

Quantitative Ultrastructural Analysis of Endings Presynaptic to the Tooth Pulp Afferent Terminals in the Trigeminal Oral Nucleus

Suk-Ki Lee^{1,+}, Tae Heon Kim^{1,+}, Cheon-Hee Lee², Sook Kyung Park¹ and Yong Chul Bae^{1,*}

¹Department of Anatomy and Neurobiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu 700-412, Korea

²Department of Dental Hygiene, Andong Science College, Andong 760-709, Korea

(received August 20, 2016; revised September 09, 2016; accepted September 10, 2016)

The ultrastructural parameters related to synaptic release of endings which are presynaptic to tooth pulp afferent terminals (p-endings) were analyzed to understand the underlying mechanism for presynaptic modulation of tooth pulp afferents.

Tooth pulp afferents were labelled by applying wheat-germ agglutinin conjugated horseradish peroxidase to the rat right lower incisor, whereafter electron microscopic morphometric analysis with serial section and reconstruction of p-endings in the trigeminal oral nucleus was performed. The results obtained from 15 p-endings presynaptic to 11 labeled tooth pulp afferent terminals were as follows.

P-endings contained pleomorphic vesicles and made symmetrical synaptic contacts with labeled terminals. The p-endings showed small synaptic release-related ultrastructural parameters: volume, $0.82 \pm 0.45 \mu\text{m}^3$ (mean \pm SD); surface area, $4.50 \pm 1.76 \mu\text{m}^2$; mitochondrial volume, $0.15 \pm 0.07 \mu\text{m}^3$; total apposed surface area, $0.69 \pm 0.24 \mu\text{m}^2$; active zone area, $0.10 \pm 0.04 \mu\text{m}^2$; total vesicle number, 1045 ± 668.86 ; and

vesicle density, $1677 \pm 684/\mu\text{m}^2$. The volume of the p-endings showed strong positive correlation with the following parameters: surface area ($r=0.97$, $P<0.01$), mitochondrial volume ($r=0.56$, $P<0.05$), and total vesicle number ($r=0.73$, $P<0.05$). However, the volume of p-endings did not positively correlate or was very weakly correlated with the apposed surface area ($r=-0.12$, $P=0.675$) and active zone area ($r=0.46$, $P=0.084$).

These results show that some synaptic release-related ultrastructural parameters of p-endings on the tooth pulp afferent terminals follow the "size principle" of Pierce and Mendell (1993) in the trigeminal nucleus oralis, but other parameters do not. Our findings may demonstrate a characteristic feature of synaptic release associated with p-endings.

Key words: tooth pulp, afferent, presynaptic ending, ultrastructure, morphometry

*Correspondence to: Yong Chul Bae, DDS, PhD, Department of Anatomy and Neurobiology, School of Dentistry, Kyungpook National University, 188-1, 2-Ga, Samdeok-Dong, Jung-Gu, Daegu 700-412, Korea

Tel: 053-660-6860, Fax: 053-426-7731

E-mail: ycbae@knu.ac.kr

⁺These authors contributed equally to this work.

ORCID : 0000-0002-7618-418X

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.

서론

얼굴 및 입안의 감각은 삼차신경감각핵군으로 전달되며 이 감각핵군은 세포구축학적으로 삼차신경주감각핵(trigeminal nucleus principalis, Vp), 삼차신경입쪽핵(trigeminal nucleus oralis, Vo), 삼차신경중간핵(trigeminal nucleus interpolaris, Vi), 삼차신경꼬리핵(trigeminal nucleus caudalis, Vc) 등 4 부분으로 구성된다[1]. 이중 삼차신경주감각핵은 두개안면 부위의 촉각이나 압각을 중계하여 시상으로 전달하며 분별 촉각 등 복잡한 감각의 처리에 관여한다[2-4].

삼차신경입쪽핵은 입안에서 유해자극을 전달받아 주로 삼차신경운동핵(trigeminal motor nucleus)으로 투사하여 아래턱운동이나 아래턱반사의 조절에 관여하는 것으로 생각되고 있다[4-9]. 삼차신경중간핵은 입쪽핵과 함께 촉각의 전달에도 관여하지만 치아로부터 동통 섬유를 받기도 하며 삼차신경꼬리핵은 주로 동통과 온도의 전달에 관여한다고 일반적으로 알려져 있다[10, 11].

