ISSN (Print) 1225-9918
ISSN (Online) 2287-3406
Journal of Life Science **2013** Vol. 23. No. 12. 1541~1552 DOI : http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2013.23.12.1541

Lectin Histochemistry and Morphological Changes in von Ebner's Glands in Rats after Glossopharyngeal or Hypoglossal Axotomy

Yong-Suk Moon*

Department of Anatomy, College of Medicine, Catholic University of Daegu, Daegu 705-718, Korea

Received November 12, 2013 / Revised November 22, 2013 / Accepted November 26, 2013

The purpose of this study was to investigate the structure and secretory function of the von Ebner's gland in parasympathetic or sympathetic nerve innervation. Sprague Dawley rats were sacrificed 3, 7, 10, 14, and 21 days after bilateral glossopharyngeal or hypoglossal nerve axotomy, respectively. The circumvallate papilla portion of the tongue was dissected and we observed morphological changes in the von Ebner's gland. The properties of glycoconjugate in the von Ebner's gland were investigated using nine biotinylated lectins (PSA, UEA I, GSL I B_4, ECL, DBA, SBA, HPA, SJA, or sWGA). Compared with the control group, cytoplasmic vacuoles appeared in the serous acini of the von Ebner's gland in the 3-day group, and the serous acini were significantly vacuolized and degenerated in the 10-day group after glossopharyngeal nerve axotomy. However, the structure of the von Ebner's gland did not change after hypoglossal nerve axotomy. In the control group, the von Ebner's glands secreted glycoconjugates containing α-D-galactose, N-acetyl-D-galactosamine, and N-acetyl-D-glucosamine oligomer, and the amount of the secretion decreased significantly in the 10-day group after glossopharyngeal nerve axotomy. However, the amount of the glycoconjugate secretion did not change after hypoglossal nerve axotomy. Therefore, the results of this study suggest that the glossopharyngeal nerve containing parasympathetic nerve fibers is important for maintaining the structure of and secretory function in the von Ebner's gland in rats.

Key words : Axotomy, glossopharyngeal nerve, hypoglossal nerve, lectin, von Ebner's gland

서 론

포유동물 혀에 위치하는 작은침샘들 중 미각샘(von Ebner's gland)은 대롱꽈리 형태의 순수한 장액샘(serous gland)이다. 미각샘은 성곽유두(circumvallate papilla) 아래의 혀 자체근육다발 사이에 위치하며 그 도관은 유두고랑(papillary furrow)의 바닥으로 열린다. 미각샘에서 분비되는 장액은 유두고랑으로 부터 미각자극 물질을 씻어내어 미각감지를 위한 미세환경을 조절하고, 화학수용기의 기능을 유지시키며, 성곽유두 맛봉오리(taste bud)의 미각감각세포(taste receptor cell)를 위한 중요한 성장인자의 근원을 제공한다[20, 37]. 이러한 미각샘의 생리적 기능은 교감신경(sympathetic nerve)과 부교감신경(parasympathetic nerve)이 함께 작용하여 조절되어진다[19]. 부교감신경은 역행성추적자를 이용한 연구를 통하여 아래침분비핵(inferior salivatory nucleus)에서 기원되어 혀인두신경(glossopharyngeal nerve)을 따라 혀로 들어와 혀 속의 신경절을 거쳐 미각샘으로 들어가는 신경지배경로가 보고되었다[7, 9]. 반면, 미각샘에 대한 교감신경의 신경지배경로는 근래에 와서 일부 보고되었는데, 교감신경의 신경절이후신경원은 위목신경절(superior cervical ganglion)에서 기원되어 혀밑신경(hypoglossal nerve)을 통하여 이동하고[16, 38], 혀밑신경속의 교감신경섬유는 혀의 혈관보다는 주로 침샘에 분포하며[34], 혀밑신경의 안쪽가지(medial branch) 만을 공유하여 턱끝혀근과 혀의 자체근육속으로 들어간다고 하였다[45, 46]. 이상의 보고들을 종합하면, 혀의 미각샘은 혀인두신경을 통한 부교감신경과 혀밑신경을 통한 교감신경의 신경지배에 의해 유지되는 것은 분명하지만 각각의 신경 연결이 미각샘의 구조와 기능에 어떤 역할을 하는지는 불분명하다. 한편 미각샘이 분비하는 장액 속에는 amylase, lingual lipase 및 Ebnerin과 같은 단백질과 당단백질(glycoprotein), 당지질(glycolipid)을 포함하는 복합당질(glycoconjugate)이 함유되어 있다[14, 23, 33, 40]. 이들 중 복합당질은 그 조성의 변화에 따라 미각샘의 다양한 생리적 기능을 변화시킬 수 있으며[13, 44], 복합당질의 합성과 분비는 자율신경계의 환경 아래에서 유지되어진다. 복합당질의 특이성은 단백질과 연결되어 있는 올리고당류의 말단 단당류에 의해 결정되는데 이러한 단당류를 특이적으로 찾아낼 수 있는 것이 렉틴(lectin)이다. 렉틴은 식물뿐만 아니라 동물 혹은 미생물에서 추출된 단백질 혹은 당단백질로서, 포유동물 조직내에 분포하는 여러 가지 복합당질의 구조적 특성을

***Corresponding author**
Tel : +82-53-650-4458, Fax : +82-53-652-2690
E-mail : ysmoon@cu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

파악하는데 널리 사용되고 있다. 렉틴은 화학적인 변형 없이 특수한 당잔기(sugar residue)에 비공유적으로 결합하는 특이성을 가지므로[2, 28, 41], 샘에서 분비되는 복합당질의 조성과 변화를 정확하게 알아낼 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 흰쥐의 양쪽 혀인두신경 또는 혀밑신경을 절단한 후 부교감신경과 교감신경의 단절에 따른 미각샘의 형태학적 변화를 관찰하고, 여러 가지 렉틴을 이용하여 미각샘의 복합당질 분비 양상과 신경 단절에 따른 복합당질의 조성 변화를 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물로는 Sprague-Dawley계의 흰쥐(체중 250~300 g)를 암수 구별 없이 사용하였다. 모든 동물은 항온 항습과 12시간의 밤-낮 주기가 일정하게 유지되는 사육실에서 물과 사료를 충분히 공급한 후 사용하였으며, 동물실험은 대구가톨릭대학교 동물실험 윤리규정에 따라 수행하였다.

혀인두신경 또는 혀밑신경 절단

흰쥐를 urethane (1 g/kg, i.p.)으로 마취시킨 후 목 앞쪽 피부의 정중부를 1.5 cm 정도 절개하였다. 해부현미경으로 보면서 두힘살근(digastric muscle)의 뒤힘살 중간부분을 핀셋으로 저치고 아래의 붓목뿔근(stylohyoid muscle)을 가쪽으로 당겨 혀인두신경을 노출시켰다. 양쪽 혀인두신경을 가위로 절단하고 2 mm 정도 잘라낸 후 피부를 봉합하였다. 또한 혀인두신경보다 가쪽 아래에서 주행하는 혀밑신경을 동일한 방법으로 노출시킨 후 가위로 절단하고 2 mm 정도를 잘라낸 후 피부를 봉합하였다. 대조군은 일정한 조건하에서 사육한 정상 흰쥐 3마리를 사용하였으며, 실험군은 양쪽 혀인두신경을 절단한 군과 양쪽 혀밑신경을 절단한 군으로 구분한 후 3일, 7일, 10일, 14일 및 21일 군으로 나누어 각 군마다 흰쥐 3마리씩 실험에 사용하였다.

조직절편 제작

대조군 및 각 실험군의 흰쥐는 과량의 urethane을 배안으로 주사하여 마취시킨 뒤 가슴을 열고 4% paraformaldehyde 용액(4°C)으로 심장을 통해 관류고정 시킨 후 혀를 절취하였다. 떼어낸 혀를 해부현미경으로 보면서 성곽유두부위(circumvallate papilla portion)를 구분하여 분리하였고, 4% paraformaldehyde 용액으로 후고정 하였다. 조직절편은 알코올과 자일렌을 이용한 탈수와 침투과정을 거쳐 파라핀(Paraplast; Oxford, USA)에 포매하였고, 박절기를 사용하여 5 μm 두께의 연속절편을 만든 후 젤라틴을 처리한 슬라이드 글라스에 부착시키고 hematoxylin-eosin (H-E) 염색하여 관찰하였다.

