대 한 체 질 인 류 학 회 지
Korean J Phys Anthrop
17(3): 249 ~ 263, 2004

척수손상 후 숨뇌와 척수회색질기둥 앞뿔에 분포하는 calbindin D-28K와 parvalbumin면역반응세포에 관한 형태학적 연구

정 윤 영, 김 종 중, 현 영 식
조선대학교 의과대학 해부학교실

간추림 : 척수를 손상시키지 않은 정상 군과 완전히 손상시킨 군 그리고 각각 오른쪽과 왼쪽을 반씩 손상시킨 후 5, 10일동안 사육한 흰쥐의 숨뇌와 각 척수 분절의 회색질기둥 앞뿔에서 칼슘결합단백질인 calbindin D-28K (CB)와 parvalbumin (PV)에 단세포군 항체를 이용하여 면역조직화학적 방법으로 염색하여 CB-IR세포와 PV-IR세포의 분포양상과 세포의 크기 및 형태에 대하여 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 숨뇌의 그물핵에서 CB-IR세포와 PV-IR세포를 관찰할 수 있었다.
2. CB-IR세포와 PV-IR세포는 척수 각 분절의 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 뒤안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵, 중앙핵 등에서 관찰할 수 있었다. 특히 허리분절에서 강한 양성 반응을 나타내었다.
3. 척수 손상 후 5일간 사육한 실험군의 경우 완전히 손상 받은 가슴분절 아래부위에서는 CB-IR세포와 PV-IR세포는 드물게 관찰되었다.
4. 척수 손상 후 10일간 사육한 실험군에서 왼쪽 손상부위와 오른쪽 손상부위에서 CB-IR세포와 PV-IR세포의 수는 거의 비슷하였다.
5. CB-IR세포와 PV-IR세포는 방추형, 타원형, 원형, 삼각형이었으며 크기는 40 ~ 50 μm 정도였고, 모양은 홑극, 두극, 뭇극, 수평형이었다.

이상의 실험 결과를 요약하면 척수 손상 후 5, 10일간 사육한 실험군에서 CB-IR세포와 PV-IR세포는 각 척수분절의 회색질기둥 앞뿔의 VII ~ X층에서 가장 많이 관찰 할 수 있었다.

찾아보기 낱말 : 숨뇌, 척수손상, calbindin D-28K, parvalbumin

서 론

척수는 생명활동의 전 영역을 통제, 관장하는 중심중추로서 운동, 감각기능을 수행하며 신체의 모든 기능을 총괄하는데 이는 뇌와 척수에서 뻗어 나와 전신에 분포하고 있는 신경과 신경그물에 의해 다스려지고 있다고 알려지고 있다 (Snell 1987, Nolte 2002).

척수가 손상을 받게 되면 여러 신경로가 차단되어 여러 기능이 상실된다. 척수가 완전히 손상되면 내림신경로의 기능이 마비되어 모든 체성감각, 운동기능, 내장감각, 반사활동, 근육긴장, 체온조절기능이 소실될 뿐만 아니라 모든 오름신경로가 차단되어 손상부위의 아래 부위의 감각이 상실되며, 척수의 절반이 손상을 받게 되면 같은 쪽의 상위 운동 신경증후군, 촉각 분별력의 심한 장애, 운동감각의 소실, 근육긴장 감소 등의 마비증상이 나타난다고 알려져 있다 (Snell 1987, Carpenter 1991, Nolte 2002).

칼슘은 신경세포에서 대부분 결합한 형태로 존재하며 극히 소량만이 축삭질 안에 유리되고 이온화된 형태로 존재하여 뼈대가로무늬근육을 자극하고 수축시킨다. 또한 내분비샘과 신경조직 내에서도 자극과 흥분을 시키는 일을 수행한다. 신경연접에서 신경전달물질을 방출하며 연접소포가 융합하며 신경세포 내에서 칼슘농도의 상승과 세포막전위 정보

교신저자 : 김종중 (조선대학교 의과대학 해부학교실)
전자우편 : jjbkim@chosun.ac.kr

전달자로서의 역할을 수행하며 기존의 세포 내에서 많은 다른 칼슘결합단백질과 조합(combination)과 치환(permutation)이 이뤄지고 있는 것으로 알려져 있다(Kawaguchi 등 1987, Celio 1990, Andressen 등 1993).

Calbindin D-28K(이하 CB라 한다)와 Parvalbumin (이하 PV라 한다), 그리고 여러 조직에 분포하고 있는 calmodulin과 troponin-C 및 일부 다른 단백질은 높은 친화력을 가지고 칼슘과 결합하며 이들은 vitamin-D 의존성 칼슘결합단백질로 알려지고 있다 (Stichel 등 1987, Mattson 등 1991, Van Brederode 등 1991, Kubota와 Jones 1993, Alonso 등 1995, Pickel과 Heras 1996).

또한 CB와 PV는 최근 신경세포 내에서 칼슘의 항상성을 조절하고 다양한 세포작용의 과정에서 일시적인 칼슘의 수송과 완충작용을 하는 것으로 알려지고 있으며 고농도의 칼슘이 신경세포 내에 축적된 경우 손상을 받는 신경세포를 보호할 뿐만 아니라 허혈(ischemia), Parkinson 병, Huntington 병 그리고 Alzheimer 병 등 신경퇴행성 질환에서 특수 신경세포 집단을 보호하며 이들 칼슘결합단백질과 결합한 세포는 전기생리학적인 성질과 대사작용에서 특수한 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다(Ichimiya 등 1988, Iwamoto와 Emson 1991, Patrick과 John 1991, Ferrer 등 1992, Tunon 등 1992, German 등 1997).

칼슘결합단백질은 Wasserman과 Taylor (1966)에 의하여 닭의 소장 점막에서 최초로 분리된 이래 흰쥐의 중추신경계통(Garcia-Segura 등 1984, Enderin 등 1987, Celio 1990), 망막(Nag와 Wadhwa 1996), 시각중추(Schmidt-Kastner 등 1992), 해마(Kawaguchi 등 1987, Sloviter 1989, Mattson 등 1991), 줄무늬체 (Hendry 등 1989, Waldvogel 등 1991), 뇌줄기(Aoki 등 1990) 및 소뇌(Legrand 등 1983, Rogers 1989) 등에도 분포하고 있는 것으로 보고되고 있으며, 또한 사람을 비롯한(Ferrer 등 1992, Nag와 Wadhwa 1996) 흰쥐(Kosaka와 Heizmann 1989, Ronald 등 1990), 고양이(Stichel 등 1989), 병아리(Philippe와 Droze 1988)의 중추신경계통에도 광범위하게 분포하고 있는 것으로 보고되고 있다.

한편 척수의 신경차단시술이나 대동맥의 수술, 또는 심한 저혈압을유발하는 수술 등의 결과로 동맥공급이 조금만 차단되어도 척수의 허혈이 쉽게 일어난다. Terman 등(1996)은 주머니쥐의 발생초기 단계에서 척수신경로를 차단시킨 후 뒤척수소뇌신경로의 성장에 관한 실험을, Wang 등(1995)과 Foster 등 (1990)은 손상시킨 척수에 신선한 태아신경조직을 이식하여 척수의 손상부위의 회복에 관한 실험을 시행하였으며, Goff 등(1998)은 만성 동통을 유발시킨 후 척수 뒤뿌리의 재생에 관한 실험을 각각 시행하여 척수의 운동과 감각기능이 회복된다고 보고하였다. Sally 등(1981)은 흰쥐 척수의 허리분절에서 oxytocin을 포함한 8개의 펩티드의 분포상을 자세히 보고하였으며 그 밖에 여러 연구자들은(Monaghan 등 1983, Dietl 등 1985, Mouchet 등 1986, Privat 등 1988, Sieradzan과 Vrbova 1989, Willis와 Coggeshall 1991, Dun 등 1993, Beal과 Bice 1994, Kashiba 등 1996, Hu 등 1997, Miki 등 1997) 척수의 뒤뿔과 신경로를 손상시킨 후 척수 내의 신경전달물질의 분포상과 신경조직형성에 대한 실험결과를 보고하였다. 그러나 척수 가슴분절을 손상시킨 후 칼슘결합단백질인 CB와 PV의 분포상에 대한 보고는 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 척수의 가슴분절을 완전히, 그리고 오른쪽과 왼쪽을 절단한 다음 숨뇌와 각 척수분절의 회색질에서 CB와 PV의 양성반응신경세포의 크기 및 분포상과 형태를 관찰하여 정상군과 비교하엿다. 저자들은 앞으로 이들 두 칼슘결합단백질의 신경전달물질로 알려진(Hendry 등 1989, Ronald 등 1990, Pickel과 Heras 1996) GABA 및 glycine의 표식자의 기능을 수행하는 기전을 밝혀내기 위한 연구와 손상 받은 각 척수분절에서 칼슘결합단백질의 생리생화학적 및 약리학적 연구에 필수적인 형태학적 분포상을 확립하고자 본 연구를 시도하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용한 동물은 암, 수 구별 없이 흰쥐(Sprague-Dawley) 30마리(200～250 g)를 조선대

학교 동물 사육장에서 구입하여 사용하였다.

