

흰쥐 흑색질에서 calbindin 함유 신경세포 분포에 관한 연구

유 영 복

단국대학교 의과대학 해부학교실

간추림 : calbindin은 신경계통에 널리 분포하는 세포내 칼슘결합단백질로서 기능이 정확히 규명되어 있지 않지만, 신경세포 내에서 칼슘의 농도상승에 대한 완충 작용을 할 것으로 추정된다. 파킨슨병, 헌팅톤병, 알츠하이머 병 등의 퇴행성 신경질환과 노화 과정에서 calbindin변화가 유관하며 이들 병적 상태에서는 calbindin 유전자 발현의 감소로 칼슘이온을 매개로 하는 세포독성 과정이 시작되리라 추정된다. 본 연구에서는 정상 흰쥐의 흑색질 조직을 calbindin에 대한 면역조직화학염색을 하여 calbindin함유 신경세포의 형태학적 특징 및 분포를 밝혀 파킨슨병에서 calbindin의 추정되는 신경보호 역할에 관한 기본자료를 제공하고자 실험을 시행하였다.

흰쥐 흑색질에서 calbindin함유세포는 다각형 또는 난원형 모양의 신경세포로서 신경세포체 및 세포질돌기부위에 진하게 염색되었다. calbindin함유 신경세포는 흑색질의 치밀부위보다는 가쪽부위에 주로 분포하였고 부리쪽에서 꼬리쪽에 이르는 전 흑색질 부위에서 비교적 균등하게 분포하였다. 흑색질 한 단면에서 안쪽과 가쪽, 배쪽과 등쪽 부위에서 관찰되는 세포의 염색성은 비교적 비슷했다.

이상의 연구결과는 파킨슨 흰쥐모델에서 흑색질 가쪽 부위에 생존하는 도파민성신경세포가 흑색질 치밀부위보다 더 많다는 보고와 일치되며 calbindin의 추정되는 기능인 신경보호 가능성을 뒷받침해 준다.

찾아보기 낱말 : calbindin, 흑색질, 면역조직화학, 파킨슨병, 칼슘결합단백질, 흰쥐

서 론

calbindin은 생체 신호 전달에 매우 중요한 역할을 담당하는 칼슘이온과 결합하는 칼슘결합단백질로서 EF-hand family에 속한다. EF-hand family는 나선-환상선-나선(helix-loop-helix) 양상의 아미노산 배열을 가지며, 친수성 말단이 Ca^{2+} 과 결합한다. EF-hand family는 calmodulin이나 troponin-C와 같은 촉진성단백질과 완충성단백질로 나뉜다. 완충성 단백질로는 parvalbumin, calbindin, calretinin 등이 알려져 있다. Calbindin은 병아리 십이지장 점막에서 처음 발견된 이후로 포유동물의 신장 및 뇌 조직에서 확인되었다(Baimbridge 등 1982). 뇌 조직의 calbindin은 뇌에서 증가용성 단백질의

1~2%를 구성하며 창자와 콩팥에서와 다르게 비타민 D 투여에 반응하지 않는다(Varghese 등 1988).

calbindin은 사람, 원숭이, 흰쥐, 생쥐 등의 중추신경계와 말초신경계에 분포하며 세포 유형에 따라 특이적으로 발현하기도 하지만 때로는 같은 세포에 두가지가 겹쳐서 발현되는 경우도 있다(Résibosis와 Rogers 1992). 이들의 신경세포 내에서의 기능은 정확히 규명되어 있지 않지만, 신경세포 내에서 칼슘의 농도상승에 대한 완충 작용을 할 것으로 추정된다(Jande 등 1981, Baimbridge 등 1982, Baimbridge 등 1992). 특히 퇴행성 신경질환과 노화 과정에서 칼슘이온이 마지막 매개체로 신경손상에 관여할 것으로 추정되는 연구가 많이 보고되었다(Heizmann 등 1992).

