

삼차신경중간핵에서
저역치기계자극수용기 유래
들신경섬유 종말의 연접양상

연세대학교 대학원

치의학과

안 형 준

삼차신경중간핵에서
저역치기계자극수용기 유래
들신경섬유 종말의 연접양상

지도 김 종 열 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2004년 6월 일

연세대학교 대학원

치의학과

안 형 준

안형준의 박사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2004년 6월 일

감사의 글

너무도 많은 일들이 가슴을 메워왔던 시간이었습니다. 때로는 기쁨과 보람으로, 때로는 쓰라림과 좌절감으로 지새웠던 하루하루의 의미를 다시 되새겨 보며, 이러한 노력의 과정들을 앞으로도 소중하게 간직하겠습니다.

여러모로 부족함이 많은 결실이지만 너무나 훌륭하신 분들의 많은 도움이 있었기에 진심으로 고개 숙여 감사드립니다.

먼저 논문이 이루어지기까지 세심한 지도로 이끌어주신 김종열 교수님께 진심으로 감사드리며, 연구의 시작에서부터 논문이 나오기까지 항상 사랑과 격려의 말씀으로 지도와 조언을 해 주신 배용철 교수님과 최종훈 교수님, 최재갑 교수님, 신경진 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

연구에 직접 참여해주시고 시종 모든 부분에서 꼼꼼히 도와주신 백상규 선생님과 배진영, 김현남, 오수진, 이경화, 김원희, 이정태, 마수경 선생님, 또한 논문이 완성되기까지 모든 굵은 일을 도맡아 해준 강승철 선생님, 강진규 선생님께도 깊은 감사를 드립니다.

그리고 여러 면에서 많은 배려를 해 주신 김성택 교수님과 많은 도움을 준 김기서, 유지원, 신준한 선생님 외에 구장내과 모든 식구들에게도 감사를 드립니다.

끝으로 제게 학문의 기회를 허락하시고 항상 끝없는 희생으로 지금까지 키워주신 부모님과, 어려울 때 마다 따뜻한 격려로 용기를 주신 장인, 장모님께도 진심으로 감사를 드리며, 누구보다도 힘든 어려움을 묵묵히 사랑으로 감싸 준 사랑하는 아내 원화와 귀염둥이 아들 재홍이, 그리고 가족 모두에게도 고마움을 전합니다.

이 작은 결실의 기쁨을 사랑하는 아내와 아들 그리고 가족 모두와 함께 나누고 싶습니다.

2004년 6월

안 형 준

차 례

그림 차례	ii
표 차례	iii
국문 요약	iv
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	6
1. 연구 재료	6
2. 연구 방법	6
가. 동물 실험(Animal preparation)	6
나. 단일 축삭 내 HRP 주입(Intra-axonal HRP injection)	7
다. 조직 처리(Tissue process)	7
라. 전자현미경적 분석(Electron microscope analysis)	8
III. 결 과	9
1. 미세구조적 특징(Ultrastructural features)	9
2. 연접양상(Synaptic organization)	11
IV. 고 찰	17
V. 결 론	25
참고 문헌	27
영문 요약	43

그림 차례

Fig 1. Photomicrograph of vibrissa afferent terminals labeled with HRP in Vi	10
Fig 2. Electron micrograph of HRP-labeled boutons from a vibrissa afferent in Vi	10
Fig 3. Electron micrographs of a synaptic triad	11
Fig 4. Electron micrographs of synapse with proximal dendrite and dendritic spine	13
Fig 5. Electron micrographs of simple synaptic organization	14
Fig 6. Electron micrographs of intermediate synaptic organization	15
Fig 7. Electron micrographs of complex synaptic organization	16

표 차례

Table 1. Frequency(Mean±SD) of occurrence of different types of contacts per labeled bouton from vibrissa in the trigeminal interpolar nucleus	13
Table 2. Frequency(%) distribution of vibrissa afferent boutons in three types of synaptic arrangement	14

국 문 요 약

삼차신경중간핵에서 저역치기계자극수용기 유래 들신경섬유 종말의 연접양상

삼차신경계의 일차연접부위에서 구강 및 악안면 영역의 저역치기계자극수용기에 서 유래하는 감각정보의 전달 및 처리 기전을 이해하고자, 고양이 콧수염에서 유래 하는 들신경섬유를 사용하여 단일축삭 내 기록법에 의해 HRP를 표식한 후, 삼차신 경중간핵에서 시편을 제작하고 표식종말에 대한 연속절편을 형성하였다. 총 30개의 표식 신경종말을 대상으로 전자현미경을 이용하여 삼차신경중간핵에서의 신경섬유 종말 및 연접이전축삭종말의 미세구조적 특징, 발현빈도, 연접양식 등을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 표식종말은 직경 45~55nm의 균일한 형태의 밝고 둥근 모양의 연접소포를 함유 하고 있었으며, 가지돌기와는 연접이후 치밀질이 잘 발달되어 있고, 연접틈새가 크며, 여러 곳에서 넓은 연접구조를 보이는 비대칭연접을, 다형의 연접소포를 함 유하는 비표식 축삭종말과는 연접이후 치밀질이 뚜렷하게 발달되지 않으며, 연접 면적이 좁은 대칭연접을 형성하였다.
2. 각 표식종말은 인접한 신경구조물들과 최소 1개에서부터 최대 15개까지 신경연 접을 형성하여 단위 표식종말 당 평균 4.77 ± 3.37 개의 신경연접이 관찰되었으며, 5개 이상의 신경구조물들과 연접을 형성하는 비교적 복잡한 연접양상이 다수의 표식종말(46.7%, n=14)에서 관찰되었다.

3. 표식종말이 세포체와 직접 연결하는 양상은 관찰되지 않았으며, 가지돌기와는 단위 표식종말 당 1.83 ± 1.37 개의 신경연접을 형성하였다. 가지돌기와 연접을 이루는 표식종말의 대부분(85.0%)은 원위부 가지돌기인 가지돌기체와 연접을 이루었으며($n=47$, $1.57 \pm 1.38/1$ bouton), 근위부 가지돌기($n=6$, $0.20 \pm 0.41/1$ bouton)나 가지돌기 가지($n=2$, $0.07 \pm 0.25/1$ bouton)와 연접을 이루는 경우는 드물었다.
4. 표식종말의 76.7%($n=23$)에서 다양한 형태의 연접소포를 함유하는 축삭종말인 p-ending과 축삭사이연접을 형성하였으며($2.93 \pm 2.36/1$ bouton), p-ending이 표식종말 및 이에 연결하는 가지돌기와 동시에 연접을 형성하는 연접세동이도 60.0%($n=18$)에서 관찰되었다.

이상의 결과를 종합하여 보았을 때, 고양이 콧수염에서 유래하는 들신경섬유 종말은 삼차신경중간핵에서 특징적인 연결양상을 나타내었으며, 이는 감각정보의 분별, 통각의 정동반응 등 복잡한 감각정보의 처리에 관여하는 삼차신경중간핵의 기능과 밀접한 상관관계가 있는 것으로 사료되며, 향후 신경종말의 미세구조에 대한 정량적인 분석과 연접이전 억제에 관여하는 신경전달물질의 동정 등 생리학적인 기능에 대한 더욱 광범위한 연구가 필요하리라고 사료된다.

핵심되는 말 : 고양이 콧수염, 삼차신경중간핵, 연접, 가지돌기, 축삭종말

삼차신경중간핵에서 저역치기계자극수용기 유래 들신경섬유 종말의 연결양상

< 지도 김 종 열 교수 >

연세대학교 대학원 치의학과

안 형 준

I. 서 론

삼차신경계에서 구강 및 악안면 영역에서 유래하는 통증을 포함하는 모든 감각 정보는 일반적으로 뇌줄기(brain stem)에 존재하는 삼차신경감각핵군(trigeminal sensory nucleus complex, TSNC)으로 투사하여 처리된다. 삼차신경감각핵군은 다리 뇌(pons)에서 척수에 이르기까지의 뇌줄기의 외측에 뻗어있는 세포군집으로서 이는 구성 세포의 크기, 밀집도, 모양 등 세포구축학(cytoarchitecture)적 특성에 의해 삼차신경주감각핵(trigeminal principal sensory nucleus)과 삼차신경척수핵(spinal trigeminal nucleus)으로 분류되며, 삼차신경 척수핵은 다시 입쪽핵(nucleus oralis), 중간핵(nucleus interpolaris) 및 꼬리핵(nucleus caudalis)으로 세분된다(Olszewski, 1950).

피부, 구강 점막, 치아, 근육, 관절 등 구강 및 악안면 부위에서 유래하는 통증을 포함한 감각정보는, 삼차신경감각핵군의 각 아핵(subnucleus)으로 투사되어 일차적인 중계과정을 거쳐 시상(thalamus), 대뇌겉질(cerebral cortex) 등 고위 뇌중추로 전달, 처리 되는데 이러한 삼차신경감각핵군의 각 아핵들은 고위 뇌중추와의 연결이

각기 다르며, 또한 각 아핵에서의 투사양상도 서로 다르다고 알려져 있어 감각의 전달 및 처리에 있어서도 각기 다른 역할을 수행하는 것으로 생각되어지고 있다 (Jacquin 등, 1986, 1988; Nicolas 등, 1987; Tsuru 등, 1989; Shigenaga 등, 1989, 1990a, b; Miyoshi 등, 1994).

삼차신경주감각핵은 주로 악안면 부위의 촉각이나 압각을 중계하여 시상으로 전달하며 분별 촉각(two point discrimination) 등 복잡한 감각의 처리에 관여하고 (Azerad 등, 1982; Shigenaga 등, 1983; Yasui 등 1983; Tsuru 등, 1989; Yoshida 등, 1994), 삼차신경척수핵 중 입쪽핵은 구강 내에서 유해자극을 전달받아 주로 삼차신경운동핵(trigeminal motor nucleus)으로 투사하여 하악의 운동이나 하악 반사의 조절에 관여하는 것으로 생각되고 있다(Shigenaga 등, 1986, 1988a, b; Jacquin과 Rhoades, 1990; Yoshida 등, 1994; Sugimoto 등, 1998a, b; Okaden과 Boissonade, 1998). 또한 삼차신경중간핵은 입쪽핵과 함께 촉각의 전달에 관여하면서 치아로부터 동통 섬유를 받아 통각의 정동(motivational-affective action)이나 촉각, 압각의 변별에 관여하고(Hayashi 등, 1984; Jacquin 등, 1986, 1988; Nicolas 등, 1987), 삼차신경꼬리핵은 주로 동통과 온도의 전달에 관여한다고 알려져 있다(Kiernan, 1998). 또한 똑같은 자극이라도 전달되는 각 아핵에 따라서 다른 기능을 나타내기도 하는데, 예를 들어 구강 내에서 유래하는 자극이 삼차신경주감각핵으로 전달되면 두 점 식별과 관련된 기능을 나타내지만 삼차신경입쪽핵으로 전달되면 반사와 관련된 작용을 하는 것으로 생각되어지고 있다(Shigenaga 등, 1983).

한편 Shigenaga 등(1988a, b, c)은 신경추적자로 사용되는 HRP(horseradish peroxidase)의 단일축삭 내 주입 기법(intra-axonal injection)을 이용하여, 구강 및 악안면 영역에서 유래하는 기능이 확인된 일차들신경(primary afferent)섬유에 대해 삼차신경감각핵군의 각 아핵 내에서의 투사양상 및 종말의 형태, 크기, 분포 등을 조사하여, 삼차신경계에 있어서 구강 및 악안면 영역의 특정 부위에서 오는, 특정 기능을 가진 여러 종류의 일차들신경섬유는 수용기의 부위와 수용기의 종류(modality)에 따라 각 신경섬유 종말의 밀집도, 분포, 크기 등을 포함한 투사양상이 각 아핵 내에서 서로 다르다는 것을 보고하였고, 이후 삼차신경감각핵군의 각 아핵에서, 특

정 기능을 가진 일차들신경섬유 종말의 미세구조적 특징 및 연결양상에 관한 형태학적, 정량적인 연구가 전기생리학적 기법 및 연속절편을 이용한 전자현미경적 분석법을 이용하여 활발하게 이루어지고 있다.