2. 실험군

제1군(10마리) : 척수를 손상시키지 않은 대조(정상) 군
제2군(10마리) : 척수를 완전히, 그리고 각각 오른쪽과 왼쪽을 손상시킨 후 5일 사 육한 군
제3군(10마리) : 척수를 완전히, 그리고 각각 오른쪽과 왼쪽을 손상시킨 후 10일 사육한 군

3. 척수손상

실험동물은 복강내에 ketamine (3 mL/kg)으로 전신마취 시킨 후 가슴분절 8～9번째 부위를 척추궁절제술을 하여 척수를 노출시킨 후 11번 해부칼을 이용하여 척수를 완전히, 그리고 좌, 우 반쪽을 손상시켰다. 그 후 해부현미경으로 절단부위를 확인한 후 수술부위를 깨끗이 소독하고 근육과 피부를 봉합하여 소독된 사육장에서 먹이와 물을 제한 없이 공급하여 사육하였다. 척추를 손상 받은 실험동물은 수술한 바로 다음 날부터 5일 동안 수술부위를 소독하고 오줌과 대변을 인위적으로 배설시켜 주었다.

4. 조직표본처리 및 면역조직화학적 염색

실험동물은 복강안에 ketamine (3 mL/kg)으로 마취시켜 좌심실을 통하여 100 mL의 Ringer-dextrose로 관류한 다음 400～500 mL의 4% paraformalde-hyde와 1% glutaraldehyde (0.1 M Phosphate buffer saline (이하 PBS), pH 7.4) 고정액이 조직속으로 용이하게 침투하기 위하여 38～40°C로 조절한 후 심장을 통하여 관류 고정시켰다. 뇌와 척수를 해부하여 2차 고정액에 넣어 4°C에서 하룻밤 더 고정하였다. 다음 날 숨뇌와 척수의 목분절, 가슴분절, 허리분절, 엉치분절을 절단하여 30% sucrose가 들어있는 0.05 M PBS 용액에 넣어 조직 속에 충분히 침투되도록 4°C에 하룻밤 더 침적시켰다. 다음 날 조직을 cryocut을 이용하여 35～40 μm 두께로 연속관상절편과 시상절편을 만들었다. 이 절편들은 항체의 조직 투과성을 높이기 위하여 0.05% Triton X-100 (Sigma)을 사용하였으며 그 후 조직절편을 0.05 M PBS에 여러 번 씻어 낸 후 10% normal serum에 30분 동안 침적시켰다. 다시 0.05 M PBS로 여러 차례 세척하여 3% H_2O_2로 20～30분간 실온에서 처리하여 내인성 과산화효소의 활성을 억제시킨 다음 1% normal albumin과 0.05% Triton X-100이 들어 있는 0.05 M PBS 혼합 용액에 약 2시간동안 처리하여 비특이성 반응을 억제시켰다. 제1항체인 monoclonal rabbit anti-mouse calbindin D-28K (Sigma)는 1 : 2,000～1 : 5,000으로, monoclonal rabbit anti-mouse parvalbumin (Sigma)은 1 : 2,000～1 : 2,500으로 희석하여 4°C에서 24～36시간 반응시켰다. 0.05 M PBS에 10분씩 3회 세척한 후 제2항체는 CB와 PV 모두 goat anti-rabbit IgG (Dako)를 1 : 200으로 희석하여 실온에서 1시간동안 반응시킨 후 다시 세척한 다음 제3항체인 avidin-biotin peroxidase complex (Vector)를 1 : 100으로 희석하여 1시간 반응시켰다. 과산화효소에 대한 발색제는 3, 3′-diaminobenzidine (Sigma)을 사용하였다. 반응이 끝난 조직은 gelatin이 발라진 slide 위에 얹어 통상의 탈수 과정을 거쳐 polymount로 봉입하여 광학현미경을 이용하여 CB와 PV에 대한 면역반응세포를 관찰하였다.

결 과

각 실험군의 척수를 완전히, 그리고 오른쪽과 왼쪽을 손상시킨 후 숨뇌와 척수 각 분절의 회색질기둥에서 Calbindin D-28K 면역반응세포(이하 CB-IR세포라 한다)와 Parvalbumin 면역반응세포(이하 PV-IR세포라 한다)에 대한 면역조직화학적 염색을 시행하여 신경세포의 분포상, 크기, 그리고 신경세포체의 모양과 형태를 광학현미경을 이용하여 관찰하였다.

1. 실험I군 (대조군)

1) Calbindin-D 28k 면역반응세포 (Fig. 1, CON-CB)

뇌줄기의 숨뇌와 각 척수분절에서 CB-IR세포를 관찰할 수 있었다 (Fig. 1B, C, T, L, S). 숨뇌에서는 박속핵 (gracile nucleus), 설상속핵 (cuneate nucleus), 올

리브핵(olivary nucleus), 그물핵에서 양성반응의 신경세포와 섬유를 관찰할 수 있었다. 숨뇌 전 부위에서 CB-IR세포의 신경섬유들이 서로 엉켜 신경그물을 형성하고 있었다(Fig. 1B).

척수 목분절의 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞뒤쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 그리고 중심핵에서 강한 양성반응을 나타내는 중간정도 크기의 전형적인 신경세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 1C). 회색질기둥 양쪽 앞뿔에서 평균 67개의 CB-IR세포가 관찰하였다.

척수의 가슴분절의 회색질기둥 앞뿔의 전체 핵에서 양성반응을 나타내는 신경세포를 관찰할 수 있었으며 특히 앞가쪽핵과 앞안쪽핵에서 관찰되는 신경세포는 긴 축삭을 백색질의 앞섬유삭까지 내보내고 있었다(Fig. 1T). 회색질기둥 양쪽 앞뿔에서 91개의 CB-IR세포를 관찰하였다.

척수의 허리분절의 중심관 주변의 앞, 뒤 교차섬유에서 강한 양성반응을 나타내었으며 회색질기둥 앞뿔의 전체 핵에 강한 양성반응을 나타내고 있는 신경세포와 섬유를 관찰할 수 있었다(Fig. 1L). 회색질기둥 양쪽 앞뿔에서 양성반응을 나타내는 신경세포는 약 72개 정도를 관찰하였다.

척수의 엉치분절에서도 회색질기둥의 앞뿔의 전체 핵에서도 양성반응을 나타내는 신경세포들을 관찰하였다(Fig. 1S). 회색질기둥 양쪽 앞뿔에서 관찰한 신경세포의 수는 약 25개 정도였다. 이상의 각 척수 분절에서 관찰되는 CB-IR세포의 형태는 대부분 두극 및 못극형이었으며 세포체의 크기는 30～40㎛정도였다.

2) Parvalbumin 면역반응세포(Fig. 1, CON-PV)

뇌줄기 숨뇌의 PV-IR세포는 CB-IR세포를 관찰한 여러 핵에서와 같이 비슷한 양상으로 분포하고 있었으나 CB-IR세포에 비하여 PV-IR세포가 더 많이 관찰되었다. PV-IR세포의 형태학적 특징을 따라 핵, 핵 주변부, 그리고 모든 돌기에서도 양성으로 나타남을 관찰할 수 있었다. 대부분의 PV-IR세포들은 못극신경세포들이었으나 수평으로 위치하고 있는 두극신경세포도 관찰할 수 있었다(Fig. 1B).

척수의 각 분절의 회색질기둥 앞뿔에서 매우 강한 양성반응을 나타내는 PV-IR세포를 관찰할 수 있었으며 CB-IR세포보다 더 많이 관찰하였다. 양성반응의 PV-IR세포의 축삭이 모든 백색질의 섬유삭에 뻗어 나가고 있음을 관찰할 수 있었다. CB-IR세포와는 달리 회색질기둥(VII 층)의 안쪽 면에는 양성반응의 PV-IR세포 산물이 밀집되어 있음을 관찰할 수 있었다(Fig. 1C, T, L, S).

