

흰쥐 뇌에서 pseudorabies virus를 이용한 혀밑샘 지배 신경의 위치 추적

한 의 혁, 김 경 아, 이 창 현¹

전북대학교 의과대학 해부학교실 및 의과학연구소

¹우석대학교 한의과대학 해부학교실

간추림 : 흰쥐 혀밑샘을 지배하는 신경의 위치를 알아보기 위하여, 신경추적자인 pseudorabies virus (PRV)를 왼쪽 혀밑샘에 주입하여 뇌에서 표지되는 신경의 위치와 수를 관찰하였다. 뇌에서 PRV에 표지된 신경은 뇌의 왼쪽과 오른쪽 모두 관찰되었으며 왼쪽에서 더 많은 신경이 관찰되는 경향을 보였다. PRV에 표지된 신경이 관찰된 부위는 대뇌섬, 뇌실주위시상하부핵, 깊은중간뇌핵, 삼차신경척수로, 가쪽거대세포주위핵, 작은세포그물핵, 불명술기핵, 거대세포그물핵, 알파거대세포그물핵이었다. 깊은중간뇌핵과 삼차신경척수로, 가쪽거대세포주위핵에서는 다른 부위에서보다 더 많은 수의 신경이 표지되었다. 이러한 결과는 뇌에서 혀밑샘을 지배하는 신경에 관한 신경해부학적인 자료로 사용될 수 있을 것이다.

찾아보기 낱말 : 흰쥐, pseudorabies virus, 신경추적자 혀밑샘 신경

서 론

침샘의 분비는 침분비세포의 분비작용과 근육상피세포의 수축작용, 혈관과 신경의 조절등이 복합적으로 작용하여 조절된다. 이러한 침샘의 분비는 교감신경과 부교감신경으로 구성된 자율신경에 의해 조절되는데, 침샘을 지배하는 신경들은 침샘의 분비세포, 근육상피세포, 침샘의 혈관을 조절하는 신경들로 구성되어 있다(Emmelin 1987).

침샘의 분비는 자율신경계통 중 부교감신경이 중요한 역할을 하며(Hubschle 등 1998) 턱밑신경절을 통해 턱밑샘과 혀밑샘을 지배하는 부교감신경의 신경절이전세포는 위침분비핵에 있다(Jansen 등 1992). Yagita와 Hayama (1909)가 작은세포그물핵이 혀밑샘과 턱밑샘을 지배한다고 보고한 이후, 위침분비핵이 숨뇌의 작은세포그물핵에 있다는 것은 이미 밝혀져 있다(Hiura 1977, Nicholson 등 1981, Cechetto 등

1990). 그러나 위침분비핵을 지배하는 중추신경계의 구조들에 관한 연구는 Jansen 등(1992)을 제외하고는 거의 없는 실정이다. 또한, 위침분비핵은 숨뇌의 그물핵에 흩어져서 분포하기 때문에 신경추적자를 위침분비핵에 직접 주입하여 신경연결을 관찰하기도 매우 어렵다. 그러므로 역행성으로 신경연접을 건너가는 신경추적자를 직접 침샘이나 턱밑신경절에 주입하는 방법이 침샘을 지배하는 중추신경계 신경세포들의 위치를 확인하는데 더 좋은 방법이라 하겠다.

턱밑샘이나 혀밑샘을 지배하는 중추신경계의 위치에 관한 연구들을 살펴보면, 신경추적자를 이용한 몇몇 보고(Hopkins와 Holstege 1978, Hosoya와 Matsushita 1981, Hosoya 등 1983, Holstege 등 1985, Luiten 등 1985, Hosoya 등 1990)에서 끝뇌의 자율신경영역에서 내려오는 신경에 대해 연구하였으나, 어느 부위들이 위침분비핵과 직접 연결되어 있는지에 관해서는 밝히지 못하였다. Jansen 등(1992)은 교감신경을 제거한 쥐에서 Pseudorabies virus (PRV)를

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

턱밑샘에 주입하여 중추신경계에서 표지되는 부교감신경을 관찰하였으나, 혀밑샘의 신경지배는 관찰하지 않았다.