Sugimoto 등(1991)은 삼차신경입쪽핵에서 저역치기계자극수용기(low-threshold mechanoreceptor)에서 유래하는 신경섬유 종말의 연결양상을 분석하였으며, Bae 등(1994)은 삼차신경주감각핵과 입쪽핵에서 고양이 치주인대 유래 들신경섬유의 종말 형태 및 연결양상을 조사하여 주감각핵에서, 입쪽핵에서 보다 축삭-가지돌기 연결(axo-dendritic synapse) 및 연결이전 억제(presynaptic inhibition)에 관여하는 축삭사이연접(axo-axonic synapse)에 있어서 더 많은 발현빈도를 나타내고, 또한 입쪽핵에서 보다 단위 표식종말(labeled bouton) 당 연결하는 신경구조물(neuronal profile)의 수가 많은 더 복잡한 연결양상을 나타낸다는 각 아핵에서의 연결양상의 차이를 보고하면서, 이는 각 아핵의 감각정보 처리에 있어서의 기능과 밀접한 상관관계가 있을 것이라고 추론하였다. 또 Nakagawa 등(1997)은 고양이 콧수염(vibrissa) 유래 들신경섬유 종말에 대한 삼차신경주감각핵에서의 연결양상을 조사하여 같은 기계자극수용기라도 서순응형(slowly adapting, SA) 및 속순응형(fast adapting, FA) 등 수용기의 속성에 따라 신경섬유 종말의 크기 및 연결양상의 차이가 있음을 보고하였고, Moritani 등(1998)과 Zhang 등(2001)은 동일한 혀 유래 들신경섬유라도 신경종말의 미세구조가 삼차신경주감각핵 및 삼차신경입쪽핵에서 각각 다른 형태 및 양상을 나타낸다는 것을 보고하였다. 또한 Bae 등(2003)은 다시 주감각핵, 입쪽핵, 꼬리핵 등 삼차신경감각핵군의 각 아핵에서 치수 유래 들신경섬유 종말의 연결양상을 조사하여 주감각핵에서 입쪽핵이나 꼬리핵보다 연결하는 신경구조물의 수가 많은 더 복잡한 연결양상을 나타내고, 특히 꼬리핵에서는 특이하게 가소성(plasticity)에 관여한다고 알려져 있는 가지돌기 가시(dendritic spine)에 연결하는 빈도가 높음을 보고하였다.

이처럼 악안면 영역에서 유래하는 기능적으로 알려진 일차들신경섬유 종말의 미세구조 및 연결양식 등을 분석하는 것은, 말초 감각정보의 전달조절과 연결이전 억제와의 상관관계를 밝힘으로써 삼차신경계의 일차연접 부위에서 감각정보의 처리기

전을 이해하는데 많은 도움을 줄 수 있고, 나아가 구강 및 악안면 영역의 감각기능 장애 및 악기능 장애의 치료법 개발에도 크게 기여할 수 있으리라 사료되어 매우 큰 의미를 가진다고 할 수 있다.

그런데 선학들의 많은 연구에 의해 삼차신경감각핵군의 각 아핵들 중 주감각핵과 입쪽핵 및 꼬리핵에 대해서는 치주인대(Sugimoto 등, 1991; Bae 등, 1994), 치수(Bae 등, 2003), 혀(Moritani 등, 1998; Zhang 등, 2001), 고양이 콧수염(Nakagawa 등, 1997) 등에서 유래하는 여러 종류의 일차들신경섬유 종말의 연결양상 및 미세구조적 특징들이 자세히 보고 되고 있으나, 삼차신경중간핵에 대해서는 아직까지 신경섬유 종말의 연결양상 및 미세구조적 특징에 관한 보고가 이루어지지 않고 있는 실정이다.

삼차신경중간핵은, 외측그물핵(lateral reticular nucleus)이 시작되는 빗장(obex) 부근에서 설하신경핵(hypoglossal nucleus)의 위쪽 끝까지 뻗어 있는 약 6mm 길이의 부분으로, 구강 및 악안면 부위에서 유래하는 통각과 저역치기계자극을 시상의 배쪽후내측핵(ventral posteromedial nucleus, VPM)을 거쳐 대뇌겉질의 체성감각야(somesthetic area)에 투사함으로써 감각의 부위, 질, 강도 및 빈도 등 구강 및 악안면 부위의 촉각, 압각의 변별 기능에 관여하며, 시상의 내측하핵(submedial nucleus, SM)을 거쳐 안와겉질(orbital cortex)에 투사함으로써 통각의 정동에도 관여하는 것으로 생각되어지고 있다. 또한 일차들신경섬유를 소뇌(cerebellum), 상구(superior colliculus), 중뇌그물형성체(midbrain reticular formation), 중뇌수도관주위회색질(periaqueductal gray), 하올리브핵(inferior olivary nucleus), 부완핵(parabrachial nucleus) 등으로 투사하여 자율신경반응계 및 하행성 제어계를 활성화시키며 각성반응에도 관여하는 것으로 생각되어지고 있다(Hayashi 등, 1984; Jacquin 등, 1986, 1988, 1989a, b; Nicolas 등, 1987).

따라서 본 연구에서는 신경전달이 대체적으로 빠르고 정확하게 일어나 악안면 영역에서 세포의 미세구조적 특징을 관찰하고 연구하기에 적절한 모델인 고양이 콧수염의 저역치기계자극수용기에서 유래하는 A β 범주에 속하는 신경섬유를 사용하여, 단일축삭 내 기록법(intra-axonal recording)에 의해 표식한 후, 표식종말에 대한

연속절편을 형성하고, 전자현미경을 이용하여 삼차신경감각핵군의 각 아핵들 중 삼차신경중간핵에서의 신경섬유 종말 및 연접이전축삭종말의 미세구조적 특징, 발현빈도, 연접양식 등을 분석하고자 하며, 이러한 연구를 통하여 구강 및 악안면 영역의 저역치기계자극이 삼차신경중간핵에서 조절되는 기전을 밝히는데 많은 도움이 될 것이라 기대한다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 재료

체중 3.5kg의 성숙한 고양이의 콧수염을 재료로 사용 하였다. 주로 촉각과 방향 감각에 관여하며, 자극에 대한 반응이 빠르고 신경전달이 신속하고 정확하게 발생하여 신경전달과 관련된 세포의 미세구조적 특징을 연구하기에 적절한 모델인 고양이 콧수염의 저역치기계자극수용기에서 유래하는 A β 범주에 속하는 신경섬유를, 단일 축삭 내 HRP 기록 및 주입법에 의해 표식한 후, 전자현미경용 시편을 제작하여 연속절편을 형성하고, 이를 재구성하여 전자현미경으로 분석하였다.

2. 연구 방법

가. 동물 실험(Animal preparation)

체중 3.5kg의 성숙한 고양이를 sodium pentobarbital(40mg/kg, I.V.)로 전신마취하고 pancuronium bromide(0.07mg/kg)를 정맥주사하여 근육이완을 시킨 후, 인공 호흡기를 이용하여 호기 이산화탄소 농도를 3.5~5.0%로 유지하는 인공호흡을 실시하였다. 전기열판을 이용하여 체온을 37~38℃로 유지하며, 호흡운동에 따른 뇌의 움직임(brainstem pulsation)을 방지하기 위해서 양측성 기흉(bilateral pneumothorax)을 형성하고 뇌척수액을 유출(cisternal drainage)시켰다. 동물을 뇌정위 고정 장치(stereotaxic apparatus)로 고정하여 뒤통수뼈(occipital bone), 마루뼈(parietal bone), 관자뼈(temporal bone)의 일부를 제거한 후, 뒤통수엽 겉질(occipital cortex), 소뇌 천막(tentorium of cerebellum), 소뇌의 이측 일부(lateral part of cerebellum)를 흡입펌프의 끝으로 흡입하여 중간뇌 아래둔덕(inferior colliculus of mesencephalon)의 꼬리 끝으로부터 상하 길이가 10mm 정도 되도록 아래쪽 뇌줄기를 노출시키는

뇌절제술(craniotomy)을 시행하였다.

나. 단일 축삭 내 HRP 주입(Intra-axonal HRP injection)

0.3M KCl 및 0.05M Tris buffer에 용해한 3.0% HRP 용액(pH 7.6, Toyobo, Japan)을, 끝이 경사진(beveled tip) 직경 0.7~1.0 μ m의 마이크로파이펫(glass micropipette)에 모세혈관 작용(capillary action)을 이용하여 채운 후, 축삭 내 기록 및 HRP 염색을 시행하였다.

2.0M potassium citrate 용액을 채운 끝이 경사진 마이크로파이펫(beveled micropipette)을 사용하여 삼차신경 척수로(spinal trigeminal tract)를 찾았으며, high amplification에서 전위를 나타내기 위해 축전기(condenser)를 접속시킨 것과 low amplification에서 전위를 나타내기 위해 직접 접속시킨, 2개의 Nihonkoden Vc-10 oscilloscope를 사용하여 활동전위(action potential)를 관찰 및 기록하였다. Stepping microdrive(Narishige)를 사용하여 삼차신경주감각핵 부위의 높이에서 삼차신경 척수로를 관통시켜 파이펫을 하방으로 이동하면서, 갑작스러운 음전하로의 DC potential shift와 수용야 부위(receptive field)에 자극이 가해지면서 나타나는 활동전위의 출현에 의해 축삭 내에 삽입된 것을 확인하였다. 고양이 콧수염 유래 신경섬유 내에 삽입한 후, 수용야의 위치와 단일 고양이 콧수염에 가해지는 기계적 자극에 대한 신경섬유의 반응 특성을 통하여 고양이 콧수염 유래 신경섬유를 전기생리적으로 확인하고, 안정적으로 축삭 내 삽입이 이루어졌을 때 10~15nA의 전류를 가하여 3~6분간 HRP 용액을 이온삼투요법(iontophoresis)으로 주입하였다.

다. 조직 처리(Tissue process)

18시간 정도 생존시킨 후, 동물을 희생하여 약 4 ℓ 의 Palay's 고정액(1.0% paraformaldehyde, 1.0% glutaraldehyde and 0.2M CaCl₂ in 0.1M phosphate buffer, pH 7.2~7.4)을 좌심실을 통해 관류 고정시키고, 뇌줄기를 제거한 후 4°C의

동일 고정액에 2시간 정도 후고정(post fixation)을 시행하였다.

진동절편기(vibratome)로 80 μ m 두께의 횡단 연속절편을 형성하여 Adams법(1977)에 의해 CoCl₂-intensified DAB(3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride) 반응으로 발색 반응을 거쳐 4 $^{\circ}$ C의 0.1M phosphate buffer로 충분히 세척 후 동일 용액에 담구어 광학현미경으로 검경하였다.

삼차신경중간핵에서 표식종말이 가장 밀집되어 존재하는 부위를 선택하여 표식종말의 위치 및 대략적인 형상을 camera lucida로 그린 후, 그 부위를 포함하는 조직을 면도날로 세절하였다. 2.0% OsO₄ 용액에 실온에서 30분 정도 후고정한 후, 계열 에탄올로 탈수과정을 거쳐 실리콘을 입힌 슬라이드글라스 위에서 epon으로 포매하여 58 $^{\circ}$ C에서 48시간 동안 경화시켰다.

절편을 cyanoacrylate로 공 블록(block) 위에 접착한 다음 연속초박절편을 형성하여, formvar 박막으로 지지막을 형성한 단공 니켈 그리드(one hole nickel grid) 위에 얹어, 대조도를 얻어내기 위하여 uranyl acetate 포화용액 및 1.0% lead citrate 용액으로 염색한 후, 가속전압 75kv에서 투과전자현미경(Hitachi H-600, Japan)으로 관찰하였다.

라. 전자현미경적 분석(Electron microscope analysis)

투과전자현미경으로 HRP에 표식된 종말 및 이와 인접한 가지돌기와 비표식 축삭종말을 포함하는 부위를 모든 연속절편에서, 인접 연속절편 두 장 당 한 장씩 사진을 촬영, 인화하여(배율: $\times 15,000$, 인화배율: $\times 25,000$) 재구성을 한 후, 표식종말 및 이와 인접하는 신경섬유들의 미세구조 및 연결양식을 관찰, 분석하였다.

III. 결 과

1. 미세구조적 특징(Ultrastructural features)

삼차신경중간핵에 대한 광학현미경적 관찰에서 고양이 콧수염 유래 신경섬유의 HRP 반응 산물은 주로 삼차신경중간핵의 등쪽안쪽 부분(dorsomedial part)에 밀집되어 관찰되었다(Fig. 1).

본 연구에서는 삼차신경중간핵의 등쪽안쪽 부분에서 관찰된 총 30개의 표식 신경종말을 대상으로 신경종말의 미세구조 및 연결양상을 분석하였다. 전자현미경적 관찰에서 표식종말은 직경 45~55nm의 균일한 형태의 밝고 둥근 모양의 연결소포(synaptic vesicle)를 함유하고 있었으며, 가지돌기(dendrite) 및 다형의 연결소포를 함유하는 비표식 축삭종말(p-ending)과 연결을 형성하였다. 가지돌기와는 연결이후 치밀질(postsynaptic density)이 잘 발달되어 있고, 연결틈새(synaptic cleft)가 크며, 여러 곳에서 넓은 연결구조를 보이는 비대칭연접(asymmetric synapse)을 이루고 있었으며, 표식종말이 이러한 가지돌기에 연결신호를 전달하는 것으로 나타났다. 또한 타원형, 납작한 모양, 둥근 모양 등 여러 가지 형태의 연결소포를 함유하는 축삭종말인 p-ending과는 연결이후 치밀질이 뚜렷하게 발달되지 않으며, 연결면적이 좁은 대칭연접(symmetric synapse)을 이루고 있었으며, 연결소포가 주로 p-ending 내의 연결 부위에 밀집되어 있어 표식종말이 이들로부터 연결신호를 전달 받는 것으로 나타났다(Fig. 2). 또한 이러한 p-ending은 때때로 표식종말 뿐만 아니라 이에 연결하는 가지돌기와도 동시에 연결을 이루어 연결이전 및 연결이후 억제에 관여하는 연결세동이(synaptic triad)의 형태를 나타내기도 하였다(Fig. 3).