목분절(Fig. 1C)에만 있는 목중심핵과 가슴분절(Fig. 1T)에만 있는 가슴핵(Clarke-Stilling nucleus)에서 양성 반응을 나타내고 있는 PV-IR세포를 관찰할 수 있었다. 척수 각 분절의 앞뿔에서 CB-IR세포와 같이 PV-IR세포는 두극과 못극형태를 하고 있었으며(Fig. 1C, T, L, S), 세포체의 크기는 35～45㎛였다. 세포 수는 목 분절의 양쪽 앞뿔에서 약 109개, 가슴분절의 양쪽 앞뿔에서 약 102개, 허리분절의 양쪽 앞뿔에서 약 91개, 그리고 엉치분절의 양쪽 앞뿔에서 약 42개 정도를 계수 할 수 있었다.

2. 실험II군(척수를 완전히, 각각 오른쪽과 왼쪽을 손상시킨 후 5일간 사육한 군)

1) 척수를 완전히 손상시킨 후 5일간 사육한 군

(1) Calbindin D-28K 면역반응세포(Fig. 2, POD5-COM-CB)

척수를 완전히 손상시킨 후 5일동안 사육한 군에서 뇌줄기 숨뇌의 박속핵, 설상속핵, 올리브핵, 그물핵에서 양성반응을 나타내는 CB-IR세포를 관찰하였으며 대조군과 분포상 그리고 세포의 모양과 세포체의 형태 및 크기도 비슷하였다.

척수 목분절에서 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵, 중심핵 등에서 강한 양성반응을 나타내는 CB-IR세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 2C). 양성세포 수는 약 85개 정도였고 세포의 형태는 두극신경과 못극신경이 대부분이었으며 세포체는 원형, 타원형, 방추형, 삼각형 등 다양했으며 크기는 40～50㎛ 정도였다.

척수 가슴분절에서 회색질기둥 앞뿔의 여러 핵에 분포하고 있는 신경세포들을 관찰할 수는 있었으나 세포의 모양이나 세포체의 형태는 매우 불규칙하고 찌그러져 있었으며 변형된 모양이었다(Fig. 2T). 세포체 안에 있는 핵의 위치도 한쪽으로 치우쳐 있어

서 전형적인 퇴행성 변화가 일어나고 있음을 관찰할 수 있었으며 세포를 계수 할 수 없었으며 크기도 측정할 수 없었다.

척수 허리분절의 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵, 중심핵에서 양성반응의 세포들을 관찰할 수 있었으나(Fig. 2L) 세포의 모양이 변형된 형태였으며 세포 수의 크기는 측정할 수 없었다.

척수 엉치분절은 세포의 모양과 세포체 그리고 크기는 허리분절에서 관찰한 것과 비슷하였다(Fig. 2S).

(2) Parvalbumin 면역반응세포 (Fig. 2, POD5-COM-PV)

척수를 완전히 손상시킨 후 5일 동안 사육한 실험동물에서 양성반응을 나타내는 PV-IR세포는 뇌줄기 숨뇌(Fig. 2B)와 척수 각 분절의 분포상, 세포모양, 형태, 크기는 CB-IR세포에서 관찰한 결과와 비슷하였다(Fig, 2C. T, L, S).

각 분절에서 관찰된 면역반응세포 수는 목분절에서 약 102개, 그리고 손상부위 아래의 가슴분절, 허리분절, 엉치분절에서는 세포수를 계수할 수 없었다.

2) 척수를 각각 오른쪽과 왼쪽을 손상시킨 후 5일간 사육한 군

(1) Calbindin D-28K 면역반응세포 (Fig. 2, POD5-RT, LT-CB).

척수를 각각 오른쪽과 왼쪽을 각각 손상시킨 후 5일간 사육한 군의 뇌줄기 숨뇌의 박속핵, 설상속핵, 올리브핵, 그물핵 등에서 양성반응의 CB-IR세포를 관찰할 수 있었다. 숨뇌에서 관찰되는 CB-IR세포는 홑극, 두극, 뭇극신경세포 등 다양한 형태였으며 세포체의 크기는 30～40 μm였다(Fig. 2B). 또한 이 오른쪽과 왼쪽을 손상시킨 실험군에서 CB-IR세포의 크기, 형태의 차이는 구별할 수 없었다.

척수 목분절의 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 그리고 중심핵 등에서 강한 양성반응을 나타내는 PV-IR세포를 양쪽 손상부위 모두에서 관찰할 수 있었으며(Fig. 2C) 세포 수는 95개였다

척수 가슴분절의 오른쪽과 왼쪽 손상부위에서 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 그리고 중심핵 등에서 강한 양성반응을 나타내는 CB-IR세포를 양쪽 손상부위 모두에서 관찰할 수 있었으며 양쪽 앞뿔에서 약 82개의 세포를 계수할 수 있었다(Fig. 2T).

척수 가슴분절은 손상부위 위 5 mm지점과 아래 5 mm지점을 대상으로 관찰하였는데 오른쪽 손상부위 위쪽 회색질기둥 양쪽 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 등에서 강한 양성반응의 CB-IR세포를 관찰할 수 있었으며 왼쪽 손상부위의 회색질기둥 앞뿔은 오른쪽 손상부위의 분포상과 비슷하였으나 오른쪽이 약간 강하게 나타났다. 오른쪽 손상부위 위쪽 양쪽 앞뿔에서 양성반응신경세포 수는 약 85개 정도였고 세포체의 크기는 40～50 μm였다(Fig. 2T). 왼쪽 손상부위 위쪽 양쪽 앞뿔에서 양성반응신경세포 수는 약 63개 정도로 오른쪽 손상부위와 차이가 있었다. 세포체의 모양은 원형, 타원형, 삼각형, 방추형, 피라밋형이었으며 크기는 오른쪽 부위와 같았다(Fig. 2T).

척수 허리분절에서 오른쪽을 손상시킨 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 등에 매우 강한 양성반응을 나타내는 CB-IR세포가 다수 관찰하였다. 양쪽 앞뿔에서 양성반응신경세포 수는 약 170개 정도였고 모양은 가슴분절과 비슷하였으며 세포의 크기는 50～60 μm로 각 척수 분절 중에서 가장 컸다(Fig. 2L).

척수 엉치분절의 오른쪽 손상부위의 회색질기둥 앞뿔의 분포상은 척수의 다른 분절과 비슷하였다. 양쪽 앞뿔에서 면역반응세포 수는 약 105개 정도였고 세포체의 모양은 방추형, 원형, 타원형, 삼각형 등이었으며 세포체에서 2～3개의 가지들이 뻗어 나가고 있어 두극 및 뭇극신경원이었고 세포의 크기는 45～50 μm 정도였다(Fig. 2S). 왼쪽 손상부위는 오른쪽 손상부위와 비슷하였으나 양성반응의 발색도가 희미하였다(Fig. 2S). 대체적으로 오른쪽, 왼쪽을 손상시킨 실험군에서 손상부위 위 분절에서는 양쪽이 신경세포와 섬유의 분포양상이 비슷하였으나 손상부위 아래 분절에서는 오른쪽을 손상시킨 실험군이 약간 강한 양성반응을 나타냈으며 손상부위인 가슴분절의 회색질기둥 앞뿔에서 CB-IR세포의 양성반응은 매우 적게 관찰하였다.

(2) Parvalbumin 면역반응세포(Fig. 2, POD5-RT, LT-PV)

뇌줄기 숨뇌의 박속핵, 설상속핵, 올리브핵, 그물핵 등에서도 PV-IR세포가 고루 분포하고 있었다. 이 실험군의 숨뇌에서 관찰할 수 있는 PV-IR세포는 CB-IR세포보다 더 많이 관찰되었고 매우 좋은 양성반응을 나타내었다. 세포 수는 CB-IR세포와 마찬가지로 PV-IR세포가 집단으로 모여 핵을 이루고 있어서 계수 할 수 없었다. 양성반응세포체는 원형, 난원형, 방추형, 삼각형 등 매우 다양한 형을 하고 있었으며 세포는 두극신경, 뭇극신경이고 세포체의 크기는 약 40～50 μm 정도였다(Fig. 2B).

척수 목분절, 가슴분절, 허리분절, 엉치분절의 오른쪽 손상부위에서 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 그리고 중심핵 등에서 매우 강한 양성반응을 나타내는 전형적인 두극 및 뭇극신경세포를 관찰할 수 있었다. 왼쪽 손상부위에서도 비슷한 분포상을 나타내고 있었으나 CB-IR세포와 마찬가지로 양성반응은 희미하게 나타났다(Fig. 2C, T, L, S). 특히 가슴분절에서는 손상부위 위쪽에서 측각에서부터 가쪽섬유단으로 뻗어 나가는 전형적인 축삭을 관찰할 수 있었으나 손상부위 아래쪽에서는 이런 양상은 나타나지 않았다. 목분절의 양쪽 앞뿔에서 관찰할 수 있는 양성세포 수는 약 139개 정도였고, 가슴분절에서는 손상부위 위쪽에서는 약 90개, 아래쪽에서는 약 61개, 허리분절에서는 약 129개, 엉치분절에서는 약 60개 정도였다. 신경세포체의 모양은 대부분 삼각형, 피라밋형이었으며 세포는 두극 및 뭇극신경세포였고 세포체의 크기는 45～50 μm 정도였다.

