

흰쥐의 두힘살근 운동신경세포의 발달과정에 관한 형태학적 분석

김재현, 박미화, 백상규*, 마수경*, 백상흠, 차두원

대구파티마병원 구강악안면외과

* 경북대학교 치과대학 구강해부학교실

Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Daegu Fatima Hospital

* Department of Oral Anatomy and Neurobiology, School of Dentistry,
Kyungpook National University

**Morphological Analysis of Developmental Changes in Soma Area of Digastric Motoneurons
in the Rat Trigeminal Motor Nuclei**

**Jae-Hyun KIM, Mi-Hwa PARK, Sang-Kyoo PAIK*, Su-Kyung MA*, Sang-Heum BAEK,
Duwon CHA,**

Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Daegu Fatima Hospital

*** Department of Oral Anatomy and Neurobiology, School of Dentistry,
Kyungpook National University**

(Abstract)

To analyze the developmental changes in soma diameters of digastric motoneurons, wheat-germ agglutinin conjugated horseradish peroxidase (WGA-HRP) was injected into the digastric muscle and visualized the retrogradely HRP-labeled motoneurons through tungstate/tetramethylbenzidine (TMB) and following diaminobenzidine (DAB) reactions. The results obtained from Sprague-Dawley rats at postnatal days 1 (P1), 10 (P10) and 30 (P30) indicated as follows: firstly, soma diameters of digastric motoneurons showed unimodal distribution in all postnatal days examined; secondly, the period of P1 to P10 (period 1) showed about 2 times faster growth rate than that of P10 to P30 (period 2); thirdly, the smallest soma examined in each postnatal day exhibited slower growth rate with that of the largest one (increase ratio in soma diameters from P1 to P30, smallest vs. largest = 1.62 : 1.93); Finally, relative growth rates a day showed again that period 1 had faster growth rate than that of period 2. Consequently, developmental changes in soma diameters of digastric motoneurons resulted in very different growth rates between both periods. This implies that the growth of the soma is almost completing within P10 and thereafter growing slowly. The period 1 and 2 are corresponding to sucking and sucking/masticatory period, respectively. Therefore present study providing morphological changes in soma diameters of digastric motoneurons suggests that both periods and their different growth rates of the motoneurons in each period may closely be related with each other.

key word: digastric motoneuron, trigeminal motor nuclei, development

I . 서 론

저작근은 동물이 음식을 섭취함에 있어 중요한 역할을 한다. 이러한 저작근에는 두힘살근(digastric muscle)과 깨물근(masseteric muscle)이 포함되는 데, 두힘살근은 아래턱을 끌어내림으로써 입을 열게 하는 개구운동에 관여하는 근육으로서 앞힘살(anterior digastric muscle)과 뒤힘살(posterior digastric muscle)로 구성되어 있다. 반면 깨물근은 폐구운동에 관여하며, 근육방추(muscle spindle)을 가지고 있다. 두힘살근의 부피는 깨물근보다 작은 것으로 알려져 있으며, 또한 두힘살근 운동신경세포의 수가 깨물근 운동신경세포의 수보다 훨씬 작으며 그 차이가 1:3 비율로 나타난다고 보고된 바 있다.¹⁾ 그리고, 두힘살근에는 깨물근에서와는 달리 근육방추가 없는 것이 특징이다.

일반적으로 포유동물에 있어서, 수유기에서 저작기로의 생후 섭식활동의 전환은 서로 다른 motor pattern을 보인다고 한다. Jaw opening의 경우는 젓빨기 행동의 동력을 제공함으로써 수유기에서 상대적으로 큰 역할을 담당하고 있고, jaw closing은 씹기 행동의 동력을 제공함으로써 저작기에서 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다. 이들 근육의 운동정보는 다리뇌(pons)에 존재하는 삼차운동신경핵으로 투사되고, 그 신경핵에 포함되는 두힘살근 운동신경세포(digastric motoneuron), 깨물근 운동신경세포(masseteric motoneuron) 그리고 중간뇌핵신경세포(mesencephalic neuron) 등에 의해서 제어되고 있다. 따라서 이들 신경세포의 발달에 대한 이해는 섭식활동의 변화를 파악하는 데 필수적이며, 이에 대한 많은 연구결과들은 삼차신경계에 존재하는 운동신경세포의 형태학적 발달 및 변화들을 언급해오고 있는 실정이다.^{2,3)}