최근의 연구에서 Hubschle 등(1998)은 턱밑샘과 혀밑샘에 PRV를 주입하여 중추신경계의 끝뇌에서 신경추적자에 표지되는 신경세포체를 주로 관찰하였다. 그러나 이 연구에서도 턱밑샘과 혀밑샘의 신경지배를 거의 구분하지 않았는데, 혀밑샘에 PRV를 주입한 경우에 끝뇌에서 나타난 신경추적자의 표지는 신경추적자를 턱밑샘에 주입한 경우와 거의 같았다 고만 하였다. 이들은 턱밑샘과 혀밑샘에 신경추적자를 각각 주입하면 중추신경계에서 신경추적자에 표지되는 양상이 차이가 있을 것으로 기대된다고 하였으나, 신경 표지 양상이 다른 것을 증명하지 못하였다.

이에 본 연구자는 자율신경계통을 연구하는데 유용한 방법으로 알려진 신경추적자인 PRV (Strack 등 1989, Spencer 등 1990, Blessing 등 1991)를 이용하여 혀밑샘을 지배하는 신경의 위치를 뇌에서 관찰하고자 하였다.

재 료 및 방 법

1. 신경추적자의 주입

실험동물은 체중 300 gram 내외의 건강한 Sprague-Dawley계 흰쥐를 암수 구별 없이 사용하였다.

흰쥐의 복강 내에 7% chloral hydrate (0.5 mL/100 gram body weight)를 주사하여 마취시킨 후에 왼쪽 혀밑샘에 10 μ L Hamilton syringe를 이용하여 신경추적자를 주입하였다. 신경추적자는 PRV 중 Blue strain을 사용하였다. PRV는 우석대 한의학과로부터 분양 받은 것이며, 이 strain은 PK15-cell에서 자란 것으로, plaque forming unit은 평균 1×10^8 pfu/mL이고 영하 70도에서 냉동 보관된 것을 주사 직전에 녹여서 사용하였다.

PRV는 왼쪽 혀밑샘의 2~3 부위에 주입하였으며, 주입 후 신경추적자가 주입부위에서 새지 않도록 하기 위해 Hamilton syringe를 천천히 빼냈다.

2. 염색 및 관찰

신경추적자 주입 3~4일 후에 실험 동물을 희생시켜, 가슴우리를 열고 아래대정맥을 노출시켜 절단한 뒤, 왼쪽 심실을 통하여 250 mL의 생리식염수를 관류하여 방혈시켰다. 그 후 0.1 M phosphate buffer (PB) 용액 (pH 7.4)에 용해시킨 4% paraformaldehyde 고정액 500 mL를 1시간동안 주입하여 고정시켰다. 고정 후 뇌를 절취하여 20% sucrose-phosphate 완충액에 12시간동안 4°C에서 보관하였다. 절취한 조직이 20% sucrose-phosphate 완충액에 가라앉은 상태를 확인한 후 동결박절기를 이용하여 40 μ m 두께의 가로 절단된 연속 절편을 만들어 염색을 시행하였다.

염색은 X-gal 염색을 하였다. X-gal 용액은 X-gal 20 mg, potassium ferrocyanide 21 mg, potassium ferricyanide 17 mg, 0.01% sodium deoxycholate 1 mg, 2 M MgCl₂ 10 μ L, 0.02% nonident P-40 2 μ L, dimethylsulfoxid (DMSO) 250 μ L를 0.1 M PB용액에 희석하여 만들었다. X-gal 용액에 조직절편을 넣어 37°C에서 24시간동안 반응시켰고, 반응한 조직을 증류수에 1분간 세척한 후, 37°C에서 0.1 M PB용액에 15분씩 2회 더 세척하였다. 다시 조직절편을 0.1M PB 용액에 담가 4°C에서 1시간동안 보관하였다. 반응이 끝난 조직 절편들은 0.1 M PB 용액으로 다시 한 번 세척하고, 젤라틴이 입혀진 슬라이드 위에서 24시간동안 건조시켰다. 발색이 끝난 절편 중 일부 표본은 1% OsO₄ 용액으로 신경세포체의 염색성을 증가시켰으며 탈수와 투명화 과정을 거쳐 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

조직절편 가운데 PRV에 표지된 신경이 많은 5장의 조직절편을 선택하여, PRV에 표지된 신경의 모양과 분포를 관찰하였으며, 조직절편의 왼쪽에서 PRV에 표지된 신경세포체와 신경섬유의 수를 셸다.

결 과

흰쥐 혀밑샘을 지배하는 신경의 위치를 알아보기 위하여, 신경추적자인 PRV를 왼쪽 혀밑샘에 주입하여 뇌에서 표지되는 신경의 위치와 수를 관찰한 결

과는 다음과 같다.

