

백서 편측 설신경 손상 후 미각 및 설유두의 변화에 대한 연구

김윤태¹ · 전승호¹ · 염학렬¹ · 강진한¹ · 안강민¹ · 김성민² · 장정원³ · 박경표⁴ · 이종호¹

¹서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실, ²강릉대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

³연세대학교 의과대학 약리학교실, ⁴서울대학교 치과대학 구강생리학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2005;31:515-525)

CHANGE OF TASTE PREFERENCE AND TASTE BUD AFTER UNILATERAL LINGUAL NERVE TRANSECTION IN RAT

Yoon-Tae Kim¹, Seung-Ho Jeon¹, Hak-Ryol Yeom¹, Jin-Han Kang¹, Kang-Min Ahn¹,
Sung-Min Kim², Jeongwon Jahng³, Kyung-Pyo Park⁴, Jong-Ho Lee¹

¹Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Seoul National University

²Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Kangnung National University

³Dept. of Pharmacology, BK21 for Medical Science, College of Medicine, Yonsei University

⁴Dept of Oral Physiology, College of Dentistry, Seoul National University

Purpose of study: Lingual nerve damage can be caused by surgery or trauma such as physical irritation, radiation, chemotherapy, infection and viral infection. Once nerve damage occurred, patients sometimes complain taste change and loss of taste along with serious disturbance of tongue. The purpose of this study was to evaluate the effects of unilateral lingual nerve transection on taste as well as on the maintenance of taste buds.

Materials & Methods: Male Sprague-Dawley rats weighing 220-250g received unilateral transection of lingual nerve, subjected to the preference test for various taste solutions (0.1M NaCl, 0.1M sucrose, 0.01M QHCl, or 0.01M HCl) with two bottle test paradigm at 2, 4, 6, or 8 weeks after the operation. Tongue was fixed with 8% paraformaldehyde. After fixation, they were observed with scanning electron microscope(JSM-840A®, JEOL, JAPAN) and counted the number of the dorsal surface of the fungiform papilla for changes of fungiform papilla. And, Fungiform papilla were obtained from coronal sections of the anterior tongue(cryosection). After cryosection, immunostaining with *GustI*(I-20)(Santa Cruz Biotechnology, USA), *PLCβ2*(Q-15)(Santa Cruz Biotechnology, USA), and *T1R1*(Alpha Diagnostic International, USA) were done. Immunofluorescence of labeled taste bud cells was examined by confocal microscopy(F92-300®, Olympus, JAPAN).

Results: The preference score for salty and sweet tended to be higher in the operated rats with statistical significance, compared to the sham rats. Fungiform papilla counting were decreased after lingual nerve transection. In 2 weeks, maximum differences occurred. *Gustducin* and *T1R1* expressions of taste receptor in 2 and 4 weeks were decreased. *PLCβ2* were not expressed in both experimental and control group.

Conclusion: This study demonstrated that the taste recognition for sweet and salty taste changed by week 2 and 4 after unilateral lingual nerve transection. However, regeneration related taste was occurred in the presence of preserving mesoneurial tissue and the time was 6 weeks. Our results demonstrated that unilateral lingual nerve damage caused morphological and numerical change of fungiform papilla. It should be noted in our study that lingual nerve transection resulted in not only morphological and numerical change but also functional change of fungiform papillae.

Key words: Lingual nerve damage, *Gustducin*, *PLCβ2*, *T1R*, Taste receptor, Taste preference

I. 서 론

이종호

110-768 서울시 종로구 연건동 275-1

서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Jong-Ho Lee

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Seoul National University

#275-1 Yeongun-dong, Jongno-gu, Seoul, 110-768, South Korea

Tel: 82-2-2072-2630 Fax: 82-2-766-4948

E-mail: leejongh@plaza.snu.ac.kr

치과 임상에서 미뢰에 신경분포를 하는 고삭신경이 포함된 설신경 손상을 종종 접하게 되는데, 설신경 손상의 원인으로는 수술, 외상 등의 물리적인 자극에 의한 것, 방사선, 항암치료, 약물 등에 의한 변성, 감염 및 기타 바이러스 질환에 의한 것들 들 수 있다. 이러한 신경 손상이 발생할 경우에 환자들은 미각

※ 본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (01-PJ5-PG3-20507-0033).

의 변화, 나아가서는 미각의 상실을 호소하는 경우도 있으나 설신경 손상이 미각변화나 상실에 어느정도 기여하는지에 대해서는 여전히 논란이 되고 있다.

안면신경으로부터 나오는 고삭신경은 중간에 측두하와(infratemporal fossa)를 거치면서 동측의 설신경과 합쳐져 혀의 전방 2/3 부분의 미각 및 감각을 담당하고 설유두의 형태 및 기능을 담당하게 된다. 고삭신경은 미뢰(taste bud)의 중심부에 그리고 설신경은 주로 미뢰의 주위 즉, perigemmal area를 담당한다²⁾.