두힘살근 및 그 운동신경세포는 이미 기술한 바대로 젓을 빠는 운동(sucking)과 관련이 있으며, 이 sucking은 Sprague-Dawley rat을 기준으로 생후 14일까지로 보는 의견도 있다.⁴⁾ 또한 생후 3주가 지나면 근육의 활동패턴은 씹기행동으로 변화된다고 하며, 이 과정에서 깨물근 운동신경세포의 급격한 성장이 관찰된다는 보고도 있다.²⁾ Miyata (1996) 등은³⁾ 직경 측정을 통해 생후 5일에서 21일 사이에서 세포체의 성장속도가 가장 빠르다고 하며, Honma (2002) 등은⁵⁾ 저작활동의 개시시점에서 깨물근 운동신경세포는 형태학적으로 이미 성취의 것과 같다는 것을 밝혔다. 이들 세포체의 직경을 기준으로 한 깨물근 운동신경세포들의 분포양상은 bimodal distribution의 형태를 보이고 있으며, 여기서 보통 작은 세포체를

감마 그리고 큰 세포체를 알파 운동신경세포로 구분하고 있다.⁶⁻⁸⁾ 하지만 반대로 이러한 bimodal distribution 관찰되지 않는다는 연구결과 또한 존재하지만,^{8,9)} 알파와 감마 운동신경세포는 그동안 신경 전도속도측정을 통해서 혹은 HRP를 세포내 주입함으로써 관찰한 미세구조적 특징 등의 결과를 토대로 서로 다른 전기생리학적 및 형태학적 특징을 가진다는 것이 통설이다.¹⁰⁻¹³⁾ 더 나아가 Simon(1996) 등은¹³⁾ 이들 감마 및 알파 운동신경세포들의 분화는 출생 전에 결정이 되었을 거라고 판단하고 있으며, 그 세포들이 한 세포에서 유래한 것인지 아니면 서로 다른 cell lineage를 가질 것인지가 연구대상이라고 하였다. 한편, Miyata (1996) 등은³⁾ 생후 저작형태의 변화는 근육의 형태에는 영향을 미치지만 깨물근 운동신경세포에는 영향을 끼치지 않는다는 것을 밝히기도 하였다.

기능적인 면에서는 이 두 가지 운동신경세포의 차이가 전기생리학적인 연구를 통해 알려져 있는 데, 예를 들어 억제연접후전위(inhibitory postsynaptic potentials: IPSP)의 경우 두힘살근 운동신경세포에서보다 깨물근 운동신경세포에서 훨씬 더 자주 발생한다고 하며¹⁴⁾ 또한 깨물근 운동신경세포에서는 흥분연접후전위(excitatory postsynaptic potential: EPSP) 및 억제성 연접이후 전위 모두가 발생가능하며, 흥분 및 억제연접후전위는 각각 입을 다물거나 벌림에 해당하는 전위라고 알려져 있다. 이와는 대조적으로, 두힘살근 운동신경세포들은 입을 벌릴 때만 오직 흥분연접후전위가 관찰되고 있으며, 입을 다물 때에는 억제연접후전위가 나타나지 않는다고 한다.¹⁵⁻¹⁹⁾ 더욱이 두힘살근 운동신경세포는 깨물근 운동신경세포 중 알파신경원과 연결되어 있는 근육방추 유래 들신경(muscle spindle afferents)으로부터 아무런 흥분성 정보를 받지 않는다. 이러한 기능적인 차이점들이 이 두 신경세포들 사이에 존재하고 있지만, 그들의 총표면적의 평균 즉 하나의 알파 운동신경원에 있는 가지돌기와 세포체의 표면적에 대한 평균값이 이 두 신경원사이에 큰 차이가 없다.²⁰⁾ 이와 같이 많은 연구들에서 깨물근 운동신경세포에 대한 보고는 많았으나 상대적으로 두힘살근 운동신경세포에 대한 보고는 소수이며, 더구나 형태학적 측면에서 다른 것은 그리 많지 않다.

예를 들어, 형태학적인 측면에서는 이 두힘살근 및 깨물근 운동신경세포의 차이점으로서, 깨물근에는 알파 운동신경세포 이외의 다른 형태 및 전기생리학적 특징을 지니고 있는 감마 운동신경세포를 그 형태학적 특징으로서 언급하고 있다.²¹⁾ 또한 생후 30일이 지난 흰쥐에서 감마 운동신경원의 bimodal pattern이 뚜렷이 나타난다는 보고가 있으며, 이러한 감마운동신경원의 분포양식은 깨물근 운동신경세포에서만 나타나는 현상으로 두 운동신경세포의 특징을 형태학적으로 대변하고 있다 .