중추신경계에서 PRV에 표지된 신경은 뇌의 왼쪽과 오른쪽에서 관찰되었으며 좌우산 유의한 차이는 없었으나, 왼쪽에서 더 많은 신경이 관찰되는 경향을 보였다.

PRV에 표지된 신경이 관찰된 부위는 대뇌섬, 뇌실주위시상하부핵, 깊은중간뇌핵, 삼차신경척수로, 가쪽거대세포주위핵, 작은세포그물핵, 불명술기핵, 거대세포그물핵, 알파거대세포그물핵이었다(Table 1). 깊은중간뇌핵과 삼차신경척수로, 가쪽거대세포주위핵에서는 다른 부위에서보다 더 많은 수의 신경이 표지되었다(Table 1).

Table 1. The nuclei labeled in the rat brain after PRV injections into the sublingual gland. Labeled cell numbers in one section : (+ : below 20) (++ : 20-100) (+++ : more than 100)

Brain	Area	Labeled cells
Telencephalon	Insular cortex	++
Diencephalon	Paraventricular nucleus	++
Midbrain	Deep mesencephalic nucleus	+++
	Spinal trigeminal tract	+++
	Lateral paragigantocellular nucleus	+++
Pons & Medulla oblongata	Parvicellular reticular nucleus	+
	Raphe obscurus	+
	Gigantocellular reticular nucleus	+
	Gigantocellular reticular nucleus, alpha	+

대뇌섬에서 PRV에 표지된 신경세포체는 대뇌섬에 흩어져서 분포하거나, 줄을 지어서 분포하였다(Fig. 1). 뇌의 다른 부위에서 관찰된 세포에 비해 대뇌섬에서 관찰된 신경세포체는 세포질의 경계가 명확하게 염색되었고, 세포체의 중앙에 위치하는 핵은 염색되지 않는 양상이 뚜렷하였다.

시상하부에서는 뇌실주위시상하부에서 PRV에 표지된 신경세포체가 관찰되었다. 뇌실주위시상하부핵에서 관찰된 신경세포체는 줄지어서 나타났으며, 조직절편 당 100개 미만이었다(Fig. 2).

중간뇌에서는 깊은중간뇌핵에서 PRV에 표지된 신경세포체가 관찰되었는데, 깊은중간뇌핵 중 중뇌수도관 앞쪽에서 발견되었다. PRV에 표지된 신경세

포체는 흩어져 표지된 양상이었고, 뇌의 다른 부위에서 보인 신경세포체들보다 더 컸으며, 조직절편 당 100개 이상의 많은 신경세포체가 관찰되었다(Fig. 3).

다리뇌와 숨뇌에서 PRV에 표지된 신경세포체들의 위치를 보면 다음과 같다.

삼차신경척수로에서는 많은 수의 신경섬유가 표지되었는데, 조직절편 당 100개 이상의 신경섬유가 표지되었다(Fig. 4).

가쪽거대세포주위핵에서는 가장 많은 수의 신경세포체가 표지되었다. 신경세포체가 표지된 곳은 피라미트발의 가쪽, 얼굴신경의 안쪽이었으며, 표지된 신경세포체는 다른 부위에서 관찰되는 신경세포체들에 비해 가까이 모여 있었고, 크기는 작은 편이었다(Fig. 5)

작은세포그물핵에서도 신경세포체가 표지되었는데, 작은세포그물핵의 전체에 걸쳐서 넓게 흩어져 나타났으나, 뒤쪽 작은세포그물핵에서 앞쪽 작은세포그물핵보다 더 많은 신경세포체가 표지되었다(Fig. 6).

불명술기핵에서는 5~6개의 신경세포체가 표지되었는데, 불명술기핵의 전체에 걸쳐서 흩어져 나타나는 양상을 보였다(Fig. 7).

거대세포그물핵과 알파거대세포그물핵(Fig. 8)에서도 신경세포체가 흩어져서 표지된 양상을 보였는데, 알파거대세포그물핵에서 거대세포그물핵보다 더 많은 신경세포체가 관찰되었다.

고 찰

PRV를 허밀샘에 주입하면, PRV는 허밀샘을 지배하는 신경축삭을 통해 흡수되고, 흡수된 PRV는 신경연접을 건너 중추신경계로 이동하게 된다. 이 때, PRV는 부교감신경계통인 턱밑샘신경절을 거치거나, 교감신경계통인 위목신경절을 거치거나, 감각계통인 삼차신경을 거쳐서 중추신경계로 올라가게 된다(Jansen 등 1992).