파킨슨병은 병리학적으로 흑색질의 도파민성 신경세포의 소실을 나타내는 퇴행성 신경질환으로 흑색질 치밀부위의 도파민성 신경세포는 이환 기

*이 연구는 2000학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음.

correspondence to : 유영복(단국대학교 의과대학 해부학교실)

간에 비례하여 계속 소실되며 (Fearnley와 Lees 1991), 따라서 신경세포의 소실을 막거나 더디게 할 수 있는 신경보호작용에 대한 연구는 질환의 치료측면에서 매우 중요하다 (Yamada 등 1990, German 등 1992, Iacopino 등 1992). 파킨슨병의 흑색질에서 calbindin과 calbindin mRNA가 감소하며 (Anthony 등 1990), calbindin 함유 신경세포가 잘 생존하고 (Yamada 등 1990) calbindin 함유 신경세포의 분포가 파킨슨병에서 생존세포의 분포와 일치한다 (German 등 1992)는 보고가 있다.

신경세포 생존에 결정적 역할을 할 것으로 여겨지는 calbindin이 중뇌의 도파민성 신경세포에 공존하는 것이 사람, 원숭이, 흰쥐, 생쥐조직에서 확인되었지만 (Rogers 1992) 흰쥐의 흑색질 전 영역에서 calbindin함유 신경세포의 세포조직학적 자료는 없다. 많은 파킨슨 동물모델을 원숭이, 흰쥐, 생쥐 등 다양한 동물로 만들어 행동학적 반응, 생화학적 수치를 근거로 calbindin의 추정되는 기능에 대해 연구되어 왔으나 세포 및 형태학적 동정을 바탕으로 한 연구는 소수이다. 이에 본 연구자는 신경독소에 영향받는 특정 신경세포 및 세포집단에 대한 세포조직학적 기본 자료로써 흰쥐의 흑색질 전 영역에 걸쳐 calbindin함유 신경세포의 분포를 밝혀 파킨슨병에서 calbindin의 추정되는 신경보호 역할을 검증하는 연구에 기본자료를 제공하고자 본 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

280~300g의 Sprague-Dawley계 정상 수컷 흰쥐 5마리를 도살하기 전까지 12시간 밤/낮을 유지하며 사료와 물을 자유로이 먹을 수 있게 조건을 동일화하였다.

2. 조직 처리

Ether로 취를 마취시킨 후 가슴안을 열어 오른심방 귀를 절개함과 동시에 원심실로 peristaltic pump

와 연결된 22G 바늘을 넣고, 생리식염수(4°C)를 약 5분간 관류시켜 혈관내 혈액 성분을 제거하고 phosphate buffer (0.12 M)에 탄 4% paraformaldehyde(4°C)를 뒤이어 10분간 주입하였다. 이때 모든 주입 속도는 50~60 ml/min이 되도록 하며 고정액은 쥐의 체중의 약 2배 정도가 주입되도록 하였다. 머리와 목 부위의 피부를 면도칼로 절개한 다음 bone rongeur forcep을 이용해 안구 앞쪽의 이마뼈를 절단한 후 머리뼈를 열고 뇌를 적출하였다.

Brain slicer에 적출한 뇌를 놓은 다음 면도날로 4~6 mm 간격으로 관상 절개하여 관류고정액과 동일한 고정액에 16~18시간 동안 4°C에서 후고정하였다. 0.12 M phosphate buffered saline (PBS)에 탄 12% sucrose 용액에 조직을 한시간 동안 담가 두고 같은 용액을 1시간마다 두번 더 교환해 주며, 0.12 M PBS에 탄 16% sucrose 용액과 18% sucrose 용액에서 1~3일간 보관하여 sucrose의 침투로 동결시 생기는 결빙 과립 (ice crystal)의 발생을 방지하였다. 이때 보다 높은 농도로의 교환시는 조직이 용액 속으로 가라앉은 것을 확인한 후 교환하였다.

Sucrose 처리를 한 조직은 냉각포매제에 포매하여 액체 질소에 의해 온도가 낮아진 isobutane (2-methyl butane) 속에 넣어서 30초 동안 급속 냉동시키는데 조직이 깨지기 전에 꺼내도록 하였다. Cryostat (Reichert Frigocut, model 2000)에서 냉동 절편을 30 µm 두께로 시행하며, 한장씩을 보존 용액이 들어 있는 다공판 (multiple plate)에 넣어 면역조직화학염색을 시행하기 전까지 저온실에서 보관하였다.

3. 조직 염색

1) Cresyl violet 염색

실험 대상이 되는 동물에서 면역조직화학염색을 시행할 부위를 선택하기 위하여 일정 간격의 뇌조직 절편을 취하여 다음과 같은 방법으로 cresyl violet 염색을 시행하였다.