렉틴조직화학

대조군과 실험군의 성곽유두부위 조직절편을 사용하여 렉틴조직화학(lectin histochemistry)을 실시하였다. 본 연구에서는 9가지 렉틴을 사용하였으며, Table 1에 사용한 렉틴의 종류, 렉틴의 농도, 이들과 특이적으로 결합하는 당잔기 및 특이적 저해당질을 표시하였다. 대조군 및 각 실험군의 조직절편을 0.01 M phosphate-buffered saline (PBS)에 20분간 처리한 후 0.3% H_2O_2를 함유한 메탄올액으로 30분간 반응하여 내인성 peroxidase의 활성을 저해시키고, 비특이적인 반응을 억제하기 위하여 5% 정상 토끼 혈청(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)으로 30분 동안 처리하였다. 렉틴반응은 비오틴화 렉틴(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)을 반응액인 0.1 mM의 $CaCl_2$, $MnCl_2$ 및 $MgCl_2$를 함유하는 0.01 M PBS에 일정농도(Table 1)로 희석하여 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 비오틴화 렉틴과 반응한 조직절편은 avidin-biotin-horseradish peroxidase 복합체(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)로 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 각 반응 사이에 조직절편은 PBS로 20분씩 3차례 씻어 주었다. 조직절편을 0.01% H_2O_2를 함유하는 0.05% diaminobenzidine (DAB, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액으로 발색반

Table 1. Carbohydrate binding specificities and inhibitory sugars of lectins

Lectins	Lectin concentration (μg/ml)	Carbohydrate binding specificity	Inhibitory sugar
Pisum sativum agglutinin (PSA)	20	α-D-Man>α-D-Glc	0.4M MαM
Ulex europaeus agglutinin I (UEA I)	20	α-L-Fuc	0.4M Fuc
Griffonia simplicifolia lectin I B_4 (GSL I B_4)	40	α-L-Gal	0.4M Gal
Erythrina cristagalli lectin (ECL)	20	Terminal Galβ1,4GlcNAc	0.4M Gal
Dolichos biflorus agglutinin (DBA)	20	Terminal α GalNAc	0.4M GalNAc
Soybean agglutinin (SBA)	20	Terminal α or β GalNAc	0.4M GalNAc
Helix pomatia agglutinin (HPA)	20	Terminal GalNAcα1,3GalNAc	0.4M GalNAc
Sophora japonica agglutinin (SJA)	40	Terminal GalNAc > α-D-Gal	0.4M GalNAc
Succinylated Wheat germ agglutinin (sWGA)	40	GlcNAc$(\beta 1,4GlcNAc)_{1-2}$	0.01M TATC

Fuc, fucose; Gal, galactose; GalNAc, N-acetyl-D-galactosamine; Glc, glucose; GlcNAc, N-acetyl-D-glucosamine; Man, mannose; MαM, methyl-α-mannopyranoside; TACT, N,N′,N″-triacetylchitotriose; >, Automatic effect results in increasing binding.

응을 시켜 갈색의 반응산물을 얻었다. PBS로 세척하고 hematoxylin으로 대조 염색한 후 Axiophot Photomicroscope (Carl Zeiss, Halbergmoos, Germany)으로 관찰하였고, AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Halbergmoos, Germany)로 촬영하였다.

렉틴반응의 특이성은 각 렉틴과 특이적으로 반응하는 저해당질(Table 1)을 섞은 후 48시간 실온에서 반응시킨 반응액을 이용하여 검정하였다. 렉틴반응의 강도는 -(음성), +(약한 양성), ++(중정도의 양성) 그리고 +++(강한 양성) 등으로 표시하였다.

결 과

대조군에서 미각샘의 형태학적 구조

대조군에서 혀 성곽유두부위는 표면층의 중앙에 하나의 성곽유두와 양 가쪽으로 많은 실유두들이 위치하고 있었다. 성곽유두의 유두고랑을 따라 함입된 점막상피층은 중층편평상피로서 사이사이에 여러 개의 맛봉오리들이 관찰되었고(Fig. 2A), 결합조직유두는 치밀하고 작은 혈관들과 신경섬유 및 결합조직 세포들이 관찰되었다. 표면층의 아래에는 치밀결합조직으로 구성된 점막고유판이 얇은 층을 형성하고 있었다. 성곽유두의 바닥에는 중앙부에 한 쌍의 혀 미각샘과 양 가쪽으로 한 쌍의 혀 점액샘(mucous gland)이 무리지어 있었고, 불규칙한 배열의 근육섬유로 구성된 혀 자체근육층이 혀 침샘들의 양 가쪽과 배쪽으로 위치하고 있었다. 대조군의 미각샘은 장액샘꽈리로 구성된 장액샘 이었으며, 장액세포는 타원형으로 세포바닥에 둥근핵이 위치하고 세포질에는 호산성의 과립들이 충만해 있었다(Fig. 3A). 미각샘의 장액샘꽈리 사이에서 단

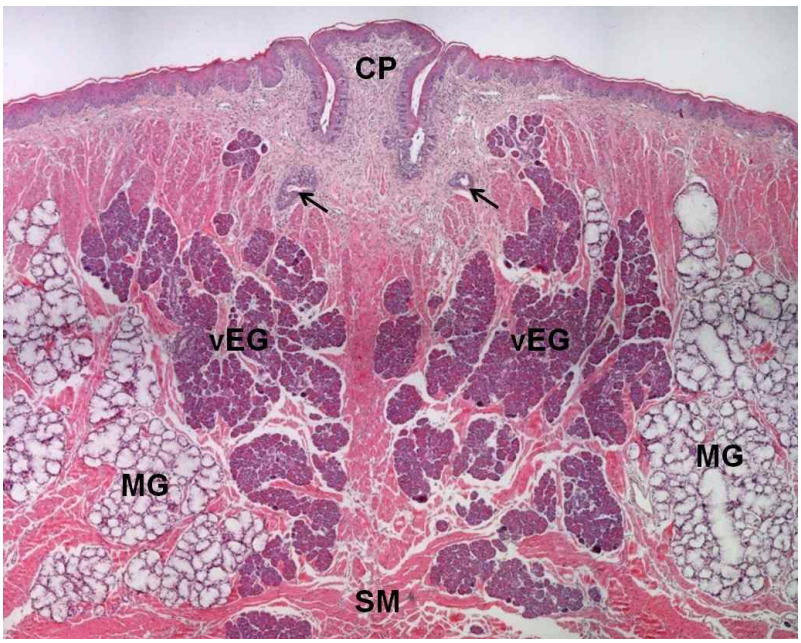

Fig. 1. Photomicrograph shows the normal structure of the circumvallate papilla portion of the tongue in rat. Von Ebner's gland is located beneath the papilla, dispersed among the bundle of intrinsic skeletal muscle. Ducts (arrows) can be seen extending toward the furrow around the papilla. CP, circumvallate papilla; vEG, von Ebner's gland; MG, mucous gland; SM, skeletal muscle. Hematoxylin-eosin stain; x12.5.

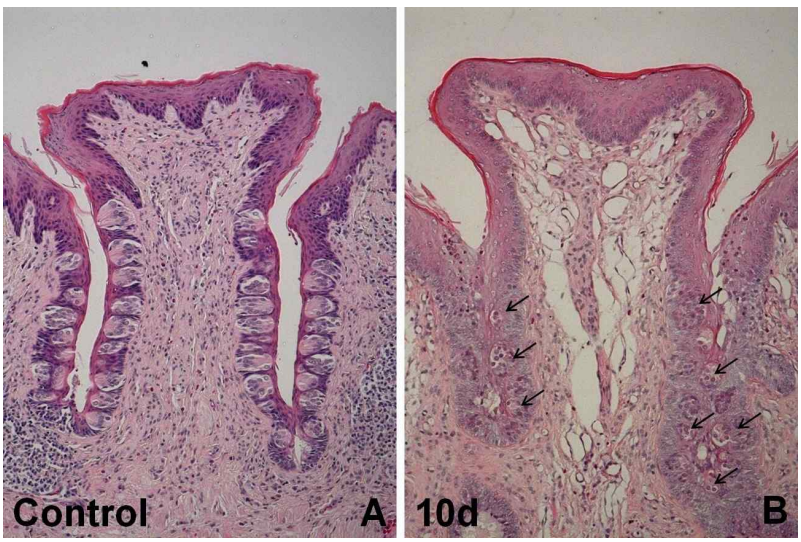

Fig. 2. Photomicrograph shows the structure of the circumvallate papilla in control (A) and 10 days after glossopharyngeal nerve axotomy (B). Arrows indicate the degenerated taste buds. The number and size of taste buds decreased. Hematoxylin-eosin stain; x100.