종합해서, 이 두 운동신경세포의 차이점들은 흥분성 혹은 억제성 연결의 발생 특성을 통해 파악된다고 알려져 있고, 형태학적으로는 아직도 많은 연구가 진행되고 있다. 그러나 이들 연구의 대부분이 깨물근 운동신경세포에만 집중되고 있는 실정이어서 아직도 두힘살근 운동신경세포에 대한 형태학적인 연구는 미흡한 편이다.

이에 본 연구에서는 흰쥐에서 생후 두힘살근 운동신경세포에 대한 형태학적 발달에 대한 조사를 통하여 이 두 운동신경세포의 형태학적 차이점을 밝히는 데 기여하고자 한다.

II . 재료 및 방법

1. 두힘살근 운동신경세포 표식 및 시편작성

각 연령별로 두힘살근 운동신경세포의 발달과정을 관찰하기 위하여 1, 10, 30일군의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 각 군당 3마리씩 실험에 사용하였다. 1일군의 경우 5g, 10일령은 20g, 그리고 30일군은 약 70g의 체중을 가진 쥐를 선택하였다. 모든 동물 술식은 경북대학교내 실험동물 보호 및 사용 위원회(Kyungpook University Intramural Animal Care and Use Committee)의 승인을 받았다. 실험동물을 Sodium pentobarbital(40 mg/kg, i.p.)을 복강내에 주입함으로써 깊이 마취시킨 뒤, 생리식염수에 녹인 10% horseradish peroxidase(HRP, Toyobo, Japan) 10 μ l를 Hamilton 주사기에 부착시킨 30 gauge needle을 이용하여 오른쪽 두힘살근에 30분간 주입하였다. 24-36시간 동안 생존시킨 후, 실험동물을 sodium pentobarbital(80 mg/kg, i.p.)을 이용하여 깊이 마취시키고, 심장을 통해 헤파린을 함유한 생리식염수 100 ml 및 고정액(2.5% glutaraldehyde, 0.5% paraformaldehyde and 0.1% picric acid in 0.1 M phosphate buffer) 500 ml를 40분간 관류고정시켰다. 뇌줄기를 추출하여 동일한 고정액에 2시간 고정시킨 뒤 0.1 M phosphate buffer(0.1 M PB)에 담가 4°C에서 보관하였다. 그 후 진동절편기를 이용하여 60 μ m 두께로 횡단 연속절편을 만들었다.

Tungstate/tetramethylbenzidine(TMB) protocol²²⁾을 이용하여 HRP를 가시화하고, diaminobenzidine(0.25 mg/ml in PB, pH 6.0)을 이용하여 안정화하였다. 그 후 광학현미경으로 관찰하여 HRP에 진하게 표식된 운동신경세포를 포함한 절편을 골라서 1% OsO₄로 40분간 후고정을 행하였다. 계열 알코올을 거쳐서 탈수시킨 다음, Durcupan ACM(Fluka, Switzerland)으로 평판포매한 다음 58°C에서 48시간 동안 경화시켰다.

2. 광학현미경에 의한 관찰 및 통계학적 분석

광학현미경상에서 포매한 조직을 400배의 배율로 관찰하였다. HRP로 표식된 두힘살근 운동신경세포들 중 핵이 보이는 세포체만을 선택하여 이를 Camera lucida를 이용하여 평면상에 2차원적으로 재구성하였고, 이어 Macintosh 컴퓨터에 연결된 Wacom digitizer와 NIH image software(version 1.60; NIH, Bethesda, MD)를 사용하여 재구성한 세포체의 평균

직경을 측정하였다. 각 연령별로 한 마리씩의 흰쥐에서 측정한 결과들을 이용하여 그 분포도를 조사하였으며, 또한 측정한 3마리 모두의 결과들은 1, 10, 30일군 별로 나누어 그 평균 및 표준편차 값과 상대적 생육속도를 산출하였다. 각 연령별 세포체의 직경에 대한 평균 및 편차사이의 통계학적 유의성을 평가하기 위하여 one-way ANOVA를 사용하였다.

III . 결 과

이 연구에서는 1, 10 및 30일군 흰쥐 3개군에서 생후 1일령 흰쥐 3마리로부터는 총 112개, 10일군 3마리에서는 총 59개, 그리고 30일군 3마리에서 총 198개의 두힘살근 운동신경세포의 세포체를 대상으로 직경 측정을 통한 생후 각 연령별 형태학적 변화를 조사하였다.

광학현미경상에서 400배의 배율로 관찰한 각 연령별 흰쥐 3개군의 대표적 사진을 나타내었는데(Fig. 1), WGA-HRP의 역행성 이동으로 표식된 두힘살근 운동신경세포는 삼차신경 운동핵의 꼬리쪽 배쪽안쪽에 영역에서 나타났으며, 세포의 크기는 1일군에서 30일군으로 갈수록 증가하고 있는 것을 알 수 있었다. 또한 생후 1일군의 세포에도 가지돌기가 존재하며 그들의 수는 최대 3-4개 정도이며, 생후 10일 및 30일군과는 달리 그 수도 적고 굵기도 가는 것을 관찰할 수 있었다.

