

## Cholera toxin B subunit와 pseudorabies virus를 이용한 중추신경계내 혀밑샘과 턱밑샘 지배 신경세포체의 위치 비교

한 의 혁, 송 금 순, 이 창 현<sup>1</sup>

전북대학교 의과대학 해부학교실 및 의학연구소

<sup>1</sup>우석대학교 한의과대학 해부학교실

**간추림** : 본 연구에서는 cholera toxin B subunit (CTB)와 pseudorabies virus (PRV)를 이용하여 흰쥐 혀밑샘과 턱밑샘을 지배하는 신경세포체의 위치를 각각 확인하고자 하였다. 혀밑샘에 CTB를 주입하고 턱밑샘에 PRV를 주입한 실험군과 혀밑샘에 PRV를 주입하고 턱밑샘에 CTB를 주입한 실험군으로 나누어 실험하였다. 혀밑샘에 CTB를 주입하고 턱밑샘에 PRV를 주입한 실험군에서 신경세포체가 표지된 양상은 혀밑샘에 PRV를 주입하고 턱밑샘에 CTB를 주입한 실험군에서 신경세포체가 표지된 양상과 유사하였다. 혀밑샘에 CTB를 주입하고 턱밑샘에 PRV를 주입한 실험군과 혀밑샘에 PRV를 주입하고 턱밑샘에 CTB를 주입한 실험군 모두 CTB에 표지된 신경세포체는 위침분비핵에서 관찰되었고, PRV에 표지된 신경세포체는 위침분비핵과 위침분비핵 주변의 그물핵에서 관찰되었다. 위침분비핵을 관찰하는 데는 CTB가 더 좋은 신경추적자였다. CTB에 표지된 신경세포체는 CTB를 턱밑샘에 주입한 경우가 혀밑샘에 주입한 경우보다 더 컸으며, PRV에 표지된 신경세포체는 혀밑샘에 주입한 경우나 턱밑샘에 주입한 경우 크기가 비슷하였다.

CTB와 PRV에 의해 동시에 동일세포에 표지된 신경세포체는 없었다. 위침분비핵에서 혀밑샘과 턱밑샘을 지배하는 신경세포체는 독립적으로 분포하는 것을 알 수 있었다.

**찾아보기 낱말** : 혀밑샘, 턱밑샘, cholera toxin B subunit, pseudorabies virus

### 서 론

침샘 기능은 분비, 운동, 혈관운동신경 작용에 의해 복합적이고 통합적으로 조절되고 있으며, 침샘의 신경지배는 전기생리학적 방법, 신경추적자를 이용한 방법 등에 의해 지속적으로 연구되었다(Hubschle 등 1998). 침이 분비되는 것은 생리적이거나 정신적인 자극에 의해 자율신경계통을 통해 조절된다(Rice 1977). 자율신경계통 중 부교감신경계통은 타액분비를 활성화하고 유지하는데 지배적인 역할을 담당하고 있으며, 신경추적자를 이용한 방법으로 흰쥐의 턱

밑샘을 지배하는 부교감 신경 지배는 이미 보고된 바 있다(Jansen 등 1992). 혀밑샘과 턱밑샘은 입안바닥의 점막아래에 위치하는 큰침샘에 속하는 독립된 내장기관으로, 흰쥐에서 과도한 열 스트레스에 대한 체온조절 효과 기관으로서의 기능을 하는 것으로 밝혀진 바 있다(Hainsworth 등 1971). 입안에서 오는 생리적 자극과 맛, 냄새, 시각중추에서 오는 정신적 자극은 들신경로(afferent pathway)를 지나서 숨뇌의 위침분비핵과 아래침분비핵으로 간다. 위침분비핵과 아래침분비핵에서 나온 부교감신경절이전섬유는 턱밑신경절(submandibular ganglion)이나 턱밑샘 내의 작은 신경절에서 신경연접을 이룬 후 턱밑샘과 혀밑샘을 지배한다(Rice 1977).

교신저자 : 한의혁 (전북대학교 의과대학 해부학교실)  
전자우편 : han@chonbuk.ac.kr

침샘의 신경지배에 관한 연구는 중추신경내에서 작은세포그물핵이 혀밑샘과 턱밑샘을 지배한다고 알려진(Yagita와 Hayama 1909) 이후 많은 연구가 진행되어 있다. 작은세포그물핵에 있는 위침분비핵의 위치에 관한 연구들을 살펴보면, 아세틸콜린에스테라아제 염색방법을 이용한 연구(Shute와 Lewis 1960, Brown과 Howlett 1968)와 horseradish peroxidase (HRP)를 이용한 연구(Hiura 1977)에서 위침분비핵은 얼굴신경속무릎의 가쪽과 안쪽에 위치한다고 하였고, Brown과 Howlett(1971)의 연구에서는 위침분비핵이 얼굴신경의 근처에 위치한다고 하였으며, John(1981)과 Hosoya 등(1983)은 얼굴신경핵의 가쪽에 위치한다고 하였다. 최근 위침분비핵의 부위별 표지양상을 나타낸 연구에서 위침분비핵의 입쪽부위와 꼬리쪽부위는 주로 눈물샘을 지배하고, 중간부위는 주로 턱밑샘과 혀밑샘을 지배하고, 위침분비핵의 꼬리쪽부위 중 얼굴신경핵의 뒤가쪽은 주로 턱밑샘과 혀밑샘을 지배하며 얼굴신경핵의 안쪽은 주로 눈물샘을 지배함이 밝혀졌다(한의혁 등 1999). 많은 연구자들은 턱밑샘만을 연구하거나(Templeton 1979, Jansen 등 1992), 혀밑샘과 턱밑샘을 같이 연구하여 왔다(Hiura 1977, Hubschle 등, 1998).