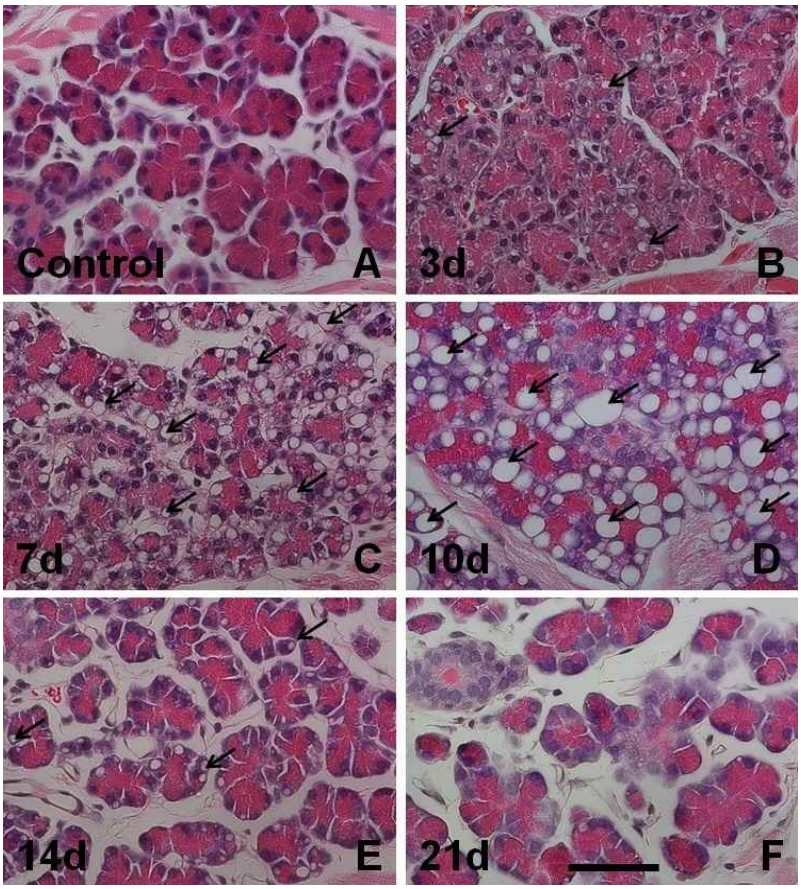

Fig. 3. Photomicrograph shows the structure of the von Ebner's gland in control (A), 3 days (B), 7 days (C), 10 days (D), 14 days (E) and 21 days (F) after glossopharyngeal nerve axotomy. The cytoplasmic vacuoles appeared acinar cells (B) and the number and size of vacuoles increased (D). Arrows indicate the cytoplasmic vacuoles. Hematoxylin-eosin stain. Scale bar is 50 μm in A to F.

층입방상피의 분비관들이 관찰되었으며 분비관은 성곽유두의 유두고랑 쪽으로 개구하고 있었다. 혀 점액샘은 미각샘보다 양 가쪽에 무리지어 있었는데 점액샘꽈리로 구성된 순수한 점액샘 이었으며, 점액세포는 원추형으로 바닥부에 납작한 핵이 위치하고 세포질은 밝게 보였다. 또한 점액샘의 분비관들은 혀의 등쪽을 향해 개구하고 있었다(Fig. 1).

혀인두신경을 절단한 실험군에서 미각샘의 형태학적 구조

혀인두신경을 절단한 실험군에서는 대조군에 비하여 3일군부터 21일군까지 성곽유두, 점액샘 및 혀 자체근육층의 뚜렷한 변화는 관찰할 수 없었다. 반면 성곽유두의 맛봉오리를 구성하는 미각감각세포들은 3일군부터 위축되기 시작하였고, 10일군(Fig. 2B)에서는 맛봉오리와 맛봉오리 세포의 수가 감소되는 퇴행성변화를 관찰할 수 있었다. 특히 혀 미각샘은 3일군부터 10일군까지 현저한 변화를 나타내었다. 3일군(Fig. 3B)부터 장액샘꽈리의 장액세포에서 여러 개의 세포질 공포(cytoplasmic vacuoles)가 관찰되었고, 7일군(Fig. 3C)에서는 공포의 수와 크기가 더 증가되고 세포질의 호산성과립들이 현저히 감소되는 양상을 보였다. 10일군(Fig. 3D)에서는 공포의 수와 크기가 더 증가되어 장액샘꽈리의 50% 정도를 차지하고 있었고 불분명한 장액샘꽈리의 형태가 관찰되었다. 하지만 미각샘의 분비관을 구성하는 분비관세포에서는 공포가 관찰되지 않았다. 14일군(Fig. 3E)에서는 공포의 수가 현저히 감소되어 있었고 장액샘꽈리가 위축되어 작아진 형태를 보였다. 21일군(Fig. 3F)에서는 소수의 공포만이 관찰되었고 대조군에 비하여 장액샘꽈리의 밀도가 감소되어 있었다.

혀밑신경을 절단한 실험군에서 미각샘의 형태학적 구조

혀밑신경을 절단한 실험군에서는 3일군부터 21일군까지 성곽유두, 맛봉오리 및 점액샘에서 대조군과 비교되는 형태학적 변화를 관찰할 수 없었다. 반면 성곽유두 아래의 혀 자체근육층은 10일군까지는 형태학적 변화가 없었으나 14일군부터 근육섬유 두께가 가늘어지고 근육섬유 사이의 결합조직이 증가되는 양상을 보이기 시작하였고, 21일군(Fig. 4B)에서는 근육섬유가 위축되어 그 두께가 대조군(Fig. 4A)에 비하여 현저히 감소되어 있음을 관찰할 수 있었다. 또한 근육층 아래의 신경섬유다발에서도 대조군(Fig. 4C)에 비하여 신경섬유들의 배열이 엉성해지고 신경집세포의 수가 증가되는 퇴행성변화를 관찰할 수 있었다(Fig. 4D). 혀 미각샘은 7일군까지는 대조군에 비하여 특별한 형태학적 변화를 보이지 않았지만 10일군(Fig. 5D)에서는 장액샘꽈리의 장액세포에서 다수의 세포질 공포가 관찰되었다. 14일군과 21일군에서는 장액세포에서 공포가 거의 관찰되지 않았으며 미각샘의 형태는 대조군과 비슷하였다(Fig. 5).

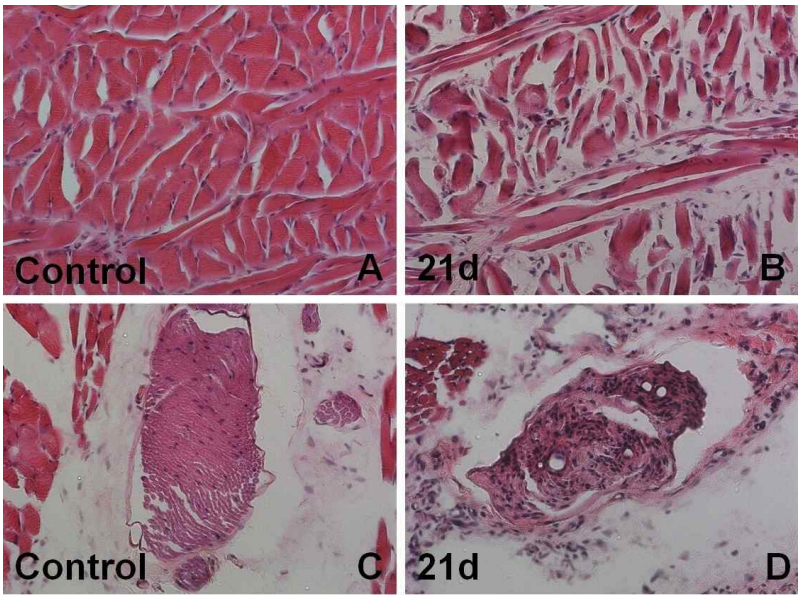

Fig. 4. Photomicrograph shows the structure of the tongue intrinsic muscles in control (A) and 21 days after hypoglossal nerve axotomy (B), and nerve fibers in control (C) and 21 days after hypoglossal nerve axotomy (D). Hematoxylin-eosin stain; x100.