함수 과정을 거친 조직을 0.5% cresyl violet 용액에 약 15~30분간 반응시키고 3~5분간 증류수에서 색분화 (differentiation)를 시킨 다음 저농도부터

고농도의 alcohol, xylene을 거쳐 polymount에 봉입하였다.

2) calbindin 면역조직화학염색

면역조직화학염색은 자유 부유(free-floating) 방법으로 시행하며 각 단계는 다음과 같다. 30 μm 두께로 자른 조직을 매 4장마다 한장씩을 취하여 anti-calbindin 항체로 면역조직화학염색을 하였다. 조직을 8개의 well이 있는 아크릴 판에 순서대로 넣은 후 0.05 M PBS (pH 7.4)로 15분씩 3회 세척하여 보존액이 조직에 묻어 있지 않게 하였다. 0.1% H_2O_2 (in 0.05M PBS) 용액에 조직을 30분간 처리하여 내인성 peroxidase 활성을 감소시킨 후 0.05 M PBS (pH 7.4)로 15분씩 3회 세척하였다. 2% normal horse serum으로 30분간 진탕시키면서 (shaking) 반응시킨 후 제1항체로서 anti-calbindin 항체를 0.5 mg/ml bovine serum albumin, 1.5% goat serum, 0.3% Triton X-100이 들어 있는 0.05 M PBS (pH 7.4)로 1:300으로 희석하여 4°C에서 48시간 동안 진탕시키면서 반응시킨다. 0.05M PBS (pH 7.4)에서 15분씩 3회 세척후 2차항체인 biotinylated anti-mouse IgG (Vectastain kit)를 0.3% Triton X-100이 들어 있는 0.05 M PBS (pH 7.4)로 1:200으로 희석하여 실온에서 2시간 동안 진탕시키면서 반응시킨다. 다시 0.05 M PBS (pH 7.4)로 15분씩 3회 세척하며 avidin-biotin peroxidase (ABC, Vectastain kit) 용액은 사용 30분전에 미리 1:100으로 희석 혼합하는데 0.3% Triton X-100을 포함한 0.05 M PBS (pH 7.4)로 A 용액 1:100, B 용액 1:100으로 희석하였다. ABC 용액에 실온에서 2시간 동안 진탕시키면서 반응시킨 후 다시 0.05 M PBS (pH 7.4)로 15분씩 3회 세척한 후 0.003% hydrogen peroxidase와 0.05% 3, 3'-diaminobenzidine (Sigma)를 포함한 0.05M PBS (pH 7.4) 용액에서 3~4분간 실온에서 발색(visualize)시킨다. 다시 세척한 후 조직을 gelatin coated slide에 얹어 2시간 이상 실온에서 말려 조직이 슬라이드에 완전히 밀착되면 1차 증류수로 슬라이드를 세척하여 조직에 남아 있는 ion crystal을 제거하였다. 저농도 알코올에서 고농도 알코올로 옮겨가면서 탈수시킨 후 xylene으로 투명화하여

polymount로 봉입하였다. 염색 과정에 대한 대조군에는 1차항체 (anti-TH)만을 제외한 모든 염색 과정을 동일하게 처리하여, 비특이반응 (nonspecific reaction)을 측정하였다.

4. 광학 현미경적 관찰 및 분석

각 쥐마다 같은 좌표의 뇌 관상단면의 흑색질 부위에서 calbindin에 대한 면역염색성을 보이는 신경세포의 분포 및 염색성을 관찰했다. calbindin 면역 염색된 신경세포의 수를 왼쪽과 오른쪽 각각에서 계수하여 평균치를 구했다.

흑색질은 치밀 부위, 가쪽 부위, 그물 부위로 부위별로 계수하는데 calbindin에 면역염색성을 보이는 신경세포를 현미경 200배 확대하여 square eyepiece micrometer (Olympus Co. Japan)를 현미경에 장착시킨 후 일정한 면적 내에서 세포를 계수하였다. 영역 구분은 Paxinos 등(1986)의 부도를 기준으로 시옷점에서 일정한 간격별로 했다.

결 과

흑색질에서 calbindin에 면역염색된 세포들은 크게 세 개의 부위로 구분되는데 배쪽 영역인 그물부위 (substantia nigra reticularis), 그물부위보다 등쪽에 있는 부위를 내측영역과 가쪽영역으로 나누어 안쪽영역을 치밀부위 (substantia nigra compacta)라 하고 가쪽영역을 가쪽부위 (substantia nigra lateralis)라 한다 (Fig. 1).