허밀샘과 같은 분비샘에 PRV를 주입한 경우에, 주입된 PRV가 부교감신경이나 교감신경, 근육상피

세포 중 어느 경로를 통해서 중추신경계에 표지되는가 하는 것은 신경추적자를 이용한 연구에서 항상 부딪히게 되는 문제이다(Emmelin 1987). 그리고, PRV를 허밀샘에 주입한 경우, PRV가 허밀샘 전체에 고르게 퍼져서 주입되는 것은 아니고, 또 PRV가 신경축삭에 흡수되거나 흡수된 후 신경세포체내에서 이동될 때 혹은 신경연접은 건널 때 문제가 있을 수 있기 때문에, 허밀샘을 지배하는 모든 신경세포체가 표지되는 것은 아니다(Jansen 등 1992). 이렇게 PRV가 중추신경계 내에서 이동하는 경로를 밝힐 수 없고, 또 각 기관을 지배하는 모든 신경세포체를 보여주는 것은 아니지만, PRV는 자율신경계를 추적하는 가장 유용한 신경추적자이고(Kuypers와 Ugolini 1990, Loewy 1995), 중추신경계에서 신경연접을 거쳐 자율신경계에 표지되는 특이적 신경추적 방법으로서 사용된다(Card 등 1993).

본 연구에서 PRV에 표지된 중추신경계통의 각 부위에 관해 살펴보면 다음과 같다.

끝뇌의 대뇌섬에서 PRV에 표지된 신경추적자가 발견되었는데, 대뇌섬은 침분비 등과 같은 자율신경을 조절하는 부위로 알려져 있다(Kosar 등 1986, Yamamoto 1989, Cechetto와 Saper 1990). 쥐에서 대뇌섬이 침샘을 자극하는 부교감신경과 교감신경을 조절한다는 것이 생리적인 연구나(Yamamoto 1989) 신경해부학적인 연구로 보고된 바 있다(Yasui 등 1991). 본 연구에서는 시각교차앞구역, 종말판에서는 PRV에 표지된 세포가 발견되지 않았으나, 대뇌섬은 시각교차앞구역, 종말판 등 다른 중추신경계와 함께 침샘을 조절하는 중요한 자율신경부위이다(Cechetto와 Saper 1990, Johnson과 Loewy 1990, Loewy 1990, Jansen 등 1992).

이미 여러 연구에서 바이러스를 이용한 신경추적 방법으로 끝뇌에서 침샘을 지배하는 자율신경계를 보고하였으나, 연구자마다 차이가 있었다(Jansen 등 1992). Hubschle 등(1998)은 턱밑샘과 허밀샘에 PRV를 주입하여 중추신경계에서 대뇌섬, 시각교차앞구역, 종말판과 같은 부위에서 신경추적자에 표지되는 신경을 관찰하였으나, 교감신경절을 제거한 쥐에서 PRV를 이용한 연구에서는 대뇌섬, 시각교차앞구역, 종말판에서는 신경추적자가 표지되지 않는다

고 하였다(Jansen 등 1992). 본 연구에서는 PRV중 Blue strain을 사용하였으며, Hubschle 등(1998)은 Bartha strain을 사용하였고, Jansen 등(1992)의 연구에서는 lacZ gene이 삽입된 Bartha strain을 사용하였다. Hubschle 등(1998)은 이런 표지 부위의 차이가 PRV의 종류가 다른 것에 의해 나타나는 것이라고 하였다.

대뇌피질이 침샘의 분비를 조절한다는 것은 신경추적자를 이용한 근래의 보고들은 실험적으로나 임상적으로 대뇌피질을 자극했을 때 침분비를 조절할 수 있다는 초기의 연구보고들(Emmelin 1967, Yamamoto 1989)과 일치한다. Hubschle 등(1998)은 세포수준에서 대뇌피질의 특정부위 세포에서 여러 신경연접을 거쳐 침샘을 지배한다는 것을 처음으로 밝혔으며, 끝뇌에서 가장 특이적으로 일정하게 신경추적자의 표지가 나타난 부위는 대뇌섬이라고 하였다. 심장(Ter Horst 등 1996), 식도, 위와 맹장(Miselis 등 1991), 방광(Nadelhaft와 Vera 1996), 요도괄약근(Nadelhaft 등 1992)등에 신경추적자를 주입하였을 때에도 대뇌섬을 포함한 대뇌피질에 신경추적자의 표지가 나타난다. 심장에 신경추적자를 주입한 경우에는 대뇌섬의 꼬리쪽부위에 표지가 되었으나, 침샘에 신경추적자를 주입한 경우에는 대뇌섬의 입쪽부위에 신경추적자에 표지된 세포가 발견되었다. 즉, 대뇌섬은 특정부위를 지배하며 특정기능을 하는 신경들이 기능에 따라 국소적으로 모여있다고 하겠다.