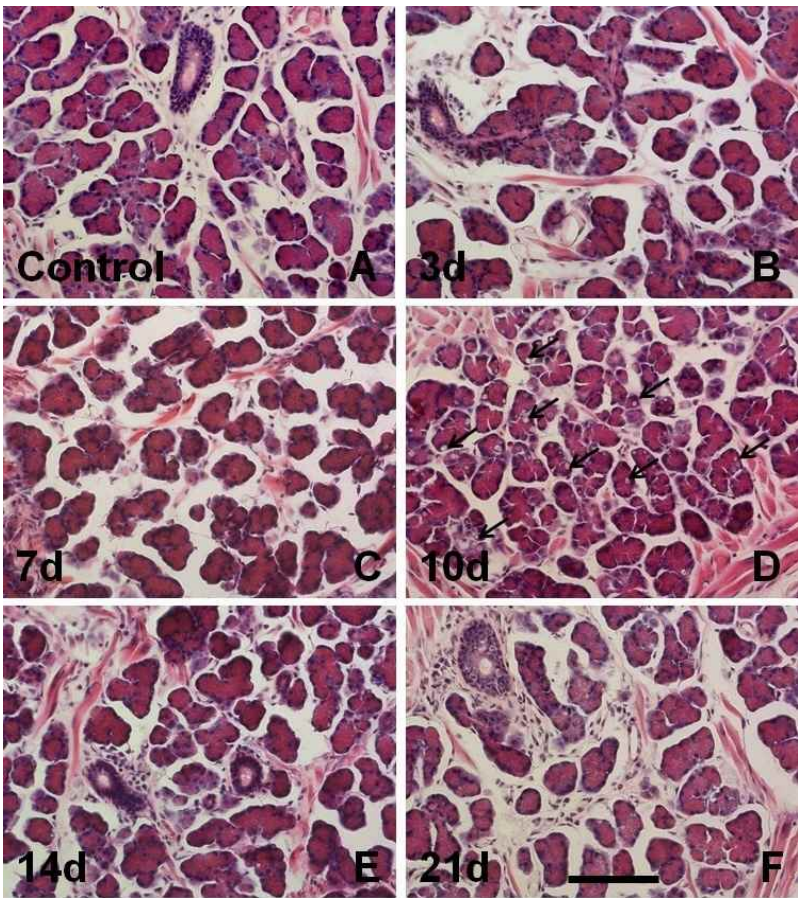

Fig. 5. Photomicrograph shows the structure of the von Ebner's gland in control (A), 3 days (B), 7 days (C), 10 days (D), 14 days (E) and 21 days (F) after hypoglossal nerve axotomy. The numerous cytoplasmic vacuoles appeared acinar cells (D). Arrows indicate the cytoplasmic vacuoles. Hematoxylin-eosin stain. Scale bar is 100 μm in A to F.

대조군의 렉틴조직화학 결과

대조군의 미각샘에 대한 렉틴반응의 결과는 Table 2와 3에 나타내었다. 대조군에서 장액샘꽈리의 장액세포들은 GSL I B_4 (Fig. 6C), ECL (Fig. 6D), DBA (Fig. 6E), SBA (Fig. 7A), HPA (Fig. 7B), SJA (Fig. 7C) 및 sWGA (Fig. 7D)에서 강한 양성반응과 일부 장액세포에서 중정도의 양성반응을 보였으며, PSA (Fig. 6A)에서는 약한 양성반응을 그리고 UEA I (Fig. 6B)에서는 대부분의 장액세포에서 음성반응을 나타내었다. 특히 GSL I B_4, ECL, SBA 및 sWGA에서는 장액세포의 세포질 전체에 강한 양성반응을 나타낸 반면 DBA, HPA 및 SJA에서

Table 2. Lectin histochemistry in the rat lingual von Ebner's gland after glossopharyngeal nerve axotomy

Lectins	vEG	Control	Days after axotomy				
			3	7	10	14	21
PSA	SA	+>++	+>-	+>-	-	-	-
	D	+>-	+>-	+>-	-	-	-
UEA I	SA	->+	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-
GSL I B_4	SA	+++	++	++>+	+	+>-	->+
	D	+	+	+	+	->+	->+
ECL	SA	+++>++	++	++	+>-	+>-	->+
	D	+	+	+	->+	->+	-
DBA	SA	+++>++	++>+	+>-	->+	->+	-
	D	+++	+++	++	++>+	+	+
SBA	SA	+++	++	+	->+	-	-
	D	+	+	+>-	->+	-	-
HPA	SA	+++>++	++	++>+	+>-	->+	-
	D	+	+	+>-	-	-	-
SJA	SA	+++>++	++	++>+	+>-	+>-	+>-
	D	+	+	+	+>-	+>-	+>-
sWGA	SA	+++>++	++	++	+	+	+>-
	D	+	+	+	+>-	+>-	-

vEG, von Ebner's gland; SA, serous acini; D, duct
+++, strong positive; ++, moderate positive; +, weak positive; -, negative; >, most marked.

Table 3. Lectin histochemistry in the rat lingual von Ebner's gland after hypoglossal nerve axotomy

Lectins	vEG	Control	Days after axotomy				
			3	7	10	14	21
PSA	SA	+>++	+>++	+>++	+	+>++	+
	D	+>-	+>-	+>-	+>-	+>-	+>-
UEA I	SA	->+	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-
GSL I B_4	SA	+++	+++	+++>++	+++>++	+++>++	+++
	D	+	+	+	+	+	+
ECL	SA	+++>++	+++>++	++	++	+++>++	+++>++
	D	+	+	+	+	+>-	+
DBA	SA	+++>++	+++>++	+++>++	+++>++	+++>++	++
	D	+++	+++	+++	+++>++	+++>++	+++
SBA	SA	+++	+++>++	+++	+++	+++	+++>++
	D	+	+	+	+	+	+
HPA	SA	+++>++	+++>++	+++>++	+++>++	++>+++	+++>++
	D	+	+	+	+	+	+
SJA	SA	+++>++	++>+++	++>+++	++>+++	+++>++	+++>++
	D	+	+	+	+	+	+
sWGA	SA	+++>++	+++	+++	+++>++	+++>++	+++>++
	D	+	+	+	+	+	+

vEG, von Ebner's gland; SA, serous acini; D, duct
+++, strong positive; ++, moderate positive; +, weak positive; -, negative; >, most marked.