최근 형태측정법(morphometry)의 발달로 신경전달물질의 분비와 밀접한 상관관계를 가지는 신경종말의 부피, 인접부위의 면적(apposed surface area), 사립체의 부피(mitochondrial volume), 연접소포의 수, 활성부위(active zone)의 수와 면적 등과 같은 여러 가지 변수(parameter)에 대한 분석이 많이 수행되어 왔다. 특히 Horseradish peroxidase (HRP) 등 신경표식자를 이용하여 기능이나 기원을 확인한 신경섬유의 종말에 대한 분석을 통해 이들 특정 신경섬유종말에서 신경전달물질의 분비와 관련된 많은 유용한 정보를 얻을 수 있게 되었다. 이와 같은 연구로는 척수에서 Ia 들신경종말[12, 13], 고양이 삼차신경주감각핵에서 코털 기원의 신경종말[14], 고양이 위삼차신경핵(supratrigeminal nucleus)에서 치아인대 기원의 신경종말[15], 삼차신경주감각핵 및 입쪽핵에서 혀유래 들신경종말[16] 등을 예로 들 수 있다.

치수를 지배하는 신경은 대부분이 A δ 및 C형 신경섬유와 같은 유해성 신경섬유로 구성되어 있으며, 이들은 삼차신경 감각핵으로 투사하여 연접을 거친 후 고위뇌중추로 투사한다. 이전의 연구[17]는 치수지배 신경섬유종말은 삼차신경 감각핵의 각 아핵에서 각기 다른 연접양식을 보인다고 보고하였는데 이는 각 아핵에서 치수유래 감각 정보가 처리되는 양식이 서로 다를 것이라는 것을 의미한다. 삼차신경입쪽핵의 많은 신경세포들은 삼차신경운동핵으로 투사함으로써 반사회로에 관여하는데, 치아에 유해자극을 가할 때 야기되는 반사회로에서 치수지배신경종말의 연접이전억제에 관여하는 연접이전종말의 연접분비와 관련된 요소들의 특징에 대해서는 알려진 바가 없다. 이를 밝히면 치수감각정보의 중추 내 전달과정 중 반사와 연관된 회로에서의 정보처리 기전을 이해할 수 있다. 본 연구에서는 치수신경 반사회로에서의 정보처리 기전을 이해하기 위해, 삼차신경입쪽핵에서 치수에서 유래하는 들신경섬유종말을 신경추적자를 이용하여 표식한 다음, 이와 연접하는 연접이전종말(presynaptic ending; p-ending)의 미세구조적 특징을 살펴보고, 연접분비와 밀접한 상관관계가 있는 요소들에 대하여 형태측정법을 이용하여 계측하고 분석함으로써 p-ending의 연접특성을 밝히고자 한다.

재료 및 방법

1. 동물실험 및 조직처리

체중 약 260 g의 흰쥐 3마리를 사용하여 결과를 도출하였으며, 실험동물의 보호 및 처치는 경북대학교 실험동물위원회(Intramural Animal Care and Use Committee)의 승인을 받아서 진행하였다. 실험동물은 sodium pentobarbital (40 mg/kg, i.p.)로 마취한 후 아래턱의 모서리를 따라 피부를 절개한 후 뼈를 노출시켰다. 노출된 뼈의 모서리부위를 치과용 드릴로 구멍을 뚫은 뒤 이어서 아래턱 앞니의 뿌리부분을 확인하고 구멍을 뚫어서 치수를 노출시켰다. Hamilton syringe에 연결한 30 gauge의 치과용 주사바늘을 이용하여 신경추적자인 wheatgerm agglutinin conjugated horseradish peroxidase (WGA-HRP, 2% in saline; Sigma, Type IV, St. Louis, MO, USA) 0.3 μ l를 치수 내에 약 30분간 주입하였다. 36시간 정도 동물을 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 0.1M PB, pH 7.4)으로 45분간 관류고정하였으며, 뇌줄기를 제거한 다음 4°C의 동일 고정액에 3시간 정도 후고정 하였다. 그 후 뇌줄기를 진동절편기(vibratome)를 이용하여 60 μ m 두께의 횡단 연속절편으로 만들어 tungstate/tetramethylbenzidine protocol에 의해 WGA-HRP를 가시화 한 다음 diaminobenzidine (0.25 mg/ml in 0.1 M PB, pH 6.0)으로 절편을 안정화하였다. 그 후 광학현미경하에서 습뇌뒤뿌를 관찰하여 삼차신경입쪽핵에서 HRP 반응산물이 풍부하게 존재하는 절편을 골라 1% osmium tetroxide 용액에서 1시간 정도 후고정을 시행하였다. 그 후 계열의 알코올을 거쳐 절편을 두장의 Aclar plastic (Ted Pella; Redding CA, USA) 사이에 넣어 Durcupan ACM (Fluka, Switzerland)으로 포매하여 58°C에서 48시간 동안 경화하였다. 표식된 축삭이 함유되어 있는 절편부위를 취하여 레진 막대에 접착제로 붙인 다음 연속 초박절편을 형성하였다.

