending에 함유된 연결소포는 둥근 모양, 타원형, 납작한 모양 등 다양한 형태를 보였으며, 이런 p-ending은 연결이전 억제와 밀접한 연관성을 가지는 것으로 알려져 있다 (Uchizono, 1965; Bodian, 1966). 본 실험에서는 동통을 전달하는 일차들신경섬유종말 및 이와 연결하는 축삭종말 (p-ending)에 포함된 연결소포의 형태를 form factor라는 지수 즉 긴지름에 대한 짧은 지름의 비율을 표시하여 수치화 및 객관화함으로써 그 형태학적인 차이를 비교하였다. 즉 일차들신경종말의 연결소포는 대부분이 form factor가 0.8 이상의 값을 보여 대다수의 연결소포가 구형을 보인 반면, p-ending의 연결소포는 form factor의 값이 다양한 분포를 보여 연결소포가 둥근 형태, 타원형, 납작한 형태 등이 존재함을 알 수 있었다.

2. GABA 면역양성 p-ending의 의의

본 연구에서 대부분의 p-ending은 GABA에 면역양성 반응을 보였다. 이는 삼차신경꼬리핵 (Almond et al., 1996), 고양이 척수의 laminae VI (Maxwell et al., 1990)에서 축삭사이 연결을 이루는 p-ending이 GABA에 대한 양성반응을 보인다는 연구결과와 일치하였다. 또한, 이는 삼차신경감각핵 및 운동핵에서 기계적 자극 및 고유수용성 감각을 전달하는 일차들신경섬유의 종말과 연결하는 연결이전신경종말에서 GABA에 대한 면역양성 반응을 보인다는 연구결과와 일치하였다 (Sugimoto et al., 1991, 1992; Bae et al., 1993, 1994, 1996, 2005; Paik et al., 2005; Moon et al., 2008).

Primary afferent depolarization (PAD, Eccles et al., 1962) 및 연결이전억제는 가쪽억제 (lateral inhibition) 등을 통하여 특정 감각의 뚜렷한 인식에 관여하는 것으로 생각되어 지는 등 지금까지 그 기전에 대해서 많은 연구가 진행되고 있다. 특히 GABA 길항제인 bicuculline 투여 시 일차들신경섬유와 연결하는 연결이전신경종말에서 GABA_A receptor가 활성화되어 염소이온의 전도도가 증가되고 (Zhang & Jackson, 1993), 나트륨이온 채널이 불활성화 된다 (Graham & Redmann, 1994)는 보고가 있다. 따라서 일차구심성 신경섬유 종말내로 들어오는 활동전위가 억제되거나 감소됨으로써 (Graham & Redman, 1994; Jackson & Zhang, 1995) 칼슘 채널의 활성이 감소되고 (Graham & Redmann, 1994), 종말내로 들어오는 칼슘의 양이 감소됨으로써 일차구심성 신경섬유종말에서 분비되는 신경전달물질의 양이 감소되어 결국 말초감각의 중추 내 전달에 있어서 조절 (modulation)이

일어난다고 알려져 있다. 이러한 전기생리학적 연구를 종합하면, 본 연구에서 연접이전신경종말에 함유되어 있는 GABA는 축삭사이연접의 GABA_A 수용기를 통하여 치수유래 일차들신경섬유의 PAD 및 연접이전억제에 관여할 것이라고 생각된다.