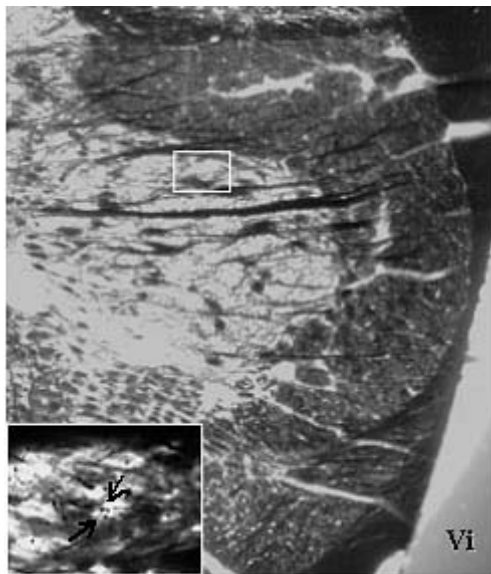
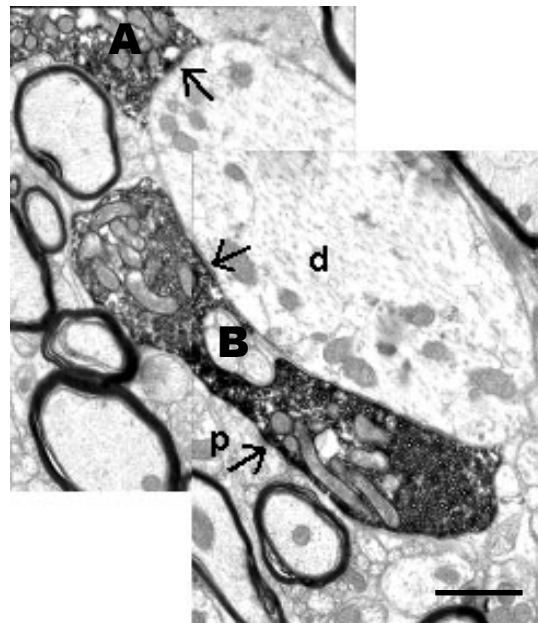


Fig 1. Photomicrograph of vibrissa afferent terminals labeled with HRP in Vi. Section of flat-embedded in Durcupan after osmication shows example of primary afferent terminals labeled with HRP in the Vi. Boxed area shows a higher magnification($\times 40$) and arrows indicate labeled terminals.

Fig 2. Electron micrograph of HRP-labeled boutons from a vibrissa afferent in Vi. Two HRP-labeled boutons(A, B) are interconnected with a thin unmyelinated axonal strand and are presynaptic to a dendritic shaft(d). Bouton B is postsynaptic to ending(p) containing pleomorphic vesicles. Arrow heads indicate synaptic contacts. Scale bar=500nm.



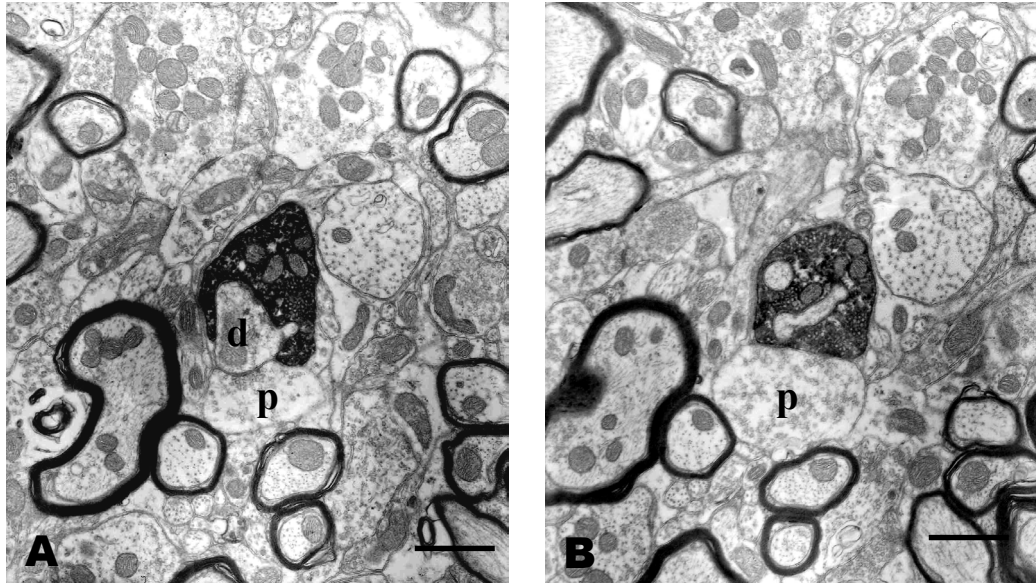


Fig 3. Electron micrographs of a synaptic triad. A HRP-labeled bouton from a vibrissa afferent in Vi is presynaptic to a dendritic shaft(d) and postsynaptic to ending(p) containing pleomorphic vesicles which is also presynaptic to a postsynaptic dendritic shaft(d). The section B is approximately 200nm apart from the section A. Scale bar=500nm.

2. 연결양상(synaptic organization)

총 30개의 표식종말을 대상으로 연결양상을 조사한 결과, 각 표식종말은 인접한 신경구조물들과 최소 1개에서부터 최대 15개까지 신경연접을 형성하였으며, 총 143개의 신경연접이 관찰되어 단위 표식종말 당 평균 4.77 ± 3.37 개의 신경구조물과 연결하는 다소 복잡한 연결양상을 나타내었다(Table 1).

본 연구에서는 표식종말과 세포체와의 직접적인 신경연접(axo-somatic synapse)은 전혀 관찰되지 않았으며, 가지돌기와는 30개의 표식종말에서 총 55개의 연접을 형성하여 단위 표식종말 당 1.83 ± 1.37 개의 신경연접을 나타내었다. 가지돌기와 연접을 이루는 표식종말 중, 골지복합체(golgi complex), 과립세포질세망(rough endoplasmic reticulum, RER) 및 리보솜체(ribosome)를 함유하고 있으며, 세포체와

가까운 근위부 가지돌기(primary dendrite)와는 총 6개의 연결을 형성하여 단위 표식종말 당 0.20 ± 0.41 개의 신경연접을 나타내었으며, 가지돌기 가지(dendritic spine)와는 총 2개의 연결을 형성하여 단위 표식종말 당 0.07 ± 0.25 개의 연결을 나타내었다(Fig 4). 반면 원위부 가지돌기(nonprimary dendrite)인 가지돌기체(dendritic shaft)와는 총 47개의 연결을 형성하여 단위 표식종말 당 1.57 ± 1.38 개의 연결을 나타내어, 가지돌기와 이루는 신경연접의 대부분(85.0%)은 원위부 가지돌기인 가지돌기체와 형성한다는 것이 관찰되었다(Table 1).

한편 다양한 형태의 연결소포를 함유하는 축삭종말인 p-ending과는 총 88개의 연결을 형성하여 단위 표식종말 당 2.93 ± 2.36 개의 연결이 관찰되었으며, 이러한 p-ending이 표식종말 및 표식종말에 연결하는 가지돌기와 동시에 연결하여 연결이 전-이후 억제 작용에 관여하는 형태인 연결세동이기도 총 34개가 관찰되어 단위 표식종말 당 1.13 ± 1.22 개를 나타내었다(Table 1).

또한 최소 1개에서부터 최대 15개까지 신경연접을 형성하는 총 30개의 표식종말을, 표식종말과 연결하는 신경구조물의 수에 따라 1~2개인 군을 simple group(Fig 5), 3~4개인 군을 intermediate group(Fig 6), 5개 이상인 군을 complex group(Fig 7)으로 분류하여 비교한 결과, 각각 30.0%(n=9), 23.3%(n=7), 46.7%(n=14)의 빈도로 관찰되어 대체적으로 5개 이상의 신경구조물들과 연결을 형성하는 비교적 복잡한 연결양상을 나타내었다(Table 2).

이 중 가지돌기와는 단위 표식종말 당 1~7개의 신경연접을 형성하였으며, 80.0%(n=24)에서 1~2개의 가지돌기와 연결하는 단순한 연결양상(simple group)을 나타내었고, intermediate group이 13.3%(n=4), complex group이 6.7%(n=2)의 빈도로 관찰되었다. 반면에 연결이 전억제에 관여하는 p-ending과는 단위 표식종말 당 0~8개의 신경연접을 형성하였으며, simple group이 23.3%(n=7), intermediate group이 30.0%(n=9), complex group이 23.3%(n=7)의 빈도로 관찰되어 비교적 각 군에서 고른 분포를 나타내었고, 표식종말이 p-ending과 연결을 전혀 형성하지 않은 경우도 23.3%(n=7)에서 관찰되었다(Table 2).

한편 표식종말의 60.0%(n=18)에서는 표식종말과 연결을 형성하는 p-ending이 그

표식종말 뿐만 아니라 표식종말과 연결을 형성하고 있는 가지돌기와도 동시에 또 다른 연결을 이루는 연결세동이 관찰되었다(Table 2).

Table 1. Frequency(Mean±SD) of occurrence of different types of contacts per labeled bouton from vibrissa in the trigeminal interpolar nucleus

Number of boutons examined	Synaptic contacts with					Synaptic triads	Total number of contacts
	Soma	Primary dendrites	Nonprimary dendrites	Dendritic spines	p-endings		
30	0 (n=0)	0.21±0.41 (n=6)	1.57±1.38 (n=47)	0.07±0.25 (n=2)	2.92±2.36 (n=88)	1.13±1.22 (n=34)	4.77±3.37 (n=143)

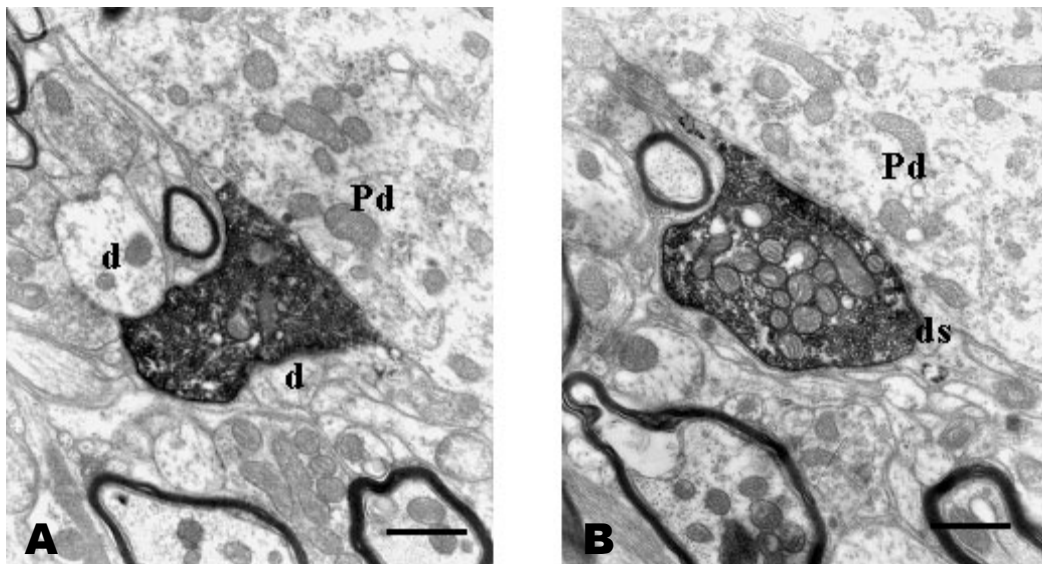


Fig 4. Electron micrographs of synapse with proximal dendrite and dendritic spine. HRP-labeled boutons from a vibrissa afferent in Vi are taken from a set of serial sections. A labeled bouton is presynaptic to dendritic shaft(d) and a proximal dendrite(Pd), which contains rough endoplasmic reticulum, and dendritic spine(ds) protruding from the proximal dendrite(Pd). The section B is approximately 200nm apart from the section A. Scale bar=500nm.