또한 연구자들은 턱밑샘과 혀밑샘에 직접 형광물질이나 신경추적자를 주입하지 않고 각 샘이 신경연접을 이루는 턱밑신경절로 들어가는 고실근신경이나 혀신경에 신경추적자를 묻히거나 주입하여 시행하였다(Hiura 1977, Matsuo 1980, John 1981). 턱밑샘과 혀밑샘에 신경추적자를 직접 주입한 연구도 있었으나(한의혁 등 1999) 이들은 중추신경계통의 신경연접을 건너지 못하는 신경추적자인 cholera toxin B subunit(CTB)만을 주입한 경우였다.

pseudorabies virus (PRV)의 bartha strain은 교감신경계통과 부교감신경계통을 연구하는데 매우 특이적인 신경추적자로 이용되어 왔고(Jansen 등 1992, Hubschle 등 1998), CTB는 운동신경세포체, 감각신경세포체, 부교감운동신경세포체 등을 연구하는데 이용되어 왔다(이창현 등 1995a,b, 한의혁 등 1999). 이와 같이 혀밑샘과 턱밑샘을 지배하는 신경에 관한 연구는 많이 있었으나, 혀밑샘과 턱밑샘을 지배하는 신경세포체를 구분하지 않고 시행된 경우가 대부

분이었고 여러 종류의 신경추적자로 혀밑샘과 턱밑샘을 구분하여 연구한 경우는 없었다. 따라서, 본 연구에서는 서로 다른 종류의 신경추적자를 사용하여 신경의 위치를 연구한 바가 없는 것을 착안하여 두가지 신경추적자 즉 CTB와 PRV의 blue strain을 사용함으로써 혀밑샘과 턱밑샘을 지배하는 신경의 위치를 각각 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

실험 동물은 체중 250~300 gm 정도의 건강한 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 20마리 사용하였다.

### 2. 신경추적자의 주입

실험 동물은 7% chloral hydrate (0.5 mL/100 gm body weight)를 복강 내에 주사하여 마취시킨 후에 10  $\mu$ L Hamilton syringe (Hamilton, Bonaduz, Switzerland)를 이용하여 신경 추적자를 주입하였다. 신경추적자는 0.5% CTB (List Biochemical Laboratories, Campell, USA)와 PRV 중 blue strain을 사용하였다. PRV는 우석대 한의학과로부터 분양받은 것이며, 이 균주는 돼지 콩팥 섬유모세포(PK15)에서 배양시킨 것으로, plaque forming unit (pfu)은 평균  $1 \times 10^8$  pfu/mL이고 영하 70°C에서 냉동보관된 것을 주사 직전에 녹여서 사용하였다.

실험은 두 그룹으로 나누어 실험하였다. 한 그룹은 왼쪽 턱밑샘의 앞쪽과 뒤쪽 부분에 CTB를 각각 5  $\mu$ L씩 주입한 다음, PRV를 왼쪽 혀밑샘의 앞쪽과 뒤쪽 부분에 각각 5  $\mu$ L씩 주입하였다. 다른 그룹은 왼쪽 턱밑샘의 앞쪽과 뒤쪽부분에 PRV를 각각 5  $\mu$ L씩 주입한 다음, CTB를 왼쪽 혀밑샘의 앞쪽과 뒤쪽 부분에 각각 5  $\mu$ L씩 주입하였다.

신경 추적자 주입시 주입 압력에 의한 신경추적자의 누출을 막기 위해 주사 바늘을 삽입한 후 1 mm정도 후퇴하여 주입하였으며, 주입 후 5분 정도 그대로 유지하고 나서 서서히 주사바늘을 후퇴하여 제거한 후 주입 부위를 면봉으로 닦아내고 생리식염수로 주위를 씻어내어 주위조직으로 신경추적자가

흡수되는 것을 방지하였다.

### 3. CTB의 면역조직화학염색 방법

CTB와 PRV 주입 후 약 96시간이 경과한 뒤에 실험 동물을 에테르 용액으로 마취하여 희생시켜, 가슴 벽을 열어 아래대정맥을 절단한 뒤 왼쪽 심실을 통하여 300 mL의 생리식염수로 관류, 방혈시켰다. 그 후 0.1 M phosphate buffer (PB) 용액 (pH 7.4)에 용해시킨 4% paraformaldehyde 고정액 1L를 1시간동안 주입하여 고정시켰다. 고정 후 뼈감자를 사용하여 머리뼈와 목뼈를 제거하고 뇌줄기를 절취하여 같은 고정액에 24시간 담궈 냉장 보관한 후 20% sucrose-phosphate 완충액에 12시간 담궈 4°C에서 다시 냉장 보관하였으며, 이 때 절취한 조직이 20% sucrose-phosphate 완충액에 가라앉은 상태를 확인한 후 동결 박절기 (Leica, Heidelberg, Germany)를 이용하여 40µm 두께의 가로 절단된 연속 절편을 만들어 면역조직 화학 염색을 시행하였다.