참 고 문 헌

- Almond JR, Westrum LE, Henry MA: Post-embedding immunogold labeling of gamma-aminobutyric acid in lamina II of the spinal trigeminal subnucleus pars oralis. I. A quantitative study. *Synapse* 24 : 39-47, 1996.
- Bae YC, Nagase Y, Yoshida A, Shigenaga Y, Sugimoto T: Synaptic connections of a periodontal primary afferent neuron within the subnucleus oralis of the cat. *Brain Res* 606 : 175-179, 1993.
- Bae YC, Nakagawa S, Yoshida A, Shigenaga Y, Sugimoto T: Morphology and synaptic connections of slowly adapting periodontal afferent terminals in the trigeminal subnuclei principalis and oralis of the cat. *J Comp Neurol* 348 : 121-132, 1994.
- Bae YC, Nakagawa S, Yasuda K, Yabuta NH, Yoshida A, Pil PK, Moritani M, Chen K, Nagase Y, Takemura M, Shigenaga Y: Electron microscopic observation of synaptic connections of jaw-muscle spindle and periodontal afferent terminals in the trigeminal motor and supratrigeminal nuclei in the cat. *J Comp Neurol* 374 : 421-435, 1996.
- Bae YC, Ihn HJ, Park MJ, Otterson OP, Moritani M, Honma S, Shigenaga Y: Distribution pattern of inhibitory and excitatory synapses in the dendritic tree of single masseter alpha-motoneurons in the cat. *J Comp Neurol* 414 : 454-468, 1999.
- Bae YC, Kim JP, Choi BJ, Park KP, Choi MK, Moritani M, Yoshida A, Shigenaga Y: Synaptic organization of tooth pulp afferent terminals in the rat trigeminal sensory nuclei. *J Comp Neurol* 11 : 13-24, 2003.
- Bae YC, Park KS, Bae JY, Paik SK, Ahn DK, Moritani M, Yoshida A, Shigenaga Y: GABA and glycine in synaptic microcircuits associated with physiologically characterized primary afferents of cat trigeminal principal nucleus. *Exp Brain Res* 162 : 449-457, 2005.
- Bodian D: Electron microscopy: two major synaptic types on spinal motoneurons. *Science* 151 : 1093-1094, 1966.
- Broman J, Otterson OP: Cervicothalamic tract terminals are enriched in glutamate-like immunoreactivity: an electron microscopic double-labeling study in the cat. *J Neurosci* 12 : 204-221, 1992.
- Doyle CA, Maxwell DJ: Light- and electron-microscopic analysis of neuropeptide Y-immunoreactive profiles in the cat spinal dorsal horn. *Neuroscience* 61 : 107-121, 1994.
- Eccles JC, Kostyuk PG, Schmidt RF: Central pathways responsible for depolarization of primary afferent fibers. *J Physiol* 161 : 237-257, 1962.
- Graham B, Redman S: Simulation of action potential in synaptic boutons during presynaptic inhibition. *J Neurophysiol* 71 : 538-549, 1994.
- Jackson MB, Zhang SJ: Action potential propagation and propagation block by GABA in rat posterior pituitary nerve terminals. *J Physiol* 483 : 597-611, 1995.
- Maxwell DJ, Christie WM, Short AD, Brown AG: Direct observations of synapses between GABA-immunoreactive boutons and muscle afferent terminals in lamina VI of the cat's spinal cord. *Brain Res* 530 : 215-222, 1990.
- Moon YS, Paik SK, Seo JH, Yi HW, Cho YS, Moritani M, Yoshida A, Ahn DK, Kim YS, Bae YC: GABA- and glycine-like immunoreactivity in axonal endings presynaptic to the vibrissa afferents in the cat trigeminal interpolar nucleus. *Neuroscience* 152 : 138-145, 2008.
- Nakagawa S, Kurata S, Yoshida A, Nagase Y, Moritani M, Takemura M, Bae YC, Shigenaga Y: Ultrastructural observations of synaptic connections of vibrissa afferent terminals in cat principal sensory nucleus and morphometry of related synaptic elements. *J Comp Neurol* 389 : 12-33, 1997.
- Olszewski J: On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. *J Comp Neurol* 92 : 401-413, 1950.
- Otterson OP: Postembedding light- and electron microscopic immunocytochemistry of amino acids: description of a new model system allowing identical conditions for specify testing and tissue processing. *Exp Brain Res* 69 : 167-174, 1987.
- Paik SK, Kwak MK, Ahn DK, Kim YK, Kim DS, Moon C, Moritani M, Yoshida A, Bae YC: Ultrastructure of jaw muscle spindle afferents within the rat trigeminal mesencephalic nucleus. *Neuroreport* 16 : 1561-1564, 2005.
- Ribeiro-Da-Silva A, Cuello AC: Choline acetyltransferase-immunoreactive profiles are presynaptic to primary sensory fibers in the rat superficial dorsal horn. *J Comp Neurol* 295 : 370-384, 1990.
- Ribeiro-Da-Silva A, Pioro EP, Cuello AC: Substance P- and enkephalin-like immunoreactivities are colocalized in certain neurons of the substantia gelatinosa of the rat spinal cord: an ultrastructural double-labeling study. *J Neurosci* 11 : 1068-1080, 1991.
- Sugimoto T, Nagase Y, Nishiguchi T, Kitamura S, Shigenaga Y: Synaptic connections of a low-threshold mechanoreceptive primary neuron within the trigeminal subnucleus oralis. *Brain Res* 548 : 338-342, 1991.
- Sugimoto T, Bae YC, Nagase Y, Shigenaga Y: Central terminal morphology of a primary afferent neuron innervating the feline tooth pulp. In: Inoki R, Shigenaga Y, Tohyama M (eds) *Processing and Inhibition of Nociceptive Information*. Amsterdam: Elsevier Science Publisher BV, International Congress Series 989. pp. 23-28, 1992.
- Todd AJ: An electron microscope study of glycine-like immunoreactivity in laminae I-III of the spinal dorsal horn of the rat. *Neuroscience* 39 : 387-394, 1990.
- Uchizono K: Characteristics of excitatory and inhibitory synapses

