

방사선 조사 후 대뇌겉질에 분포한 NPY-IR 신경세포에 관한 공초점레이저주사현미경적 연구

김 종 중, 정 윤 영, 정 영 옥
조선대학교 의과대학 해부학교실

간추림 : 동물세포 중 신경세포나 근육세포는 세포분열이 끝난 세포들로서 방사선에 대한 저항성이 가장 크지만 대뇌겉질이 과량의 방사선에 노출되면 중추신경기능에 많은 영향을 미칠것으로 생각된다. 본 실험에서는 개체의 생명활동의 전 영역을 통제, 관찰하는 중심중추로서 신체의 모든 세포를 지배하는 대뇌의 운동감각겉질에 방사선을 조사하여 NPY-IR세포의 변화를 관찰하고자 하였다. 흰쥐를 실험동물로 사용하였고 선형가속기(linear accelerator, 6MV)를 사용하여 6MV에너지의 엑스선(X-ray)으로 방사선을 조사하였다. 조사 범위의 크기는 12×20 cm, 조사깊이 1.5 cm, 조사선량은 240 cGy/min로 하여 1회에 1,800 cGy(rad)를 조사 하였다. 조사 후 2시간, 5시간, 1일, 3일, 7일에 동물을 희생하였다. 방사선 조사 후 면역조직화학적방법을 이용하여 대뇌겉질의 감각운동영역에 분포하고 있는 NPY-IR세포의 변화와 분포상을 확인하고자 본 실험을 시도하였다. 염색된 표본은 광학현미경과 공초점레이저주사현미경, 그리고 투과전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 대조군은 대뇌겉질에서 NPY-IR세포들이 1층을 제외한 5층에 고르게 분포하고 있었으며 바깥과립층과 바깥피라미트층에 가장 많이 분포하고 있었고 속피라미트세포층과 속과립층에도 많이 분포하고 있었다. 이극신경세포와 못극신경세포를 관찰할 수 있었다.
 2. 방사선 조사 후 2시간, 5시간이 경과한 군에서는 대뇌겉질에서 NPY-IR신경세포를 관찰할 수 있었으나 그 수가 많이 줄어들었고 변형된 NPY-IR세포들을 관찰 할 수 있었으며 속피라미트세포층과 못모양층에서는 거의 관찰할 수 없었다.
 3. 방사선조사 후 1, 2, 3일이 경과한 군에서는 대뇌겉질에서 NPY-IR세포가 거의 정상으로 회복하였으며 분자층과 속피라미트세포층에 많이 출현하였다.
 4. 방사선조사 후 1, 2, 3주일이 경과한 군에서는 대조군과 동일하게 회복되었다.
 5. 공초점레이저주사현미경 소견으로는 모든 실험군에서 광연속절편의 제8~11절편에서 면역형광성이 가장 높았으며, 광단층절편의 제6, 7절편에서 높은 면역형광인 적색이 가장 많았다.
- 이상의 결과를 종합하여 보면 방사선 조사 후 2시간, 5시간, 1일군에서 NPY-IR세포수가 많이 줄어들었고 그 형태도 매우 다양하였으며 3일과 7일군에서는 거의 정상으로 회복 되는 양상을 보였다.

찾아보기 낱말 : 운동감각대뇌겉질, NPY-IR세포, 공초점레이저주사현미경

서 론

일반적으로 운동과 감각기능을 일차적으로 수행하는 곳은 대뇌겉질의 중심고랑을 기준으로 하여

앞 부위의 일차운동겉질과 뒤 부위의 일차감각겉질층이다. 사람을 포함한 많은 동물들의 신체의 내외부로부터의 자극을 운동중추에 보내면 그 운동중추에서는 매우 빠른 속도로 해석하여 그에 대응하는 행동을 할 수 있도록 명령을 내리는 중추가 이곳에 있다. 이러한 기능을 수행하기 위해서는 대뇌겉질층

에 있는 여러 개의 신경세포 즉 피라미세포, 별세포, 방추세포와 이들에게 영양분을 제공하고 지지해주는 신경교세포 그리고 이들 신경세포를 연결시켜주는 신경섬유들의 복잡한 배열에 의한 것으로 알려져 있다(Snell 1997, Nolte 2002).

Neuropeptide-Y(NPY)는 36개의 아미노산으로 구성된 신경전달물질이며 돼지의 뇌에서 Tatemoto가 최초로 추출하였다(Tatemoto 등 1982). 최근에 NPY는 사람의 뇌를 비롯하여 여러 포유동물들의 뇌에 많이 분포하고 있으며(Allen 등 1984) catecholamine, somatostatine 등과 함께 대뇌겉질을 포함한 뇌조직의 여러 부위에 광범위하게 분포하고 있다고 알려지고 있다(Adrian 등 1983, Chronwall 등 1983, Quidt 등 1986, Davies 등 1990, Huguet 등 1993). NPY의 기능은 자율신경 조절에 영향을 미치는 것으로 밝혀지고 있으며 심혈관계기능, 생식, 성생활, 일간리듬, 음식섭취 등의 조절에 관여하는 것으로 알려지고 있다(Gray와 Morley 1986, Ohm 등 1988). 지금까지 NPY에 대한 연구의 동향을 보면 성인의 뇌를 대상으로 해부학적 분포상에 관한 연구를 수행한 것들이 대부분이었으며(Allen 등 1984, Everitt 등 1984, Nakagawa 등 1985, Quidt 등 1986), 일부 연구자들에 의해 개체발생학(ontogeny)적 방법으로 NPY의 분포영역이나 출현시기 등에 대한 연구를 시행하였다(Albers 등 1984, Woodhams 등 1985, Kagotani 등 1989, 모근석 등 1996).

한편 방사선 상해로 생체세포의 괴사가 일어나는 것은 잘 알려져 있으면서도, 일정량의 방사선에 노출된 후 세포가 죽거나 살아남는 과정에 대해서는 아직도 부위에 따라 확실하게 설

명되지 못한 상태이다. 전신에 방사선조사를 받은 후에 생긴 증상이나 증후들을 방사선증후군이라 하며 대개 골수증후군, 소화관증후군, 중추신경계증후군 등 세 가지로 나눌 수 있으며 골수증후군은 100R 정도를 조사 받으면 나타나며, 소화관증후군은 500R 정도를 조사 받으면 나타나며, 1,000R이 넘으면 3일~2주일에 사망할 수 있다. 방사선에 대한 저항력이 가장 강한 중추신경계통의 증후군은 2,000R 정도를 조사 받으면 나타나며 5,000R이 넘으면 2일 이내에 사망할 수 있다고 알려지고 있다(안의태 등

1994, 1997, 고정식 등 1998,). 고정식 등(1998)은 방사선 조사 후 흰쥐 맥락알기의 미세구조에 대해서, 안의태 등(1994)은 흰쥐소뇌 Purkinje세포의 미세구조에 대해서, 안의태 등(1997)은 흰쥐 소뇌겉질의 미세구조에 대해서, 이병호 등(1991)은 흰쥐 줄무늬체의 신경연접에 대해서, 조태승 등(1991)은 흰쥐 뇌송과체의 미세구조에 대해서 자세히 보고한바 있다. 그러나 머리 부분에 방사선을 조사한 후 대뇌겉질에 분포한 NPY-IR세포의 분포상이나 변화에 대한 보고는 접할 수 없었다.

따라서 저자는 쥐의 머리 부위에만 방사선을 조사하여 NPY-IR세포의 형태와 분포상을 광학현미경을 이용하여 관찰하고 동시에 이들 세포내의 형광물질을 확인하기 위하여 공초점레이저주사 현미경을 이용하여 관찰하고자 본 실험을 시행하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물과 실험방법

본 실험에 사용한 실험동물은 조선대학교 동물사육장에서 분양 받은 체중 200~250 gm 내외의 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐 45마리를 사용하였으며 실험동물은 방사선을 조사하지 않은 대조군과 방사선을 조사한 실험 군으로 나누고 실험군은 방사선 조사 후 2시간, 5시간, 1일, 2일, 3일, 1주일, 2주일, 3주일 경과한 군으로 나누었으며 각 실험군은 5마리씩 배분하였다.