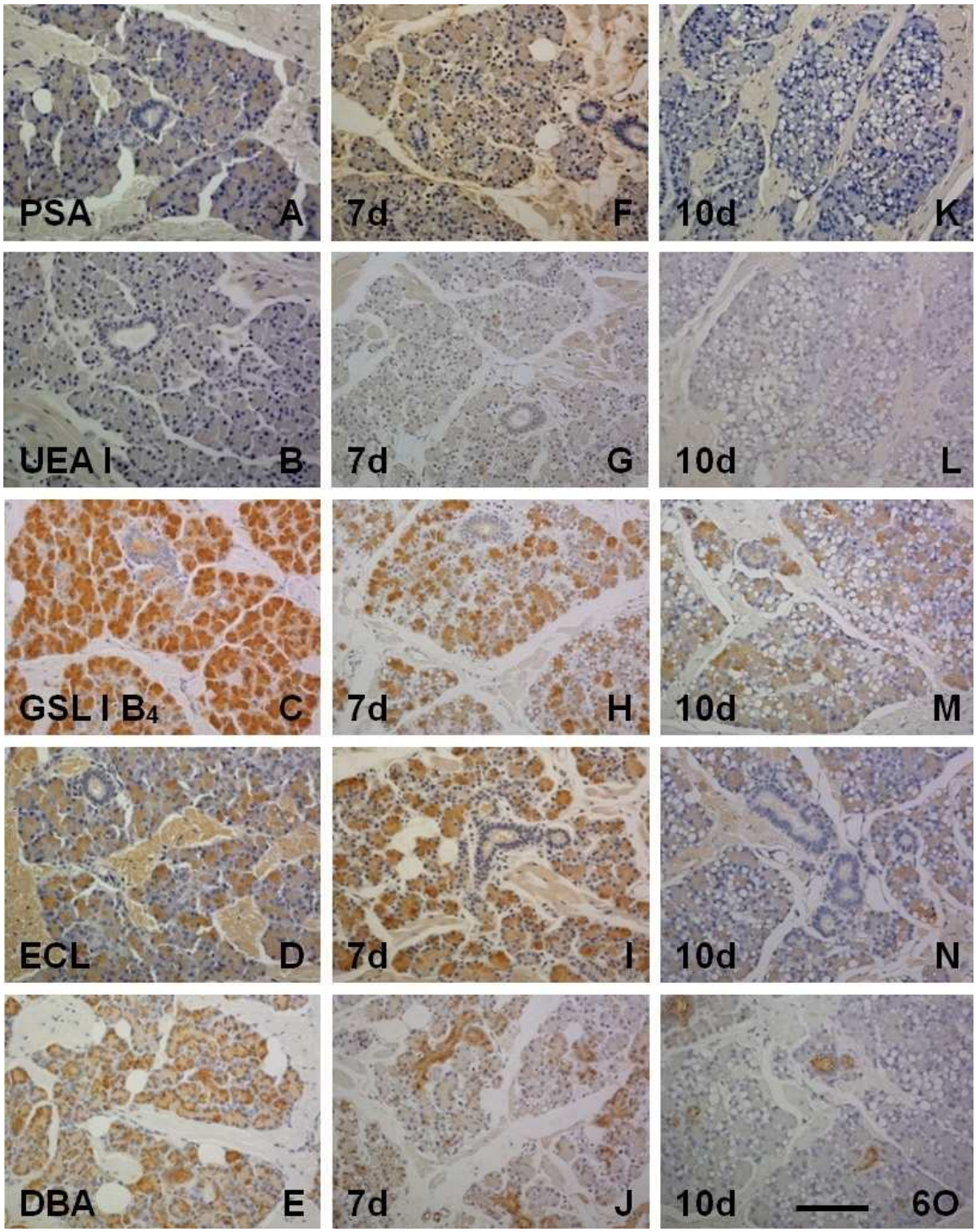

Fig. 6. Lectin histochemistry of the von Ebner's gland in control (A-E), and in groups of 7 days (F-J) and 10 days (K-O) after glossopharyngeal nerve axotomy. A, F and K, B, G and L, C, H and M, D, I and N, E, J and O are the pairs for each lectin. Scale bar is 100 μm in A to O.

는 장액세포의 세포 바닥쪽에서 과립형태의 강한 양성반응을 나타내는 반응 부위의 차이를 보였다. UEA I은 전체적으로 음성반응을 보였으나 일부 극소수의 장액세포에서 약한 양성반응을 관찰할 수 있었다. 분비관에서는 DBA (Fig. 6E)에서 강한 양성반응을 보였으며, PSA, GSL I B_4, ECL, SBA, HPA, SJA 및 sWGA에서 약한 양성반응을 그리고 UEA I에서는 음성반응을 나타내었다.

혀인두신경을 절단한 실험군의 렉틴조직화학 결과

혀인두신경을 절단한 실험군의 미각샘에 대한 렉틴반응의 결과는 Table 2에 나타내었다. 혀인두신경을 절단한 장액샘꽈리의 장액세포들은 공포형성과 함께 렉틴 반응성이 감소하는 양상을 보였으며, 21일군에서는 본 연구에 사용된 대부분의 렉틴에서 음성반응을 나타내었다. PSA는 3일군과 7일군(Fig. 6F)에서 약한 양성반응을 유지하다가 10일군(Fig. 6K)부터는 음성반응을 나타내었으며, UEA I은 3일군부터 이후의 모든 군에서 음성반응을 보였다(Fig. 6G, 6L). GSL I B_4는 7일군(Fig. 6H)에서 중정도의 양성반응을 보이다가 10일군(Fig. 6M)부터 약한 양성반응을 나타내었으며, ECL은 3일군과 7일군(Fig. 6I)에서 중정도의 양성반응을 보였고 10일군(Fig. 6N)부터 약한 양성반응이 뚜렷해졌다. DBA는 7일군(Fig. 6J)부터 반응성이 급격히 감소되어 약한 양성반응을 보이다가 10일군(Fig. 6O)에서는 대부분의 장액세포에서 음성반응을 나타내었고 음성반응은 21일군까지 지속되었다. SBA는 3일군에서 중정도의 양성반응을, 7일군(Fig. 7E)에서는 약한 양성반응을 보이다가 10일군(Fig. 7I)부터 음성반응이 나타나 21일군에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다. HPA는 7일군(Fig. 7F)에서 중정도의 양성반응을 보이다가 10일군(Fig. 7J)부터 약한 양성반응과 부분적인 음성반응을 나타내었고, SJA는 7일군(Fig. 7G)에서 중정도의 양성반응을 보이다가 10일군(Fig. 7K)부터 약한 양성

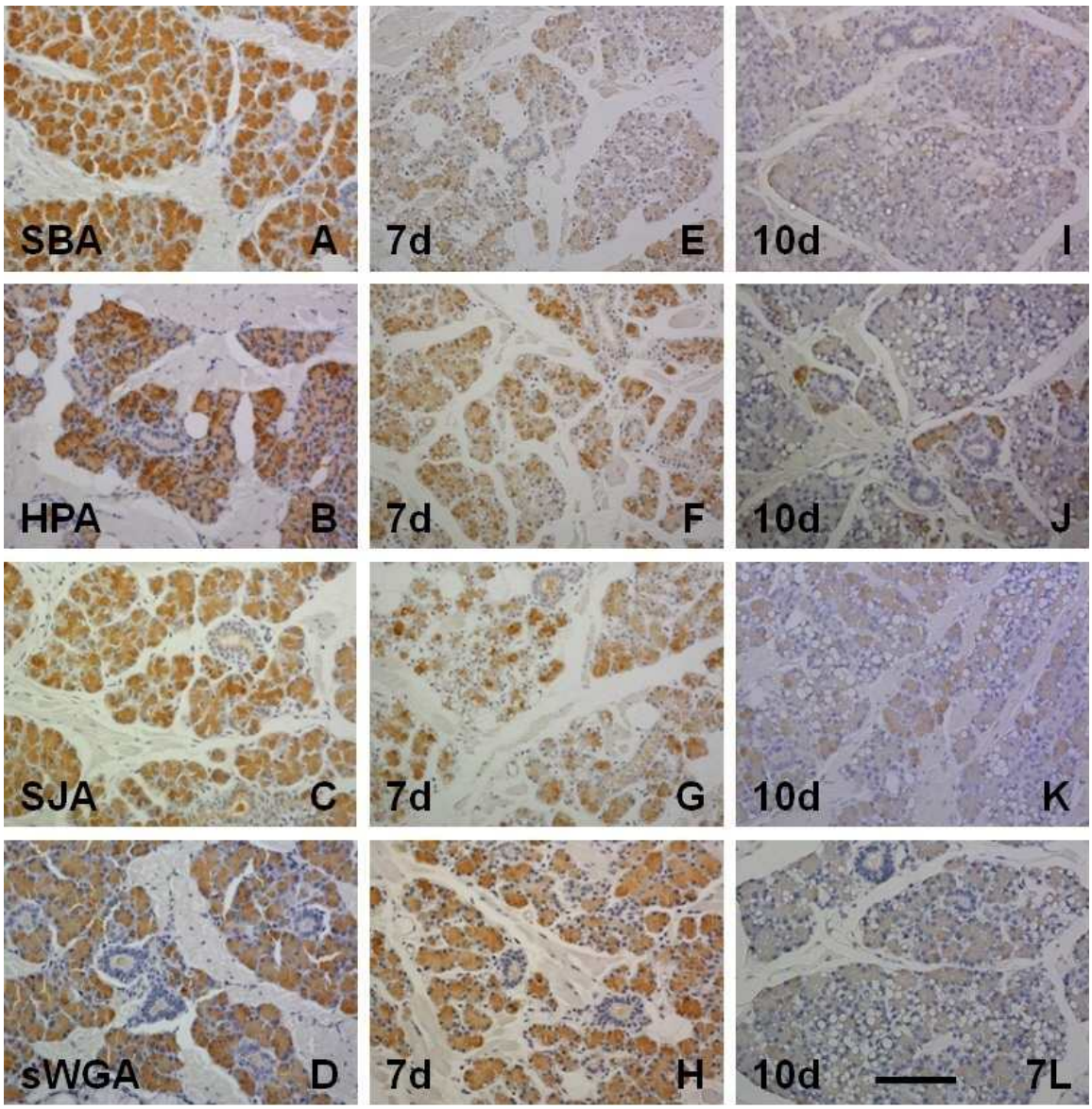

Fig. 7. Lectin histochemistry of the von Ebner's gland in control (A-D), and in groups of 7 days (E-H) and 10 days (I-L) after glossopharyngeal nerve axotomy. A, E and I, B, F and J, C, G and K, D, H and L are the pairs for each lectin. Scale bar is 100 μm in A to L.