흑색질에서 calbindin에 면역염색된 세포는 다각형 또는 계란형 모양이며 세포돌기가 두 개 이상 길게 뻗어있는 신경세포로서 신경세포체 및 세포질돌기에 calbindin이 고르게 염색되었다. 세포의 크기는 흑색질 가쪽부위의 calbindin 양성신경세포는 긴지름이 19~25 μm 이고 짧은지름이 7~13 μm 정도 되며 흑색질 치밀부위의 calbindin 양성신경세포의 크기는 가쪽부위의 세포보다 더 작게 관찰되었고 그물부위도 가쪽 부위보다 작게 보이는 한 두 개의 세포가 관찰되었다.

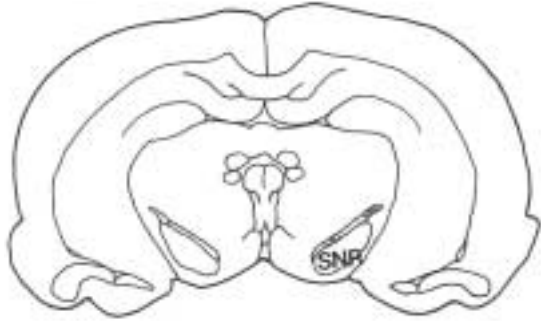


Fig. 1. Schematic diagram of substantia nigra in a rat (Bregma - 5.20 mm).

SNC means substantia nigra compacta

SNL means substantia nigra lateralis

SNR means substantia nigra reticularis

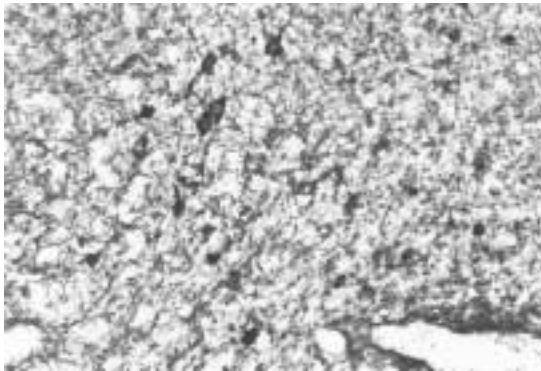


Fig. 2. Calbindin immunostaining of the substantia nigra compacta in a rat. $\times 200$

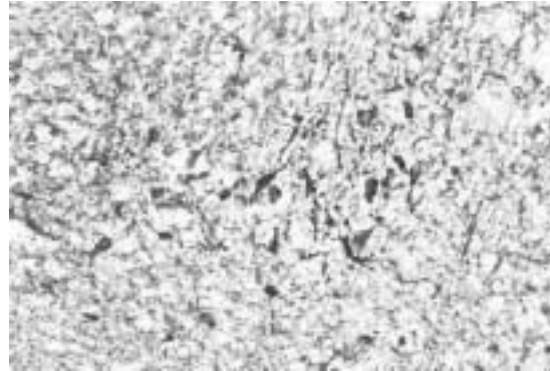


Fig. 3. Calbindin immunostaining of the substantia nigra lateralis in a rat. $\times 200$

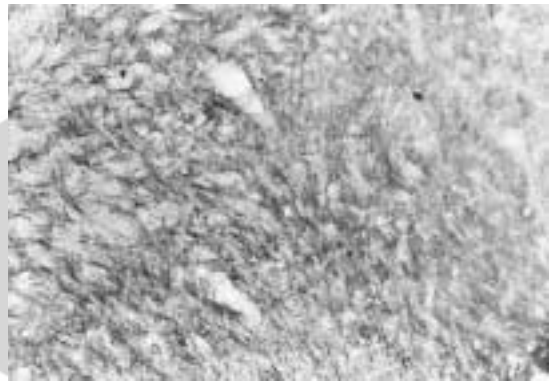


Fig. 4. Calbindin immunostaining of the substantia nigra reticularis in a rat. $\times 200$

흑색질의 부위별로 calbindin 양성신경세포의 수가 달랐다. 정수리점 -5.20 mm 되는 흑색질의 치밀부위에는 11 ± 1.8 개이며 (Fig. 2), 가쪽부위는 17.8 ± 1.4 개이고 (Fig. 3), 그물부위는 2.6 ± 0.7 개가 관찰되었고 부리쪽 (정수리점 -4.80 mm)에서 꼬리쪽 (정수리점 -6.04 mm)에 이르는 전 흑색질 조직단면에서 볼 때 calbindin 양성신경세포는 가쪽부위에서 가장 많았고 그물부위에는 세포성분이 적고 신경섬유성분이 대부분을 차지하였다 (Fig. 4).