2. 실험동물의 방사선조사

방사선 조사 군은 sodium chloral hydrate (400 mg/kg)로 마취시킨 후 선형가속기(linear accelerator, Varian)를 사용하여 6MV에너지의 엑스선(X-ray)으로 방사선을 조사하였다. 방사선 조사 범위 안에 실험동물의 머리부분만 조사할 수 있도록 배치하였고, 한 조사 범위 안에 8마리를 함께 놓아 조사하였다. 방사선 조사범위의 크기는 15×20 cm, 조사 깊이는 2 cm, 조사선량율은 240 cGy/min로 하여 1회에 1,800 cGy(rad)를 조사하였다. 표면 뇌 조직에 선량

이 균등하도록 조직등가물질 (bolus) 1.5 cm를 흰쥐의 머리 위에 올려놓고 방사선을 조사하였다.

3. 실험동물의 조직처리

각 실험동물은 sodium chloral hydrate (400 mg/kg)로 전신 마취시킨 후 좌심실을 통해 오름대동맥에 0.85% 생리적 식염수 400~500 ml를 주입하여 혈액을 씻어내고 4% paraformaldehyde와 1% glutaraldehyde (in 0.05 M phosphate buffer, pH 7.4 Sigma)고정액을 38~40°C 온도로 조절한 후 심장을 통하여 관류 고정하였다. 뇌조직에 고정액의 확산 침투를 좋게 하기 위하여 실험동물을 고정대에 2시간 동안 방치한 후 뇌를 꺼내 4°C로 온도를 조절한 2차 고정액에 넣어 24시간동안 더 고정하였다. 0.05 M phosphate buffered saline (PBS) 으로 세척하고 뇌에서 대뇌결질 중심구를 기준으로 대부분 일차운동결질인 중심앞이랑과 일차감각결질인 중심뒤이랑 부위를 적출한 후 0.05 M PBS에 희석한 10% 및 20% sucrose에 넣어서 조직이 가라앉은 것을 확인한 후 냉동절편을 얻기 위하여 30% sucrose 용액에 넣어 4°C에서 12~24시간 방치한 후 O.C.T compound (Sigma)에 포매하여 -21°C cryocut를 이용하여 35 µm 두께로 연속관상절편을 만들었다. 이 절편들은 항체의 조직투과성을 높이기 위하여 0.05% Triton X-100 (Sigma)을 사용하였으며 그 후 조직절편 전체를 0.05 M PBS에 여러 차례 씻어 낸 후 10% normal serum에 30분동안 침적시켰다.

4. 면역조직화학염색

조직절편을 0.05 M PBS로 10분씩 3회 세척한 후 0.03% H₂O₂로 20~30분간 실온에서 처리하여 내인성 과산화효소의 활성을 억제시킨 다음 1% normal albumin, 0.05% Triton X-100이 들어 있는 0.05 M PBS 혼합 용액에 약 2시간 정도 처리하여 비 특이성 반응을 억제시킨 후 10분씩 3회 수세하였다. 제1항체인 rabbit anti-NPY (vectar)를 1:500으로 희석하여 4°C에서 48시간 반응시킨 후 0.05 M PBS에 10분씩 3회 세척하였다. 제2항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG (Vectastain kit)를 1:100으로 희석한

후, 실온에서 2시간동안 반응시켰다. 발색제로는 0.03%의 H₂O₂가 함유된 DAB (3,3'-diaminobenzidine, Sigma)를 사용하여 5~10분간 정색반응을 실시하였다. 반응이 끝난 조직은 gelatin이 발라진 slide에 얹어 말린 후, 통상의 탈수과정을 거쳐 봉입하여 NPY-IR세포를 광학현미경으로 관찰하여 Nikon Coolpix 900 Digital Camera가 부착된 Parasonic NV-MPX 300C Printer로 사진을 촬영하였다.

5. 면역형광염색

조직절편을 0.05 M PBS로 수회 세척 후 항원의 비 특이적 반응을 방지하기 위하여 10% normal goat serum-0.5% bovine serum albumin이 희석된 0.1 M PBS로 처리하였다. 제1차항체인 rabbit anti-NPY를 1:500으로 희석하여 4°C에서 48시간 반응시킨 후 0.05 M PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 제2항체인 fluorescence isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-rabbit IgG를 1:100으로 희석한 후 실온에서 60~90분 동안 반응시켰다. 각 실험군의 절편에서 형광강도를 표준화하기 위해서 각 형광 염색 시 실험군의 절편을 동시에 처리하였다. 반응이 끝난 절편은 0.05 M PBS로 세척한 후 형광물질을 보존하기 위해 수용성 봉입제인 Gel/Mount (Biomedica)로 봉입하여 공초점레이저주사현미경으로 관찰하면서 광연속절편과 광단층절편 사진을 촬영하였다.

결 과

1. 대조군

광학현미경적 소견 : 대뇌 운동감각결질에는 다양한 형태의 NPY-IR세포가 출현하였으며 신경교세포도 운동감각결질 전 구역에서 관찰할 수 있었다. 분자층에서는 수평세포와 짧은 축삭을 가진 소수의 세포를 관찰할 수 있었다. 바깥피라미트층에서는 중간 정도의 피라미트와 작은피라미트 신경세포가 분포하고 있었고 피라미트신경세포와 방추신경세포의 가지들끼리 축삭들이 서로 엉켜 그물을 형성하고 있었다. 속

피라미트층에서는 큰피라미트신경세포와 중간피라미트신경세포들이 함께 출현하였고 망상을 형성하고 있었다. 세포체의 크기는 45~50 μm 정도였고 못모양층에서는 여러 가지 형태였으며 세포체의 모양이 세모꼴이거나 타원형이었다(Figs. 1M, 2S, 3A).

공초점레이저주사현미경적 소견 : 광연속절편상에서 25개의 절편중 제1절편(0 μm)에서는 아주 낮은 형광물질이 신경세포체에 출현하기 시작하여 제2~5절편(0.05~3 μm)에서 신경세포체와 축삭, 가지돌기에 점점 많은 형광물질이 출현하였으며 제6~13절편(3.25~7.15 μm)에서는 확실히 구별되는 형광물질이 신경세포체와 축삭, 가지돌기에 출현함을 관찰할 수 있었으며(Fig. 4A), 제10~11절편에서(6~7 μm)는 면역형광성이 매우 양호하였다. 제14~20절편(9~12 μm)에서는 점점 형광성이 줄어들어 마지막 3개의 절편에서는 거의 관찰할 수 없었다.

광단층절편에서 9개의 절편중 제1절편(0 μm)에서는 백색(중등도 형광강도)이 가장 많았고 제3~6절편(2.25~5.62 μm)에서는 적색(높은 형광강도)이 신경세포체와 축삭, 가지돌기에 가장 많았으며 제7절편(6.76 μm)에서는 백색과 적색이 반반씩 섞여 출현하였고 제8, 9절편(7.87~9 μm)에서는 적색이 서서히 사라지고 백색의 형광성을 나타내고 있음을 관찰할 수 있었다(Fig. 5A).

2. 방사선 조사 후 2시간 경과 군

광학현미경적 소견 : 대뇌 운동감각결절에서는 전반적으로 대조군에 비해 가장 변화가 심한 실험군으로서 NPY-IR세포가 크기가 현저히 줄어들었으며 신경세포의 모양이 매우 다양하였고 군데군데 끊어진 축삭과 가지돌기가 분포하고 있었다. 분자층과 속피라미트세포층 그리고 못모양층에서 방사선에 조사된 것으로 생각되는 소수의 찌그러진 NPY-IR 세포들을 관찰할 수 있었다. 세포체의 크기는 20~30 μm 정도였다. 세포체는 원형, 타원형, 세모꼴등 매우 다양하였으나 아주 불규칙하였다(Fig. 3B).

공초점레이저주사현미경적 소견 : 12개의 광연속절편을 만들어 관찰한 결과 제1~4절편(0~2 μm)

에서는 낮은 면역형광성의 NPY-IR세포들이 관찰되었다. 제5~9절편(2.5~5.2 μm)에서는 점차 상위 절편으로 갈수록 높은 면역형광성을 나타내는 NPY-IR세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 4B). 제10~12절편(5.5~7.15 μm)에서는 형광물질이 서서히 사라져서 신경세포체를 구별할 수 없었다. 9개의 광단층절편에서 NPY-IR세포의 모양이 매우 불규칙적이었으며 제1, 2절편(0~1.1 μm)에서는 백색이 가장 많았고 제3절편(2.2 μm)에서는 백색과 적색이 각각 반정도 섞여 출현하였다. 제4~7절편(3.3~6.6 μm)에서는 신경세포 전체에서 적색이 가장 많았다(Fig. 5B). 제8, 9절편(7.7~8.8 μm)에서는 백색이 많았다.