본 연구에서 표지된 대뇌섬 등은 자율신경계의 일부로 가장 입쪽에 분포하는 구조들이다(Miselis 등 1991). 그러나 PRV를 다른 여러 부위에 주입하였을 때에도 이러한 표지 부위는 매우 유사하게 나타났다는 것을 고려해야한다. 즉, 모든 기관에 분포되어있는 혈관을 따라 PRV가 흡수되어 중추신경계에서 표지되었을 가능성이 있다. 그러므로 이러한 문제에 관해서는 더 많은 연구가 진행되어야 할 것이다. 주입된 PRV가 혈관으로 흡수되어 중추신경계의 혈액뇌장벽이 없는 곳에 표지되기도 한다. 종말판은 본 연구에서는 표지되지 않았으나 Hubschle 등(1998)의 연구에서 표지되었는데, 종말판이 혈액뇌장벽이 없는 부위이므로 이러한 가능성을 배제할

수는 없으나, 연구자들은 PRV가 표지된 시간으로 보아 뇌실주위시상하부핵을 통해 PRV가 표지되었을 것이라고 하였다. 또 Hubschle 등(1998)은 실제로 다른 신경추적자를 이용한 연구에서 뇌실주위시상하부핵이 종말판과 연결되어있다는 것은 이미 밝혀져 있다고 하였다.

본 실험에서 뇌실주위시상하부핵에도 PRV에 표지된 신경이 나타났다. 다른 연구들(Jansen 등 1992, Hubschle 등 1998)에서도 PRV를 턱밑샘에 주입한 후 끝뇌와 뇌실주위시상하부핵에서 신경추적자에 표지된 신경이 나타났다. 끝뇌와 뇌실주위시상하부핵은 본 연구와 다른 바이러스를 이용한 연구(Loewy 1990, Miselis 등 1991, Nadelhaft 등 1992, Schramm 등 1993, Jansen 1995, Nadelhaft와 Vera 1996, Ter Horst 등 1996, Sly와 Oldfield 1997, Hubschle 등 1998)에서 뇌의 여러 부위에 널리 퍼져 있는 자율신경계의 일부라고 알려져있다.

본 연구에서 삼차신경척수로에서 PRV에 표지된 신경섬유가 나타났는데, Jansen 등(1992)도 교감신경을 절제한 쥐에서 턱밑샘에 신경추적자를 주입한 경우 삼차신경계통에서 신경추적자의 표지가 관찰된다고 하였다.

본 연구에서 뇌줄기의 그물핵에도 신경추적자가 표지되었는데, 그물핵 중 깊은중간뇌핵, 가쪽거대세포주위핵, 작은세포그물핵, 불명솔기핵, 거대세포그물핵, 알파거대세포그물핵에 신경추적자가 표지되었다. 이러한 결과는 교감신경절을 제거한 쥐에서 턱밑샘에 PRV를 주입한 실험 결과(Jansen 등 1992)와 유사하였다. 이것은 부교감신경이 주로 허밀샘을 지배하며, 교감신경은 분비되는 침의 조성만을 조절하는 적은 역할을 하는 사실과 일치한다(Emmelin 1967). 본 연구의 경우와 Jansen 등(1992)의 경우에서 신경추적자에 표지된 신경세포체들은 주로 부교감신경계통일 것이다. 위침분비핵은 침분비를 직접 조절하는 부교감신경핵으로 본 실험에서 표지된 뇌줄기의 그물핵세포체에 섞여 있을 것이다.

본 연구에서 표지된 허밀샘을 지배하는 신경세포체들의 위치는 이미 자율신경계통을 조절하는 곳으로 알려진 부위들이다(Loewy 1990). 그리고 끝뇌의 무명질, 분계섬유줄, 중심편도핵, 뇌실주위시상하부핵

등은 날개입천장신경절이나 미주신경절과 연결되어 있는 곳이기도 하다. 즉, 이러한 부위들은 부교감신경계를 통합적으로 조절하는 부위이며, 여러 개의 신경연접을 거쳐서 교감신경의 기능에 영향을 주는 부위이기도 하다(Loewy 1990). 이러한 끝뇌의 부위가 부교감신경계와 교감신경계를 통합적으로 조절하는지, 혹은 특정 기관에서만 교감신경과 부교감신경을 조절하는지는 아직 밝혀져 있지 않다. 이러한 연결에 관해서는 자율신경계통에 관한 연구를 더 자세히 진행할 때 밝힐 수 있으리라 생각한다.