3. 실험III군(척수를 완전히, 그리고 각각 오른쪽과 왼쪽을 손상시킨 후 10일간 사육한 군)

1) 척수를 완전히 손상시킨 후 10일간 사육한 군

(1) Calbindin D-28K 면역반응세포(Fig. 3, POD10-COM-CB)

척수를 완전히 손상시킨 후 10일 동안 사육한 실험동물에서 양성반응을 나타내는 CB-IR세포는 숨뇌와 척수 각 분절의 분포상, 세포모양, 크기는 대조군에서 관찰한 결과와 비슷하였다. 각 분절에서 관찰된 CB-IR세포의 수는 목분절에서 약 102개, 가슴분절에서 약 86개, 허리분절에서 약 100개, 엉치분절에서 약 50개 정도로 PV-IR세포세포보다 세포수가 약간 적었다(Fig. 3B, C, T, L, S).

(2) Parvalbumin 양성반응신경세포(Fig. 3, POD10-COM-PV)

뇌줄기 숨뇌의 박속핵, 설상속핵, 올리브핵, 그물핵 등에서도 5일군과 마찬가지로 PV-IR세포가 고루 분포하고 있었다. 이 실험군의 숨뇌에서 관찰할 수 있는 PV-IR세포는 CB-IR세포보다 더 많이 관찰되었고 매우 좋은 양성반응을 나타내었다(Fig. 3B).

척수 목분절에서 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵, 중앙핵 등에서 강한 양성반응을 나타내는 PV-IR세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 3C). PV-IR세포의 수는 약 100개 정도였고 세포의 형태는 두극신경과 뭇극신경이 대부분이었으며 세포체는 원형, 타원형, 방추형, 삼각형 등 다양했으며 크기는 40～50 μm 정도였다.

가슴분절에서 손상부위 위 5 mm지점 부위의 회색질기둥 앞뿔의 여러 핵에 분포해 있는 신경세포들을 관찰할 수 있었으며 손상부위 아래 5 mm지점 부위에서는 세포의 모양이나 세포체의 형태는 매우 불규칙하고 찌그러져 있었다(Fig. 3T). PV-IR세포는 약 90개 정도였고 세포의 형태와 크기는 대조군과 비슷하였다.

허리분절의 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵 뒤가쪽핵 뒤안쪽핵 중앙핵에서 양성반응의 세포들을 관찰할 수 있었다(Fig. 3L). 이와 같이 여러 핵에서 관찰된 신경세포 수는 약 100개 정도였고 일부 면역반응세포는 강한 양성반응을 나타냈으며 일부 세포들은 흔적적으로 관찰하였다. 세포의 모양은 두극 및 뭇극신경이었으며 세포체는 타원형 방추형 피라밋형 등 다양한 형태였다.

엉치분절은 대조군과 비슷하였으며 신경세포 수는 약 55개 정도였고 세포의 모양과 세포체 그리고 크기는 허리분절에서 관찰한 것과 비슷하였다(Fig. 3S).

2) 척수를 각각 오른쪽과 왼쪽을 손상시킨 후 10일간 사육한 군

(1) Calbindin D-28K 면역반응세포(Fig. 3 POD10-RT, LT-CB)

척수 목분절(Fig. 3C), 가슴분절(Fig. 3T), 허리분절(Fig. 3L), 엉치분절(Fig. 3S)의 오른쪽과 왼쪽 손상부위에서 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵 뒤안쪽핵 그리고 중앙핵 등에서 매우 강한 양성반응을 나타내는 전형적인 두극 및 뭇극신경세포를 관찰할 수 있었다. 목분절의 양쪽 앞뿔에서 관찰할 수 있는 양성세포 수는 약 139개 정도였고, 가슴분절에서는 손상부위 위쪽에서는 약 90개, 아래쪽에서는 약 61개, 허리분절에서는 약 149개 엉치분절에서는 약 110개 정도였다. 신경세포체의 모양은 대부분 삼각형 피라밋형이었으며 세포는 두극 및 뭇극신경세포였고 세포체의 크기는 45～50 μm 정도였다.

(2) Parvalbumin 양성반응신경세포(Fig. 3 POD10-RT, LT-PV)

척수 목분절(Fig. 3C)의 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 그리고 중앙핵 등에서 강한 양성반응을 나타내는 PV-IR세포를 양쪽 손상부위 모두에서 관찰할 수 있었으며 양쪽 앞뿔에서 약 140개의 세포를 계수 할 수 있었다. 목분절 양쪽 백색질의 앞 뒤 가쪽 섬유단에 PV-IR세포 섬유들이 망상을 이루며 분포하고 있었다.

가슴분절(Fig. 3T)은 손상부위 위 5 mm지점과 아래 5 mm지점을 대상으로 관찰하였는데 손상부위 위 5 mm부위 회색질기둥 앞뿔에서 매우 강한 양성반응을 나타냈으나 손상부위 아래 5 mm부위 회색질기둥 앞뿔에서는 아주 약한 반응을 나타냈다. 가슴분절에 있는 가슴핵에서는 손상부위 위쪽에서는 양성반응의 PV-IR세포를 관찰할 수 있었으나 아래부위는 양성반응을 전혀 관찰할 수 없었다.

오른쪽 손상부위 위쪽 회색질기둥 양쪽 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 등에서 강한 양성반응의 PV-IR세포세포를 관찰할 수 있었으며 왼쪽 손상 부위의 회색질기둥 앞뿔 왼쪽은 오른쪽 손상부위의 분포상과 비슷하였으나 앞뿔 오른쪽은 양성반응이 매우 강하게 나타났다(Fig. 3T). 오른쪽 손상부위 위쪽 양쪽 앞뿔에서 PV-IR세포 수는 약 90개 정도였고 세포체의 크기는 40～50 μm였다. 왼쪽 손상부위 위쪽 양쪽 앞뿔에서 PV-IR세포의 수는 약 85개 정도로 오른쪽 손상부위와 비슷하였다. 세포체의 모양은 원형, 타원형, 삼각형, 방추형, 피라밋형이었으며 크기는 오른쪽 부위와 같았다.

허리분절(Fig. 3L)에서 오른쪽을 손상시킨 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵에 매우 강한 양성반응을 나타내는 PV-IR세포를 다수 관찰하였다. 양쪽 앞뿔에서 양성반응신경세포 수는 약 180개 정도였고 세포체의 모양과 크기는 가슴분절과 비슷하였다.

엉치분절(Fig. 3S)의 오른쪽 손상부위의 회색질기둥 앞뿔의 분포상은 척수의 다른 분절과 비슷한 분포상이었다. 양쪽 앞뿔에서 PV-IR세포의 수는 약 100개 정도였고 세포체의 모양은 방추형, 원형, 타원형, 삼각형이었으며 세포체에서 2～3개의 가지들이 뻗어 나가고 있어 두극 및 뭇극신경원이었고 세포의 크기는 45～50 μm 정도였다. 왼쪽 손상부위는 오른쪽 손상부위와 비슷하였으나 양성반응의 발색도가 희미하였다

고 찰

본 연구에서 흰쥐의 숨뇌와 척수에서 CB-IR세포와 PV-IR세포의 크기와 형태는 비슷하였으나 분포양상은 약간 차이가 있음을 관찰할 수 있었다. 두 면역반응세포의 분포양상은 상호 보상적이었으며 숨뇌와 각 척수분절에서 PV-IR세포가 CB-IR세포보다 더 많이 관찰하였으며 숨뇌에서는 CB-IR세포들이 제한적으로 독립된 세포무리를 형성하며 분포하고 있었다. CB-IR세포와 PV-IR세포의 형태는 대부분 두극신경세포와 뭇극신경세포들이었으며 일부 세포들은 정상적인 피라밋형이거나 별모양의 세포들이 혼재한 상태로 관찰되었다. 척수 앞뿔에서 CB-IR세포와 PV-IR세포들을 많이 관찰하였는데 PV-IR세포의 염색성이 더 좋았다. 이는 여러 연구자들(Dietl 등 1985, Fournet 등 1986, Enderin 등 1987, Hendry 등 1989, Celio 1990, Andressen 등