면역조직화학염색은 avidin-biotin-peroxidase (ABC kit; Vector Laboratories Inc, Burlingame, USA)를 이용한 free-floating법에 의하여 다음과 같은 순서에 따라 시행하였다. 조직 절편은 1차 항체인 goat-anti-CTB (List Biochemical Laboratories, Campbell, USA)를 1:10,000으로 희석하여 4°C에서 24시간동안 반응시켰다. 이 때 1차 항체의 희석은 0.1 M PB 용액에 1% normal goat serum과 0.3% Triton X-100 (Shinyo Pure Chemicals, Osaka, Japan)이 섞여 있는 용액을 사용하였다. 그 후 조직 절편들을 실온에서 15분씩 2회 세척한 후 ABC kit (Vector Laboratories Inc)를 0.1 M PB 용액에 1:50으로 희석한 용액에 담가 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 그 후 0.1 M PB 용액으로 15분씩 2회 세척하였고 DAB kit (Sigma, Steinheim, Germany)를 사용하여 5분간 반응시켰다. 반응이 끝난 조직들은 0.1 M PB 용액으로 3회 세척하였다.

### 4. X-gal 염색

PRV에 표지된 신경세포체를 관찰하기 위해서 X-gal 염색을 시행하였다. X-gal 용액은 X-gal 20 mg, potassium ferrocyanide 21 mg, potassium ferricyanide

17 mg, 0.01% sodium deoxycholate 1 mg, 2 M MgCl<sub>2</sub> 10 µL, 0.02% nonident P-40 2 µL, dimethyl sulfoxide (DMSO) 250 µL를 0.1 M PB 10mL 용액에 희석하여 만들었다. X-gal 용액에 조직절편을 넣어 37°C에서 48시간 동안 반응시켰고, 반응한 조직을 증류수에 1분간 세척한 후, 37°C에서 0.1 M PB 용액에 15분씩 2회 더 세척하였다. 다시 조직절편을 0.1 M PB 용액에 담가 4°C에서 1시간 동안 보관하였다. 반응이 끝난 조직 절편들은 0.1 M PB 용액으로 다시 한 번 세척하고, 젤라틴이 입혀진 슬라이드 위에서 24시간 동안 건조시켰다. 발색이 끝난 절편 중 일부 표본은 1% OsO<sub>4</sub> 용액으로 신경세포체와 신경섬유의 염색성을 증가시켰으며 탈수와 투명화 과정을 거쳐 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 흰쥐를 대상으로 CTB를 턱밑샘에 주입하고 PRV를 허밀샘에 주입한 후 표지되는 신경세포체의 위치를 비교 관찰하였다.

#### 1) CTB 표지 신경세포체의 위치

위침분비핵의 입쪽부위에서는 30~40 µm 크기의 7~10개의 신경세포체가 CTB에 흡여져서 표지되거나 (Fig. 1), 모여서 표지되었다. 위침분비핵의 중간부위 중 얼굴신경이 보이는 높이에서는 입쪽부위 보다는 큰 50 µm 크기의 15개 이상의 신경세포체가 얼굴신경 주위에 넓게 흡여져서 표지되었으며 (Fig. 2), 얼굴신경속무릎이 보이는 높이에서는 30~40 µm 크기의 7~12개 정도의 신경세포체가 얼굴신경속무릎의 앞가쪽에서 넓게 흡여져서 표지되었으나 (Fig. 3) 모여서 표지된 경우도 있었다. 위침분비핵의 꼬리쪽부위에서는 얼굴신경핵의 뒤가쪽에 30~50 µm 크기의 5~7개 정도의 신경세포체가 표지되었다 (Fig. 4). CTB에 의해 표지된 신경세포체는 중간부위와 꼬리쪽부위에서 표지된 신경세포체의 크기가 입쪽부위에서 표지된 신경세포체보다 크기가 더 컸다.

#### 2) PRV 표지 신경세포체의 위치

위침분비핵의 입쪽부위에서는 8개 정도의 신경세포체가 표지되었고 다수의 신경세포체가 위침분비핵

주변의 그물핵에 흩어져서 표지되었다 (Fig. 1). 위침분비핵의 중간부위 중 얼굴신경이 보이는 높이에서는 14개 정도의 신경세포체가 표지되었고 다수의 신경세포체가 위침분비핵 주변의 그물핵에서 표지되었다 (Fig. 2). 얼굴신경속무릎이 보이는 높이에서는 CTB에 의해 표지된 신경세포체들 사이에 10개 정도의 신경세포체가 끼여있었으며 다수의 신경세포체가 그 주변의 그물핵에도 표지되었다 (Fig. 3). 위침분비핵의 꼬리쪽부위에서는 8개의 신경세포체가 흩어져서 표지되었으며, 주변의 그물핵에 흩어져서 표지되었다 (Fig. 4).

### 3) CTB와 PRV 표지 신경세포체의 위치 비교

위침분비핵의 입쪽부위에서는 CTB에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵에서 관찰되었고 PRV에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵과 위침분비핵 주변의 그물핵에서 흩어져서 관찰되었다. 위침분비핵의 중간부위에서는 CTB에 의해 표지된 신경세포체와 PRV에 의해 표지된 신경세포체가 서로 섞여서 표지되었다. 위침분비핵의 꼬리쪽부위에서는 입쪽부위에서와 표지양상이 비슷하였다. 전체적으로 CTB에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵에서 관찰되었고 PRV에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵과 위침분비핵 주변의 그물핵에서 흩어져서 관찰되었다. CTB와 PRV에 의해 중복 표지된 신경세포체는 없었으며, CTB가 위침분비핵을 관찰하기에는 더 좋은 신경추적자였다.