참 고 문 헌

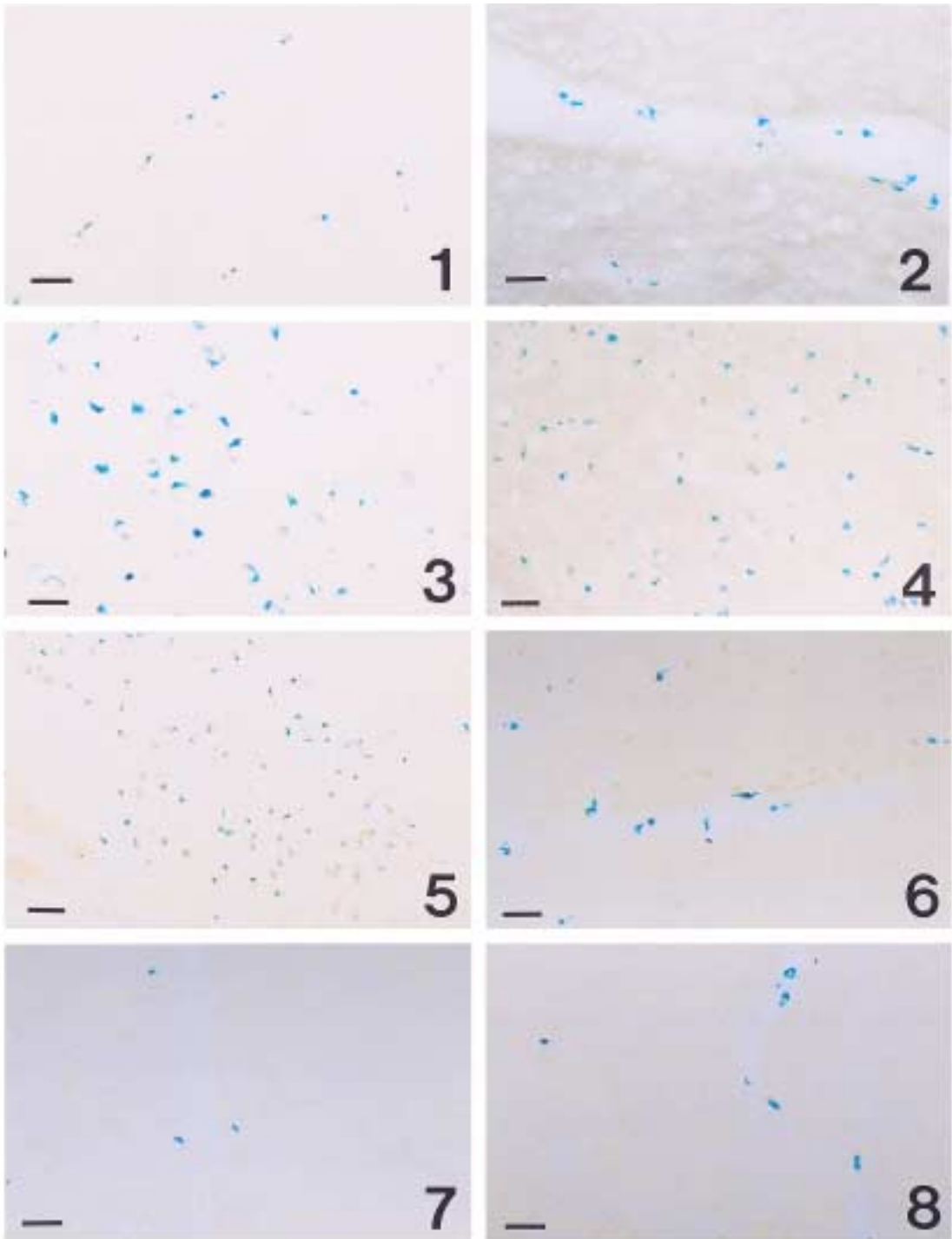
- Blessing WW, Li YW, Wesselingh SL : Transneuronal transport of herpes simplex virus from the cervical vagus to brain neurons with axonal inputs to central vagal sensory nuclei in the rat. *Neuroscience* 42 : 261-274, 1991.
- Card JP, Rinaman L, Lynn RB, Lee BH, Meade RP, Miselis RR, Enquist LW : Pseudorabies virus infection of the rat central nervous system : ultrastructural characterization of viral replication, transport, and pathogenesis. *J Neurosci* 13 : 2515-2539, 1993.
- Cechetto DF, Saper CB : Role of the cerebral cortex in autonomic function, Central regulation of autonomic function, New York, Oxford Univ. Press, pp. 208-223, 1990.
- Contreras RJ, Gomez MM, Norgren R : Central origins of cranial nerve parasympathetic neurons in the rat. *J Comp Neurol* 190 : 373-394, 1980.
- Emmelin N : Nervous control of salivary glands. *Handbook of physiology*, Baltimore, MD, Williams and Wilkins, pp. 595-632, 1967.
- Emmelin N : Nerve interactions in salivary glands. *J Dent Res* 66 : 509-517, 1987.
- Huira T : Salivary neurons innervate the submandibular and sublingual glands in the rat: horseradish peroxidase study. *Brain Res* 137 : 145-149, 1977.
- Holstege G, Meiners L, Tan K : Projections of the bed nucleus of the stria terminalis to the mesencephalon, pons, and medulla oblongata in the cat. *Exp Brain Res* 58 : 379-391, 1985.