1993, Kubota와 Jones 1993, Beal과 Bice 1994)의 보고와 일치하였다. 척수의 회색질기둥 앞뿔에서 세포의 형태뿐만 아니라 층별 세포의 밀집도는 실험 1, 2, 3군에서 비슷하였다. 숨뇌의 그물핵에서 강한 양성반응의 신경세포와 섬유들이 서로 얽혀 신경망을 형성하고 있었다. 실험 1, 2, 3군의 척수 목분절, 가슴분절, 허리분절, 엉치분절의 회색질기둥 앞뿔의 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵, 그리고 중심관 주변을 둘러싸고 있는 중앙핵에서 양성반응을 나타내는 크고 중간정도 크기의 전형적인 신경세포를 실험 1, 3군에서 관찰할 수 있었는데 이는 Celio (1990)와 Rogers (1989) 등이 흰쥐, 고양이의 척수 분절에서 CB-IR세포와 PV-IR세포의 분포상에 대한 보고와 일치하였다. 본 실험에서 특히 목분절에만 존재하는 목중앙핵과 가슴분절에만 있는 가슴핵에서 양성반응을 나타내는 CB-IR세포와 PV-IR세포를 관찰할 수 있었다. 특히 허리분절의 회색질기둥 앞뿔에서 가장 크고 강한 양성반응을 나타내는 CB-IR세포와 PV-IR세포를 관찰할 수 있었다. 실험 2, 3군에서 척수 가슴분절 오른쪽을 손상시킨 군이 왼쪽을 손상시킨 군 보다 더 좋은 반응을 보였으나 그 원인은 알 수 없으며 앞으로 더 연구가 수행되어야 한다고 판단된다. 실험 2군에서 척수 목분절에서 면역반응세포들의 밀집도를 보면 CB-IR세포와 PV-IR세포의 양성섬유가 회색질기둥 앞가쪽핵, 앞안쪽핵, 뒤가쪽핵, 뒤안쪽핵 등에서 양성반응을 나타내는 것은 실험 1, 3군과 비슷하였으나 가슴분절, 허리분절 그리고 엉치분절에서는 양성반응을 관찰할 수 있었지만 대조군에 비해서는 양성반응이 미약하였다. 이는 척수가 완전히 손상되었기 때문에 오름신경로와 내림신경로가 차단되어 손상부위 아래의 척수분절의 기능이 마비되었기 때문으로 생각된다. Foster 등(1990)은 척수를 손상시킨 후 5-HT와 substanceP가 함유된 중간뇌 솔기핵을 이식하여 척수의 기능회복에 관한 실험에서 좋은 결과를 얻었다고 보고하였으며 Goff 등(1998)은 최근 척수 회색질기둥 뒤뿔에 급성 통증을 유발시킨 후 흰쥐의 행동변화를 관찰한 결과 손상 받은 뒤뿔의 신경공급 영역이 마비증상을 일으킨다고 보고하였고 Hu 등(1997)은 뒤뿔 신경절의 내막에는 분명히 substanceP의 자동수용기가 있다고 보고하였고 Kashiba 등(1996)은 흰쥐 척수 뒤뿔 신경절에 substanceP의 수용기 뿐만 아니라 somatostatin, neurotrophin 등과 같은 신경전달물질의 수용기도 존재한다고 보고하였다. 흰쥐 각 척수 분절에서 신경전달물질인 catecholamine 양성세포는 각 분절의 뒤뿔에 고루 분포하고 있으며 특히 허리분절의 뒤뿔에서 강한 양성반응을 관찰하였다고 보고하였다. 그러나 척수의 가슴분절을 손상시킨 후 척수 각 분절의 앞뿔에 분포한 CB-IR세포와 PV-IR세포에 대한 문헌이 없어서 본 연구의 결과와 비교 할 수가 없었다.

또한 실험 1, 2, 3군에서 관찰된 CB-IR세포체와 PV-IR세포체의 크기는 각 척수분절에서 40～50 μm 정도였다. Van 등(1991)은 사람의 신피질에서 PV-IR세포체의 크기는 15～20 μm였다고 보고하였으며, Schmidt-Kastner 등(1992)은 흰쥐의 시각계통에서 PV-IR세포체의 크기는 15～20 μm 정도라고 보고하였다. Celio(1990)는 PV-IR세포체의 크기는 20～50 μm 정도라고 보고하였고, Enderin 등(1987)은 원숭이 대뇌피질층에서 CB-IR세포체와 PV-IR세포체는 8～15 μm 크기로, Alonso 등(1995)은 흰쥐의 뒤뿔에서 PV-IR세포체는 7～9 μm 정도의 크기로, Tunon 등(1992)은 사람의 뒤뿔에서 PV-IR세포체는 10～15 μm 정도의 크기로 각각 보고하였다. 이와 같이 여러 보고자들의 두 면역반응세포의 크기가 서로 차이가 있는 것은 실험동물과 실험동물의 연구대상의 관찰 부위가 다르기 때문이라고 생각된다. 이와 같이 뇌와 척수에서 CB-IR세포와 PV-IR세포는 분포양상이나 세포의 형태, 크기 등의 차이가 있음에도 불구하고 신경세포의 특수한 집단과 기능적 역할을 밝히는데 표식자로서 널리 사용되리라는 가설을 지지할 수 있다고 확신할 수 있었다. 그러나 PV와 CB 존재가 특수 세포 안에서 특이한 세포기능을 수행하는데 있어서 활용할 만한 충분한 가치가 있음에도 불구하고 대뇌피질에 있는 칼슘 양을 조절하여 신경세포의 손상을 보호해주는 이들 단백질의 역할을 확실하게 밝혀주는 직접적인 증거를 아직까지는 얻을 수 없었다. 앞으로 이들 칼슘결합단백질과 GABA와의 공존 관계에 대한 연구가 수행되어야 하리라고 생각되며 정상동물과 노화

된 동물의 뇌의 각 부위에서 칼슘결합단백질의 분포양상을 비교 분석하여 노화에 따른 치매 같은 퇴행성 신경질환의 연관성에 대해서 더욱더 자세한 연구가 수행되어야 하리라고 생각된다.

참 고 문 헌

Alonso JR, Arevalo R, Garcia-ojeda E, Porteros A, Brinon JC, Aijon J : NADPH-Diaphorase active and Calbindin D-28K immunoreactive neurons and fibers in the olfactory bulb of the hedgehog. J Comp Neurol 351 : 307-327, 1995.

Andressen C, Blumcke I, Celio MR : Calcium-binding proteins : selective markers of nerve cells. Cell Tissue Res 271 : 181-208, 1993.

Aoki E, Semba R, Seto-Oshima A, Heizmann CW, Kashiwatama S : Coexistence of Parvalbumin and glycine in the rat brainstem. Brain Res 525 : 140-143, 1990.

Beal JA, Bice TN : Neurogenesis of spinothalamic and spinocerebellar tract neurons in the lumbar spinal cord of the rat. Dev Brain Res 78 : 49-56, 1994.

Carpenter MB : Core Text of Neuroanatomy, 4th ed. Philadelphia, William & Wilkins, pp. 369-375, 1991.

Celio MR : Calbindin D-28K and Parvalbumin in the rat nervous system. Neuroscience 34 : 375-475, 1990.

Dietl M, Arluison M, Mouchet P, Feuerstein C, Manier M, Thibault J : Immunohistochemical demonstration of catecholaminergic cell bodies in the spinal cord of the rat. Histochem 82 : 385-389, 1985.

Dun NJ, Dun SL, Wu SY, Forstermann U, Schmid HHHW, Tseng LF : Nitric oxide synthase immunoreactivity in the rat, mouse, cat and squirrel monkey spinal cord. Neuronscience 54 : 845-857, 1993.

Enderin S, Norman AW, Celio MR : Ontogeny of the calcium-binding protein Calbindin D-28K in the rat nervous system. Anat Embryol 177 : 15-28, 1987.

Ferrer I, Tunon T, Soriano E, Rio A, Iraizoz I, Fonseca M, Guionnet N : Calbindin immunoreactivity in normal human temporal neocortex. Brain Res 572 : 33-414, 1992.

Foster GA, Brodin E, Gage FH, Maxwell DJ, Roberts MHT, Sharp T : Restoration of function to the denervated spinal cord after implantation of embryonic 5HT- and substance-P containing raphe neurons. Brain Res 82 : 247-259, 1990.

Fournet N, Garcia-Segura LM, Norman AW, Orci L : Selective localization of calcium-binding protein in human brain stem, cerebellum and spinal cord. Brain Res 399 : 310-316, 1986.

Garcia-Segura LM, Baetens D, Roth J, Norman AW, Orci L : Immunohistochemical mapping of calcium-binding protein immuno- reactivity in the rat central nervous system. Brain Res 296 : 75-86, 1984.