반응과 부분적인 음성반응을 나타내었고 이러한 반응성은 21일군까지 지속되었다. sWGA는 3일군과 7일군(Fig. 7H)까지 중정도의 양성반응이 관찰되었고 10일군(Fig. 7L)부터 반응성이 감소되어 약한 양성반응을 보이다가 21일군에서는 장액세포의 음성반응을 관찰할 수 있었다. 분비관에서는 대부분의 렉틴에서 약한 양성반응이 7일군까지 지속되다가 10일군부터 음성반응이 나타나는 경향을 보였다. DBA는 7일군(Fig. 6J)과 10일군(Fig. 6O)에서 중정도의 양성반응을 보였고 14일군과 21일군에서는 약한 양성반응을 나타내었다. UEA I은 실험군 모두에서 음성반응이 관찰되었다.

혀밑신경을 절단한 실험군의 렉틴조직화학 결과

혀밑신경을 절단한 실험군의 미각샘에 대한 렉틴반응의 결과는 Table 3에 나타내었다. 혀밑신경을 절단한 장액샘꽈리의 장액세포들과 분비관의 렉틴 반응성은 대조군과 유사한 양상을 보였으며 모든 실험군에서 렉틴 반응성의 변화를 관찰할 수 없었다.

고 찰

몸날신경(somatic efferent nerve)을 절단하면 그 신경에 지배를 받는 뼈대근육은 위축되어 2개월 이후에는 그 양이 65% 정도 감소되고, 수축력은 95% 정도 감소한다[1]. 형태학적으로는 근육섬유, 세포핵 및 주변 모세혈관의 비율이 감소되고, 근육섬유 사이에 결합조직이 축적된다[5, 6]. 특수내장들신경(special visceral afferent nerve)이 포함되어 있는 혀인두신경을 절단하면 성곽유두에 위치한 맛봉오리는 위축되고 맛봉오리의 미각감각세포들은 퇴화되어진다[15, 21]. 본 연구에서도 혀근육을 지배하는 몸날신경인 혀밑신경을 절단한 후 14일군부터 혀 자체근육의 위축이 관찰되었고 21일군에서는 더 뚜렷한 근육섬유의 위축을 관찰할 수 있었다. 또한 양쪽 혀인두신경을 절단한 흰쥐 성곽유두의 맛봉오리 세포들이 3일군부터 위축되었고 10일군에서는 현저히 퇴화되는 퇴행성변화를 관찰할 수 있었다.

한편, 자율신경의 환경에서 유지되는 혀의 미각샘은 혀인두신경을 공유하는 부교감신경섬유와 혀밑신경을 공유하는 교감신경섬유가 각각 미각샘에 분포하고 있음이 보고되었다[7, 9, 16, 34, 38, 45, 46]. 이러한 많은 보고들을 바탕으로 본 연구에서는 혀인두신경 또는 혀밑신경을 각각 절단하여 미각샘에 대한 부교감신경과 교감신경의 역할을 형태학적으로 관찰하였다. Gurkan과 Bradley [19]는 흰쥐 복강에 sympathetic agonists와 parasympathetic agonists를 각각 주사한 후 미각샘 장액세포의 분비과립이 각각 감소됨을 관찰하여 교감신경과 부교감신경 모두가 미각샘의 기능에 중요함을 보고하였고, Gurkan과 Bradley [20]은 흰쥐의 위목교감신경줄기(superior cervical sympathetic trunk)와 혀인두신경을 각각 전기적으로 자극하여 교감신경의 자극은 미각샘의 형태와 장액세포의 분비과립에 아무런 영향을 주지 않았지만 부교감신경의 자극은 장액샘 분비과립의 감소를 유발하여 부교감신경이 미각샘의 기능을 조절하는 신경이라 보고하였다. 본 연구에서는 혀인두신경을 절단한 후 혀 미각샘에서는 3일군부터 장액샘꽈리가 위축되고 장액세포에 세포질 공포가 나타나기 시작하였고 10일군에서는 호산성과립의 감소와 함께 세포질 공포가 커지고 전체 장액샘꽈리의 50% 정도를 차지하는 미각샘의 퇴행성변화를 관찰할 수 있었다. 반면, 혀밑신경을 절단한 미각샘에서는 10일군에서만 장액샘꽈리의 장액세포에서 다수의 세포질 공포가 관찰되었고 나머지 실험군들에서는 모두 대조군과 비슷한 형태를 보였다.

세포질 공포의 형성은 세포가 괴사(necrosis)되는 병리적 과정으로 알려져 있다. 침샘의 장액세포에서 관찰되는 공포는 이전의 다양한 연구들에서 보고되었다. Shiraishi 등[42]은 nickel을 처리한 흰쥐 미각샘의 장액세포에서 세포질 공포가 관찰됨을 보고하였는데 전자현미경을 통하여 공포는 세포질소포(cytoplasmic vesicles)가 풍부한 구조라 하였고 황산화효소(antioxidant)의 결핍에 의한 지질과산화(lipid peroxidation)가 공포 형성의 원인이라 하였다. Clemente 등[11]은 tityustoxin을 처리한 흰쥐 턱밑샘의 분비세포에서 분비과립의 감소와 함께 다형성의 공포들을 관찰하였고 adrenergic receptor와 cholinergic receptor를 함께 처리하였을 때 분비세포의 공포형성이 억제되어짐을 보고하였다. Kuntsal 등[32]은 흰쥐에 10일간의 liquid diet를 하였을 때 체중 감소와 함께 턱밑샘의 분비세포에서 공포가 출현함을 보고하였고 전자현미경을 통하여 공포는 세포소기관이 없는 빈 공간이라 보고하였다. 최근에는 분비세포의 공포화가 자가용해소체(autolysosome)의 축적으로 형성된다는 보고들이 있다[4, 12, 18, 47]. 즉, 사람의 유전적 질환인 점액지질증(mucolipidosis) II & III은 lysosomal enzyme인 N-acetylglucosamine-1-phosphotransferase가 결여되어 mannose 6-phosphate pathway가 가동되지 않는 특성을 가지는데 N-acetylglucosamine-1-phosphotransferase knockout mouse를 이용한 연구에서 생후 14주에 턱밑샘과 혀밑샘 분비세포에서 작은 공포들이 나타나고 생후 2년에는 매우 큰 공포가 관찰됨을 보고하였다. 본 연구에서 혀인두신경을 절단한 후 실험군들에서 관찰된 다양한 크기의 세포질 공포들도 이상의 보고들과 유사한 형태를 보였으므로 부교감신경의 결여가 미각샘 장액세포의 전체적인 세포대사와 세포활성을 억제하여 공포 형성을 유도하였고 장액세포의 괴사로 이어졌다고 추측된다. 최근 Cheng 등[10]은 햄스터의 한쪽 혀밑신경을 절단한 후 혀 침샘의 형태학적 변화를 보고하였는데 이들은 신경절단 후 장액샘과 점액샘의 뚜렷한 변화는 관찰하지 못하였지만, 전자현미경을 통하여 장액샘꽈리의 분비과립이 감소되고 세포질에 lipofuscin 과립이 축적되는 분비세포의 노화현상을 보고하였다. 본 연구에서도 혀밑신

경을 절단한 후 시간에 따른 미각샘의 뚜렷한 형태변화를 관찰하지 못하였지만 신경 절단 10일군에서 작은 세포질 공포를 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 교감신경의 결여에 의한 직접적인 영향일수도 있고 또는 미각샘 주위의 미세환경의 변화가 공포 형성을 유발했을지도 모른다.