3. 방사선 조사 후 5시간 경과 군

광학현미경적 소견 : 매우 심한 변화를 보이는 실험 군으로써 대뇌의 운동감각결절 전체에서 NPY-IR세포는 간혹 관찰되었으나 신경세포의 모양이 변형되어 있었다. 못모양층에서 소수의 NPY-IR세포를 관찰할 수 있었다. 신경세포체의 크기는 20~30 μm 였다.(Fig. 3C).

공초점레이저주사현미경적 소견 : 못모양층에서 관찰된 신경세포를 20개의 광연속절편을 제작하여 NPY-IR세포의 형광강도를 분석한 결과 제1~5절편(0~3.5 μm)에서는 낮았으나 신경세포체는 관찰할 수 있었다(Fig. 4C). 제6~16절편(4.3~13 μm)에서는 강한 면역형광성을 나타내는 NPY-IR세포를 관찰할 수 있었으며 못극신경세포였고 세포체는 피라미트형이었다. 광학현미경으로는 관찰할 수 없었으나 형광물질과 레이저 광선의 원리를 이용한 공초점레이저주사현미경으로는 관찰할 수 있었다. 제17~20절편(14~17 μm)에서는 연결형태를 하고 있던 신경세포체가 갈라지면서 서서히 형광물질의 강도가 약해지는 양상을 관찰할 수 있었다.

9개의 광단층절편에서는 제1~3절편(0~2.25 μm)에서는 NPY-IR세포는 적색이었다. 제4~7절편(3.37~6.75 μm)에서는 신경세포 전체에서 적색이 많이 출현하였으나 염주모양을 하고 있는 신경 섬유는 백색이 많았다. 제8절편(7.87 μm)에서는 제3절편과 같이 신경세포체는 적색이, 그리고 축삭과

가지돌기는 백색이었으며 제9절편(9 μm)의 신경세포는 모두 백색이었다(Fig. 5C).

4. 방사선 조사 후 1일 경과 군

광학현미경적 소견 : 대체적으로 대뇌 운동감각결질의 1층을 제외한 5층전체에서 NPY-IR세포를 관찰할 수 있었으며 방사선 조사로 인하여 변형되었던 세포들이 회복되는 양상이었다. 특히 분자층과 뿔모양층에서 양극, 뿔극신경세포를 관찰할 수 있었고 원형, 타원형 및 삼각형을 하고 있는 신경세포체를 관찰할 수 있었으며 그 크기는 40~50 μm 정도였다. 속피라미트세포층에서는 드물지만 비교적 큰 피라미트 신경세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 3D).

공초점레이저주사현미경적 소견 : 25개의 광연속 절편을 제작하여 형광물질을 관찰한 결과 25개의 절편(0~30 μm)에서 면역형광성이 고르게 분포하고 있는 신경세포체와 축삭 그리고 가지돌기로 구성되어 있는 전형적인 양극 및 다극 신경세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 4D).

9개의 광단층절편중 제1절편(0 μm)에서는 신경세포체가 백색과 적색이 반반정도 출현하였으며 축삭과 가지돌기는 백색이었다. 제2, 3절편(1.12~2.25 μm)에서는 신경세포체는 적색이었고 축삭과 가지돌기, 그리고 주변의 신경섬유는 백색이었다. 제4~7절편(3.37~6.75 μm)에서는 신경세포 전체가 적색이 가장 많았고 양극신경세포와 뿔극신경세포였다. 제8절편(7.87 μm)에서는 적색을 하고 있는 신경세포체만 출현하였으며 제9절편(9 μm)에서는 백색을 하고 있는 희미한 신경세포체를 관찰할 수 있었다(Fig. 5D).

5. 방사선 조사 후 2일 경과 군

광학현미경적 소견 : 이 실험군에서는 NPY-IR세포가 대뇌의 운동감각결질의 전체 층에 고르게 분포하고 있었다. 분자층에서는 양성반응의 신경섬유들이 그물을 형성하고 있었으며 이 신경섬유들 사이로 수평신경세포가 간혹 관찰되었다. 바깥과립층에서는 작은 피라미트신경과 별신경세포를, 바깥피라미트층에서는 군데군데에서 크고 모양이 뚜렷한 피라미트

신경을 관찰할 수 있었다. 속피라미트세포층에서는 여러 형태를 하고 있는 신경세포들이 관찰되어Y고 세포체의 크기가 50~60 μm 인 매우 큰 뿔극신경세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 3E).

공초점레이저주사현미경적 소견 : 12개의 광연속 절편을 제작하여 형광물질의 강도를 관찰한 결과 제1~3절편(0~2 μm)에서는 신경세포체를 관찰할 수 있었으며 염주모양을 하고 있는 많은 신경섬유들이 망상을 하고 있었다. 제4~6절편(3~5 μm)에서는 뿔극신경세포들이 강한 면역형광성을 나타내었다(Fig. 4E). 제7~9절편(6~8 μm)에서는 낮은 면역형광성을 나타내었다.

9개의 광단층절편중 제1~3절편(0~2.75 μm)에서는 NPY-IR세포체는 백색이었다. 제4~6절편(4.12~6.37 μm)에 관찰한 신경세포는 적색이 가장 많았으며 제7~9절편(8.5~11.5 μm)에서는 양극신경세포였고 세포체는 적색이었고 축삭과 가지돌기는 백색이었다. 제10~12절편(12.37~15.12 μm)은 신경세포체가 적색과 백색이 각각 절반정도 섞여 있었다(Fig. 5E).

6. 방사선조사 후 3일 경과 군

광학현미경적 소견 : 이 실험군에서는 NPY-IR세포가 대뇌의 운동감각결질의 전체층에 고르게 분포하고 있었다. 분자층에서는 양성반응의 신경섬유들이 그물을 형성하여 대뇌겉질쪽으로 뻗어가고 있었다. 바깥과립층에서는 작은 피라미트신경과 별신경세포를, 바깥피라미트층에서는 군데군데에서 크고 모양이 뚜렷한 피라미트신경을 관찰할 수 있었다. 속피라미트세포층에서는 여러 형태를 하고 있는 신경세포들이 분포하고 있었으나 특히 거미줄 모양의 NPY-IR세포를 관찰할 수 있었으며 세포체의 크기는 40~50 μm 정도였다(Fig. 3F)

공초점레이저주사현미경적 소견 : 9개의 광연속절편을 제작하여 형광물질의 강도를 관찰한 결과 제1~2절편(0~1.35 μm)에서는 위축된 신경세포체를 관찰할 수 있었으며 신경세포체 주위에는 염주모양을 하고 있는 많은 신경섬유들이 망상을 하고 있었다. 제3~6절편(2.25~5.62 μm)에서는 뿔극 및 양극

신경세포들이 매우 강한 면역형광성을 나타내었다(Fig. 4F). 제7~9절편(6.25~9 μm)에서는 면역형광성이 신경세포체에만 나타났었다(Fig. 4F).

9개의 광단층절편중 제1, 2절편(0~1.25 μm)에서는 NPY-IR세포는 백색이었다. 제3, 4절편(2.25~3.37 μm)에 관찰한 신경세포체는 적색이 가장 많았으며 제5~7절편(4.5~6.75 μm)에서는 전형적인 양극신경세포로 NPY-IR세포체는 적색이었고 축삭과 가지돌기 그리고 주위에 분포하고 있는 신경섬유는 백색이었다. 제8절편(7.87 μm)은 신경세포체가 적색과 백색이 각각 절반정도 섞여 있었다(Fig. 5F).