부리쪽 단면조직과 꼬리쪽 단면조직을 비교하면 전 흑색질 부위에서 비교적 균등하게 분포되는 양

Table 1. Number of calbindin immunostained cells in the substantia nigra of rat

	SNC	SNL	SNR
Bregma -4.80 mm	9.3 ± 2.5	10.4 ± 2.3	2.1 ± 0.9
Bregma -5.20 mm	11.0 ± 1.8	17.8 ± 1.4	2.6 ± 0.7
Bregma -5.60 mm	10.6 ± 1.3	18.2 ± 1.9	1.9 ± 1.1
Bregma -6.04 mm	8.2 ± 0.9	19.7 ± 2.6	2.7 ± 1.6

Values shown represent the mean S.E. of cell counts made three coronal sections taken at corresponding levels on Paxinos Atlas.

상이지만 정수리점 -4.80 mm되는 조직단면에서는 흑색질 가쪽부위의 calbindin 양성신경세포 수가 중간뇌의 다른 시상단면 조직에 비해 수가 감소되었

다. 또한 동일 단면 조직의 흑색질 치밀부위, 가쪽 부위, 그물부위에 있는 calbindin 양성세포의 염색성은 비교적 비슷하게 관찰되었다.

고 찰

칼슘 이온은 신경세포에서 축삭이동, 신경전달물질의 합성과 분비, 막흐름 과정 등을 활성화하고 조절하는데 단독으로 작용하는 것이 아니라 세포내 칼슘결합단백질과 반응하여 작용한다. calbindin은 신경계통에 널리 분포하는 세포내 칼슘결합단백질로서 조류의 작은창자, 포유동물의 콩팥 및 뇌조직에서 발현되며 (Jande 1981, Baimbridge 등 1982) 사후 기간이 오래된 조직에서도 비교적 면역염색성이 잘 보존되는 안정된 단백질로서 사후의 기간에 따라 염색성의 변화가 없으며 섭씨 37도에서 여러 시간 배양해도 변하지 않는다 (Iacopino 등 1992). 본 실험에서 calbindin에 대한 면역염색을 할 때 인접조직을 섭씨 4도에서 2~3개월 보관후에 염색해도 염색된 세포수가 비슷하여 calbindin이 안정된 단백질임을 보여줬다. calbindin은 신경세포체와 세포돌기에 풍부히 존재하여 실험동물과 사후의 사람 뇌조직에서 여러종류의 신경세포의 표식자로 유용하다 (Resibosis와 Rogers 1992). calbindin의 신경세포 내에서의 기능이 정확히 규명되어 있지 않지만, 신경세포 내에서 칼슘의 농도상승에 대한 완충 작용을 할 것으로 추정된다 (Jande 등 1981, Baimbridge 등 1982, Baimbridge 등 1992).

특히 퇴행성 신경질환과 노화 과정에서 칼슘이온이 마지막 매개체로 신경손상에 관여할 것으로 추정되는 연구가 많이 보고되었다 (Heizmann 등 1992). 정상 상태의 신경세포에서는 calbindin이 칼슘 완충체로 작용하여 세포질내 유리 칼슘이온 농도의 증가를 막지만 파킨슨병, 헌팅톤병, 알츠하이머병 등의 퇴행성 신경질환의 병적 상태에서는 calbindin 유전자 발현의 감소로 칼슘이온을 매개로 하는 세포독성 과정이 시작되리라 추정된다.