Table 2. Frequency(%) distribution of vibrissa afferent boutons in three types of synaptic arrangement

Neurofiles	Synaptic arrangements			
	Non-contact	⁺ Simple	⁺⁺ Intermediate	⁺⁺⁺ Complex
Dendrites	0.0 (n=0)	80.0 (n=24)	13.3 (n=4)	6.7 (n=2)
p-endings	23.3 (n=7)	23.3 (n=7)	30.0 (n=9)	23.3 (n=7)
Synaptic triads	40.0 (n=12)	46.7 (n=14)	13.3 (n=4)	0.0 (n=0)
[*] Total number of contacts	0.0 (n=0)	30.0 (n=9)	23.3 (n=7)	46.7 (n=14)

⁺simple : group of 1~2 neuronal profiles of contacts per labeled bouton

⁺⁺intermediate : group of 3~4 neuronal profiles of contacts per labeled bouton

⁺⁺⁺complex : group of more 5 neuronal profiles of contacts per labeled bouton

^{*}total number of contacts : sum of dendrites and p-endings

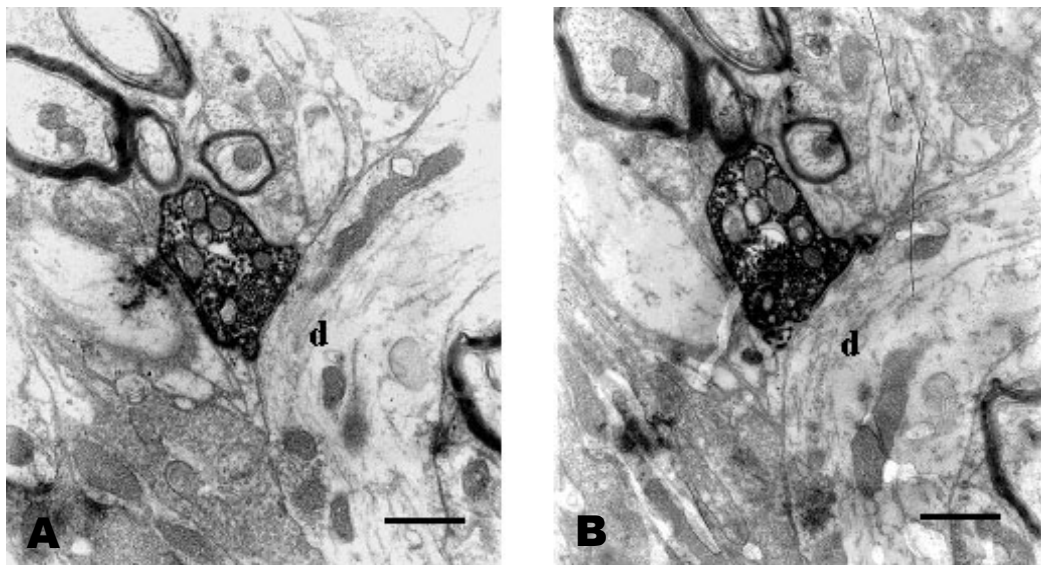


Fig 5. Electron micrographs of simple synaptic organization. A HRP-labeled bouton from a vibrissa afferent in Vi shows asymmetrical synaptic contact with a dendritic shaft(d). The section B is approximately 200nm apart from the section A. Scale bar=500nm.

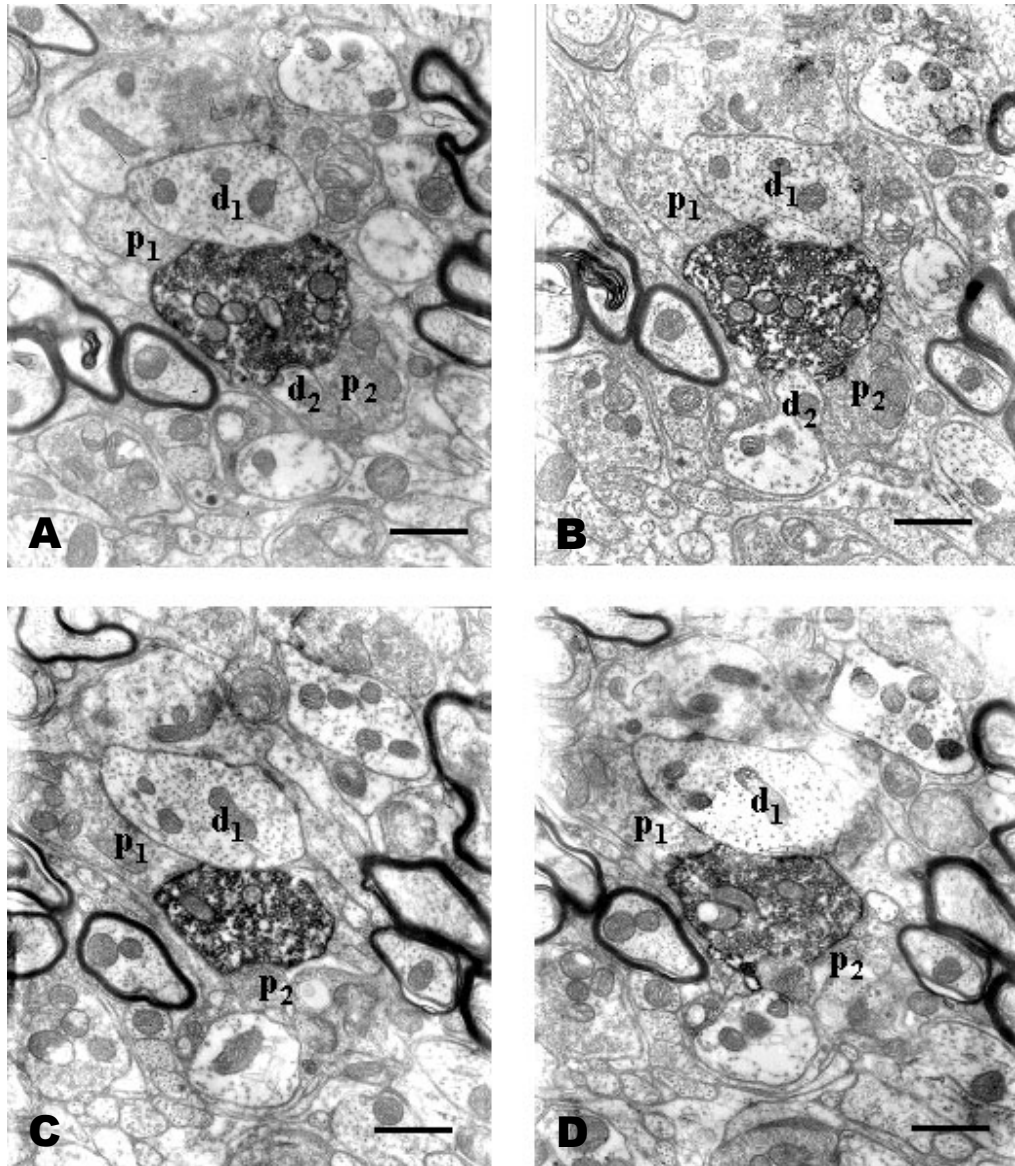


Fig 6. Electron micrographs of intermediate synaptic organization. HRP-labeled boutons from a vibrissa afferent in Vi are taken from a set of serial sections. A labeled bouton is presynaptic to two dendritic shafts(d₁, d₂) and postsynaptic to two endings(p₁, p₂) containing pleomorphic vesicles. P-ending(p₁) is also presynaptic to dendritic shaft(d₁), thus, forming synaptic triad. The sections are approximately 200nm apart from the adjacent sections. Scale bar=500nm.

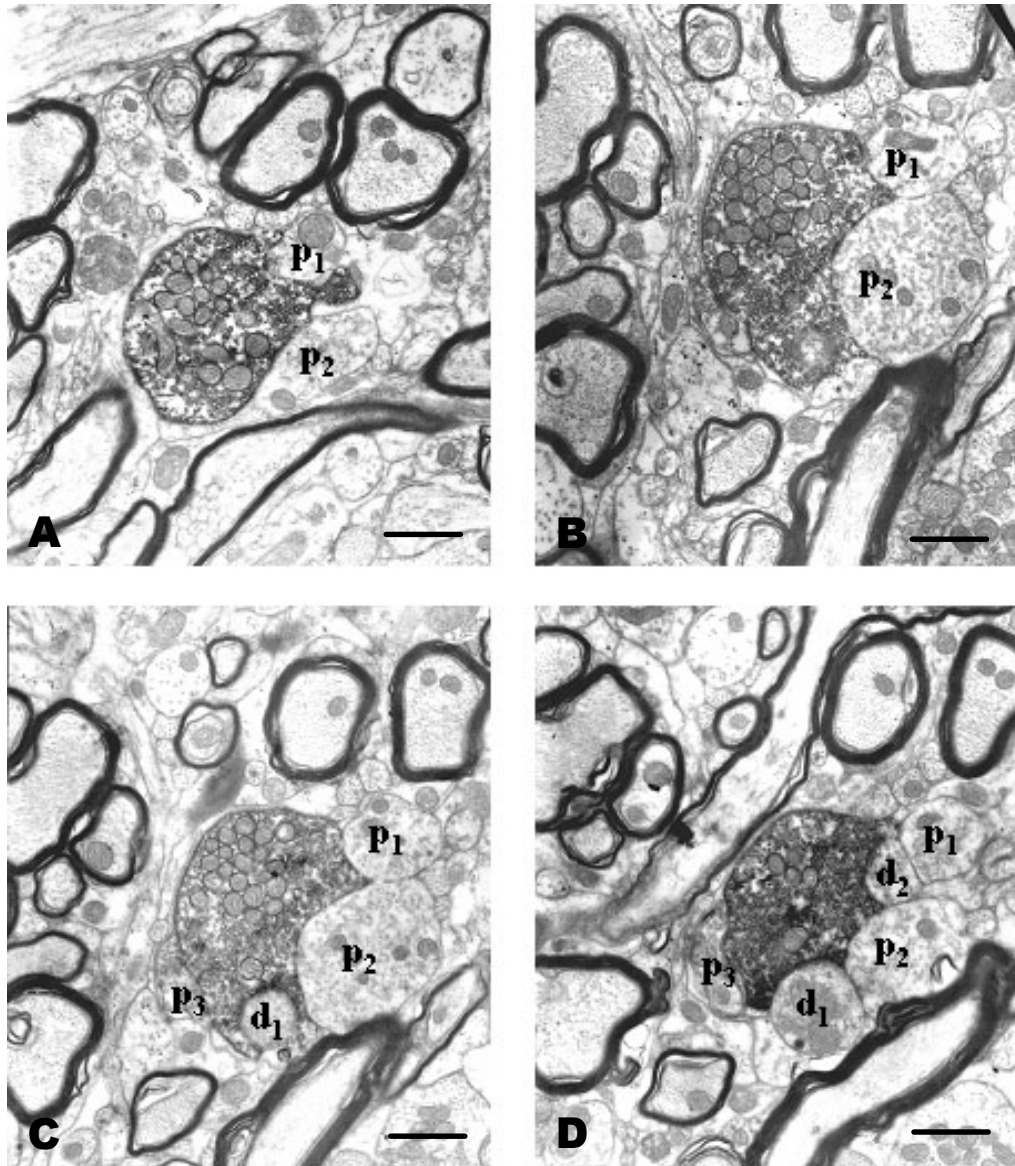


Fig 7. Electron micrographs of complex synaptic organization. HRP-labeled boutons from a vibrissa afferent in Vi are taken from a set of serial sections. A labeled bouton is presynaptic to two dendritic shafts(d_1 , d_2) and postsynaptic to four endings($p_1 \sim p_4$) containing pleomorphic vesicles. P-ending(p_2) is also presynaptic to dendritic shaft(d_1), thus, forming synaptic triad. The sections are approximately 200nm apart from the adjacent sections. Scale bar=500nm.

IV. 고찰

삼차신경감각핵군의 각 아핵에 있어서, 구강 및 악안면 영역에서 유래하는 특정 일차신경섬유의 투사양식, 축삭 종말부의 미세구조 및 연접양상은 일정한 양상을 나타내며, 이러한 양상은 특정 들신경섬유의 전기생리학적인 특성, 말초수용기의 종류, 투사하는 각 아핵의 세포구축학적인 특성 및 기능 등과 밀접한 상관관계가 있다는 것이 많은 연구를 통하여 밝혀지고 있다(Toda와 Hayashi, 1992; Sugimoto 등, 1992; Bae 등, 1993, 1994; Miyoshi 등, 1994). 이러한 연구들은 특정 기능을 가진 신경섬유를 전기생리학적 방법에 의해 기록하고, 그 신경섬유의 단일 축삭 내에 신경추적자인 HRP를 주입하는 기법(Hayashi, 1985a, b; Jacquin 등, 1986; Toda와 Hayashi, 1992; Miyoshi 등, 1994)을 이용하여 가능하게 되었고, 현재도 많은 연구들이 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서는 고양이 콧수염의 저역치기계자극수용기에서 유래하는 신경섬유 내에 HRP를 주입하여, 삼차신경중간핵에서의 신경섬유 종말의 미세구조적 특징, 연접양상, 연접의 발현빈도 등을 분석하였다. 실험에 사용된 고양이 콧수염은 주로 촉각과 방향 감각 등에 관여하는 기계자극수용기로서, 자극에 대한 반응이 빠르고, 신경전달이 신속하고 정확하게 발생하여, 악안면 영역에서 신경전달과 관련된 세포의 미세구조적 특징을 연구하기에 적절한 모델이며, 고양이 콧수염에서 유래한 신경섬유는 주로 A β 범주에 속한다고 알려져 있다(Nakagawa 등, 1997).