7. 방사선조사 후 1주일 경과 군

광학현미경적 소견 : 대뇌 운동감각결절에 출현하는 NPY-IR세포와 신경아교 세포를 운동감각결절 전 구역에서 관찰할 수 있었으며 피라미트신경세포와 방추신경세포의 가지돌기와 축삭들이 그물을 형성하고 있었다. 바깥과립층에서는 작은피라미트 신경세포와 별신경세포가 흩어져 분포하고 있었다. 속피라미트세포층에서는 큰피라미트신경세포와 중간피라미트신경세포들이 함께 관찰되었으며 세포체의 크기는 평균 50~60 μm 정도였다(Fig. 3G).

공초점레이저주사현미경적 소견 : 광연속절편상에서 9개의 절편중 제1~3절편(0~2.25 μm)에서는 면역형광성이 신경세포체에 나타나기 시작하여 제4~6절편(2.35~5.25 μm)에서 점차적으로 신경세포체와 축삭, 가지돌기에 많은 면역형광성이 나타났으며 제6절편(6.25 μm)에서는 면역형광성이 신경세포체에서만 나타났고(Fig. 4G), 그 후 제7~9절편(6.75~9.02 μm)에서는 점점 면역형광성이 줄어들었다.

12개의 광단층절편중 제1~3절편(0~2.35 μm)에서는 적색과 백색이 절반정도 섞여 나타나다가 제3~5절편(3.52~5.25 μm)에서는 못극형의 NPY-IR세포가 나타났는데 적색이 가장 많았으며 주변에 분포하고 있는 염주모양의 신경섬유들은 백색이었다(Fig. 5G). 제6~9절편(7.37~9.4 μm)이후에서는 적백색으로 나타나는 신경세포체가 서서히 줄어들었다(Fig. 5G).

8. 방사선조사 후 2주일 경과 군

광학현미경적 소견 : 대뇌 운동감각결절에 출현하는 NPY-IR세포와 신경아교 세포를 운동감각결절 전 구역에서 관찰할 수 있었다. 바깥과립층에서는 작은피라미트신경세포와 별신경세포가 흩어져 분포하고 있었고 속피라미트세포층에서는 큰피라미트신경세포와 중간피라미트신경세포들이 함께 나타났으며 세포체의 크기는 40~50 μm 정도였다(Fig. 3H).

공초점레이저주사현미경적 소견 : 광연속절편상에서 9개의 절편중 제1~3절편(0~2.5 μm)에서는 면역형광성이 신경세포체에 나타나기 시작하여 제3절편에서는 NPY-IR세포 전체에 나타나고 있었고 제4~6절편(3.75~6.25 μm)에서 신경세포체와 축삭, 가지돌기에 차례대로 많은 면역형광성이 나타났었다(Fig. 4H), 그 후 제7~9절편(7.5~10 μm)에서는 점점 형광성이 줄어들었다.

12개의 광단층절편중 제1~3절편(0~2.55 μm)에서는 적색과 백색이 절반정도 섞여 나타났으며 제4~6절편(4.52~6.37 μm)에서는 서서히 면역형광성이 나타나다가 제7절편(7.65 μm)에서 못극신경세포인 NPY-IR세포가 적색의 면역형광성을 나타내었다(Fig. 5H). 제8절편(8.92 μm)이하에서는 적백색의 신경세포였고 면역형광성이 줄어들었다.

9. 방사선조사 후 3주일이 경과한 군

광학현미경적 소견 : 대뇌 운동감각결절에 출현하는 NPY-IR세포의 세포체, 가지돌기, 축삭, 그리고 신경아교 세포가 운동감각결절 전 구역에서 관찰할 수 있었다. 바깥과립층에서는 작은피라미트신경세포와 별신경세포가 흩어져 분포하고 있었고 속피라미트세포층에서는 큰피라미트신경세포와 중간피라미트신경세포들이 함께 나타났으며 가지돌기들이 서로 엉켜 망상을 만들어 분자층으로 투사되어 운동과 감각의 신호를 서로 전달하는 양상을 보였다. 세포체의 크기는 40~50 μm 정도였다(Fig. 3I).

공초점레이저주사현미경적 소견 : 광연속절편상에서 9개의 절편중 제1~3절편(0~2.5 μm)에서는 흩어져 있는 신경세포체에 면역형광성이 나타나기 시작하여 제4~6절편(3.75~6.25 μm)에서 점차적으로

NPY-IR세포에 많은 면역형광성이 나타났다. 제6절편(6.25 μm)에서는 전체 신경세포에 형광물질이 명확히 나타났으며(Fig. 4I), 그 후 제7~9절편(7.5~10 μm)에서는 점점 형광물질이 줄어드는 양상을 관찰할 수 있었다.

12개의 광단층절편중 제1~3절편(0~2.55 μm)에서는 적색과 백색이 절반정도 나타나다가 제4~6절편(3.82~6.37 μm)에서는 서서히 면역형광성이 나타나다가 제6절편(6.37 μm)에서 못극신경세포인 NPY-IR세포가 나타났는데 적색이 가장 많았으며 주변에 분포하고 있는 신경섬유들은 백색이 많았다(Fig. 5I). 제8~9절편(8.92~10.2 μm)에서는 적백색의 신경세포체가 서서히 줄어들다가 제9~12절편(11.47~14.02 μm)에서는 적백색이 혼재하고 있는 면역형광성이 약한 신경세포를 관찰할 수 있었다.

고 찰

일반적으로 운동기능과 감각기능을 총괄하는 곳은 대뇌겉질의 중심고랑을 기준으로 하여 앞 부위의 운동 겉질층과 뒤 부위의 감각겉질층이며 신경세포의 종류와 밀도, 배열에 따라 분자층, 바깥과립층, 바깥피라미층, 속과립층, 속피라미세포층, 못모양층으로 구별한다. 사람을 포함한 많은 동물들의 신체의 내 외부로부터 자극을 운동중추에 보내면 운동중추에서는 매우 빠른 속도로 해석하여 그에 대응하는 행동을 할 수 있도록 명령을 내리는 중추가 이곳에 있다. 신경세포는 방사선에 대한 저항력이 상당히 커서 세포가 괴사에까지 이르지 않는 반면, 세포괴사 이전에 각 세포질 소기관의 변화가 있다면 신경의 감각, 운동 전도 기능에 상당한 영향을 미칠 것으로 생각되며, 방사선 상해에 따른 중추신경 증상 가운데 평형감각, 방향감각, 운동장애등이 나타나는 것은 뇌의 운동조절계통의 변화와 관련이 클 것으로 생각된다(정재삼 등 1992) 따라서 본 연구에서 흰쥐 대뇌에 방사선을 조사한 후 대뇌겉질의 운동영역과 감각영역 NPY-IR세포의 크기, 분포, 형태를 광학현미경과 공초점레이저주사현미경으로

관찰하였다.

대조군에서 광학현미경으로 관찰하였을 때 NPY-IR세포가 대뇌 운동감각겉질 각층에 흩어져 분포하고 있음을 확인할 수 있었다. 이는 모근석 등(1996)과 차중익 등(1997)이 흰쥐 대뇌겉질에서 관찰 보고한 결과와 일치하였다.

공초점레이저주사현미경 소견에서 25개의 광연속절편상에서 면역형광성 제1절편에서는 약하게 나타났으나 제2,3절편에서 신경세포체와 축삭, 가지돌기에 점점 많은 면역형광형광 반응이 나타났으며 제10,11절편에서는 가장 강한 면역형광 반응이 나타난 명확한 NPY-IR세포를 관찰할 수 있었다. 그 후 절편에서는 점점 형광성이 줄어들어 마지막 3개의 절편에서는 면역형광성은 거의 관찰할 수 없었다.

9개의 광단층절편의 제5,6절편에서 적색의 높은 면역형광성이 신경세포체와 축삭, 가지돌기에 출현하였다. 이는 형광물질이 신경세포안에 많이 축적되어 있기 때문이라고 판단된다.

방사선 조사 후 2시간 및 5시간 경과 실험군에서 광학현미경으로 관찰하였을 때 NPY-IR세포는 수가 현저히 줄어들었으며 세포의 모양이 매우 불규칙하였고 찌그러든 신경세포체와 여러 마디로 끊어진 축삭과 가지돌기들이 나타남을 관찰할 수 있었다. 분자층과 속피라미세포층에서 소수의 NPY-IR세포가 드문드문 분포하고 있음을 관찰할 수 있었다. 이는 방사선을 조사 받았기 때문으로 생각되며 시간적인 차이는 있었으나 여러 연구자들(배학근 등 1992, 안의태 등 1994, 1997, 고정식 등 1998)의 결과와 일치하였다.