설유두는 성곽유두(circumvallate papilla), 엽상유두(foliate papilla), 심상유두(fungiform papilla), 시상유두(filiform papilla)의 네 가지로 구분되며 미각신경에 의해 지지된다. 성곽유두는 혀의 후방 2/3의 신맛과 쓴맛을 담당하며 설인신경(glossopharyngeal nerve)의 지배를 받고 있다. 엽상유두의 경우는 대부분 성곽유두의 가장자리 바로 앞 부분에 존재하며 주로 신맛을 담당하고 성곽유두와 마찬가지로 설인신경의 지배를 받고 있다. 시상유두의 경우는 미뢰가 존재하지 않으며 미각과는 관련이 없는 구조를 지니고 있다. 이와는 반대로 심상유두의 경우는 대부분 혀의 전방부에 존재하며 유두 한 개당 수 개의 미뢰가 존재하며 주로 고삭신경과 설신경에 의해 미각 및 감각을 담당한다.

본 연구는 미각의 기초적인 지식을 바탕으로 하여 백서의 편측 설신경 손상 후 미각과 미각유두의 형태 그리고 미뢰의 수 변화와 미각세포의 변성여부를 시간경과에 따라 알아봄으로써 향후 환자에서 설신경과 미각의 관련성, 미각 변화 및 상실의 정도를 수치화하는데 기여하는 것에 그 목적을 두었다.

II. 재료 및 방법

웅성 SD 백서 (체중 220-250g, 6-7주령)를 이용하여 ketamine (Ketara®, 50mg/ml, 유한양행)과 xylazine (Rompun®, 5mg/ml, 바이엘코리아) 칼테일을 이용해 복막 내 마취를 하였다(0.15cc/100g 체중). 좌측 악하부를 절개하여 악설골근(mylohyoid muscle)을 찾아 들어올리고 악이복근(digastric muscle)과 교근(masseter muscle)을 미세 집자(jeweler's forceps)를 이용하여 조심스럽게 박리하였다. 악하선(submandibular gland)의 주도관을 옆으로 견인하여 바로 옆에 함께 주행하는 고삭신경과 설신경의 두 가지를 노출시키고 좌측 설신경은 단순 절단하였으며 근육층은 5-0 흡수성 봉합사(Vicryl®, Ethicon Co, UK)로 그리고 피부층은 4-0 나일론으로 봉합하였다.

A. 미각 변화 측정(Behavioral test - preference ratio change)

편측 설신경 손상 후 백서에서의 미각변화 측정을 위해 실험군에서(n=25) 전술한대로 수술을 하였으며, 대조군은(n=15) 좌측 설신경을 노출시킨 후 다시 절개창을 봉합하고(sham dissection) taste-preference test 즉, 미각 선호도(preference ratio)의 변화로써 two bottle test를 시행하였다. 손상 후 각각 2, 4, 6, 8주째에 한쪽 병에는 일정량의 물을 다른 한쪽 병에는 미각용 약품을

넣어 네 가지 맛(단맛, 쓴맛, 신맛, 짠맛)에 대한 변화를 조사하였다. 미각용 시약은 NaCl (0.1M, 짠맛), Sucrose (0.1M, 단맛), QHCl (0.01M, 쓴맛), HCl (0.01M, 신맛)을 사용하였으며, 각각의 미각제에 대해 미각 선호도를 계산하였다(preference ratio = 미각제(tastants)를 먹은 양/(미각제(tastants)를 먹은 양+물을 먹은 양)). 또한 위치에 의해 한쪽 병의 것만 계속 섭취하는 학습을 방지하기 위하여 매 24시간마다 두 병의 위치를 바꾸어 주었다. 통계처리는 SPSS version 10.0.1 (한국 SPSS)을 이용하였으며, 실험군과 대조군과의 차이는 Mann-Whitney U-test 그리고 시간 경과에 따른 차이는 Paired t-test로 유의수준 95%에서 검증하였다.

B. 심상유두의 변화

설신경 손상 후 시간경과에 따른 심상유두의 수 변화를 알아보기 위하여 백서 16마리에서 좌측 설신경은 절단하고, 우측 설신경은 sham 박리를 한후 1, 3, 7, 10일, 2, 4, 6, 8주에 각각 2마리씩 심장관류 후 내고정하여 혀를 채취하였다. 전관류는 0.9% NaCl과 헤파린(1,000 USP units)이 포함된 0.5% NaNO₂ 200ml를 이용하였고, 관류용액으로는 8% 파라포름알데하이드를 0.2M 인산완충액(pH7.4)과 관류 직전에 혼합하여 사용하였다. 흉부 절개를 통해 횡경막과 심장을 차례로 노출시킨 후 혼합된 용액을 관류기를 이용하여 백서의 좌심실에 주입하였고, 우심방으로 이어지는 상대정맥을 절단하여 용액이 나오게 하였다 각각의 개체에 200ml의 관류용액을 10분에 걸쳐 주입한 후 혀를 채취하였다. 채취한 시료는 곧바로 고정액(8% 파라포름알데하이드)에 담귀 고정하였다. 이후 주사전자현미경(JSM-840A®, JEOL, JAPAN)을 이용하여 혀첨부에서 성곽유두 바로 앞까지 전 영역에 걸쳐 손상측과 비손상측 혀에서 심상유두의 갯수를 세었다.