또한 본 실험에서 축삭 내에 주입하여 신경추적자로 사용한 HRP는, 1970년대 초 특정 신경회로에서 세포의 기원을 확인할 목적으로 Kristensen 등(1971)과 LaVail 등(1972)에 의해 사용된 이래, 현재도 신경회로의 연구에 있어서 역방향추적자로서 널리 사용되고 있으며, 사용 목적에 따라 세포 내 혹은 축삭 내 주입 시는 일반(free) HRP가 많이 사용되지만, 세포 외 주입법에 의한 신경회로의 추적 시에는 WGA (wheat germ agglutinin) 혹은 콜레라독소(cholera toxin B)와 결합하여 HRP의 확산 방지, 용해소체에 의한 분해감소, 특정 신경말이집(myelin sheath) 수용기와의 선택

적 결합 등에 의해 친화성을 높여서 사용하기도 한다.

일반적으로 WGA는 N-acetyl-D-glucose에, CTB는 GM1 ganglioside에 선택적으로 친화성을 가진다고 알려져 있으며(Ganser 등, 1983; Trojanowski, 1983; Scott 등, 1990), 이러한 차이 때문에 실제로 말초에서 WGA-HRP 및 CTB-HRP는 서로 다른 굵기의 신경섬유에 선택적으로 흡수되는데, CTB-HRP가 직경이 굵은 말이집신경섬유에 주로 잘 흡수되는 반면, WGA-HRP는 직경이 가는 말이집신경섬유(A δ 형)나 혹은 민말이집(unmyelinated)신경섬유(C 형)에 선택적으로 흡수된다(Robertson과 Arvidsson, 1985; Robertson과 Grant, 1985; Weinberg 등, 1990).

본 연구에서 전자현미경적 관찰 결과, 표식종말은 직경 45~55nm의 균일한 형태의 밝고 둥근 모양의 연접소포를 함유하고 있었는데, 이러한 형태는 삼차신경주감각핵에서 관찰되는 고양이 콧수염 유래 신경종말(Nakagawa 등, 1997), 삼차신경주감각핵 및 입쪽핵에서 서순응형 및 속순응형 치주인대 유래 신경종말(Bae 등, 1993, 1994), 삼차신경입쪽핵에서 치수 및 서순응형 입술 유래 신경종말(Sugimoto 등, 1991, 1992), 삼차신경운동핵 및 위삼차신경핵(supratrigeminal nucleus)에서 치주인대 및 깨물근 근육방추 유래 신경종말(Bae 등, 1996), 삼차신경운동핵에서 깨물근 근육방추 유래 신경종말(Luo와 Li, 1991) 등 삼차신경계 내 여러 종류의 신경종말에서 관찰되는 연접소포의 형태와 유사하였다. 또한 척수에서 Ia 근육방추 유래 신경종말(Conladi 등, 1983; Fyffe와 Light, 1984; Maxell 등 1990a; Pierce와 Mendell, 1993), 털주머니(hair follicle) 유래 신경종말(Maxell 등, 1982, 1993; Ralston 등, 1984), 서순응형 및 속순응형 저역치기계자극수용기와 층판소체(Parcinian corpuscle) 유래 신경종말(Semba 등, 1983, 1984, 1985), 속순응형 고양이 발가락 유래 신경종말(Maxell 등, 1984) 등 A β 범주에 속하는 신경섬유와 고역치기계자극수용기(high-threshold mechanoreceptor) 및 솜털(down-hair) 유래 신경종말(Rethyli 등, 1982; Alvarez 등, 1992)과 같은 A δ 범주에 속하는 신경섬유에서의 연구 결과와도 거의 일치하는 양상을 나타내어, 이러한 연접소포의 형태는 기계자극수용기나 근육방추에서 유래하는, A β 범주에 속하는 직경이 큰 말이집신경섬유와 A δ 범주에 속하는 직경이 가는 말이집신경섬유에서 공통적으로 나타나는 특징임을 확인할 수 있었다.

한편 관찰된 표식종말들은 인접한 가지돌기 및 다형의 연접소포를 함유하는 비 표식 축삭종말과 최소 1개에서 최대 15개까지 연접을 형성하고 있었으며, 총 30개의 표식종말에서 총 143개의 연접이 관찰되어 단위 표식종말 당 평균 4.77 ± 3.37 개의 신경구조물과 연접하는 양상을 나타내었다. 또한 표식종말과 연접하는 신경구조물의 수에 따라 1~2개인 군을 simple group, 3~4개인 군을 intermediate group, 5개 이상인 군을 complex group으로 분류하여 비교한 결과, 각각 30.0%(n=9), 23.3%(n=7), 46.7%(n=14)로 관찰되어, 대체적으로 5개 이상의 신경구조물들과 연접을 형성하는 빈도가 높은 복잡한 양상을 나타내었다.

이러한 결과는, 고양이 치주인대에서 유래한 들신경섬유를 대상으로 삼차신경주감각핵과 삼차신경입쪽핵에서의 종말형태 및 연접양상을 조사하여, 축삭-가지돌기 연접 및 연접이전 억제에 관여하는 축삭사이 연접이 모두 입쪽핵에서 보다 주감각핵에서 더 높은 빈도로 관찰되고, 입쪽핵에서는 대부분 단위 표식종말 당 1~2개의 신경구조물만이 연접하는 단순한 연접양상을 보이는 반면, 주감각핵에서는 5개 이상의 신경구조물들과 연접하는 복잡한 연접양상이 관찰되는 빈도가 높다는 것을 보고한 Bae 등(1994)의 연구 결과와 비교하여 보았을 때, 삼차신경주감각핵과는 비슷한 양상을 보였으며, 삼차신경입쪽핵보다는 연접하는 신경구조물의 수가 현저하게 많은 복잡한 연접양상을 나타내었다. 또 주감각핵, 입쪽핵, 꼬리핵 등 삼차신경감각핵군의 각 아핵에서 치수 유래 들신경섬유 종말의 연접양상을 조사하여, 주감각핵에서 입쪽핵이나 꼬리핵보다 연접하는 신경구조물의 수가 많은 더 복잡한 연접양상을 나타내고, 특히 꼬리핵에서는 가지돌기 가시에 연접하는 빈도가 높다는 것을 보고한 최근의 연구(Bae 등, 2003) 결과와 비교하여 보았을 때, 본 연구에서 조사한 삼차신경중간핵이 입쪽핵이나 꼬리핵보다 연접하는 신경구조물의 수가 많은 복잡한 연접양상을 나타내고, 주감각핵과는 비슷한 양상을 나타낸다는 것을 알 수 있었다.

이러한 연접양상의 차이는 삼차신경주감각핵이 주로 반대측 시상으로 투사하여 두 점 식별과 같은 복잡한 신경정보의 전달에 관계(Shigenaga 등, 1973, 1976; Yasui 등, 1983; Yokoda 등, 1985, 1986; Tsuru 등, 1989)하는데 비해, 삼차신경입쪽핵은 삼차신경운동핵으로 투사하여 하악 반사 등 상대적으로 단순한 운동에 관계하는 것과

같은 각 아핵의 기능과 밀접한 관련이 있다(Shigenaga 등, 1988a, b; Yoshida 등, 1994). 따라서 본 연구의 결과에서, 삼차신경중간핵의 연접양상이 삼차신경주감각핵과는 비슷한 양상을 보인 반면 삼차신경입쪽핵보다는 복잡한 양상을 나타내는 사실로 미루어 보아, 삼차신경중간핵 역시 공간지각력, 통각의 정동반응 등 구강 및 악안면 부위의 촉각, 압각 기능의 변별과 같은 다소 복잡한 감각의 처리에 관여한다는 사실을 확인할 수 있었다.

또한 표식종말은 신경세포체와는 전혀 연접을 형성하지 않았는데, 이러한 양상은 감각신경계에서 일차신경 종말이 축삭-세포체 연접을 이루는 경우가 매우 적다고 보고하고 있는 이전의 여러 연구 결과(Egger 등, 1981; Maxwell 등, 1982, 1984; Conradi 등, 1983; Semba 등, 1983, 1984, 1985; Ralston 등, 1984; Renehan 등, 1988; Sugimoto 등, 1991, 1992; Bae 등, 1994)와 일치하였다.

한편, 가지돌기와는 연접 부위가 길고, 연접틈새가 크며, 연접이후 치밀질이 잘 발달되어 있는 비대칭연접을 형성하였으며, 총 55개의 연접을 형성하여 단위 표식종말 당 1.83 ± 1.37 개의 신경연접이 관찰되었다. 가지돌기와 연접을 이루는 표식종말은, 약 85.0%가 세포체와 떨어진 원위부 가지돌기인, 가지돌기체와 연접하였고(총 47개, 단위 표식종말 당 1.57 ± 1.38 개), 골지복합체, 과립세포질세망 및 리보소체를 함유하고 있는 근위부 가지돌기(총 6개, 단위 표식종말 당 0.20 ± 0.41 개)나, 삼차신경꼬리핵에서 많이 관찰된 가지돌기 가시와의 연접(총 2개, 단위 표식종말 당 0.07 ± 0.25 개)은 매우 적은 빈도를 나타내었다.

가지돌기와의 연접에 있어서, 이러한 신경연접이 존재하는 상대적인 위치의 차이는 세포체에 전달되는 흥분성 연접신호의 연접이후 전위(postsynaptic potential)의 특성과 관련이 있는 것으로 보고 되고 있다(Shepherd와 Koch, 1990). 대부분의 신경세포는 세포체 및 가지돌기에서 외부로부터 연접신호를 받는데, 세포체로부터 연접신호가 입력되는 위치의 떨어진 거리 정도에 따라 세포체에서 기록되는 흥분성 연접이후 전위의 진폭 및 소실되는 시간이 각기 다르며, 따라서 연접이후 신경세포의 연접통합(synaptic integration)에 각기 다른 영향을 미친다(Shepherd와 Koch, 1990). 세포체 및 세포체에 인접한 근위부 가지돌기에서 입력되는 흥분성 연접신호는 신경

세포를 빠르고 강력하게 흥분시키며, 세포체에서 진폭이 크고 빨리 소실되는 흥분성
연접이후 전위를 기록하는 반면, 세포체에서 멀리 떨어진 원위부 가지돌기에 연접하
는 축삭종말에 의해 입력되는 연접신호는 세포체에서 진폭이 낮고, 서서히 소실되는
특징을 보이며, 후각겉질(olfactory cortex)의 피라미드세포(pyramidal neuron)에서 처
럼 일부 특정한 감각은 원위부 가지돌기를 통해서만 입력되어 처리된다(Alvarez 등,
1993)고 알려져 있어, 이러한 원위부 가지돌기에 입력되는 신호는 세포체의 활동을
서서히, 약하게 조절하여 정교한 감각정보를 전달하는 것으로 보고 되고 있다
(Shepherd와 Koch, 1990).

선학들의 이전 연구 결과를 보면, 투사하는 신경섬유 및 이를 받아들이는 신경세
포의 종류에 따라 연접부위가 서로 다르게 나타나는 사실을 알 수 있는데, 삼차신경
운동핵에 투사하여 저작력을 증가시키는데 관여하는 근육방추 유래 신경섬유 종말
의 경우 연접이후 신경세포의 세포체나 근위부 가지돌기에 연접신호를 전달하여 폐
구근 운동신경세포를 강력히 흥분시키는데 비해(Conradi 등, 1983; Pierce와
Mendell, 1993; Bae 등, 1996; Yabuta 등, 1996), 삼차신경주감각핵 및 입쪽핵에서 고
양이 콧수염(Nakagawa 등, 1997) 및 치주인대의 저역치기계자극수용기(Bae 등,
1994)에서 유래하는 대부분의 들신경섬유나 위삼차신경핵에서 치주인대 및 깨물근
근육방추 유래 신경섬유 종말(Bae 등, 1996)은 대부분이 연접이후 신경세포의 원위
부 가지돌기와 연접하는 것으로 관찰되어, 주로 복잡한 감각정보의 전달 및 처리에
관여하거나 음식물의 성상 등과 같은 감각정보를 입력받아 치주인대 깨물근 반사를
야기하는 신경섬유는 연접이후 신경세포의 활동을 미세하게, 서서히 조절하는 특
징을 나타내었다.

본 연구에서 관찰한 고양이 콧수염 유래 신경종말도 삼차신경중간핵에서 주로
감각에 관여하는 신경세포들로 투사하므로 세포체 및 근위부 가지돌기와 연접하는
경우가 거의 관찰되지 않은 것으로 사료된다.