- Hopkins DA, Holstege G : Amygdaloid projections to the mesencephalon, pons and medulla oblongata in the cat. *Exp Brain Res* 32 : 529-547, 1978.
- Hosoya Y, Matsushita M : Brainstem projections from the lateral hypothalamic area in the rat, as studied with autoradiography. *Neurosci Lett* 24 : 111-116, 1981.
- Hosoya Y, Matsushita M, Sugiura Y : A direct hypothalamic projection to the superior salivatory nucleus neurons in the rat. A study using anterograde autoradiographic and retrograde HRP methods. *Brain Res* 266 : 329-333, 1983.
- Hosoya Y, Sugiura Y, Ito R, Kohno K : Descending projections from the hypothalamic paraventricular nucleus to the A5 area, including the superior salivatory nucleus, in the rat. *Exp Brain Res* 82 : 513-518, 1990.
- 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, 1998.
- 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.
- Jansen AS, Wessendorf MW, Loewy AD : Transneuronal labeling of CNS neuropeptide and monoamine neurons after pseudorabies virus injections into the stellate ganglion. *Brain Res* 683 : 1-24, 1995.
- Johnson AK, Loewy AD : Circumventricular organs and their role in visceral functions. Central regulation of autonomic function, New York, Oxford Univ. Press, pp. 247-267, 1990.
- Kosar E, Grill HJ, Norgren R : Gustatory cortex in the rat. I. Physiological properties and cytoarchitecture. *Brain Res* 379 : 329-341, 1986.
- Kuypers HG, Ugolini G : Viruses as transneuronal tracers. *Trends Neurosci* 13 : 71-75, 1990.
- Loewy AD : Central autonomic pathways. Central regulation of autonomic function, New York, Oxford Univ. Press, pp. 88-103, 1990.
- Loewy AD : Pseudorabies. a transneuronal tracer for neuroanatomical studies. *Viral vectors-Gene therapy and neuroscience applications*, San Diego, Academic press, pp. 349-366, 1995.
- Luiten PG, ter Horst GJ, Karst H, Steffens AB : The course of paraventricular hypothalamic efferents to autonomic structures in medulla and spinal cord. *Brain Res* 329 : 374-378, 1985.
- Miselis RR, Lee BH, Card EJP, Characterization of the visceral neuroaxis by transneuronal passage of pseudorabies virus. *Soc Neurosci* 17.545.13, 1991 (Abstract).
- Nadelhaft I, Vera PL : Neurons in the rat brain and spinal cord labeled after pseudorabies virus injected into the external urethral sphincter. *J Comp Neurol* 375 : 502-517, 1996.
- Nadelhaft I, Vera PL, Card JP, Miselis RR : Central nervous system neurons labelled following the injection of pseudorabies virus into the rat urinary bladder. *Neurosci Lett* 143 : 271-274, 1992.
- Nicholson JE, Severin CM : The superior and inferior salivatory nuclei in the rat. *Neurosci Lett* 21 : 149-154, 1981.
- Schramm LP, Strack AM, Platt KB, Loewy AD : Peripheral and central pathways regulating the kidney: a study using pseudorabies virus. *Brain Res* 616 : 251-262, 1993.
- Sly DJ, Oldfield BJ : Identification of neural pathways to the kidney using the neurotropic virus pseudorabies (PRV). *Proc Aust Neurosci Soc* 8, 1997 (Abstract).
- Spencer SE, Sawyer WB, Wada H, Platt KB, Loewy AD : CNS projections to the pterygopalatine parasympathetic preganglionic neurons in the rat : a retrograde transneuronal viral cell body labeling study. *Brain Res* 534 : 149-169, 1990.
- Strack AM, Sawyer WB, Platt KB, Loewy AD : CNS cell groups regulating the sympathetic outflow to adrenal gland as revealed by transneuronal cell body labeling with pseudorabies virus. *Brain Res* 491 : 274-296, 1989.
- Strack AM, Loewy AD : Pseudorabies virus: a high specific transneuronal cell body marker in the sympathetic nervous system. *J Neurosci* 10 : 2139-2147, 1990.
- Ter Horst GJ, Hautvast RW, De Jongste MJ, Korf J : Neuroanatomy of cardiac activity-regulating circuitry: a transneuronal retrograde viral labelling study in the rat. *Eur J Neurosci* 8 : 2029-2041, 1996.
- Yagita K, Hayama S : Über das speichelsekretionszentrum. *Neurol Zbl* 28 : 738-753, 1909.
- Yamamoto T : Role of the cortical gustatory area in taste discrimination. *Neural mechanisms in taste*, Boca Raton, FL, USA, CRC Press, pp. 197-219, 1989.