생후 10일군의 세포체는 1일군의 가지돌기보다 더욱 발달한 가지돌기가 나타나며, 30일군에서 가지돌기의 분지가 더 많아지고 그 굵기 또한 더욱 커지는 것으로 관찰되었다.

각 군별로 총 3마리의 흰쥐에서 측정된 세포체들의 평균 직경과 표준편차는, 1일군에서 $16.49 \pm 1.94 \mu\text{m}$, 10일군에서 $23.17 \pm 3.35 \mu\text{m}$, 30일군에서 $29.89 \pm 4.23 \mu\text{m}$ 으로 조사되었다(Table 1). 이들 평균값들은 one way Anova를 통한 통계학적 유의성 검사 결과, 0.05 수준에서 서로 유의하게 다르다는 것을 확인하였다.

광학현미경상에서 관찰된 바대로, Table 1에서 제시된 실제 평균직경에서도 1일군에 비해 10일군의 세포체는 약 1.4배 성장을 보인 것이며, 1일군 대비 30일군은 약 1.8배 성장, 10일군 대비 30일군은 1.3배 정도 성장하였음을 알 수 있었다.

또한 세포체 직경의 각 범위에 포함되는 세포체 수를 전체 세포체 수에 대한 백분율 즉 발생빈도로 표현한 것으로 이것은 각 직경별 분포도를 나타낸다. 생후 1일군(Fig. 2A)은 세포체 직경이 11-21 μm 범위에서 모든 세포체가 존재하는 것으로 나타났다. 생후 10일군(Fig. 2B)은 15-29 μm 사이에서 그리고 생후 30일군(Fig. 3C)은 19-38 μm 사이에서 존재하는 것으로 관찰되었다.

각 연령군 3마리의 흰쥐에서 HRP로 표식된 두힘살근 운동신경세포중 가장 작은 세포체의 평균직경과 그 표준편차는 1, 10, 그리고 30일군 각각 $12.91 \pm 1.38 \mu\text{m}$, $17.28 \pm 1.27 \mu\text{m}$, $20.96 \pm 2.41 \mu\text{m}$ 로 측정되었다. 반면, 각 연령군에서 가장 큰 세포체의 직경은 1일군

에서 $19.88 \pm 1.78 \mu\text{m}$, 10일군에서 $27.55 \pm 1.88 \mu\text{m}$, 그리고 30일군에서는 $38.27 \pm 0.82 \mu\text{m}$ 으로 조사되었다.

이들 결과에서 알 수 있듯이 가장 작은 세포는 1일군에서 10일군으로 가면서 그 세포체 평균직경이 약 1.3배 증가하였고, 1일군 대비 30일군은 약 1.6배, 10일군 대비 30일군은 약 1.2배 정도로 증가함을 알 수 있다. 각 군에서 가장 큰 세포체의 경우에는 10일군은 1일군의 1.4배, 30일군은 1일군의 1.9배로 나타나며, 10일군 대비 30일군의 경우에는 1.4배로 나타났다(Table 2). 이러한 결과들을 1-10일 사이 및 10-30일 사이의 두 기간을 통해 그 성장속도를 1일당 성장률의 값으로 살펴보면 각 군에서 가장 작은 세포체와 가장 큰 세포체의 성장속도를 비교해볼 수 있을 것이다. Table 3에서 나타낸 바와 같이, 가장 작은 세포체의 경우에는 1일군 대비 10일군의 세포체 직경 비율이 1.74 이므로 이를 1일당 성장률 값으로 환산하면 1-10일사이에는 1일군의 세포체 직경을 기준으로 하루에 약 13% 씩 성장하였다는 결과를 얻을 수 있었다. 동일한 방식으로, 10일군과 30일군 사이 즉 20일간의 기간동안에는 10일군의 세포체 직경을 기준으로 30일군이 될 때까지 약 6%씩 성장했다는 것을 알 수 있었다. 마찬가지로, 각 군에서 가장 큰 세포체의 경우, 1-10일 사이에 1일당 14%씩, 10일에서 30일 사이에서는 1일당 7%씩의 성장도를 보임으로써 1-10일령 사이의 성장속도가 10-30일 사이에서의 성장속도보다 더 빠름을 알 수 있었고, 결과적으로 10-30일 사이에서는 1-10일 사이에서보다 약 2 배 정도 성장속도가 느림을 알 수 있다. 각 군에서 가장 작은 세포체의 경우에도 10-30일 사이가 1-10일 사이에 발생하는 성장속도에 비해 약 2.2배 정도 느린 성장률을 보이는 것을 나타냈다(Table 3).