한편 일차들신경섬유에 의한 말초 감각정보의 중추 내 전달은 흥분성 신호의 연
접이전 억제에 의해 조절되는데, 이는 형태학적으로 축삭사이 연접을 통해 발생하며
일차들신경섬유 종말부에 함유된 신경전달물질의 분비량에 의해 조절된다고 알려져

있다(Lovik, 1981, 1983; Peng과 Frank, 1989a, b).

본 연구에서도 표식종말이 타원형, 납작한 모양, 둥근 모양 등 여러 가지 형태의 다양한 연접소포를 함유하는 비표식 축삭종말인 p-ending과, 연접이후 치밀질이 뚜렷하게 발달되지 않으며 연접면적이 좁은 대칭연접을 이루고 있는 양상이 관찰되었는데, 총 88개의 연접을 형성하여 단위 표식종말 당 2.93 ± 2.36 개의 연접을 나타내었다. 그리고 이러한 p-ending이 표식종말 및 표식종말에 연접하는 가지돌기와 동시에 연접하여 연접이전-이후 억제 작용에 관여하는 형태인 연접세동이의 양상도 약 60.0%(총 18개)의 표식종말에서 관찰되었으며, 총 34개가 관찰되어 단위 표식종말 당 1.13 ± 1.22 개의 연접을 나타내었다.

p-ending의 발현빈도는 일차돌신경섬유의 종류 및 투사부위에 따라 다르며, 이는 감각정보의 처리 기능과 밀접한 관계가 있다고 알려져 있다. 치주인대의 서순용형 저역치기계자극수용기 유래 신경섬유는 삼차신경입쪽핵보다 삼차신경주감각핵에서 더 많은 연접이전 억제를 나타내었고(Bae 등, 1994), 깨물근의 근육방추 유래 신경섬유도 하악 반사에 직접 관여하는 삼차신경운동핵에서 보다 하악 운동의 조절에 관여하는 위삼차신경핵에서 연접이전 억제의 발현 빈도가 더 높게 관찰되었다(Bae 등, 1996). 또한 치수 유래 신경섬유에 있어서도 복잡한 감각의 처리에 관여하는 삼차신경주감각핵에서, 하악 반사 및 운동에 관여하는 삼차신경입쪽핵이나 동통 전달에 관여하는 삼차신경꼬리핵보다 현저하게 높은 빈도의 연접이전 억제를 나타내었으며, 삼차신경꼬리핵으로 투사되어 통각 정보의 단순전달에 관여하는 C형 섬유는 연접이전 억제를 거의 받지 않는다는 사실이 보고 되었다(Bae 등, 2003). 이러한 연구 결과로 볼 때, 연접이전 억제는 단순한 운동에 관계하기 보다는 공간구별력과 같은 복잡한 감각의 전달과 관계가 있으며, 측방억제(lateral inhibition)를 통해 감각정보를 또렷하게 예민화(sharpening) 시키는데 관여하는 것으로 사료된다.

본 연구에서 관찰한 고양이 콧수염 유래 돌신경섬유 종말의 삼차신경중간핵에서 p-ending과의 연접빈도는, 이전 연구에서 관찰된 삼차신경 입쪽핵이나 꼬리핵에서 보다는 현저하게 높고, 삼차신경주감각핵에서의 결과와 거의 유사하게 나타났는데, 이러한 결과는 연접이전 억제에 의한 삼차신경중간핵의 특징적인 기능과 밀접한 상

관관계가 있는 것으로 생각되었다.

한편 일차들신경섬유 종말부에 함유된 신경전달물질을 동정하기 위해 척수 (Curtis 등, 1959; Willcockson 등, 1884; Todd와 Spike, 1993)와 삼차신경척수핵 및 삼차신경주감각핵(Clements와 Beitz, 1991; Clements 등, 1991; Iliakis 등, 1996; Bae 등, 2000) 등에서 행해진 많은 연구에서, 일차들신경섬유 종말이 glutamate를 신경전달물질로 사용한다는 것이 보고 되었고, 이러한 연구 결과를 바탕으로 현재 대부분의 체성감각은 신경섬유의 직경이나 자극의 종류에 관계없이 일차들신경섬유 종말에서 glutamate를 신경전달물질로 사용한다고 알려져 있다. 따라서 일차들신경섬유에 의한 말초감각의 전달은 신경섬유 종말에서 흥분성 신경전달물질인 glutamate의 분비에 의해 이루어지는데(Maxwell 등, 1990a, b, 1993; Valtschanoff 등, 1992; Broman 등, 1993; De Biasi 등, 1994), 앞에서 언급한 것처럼 p-ending의 연접이전 억제 작용에 의해 신경전달물질의 분비량이 조절됨으로써 감각정보가 변조된다(Lovik, 1981, 1983; Peng과 Frank, 1989a, b). p-ending은 내부에 다양한 형태의 연접소포를 함유하고 있으며, p-ending이 흥분될 때 흥분의 종류 및 정도에 따라 특정 형태의 소포 내 신경전달물질이 방출되어 연접이전 억제 작용이 나타나며, 이러한 억제작용은 선택적으로 국소부위의 특정 표식종말에 매우 복잡하고 섬세하게 작용한다(Lovik, 1981, 1983; Peng과 Frank, 1989a, b).

과거의 여러 연구에서(Maxwell과 Noble, 1987; Maxwell 등, 1990a, b; Todd와 Lochhead, 1990; Alvarez 등, 1992; Bae 등, 1997) 연접이전 종말인 p-ending은 신경전달물질로 GABA를 함유하고 있다는 사실이 보고 되었으며, 또 다른 많은 연구는 연접이전 종말에 GABA뿐만 아니라 glycine, acetylcholine 등 다양한 신경전달물질이 함께 함유되어 있다는 것을 보고하였다(Aronin 등, 1981; Riberio-Da-Silva와 Cuello, 1990; Todd, 1990; Riberio-Da-Silva 등, 1991; Todd 등, 1991; Doyle와 Maxell, 1994; Riberio-Da-Silva, 1995). 최근에도 Dumba 등(1998)이 삼차신경꼬리핵의 연접이전 종말에 GABA와 glycine을 함께 함유하는 종말이 존재한다는 사실을 보고하였고, Shigenaga 등(2000)과 Bae 등(2002)도 깨물근 운동신경 세포체에 연접하는 신경종말에서 GABA와 glycine 혹은 둘 모두를 가지는 신경종말의 분포를 관찰

하여, 억제성 신호전달이 GABA와 glycine 혹은 둘 모두를 매개로 한다는 사실을 밝혀냄으로써 인해, 현재 GABA와 glycine은 대표적인 억제성 아미노산 신경전달물질로 알려져 있다.

본 연구에서도 표식종말과 축삭사이연접을 이루는 p-ending에 GABA와 glycine 혹은 둘 모두가 함유되어 있을 것으로 생각되며 이들에 의해 연접이전 억제가 이루어질 것으로 추정되나, 향후 면역조직화학적 연구를 시행함으로써 이러한 사실을 명확히 밝힐 필요성이 있다고 사료된다.

한편 신경섬유종말에 의해 분비되는 신경전달물질의 양은 종말 내의 미세구조적 요소와 밀접한 상관관계가 있다고 보고 되고 있으며(Herrera 등, 1985a, b; Desmond와 Levy, 1986a, b, 1988; Propst와 Ko, 1987; Bailey와 Chen, 1989), Pierce와 Mendell(1993)은 신경종말의 분포와 구성에 있어서 신경전달물질의 분비와 관련이 있는 인접부위의 면적(apposed surface area), 연접세포의 수, 사립체의 부피(mitochondrial volume), 활성부위(active zone)의 수와 면적 등이 신경종말의 부피와 직접적으로 관련을 가진다고 하는 '크기의 원리(size principle)'를 발표하였다.

따라서 특정 기능을 수행하는 신경회로에 있어서, 특정 수용기에서 유래하는 신경섬유종말에 대해 미세구조적 특징 및 연접양식 등과 더불어 신경전달물질의 분비량과 직접적인 상관관계가 있는 신경종말의 각 미세구조적 요소들에 대한 정량적 분석을 수행한다면 말초 감각정보가 중추 내의 일차연접핵에서 처리되는 기전을 이해하는데 더욱 도움이 되리라 생각되며, 향후 이러한 신경종말에 대한 형태학적 및 정량적인 분석도 필요하리라 사료된다.

이상의 연구 결과를 종합하여 보면, 고양이 콧수염에서 유래하여 삼차신경중간핵으로 투사하는 들신경섬유 종말은 삼차신경중간핵에서 억제적으로 작용하는 여러 개의 p-ending과 연접하는 특징적인 연접양상을 나타내었으며, 이는 감각정보의 분별, 통각의 정동반응 등 복잡한 감각정보의 처리에 관여하는 삼차신경중간핵의 기능과 밀접한 상관관계가 있는 것으로 생각되며, 향후 신경종말의 미세구조에 대한 정량적인 분석과 연접이전 억제에 관여하는 신경전달물질의 동정 등 생리학적인 기능에 대한 더욱 정확한 이해가 필요하리라고 사료된다.

V. 결 론

구강 및 악안면 영역에서 유래하는 저역치기계자극이 삼차신경계의 일차연접부 위에서 조절되는 기전을 밝히고자, 고양이 콧수염의 저역치기계자극수용기에서 유래하는 A β 범주에 속하는 신경섬유를 사용하여 단일축삭 내 기록법에 의해 HRP를 표식한 후, 표식종말에 대한 연속절편을 형성하였다. 총 30개의 표식 신경종말을 대상으로 전자현미경을 이용하여 삼차신경감각핵군의 각 아핵 중 삼차신경중간핵에서의 신경섬유 종말 및 연접이전축삭종말의 미세구조적 특징, 발현빈도, 연접양상 등을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 표식종말은 직경 45~55nm의 균일한 형태의 밝고 둥근 모양의 연접소포를 함유하고 있었으며, 가지돌기와는 연접이후 치밀질이 잘 발달되어 있고, 연접틈새가 크며, 여러 곳에서 넓은 연접구조를 보이는 비대칭연접을, 다형의 연접소포를 함유하는 비표식 축삭종말과는 연접이후 치밀질이 뚜렷하게 발달되지 않으며, 연접면적이 좁은 대칭연접을 형성하였다.
2. 각 표식종말은 인접한 신경구조물들과 최소 1개에서부터 최대 15개까지 신경연접을 형성하여 단위 표식종말 당 평균 4.77 ± 3.37 개의 신경연접이 관찰되었으며, 5개 이상의 신경구조물들과 연접을 형성하는 비교적 복잡한 연접양상이 다수의 표식종말(46.7%, n=14)에서 관찰되었다.
3. 표식종말이 세포체와 직접 연접하는 양상은 관찰되지 않았으며, 가지돌기와는 단위 표식종말 당 1.83 ± 1.37 개의 연접을 형성하였다. 가지돌기와 연접을 이루는 표식종말의 대부분(85.0%)은 원위부 가지돌기인 가지돌기체와 연접을 이루었으며 (n=47, $1.57 \pm 1.38/1$ bouton), 근위부 가지돌기(n=6, $0.20 \pm 0.41/1$ bouton)나 가지돌기 가지(n=2, $0.07 \pm 0.25/1$ bouton)와 연접을 이루는 경우는 드물었다.

4. 표식종말의 76.7%(n=23)에서 다양한 형태의 연접소포를 함유하는 축삭종말인 p-ending과 축삭사이연접을 형성하였으며($2.93 \pm 2.36/1$ bouton), p-ending이 표식종말 및 이에 연접하는 가지돌기와 동시에 연접을 형성하는 연접세동어도 60.0%(n=18)에서 관찰되었다.

이상의 결과를 종합하여 보았을 때, 고양이 콧수염에서 유래하여 삼차신경중간핵으로 투사하는 들신경섬유 종말은 삼차신경중간핵에서 억제적으로 작용하는 여러 개의 p-ending과 연접하는 특징적인 연접양상을 나타내었으며, 이는 감각정보의 분별, 통각의 정동반응 등 복잡한 감각정보의 처리에 관여하는 삼차신경중간핵의 기능과 밀접한 상관관계가 있는 것으로 생각되며, 향후 신경종말의 미세구조에 대한 정량적인 분석과 연접이전 억제에 관여하는 신경전달물질의 동정 등 생리학적인 기능에 대한 더욱 광범위한 연구가 필요하리라고 사료된다.

참 고 문 헌

Adams JC: Technical considerations on the use of horseradish peroxidase as a neuronal marker. *Neurosci* 2: 141-145, 1977.

Alvarez FJ, Kavookjian AM, Light AR: Synaptic interactions between GABA-immunoreactive profiles and the terminals of functionally defined myelinated nociceptors in the monkey and cat spinal cord. *J Neurosci* 12: 2901-2917, 1992.

Alvarez FJ, Kavookjian AM, Light AR: Ultrastructural morphology, synaptic relationships, and CGRP immunoreactivity of physiologically identified C-fiber terminals in the monkey spinal cord. *J Comp Neurol* 329: 472-490, 1993.