2. 전자현미경 관찰 및 형태측정법을 이용한 분석

투과전자현미경(Hitachi H-7500)으로 HRP의 반응 산물인 전자밀도가 치밀한 결정이 함유되어 있는 표식 축삭종말을 모든 연속절편에서 촬영한 후 인화하여 표식종말과 연접소포의 모양, 주위 신경그물의 미세구조 및 연접양식 등을 관찰하였다.

11개의 표식종말에 연접하는 15개의 p-ending을 대상으로 형태측정법을 이용한 분석을 시행하였다. P-ending에 대한 정량적 분석을 위해서는 IBM컴퓨터에 연결한

디지털화장치(digitizer) 및 화상분석프로그램(NIH image v1.45; NIH, Bethesda, MD, USA)을 이용하였으며 1) p-ending의 면적, 2) 사립체가 차지하는 면적, 3) 활성부위의 길이, 4) 인접부위의 길이를 측정한 다음 각 측정값에 절편의 평균 두께를 곱하여 부피 및 면적을 계산하였다. 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 수행한 결과, 측정결과는 실험동물별로 유의한 차이가 없어 통합하여 분석을 시행하였다. P-ending의 부피와 사립체의 부피, 활성부위 면적 등의 상관관계분석은 피어슨의 상관관계수(Pearson's correlation coefficient)를 이용하여 확인하였다.

결 과

1. 광학 및 전자현미경적 검정

광학현미경적 관찰에서 치수신경의 WGA-HRP 반응산물은 삼차신경주감각핵 및 삼차신경입쪽핵의 등쪽안쪽(dorsomedial) 부분에서 밀집되어 나타났으며 삼차신경척수핵에서도 많이 관찰되었다. 본 연구에서는 삼차신경입쪽핵에서 관찰된, 치수신경에서 유래하는 11개의 표식된 신경종말에 연결하는 15개의 p-ending을 대상으로 미세구조에 대한 정량적 분석을 시행하였다.

전자현미경적 검색에서 WGA-HRP의 반응산물이 표식종말 및 축삭 내에서 전자밀도가 치밀한 결정 혹은 막대모양으로 관찰되었다(Figs. 1, 2). 때때로 반응산물이 표식종말의 막을 따라 존재하기도 하였으나 세포체, 가

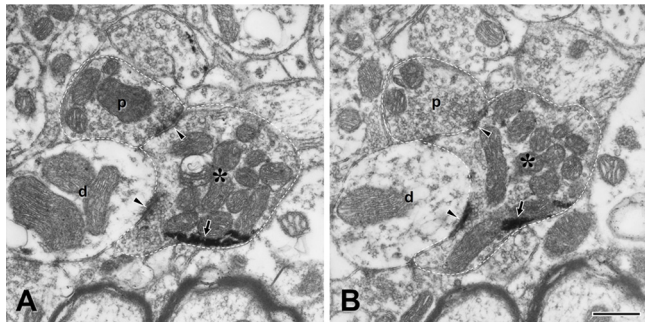


Fig. 1. Electron micrographs showing tooth pulp afferent terminal and its presynaptic endings (p-ending, p) in the trigeminal oral nucleus. The tooth pulp afferent terminal (asterisk), which is labeled by WGA-HRP and shows crystalline TMB reaction product (arrow) in it, is presynaptic to one dendritic shaft (d) and receives synaptic input from pleomorphic vesicles containing p-ending (p). The labeled bouton is larger than the p-ending. Arrowhead indicates sites of synaptic contact. Bouton and p-ending are demarcated by dotted lines. Section A is approximately 210 nm apart from the section B in serial sections. Scale bar = 500 nm.

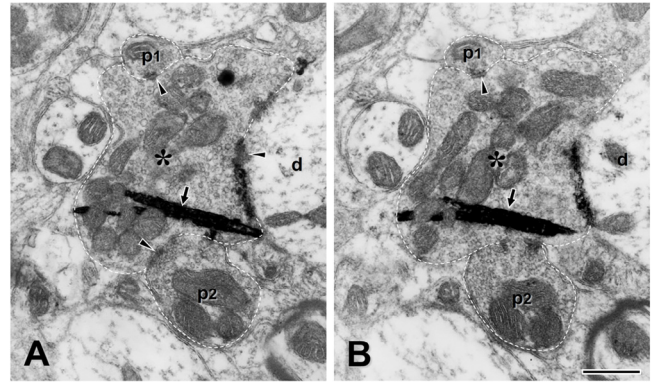


Fig. 2. Electron micrographs showing the WGA-HRP labeled bouton (asterisk) that is presynaptic to one dendrite (d) and postsynaptic to two pleomorphic vesicles containing endings (p-endings, p1 and p2) in the trigeminal oral nucleus. Synaptic contact with dendrite is larger than that with p-endings in labeled bouton. The labeled bouton is larger and contains many mitochondria in contrast the p-endings. Arrowheads indicate sites of synaptic contacts. Note the crystalline TMB reaction product in labeled bouton (arrow). Bouton and p-ending are demarcated by dotted lines. Section A is approximately 210 nm apart from the section B in serial sections. Scale bar = 500 nm.