공초점레이저주사현미경적 소견으로 12~20개의 광연속절편 중 제1,2절편에서 NPY-IR세포들은 면역형광성이 매우 낮았으며 제5,6절편을 비롯해서 상위 절편으로 갈수록 면역형광성이 점점 높아졌으며 제8,9절편에서는 최강의 면역형광성이 나타났으며 12절편 이상에서는 형광성의 강도가 약해지면서 축삭과 가지돌기는 관찰할 수 없었다.

9개의 광단층절편에서도 비슷한 양상이었으며 제6,7절편에서 면역형광성이 매우 높은 적색으로 출현하였다.

방사선조사 후 1일, 2일 및 3일 경과한 실험군을

광학현미경으로 관찰한 결과 대체적으로 대뇌 운동 감각결질의 1층을 제외한 5층 전체에서 비교적 면역반응이 좋은 NPY-IR세포가 출현하여 서서히 회복되는 양상을 관찰할 수 있었다. 특히 3일경과군에서는 NPY-IR세포가 대뇌의 운동감각결질의 전체층에 고르게 분포하고 있었다. 분자층에서는 양성반응의 신경섬유들이 그물을 형성하여 대뇌결질쪽으로 뻗어가고 있었다. 바깥과립층에서는 작은 피라미트 신경과 별신경세포를, 바깥과립층에서는 군데군데에서 크고 모양이 뚜렷한 피라미트 신경을 관찰할 수 있었다. 속피라미트세포층에서는 여러 형태를 하고 있는 신경세포들이 분포하고 있었으나 특히 거미줄모양의 NPY-IR세포를 관찰할 수 있었으며 세포체의 크기는 40~50 μm 정도였다(Fig. 3F), 이는 모근석 등(1996)과 차중익 등(1997)의 실험결과와 비슷하였다.

공초점레이저주사현미경으로 25개의 광연속절편을 만들어 관찰한 방사선조사 후 1일군은 모든 절편에서 면역형광성이 고르게 분포하고 있었으며 12개의 광연속절편을 만들어 관찰한 방사선조사 후 2일군은 제4~6절편에서 전형적인 못극신경세포들이 매우 강한 면역형광성이 나타남을 관찰할 수 있었다. 9개의 광연속절편을 만들어 관찰한 방사선조사 후 3일군은 제5, 6절편에서 관찰된 양성 신경세포들도 2일군과 비슷한 양상을 보였다. 1, 2, 3일군 모두 9개의 광단층절편을 만들어 관찰한 결과 제6, 7절편에서는 NPY-IR세포 전체가 가장 강한 면역형광성을 나타내는 적색이 가장 많았는데 이는 NPY-IR세포에 형광물질이 많이 축적되어 있기 때문이며 정확한 이유를 규명하기 위하여 앞으로 심도있는 연구를 수행해야 된다고 판단된다. 양극신경세포와 못극신경세포들이 관찰되었고 염주모양의 신경섬유들은 백색이 많았다.

방사선조사 후 1주, 2주 및 3주일이 경과한 실험군을 광학현미경으로 관찰한 결과 대뇌 운동감각결질에 출현하는 NPY-IR세포의 세포체, 가지돌기, 축삭, 그리고 신경아교 세포가 운동감각결질 전 구역에서 관찰할 수 있었으며 바깥과립층에서는 작은 피라미트 신경세포와 별신경세포가 흩어져 분포하고 있었으며 속피라미트세포층에서는 큰피라미트신경세포와

중간피라미트신경세포들이 함께 출현하였으며 전형적인 가지돌기들이 서로 엉켜 망상을 만들며 분자층으로 투사되어 운동과 감각의 신호를 서로 전달하는 양상을 보였으며 대조군과 같은 양상으로 출현함을 관찰할 수 있었다. 방사선 조사 후 1주일이 지난 후부터는 거의 정상으로 회복되는 것으로 판단된다. 이는 모근석 등(1996)과 차중익 등(1997)의 실험결과와 비슷하였다.

공초점레이저주사현미경적 소견에서 1, 2, 3주의 실험군 모두 9개의 절편중 제1~3절편(0~2.5 μm)에서는 형광물질이 신경세포체에 출현하기 시작하여 제3절편에서는 세포체, 가지돌기, 축삭을 구별할 수 있었으며 제4~6절편(3.75~6.25 μm)에서 점차적으로 신경세포체와 축삭, 가지돌기에 차례대로 점점 많은 면역형광성이 나타났으며 제6절편(6.25 μm)에서는 명확히 구별되는 면역형광성이 NPY-IR세포에 나타났으며, 그 후 제7~9절편(7.5~10 μm)에서는 점점 면역형광 반응이 줄어들어 마지막 9절편에서는 1절편에서와 마찬가지로 신경세포체를 제외하고는 축삭과 가지돌기 그리고 주변의 신경섬유들에서는 형광반응을 관찰할 수 없었으며 정상으로 회복됨을 관찰할 수 있었다.

실험군 모두 12개의 광단층절편중 제1~3절편(0~2.55 μm)에서는 적색과 백색이 절반정도 섞여 나타났고 제4~6절편(4.52~6.37 μm)에서는 서서히 면역형광성이 신경세포에 나타나다가 제7절편(7.65 μm)에서 전형적인 못극신경세포인 NPY-IR세포가 나타났는데 적색이 가장 많았으며 주변에 분포하고 있는 신경섬유들은 백색이 많았다(Fig. 5H) 제8~9절편(8.92~10.2 μm)에서는 적백색의 신경세포체가 서서히 줄어들다가 제9~12절편(11.45~14.02 μm)에서는 적백색이 혼재하고 있는 신경세포만이 흔적으로 출현하였다. 본 실험군 역시 참고문헌을 접할 수가 비교할 수가 없었다.