Aronin N, DiFiglia M, Liotta AS, Martin JB: Ultrastructural localization and biochemical features of immunoreactive LEU-enkephalin in monkey dorsal horn. *J Neurosci* 1: 561-577, 1981.

Azerad JA, Woda D, Fessard A: Physiological properties of neurons in different parts of the cat trigeminal sensory complex. *Brain Res* 246: 7-21, 1982.

Bae YC, Choi BJ, Lee MG, Lee HJ, Park KP, Zhang LF, Honma S, Fukami H, Yoshida A, Ottersen OP, Shigenaga Y: Quantitative ultrastructural analysis of glycine- and γ -aminobutyric acid-immunoreactive terminals on trigeminal α - and γ -motoneuron somata in the rat. *J Comp Neurol* 442: 308-319, 2002.

Bae YC, Ihn HJ, Park MJ, Ottersen OP, Moritani M, Yoshida A, Shigenaga Y : Identification of signal substances in synapses made between primary afferents and their associated axon terminals in the rat trigeminal sensory nuclei. *J Comp Neurol* 418: 299-309, 2000.

Bae YC, Kim JP, Choi BJ, Park KP, Choi MK, Moritani M, Yoshida A, Shigenaga Y: Synaptic organization of tooth pulp afferent terminals in the rat trigeminal sensory nuclei. *J Comp Neurol* 463: 13-24, 2003.

Bae YC, Nakagawa S, Yasuda K, Yabuta NH, Yoshida A, Pil PK, Moritani M, Chen K, Nagase Y, Takemura M, Shigenaga Y: Electron microscopic observation of synaptic connections of jaw-muscle spindle and periodontal afferent terminals in the trigeminal motor and supratrigeminal nuclei in the cat. *J Comp Neurol* 374: 421-435, 1996.

Bae YC, Nakagawa S, Yoshida A, Nagase Y, Takemura M, Shigenaga Y: Morphology and synaptic connections of slowly adapting periodontal afferent terminals in the trigeminal subnuclei principalis and oralis of the cat. *J Comp Neurol* 348: 121-132, 1994.

Bae YC, Nagase Y, Yoshida A, Shigenaga Y, Sugimoto T: Synaptic connections of a periodontal primary afferent neuron within the subnucleus oralis of the cat. *Brain Res* 606: 175-179, 1993.

Bae YC, Park KP, Yoshida A, Nakagawa S, Kurata S, Chen K, Takemura M, Shigenaga Y: Identification of γ -aminobutyric acid-immunoreactive axon endings associated with mesencephalic periodontal afferent terminals and morphometry of

the two types of terminals in the cat supratrigeminal nucleus. *J Comp Neurol* 389: 127-138, 1997.

Bailey CH, Chen M: Time course of structural changes at identified sensory neuron synapses during long-term sensitization in *Aplysia*. *J Neurosci* 9: 1774-1780, 1989.

Broman J, Anderson S, Ottersen OP: Enrichment of glutamate-like immunoreactivity in primary afferent terminals throughout the spinal cord dorsal horn. *Eur J Neurosci* 5: 1050-1061, 1993.

Clements JR, Beitz AJ: An electron microscopic description of glutamate-like immunoreactive axon terminals in the rat principal sensory and spinal trigeminal nuclei. *J Comp Neurol* 309: 271-280, 1991.

Conradi S, Cullheim S, Gollvik L, Kellerth JO: Electron microscopic observations on the synaptic contacts of group Ia muscle spindle afferents in the cat lumbosacral spinal cord. *Brain Res* 265: 31-39, 1983.

Curtis DR, Phillis JW, Watkins JC: Chemical excitation of spinal neurons. *Nature* 183: 611-612, 1959.

De Biasi S, Vitellaro-Zuccarello L, Bernardi P, Valtschanoff JG, Weinberf RJ: Ultrastructural and immunocytochemical characterization of primary afferent terminals in the rat cuneate nucleus. *J Comp Neurol* 37: 275-287, 1994.

Desmond NL, Levy WB: Changes in the numerical density of synaptic contacts with long-term potentiation in the hippocampal dentate gyrus. *J Comp Neurol*, 253: 466-475, 1986a.

Desmond NL, Levy WB: Changes in the postsynaptic density with long-term potentiation in the dentate gyrus. *J Comp Neurol* 253: 476-482, 1986b.

Desmond NL, Levy WB: Synaptic interface surface area increases with long-term potentiation in the hippocampal dentate gyrus. *Brain Res* 453: 308-314, 1988.

Doyle Ca, Maxwell DJ: Light- and electron-microscopic analysis of neuropeptide Y-immunoreactive profiles in the cat spinal dorsal horn. *Neurosci* 61: 107-121, 1994.

Dumba JS, Irish PS, Anderson NL, Westrum LE: Electron microscopic analysis of gamma-aminobutyric acid and glycine colocalization in rat trigeminal subnucleus caudalis. *Brain Res* 806: 16-25, 1998.

Egger MD, Freeman NC, Malamed S, Masarachia P, Proshansky E: Electron microscopic observations of terminals of functionally identified afferent fibers in cat spinal cord. *Brain Res* 207: 157-162, 1981.

Fyffe RE, Light AR: The ultrastructure of group Ia afferent fiber synapses in the lumbosacral spinal core of the cat. *Brain Res* 300: 201-209, 1984.

Ganser AL, Kirschner DA, Willinger M: Ganglioside localization on myelinated nerve fibres by cholera toxin binding. *J Neurocytol* 12: 921-938, 1983.

Hayashi H: Morphology of central terminations of intraaxonally stained, large, myelinated primary afferent fibers from facial skin in the rat. *J Comp Neurol* 237: 195-215, 1985a.

Hayashi H: Morphology of terminations of small and large myelinated trigeminal afferent fibers in the cat. *J Comp Neurol* 240: 71-89, 1985b.

Hayashi H, Sumino R, Sessle BJ: Functional organization of trigeminal subnucleus interpolaris: Nociceptive and innocuous afferent inputs, projections to thalamus, cerebellum, and spinal cord, and descending modulation from periaqueductal gray. *J Neurophysiol* 51: 890-906, 1984.

Herrera AA, Grinnell AD, Wolowske B: Ultrastructural correlates of naturally occurring differences in transmitter release efficacy in frog motor nerve terminals. *J Neurocytol* 14: 193-202, 1985a.

Herrera AA, Grinnell AD, Wolowske B: Ultrastructural correlates of experimentally altered transmitter release efficacy in frog motor nerve terminals. *Neurosci* 16: 491-500, 1985b.

Iliakis B, Anderson NL, Irish PS, Henry MA, Westrum LE: Electron microscopy of immunoreactivity patterns for glutamate and gamma-aminobutyric acid in synaptic glomeruli of the feline spinal trigeminal nucleus (Subnucleus Caudalis). *J Comp Neurol* 366: 465-477, 1996.

Jacquin MF, Barcia M, Rhoades RW: Structure-function relationships in rat brainstem subnucleus interpolaris: IV. Projection neurons. *J Comp Neurol* 282: 45-62, 1989b.

Jacquin MF, Golden J, Rhoades RW: Structure-function relationships in rat brainstem subnucleus interpolaris: III. Local circuit neurons. *J Comp Neurol* 282: 24-44, 1989a.

Jacquin MF, Rhoades RW: Cell structure and response properties in the trigeminal subnucleus oralis. *Somatosens. Mot. Res* 7: 265-288, 1990.

Jacquin MF, Stennett RA, Renehan WE, Rhoades RW: Structure-function relationships in rat brainstem subnucleus interpolaris: II. Low and high threshold trigeminal primary afferents. *J Comp Neurol* 267: 107-130, 1988.

Jacquin MF, Woerner D, Szczepanik AM, Riecker V, Mooney RD, Rhoades RW : Structure-function relationships in rat brainstem subnucleus interpolaris: I. Vibrissa primary afferents. *J Comp Neurol* 243: 266-279, 1986.

Kiernan JA: Barr's the human nervous system. An anatomical viewpoint. 7th ed. 1998, pp. 157-162, Lippincott-Raven, Philadelphia.

Kristensen K, Olsson Y, Sjöstrand J: Axonal uptake and retrograde transport of exogenous proteins in the hypoglossal nerve. *Brain Res* 32: 399-406, 1971.

La Vail JH, La Vail MM: Retrograde axonal transport in the central nervous system. *Science* 176: 1416-1417, 1972.

Lovick TA: Primary afferent depolarization of tooth pulp afferents by simulation in nucleus raphe magnus and the adjacent reticular formation in the cat: effect of bicuculine. *Neurosci. Lett* 25: 173-178, 1981.

Lovick, TA: The role of 5-HT, GABA and opioid peptides in presynaptic inhibition of tooth pulp input from the medial brainstem. *Brain Res* 289: 135- 142, 1983.

Luo PF, Li JS: Monosynaptic connections between neurons of trigeminal mesencephalic nucleus and jaw-closing motoneurons in the rat: an intracellular horseradish peroxidase labelling study. *Brain Res* 559: 267-275, 1991.

Maxwell DJ, Bannatyne BA, Fyffe RE, Brown AG: Ultrastructure of hair follicle afferent fiber terminations in the spinal cord of the cat. *J Neurocytol* 11: 571-582, 1982.

Maxwell DJ, Bannatyne BA, Fyffe RE, Brown AG: Fine structure of primary afferent axon terminals projecting from rapidly adapting mechanoreceptors of the toe and foot pads of the cat. *Q J Exp Physiol* 69: 381-392, 1984.

Maxwell DJ, Christie WM, Ottersen OP, Storm-Mathisen J: Terminals of group Ia primary afferent fibers in Clarke's column are enriched with L-glutamate-like immunoreactivity. *Brain Res* 510: 346-350, 1990a.

Maxwell DJ, Christie WM, Short AD, Brown AG: Direct observation of synapses between GABA-immunoreactive boutons and muscle afferent terminals in lamina VI of the cat's spinal cord. *Brain Res* 530: 215-222, 1990b.

Maxwell DJ, Christie WM, Brown AG, Ottersen OP, Storm-Mathisen J: Identified hair follicle afferent boutons in the spinal cord of the cat are enriched with L-glutamate-like immunoreactivity. *Brain Res* 606: 156-161, 1993.

Maxwell DJ, Noble R: Relationships between hair-follicle afferent terminations and glutamate acid-decarboxylase-containing boutons in the cat's spinal cord. *Brain Res* 408: 308-312, 1987.

Miyoshi Y, Suemune S, Yoshida A, Takemura M, Nagase Y, Shigenaga Y: Central terminations of low-threshold mechanoreceptive afferents in the trigeminal nuclei interpolaris and caudalis of the cat. *J Comp Neurol* 340: 207-232, 1994.

Moritani M, Yoshida A, Honma S, Nagase Y, Takemura M, Shigenaga Y: Morphological differences between fast and slowly adapting lingual afferent terminations in the principal and oral nuclei in the cat. *J Comp Neurol* 396: 64-83, 1998.

Nakagawa S, Kurata S, Yoshida A, Nagase Y, Moritani M, Takemura M, Bae YC, Shigenaga Y: Ultrastructural observations of synaptic connections of vibrissa afferent terminals in cat principal sensory nucleus and morphometry of related synaptic elements. *J Comp Neurol* 389: 12-33, 1997.

Nicolas LC, Paul RH, Mitsuteru H, Robert WR: Morphological characteristics of low threshold primary afferents in the trigeminal subnuclei interpolaris and caudalis (the medullary dorsal horn) of the golden hamster. *J Comp Neurol* 264: 527-546, 1987.

Oakden EL, Boissonade FM: Fos expression in the ferret trigeminal nuclear complex following tooth pulp stimulation. *Neurosci* 84: 1197-1208, 1998.

Olszewski J: On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. *J Comp Neurol* 92: 401-413, 1950.

Peng YY, Frank E: Activation of GABA_B receptors causes presynaptic inhibition at synapses between muscle spindle afferents and motoneurons in the spinal cord of bullfrogs. *J Neurosci* 9: 1502-1515, 1989a.

Peng YY, Frank E: Activation of GABA_A receptors causes presynaptic and postsynaptic inhibition at synapses between muscle spindle afferents and motoneurons in the spinal cord of bullfrogs. *J Neurosci* 9: 1516-1522, 1989b.

Pierce JP, Mendell LM: Quantitative ultrastructure of Ia boutons in the ventral horn: scaling and positional relationships. *J Neurosci* 13: 4748-4763, 1993.

Propst JW, Ko CP: Correlations between active zone ultrastructure and synaptic function studied with freeze-fracture of physiologically identified neuromuscular junctions. *J Neurosci* 7: 3654-3664, 1987.

Ralston HJ III, Light AR, Ralston DD, Perl ER: Morphology and synaptic relationships of physiologically identified low-threshold dorsal root axons stained with intra-axonal horseradish peroxidase in the cat and monkey. *J Neurophysiol* 51: 777-792, 1984.