지돌기 및 아교세포(glial cell)내에 나타나는 신경세포간 표식(transsynaptic labeling) 양상은 관찰되지 않았다. 표식종말 내에는 직경 45-55 nm의 투명하고 둥근 소포가 밀집되어 나타났으며, 때때로 직경이 90-120 nm인 1-2개의 큰 치밀소포(dense cored vesicle)가 함유되어 있었다. 이러한 치수유래 표식종말은 대부분 중간 또는 면쪽 가지돌기와 연결을 이루었으며, 세포체와 연결하는 경우는 대단히 드물었다. 표식종말은 가지돌기와 연결부위가 넓고 연결이후 치밀질이 뚜렷한 비대칭연접을 형성하였다. 이에 비해, p-ending은 타원형, 난원형, 구형 등 여러 형태의 소포들을 함유하였으며, 일차들신경종말과 연결이후 치밀질이 발달하지 않은 대칭연접을 이루었다. 또한 이들은 표식된 일차들신경종말에 비해 크기가 작고 함유하고 있는 연결소포나 사립체의 수도 적었다.

2. 형태측정법을 이용한 정량적 분석

형태측정법을 이용한 분석결과 p-ending의 부피는 $0.82 \pm 0.45 \mu\text{m}^3$ (mean \pm SD)이었고 최소값은 $0.11 \mu\text{m}^3$, 최대값은 $1.78 \mu\text{m}^3$ 이었다. P-ending의 표면적은 $4.50 \pm 1.76 \mu\text{m}^2$ 이었고 최소값은 $1.39 \mu\text{m}^2$, 최대값은 $7.38 \mu\text{m}^2$ 이었다. 또한 p-ending에 함유된 사립체의 부피는 $0.15 \pm 0.07 \mu\text{m}^3$ 이었고 최소값은 $0.03 \mu\text{m}^3$, 최대값은 $0.25 \mu\text{m}^3$ 이었다. 전체 인접부위의 면적(total apposed surface area)은 $0.69 \pm 0.24 \mu\text{m}^2$ 이었고 최소값은 $0.30 \mu\text{m}^2$, 최대값은 $1.10 \mu\text{m}^2$ 이었다. 활성부위의 면적은 $0.10 \pm 0.04 \mu\text{m}^2$ 이었고 최소값은

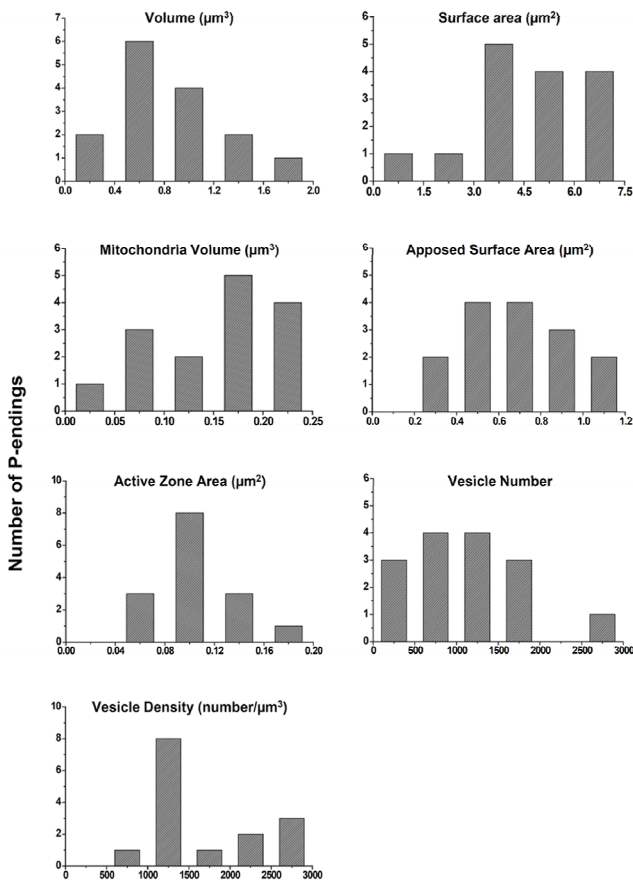


Fig. 3. Distribution of the ultrastructural parameters of endings (p-endings) which are presynaptic to the WGA-HRP labelled tooth pulp afferent terminals in the dorsomedial part of the trigeminal oral nucleus. Fifteen p-endings are analyzed.