## 2. 흰쥐를 대상으로 PRV를 턱밀샘에 주입하고

**CTB를 혀밀샘에 주입한 후 표지되는 신경세포체의 위치를 비교 관찰하였다.**

### 1) CTB 표지 신경세포체의 위치

위침분비핵의 입쪽부위에서는 30 $\mu$ m 크기의 7개 정도의 신경세포체가 흩어져서 표지되거나 (Fig. 5) 모여서 표지되었다. 위침분비핵의 중간부위 중 얼굴신경이 보이는 높이에서는 15개 정도의 신경세포체가 얼굴신경 주위에 흩어져서 표지되었고 (Fig. 6), 얼굴신경속무릎이 보이는 높이에서는 30 $\mu$ m 크기의 25개 정도의 신경세포체가 얼굴신경속무릎의 앞가쪽에서 넓게 흩어져서 표지되었다 (Fig. 7). 위침분비핵

의 꼬리쪽부위에서는 30 $\mu$ m 크기의 6개 정도의 신경세포체가 모여서 표지되었다 (Fig. 8).

### 2) PRV 표지 신경세포체의 위치

위침분비핵의 입쪽부위에서는 10개 정도의 신경세포체가 표지되었고 다수의 신경세포체가 위침분비핵 주변의 그물핵에서 흩어져서 표지되었다 (Fig. 5). 위침분비핵의 중간부위 중 얼굴신경이 보이는 높이에서는 8개 정도의 신경세포체가 흩어져서 표지되었고 (Fig. 6), 얼굴신경속무릎이 보이는 높이에서는 12개 정도의 신경세포체가 흩어져서 표지되었다 (Fig. 7). 위침분비핵의 꼬리쪽부위에서는 8개 정도의 신경세포체가 흩어져서 표지되었다 (Fig. 8).

### 3) CTB와 PRV 표지 신경세포체의 위치

위침분비핵의 입쪽부위에서는 CTB에 의해 표지된 신경세포체가 위침분비핵에 적었고 PRV에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵과 위침분비핵 주변의 그물핵에 더 많이 표지되었다. 위침분비핵의 중간부위에서는 CTB에 의해 표지된 신경세포체가 다른 부위보다 많이 표지되었고 PRV에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵과 위침분비핵 주변의 그물핵에 더 많이 표지되었다. 위침분비핵의 꼬리쪽부위에서는 CTB에 의해 표지된 신경세포체가 적었고 PRV에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵보다는 위침분비핵 주변의 그물핵에 더 많이 표지되었다. CTB나 PRV에 의해 표지된 각 부위별 신경세포체의 크기는 비슷하였다. CTB나 PRV에 의해 중복표지된 신경세포체는 없었으며, CTB에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵에서 관찰되었고 PRV에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵과 위침분비핵 주변의 그물핵에서 관찰되었다.

## 3. 혀밀샘에 PRV를 주입하고 턱밀샘에 CTB를 주입한 실험군과 턱밀샘에 PRV를 주입하고 혀밀샘에 CTB를 주입한 실험군의 결과를 비교하면 다음과 같다.

두 실험군에서 신경세포체가 표지된 양상은 비슷하였다. CTB에 의해 표지된 신경세포체는 위침분비핵에서 관찰되었고, PRV에 의해 표지된 신경세포체

는 위침분비핵과 위침분비핵 주변의 그물핵에서 관찰되었다. 허밀샘에 CTB에 의해 표지된 신경세포체는 턱밑샘에 CTB에 의해 표지된 신경세포체의 크기보다 더 작았으나, PRV에 의해 표지된 신경세포체는 허밀샘에서나 턱밑샘에서나 크기가 비슷하였다. 허밀샘에 CTB를 주입한 경우의 실험군과 턱밑샘에 CTB를 주입한 실험군 모두 위침분비핵의 중간부위에서 표지된 신경세포체가 많았다.

## 고 찰

턱밑샘과 허밀샘의 신경지배에 관한 연구는 퇴행성 병변기법 (Yagita와 Hayama 1909), 아세틸콜린에스테라아제 염색방법 (Shute와 Lewis 1960, Brown과 Howlett 1968), 신경추적자를 이용한 연구 등이 있었다. 위침분비핵에서 턱밑샘과 허밀샘에 이르는 신경은 턱밑신경절이나 각 샘의 내부에서 신경연접을 이룬다 (Rice 1977). 위침분비핵에 있는 신경절이전 신경세포체에서 나온 축삭은 침샘의 내부조직에서 신경연접을 이루거나, 턱밑신경절에서 신경연접을 이룬다. 그러므로 신경추적자를 침샘에 직접 주입한 경우나 턱밑신경절에 주입한 경우 모두에서 위침분비핵의 신경세포체가 신경추적자에 표지될 수 있다. 연구자에 따라 턱밑신경절에 신경추적자를 주입하거나, 신경절이전 신경세포의 축삭에 신경추적자를 직접 묻혀 신경추적을 한 경우도 있으나 (Hiura 1977, Contreras 등 1980, Matsuo 등 1980) 본 연구자는 신경추적자를 직접 침샘에 주입하는 방법을 사용하였다.