렉틴은 1954년 Boyd와 Shapleigh [8]에 의해 최초로 식물에서 분리된 단백질 혹은 당단백질로서 복잡한 탄수화물의 당잔기, 당결합(sugar linkages) 또는 oligomer에 특이적으로 결합할 수 있다. 근래에는 식물뿐만 아니라 동물 혹은 미생물에서도 분리되어 각 렉틴들의 결합당질 특이성과 렉틴을 이용한 많은 연구들이 보고되었다[3, 22, 27, 31, 36, 44]. 최근에는 렉틴의 활용 범위가 암세포의 표지자[29], 항암제[35], 당단백질 농축을 위한 biotools [25], glycan profiling [24], drug delivery [43] 및 neural stem cell의 detecting tools [30]로 폭넓게 이용되고 있다. 흰쥐 미각샘의 복합당질 양상은 Schulte와 Spicer [40]에 의해 처음 보고되었으며, 일부 연구자들에 의해 발육기 침샘과 여러 종에서의 혀 침샘에 대한 조직화학적 연구가 수행된 바 있다[17, 33, 39, 48]. 본 연구에서는 혀인두신경 또는 혀밑신경 절단이 혀 미각샘의 복합당질 분비양상에 어떤 변화를 보이는가를 알아보기 위하여 수행되었다. 대조군에서 성체 흰쥐의 혀 미각샘에서는 GSL I B_4, ECL, DBA, SBA, HPA, SJA 및 sWGA에서 강한 양성반응과 일부 장액세포에서 중정도의 양성반응을, PSA에서는 약한 양성반응을 그리고 UEA I에서는 음성반응을 나타내었다. 이러한 결과들은 흰쥐 미각샘에서 분비되는 복합당질 성분에 다량의 α-D-galactose, N-acetyl-D-glucosamine에 β1,4결합으로 결합된 α-D-galactose, α, β 혹은 α1,3결합의 N-acetyl-D-galactosamine 및 N-acetyl-D-glucosamine oligomer의 당잔기와 소수의 α-D-mannose 당잔기가 포함되어 있음을 나타내며 fucose 당잔기는 거의 없다는 것을 의미한다. 분비관에서는 DBA에서 강한 양성반응을 보였고, UEA I에서는 음성반응을 나타냈으며, 본 연구에 사용된 나머지 모든 렉틴에서는 약한 양성반응을 보였다. 미각샘 분비관의 렉틴 반응이 장액샘꽈리의 장액세포보다 약한 반응성을 보인 것은 장액세포에서 합성되는 복합당질 성분의 일부분이 분비관을 통하여 선택적으로 배출되기 때문이며, DBA에 대한 분비관의 강한 양성반응은 DBA 렉틴의 특성으로 추측된다. 혀인두신경을 절단한 실험군에서는 미각샘의 형태학적 변화와 함께 장액샘꽈리 장액세포에 대한 대부분의 렉틴 반응성이 10일군부터 현저하게 감소되는 양상을 보였으며, 21일군에서는 대부분의 렉틴에서 음성반응이 관찰되었다. 분비관 또한 10일군부터 렉틴 반응성이 감소되는 경향을 보였다. Jo 등[26]은 발암원인 N-nitrosodimethylamine을 처리한 후 흰쥐 혀 침샘의 렉틴 반응성을 관찰하였는데 발암원을 처리하고 48시간 후에 침샘의 퇴행성변화와 렉틴 반응성이 현저히 감소되었고 96시간 후부터 렉틴 반응성이 다시 회복되어짐을 보고하였다. 이러한 현상은 발암원에 의한 세포독성이 혀 침샘의 복합당질대사에 심각한 영향을 미쳐 일어난 결과이며 다시 증가된 복합당질은 독성물질에 대한 방어와 손상된 샘꽈리세포의 회복에 관여한다고 하였다. 본 연구에서 혀인두신경의 절단은 미각샘의 형태학적 변화와 렉틴 반응성의 감소를 유도하였고, 21일군에서는 렉틴 반응성이 거의 음성으로 나타난 것으로 보아 혀인두신경은 미각샘의 구조 유지와 분비 기능에 필수적인 신경이라 추측된다. 또한 혀인두신경 절단 후 미각샘의 복합당질 성분변화는 관찰할 수 없었는데 이것은 신경절단이 미각샘의 기능을 변화시키는 것이 아니라 미각샘을 퇴행성과정으로 진행시켰음을 의미한다. 혀밑신경을 절단한 실험군에서는 신경절단 후 혀 미각샘의 형태학적 변화가 21일군까지 뚜렷하게 나타나지 않았고, 렉틴 반응성의 결과도 대조군과 비슷하게 나타났다. 따라서, 혀밑신경 절단은 혀 미각샘의 구조변화와 및 분비기능에 특별한 영향을 주지 않으며, 혀밑신경은 미각샘의 구조와 기능에 간접적인 역할을 담당할 것으로 추측된다.

감사의 글

이 연구는 2012년도 대구가톨릭대학교 의과대학 교내연구비의 지원으로 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

References

1. Al-Amood, W. S. and Lewis, D. M. 1989. A comparison of the effects of denervation on the mechanical properties of rat and guinea-pig skeletal muscle. *J Physiol* **141**, 1-16.
2. Alberts, B., Bray. D. and Lewis, J. 1989. *Molecular biology of the cell*, pp. 198-300, 2nd ed., Garland Publishing: New York, NY, USA.
3. Allen, H. J., Johnson, E. A. and Matta, K. L. 1977. A comparsion of the binding specificities of lectins from Ulex europaeus and Lotus tetragonolobus. *Immunol Commun* **6**, 585-602.
4. Boonen, M., van Meel, E., Oorschot, V., Klumperman, J. and Kornfeld, S. 2011. Vacuolization of mucolipidosis type II mouse exocrine gland cells represents accumulation of autolysosomes. *Mol Biol Cell* **22**, 1135-1147.
5. Borisov, A. B., Dedkov, E. L. and Carlson, B. M. 2001. Interrelations of myogenic response progressive atrophy of muscle fibers and cell death in denervated skeletal muscle. *Anat Rec* **264**, 203-218.
6. Borisov, A. B., Huang, S. K. and Carlson, B. M. 2000. Remodeling of the vascular bed and progressive loss of capillaries in denervated skeletal muscle. *Anat Rec* **258**, 292-304.
7. Boudreau, J. C., Do, L. T., Sivakumar, L., Oravec, J. and Rodriguez, C. A. 1987. Taste systems of the petrosal ganglion of the rat glossopharyngeal nerve. *Chem Senses* **12**, 437-458.
8. Boyd, W. C. and Shapleigh, E. 1954. Specific precipitating