퇴행성신경질환인 파킨슨병은 서서히 진행되는 떨림 (tremor), 서동 (bradykinesia), 경직 (rigidity) 등

의 특징적인 운동장애를 보이면서, 병리학적으로 흑색질의 도파민성 신경세포의 소실을 보인다. 파킨슨병의 병인론에 관해서는 아직까지 뚜렷한 사실이 밝혀진 바가 없으나 최근에는 환경적 혹은 내재적인 독소에 의한 산화성 세포손상과 내인적인 병에 대한 감수성 등이 강력하게 거론되고 있다 (Jenner 등 1992, Jenner와 Olanow 1996). 파킨슨병에서 나타나는 흑색질의 도파민성 신경세포는 이환기간에 비례하여 계속 진행적으로 소실되는 것으로 알려져 있으며 (Fearnley와 Lees 1991), 현재까지 이러한 지속적인 신경세포의 소실을 막을 수 있는 뚜렷한 방법은 알려져 있지 않다. 따라서 신경세포의 소실을 막거나 더디게 할 수 있는 신경세포보호작용에 관한 연구는 병의 치료측면에서 매우 중요하다. 파킨슨병의 흑색질에서 calbindin과 calbindin mRNA가 감소하며 (Anthonry 등 1990), calbindin 함유 신경세포가 잘 생존하고 (Yamada 등 1990) calbindin 함유 신경세포의 분포가 파킨슨병에서 생존세포의 분포와 일치한다 (German 등 1992)는 보고들을 살펴보면 칼슘결합 단백질의 하나인 calbindin이 파킨슨병에서 신경세포를 보호하는 작용을 하는 것으로 보인다. Rogers (1992)의 보고에 의하면 흰쥐 뇌에서는 어느 영역보다도 흑색질과 배쪽덜개영역에서 calbindin과 TH의 colocalization이 뚜렷하며 흑색질의 가쪽부위에서 도파민성 신경세포 대다수가 calbindin을 함유한다. 이는 파킨슨 흰쥐모델에서 흑색질 가쪽 부위에 생존하는 TH 양성세포가 흑색질 치밀부위보다 더 많다는 보고와 일치하지만 (Lavoy와 Parent 1991), 이 연구는 뇌의 좌표가 일치되지 않는 조직절편에서 계측된 수치이고 흑색질 전영역이 아닌 한정된 부위에서만 계측된 것이다. 한 절편에서 좌우 분포가 고르지 않아 파킨슨 흰쥐 모델에서 calbindin함유 도파민성신경세포의 생존율 및 분포를 비교할 기본 자료로서 부적절한 면이 있다.

본 연구에서 calbindin함유신경세포가 흑색질의 치밀부위보다 가쪽부위에서 보다 많이 관찰된다는 연구결과는 파킨슨 흰쥐모델에서 생존하는 도파민성 신경 세포가 흑색질의 치밀 부위보다 가쪽 부위에서 더 많다는 보고 (Lavoy와 Parent 1991)와 비

교할 때 calbindin의 추정되는 기능인 신경세포보호의 가능성을 뒷받침해 주는 소견이다. calbindin이 신경변성 및 신경독소에 저항하여 신경보호작용을 할 것이라는 가설은 여러 방향의 연구에서 계속 검증되어야 한다.

파킨슨병 환자의 치료에 있어서 부족한 신경전달물질인 dopamine을 보충해 주는 치료가 비교적 좋은 반응을 나타내기는 하지만, 도파민성 신경세포의 소실은 계속해서 일어나며 환자의 운동 기능은 점차 악화되는 경과를 밟게 된다 (Poewe와 Wenning 1996). 따라서 이러한 신경세포의 소실을 막거나 더디게 할 수 있는 치료에 대한 관심이 매우 높고 실제 임상에서 치료약과 신경영양인자 (neurotrophic factor) 등을 시험하고 있는 단계이다 (Lindsay 등 1993, Parkinson study group, 1993, Koller 1997). 칼슘결합단백질인 calbindin의 신경세포보호 작용은 이런 관점에서 새로운 치료의 가능성을 제시할 수 있는 중요한 단백질로써 본 연구는 향후 파킨슨병 치료의 새로운 가능성을 열어주는 계기가 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

Anthony M, Iacopino A, Christakos S : Specific reduction of calcium-binding protein gene expression in aging and neurodegenerative diseases. PNAS USA 87 : 4078-4082, 1990.

Baimbridge K, Miller J, Parkes C : Calcium-binding protein in the rat brain. Brain Res 239 : 519-525, 1982.

Baimbridge KG, Celio MR, Rogers JH : Calcium-binding proteins in the nervous system. Trends Neurosci 15 : 303-308, 1992.