위침분비핵의 위치에 관한 연구들을 보면 아세틸콜린에스테라아제 염색방법을 이용한 연구 (Shute와 Lewis 1960)에서 침분비핵은 얼굴신경속무릎의 가쪽과 안쪽부분에 있다고 하였는데, 위침분비핵과 아래 침분비핵을 구분하지 않고 연구하였다. 고실근신경에 HRP를 묻혀서 뇌줄기에서 침분비핵의 표지를 보고한 연구에서 Hiura (1977)는 얼굴신경핵의 안쪽부분과 얼굴신경속무릎이 보이는 위침분비핵의 중간부위에서 표지되었다고 하였고, Matsuo 등 (1980)은 얼굴신경의 안쪽부분과 얼굴신경속무릎의 가쪽과 삼차신경척수로의 안쪽에서 표지되었다고 하였다. 다

른 연구자 (Contreras 등 1980)는 얼굴신경 안쪽과 위침분비핵의 중간부위와 꼬리쪽부위에서 신경세포체가 표지되었다고 하였다. 또한 HRP를 직접 개의 허밀샘과 턱밑샘에 주입하여 허밀샘과 턱밑샘을 지배하는 신경을 연구한 보고에서는 (Chibuzo와 Cummings 1980) 얼굴신경핵의 배쪽과 가쪽, 작은세포그물핵, 거대세포그물핵의 안쪽, 안뜰핵 (vestibular nucleus)의 등쪽, 삼차신경척수핵의 가쪽에 표지되었다고 하였다. 기니피그의 허신경에 HRP를 주입한 연구 (John 1981)에서는 얼굴신경속무릎의 가쪽과 배쪽, 얼굴신경핵의 가쪽에 표지되었으며 다른 종의 연구결과와 비슷하다고 하였다. 왼쪽 턱밑신경절에 공급되는 신경절이전신경을 절단 후 고실근신경을 절단하여 관찰한 연구 (Kawa와 Roper 1984)에서 턱밑샘에 분포하는 신경원은 주로 침샘관을 따라 위치하는 반면, 허밀샘에 분포하는 신경원은 침샘관과 허신경 사이의 얇은 결합조직에 위치하고 있다고 하였다. Jansen 등 (1992)은 교감신경절을 절제한 동물에서 PRV를 턱밑샘에 주입한 결과 턱밑샘을 지배하는 신경핵은 얼굴신경과 얼굴신경핵 주위에 위치하는 위침분비핵에 있다고 하였고, HRP를 주입한 경우에서와 동일한 위치에 표지되었다고 하였다.

위침분비핵은 날개입천장신경절을 거쳐서 눈물샘, 코샘, 입천장샘 등을 지배하며, 턱밑신경절을 통하여 허밀샘과 턱밑샘을 지배한다 (Paxinos 1995). 위침분비핵의 입쪽부위, 중간부위, 꼬리쪽부위는 모두 눈물샘, 턱밑샘 및 허밀샘을 지배하고 이 중 입쪽부위와 꼬리쪽부위는 주로 눈물샘을 지배하며, 중간부위는 주로 턱밑샘과 허밀샘을 지배한다 (한의혁 등 1999). 허밀샘과 턱밑샘을 지배하는 신경세포체를 같은 추적자를 이용하여 함께 연구한 다른 여러 보고들과는 달리 본 실험에서는 서로 다른 추적자를 사용하여 허밀샘과 턱밑샘을 각각 추적해서 비교하였다. 위침분비핵을 입쪽부위, 중간부위, 꼬리쪽부위별로 살펴보면 다음과 같다. 위침분비핵의 입쪽부위에서 턱밑샘에 CTB를 주입한 경우와 허밀샘에 CTB를 주입한 경우의 신경세포체가 표지되었는데 한의혁 등 (1999)이 턱밑샘의 양쪽과 허밀샘의 양쪽에 신경추적자를 주입하여 보고한 결과와 비슷하였으며, 본 실험에서는 한쪽에만 주입하였음에도 거의 같은 수의 신경세

포체가 표지되었다. 턱밑샘에 PRV를 주입한 경우 표지된 신경세포체는 Hubschle 등(1998)의 연구에서 집중적으로 표지된 결과와는 달리 흩어져서 표지되었다. 혀밑샘에 PRV를 주입하여 혀밑샘만을 연구한 보고는 없으나 턱밑샘의 결과와 유사한 결과를 보였다. 위침분비핵의 중간부위에서 신경세포체가 가장 많이 표지되었는데 한의혁 등(1999)의 보고와 비슷하였으며, CTB를 턱밑샘에 주입한 경우에 표지된 신경세포체가 CTB를 혀밑샘에 주입한 경우에 표지된 신경세포체보다 크기가 더 크고 수도 많았다. 이와 같이 위침분비핵의 중간부위에서 가장 많은 신경세포체가 표지되었다는 사실은 위침분비핵의 중간부위가 혀밑샘과 턱밑샘을 주로 지배한다는 한의혁 등(1999)의 결론을 뒷받침해주는 것이다. 또한 CTB에 표지된 턱밑샘을 지배하는 신경세포체가 혀밑샘을 지배하는 신경세포체보다 더 많고 신경세포체의 크기도 크다는 것으로 볼 수 있으며, 턱밑샘이 혀밑샘보다 크기가 더 큰 것 때문일 것이라고도 하였다(한의혁 등 1999). PRV에 의해 표지된 신경세포체는 턱밑샘에 주입한 경우와 혀밑샘에 주입한 경우 모두 비슷한 크기였다. 이는 PRV에 의해 표지되는 신경세포체는 세포질만 염색되고 핵은 염색이 안 되는 특징이 있고 잘리는 부위에 따라서 다르게 보이는 것과는 관련이 있을 것으로 생각된다. 위침분비핵의 꼬리쪽 부위에서 표지된 신경세포체들의 수 또한 다른 연구자의 보고(한의혁 등 1999)와 비슷하였다. CTB를 턱밑샘에 주입한 경우에 표지된 신경세포체가 CTB를 혀밑샘에 주입한 경우에 표지된 신경세포체보다 크기가 더 컸다. PRV에 의해 표지된 신경세포체는 혀밑샘이나 턱밑샘에서 비슷한 크기였다. 이러한 차이는 신경추적자의 종류가 달라서 나타나는 것으로 생각된다.