activity of plant agglutinins (lectins). *Science* **119**, 419-427.
9. Bradley, R. M., Mistretta, C. M., Bates, C. A. and Killackey, H. P. 1985. Transganglionic transport of HRP from the circumvallate papilla of the rat. *Brain Res* **361**, 154-161.
10. Cheng, S. J., Huang, C. F., Chen, Y. C., Lee, J. J., Chang, H. H., Chen, H. M., Chiang, M. L., Kuo, M. Y., Kok, S. H. and Tseng, C. Y. 2009. Ultrastructural changes of posterior lingual glands after hypoglossal denervation in hamsters. *J Anat* **214**, 163-170.
11. Clemente, G. T., Teixeira, M. M., Freire-Maia, L. and Rossoni, R. B. 2002. Mechanisms underlying the structural alterations of the rat submandibular gland induced by Tityus serrulatus tityustoxin. *Toxicon* **40**, 731-738.
12. Coutinho, M. F., Prata, M. J. and Alves, S. 2012. Mannose-6-phosphate pathway: A review on its role in lysosomal function and dysfunction. *Mol Genet Metab* **105**, 542-550.
13. Damajanov, I. 1987. Lectin cytochemistry and histochemistry. *Lab Invest* **57**, 5-20.
14. Field, R. B. and hand, A. R. 1987. Serection of lingual lipase and amylase from rat lingual serous glands. *Am J Physiol* **253**, G217-G225.
15. Fujimoto, S. and Murray, R. G. 1970. Fine structure of degeneration and regeneration in denervated rabbit vallate taste buds. *Anat Rec* **168**, 393-414.
16. Fukui, Y., Hayakawa, T., Itoh, M., Fujimoto, Y., Nishimura, Y. and Takeuchi, Y. 1992. The superior cervical ganglion: origin of sympathetic fibers in the facial and hypoglossal nerves in the cat. *Brain Res Bull* **28**, 811-815.
17. Gargiulo, A. M., Pedini, V., Ceccarelli, P. and Lorvik, S. 1995. A lectin histochemical study of gustatory (von Ebner's) glands of the horse tongue. *Anat Histol Embryol* **24**, 123-126.
18. Gelfman, C. M., Vogel, P., Issa, T. M., Turner, C. A., Lee, W. S., Kornfeld, S. and Rice, D. S. 2007. Mice lacking α/β subunits of GlcNAc-1-phosphotransferase exhibit growth retardation, retinal degeneration, and secretory cell lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **48**, 5221-5228.
19. Gurkan, S. and Bradley, R. M. 1987. Autonomic control of von Ebner's lingual salivary glands and implications for taste sensation. *Brain Res* **419**, 287-293.
20. Gurkan, S. and Bradley, R. M. 1988. Effects of electrical stimulation of autonomic nervous system on degranulation of von Ebner's gland acini. *Brain Res* **473**, 127-133.
21. Guth, L. 1957. The effects of glossopharyngeal nerve transection on the circumvallate papilla of the rat. *Anat Rec* **128**, 715-731.
22. Hammarstrom, S., Murphy, L. A., Goldstein, I. J. and Etzler, M. E. 1977. Carbohydrate binding specificity of four N-acetyl-D-galactosamine specific lectin; Helix pomatia A hemagglutinin, soybean agglutinin, lima bean lectin, and Dolichos biflorus lectin. *Biochemistry* **16**, 2750-2755.
23. Hand, A. R., Pathmanathan, D. and Field, R. B. 1999. Morphological features of the minor salivary glands. *Arch Oral Biol* **44**, S3-S10.
24. Hirabayashi, J. 2008. Concept, strategy and realization of lectin-based glycan profiling. *J Biochem* **144**, 139-147.
25. Ito, S., Hayama, K. and Hirabayashi, J. 2009. Enrichment strategies for glycopeptides. *Methods Mol Biol* **534**, 195-203.
26. Jo, U. B., Choi, Y. J., Jo, G. J. and Park, S. M. 1998. Lectin histochemistry for effects of N-nitrosodimethylamine on glycoconjugates in the rat lingual salivary glands. *Korean J Phys Anthropol* **11**, 281-297.
27. Kaladas, P. M., Kabat, E. A., Iglesias, J. L., Lis, H. and Sharon, N. 1982. Immunochemical studies on the combining site of D-galactose/N-acetyl-D-galactosamine specific lectin from Erythrina cristagalli seeds. *Arch Biochem Biophys* **217**, 624-637.
28. Kawakami, H., Ito, M., Miura, Y. and Hirano, H. 1992. Lectin-histochemical studies on the process of liver metastasis of mouse colon carcinoma (colon 26) cells. *Acta Histochem Cytochem* **25**, 577-582.
29. Kim, Y. S., Yoo, H. S. and Ko, J. H. 2009. Implication of aberrant glycosylation in cancer and use of lectin for cancer biomarker discovery. *Protein Pept Lett* **16**, 499-507.
30. Kitada, M., Kuroda, Y. and Dezawa, M. 2011. Lectins as a tool for detecting neural stem/progenitor cells in the adult mouse brain. *Anat Rec* **294**, 305-321.
31. Kornfeld, K., Reitman, M. L. and Kornfeld, R. 1981. The carbohydrate-binding specificity of pea and lentil lectins. *J Biol Chem* **256**, 6633-6640.
32. Kuntsal, L., Firat, D. and Sirin, Y. 2003. Prevention of liquid-diet-induced damages on submandibular gland by selenium supplementation in rats. *Tohoku J Exp Med* **201**, 191-199.
33. Laden, S. A., Schulte, B. A. and Spicer, S. S. 1984. Histochemical evaluation of secretory glycoproteins in human salivary glands with lectin-horseradish peroxidase conjugates. *J Histochem Cytochem* **32**, 965-972.
34. Lahtivirta, S., Koistinaho, J. and Hervonen, A. 1995. A subpopulation of large neurons of the sympathetic superior cervical ganglion innervates the NGF-rich submandibular salivary gland in young adult and aged mice. *J Auton Nerv Syst* **50**, 283-289.
35. Liu, B., Bian, H. J. and Bao, J. K. 2010. Plant lectins: potential antineoplastic drugs from bench to clinic. *Cancer Lett* **287**, 1-12.
36. Maget-Dana, R., Veh, R. W., Sander, M., Roche, A. C., Schauer, R. and Monsigny, M. 1981. Specificities of limulin and wheat-germ agglutinin towards some derivatives of GM3 gangliosides. *Eur J Biochem* **114**, 11-16.
37. Morris-Wiman, J., Sego, R., Brinkley, L. and Dolce, C. 2000. The effects of sialoadenectomy and exogenous EGF on taste bud morphology and maintenance. *Chem Senses* **25**, 9-19.
38. O'Reilly, P. M. R. and Fitzgerald, M. J. T. 1990. Fiber composition of the hypoglossal nerve in the rat. *J Anat* **172**, 227-243.
39. Pedini, V., Gargiulo, A. M. and Ceccarelli, P. 1997. Basic and lectin histochemical characterization of bovine gustatory (von Ebner's) glands. *Anat Histol Embryol* **26**, 223-226.
40. Schulte, B. A. and Spicer, S. S. 1984. Light microscopic detection of sugar residues in glycoconjugates of salivary glands and the pancreas with lectin-horseradish peroxidase conjugates. II. Rat. *Histochem J* **16**, 3-20.

41. Scott, T. and Eagleson, M. 1988. *Concise encyclopedia biochemistry*, pp. 333-334, 2nd eds., Walter de Gruyter & Co.: Berlin & New York, Germany.
42. Shiraishi, M., Doi, Y., Kayashima, K. and Fujimoto, S. 2008. Antioxidant enzyme immunoreactivity in rat von Ebner gland after nickel treatment. *Med Mol Morphol* **41**, 44-52.
43. Smart, J. D. 2004. Lectin-mediated drug delivery in the oral cavity. *Adv Drug Deliv Rev* **56**, 481-489.
44. Spicer, S. S. and Schulte, B. A. 1992. Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically: A perspective. *J Histochem Cytochem* **40**, 1-38.
45. Tseng, C. Y., Lue, J. H., Lee, S. H., Wen, C. Y. and Shieh, J. Y. 2001. Evidence of neuroanatomical connection between the superior cervical ganglion and hypoglossal nerve in the hamster as revealed by tracttracing and degeneration methods. *J Anat* **198**, 407-421.
46. Tseng, C. Y., Wei, I. H., Chang, H. M., Lue, J. H., Wen, C. Y. and Shieh, J. Y. 2005. Ultrastructural identification of a sympathetic component in the hypoglossal nerve of hamsters using experimental degeneration and horseradish peroxidase methods. *Cells Tissues Organs* **180**, 117-125.
47. Vogel, P., Payne, B. J., Read, R., Lee, W. S., Gelfman, C. M. and Kornfeld, S. 2009. Comparative pathology of murine mucolipidosis type II and IIIC. *Vet Pathol* **46**, 313-324.
48. Youn, J. M., Jo, G. J. and Jo, U. B. 1999. Lectin histochemistry for studying glycoconjugates in rat lingual salivary glands during the postnatal development. *Korean J Phys Anthropol* **12**, 243-256.

초록 : 혀인두신경 또는 혀밑신경을 절단한 흰쥐 미각샘의 형태학적 변화와 렉틴조직화학

문용석*
(대구가톨릭대학교 의과대학 해부학교실)

부교감신경 또는 교감신경섬유가 흰쥐 혀 미각샘의 구조와 분비기능에 미치는 영향을 조사할 목적으로 성체 흰쥐의 양쪽 혀인두신경 또는 혀밑신경을 절단한 후 혀 미각샘의 형태학적 변화를 3일부터 21일까지 관찰하였고, PSA, UEA I, GSL I B_4, ECL, DBA, SBA, HPA, SJA 및 sWGA의 9가지 렉틴을 이용한 렉틴조직화학을 실시하여 미각샘의 복합당질의 특성과 분비양상을 비교하였다. 혀인두신경을 절단한 혀 미각샘은 3일군부터 장액샘꽈리에서 세포질 공포가 나타났으며 10일군에서는 공포가 매우 커지고 미각샘의 구조가 급격히 퇴화되었다. 반면, 혀밑신경을 절단한 혀 미각샘의 구조는 대조군에 비하여 형태학적 변화를 보이지 않았다. 렉틴조직화학의 결과 대조군에서 혀 미각샘은 α-D-galactose, N-acetyl-D-galactosamine 및 N-acetyl-D-glucosamine oligomer 성분의 복합당질을 합성하였고, 혀인두신경을 절단한 10일군부터 그 양은 급격히 감소하였다. 그러나, 혀밑신경을 절단한 혀 미각샘의 복합당질 양상은 21일군까지 대조군과 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과들은 부교감신경섬유를 포함한 혀인두신경이 흰쥐 혀 미각샘의 구조 유지와 분비기능에 중요한 역할을 담당하고 있음을 제시한다.