0.04 μm^2 , 최대값은 0.19 μm^2 이었다. P-ending에 함유된 전체 연접소포의 수는 1045 ± 668.86 개이었으며 최소값은 120개, 최대값은 2688개이었다. 연접소포의 밀도는 1677 ± 684 개/ μm^2 이었다(Fig 3).

3. 각 항목간의 상관관계

본 연구에서 p-ending의 부피는 p-ending의 표면적($r=0.97, P<0.01$), 사립체의 부피($r=0.56, P<0.05$), 전체 연접소포의 수($r=0.73, P<0.05$) 등과 강한 양의 상관관계를 나타내었다. 하지만 인접부위의 면적($r=-0.12, P=0.675$)이나 활성부위의 면적($r=0.46, P=0.084$) 등과는 유의한 상관관계를 보이지 않았다(Fig 4).

고찰

1. P-ending과 크기의 원리

Pierce와 Mendell [13]은 신경전달물질의 분비와 관련이 있는 인접부위의 면적, 사립체의 부피, 연접소포의 수, 활성부위의 수와 면적 등이 신경종말의 부피와 직접적으로 관련을 가진다고 하는 “크기의 원리(size principle)”를 발표하였다. 이후의 보고들은 이러한 “크기의 원리”가 운동 신경계 뿐만 아니라 삼차신경주감각핵에서 고양이 코털 기원의 신경종말[14]이나 위삼차신경핵에서 치아인대 유래 신경종말과 축삭사이연접을 구성하는 p-ending [15] 등에서도 역시 적용될 수 있다고 하였다. 그 후 남 등[18]은 두 점 식별이나 위치분별에 주로 관여한다고 알려진 삼차신경주감각핵에서 치수유래 일차신경종말에 연접하는 p-ending은 GABA에 면역양성반응을 보이며 미세구조적으로 분석한 결과, 크기의 원리를 따른다고 보고하였다.

본 실험을 통해 삼차신경입측핵에서 치수유래 일차들 신경종말에 연접하는 p-ending을 확인하고 형태측정법을 이용하여 분석한 결과 p-ending의 부피는 신경종말의 표면적($r=0.97, P<0.01$), 사립체의 부피($r=0.56, P<0.05$), 전체 연접소포의 수($r=0.73, P<0.05$) 등과 강한 양의 상관관계를 나타냄으로써 크기의 원리가 적용된다고 할 수 있다. 하지만 인접부위의 면적($r=-0.12, P=0.675$)이나 활성부위

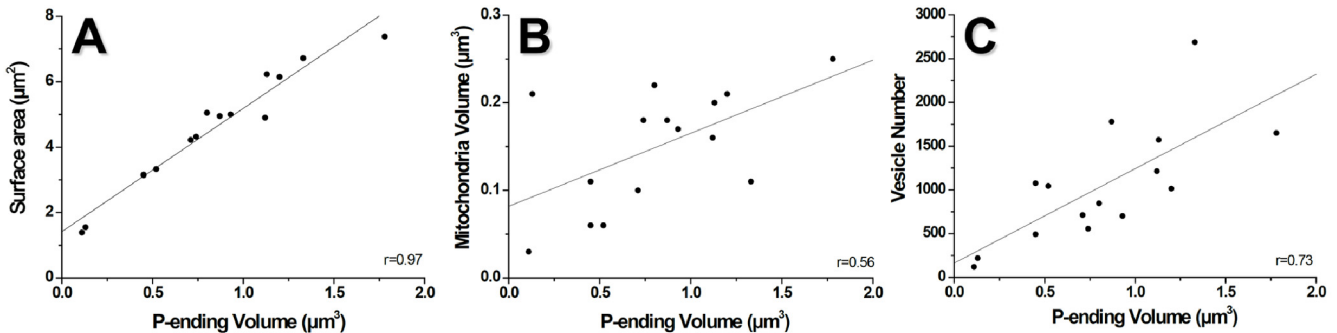


Fig. 4. Correlations between bouton volume of p-ending and other ultrastructural parameters related to synaptic release: surface area (A), mitochondrial volume (B) and vesicle number (C). Surface area, mitochondrial volume and vesicle number are positively correlated with p-ending volume. (r =correlation coefficient, $p<0.01$ for surface area, $p<0.05$ for mitochondrial volume and vesicle number).