본 실험에서 위침분비핵의 표지된 신경세포체의 위치는 다른 연구자가 HRP를 턱밑샘관을 따라 존재하는 고실근신경에 직접 묻혀서 위침분비핵의 표지를 보고했던 실험결과와 비슷하였다(Hiura 1977). 혀밑샘에 PRV를 주입하고 턱밑샘에 CTB를 주입한 실험군에서 신경세포체가 표지된 양상이 혀밑샘에 CTB를 주입하고 턱밑샘에 PRV를 주입한 실험군에서 신경세포체가 표지된 양상과 대조적인 결과를 보

일 것이라고 생각했던 것과는 달리 신경세포체가 표지된 양상이 유사하였다. 이는 위침분비핵의 특정부위가 혀밑샘을 지배하거나 턱밑샘을 지배하는 것은 아니라고 볼 수 있다. CTB를 주입한 경우 신경세포체는 위침분비핵에서 관찰되었고 PRV를 주입한 경우 신경세포체는 위침분비핵과 위침분비핵 주변의 그물핵에서 넓게 흩어져서 관찰되었다. 이것으로 보아 CTB가 위침분비핵을 관찰하기에는 더 좋은 신경추적자라고 생각된다. CTB를 턱밑샘에 주입하고 PRV를 혀밑샘에 주입한 실험군과 CTB를 혀밑샘에 주입하고 PRV를 턱밑샘에 주입한 실험군 모두 두 가지 신경추적자에 의해 동시에 표지된 신경세포체는 없었다. 이는 하나의 신경세포체가 혀밑샘과 턱밑샘 둘 중 하나만을 지배한다는 것이고 다시 말해 위침분비핵에서 혀밑샘과 턱밑샘을 지배하는 신경세포체는 독립적으로 분포한다는 것이다.

본 연구에서 살펴본 턱밑샘을 지배하는 신경세포체와 혀밑샘을 지배하는 신경세포체는 대부분 위침분비핵의 중간부위에 서로 섞여서 분포하고 있으며, 위침분비핵의 입쪽부위와 꼬리쪽부위에도 적은 수의 신경세포체가 분포하고 있다.

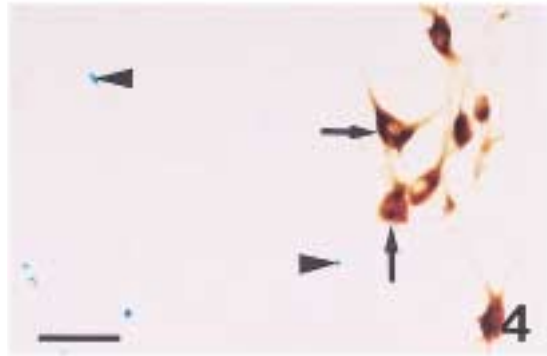
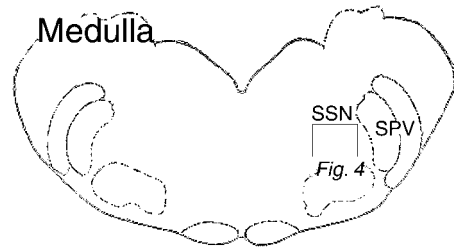
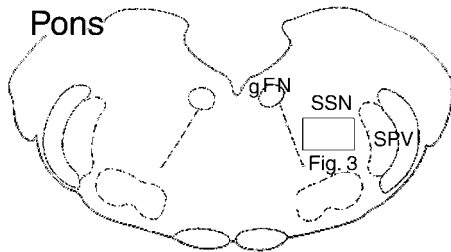
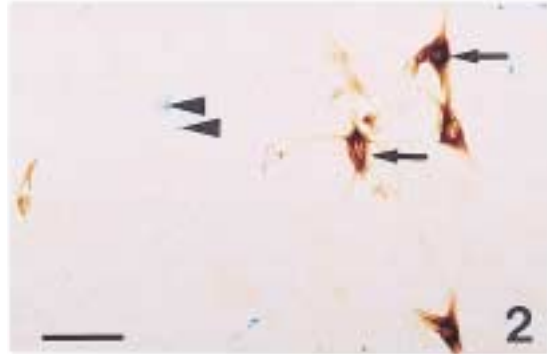
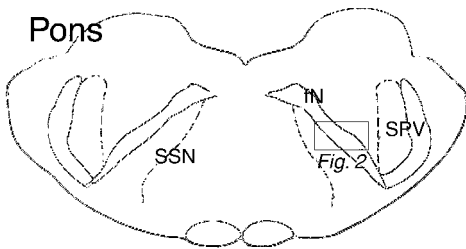
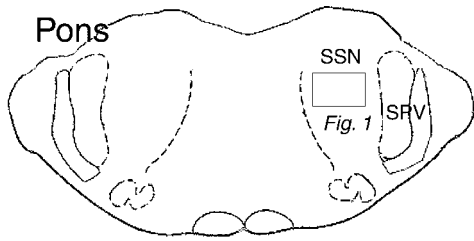
## 참 고 문 헌