German DC, Ng MC, Liang CL, Mcmahon A, Iacopino AM : Calbindin-D 28k in nerve cell nuclei. Neuroscience 81 : 735-743, 1997.

Goff JR, Burkey AR, Goff DJ, Jasmin L : Reorganization of the spinal dorsal horn in model of chronic pain: correlation with behaviour. Neuronscience 82 : 559-574, 1998.

Hendry SH, Jones EG, Emson PC, Lawson DEM, Heizmann CW, Streit P : Two classes of cortical GABA neurons defined by differential calcium binding protein immunoreactivities. Exp Brain Res 76 : 467-472, 1989.

Hu HZ, Li ZW, Si JQ : Evidence for the existence of substance-P autoreceptor in the membrane of rat dorsal horn ganglion neurons. Neuroscience 77 : 535-541, 1997.

Ichimiya Y, Emson PC, Mountjoy CO, Lawson DEM, Heizmann CW : Loss of Calbindin D-28K immunoreactive neurons from the cortex of Alzheimer type dementia. Brain Res 475 : 156-159, 1988.

Iwamoto N, Emson PC : Demonstration of neurofibrillary tangles in Parvalbumin-immunoreactive interneurons in the cerebral cortex of Alzheimer type dementia brain. Neurosci Lett 128 : 81-84, 1991.

Kashiba H, Ueda Y, Senba E : Coexpression of preprotachykinin-A, α-calcitonin gene-related peptide, somatostatin, and neurotophin receptor family messenger RNAs in rat dorsal horn ganglion neurons. Neuroscience 70 : 179-189, 1996.

Kawaguchi Y, Katsumaru H, Kosaka T, Heizmann CW, Hama K : Fast spiking cells in rat hippocampus (CAI region) contain the calcium binding protein parvalbumin. Brain Res 416 : 369-374, 1987.

Kosaka T, Heizmann CW : Selective staining of a population of Parvalbumin-containing neurons in the rat cerebral cortex by lectins with specific affinity for terminal N-acetyl-galactosamine. Brain Res 483 : 158-163, 1989.

Kubota Y, Jones EG : Co-loqlization of two calcium binding proteins in GABA cells of rat piriform cortex, Brain Res

600 : 339−344, 1993.

Legrand C, Thomasset M, Parkes CO, Clavel MC, Rabino A : A calcium binding protein in the developing rat cerebellum. Cell Tissue Res 233 : 389−402, 1983.

Mattson MP, Rychlik B, Chu C, Christakos S : Evidence for calcium−reducing and excitoprotective roles for the calcium−binding protein Calbindin D−28K in cultured hippocampal. neurons, Neuron 6 : 41−51, 1991.

Miki K, Fukuoka T, Tokunaga A, Noguchi K : Calcitonin gene−related peptide increase in the rat spinal dorsal horn and dorsal column nucleus following peripheral nerve injury: up−regulation in a sub−population of primary afferent sensory neuron. Neuronscience 82 : 1243−1252, 1997.

Monaghan DT, Holets VR, Toy DW, Cotman CW : Anatomical distribution of four pharmacologically distinct 3H−L−glutamate binding sites. Nature 306 : 176−179, 1983.

Mouchet P, Manier M, Dietl M, Feuerstein C, Berod A, Arluison M, Denoroy L, Thibault J : Immunohistochemical study of catecholaminergic cell bodies in the rat spinal cord. Brain Res Bull 16 : 341−354, 1986.

Nag TC, Wadhwa S : Cabindin and Parvalbumin immunoreactivity in the developing and adult human retina. Dev Brain Res 93 : 23−32, 1996.

Nolte J : The Human Brain(An Introduction to Its Functional Anatomy, 4th ed. Philadelphia, Mosby, pp. 223−225, 2002

Patrick RH, John HM : Neocortical neuronal subpopulations labeled by a monoclonal antibody to calbindin exhibit differential vulnerability in Alzheimer disease. Exp Neurol 111 : 293−301, 1991.

Philippe E, Droze B : Calbindin D−28K immunoreactive neurons in chick dorsal horn ganglion : ontogenesis and cytological characteristics of the immunoreactve sensory neurons. Neuroscience 26 : 215−224, 1988.

Pickel VM, Heras A : Ultrastructural localization of Calbindin D−28K and GABA in the matrix compartment of the rat caudate−putamen nuclei. Neuroscience 71 : 167−178, 1996.

Privat A, Mansour H, Geffard M : Transplantation of fetal serotonin neurons into the transected spinal cord of adult rats : morphological development and functional influence. Brain Res 78 : 155−165, 1988.

Rogers JH : Immunoreactivity for calretinin and other calcium−binding proteins in cerebellum. Neuroscience 31 : 711−721, 1989.

Ronald LC, Charles JW, Piers CE, Claus WH : Parvalbumin−containing GABAergic interneurons in the rat neostriatum. J Comp Neurol 302 : 197−205, 1990.

Sally JG, Julia MP, Stephen RB, Patrick DW : The distribution of nine peptides in rat spinal cord with special emphasis on the substantia gelatinosa and on the area around the central canal(lamlna X). J Comp Neurol 201 : 65−79, 1981.

Schmidt−Kastner R, Meller D, Eysel UT : Immunohistochemical changes of neuronal calcium−binding proteins Parvalbumin and Calbindin D−28K following unilateral deafferentation in the rat visual system. Exp Neurol 117 : 130−246, 1992.

Sieradzan K, Vrbova G : Replacement of missing motor neurons by embryonic grafts in the rat spinal cord. Neuroscience 31 : 115−130, 1989.

Sloviter RS : Calcium−binding protein Calbindin D−28K and Parvalbumin immunocytochemistry localization in the rat hippocampus with specific reference to the selective vulnerability of hippocampal neuron to seizure activity. J Comp Neurol 280 : 183−196, 1989.

Snell RS : Clinical Neuroanatomy for Medical Students, 2nd ed. Boston, Little Brown, pp. 309−315, 1987.

Stichel CC, Singer W, Heizmann CW, Norman AW : Immunohisto−chemical localization of calcium binding proteins, Parvalbumin and Calbindin D−28K in the adult and developing visual cortex of cats: a light and electron microscopic study. J Comp Neurol 262 : 563−577, 1987.

Terman JR, Wang XM, Martin GF : Growth of dorsal spinocerebellar axon through a lesion of their spinal pathway during early development in the north american opossum. Didelphis virginiana, Dev Brain Res 93 : 33−48, 1996.

Tunon T, Insausti R, Ferrer I, Sobreviela T, Soriano E : Parvalbumin and Calbindin D−28K in the human entorhinal cortex. An immuno− histochemical study. Brain Res 589 : 24−32, 1992.

Van Brederode JFM, Hellisen, Hendricson AE : Distribution of the calcium−binding proteins Parvalbumin and Calbindin D−28K in the sensorimotor cortex of the rat. Neuroscience 44 : 157−171, 1991.

Waldvogel HJ, Faull RLM, Williams MN, Dragunow M : Differential sensitivity of Calbindin D−28K and Parvalbumin immunoreactive cells in the striatum to excitotoxins. Brain Res 546 : 329−335, 1991.

Wang JJ, Chuah MI, Tew DTW, Leung PC, Tsang DSC : Effects of astrocyte implantation into the hemisected adult rat spinal cord, Neuroscience 65 : 973-981, 1995.

Wasserman RH, Taylor AN : Vitamin D3-induced calcium-binding protein in the chick intestinal mucosa, Science 152 : 791-793, 1966.

Willis WD, Coggeshall RE : Sensory Mechanism in the spinal cord, 2nd ed. New York, Plenum, pp. 1-575, 1991.

Legends for Figures

Fig. 1. Photomicrographs of CB-IR (Upper) and PV-IR (Lower) in the rat medulla oblongata and spinal cord of the control group (CON-CB, PV).

Upper Panel (CON-CB)

B : Medulla oblongata. Coronal section. ×50.
C : Cervical segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.
T : Thoracic segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.
L : Lumbar segment of the spincal cord. Transverse section. ×100.
S : Sacral segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.

Lower Panel (CON-PV)

B : Medulla oblongata. Coronal section. ×50.
C : Cervical segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.
T : Thoracic segment of the spinal cord. Transverse section. ×100.
L : Lumbar segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.
S : Sacral segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.

Fig. 2-1. Photomicrographs of CB-IR(Upper) and PV-IR(Lower) in the medulla oblongata and spinal cord of the left spinal hemisection group (POD5-LT-CB, PV).