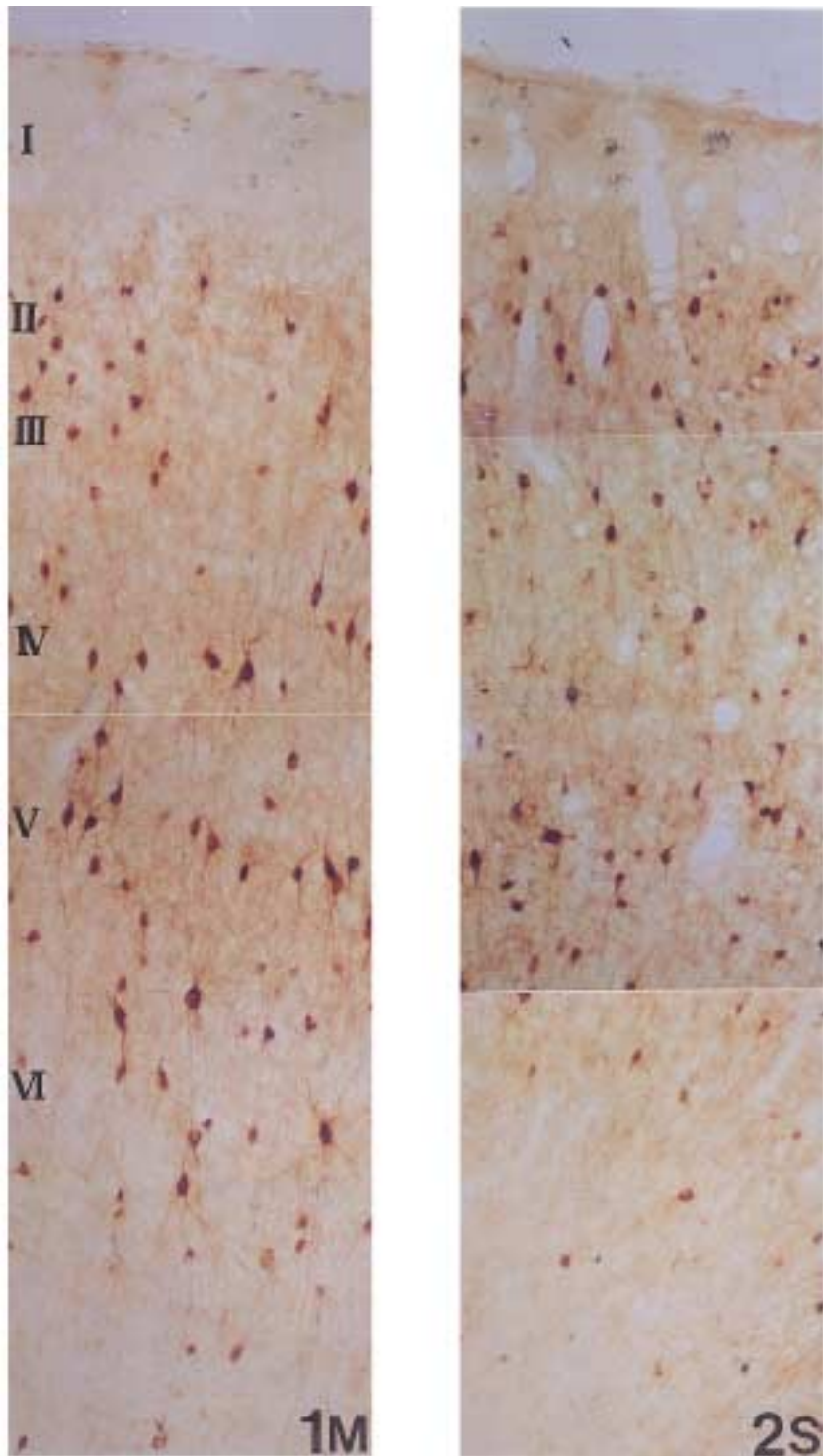
참 고 문 헌

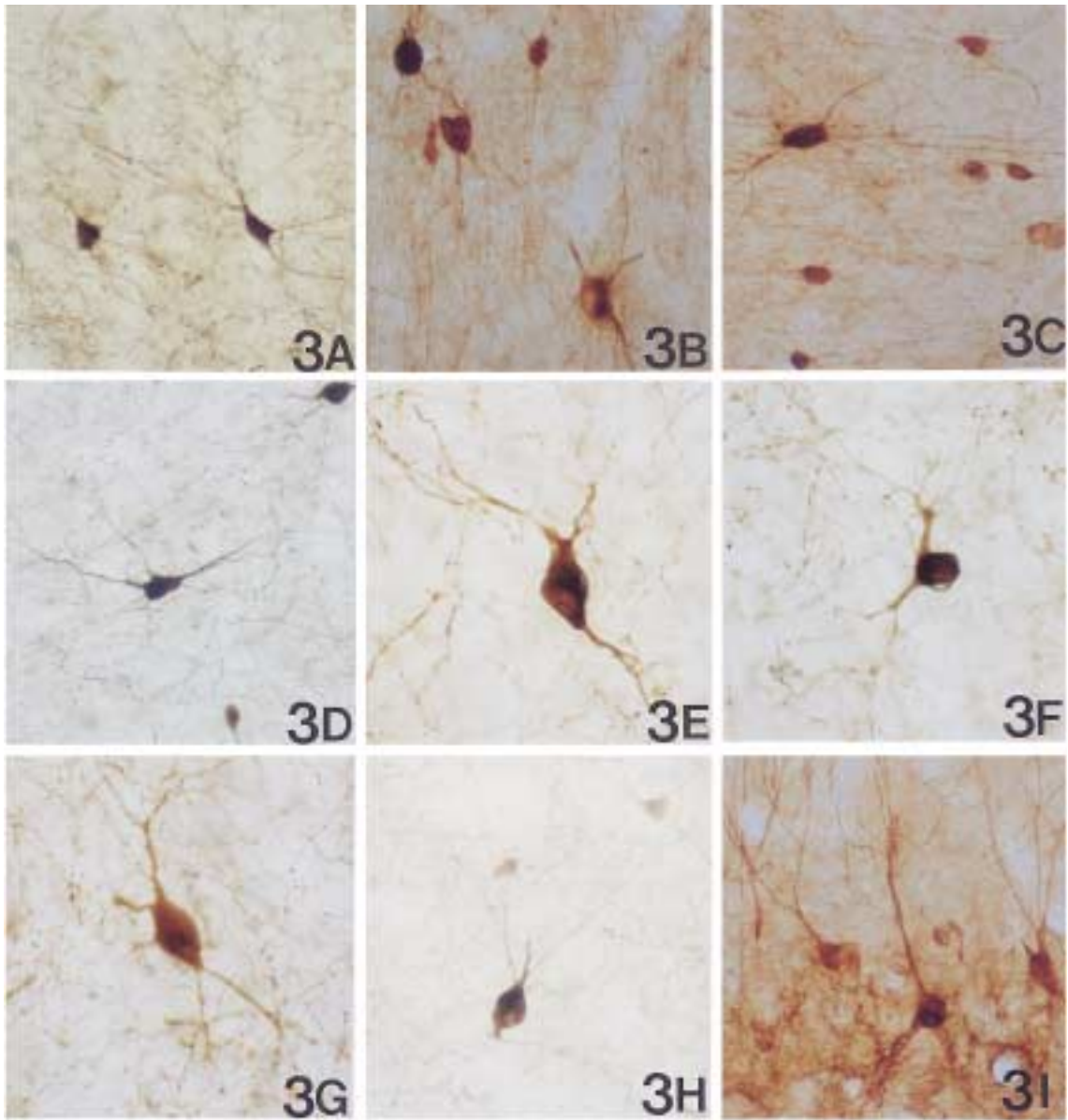
고정식, 최숙경, 안의태, 박경호, 김진국 : 방사선조사를 받은 흰쥐 맥락얼기의 미세구조 변화. 대한해부학회지 31:

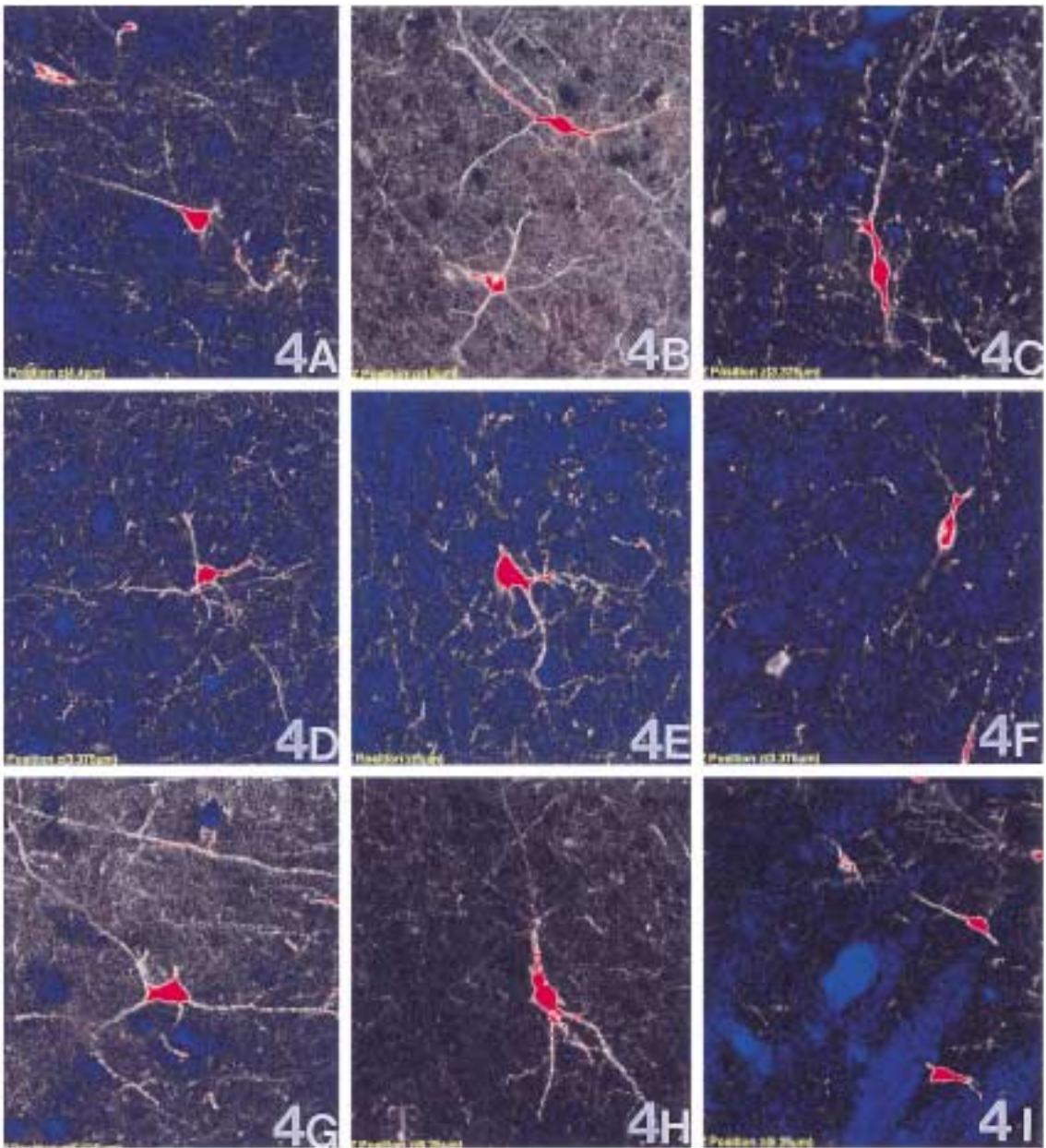
- 847-859, 1998.
- 모근석, 김종중, 정윤영, 장인엽, 문정석, 김준수, 김홍중 : 흰 쥐 뇌에서 Neuropeptide-Y 분비세포의 출현시기 및 발육에 관한 면역조직화학적 연구. 대한해부학회지 29 : 501-508, 1996.
- 배학근, 양남길, 안의태, 고정식, 박경호, 김진국 : 머리에 방사선 상해를 받은 흰쥐 흑 색질의 미세구조. 한국전자현미경학회지 22 : 30-45, 1992.
- 안의태, 윤규태, 양남길, 고정식, 박경호, 김진국 : 과량의 방사선 국소조사가 흰쥐 소뇌 Purkinje세포의 미세구조에 미치는 영향. 한국전자현미경학회지 24 : 48-62, 1994.
- 안의태, 고정식, 박경호, 유석준 : 방사선조사가 흰쥐 소뇌겉질의 미세구조에 미치는 영향. 대한해부학회지 30 : 581-593, 1997.
- 이병호, 양남길, 안의태, 고정식 : 머리에 방사선 상해를 입은 흰쥐의 운동조절계에 대한 전자현미경적 연구 I. 방사선이 뇌줄무늬체의 신경연접에 미치는 영향에 대한 전자현미경적 연구. 대한해부학회지 24 : 19-35, 1991.
- 정재삼, 양남길, 안의태, 고정식, 박경호, 김진국 : 과량의 방사선에 노출된 흰쥐 소뇌의 축색의 미세구조. 대한해부학회지 25 : 313-326, 1992.
- 조태승, 양남길, 안의태, 고정식 : 머리에 방사선 상해를 입은 흰쥐의 운동조절계에 대한 전자현미경적 연구. II. 방사선 조사를 받은 흰쥐 뇌송과체의 미세구조에 대한 연구. 대한해부학회지 24 : 37-53, 1991.
- 차중익, 홍진주, 이영일, 이병란, 조사선, 백상호 : 줄무늬체 및 운동신경계에서 노화에 따른 Neuropeptide-Y 신경세포의 변화에 관한 연구. 대한해부학회지 30 : 215-224, 1997.
- Adrian TE, Allen JM, Bloom SR, Ghatei MA, Rossor MN, Roberts GW, Crow TJ, Tatemoto K, Polak JM : Neuropeptide Y distribution in the human brain. Nature 306 : 584, 1983.
- Albers HE, Ferris CF : Neuropeptide Y : Role of light-dark cycle entertainment hamster circadian rhythms. Neuroscience Letters 50 : 163-169, 1984.
- Allen JM, McGregor GP, Woodhams PL, Polak JM, Bloom SR : Ontogeny of a novel peptide, neuropeptide Y in rat brain. Brain Res 303 : 197-200, 1984.
- Chronwall BM, DiMaggio DA, Massari VJ, Pickel VM, Ruggiero DA, Donohue TL : The anatomy of neuropeptide-Y-containing neurons in rat brain. Neuroscience 15 : 1159-1181, 1983.
- Davies CA, Morroll DR, Prinja D, Mann DMA, Gibbs A : A quantitative assessment of somatostatin-like and neuropeptide Y-like immunostained cells in the frontal and temporal cortex of patients with alzheimer's disease. J Neurol sciences 96 : 59-73, 1990.
- Everitt BJ, Hokleff T, Terenius L, Tatemoto K, Mutt V, Goldstein M : Differential co-existence of neuropeptide Y-like immunoreactivity with catecholamines in the central nervous system of the rat. Neuroscience 11 : 443-462, 1984.
- Gray St, Morley JE : Neuropeptide Y. Anatomical distribution and possible function of the mammalian nervous system. Life science 38 : 389-401, 1986.
- Huguet F, Comoy E, Piriou A, Bohuon C : Age-related changes of noradrenergic-NPY interaction in rat brain norepinephrine. NPY levels and α -adrenoceptors. Brain Res 625 : 256-260, 1993.
- Kagotani Y, Hashimoto T, Tsuruo Y, Kawano H, Daikoku S, Chihara K : Development of the neuronal system containing neuropeptide Y in the rat hypothalamus. Int Devl Neuroscience 7 : 359-374, 1989.
- Nakagawa Y, Shiosaka S, Emson PC, Tohyama M : Distribution of neuropeptide Y in the forebrain and diencephalon : an immunohistochemical analysis. Brain Res 361 : 52-60, 1985.
- Nolte J : The Human brain : An Introduction to Its Functional Anatomy, 4th Ed. Philadelphia, Mosby, pp. 525-555, 2002
- Ohm TG, Braak E, Probst A, Weindl A : Neuropeptide Y-like immunoreactive neurons in the human olfactory bulb. Brain Res 415 : 295-300, 1988.
- Quidt ME, Emson PC : Distribution of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the rat central nervous system-II. Immunohistochemical analysis. Neuroscience 18 : 545-618, 1986.
- Snell RS : Clinical Neuroanatomy for medical students, 4th ed. Philadelphia. Lippincott-Raven, pp. 249-254, 1997.
- Tatemoto K, Carlquist M, Mutt V : Neuropeptide Y-a novel brain peptide with structural similarity to peptide Y and pancreatic polipptide. Nature 296 : 659-666, 1982
- Woodhams PL, McGovern YS, Allen JM, Bloom SR, Balazs R, Polak JM : Immunohistochemical analysis of the early ontogeny of the neuropeptide Y system in rat brain. Neuroscience 15 : 173-202, 1985.