Yasui Y, Breder CD, Saper CB, Cechetto DF : Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. *J Comp Neurol* 303 : 355-374, 1991.

Legends for Figures

- Fig. 1.** PRV-immunoreactive neuronal cell bodies are observed in the insular cortex following the injection of PRV into the sublingual gland of the rat. Scale bar = 50 μ m.
- Fig. 2.** PRV-immunoreactive neuronal cell bodies are observed in the paraventricular nucleus following the injection of PRV into the sublingual gland of the rat. Scale bar = 50 μ m.
- Fig. 3.** PRV-immunoreactive neuronal cell bodies are observed in the deep mesencephalic nucleus following the injection of PRV into the sublingual gland of the rat. Scale bar = 50 μ m.
- Fig. 4.** PRV-immunoreactive fibers are observed in the spinal trigeminal tract following the injection of PRV into the sublingual gland of the rat. Scale bar = 50 μ m.
- Fig. 5.** PRV-immunoreactive neuronal cell bodies are observed in the lateral paragigantocellular nucleus following the injection of PRV into the sublingual gland of the rat. Scale bar = 50 μ m.
- Fig. 6.** PRV-immunoreactive neuronal cell bodies are observed in the parvicellular reticular nucleus following the injection of PRV into the sublingual gland of the rat. Scale bar = 50 μ m.
- Fig. 7.** PRV-immunoreactive neuronal cell bodies are observed in the raphe obscurus following the injection of PRV into the sublingual gland of the rat. Scale bar = 50 μ m.
- Fig. 8.** PRV-immunoreactive neuronal cell bodies are observed in the alpha gigantocellular reticular nucleus following the injection of PRV into the sublingual gland of the rat. Scale bar = 50 μ m.



Abstract

**Localization of Nerves Innervating the Sublingual Gland
in the Rat Brain Using Pseudorabies Virus**

Eui-Hyeog Han, Kyoung-A Kim, Chang-Hyun Lee¹

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

¹*Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Woosuk University*

The nerves innervating the sublingual gland of the rat was investigated using PRV (pseudorabies virus) as a neural tracer. The neural tracer was injected into left sublingual gland of the rat. In the central nervous system, PRV immunoreactive neurons were labeled bilaterally and tended to be more densely labeled in the left side. PRV immunoreactive neuronal cell bodies and fibers were observed in insular cortex, paraventricular nucleus, deep mesencephalic nucleus, spinal trigeminal tract, lateral paragigantocellular nucleus, parvicellular reticular nucleus, raphe obscurus, gigantocellular reticular nucleus and gigantocellular reticular nucleus, alpha. The more densely labeled PRV immunoreactive neurons were found in the deep mesencephalic nucleus, spinal trigeminal tract and lateral paragigantocellular nucleus. These results may provide a neuroanatomical data on the nerves innervating the sublingual gland in the rat brain.

Key words : Rat, Pseudorabies virus, Neural tracer, Sublingual gland, Nerve