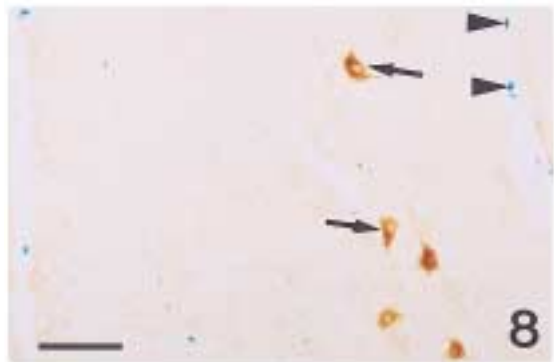
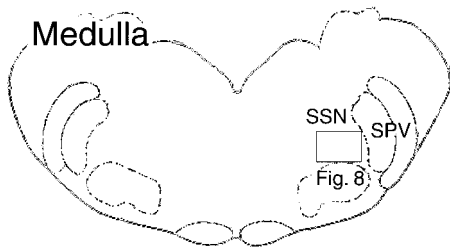
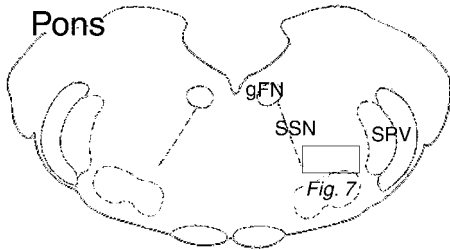
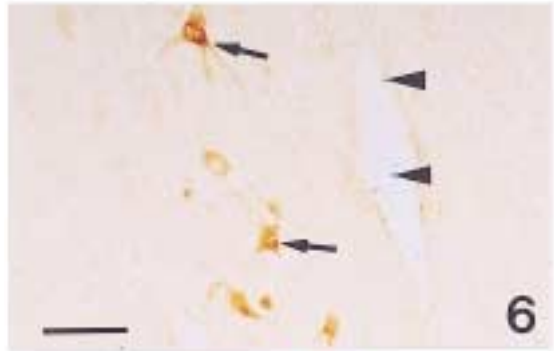
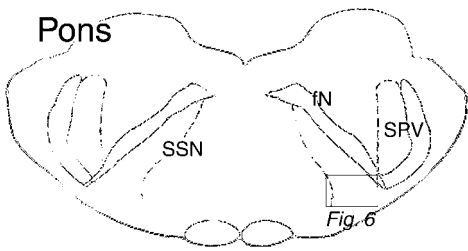
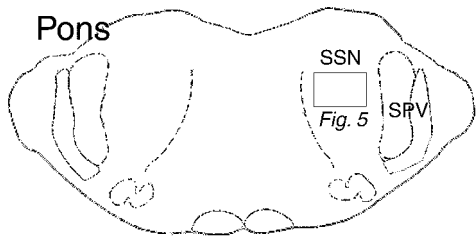
- 이창현, 정수일, 이정용, 최종림, 이무삼 : Cholera toxin B subunit (CTB)를 이용한 흰쥐 위지배 부교감 운동신경세포체의 표지부위 관찰. 대한해부학회지 28 : 263-275, 1995a.
- 이창현, 정순용, 차영욱, 정승호, 송창호, 이무삼 : 흰쥐 채장을 지배하는 운동 및 감각신경세포체의 표지부위. 대한해부학회지 28 : 659-673, 1995b.
- 한의혁, 송창호, 류영근, 이종인, 이무삼 : 흰쥐 뇌줄기에서 Cholera Toxin B Subunit를 이용한 눈물샘, 턱밑샘, 혀밑샘 지배 신경의 위치 추적. 대한해부학회지 32 : 425-435, 1999.
- Brown JC, Howlett B : Rat hindbrain thiocholine reactions relevant to the localisation of the inferior salivary nucleus. Acta anat 79 : 333-359, 1971.
- Brown JC, Howlett B : The facial outflow and the superior salivatory nucleus: An histochemical study in the rat. J Comp Neurol 134 : 175-192, 1968.

- Chibuzo GA, Cummings JF : Motor and sensory centers for the innervation of mandibular and sublingual salivary glands: a horseradish peroxidase study in the dog. *Brain Res* 189 : 301-313, 1980.
- Contreras RJ, Gomez MM, Norgren R : Central origins of cranial nerve parasympathetic neurons in the rat. *J Comp Neurol* 190 : 373-394, 1980.
- Hainsworth FR, Stricker EM : Evaporative cooling in the rat: differences between salivary glands as thermoregulatory effectors. *Can J Physiol Pharmacol* 49 : 573-80, 1971.
- Hiura T : Salivary neurons innervate the submandibular and sublingual glands in the rat: horseradish peroxidase study. *Brain Res* 137 : 145-149, 1977.
- Hosoya Y, Matsushita M, Sugiura Y : A direct hypothalamic projection to the superior salivatory neurons in the rat. A study using anterograde autoradiographic and retrograde HRP methods. *Brain Res* 266 : 329-333, 1983.
- Hubschle T, McKinley MJ, Oldfield BJ : Efferent connections of the lamina terminalis, the preoptic area and the insular cortex to submandibular and sublingual gland of the rat traced with pseudorabies virus. *Brain Res* 806 : 219-231, 1988.
- Jansen ASP, Ter Horst GJ, Mettenleiter TC, Loewy AD : CNS cell groups projecting to the submandibular parasympathetic preganglionic neurons in the rat: a retrograde transneuronal viral cell body labeling study. *Brain Res* 572 : 253-260, 1992.
- John SW : Evidence for the site of the superior salivatory nucleus in the guinea pig: a retrograde HRP study. *Anat Rec* 201 : 119-126, 1981.
- Kawa K, Roper S : On the two subdivisions and intrinsic synaptic connexions in the submandibular ganglion of the rat. *J Physiol* 346 : 304-320, 1984.
- Matsuo R, Yamamoto T, Kawamura Y : Morphological and functional evaluation of the superior salivatory nucleus in rabbits. *Exp Neurol* 68 : 147-57, 1980.
- Paxinos G : The rat nervous system, 2nd Ed. New York. Academic press. 1995.
- Rice DH : Salivary gland physiology. *Otolaryngol Clin North Am* 10 : 273-85, 1977.
- Shute CCD, Lewis PR : The salivatory centre in the rat. *J Anat* 94 : 59-73, 1960.
- Templeton D : The spinal origin of the sympathetic nerve fibers to the vascular and secretory components of the rat submaxillary salivary gland. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci* 64 : 17-21, 1979.
- Yagita K, Hayama S : Uber das speichelsekretionszentrum. *Neurol Zbl* 28 : 738-753, 1909.