- in the central nervous system of the cat. *Nature* 207 : 642-643, 1965.
- Watson AH: Antibodies against GABA and glutamate label neurons with morphologically distinct synaptic vesicles in the locust central nervous system. *Neuroscience* 26 : 33-44, 1988.
- Yasui Y, Itoh K, Mizuno N, Nomura S, Takada M, Konishi A, Kudo M: The posteromedial ventral nucleus of the thalamus (VPM) of the cat: direct ascending projections to the cytoarchitectonic subdivisions. *J Comp Neurol* 220 : 219-228, 1983.
- Zhang SJ, Jackson MB: GABA-activated chloride channels in secretory nerve endings. *Science* 259 : 531-534, 1993.

< 국문초록 >

삼차신경주감각핵에서 치수유래 일차들신경섬유의 종말과 그에 연결하는 연접이전신경종말에 함유된 연접소포들을 형태학적

으로 비교하기 위하여 신경추적자(WGA-HRP)를 흰쥐 앞니의 치수강에 주입하여 치수 유래 일차들신경종말을 표식한 후, 투과형 전자현미경을 통한 미세구조적 정량 분석을 실시하였다.

표식된 치수유래 일차들신경종말은 직경이 45~55 nm인 구형의 소포를 함유하고 있었으며, 일부 직경이 80~120 nm인 큰 치밀소포가 관찰되기도 하였다. 또한 표식된 신경종말은 다형성 연접소포를 함유하고 있는 연접이전신경종말과 대칭연접을 이루고 있었다. 일차들신경종말의 연접소포들은 긴 지름에 대한 짧은 지름의 비율(form factor)이 0.6~0.99의 분포를 보인 반면, 연접이전신경종말의 연접소포들은 0.25~0.99까지 다양하게 나타났다. 또한 대부분의 연접이전신경종말은 GABA에 대한 면역양성반응을 보였다.

이상의 결과는 표식된 신경종말과 그에 연결하는 연접이전신경종말의 연접소포는 서로 다른 형태를 보이고 있으며, 또한 그 연접이전신경종말이 억제성 신경전달물질인 GABA를 함유하고 있음을 나타낸다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Electron micrographs of adjacent thin sections showing a tooth pulp primary afferent bouton and p-endings in the trigeminal nucleus principalis. Primary bouton (asterisk) can be identified by electron-dense TMB reaction product (arrowheads) within boundary of the bouton, and it makes asymmetrical synaptic contacts (arrow) with dendrites (d1, d2) and symmetrical contact (open arrow) with p-ending (P1 in Fig. 1b). The p-endings (P1-P3) are filled with pleomorphic vesicles including oval, flattened, and spherical vesicles, while the primary bouton contains mainly spherical vesicles. Scale bar=500 nm.

Fig. 2. Electron micrographs of adjacent thin sections incubated with antisera against GABA. A tooth pulp afferent primary bouton (asterisk) makes synaptic contacts with p-endings (P1 and P2) and a dendrite (d1) in the trigeminal nucleus principalis. Postembedding immunogold labeling reveals that the two p-endings show immunopositivity for GABA. The p-endings and primary afferent bouton contain pleomorphic and spherical vesicles, respectively. Arrowhead indicates the TMB reaction product. Scale bar=500 nm.