IV . 고 찰

광학현미경상(Fig. 1)에서 나타난 바대로, 실제 평균직경 상에서도 1일군에 비해 10일군의 세포체는 약 1.4배, 1일군 대비 30일군은 약 1.8배 성장, 그리고 10일군 대비 30일군은 1.3배 정도 성장하는 것으로 나타나 결론적으로 두힘살근 운동신경세포의 성장속도는 1-10일군 사이에서 10-30일군 사이에 비해 상대적으로 빠른 것으로 관찰되었다(Table 1). 이러한 결과는 Cragg (1975) 등이²³⁾ 기술한 바대로 고양이 시각피질 신경세포의 부피가 생후 1-10일 사이에 가장 급격한 성장을 보이며, 이후엔 지속적으로 그 성장속도가 감소한다는 보고와 동일한 것이다.

또한 세포체의 분포형태가 직경이 증가하면서 그 분포범위도 증가하고 있으며, 전체적으로는 unimodal pattern을 보이고 있다. 깨물근 운동신경세포 (massetric motoneuron)에서 알파운동신경세포와 감마운동신경세포의 서로 다른 형태학적 발달을 통해 bimodal pattern을 보이는 것과 대조적인 것이다.²⁴⁾ 또한 깨물근에서와 마찬가지로, 알파 그리고 감마 운동신경세포로 인한 bimodal pattern은 대부분의 팔, 다리근육의 운동신경세포의 세포체에서도 분명히 나타난다고 한다.⁶⁻⁸⁾ Destombes (1992) 등은²¹⁾ 세포체 직경측정을 통해 종아리 근육의 운동신경세포 또한 bimodal pattern을 보인다고 하였다. 이러한 분포양식의 차이는 감마 운동신경세포가 근방추의 신경정보 전달에 관여한다는 점에서 볼 때, 두힘살근의 경우 근방추가 없으므로 이러한 unimodal pattern이 나타난 것이라고 판단할 수 있을 것이다.

이러한 두힘살근 운동신경세포의 분포양상을 좀 더 구체적으로 살펴보면, 1일군에선 전체적으로 세포체 직경의 차이가 크지 않았다. 다시 말해서, 좁은 직경범위 내에 관찰한 세포체들의 직경들이 포함되므로 발생빈도(% frequency)가 높은 결과가 도출되었다. 1일군에선 최대 약 23% 정도의 빈도율을 보였으며, 10일군에서 1일군에 비해 단위직경당 발생빈도율이 1/2로 감소하였다. 또한 1일군에서 30일군으로 성장할수록 세포체 직경 분포의 범위가 넓어졌다. 이는 세포체의 성장의 결과 및 각 세포체별 성장속도의 차이로 인해 그 분포가 넓어진 것으로 추측된다. 또한 생후 1일군(Fig. 2A)은 세포체 직경이 11 - 21 μm . 생후 10일군은 15 - 29 μm 그리고 생후 30일군은 19 - 38 μm 사이에 분포하고 있다는 점에서도 알 수 있듯이 연령별로 세포체의 분포는 성장을 할수록 그 분포범위가 증가함을 알 수 있다. 이러한 분포범위의 증가가 의미하는 것은 각 세포체마다 그 성장속도가 다르다는 것을 의미한다고 파악된다. 또 다른 측면에서, 각 연령군에서 가장 작은 세포체의 직경은 1, 10,