### Legends for Figures

- Fig. 1.** CTB-immunoreactive neurons (arrows) are labeled diffusely in the rostral part of SSN (Superior salivatory nucleus) following the injection of CTB into the submandibular gland. PRV-immunoreactive neurons (arrowheads) are labeled diffusely in the reticular formation and rostral part of SSN following the injection of PRV into the sublingual gland. bar = 100  $\mu$ m
- Fig. 2.** CTB-immunoreactive neurons (arrows) are labeled diffusely in the middle part of SSN at the level of facial nerve following the injection of CTB into the submandibular gland. PRV-immunoreactive neurons (arrowheads) are labeled diffusely in the reticular formation and middle part of SSN at the level of facial nerve following the injection of PRV into the sublingual gland. bar = 100  $\mu$ m
- Fig. 3.** CTB-immunoreactive neurons (arrows) are labeled diffusely in the middle part of SSN at the level of internal genu following the injection of CTB into the submandibular gland. PRV-immunoreactive neurons (arrowheads) are labeled diffusely in the reticular formation and middle part of SSN at the level of internal genu following the injection of PRV into the sublingual gland. bar = 100  $\mu$ m
- Fig. 4.** CTB-immunoreactive neurons (arrows) are labeled closely in the caudal part of SSN following the injection of CTB into the submandibular gland. PRV-immunoreactive neurons (arrowheads) are labeled diffusely in the reticular formation and caudal part of SSN following the injection of PRV into the sublingual gland. bar = 100  $\mu$ m
- Fig. 5.** CTB-immunoreactive neurons (arrows) are labeled diffusely in the rostral part of SSN following the injection of CTB into the sublingual gland. PRV-immunoreactive neurons (arrowheads) are labeled diffusely in the reticular formation and rostral part of SSN following the injection of PRV into the submandibular gland. bar = 100  $\mu$ m
- Fig. 6.** CTB-immunoreactive neurons (arrows) are labeled diffusely in the middle part of SSN at the level of facial nerve following the injection of CTB into the sublingual gland. PRV-immunoreactive neurons (arrowheads) are labeled diffusely in the reticular formation and middle part of SSN at the level of facial nerve following the injection of PRV into the submandibular gland. bar = 100  $\mu$ m
- Fig. 7.** CTB-immunoreactive neurons (arrows) are labeled diffusely in the middle part of SSN at the level of internal genu following the injection of CTB into the sublingual gland. PRV-immunoreactive neurons (arrowhead) are labeled diffusely in the reticular formation and middle part of SSN at the level of internal genu following the injection of PRV into the submandibular gland. bar = 100  $\mu$ m
- Fig. 8.** CTB-immunoreactive neurons (arrows) are labeled closely in the caudal part of SSN following the injection of CTB into the sublingual gland. PRV-immunoreactive neurons (arrowheads) are labeled diffusely in the reticular formation and caudal part of SSN following the injection of PRV into the submandibular gland. bar = 100  $\mu$ m





Korean J Phys Anthropol  
17(2): 109~119, 2004

**Abstract**

**Localization of Nerves Innervating Sublingual and Submandibular Gland in the CNS Using Cholera Toxin B Subunit and Pseudorabies Virus**

Eui-Hyeog Han, Kum-Soon Song, Chang-Hyun Lee<sup>1</sup>

*Department of Anatomy and Institute for Medical Science Chonbuk National University Medical School*

<sup>1</sup>*Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Woosuk University*

In the rat brain stem, neurons innervating the sublingual and submandibular gland were investigated by means of cholera toxin B subunit (CTB) and pseudorabies virus (PRV).

Injection of CTB into the sublingual gland and PRV into the submandibular gland, neural tracer labeled neurons showed similar positions in central nervous system with PRV into the sublingual gland and CTB into the submandibular gland. CTB labeled-neurons were observed in superior salivatory nucleus, PRV labeled-neurons in superior salivatory nucleus and reticular nucleus. CTB was more fine tracer than PRV for observation of superior salivatory nucleus. The size of CTB labeled-neurons is larger in submandibular gland than in sublingual gland. The size of PRV labeled-neurons were nearly the same after injection to submandibular or sublingual gland. No neurons were labeled together with CTB and PRV. Neurons innervating sublingual and submandibular gland were localized independently in superior salivatory nucleus.

These results provided a neuroanatomical data of the neurons innervating the sublingual and submandibular gland in the superior salivatory nucleus.

**Key words** : CTB, PRV, Submandibular gland, Sublingual gland

---

Correspondence to : Eui-Hyeog Han (Department of Anatomy and Institute for Medical Science Chonbuk National University Medical School)  
E-mail : han@chonbuk.ac.kr