Upper Panel (POD5-LT-CB)

B : Reticular formation of the medulla oblongata. Coronal section. ×50.
C : Neuropils in the ventral horn of the gray matter of the cervical segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.
T : Several CB-IR and nerve fibers in the ventral horn of the gray matter of the spinal thoracic segment. Transverse section. ×50.
L : Cell clusters in the anterolateral and anteromedial nucleus in the ventral horn of the gray matter of the spinal lumbar segment. Transverse section. ×50.
S : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the spinal sacral segment. Transverse section. ×100.

Lower Panel (POD5-LT-PV)

B : Reticular nucleus in the medulla oblongata showing immunostaining for PV. Coronal section. ×50.
C, T, L, S : PV-IR in the ventral horns of the gray matter in the spinal cervical (C), thoracic (T), lumbar (L), and sacral(S) segments. Transverse section. ×50.

Fig. 2-2. Photomicrographs of CB-IR (Upper) and PV-IR (Lower) in the medulla oblongata and spinal cord of the right spinal hemisection group (POD5-RT-CB, PV).

Upper Panel (POD5-RT-CB)

B : Reticular formation in the medulla oblongata. Coronal section. ×50.
C : Neuropils in the ventral horn of the gray matter of the cervical segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.
T : Many CB-IR and nerve fibers in the ventral horn of the gray matter of the spinal thoracic segment. Transverse section. ×50.
L : Two cell clusters in the anterolateral and anteromedial nucleus in the ventral horn of the gray matter of the spinal lumbar segment. Transverse section. ×50.
S : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the spinal sacral segment. Transverse section. ×100.

Lower Panel (POD5-RT-PV)

B : Reticular nucleus from the medulla oblongata showing immunostaining for PV. Coronal section. ×50.
C, T, L, S : Positive PV-IR in the ventral horns of the gray matter in the spinal cervical (C), thoracic (T), lumbar (L), and sacral (S) segments. Transverse section. ×50.

Fig. 2-3. Photomicrographs of CB-IR (Upper) and PV-IR (Lower) in the medulla oblongata and spinal cord of the complete spinal section group (POD5-COM-CB, PV).

Upper Panel (POD5-COM-CB)

B : Reticular formation in the medulla oblongata. Coronal section. ×50.

C : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the cervical segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.

T : Many CB-IR and nerve fibers in the ventral horn of the gray matter of the spinal thoracic segment. Transverse section. ×50.

L : Two cell clusters in the anterolateral and anteromedial nucleus in the ventral horn of the gray matter of the spinal lumbar segment. Transverse section. ×50.

S : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the spinal sacral segment. Transverse section. ×100.

Lower Pane[l] (POD5-COM-PV)

B : Reticular nucleus in the medulla oblongata showing immunoreractive neurons for PV. Coronal section. ×50.

C, T, L, S : PV-IR in the ventral horns of the gray matter in the spinal cervical (C), thoracic (T), lumbar (L), and sacral (S) segments. Transverse section. ×50

Fig. 3-1. Photomicrographs of CB-IR (Upper) and PV-IR (Lower) in the medulla oblongata and spinal cord of the left spinal hemisection group (POD10-LT-CB, PV).

Upper Panel (POD10-LT-CB)

B : Reticular nucleus in the medulla oblongata showing immunostaining for CB. Coronal section. ×50.

C : Several CB-IR and fibers in the ventral horn of the gray matter of the spinal cervical segment. Transverse section. ×50.

T : Strong CB-IR and fibers in the gray matter of the spinal thoracic segment. Transverse section. ×50.

L : Many CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the spinal lumbar segment. Transverse section. ×50.

S : A few CB-IR were scattered in the ventral horn of the of the gray matter in the spinal sacral segment. Transverse section. ×50.

Lower Panel (POD10-LT-PV)

B : Reticular nucleus in the medulla oblongata showing immunostaining for PV. Coronal section. ×50.

C, T, L, S : PV-IR in the left ventral horn of the gray matter in the spinal cervical (C), thoracic (T), lumbar (L), and sacral (S) segments. Transverse section. ×50.

Fig. 3-2. Photomicrographs of CB-IR (Upper) and PV-IR (Lower) in the medulla oblongata and spinal cord of the right spinal hemisection group (POD10-RT-CB, PV).

Upper Panel (POD10-RT-CB)

B : Reticular formation in the medulla oblongata. Coronal section. ×50.

C : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the cervical segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.

T : Several CB-IR and nerve fibers in the ventral horn of the gray matter of the spinal thoracic segment. Transverse section. ×50.

L : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the spinal lumbar segment. Transverse section. ×50.

S : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the spinal sacral segment. Transverse section. ×100.

Lower Panel (POD10-RT-PV)

B : Reticular nucleus in the medulla oblongata showing immunostaining for PV. Coronal section. ×50.

C, T, L, S : PV-IR in the ventral horns of the gray matter in the spinal cervical (C), thoracic (T), lumbar (L), and sacral (S) segments. Transverse section. ×50.

Fig. 3-3. Photomicrographs of CB-IR (Upper) and PV-IR (Lower) in the medulla oblongata and spinal cord of the complete spinal section group (POD10-COM-CB, PV).

Upper Panel (POD10-COM-CB)

B : Reticular formation in the medulla oblongata. Coronal section. ×50.

C : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the cervical segment of the spinal cord. Transverse section. ×50.

T : Many CB-IR and nerve fibers in the ventral horn of the gray matter of the spinal thoracic segment. Transverse section. ×50.

L : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the spinal lumbar segment. Transverse section. ×50.

S : Several CB-IR in the ventral horn of the gray matter of the spinal sacral segment. Transverse section. ×100.

Lower Panel (POD10-COM-PV)

B : Reticular nucleus in the medulla oblongata showing immunoreractive neurons for PV-IR. Coronal section. ×50.

C, T, L, S : PV-IR in the ventral horns of the gray matter in the spinal cervical (C), thoracic (T), lumbar (L), and sacral(S) segments Transverse section. ×50