30일군 각각 $12.91 \pm 1.38 \mu\text{m}$, $17.28 \pm 1.27 \mu\text{m}$, $20.96 \pm 2.41 \mu\text{m}$ 사이에 포함된다. 반면, 각 연령군에서 가장 큰 세포체의 직경은 1, 10, 30일군 각각 $19.88 \pm 1.78 \mu\text{m}$, $27.55 \pm 1.88 \mu\text{m}$, $38.27 \pm 0.82 \mu\text{m}$ 사이에 포함되는 것으로 나타났다. 즉, 각 군에서 가장 큰 세포는 10일군은 1일의 1.4배, 30일군은 1일령의 1.9배 증가한 것으로 나타나 Table 1의 평균직경의 증가율과 유사함을 알 수 있다. 반면 각 연령별로 그 직경이 가장 작은 세포체의 경우엔 1일군 대비 30일군은 약 1.6배 정도의 성장을 보임으로써, 가장 큰 세포체에 비해 상대적으로 성장속도가 느린 것으로 파악된다(Fig. 2). 이러한 결과들은 각 연령별 세포체 집단에서 가장 작은 세포체의 성장에 따른 직경 증가율은 상대적으로 각 연령별 집단에서 가장 큰 세포의 직경 증가율보다 낮다는 것을 의미할 것이다. 따라서 두힘살근 운동신경세포의 경우엔 전체적으로 unimodal pattern을 보이는 가운데, 그 속에 포함된 가장 작은 세포들은 그 성장속도가 상대적으로 낮고 세포체 직경이 가장 큰 세포들은 상대적으로 성장세포가 큰 것으로 나타났다. 그러나 Table 3에서처럼 1일당 평균성장률을 살펴보면 가장 작은 세포체와 가장 큰 세포체 사이에 성장률의 차이는 그리 크지 않고, 다만 1일군 대비 30일군의 값만 유의한 차이를 보임으로써 결국 30일까지 성장하면서 누적된 차이, 즉 가장 작은 세포체의 경우 1일군 대비 30일군의 성장률이 약 1.6, 그리고 가장 큰 세포체는 약 1.9의 성장률을 보이는 결과가 나타났다고 판단된다. 종합하여, 분포도(Fig. 2)상에서 전체적으로는 unimodal pattern을 보이며, 서로 다른 성장속도를 가진 세포체가 공존하고 있는 양상을 보이고 있다.

또 다른 측면에서, 본 연구에서 사용한 생후 1일, 10일 그리고 30일군의 구분은 생후 1-10일군은 수유기에 해당하고, 생후 10-30일군은 일반적으로 수유기와 저작기가 복합적으로 존재하는 기간이라고 볼 때,⁴⁾ 1-10일 사이에서 두힘살근 운동신경세포의 성장속도가 빠르고, 저작기로 넘어가면서 그 성장속도가 느려짐은 두힘살근이 가지는 젃빨기(sucking) 관련 기능과 일부 관련이 있다고도 추측된다. 일례로, Kubota (1988) 등은²⁾ 수유기에서 저작기로 전환되는 시기인 생후 3주 이후부터 깨물근 운동신경세포의 급격한 성장을 보고하여 그 상관성을 말한 바 있다. 반면, Miyata (1996) 등이³⁾ 제시한 수유기에서 저작기로의 섭식활동의 변화는 깨물근에 대한 근육의 변화를 야기하지만, 그 운동신경세포들에는 형태학적인 영향을 끼치지 않는다는 결론을 내리기도 하였다. 이러한 연구결과들은 깨물근과 그 운동신경세포의 생후 발달과정에서 형태학적 변화와 기능적 변화사이의 상관성을 살펴본 것으로, 이를 토대로 본 연구의 두힘살근 운동신경세포의 변화 즉, 1-10일 사이에 생육속도가

빠르고 그 이후엔 느린 현상은 근육활동의 변화에 의한 결과가 아니라 그 신경세포의 내재적 생육 양상으로도 판단할 수 있을 것이다. 그러나 근본적으로 운동신경세포 및 근육이 서로 다르므로, 본 연구결과에서 나타나는 수유기에 해당하는 생후 1-10일 사이의 생육속도와 세포의 성장속도 사이에 밀접한 상관성이 있다고도 판단할 수 있다. 결국 이는 전기생리학 및 형태학적인 분석 등을 통해서 보다 정밀한 분석이 요구된다고 판단된다. 더불어 앞으로 깨물근 운동신경세포와의 비교를 통한 신경세포의 발달과정 및 수유기로부터 저작기로의 이행과정동안 발생하는 형태학적 변화에 대한 중요한 정보를 제공할 것으로 기대된다.

V . 결 론

본 연구는 두힘살근 운동신경세포의 형태학적 변화를 세포체의 평균직경을 측정함으로써 생후 1일에서 30일까지의 흰쥐의 생육기간 동안, 두힘살근 운동신경세포의 형태학적 변화양상이 unimodal pattern을 보이며, 생후 1일에서 10일사이에서 그 생육속도가 10일에서 30일사이의 생육속도보다 2배 정도 빠르다는 것을 밝혀내었다. 그리고 생후 1일에서 10일 사이가 수유기에 해당하고, 10일에서 30일 사이가 수유기 및 저작기가 복합된 시기이며 또한 젓빨기엔 두힘살근이 직접적으로 관여한다는 점에서, 흰쥐의 두힘살근 운동신경세포의 성장은 수유기에서 저작기로의 이행과 병행하여 그 성장속도가 다르게 나타난다는 결론을 얻었다.