의 면적($r=0.46$, $P=0.084$) 등의 항목은 부피와 유의한 상관 관계를 보이지 않거나 낮은 상관관계를 보였다. 이는 Bae 등[15]의 보고에서 다른 항목의 경우 상관 계수가 높는데 비하여 인접부위 면적과 활성부위 면적에서 신경종말의 부피와의 상관계수가 상대적으로 상당히 낮았던 점과 유사하다고 생각한다. 또한 Zhang 등[16]의 보고에서도 이런 p-ending의 특징이 나타난다. 이들은 삼차신경입쪽핵 및 주감각핵의 등쪽핵에서 혀유래 들신경종말에 연결하는 p-ending을 분석하면서 인접면적($r=0.58$, $P=0.165$) 및 활성부위의 면적($r=0.27$, $P=0.319$) 등이 p-ending 부피와 양의 상관관계를 가진다고 하였으나 상관계수(r)가 비교적 낮은 값이며 P 값은 매우 높아 신뢰도가 떨어진다. 뿐만 아니라 Nam 등[18]의 보고에서도 비록 위에서 언급한 대부분의 항목에서 크기의 원리를 따르는 것으로 되어 있으나 다른 항목에 비하여 인접부위의 면적이나 활성부위의 면적은 상대적으로 낮은 상관계수를 나타내고 있다. 따라서 이런 경향은 비록 부위에 따라서 정도의 차이는 있지만 일차들신경섬유종말과는 다른 p-ending만이 가지는 특징으로 생각할 수 있을 것이다. 이를 좀 더 명확히 증명하기 위해서는 더 많은 부위에서 충분한 수의 p-ending이 형태학적으로 분석되어야 할 필요가 있다고 생각한다.

2. P-ending의 의의 및 회로

1) P-ending에 관한 연구들

P-ending이란 다양한 형태의 연결소포(pleomorphic vesicle)를 함유하고 있는 신경종말을 일컬으며 Conradi 등[19]에 의한 신경종말이 함유하고 있는 연결소포의 형태에 따라 신경종말을 분류한 것이 유래이다. 최근에는 다른 신경종말과 축삭사이연접(axoaxonic synapse)을 형성하는 연접이전종말 중 다양한 형태의 연결소포를 함유하는 신경종말의 의미로 많이 사용되고 있다.

단일축삭 내 HRP 주입법을 통해 치아인대의 저역치 기계자극 수용기에서 유래하는 일차들신경섬유 종말 및 이와 대칭연접을 이루는 p-ending의 미세구조, 연접양상 및 이들의 부피 등을 분석한 연구[15]에서 p-ending은 종말의 부피, 사립체의 부피 등에 있어서 일차들신경섬유 종말부보다 작다고 보고하였고 아울러 분석한 모든 p-ending은 GABA에 면역양성 반응을 보인다고 하였다. 또한 Bae 등[20]은 삼차신경절에 CTB-HRP를 주입한 후 삼차신경계의 각 아핵에서 관찰되는 일차 신경종말에 연결하는 연접이전 종말 중 많은 수가 GABA에 면역양성 반응을 보이며, 형태학적으로 GABA에 양성인 신경종말은 다양한 형태의 연결소포를 함유한다고 하였다.

일차들신경섬유에 의한 감각정보의 전달은, 흥분성 신호의 연접이전역제에 의해 일차들신경섬유종말부의

함유 신경전달물질의 분비량이 조절됨으로써 조절되는데 이는 형태학적으로 축삭사이연접에 의해 야기된다고 생각되어지고 있다. 많은 연구들에 의해 삼차신경계 내에서 PAD (primary afferent depolarization)가 보고되고 있는데, 큰술기핵(raphe magnus nucleus) 및 인접 그물체(reticular formation)를 전기자극하면 PAD가 야기되며 이는 glycine 길항제인 strychnine 투여시에는 영향이 없으나 bicuculline 투여시에는 상쇄됨으로써 GABA가 이에 관여할 것이라고 추측되고 있다[21-25]. 실제로 면역조직 화학적 방법으로 GABA를 함유하는 것으로 확인된 많은 p-ending들이 이러한 PAD에 관여할 것으로 추측되며. 본 연구에서 관찰된 대칭성 연접이나 다양한 형태의 연접소포 등도 이러한 사실을 형태학적으로 뒷받침해주고 있다.

2) 회로

삼차신경입쪽핵의 들신경 및 날신경회로를 살펴보면 다음과 같이 알려져 있다. 치수로부터의 감각을 중계하는 삼차신경시상경로를 구성하는 삼차신경 아핵(subnucleus)은 삼차신경주감각핵의 등쪽핵, 삼차신경중간핵의 꼬리쪽 2/3, 삼차신경꼬리핵의 I 및 V 층이다. 본 실험의 연구 대상인 삼차신경입쪽핵 및 삼차신경중간핵의 입쪽 1/3은 삼차신경시상경로의 형성에 거의 관여하지 않는다[26-28]. 하지만 최근의 연구에 의하면 삼차신경입쪽핵의 등쪽안쪽에서 삼차신경결핵(juxtatrigenial nucleus, JX)으로 투사하며 이때 신호를 받은 신경세포가 다시 반대쪽 시상으로 투사한다고 보고되고 있다[29].