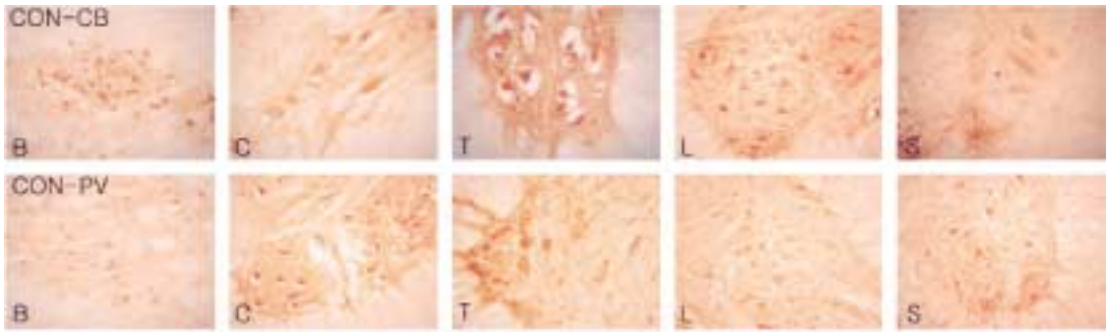
CON-CB
B
C
T
L
S
CON-PV
B
C
T
L
S

Fig. 1

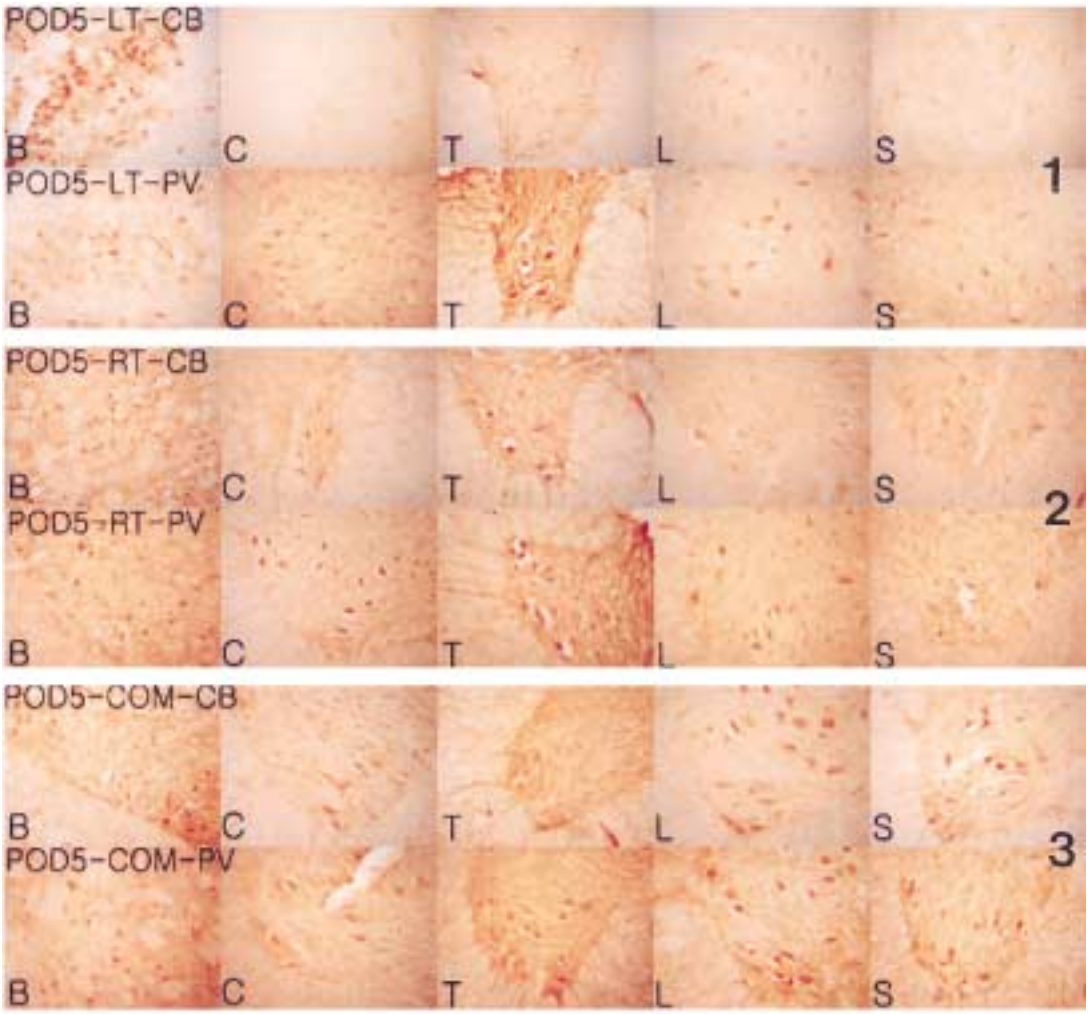
POD5-LT-CB
B
C
T
L
S
1
POD5-LT-PV
B
C
T
L
S
POD5-RT-CB
B
C
T
L
S
2
POD5-RT-PV
B
C
T
L
S
POD5-COM-CB
B
C
T
L
S
3
POD5-COM-PV
B
C
T
L
S

Fig. 2

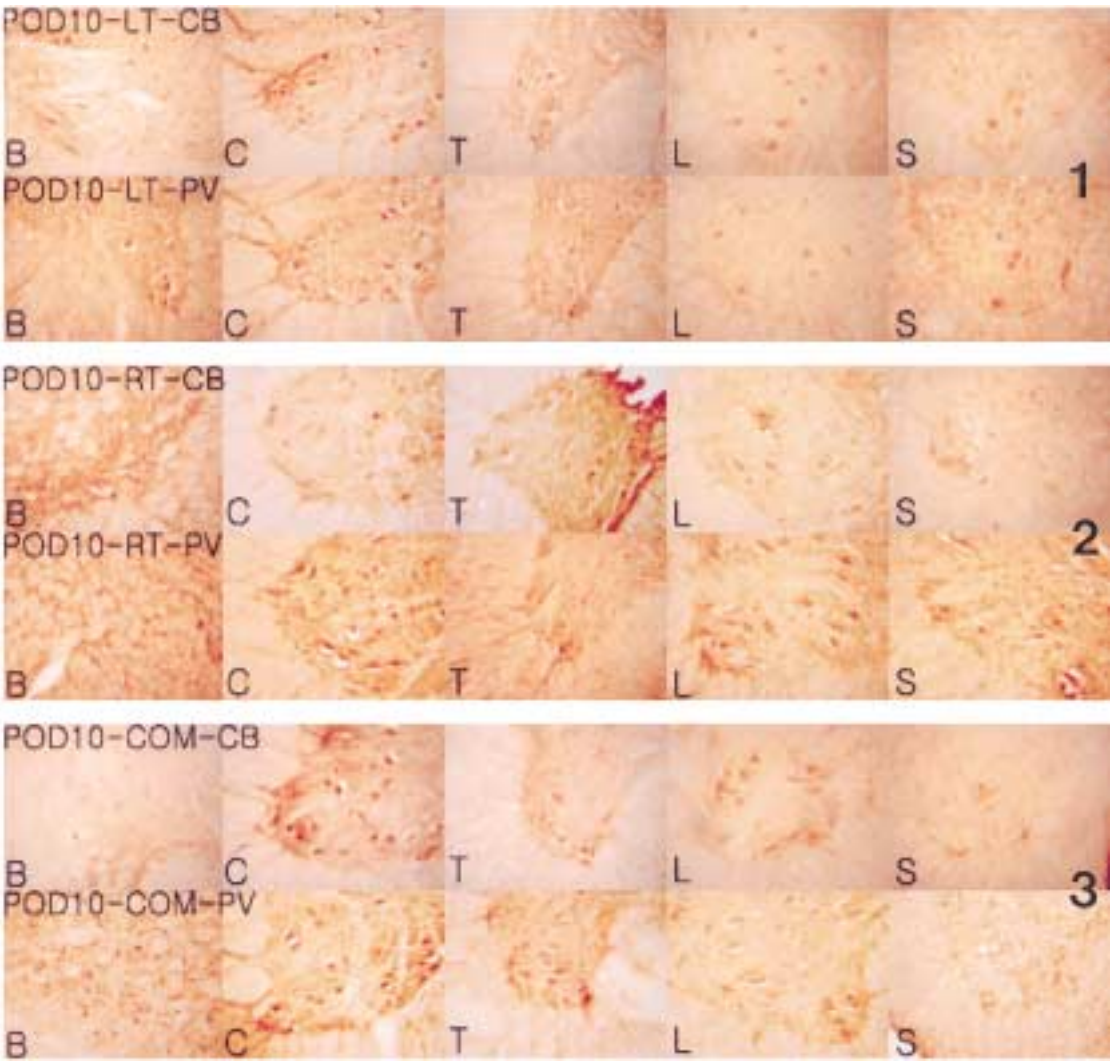
POD10-LT-CB
B
C
T
L
S
1
POD10-LT-PV
B
C
T
L
S
POD10-RT-CB
B
C
T
L
S
2
POD10-RT-PV
B
C
T
L
S
POD10-COM-CB
B
C
T
L
S
3
POD10-COM-PV
B
C
T
L
S

Fig. 3

Korean J Phys Anthrop
17(3): 249 ~ 263, 2004

Abstract

Morphological Studies on the Calbindin D-28K and Parvalbumin Immunoreactive Neurons in the Medulla Oblongata and Ventral Horn of the Spinal Cord Gray Matter after Spinal Cord Injury in Rats

Yoon-Young Chung, Jong-Joong Kim, Young-Sig Hyun

Department of Anatomy, College of Medicine, Chosun University

This study was examined and compared the immunocytochemical distribution of the two calcium-binding proteins calbindin D-28K and parvalbumin immunreactive neurons in the medulla oblongata and spinal cord after transection of spinal cord in rats. In this experiment, calbindin D-28K immnunoreactive neurons were mainly found in many pyramidal cells distributed medulla oblongata and spina1 cord of rats. Parvalbumin immunoreactive cells were demonstrated in all lamina of the gray matter of the spinal cord. These immunoreactive cells had the most high density in the severa1 nuclei of the ventra1 horn of the all segments of the spina1 cord. Calbindin D-28K neuropil labeling was strongly noted in spina1 all segments of the spinal cord. In contrast parva1bumin immunoreactive, little differences were found in distribution, size and morphology of calbindin D-28K cell body or neuropil staining in the spinal cord. The number of parvalbumin immunoreactive cells were more than twice in the medulla oblongata and spinal cord compared to the calbindin D-28K immunoreactive cells. Calbindin D-28K and parvalbumin-immmoreactive somata were round, ova1, spind1e and polygona1 in shape, and the immunoreactive neurons were unipolar, bipolar, multipolar and horizontal in shape. The diameters of the somata of the two immunoreactive neurons were 40 ~ 50 μm, respectively. Also dendrites of two immunoreactive neurons were densely arrayed in network. These results suggest that CB-IR and PV-IR most high density in the of the VII ~ X layers in the ventra1 horn of the all segments of the spina1 cord.

Key words : Medulla oblongata, Calbindin D-28K, Parvalbumin, Spinal cord injury

Correspondence to : Jong Joong Kim (Department of Anatomy, College of Medicine, Chosun University)
E-mail : jjbkim@chosun.ac.kr