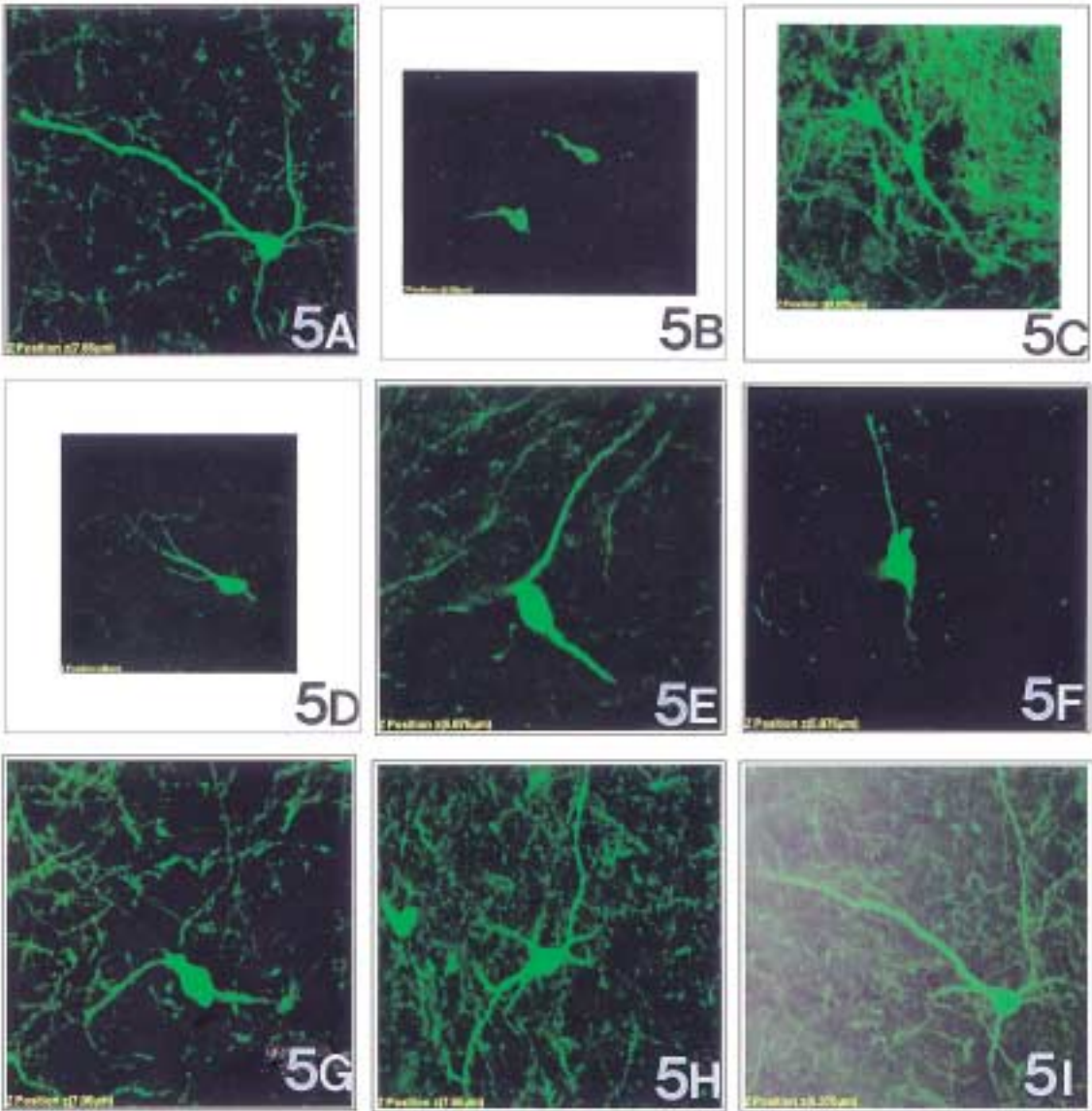
Legends for Figures

- Fig. 1.** Light micrographs of neuropeptide-Y immunoreactive (NPY-IR) neurons in the primary motor cerebral cortex of the control rats. M : motor cortex. $\times 200$, coronal section.
- Fig. 2.** Light micrographs of NPY-IR in the primary sensory cerebral cortex of the rats. S : sensory cortex. $\times 200$, coronal section.
- Fig. 3A.** Light micrographs of NPY-IR in the primary motor cerebral cortex of the control group. $\times 100$, coronal section.
- Fig. 3B.** Light micrographs of NPY-IR in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 2 hours after brain-irradiation. $\times 200$, coronal section.
- Fig. 3C.** Light micrographs of NPY-IR in the primary motor cerebral cortex of the rats on 5 hours after brain-irradiation. $\times 200$, coronal section.
- Fig. 3D.** Light micrographs of NPY-IR in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 1 day after brain-irradiation. $\times 100$, coronal section.
- Fig. 3E.** Light micrographs of NPY-IR in the primary motor cerebral cortex of the rats on 2 days after brain-irradiation. $\times 200$, coronal section.
- Fig. 3F.** Light micrographs of NPY-IR in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 3 days after brain-irradiation. $\times 200$, coronal section.
- Fig. 3G.** Light micrographs of NPY-IR in the primary motor cerebral cortex of the rats on 1 week after brain-irradiation. $\times 200$, coronal section.
- Fig. 3H.** Light micrographs of NPY-IR in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 2 weeks after brain-irradiation. $\times 100$, coronal section.
- Fig. 3I.** Light micrographs of NPY-IR in the primary motor cerebral cortex of the rats on 3 weeks after brain-irradiation. $\times 200$, coronal section.
- Fig. 4A.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary motor cerebral cortex of the control group. Bar = 50 μm .
- Fig. 4B.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 2 hours after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 4C.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary motor cerebral cortex of the rats on 5 hours after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 4D.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 1 day after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 4E.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary motor cerebral cortex of the rats on 2 days after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 4F.** Confocal laser scanning Light micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 3 days after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 4G.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary motor cerebral cortex of the rats on 1 week after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 4H.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 2 weeks days after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 4I.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical single section in the primary motor cerebral cortex of the rats on 3 weeks after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 5A.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary motor cerebral cortex of the control group. Bar = 50 μm .
- Fig. 5B.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 2 hours after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 5C.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary motor cerebral cortex of the rats on 5 hours after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 5D.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 1 day after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 5E.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary motor cerebral cortex of the rats on 2 days after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 5F.** Confocal laser scanning Light micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 3 days after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 5G.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary motor cerebral cortex of the rats on 1 week after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 5H.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary sensory cerebral cortex of the rats on 2 weeks days after brain-irradiation. Bar = 50 μm .
- Fig. 5I.** Confocal laser scanning micrographs of NPY-IR of the 9 optical serial section in the primary motor cerebral cortex of the rats on 3 weeks after brain-irradiation. Bar = 50 μm .









Abstract

A Confocal Laser Scanning Microscopic Study on the Distribution and Fluorescent Intensity of NPY-IR in the Cerebral Cortex of the Head Irradiated Rats

Jong-Joong Kim, Yoon-Young Chung, Young-Wook Jeong

Department of Anatomy, College of Medicine, Chosun University

The purpose of this study, the effects on the cerebral cortex of the rats after brain irradiation was to investigate the change of distribution and morphology of neuropeptide-Y (NPY) neurons. Radiation was produced by the linear accelerator 6MV X-ray. The animals were categorized into control and experimental groups and we use 45 Sprague-Dawley rats weighing about 200~250 gm. The head areas of the animals were positioned within the radiation field of 15 cm × 20 cm and with the radiation depth of 2 cm. Sodium chloral hydrate-anesthetized rats were exposed to the radiation with the dose rate of 240 cGy/min. The total dose was 1,800 cGy(rad). Animals were sacrificed on 2 hours, 5 hours, 1 day, 2 days, 3 days, 1 week, weeks, 3 weeks after brain irradiation. Using ABC immunohistochemistry, morphology and distribution of neuropeptide-Y immunoreactive neurons (NPY-IR) were studied on the cerebral cortex of the control and brain-irradiated rats. We used light and confocal laser scanning microscopy (CLSM).

The following results were obtained :

1. On control group, NPY-IR neurons were found in all layers of the primary motor and sensory cerebral cortex, and the NPY-IR neurons were concentrated within the layer II, III, IV, V and VI. The typical NPY-IR perikarya was bipolar and multipolar shape.
2. On 2 hours, 5 hours after X-irradiation, decreased number of NPY-IR neurons were detected in the primary motor and sensory cerebral cortex of the rats. Also shrunken and transformed NPY-IR neurons were detected in the primary motor and sensory cerebral cortex of the rats.
3. On 1 day, 2 days, 3 days after X-irradiation, morphology and distribution of NPY-IR neurons in the primary motor and sensory cerebral cortex was generally restored.
4. On 1 week, 2 weeks, 3 weeks after X-irradiation, morphology and distribution of NPY-IR neurons in the primary motor and sensory cerebral cortex was almost similar to control group.
5. In optical serial section analysis of NPY-IR neurons, high intensity of immunofluorescence were observed in a part of the 8~11 sections of the control and all irradiated groups. In optical single section analysis of NPY-IR neurons, red color (high fluorescence intensity) were observed in a part of 6, 7 sections of the control and all irradiated groups.

From the above results, it was concluded that the release of neurotransmitters and transcapillary leakage of blood substance were occurred on 2 hours, 5 hours, 1 day after X-irradiation, but the condition was generally restored on 3 days and 7 days following X-irradiation.

Key words : X-irradiation, Primary cerebral cortex, Neuropeptide-Y, CLSM.