Renehan WE, Stansel SS, McCall RD, Rhoads RW, Jacquin MF: An electron microscopic analysis of the morphology and connectivity of individual HRP-labeled slowly adapting vibrissa primary afferents in the adult rat. *Brain Res* 462: 396-400, 1988.

Rethyli M, Light AR, Perl ER: Synaptic complexes formed by functionally defined primary afferent units with myelinated fibers. *J Comp Neurol* 207: 381 -393, 1982.

Ribeiro-Da-Silva A: Substantia gelatinosa of spinal cord. In *The Rat Nervous System*. Paxinos G. eds., 2nd ed. 1995. pp. 47-59, Academic Press, London.

Ribeiro-Da-Silva A, Cuello AC: Choline acetyltransferase-immunoreactive profiles are presynaptic to primary sensory fibers in the rat superficial dorsal horn. *J Comp Neurol* 295: 370-384, 1990.

Ribeiro-Da-Silva A, Pioro EP, Cuello AC: Substance P- and enkephalin-like immunoreactivities are colocalized in certain neurons of the substantia gelatinosa of the rat spinal cord: an ultrastructural double-labeling study. *J Neurosci* 11: 1068-1080, 1991.

Robertson B, Arvidsson J: Transganglionic transport of wheat germ agglutinin-HRP and cholera toxin B-subunit-HRP in rat trigeminal primary sensory neurons. *Brain Res* 348: 44-51, 1985.

Robertson B, Grant G: A comparison between wheat germ agglutinin- and cholera toxin B-subunit-horseradish peroxidase as anterogradely transported markers in central branches of primary sensory neurones in the rat with some observations in the cat. *Neurosci* 14: 895-905, 1985.

Scott SA, Patel N, Levine JM: Lectin binding identifies a subpopulation of neurons in chick dorsal root ganglia. *J Neurosci* 10: 336-345, 1990.

Semba L, Masarachia P, Malamed S, Jacquin M, Harris S, Egger MD: Ultrastructure of Pacinian corpuscle primary afferent terminals in the cat spinal cord. *Brain Res* 302: 135-150, 1984.

Semba L, Masarachia P, Malamed S, Jacquin M, Harris S, Yang G, Egger MD: An electron microscopic study of primary afferent terminals from slowly adapting type I receptors in the cat. *J Comp Neurol* 221: 466-481, 1983.

Semba L, Masarachia P, Malamed S, Jacquin M, Harris S, Yang G, Egger MD: An electron microscopic study of terminals of rapidly adapting mechanoreceptive afferent fibers in the spinal cord. *J Comp Neurol* 232: 229- 240, 1985.

Shepherd GM, Koch C: Appendix. Dendritic electrotonus and synaptic integration. In *The Synaptic organization of the brain*. Shepherd GM, ed, 1990, pp. 439-473, Oxford univ. press, 3rd edition, New York.

Shigenaga Y, Doe K, Suemune S, Mitsuhiro Y, Tsuru K, Otani K, Shirana Y, Hosoi M, Yoshida A, Kagawa K: Physiological and morphological characteristics of periodontal mesencephalic trigeminal neurons in the cat: intra-axonal staining with HRP. *Brain Res* 505: 91-110, 1989.

Shigenaga Y, Hirose Y, Yosida A, Fukami H, Honma S, Bae YC: Quantitative ultrastructure of physiologically identified premotoneuron terminals in the trigeminal motor nucleus in the cat. *J Comp Neurol* 426: 13-30, 2000.

Shigenaga Y, Inoki R: Effects of morphine and barbiturate on the S I and S II potentials evoked by tooth pulp stimulation of rats. *Eur J Pharmacol* 36: 347-353, 1976.

Shigenaga Y, Matano S, Okada K, Sakai A: The effects of tooth pulp stimulation in the thalamus and hypothalamus of the rat. *Brain Res* 63: 402-407, 1973.

Shigenaga Y, Mitsuhiro Y, Shirana Y, Tsuru H: Two types of jaw-muscle spindle afferents in the cats as demonstrated by intra-axonal staining with HRP. *Brain Res* 514: 219-237, 1990a.

Shigenaga Y, Mitsuhiro Y, Yoshida A, Cao CQ, Tsuru H: Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating masseter muscle of the cat. *Brain Res* 445: 392-399, 1988b.

Shigenaga Y, Nakatani Z, Nishimori T, Suemune S, Kuroda R, Matano S: The cells of origin of cat trigeminothalamic projections: especially in the caudal medulla. *Brain Res* 277: 201-222, 1983.

Shigenaga Y, Otani K, Suemune S: Morphology of central terminations of low-threshold trigeminal primary afferents from facial skin in the cat: Intra-axonal staining with HRP. *Brain Res* 523: 23-50, 1990b.

Shigenaga Y, Suemune S, Nishimura M, Nishimori T, Sato H, Ishidori H, Yoshida A, Tsuru K, Tsuiki Y, Dateoka Y, Nasution ID, Hosoi M: Topographic representation of lower and upper teeth within the trigeminal sensory nuclei of adult cat as demonstrated by the transganglionic transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 251: 299-316, 1986.

Shigenaga Y, Yoshida A, Mitsuhiro Y, Doe K, Suemune S: Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating periodontal ligament of the cat. *Brain Res* 448: 331-338, 1988c.

Shigenaga Y, Yoshida A, Mitsuhiro Y, Tsuru K, Doe K: Morphological and functional properties of trigeminal nucleus oralis neurons projecting to the trigeminal motor nucleus of the cat. *Brain Res* 416: 143-149, 1988a.

Sugimoto T, Bae YC, Nagase Y, Shigenaga Y: Central terminal morphology of a primary afferent neuron innervating the feline tooth pulp. In *Processing and Inhibition of Nociceptive Information*. Inoki R, Shigenaga Y, Tohyama M, eds., 1992, pp. 23-28, Elsevier Science Publisher B. V., International Congress Series 989, Amsterdam.

Sugimoto T, He YF, Funahashi M, Ichikawa H: Induction of immediate-early genes *c-fos* and *zif268* in the subnucleus oralis by noxious tooth pulp stimulation. *Brain Res* 794: 353-358, 1998b.

Sugimoto T, He YF, Xiao C, Ichikawa H: *C-fos* induction in the subnucleus oralis following trigeminal nerve stimulation. *Brain Res* 783: 158-162, 1998a.

Sugimoto T, Nagase Y, Nishiguchi T, Kitamura S, Shigenaga Y: Synaptic connections of a low-threshold mechanoreceptive primary neuron within the trigeminal subnucleus oralis. *Brain Res* 548: 338-342, 1991.

Todd AJ: An electron microscope study of glycine-like immunoreactivity in laminae I-III of the spinal dorsal horn of the rat. *Neurosci* 39: 387-394, 1990.

Tode T, Hayashi H: Morphology of central terminations of intraaxonally stained, low-threshold mechanoreceptive primary afferent fibers from oral mucosa and periodontium in the rat. *Brain Res* 592: 261-272, 1992.

Todd AJ, Lochhead V: GABA-like immunoreactivity in type I glomeruli of rat substantia gelatinosa. *Brain Res* 514: 171-174, 1990.

Todd AJ, Maxwell DJ, Brown AG: Relationships between hair-follicle afferent axons and glycine-immunoreactive profiles in cat spinal dorsal horn. *Brain Res* 564: 132-137, 1991.

Todd AJ, Spike RC: The localization of classical transmitters and neuropeptides within neurons in laminae I-III of the mammalian spinal dorsal horn. *Prog Neurobiol* 41: 609-645, 1993.

Trojanowski JQ: Time of arrival of wheat germ agglutinin-HRP conjugates in superior colliculus after intraocular injections in the rat. *Brain Res* 267: 365-370, 1983.

Tsuru K, Otani K, Kajiyama K, Suemune S, Shigenaga Y: Central terminations of periodontal mechanoreceptive and tooth pulp afferents in the trigeminal principal and oral nuclei of the cat. *Brain Res* 485: 29-61, 1989.

Valtschanoff JG, Weinberg RJ, Rustioni A: Peripheral injury and anterograde transport of WGA-HRP to the spinal cord. *Neurosci* 50: 685-696, 1992.

Weinberg RJ, Tracey DJ, Rustioni A: Extracellular labeling of unmyelinated dorsal root terminals after WGA-HRP injections in spinal ganglia. *Brain Res* 523 : 351-355, 1990.

Willcockson WS, Chung JM, Hori Y, Lee KH, Willis WD: Effects of iontophoretically released amino acids and amines on primate spinothalamic tract cells. *J Neurosci* 4: 732-740, 1984.

Yabuta NH, Yasuda K, Nagase Y, Yoshida A, Fukunishi Y, Shigenaga Y: Light microscopic observations of the contacts made between two spindle afferent types and α -motoneurons in the cat trigeminal motor nucleus. *J Comp Neurol* 374: 436-450, 1996.

Yasui Y, Itoh K, Mizuno N, Nomura S, Takada M, Konishi A, Kudo M: The posteromedial ventral nucleus of the thalamus(VPM) of the cat: Direct ascending projections to the cytoarchitectonic subdivisions. *J Comp Neurol* 220 : 219-228, 1983.

Yokota T, Koyama N, Matsumoto N: Somatotopic distribution of trigeminal nociceptive neurons in ventrobasal complex of cat thalamus. *J Neurophysiol* 53 : 1387-1400, 1985.

Yokota T, Nishikawa Y, Koyama N: Tooth pulp input to the shell region of nucleus ventralis posteromedialis of the cat thalamus. *J Neurophysiol* 56: 80-98, 1986.

Yoshida A, Hasuda K, Dostrovsky JO, Bae YC, Takemura M, Shigenaga Y, Sessle BJ: Two major types of premotoneurons in the feline trigeminal nucleus oralis neurons as demonstrated by intracellular staining with HRP. *J Comp Neurol* 347: 495-514, 1994.

Zhang LF, Moritani M., Honma S, Yoshida A, Shigenaga Y: Quantitative ultrastructure of slowly adapting lingual afferent terminals in the principal and oral nuclei in the cat. *Synapse* 41: 96-111, 2001.

Abstract

Synaptic organization of vibrissa afferent terminals in the trigeminal interpolar nucleus

Hyoung-Joon Ahn

Department of Dental Science

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Prof. **Chong-Youl Kim**, D.D.S., M.S.D., Ph. D.)

In order to evaluate the mechanism of transmission as well as processing of sensory information originating from low-threshold mechanoreceptor in oral and maxillofacial region at primary synaptic region of trigeminal nervous system, vibrissa afferent fibers of adult cat were labeled with intra-axonal HRP injection. Serial sections containing labeled boutons were obtained from the piece of trigeminal interpolar nucleus. Under electron microscope, total 30 labeled boutons were observed, and ultrastructural characteristics, frequency of occurrence, synaptic organizations of vibrissa afferent terminals were analysed. The results were as follows:

1. Labeled boutons contained clear, spherical synaptic vesicles with diameter of 45~55nm. They formed asymmetrical synapse with dendrites showing definite postsynaptic density, larger synaptic cleft, multiple synaptic structures at

various regions. With unlabeled axon terminals(p-ending) containing polymorphic synaptic vesicles, they formed symmetrical synapse showing indefinite postsynaptic density and narrower synaptic area.

2. Each labeled bouton formed 1 to 15 synapses, the average of 4.77 ± 3.37 contacts per labeled bouton, with adjacent neuronal profiles. Relatively complex synaptic organization, which formed synapses with more than 5 neuronal profiles, was observed in a large number(46.7%, n=14) of labeled boutons.
3. Axo-somatic synapse was not observed. The number of axo-dendritic synapse was 1.83 ± 1.37 per labeled bouton. Majority(85.0%) of axo-dendritic synapses were formed with dendritic shafts, nonprimary dendrites(n=47, $1.57 \pm 1.38/1$ bouton), however, synapses formed with primary dendrites(n=6, $0.20 \pm 0.41/1$ bouton) or dendritic spines(n=2, $0.07 \pm 0.25/1$ bouton) were rare.
4. 76.7%(n=23) of labeled boutons formed axo-axonic synapse ($2.93 \pm 2.36/1$ bouton) with p-endings containing pleomorphic vesicles. Synaptic triad, in which p-endings formed synapses with labeled boutons and dendrites adjacent to the labeled boutons simultaneously, were also observed in 60.0%(n=18) of labeled boutons.

From the above results, vibrissa afferent terminals of adult cat showed distinctive synaptic organization in the trigeminal interpolar nucleus, thus, suggests their correlation with the function of the trigeminal interpolaris nucleus, which participates in processing of complex sensory information such as two-point discrimination and motivational-affective action. Further studies on

physiologic functions such as quantitative analysis on ultrastructures of afferent terminals and nerve transmitters participating in presynaptic inhibition are required.

Keywords : vibrissa, trigeminal interpolar nucleus, synapse, dendrites, p-ending