참고문헌

- 1) Yoshida A, Fukami H, Nagase Y, Appenteng K, Honma S, Zhang LF et al : Quantitative analysis of synaptic contacts made between functionally identified oralis neurons and trigeminal motoneurons in cats. *J Neurosci* 2001;21:6298-6307.
- 2) Kubota K, Narita N, Ohkubo K, Shibanaï S, Nagae K, Kubota M et al : Morphological studies of the neuromuscular mechanism shifting from sucking to biting of mice. *Acta Anat (Basel)* 1998;133:200-208.
- 3) Miyata H, Sugiura T, Wada N, Kawai Y, Shigenaga Y: Morphological changes in the masseter muscle and its motoneurons during postnatal development. *Anat Rec* 1996;244:520-528.
- 4) Maeda N, Hanai H, Kumegawa M: Postnatal development of masticatory organs in rats. III. Effects of mastication on the postnatal development of the M. masseter superficialis. *Anat Anz* 1981;150:424-427.
- 5) Honma S, Varathan V, Wakisaka S: Postnatal development of synaptic inputs to rat masseter motoneurons. *Brain Res Dev Brain Res* 2003;139:67-71.
- 6) Burke RE, Strick PL, Kanda K, Kim CC, Walmsley B: Anatomy of medial gastrocnemius and soleus motor nuclei in cat spinal cord. *J Neurophysiol* 1977;40:667-680.
- 7) Horcholle-Bossavit G, Jami L, Thiesson D, Zytnicki D: Motor nuclei of peroneal muscles in the cat spinal cord. *J Comp Neurol* 1988;277:430-440.

- 8) Hoover JE, Durkovic RG: Morphological relationships among extensor digitorum longus, tibialis anterior, and semitendinosus motor nuclei of the cat: an investigation employing the retrograde transport of multiple fluorescent tracers. *J Comp Neurol* 1991;303:255-266.
- 9) Gordon DC, Loeb GE, Richmond FJ: Distribution of motoneurons supplying cat sartorius and tensor fasciae latae, demonstrated by retrograde multiple-labelling methods. *J Comp Neurol* 1991;304:357-372.
- 10) Conradi S, Kellerth JO, Berthold CH: Electron microscopic studies of serially sectioned cat spinal alpha-motoneurons. II. A method for the description of architecture and synaptology of the cell body and proximal dendritic segments. *J Comp Neurol* 1979;184:741-754.
- 11) Kellerth JO, Berthold CH, Conradi S: Electron microscopic studies of serially sectioned cat spinal alpha-motoneurons. III. Motoneurons innervating fast-twitch (type FR) units of the gastrocnemius muscle. *J Comp Neurol* 1979;184:755-767.
- 12) Lagerback PA, Cullheim S, Ulfhake B: Electron microscopic observations on the synaptology of cat sciatic gamma-motoneurons after intracellular staining with horseradish peroxidase. *Neurosci Lett* 1986;70:23-27.
- 13) Simon M, Destombes J, Horcholle-Bossavit G, Thiesson D: Postnatal development of alpha- and gamma-peroneal motoneurons in kittens: an ultrastructural study. *Neurosci Res* 1996;25:77-89.
- 14) Shigenaga Y, Sera M, Nishimori T, Suemune S, Nishimura M, Yoshida A et al : The central projection of masticatory afferent fibers to the trigeminal sensory

- nuclear complex and upper cervical spinal cord. *J Comp Neurol* 1988;268:489-507.
- 15) Nakamura Y, Kubo Y: Masticatory rhythm in intracellular potential of trigeminal motoneurons induced by stimulation of orbital cortex and amygdala in cats. *Brain Res* 1978;148:504-509.
 - 16) Kubo Y, Enomoto S, Nakamura Y: Synaptic basis of orbital cortically induced rhythmical masticatory activity of trigeminal motoneurons in immobilized cats. *Brain Res* 1981;230:97-110.
 - 17) Chandler SH, Goldberg LJ: Intracellular analysis of synaptic mechanisms controlling spontaneous and cortically induced rhythmical jaw movements in the guinea pig. *J Neurophysiol* 1982;48:126-138.
 - 18) Goldberg LJ, Chandler SH, Tal M: Relationship between jaw movements and trigeminal motoneuron membrane-potential fluctuations during cortically induced rhythmical jaw movements in the guinea pig. *J Neurophysiol* 1982;48:110-138.
 - 19) Nozaki S, Iriki A, Nakamura Y: Trigeminal premotor neurons in the bulbar parvocellular reticular formation participating in induction of rhythmical activity of trigeminal motoneurons by repetitive stimulation of the cerebral cortex in the guinea pig. *J Neurophysiol* 1993;69:595-608.
 - 20) Moritani M, Kida H, Nagase Y, Fukami H, Honma S, Takemura M. et al : Quantitative analysis of the dendritic architectures of single jaw-closing and jaw-opening motoneurons in cats. *Exp Brain Res* 2003;150:265-275.
 - 21) Destombes J, Horcholle-Bossavit G, Thiesson D, Jami L : Alpha and gamma

motoneurons in the peroneal nuclei of the cat spinal cord: an ultrastructural study. *J Comp Neurol* 1992;317:79-90.