Fearnley JM, Lees AJ : Aging and Parkinson's disease : substantia nigra regional selectivity. Brain 114 : 2283-2301, 1991.

German DC, Manaye KE, Sonsalla PK, Brooks BA : Mid-brain dopaminergic cell loss in Parkinson's disease and MPTP-induced parkinsonism : sparing of calbindin-D28k containing cells. Ann NY Acad Sci 648 : 42-62, 1992.

Heizmann C, Braun K : Changes in Ca²⁺-binding proteins in

human neurodegenerative disorders. Trends Neurosci 15 (7) : 259-264, 1992.

Iacopino A, Christakos S, German DC, Sonsalla PK, Altar CA : Calbindin D28k-containing neurons in animal models of neurodegeneration. Mol Brain Res 13 : 251-261, 1992.

Jande SS, Tolnai S, Lawson DEM : Immunohistochemical localization of vitamin D-dependent calcium-binding protein in duodenum, kidney, uterus and cerebellum of chickens. Histochemistry 71 : 99-116, 1981.

Jenner P, Schapira AHV, Marsden CD : New insights into the cause of Parkinson's disease. Neurology 42 : 2241-2250, 1992.

Jenner P, Olanow CW : Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. Neurology 47 (Suppl 3) : S161-S170, 1996.

Koller WC : Neuroprotective therapy for Parkinson's disease. Exp Neurol 144 (1) : 24-28, 1997.

Lavoy B, Parent A : Dopaminergic neurons expressing calbindin in normal and parkinsonian monkeys. Neuroreport 2 : 601-604, 1991.

Lindsay RM, Altar CA, Cedarbaum JM, Hyman C, Wiegand SJ : The therapeutic potential of neurotrophic factors in the treatment of Parkinson's disease. Exp Neurol 124 : 103-118, 1993.

Parkinson study group : Effects of tocopherol and deprenyl on the progression of disability in early Parkinson's disease. NEJM 328 : 176-183, 1993.

Paxinos G, Watson C : The rat brain in stereotaxic coordinated. Australia, Academic Press, 1986.

Poewe WH, Wenning GK : The natural history of Parkinson's disease. Neurology 47 (Suppl 3) : S146-S152, 1996.

R sibois A, Rogers JH : Calretinin in rat brain : An immunohistochemical study. Neuroscience 46 (1) : 101-134, 1992.

Rogers JH : Immunohistochemical markers in rat brain : colocalization of calretinin and calbindin-D28k with tyrosine hydroxylase. Brain Res 587 : 203-210, 1992.

Varghese S, Lee S, Huang Y, Christakos S : Analysis of rat vitamin D-dependent calbindin-D gene expression. J Biol Chem 263 : 9776-9784, 1988.

Yamada T, McGeer PL, Baimbridge KG, McGeer EG : Relative sparing in Parkinson's disease of substantia nigra dopaminergic neurons containing calbindin-D28k. Brain Res 526 : 303-307, 1990.

Abstract

**Distribution of Calbindin Immunostained Neurons in the Rat
Substantia Nigra**

Young Bok Yoo

Department of Anatomy, College of Medicine, Dankook University

It is suggested that calbindin buffers the concentration of intracellular calcium as the calcium binding protein in the cell. In the neurodegenerative disease such as Parkinsonian disease, Huntington' disease, Alzheimer' disease there is some change of calbindin. The calcium mediated neurotoxicity begins due to the decrease of calbindin gene in those disease. In this study the substantia nigra of the normal rat is immunostained with anti-calbindin antibody, the morphological characteristics and distribution of calbindin positive neurons are studied to confirm the suggestive neuroprotective role of calbindin in the Parkinsonian disease.

In the substantia nigra tissues of rats, calbindin was immunostained in the cell body and cellular processes of the polygonal or ovoid neurons. The calbindin immunostained neurons were distributed mainly in the substantia nigra lateralis than substantia nigra compacta and have even distribution from cephalic section to caudal section. The degree of calbindin-immunostaining was similar from medial area to lateral area, from ventral area to dorsal area in the one section of substantia nigra. These results support the potentiative neuroprotective role of calbindin in the Parkinsonian disease.

Key words : Calbindin, Substantia nigra, Immunohistochemistry, Parkinsonian disease, Calcium binding protein, Rat