삼차신경입쪽핵은 치수뿐만 아니라 구강으로부터 유해 자극이 전달되는 경로이다[7-9]. 한편 팔결핵(parabrachial nucleus)과도 회로가 연결되어 신호를 주고받는다. Yoshida 등[30]은 팔결핵에서 삼차신경주감각핵, 삼차신경입쪽핵, 삼차신경중간핵, 삼차신경꼬리핵의 II 층 등으로 신경섬유가 투사함을 보고하였고, Allen 등[31]은 삼차신경척수핵 즉, 삼차신경입쪽핵, 삼차신경중간핵, 삼차신경꼬리핵 등에서 팔결핵으로 투사하여 얼굴 및 구강으로부터의 유해자극이 심장순환계에 영향을 미친다고 하였다.

또한 삼차신경입쪽핵의 등쪽안쪽은 삼차신경운동핵, 그물체, 삼차신경중간핵의 등쪽안쪽, 12번째 뇌신경핵(XII) 등과 함께 삼차신경중뇌핵(trigeminal mesencephalic nucleus)으로부터 투사를 받는다[32]. 한편 삼차신경입쪽핵은 삼차신경주감각핵, 삼차신경중간핵 등과 함께 소뇌[33, 34] 및 시상하부[35]로도 투사한다고 알려져 있다.

이상의 보고들을 살펴보면 본 연구에서 관찰된 p-ending들은 팔결핵이나 삼차신경중간뇌핵 등으로부터 유래할 가능성이 있으며 정확한 회로를 밝히기 위해 많

은 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2015년도 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(2008-0062282).

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicting interest.

References

- Olszewski J. On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. *J Comp Neurol.* 1950;92:401-413.
- 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.* 1983;220:219-228.
- Tsuru K, Otani K, Kajiyama K, Suemune S, Shigenaga Y. Central terminations of periodontal mechanoreceptive and tooth pulp afferents in the trigeminal principal and oral nuclei of the cat. *Brain Res.* 1989;485:29-61.
- Yoshida A, Hasuda K, Dostrovsky JO, Bae YC, Takemura M, Shigenaga Y, Sessle BJ. Two major types of premotoneurons in the feline trigeminal nucleus oralis neurons as demonstrated by intracellular staining with HRP. *J Comp Neurol.* 1994;347:495-514.
- Shigenaga Y, Mitsuhiro Y, Yoshida A, Cao CQ, Tsuru H. Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating masseter muscle of the cat. *Brain Res.* 1988;445:392-399.
- Shigenaga Y, Yoshida A, Mitsuhiro H, Tsuru K, Doe K. Morphological and functional properties of trigeminal nucleus oralis neurons projecting to the trigeminal motor nucleus of the cat. *Brain Res.* 1988;416:143-149.
- Sugimoto T, He YF, Funahashi M, Ichikawa H. Induction of immediate-early genes c-fos and zif268 in the subnucleus oralis by noxious tooth pulp stimulation. *Brain Res.* 1998;794(2):353-358.
- Sugimoto T, He YF, Xiao C, Ichikawa H. c-fos induction in the subnucleus oralis following trigeminal nerve stimulation. *Brain Res.* 1998;783(1):158-162.
- Oakden EL, Boissonade FM. Fos expression in the ferret trigeminal nuclear complex following tooth pulp stimulation. *Neuroscience.* 1998;84(4):1197-1208.
- Kiernan JA. Barr's the human nervous system, An anatomical viewpoint. 7th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998. p. 157-162.
- Bae YC, Yoshida A. Ultrastructural basis for craniofacial sensory processing in the brainstem. *Int Rev Neurobiol.* 2011;97:99-141. doi: 10.1016/B978-0-12-385198-7.00005-9. Review.
- Nicol MJ, Walmsley B. A serial section electron microscope study of an identified Ia afferent collateral in the cat spinal cord. *J Comp Neurol.* 1991;314:257-277.
- Pierce JP, Mendell LM. Quantitative ultrastructure of Ia boutons in the ventral horn: scaling and positional relationships. *J Neurosci.* 1993;13:4748-4763.
- 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.* 1997;389(1):12-33.
- Bae YC, Park KP, Yoshida A, Nakagawa S, Kurata S, Takemura M, Shigenaga Y. Identification of gamma aminobutyric acid (GABA)-immunoreactive axon endings associated with periodontal mesencephalic afferent terminals and morphometry of the two types of terminal in the cat supratrigeminal nucleus. *J Comp Neurol.* 1997;389:127-138.
- Zhang LF, Moritani M, Honma S, Yoshida A, Shigenaga Y. Quantitative ultrastructure of slowly adapting lingual afferent terminals in the principal and oral nuclei in the cat. *Synapse.* 2001;41(2):96-111.
- 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.* 2003;463:13-24.
- 남혜경, 최갑식, 박국필, 배용철. 삼차신경주감각핵에서 치수유래 들신경섬유 종말의 정량적 분석. *대한해부학회지.* 2002;35(5):439-452.
- Conradi S. Ultrastructure and distribution of neuronal and glial elements on the motoneuron surface of the spinal cord of the adult cat. *Acta Physiol Scand suppl.* 1969;332:5-48.
- Bae YC, Ihn HJ, Park MJ, Ottersen OP, Moritani M, Yoshida A, Shigenaga Y. Identification of signal substances in synapses made between primary afferents and their associated axon terminals in the rat trigeminal sensory nuclei. *J Comp Neurol.* 2000;418:299-309.
- Nakamura Y, Murakami T, Kikuchi M, Kubo Y, Ishimine S. Analysis of the circuitry responsible for primary afferent depolarization in the trigeminal spinal nucleus caudalis of cats. *Exp Brain Res.* 1977;29(3-4):405-418.
- Lovick TA. Primary afferent depolarization of tooth pulp afferents by stimulation in nucleus raphe magnus and the adjacent reticular formation in the cat: effects of bicuculline. *Neurosci Lett.* 1981;25(2):173-178.
- Lovick TA. The role of 5-HT, GABA and opioid peptides in presynaptic inhibition of tooth pulp input from the medial brainstem. *Brain Res.* 1983;289(1-2):135-142.
- Gmelin G, Zimmermann M. Effects of gamma-aminobutyrate and bicuculline on primary afferent depolarization of