22) Weinberg RJ, van Eyck SL : A tetramethylbenzidine/tungstate reaction for horseradish peroxidase histochemistry. *J Histochem Cytochem* 1991;39:1143-1148.

23) Cragg BG : The development of synapses in the visual system of the cat. *J Comp Neurol* 1975;160:147-166.

24) Bae YC, Choi BJ, Lee MG, Lee HJ, Park KP, Zhang LF. et al : Quantitative ultrastructural analysis of glycine- and gamma-aminobutyric acid-immunoreactive terminals on trigeminal alpha- and gamma- motoneuron somata in the rat. *J Comp Neurol* 2002;442:308-319.

Table 1. The developmental changes in soma area of digastric motoneurons at postnatal days 1 (P1), 10 (P10), and 30 (P30).

Nucleus	N	Postnatal days (P)		
		P1	P10	P30
		16.49 ± 1.94	23.17 ± 3.35	29.89 ± 4.23
Digastric	3	(n=112)*	(n=59)	(n=198)
		(n1=92, n2=10, n3=10)**	(n1=32, n2=11, n3=16)	(n1=119, n2=44, n3=35)

Values are 'mean ± SD' of soma diameters measured from 3 rats.

* Indicates total number of soma measured in 3 rats

** Indicates number of soma examined in each rat

Table 2. Soma diameters and relative growth rates of the smallest and largest digastric motoneurons at P1, P10 and P30.

		Postnatal days (P)		
		P1	P10	P30
Smallest	Mean \pm SD	12.91 \pm 1.38	17.28 \pm 1.27	20.96 \pm 2.41
	Ratio of Mean	1	1.34 1	1.62 1.21
Largest	Mean \pm SD	19.88 \pm 1.78	27.55 \pm 1.88	38.27 \pm 0.82
	Ratio of Mean	1	1.39 1	1.93 1.39

At each postnatal days, total 3 rats were used to measure 'Mean \pm SD' of the smallest and largest soma areas. Ratio was calculated by dividing the mean data of P10 and/or P30 to P1 and of P30 to P10.

Table 3. Comparison of the relative growth rates a day in both periods, P1 to P10 (period 1) and P10 to P30 (period 2).

ratio / day			
	Period 1 (P1~P10)	Period 2 (P10~P30)	Period 1 / Period 2
Smallest	0.13	0.06	2.17
Largest	0.14	0.07	2.00

Ratios between P1 to P10 and P10 to P30 in Table 2 were divided by total days, 10 and 20 days, in Period 1 (P1~P10) and Period 2 (P10~P30), respectively.

Fig. 1. Light microscopic observations at each postnatal day for the HRP-labeled soma of digastric motoneurons in Sprague-Dawley rat. A, B and C indicate postnatal days 1, 10 and 30, respectively. Scale bar in C = 50 μ m (also applies to A and B)

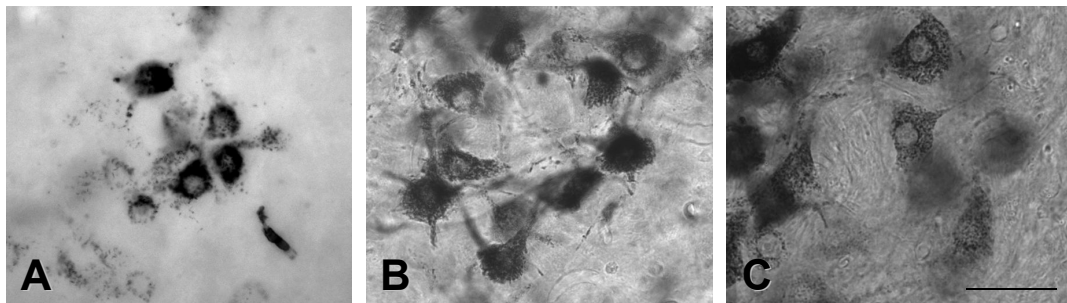


Fig. 2. Distribution in soma area of digastric motoneurons. Postnatal days 1, 10 and 30 are shown in panel A, B and C, respectively. 'n' indicates the number of soma examined.