- cutaneous fibres in the cat spinal cord. *Neurosci.* 1983;10(3): 869-874.
25. Shyu BC, Leung GM, Hu JW, Sessle BJ. Tooth pulp deafferentation is not associated with changes in primary afferent depolarization of facial afferent endings in the brain stem. *Exp Neurol.* 1993;123(2):243-250.
 26. Burton H, Craig AD Jr. Distribution of trigeminothalamic projection cells in cat and monkey. *Brain Res.* 1979;161(3): 515-521.
 27. Fukushima T, Kerr FW. Organization of trigeminothalamic tracts and other thalamic afferent systems of the brainstem in the rat: presence of gelatinosa neurons with thalamic connections. *J Comp Neurol.* 1979;183(1):169-184.
 28. Shigenaga Y, Nakatani Z, Nishimori T, Suemune S, Kuroda R, Matano S. The cells of origin of cat trigeminothalamic projections: especially in the caudal medulla. *Brain Res.* 1983;277(2):201-222.
 29. Zhang JD, Yang XL. Projections from subnucleus oralis of the spinal trigeminal nucleus to contralateral thalamus via the relay of juxtatrigenial nucleus and dorsomedial part of the principal sensory trigeminal nucleus in the rat. *J Hirnforsch.* 1999;39(3):301-310.
 30. Yoshida A, Chen K, Moritani M, Yabuta NH, Nagase Y, Takemura M, Shigenaga Y. Organization of the descending projections from the parabrachial nucleus to the trigeminal sensory nuclear complex and spinal dorsal horn in the rat. *J Comp Neurol.* 1997;383(1):94-111.
 31. Allen GV, Barbrick B, Esser MJ. Trigeminal-parabrachial connections: possible pathway for nociception-induced cardiovascular reflex responses. *Brain Res.* 1996;715(1-2): 125-135.
 32. Zhang J, Luo P, Pendlebury WW. Light and electron microscopic observations of a direct projection from mesencephalic trigeminal nucleus neurons to hypoglossal motoneurons in the rat. *Brain Res.* 2001;917(1):67-80.
 33. Bukowska D. Trigemino-cerebellar projection to the paramedian lobule with emphasis on the climbing fibre zones: a retrograde tracing study in the rabbit. *J Hirnforsch.* 1996;37(2):159-172.
 34. Ikeda M, Matsushita M. Trigemino-cerebellar projections to the posterior lobe in the cat, as studied by anterograde transport of wheat germ agglutinin-horseradish peroxidase. *J Comp Neurol.* 1992;316(2):221-237.
 35. Malick A, Burstein R. Cells of origin of the trigemino-hypothalamic tract in the rat. *J Comp Neurol.* 1998;400(1):125-144.