C. 미각 세포의 면역조직화학적 관찰

편측 설신경 손상 후(n=24) 1, 3, 7, 10, 14, 28, 42, 56일에 각각 3마리씩 혀를 채취하여 0.2M 인산완충액(pH 7.4)과 4% 파라포름알데하이드를 함유한 고정액에 고정하여 신선상태를 유지하였다. 이후 심상유두 부위를 채취한 후 isopentane (-70°C)을 사용하여 동결시킨 후 동결조직절편기를 이용하여 4µm 두께의 조직 절편을 준비하였다.

동결표본을 통상적인 제작 과정에 따라 세척과 건조를 수차례 시행하고 심상유두 미각수용기세포의 발현 정도를 알아보기 위한 일차 항체로서 미각 유두에 특이 염색 단백질인 Gagust(I-20)(Santa Cruz Biotechnology, USA), 단맛과 쓴맛의 이차전달 물질에 관여하는 PLCβ2(Q-15)(Santa Cruz Biotechnology, USA), 심상유두에 특이 염색 단백질인 TrIR(Alpha Diagnostic International, USA)을 사용하였으며, Cy3-conjugated AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG(Jackson Immuno Research, USA)로 형광을 표지하고, 심상유두 내의 미각세포의 발현 정도를 공초점형광현미경(F92-300®,

Olympus, JAPAN)으로 관찰하였다.

III. 결 과

A. 미각 변화

설신경 손상 후 백서는 짠맛, 단맛과 신맛, 쓴맛 사이에 차이를 보였다. 미각 선호도의 결과는 Table 1과 같았는데, 짠맛의 경우에는 2주와 4주째에 대조군(2주 0.52 ± 0.18 , 4주 0.62 ± 0.11)에 비하여 실험군(2주 0.73 ± 0.24 , 4주 0.82 ± 0.10)에서 짠맛의 소비량이 많이 증가하였다(p value = 0.04, 0.007). 6주와 8주째에 실험군(6주 0.84 ± 0.11 , 8주 0.77 ± 0.12)과 대조군(6주 0.81 ± 0.15 , 8주 0.80 ± 0.18) 사이에 특별한 차이를 보이지는 않았고 미각의 회복 양상이 관찰되었다(Fig. 1). 단맛의 경우에도 짠맛과 마찬가지로 2주와 4주째에 실험군(2주 0.93 ± 0.09 , 4주 0.89 ± 0.13)에서 단맛의 소

비량이 유의하게 증가하였으나(p-value = 0.003, 0.075), 6주와 8주째에는 실험군(6주 0.82 ± 0.14 , 8주 0.80 ± 0.13)과 대조군(6주 0.88 ± 0.05 , 8주 0.85 ± 0.14) 사이에 차이를 보이지 않았다(Fig. 2). 쓴맛과 신맛의 경우에는 시간 경과에 따른 미각 선호도의 차이가 없었다. 그러나 신맛의 경우에는 통계적인 유의성은 없었지만 2주와 4주째에 약간의 차이를 보였다(Fig. 3, 4).

B. 심상유두의 갯수 변화

설신경 손상 후 심상유두의 수는 점차 감소하는 양상이었다(Fig. 5). 손상 3일째부터 실험군(29 ± 2.8)과 대조군(28 ± 0.5)에서 차이를 보이기 시작하였으며 1주후(실험군 24 ± 2.8 , 대조군 27 ± 1.4)부터 대조군과 차이를 많이 보이기 시작하였고(Fig. 6) 2주째(실험군 18 ± 0.5 , 대조군 26 ± 2.8)에 그 정도가 가장 크게 나타났

Table 1. Change of taste after unilateral lingual nerve transection

		2 weeks		4 weeks		6 weeks		8 weeks	
		Exp	Con	Exp	Con	Exp	Con	Exp	Con
NaCl	Preference ratio	0.73 ± 0.24	0.52 ± 0.18	0.82 ± 0.10	0.62 ± 0.11	0.84 ± 0.11	0.81 ± 0.15	0.77 ± 0.12	0.80 ± 0.18
	P-Value	0.04*		0.007*		0.67		0.81	
Sucrose	Preference ratio	0.93 ± 0.09	0.73 ± 0.11	0.89 ± 0.13	0.80 ± 0.05	0.82 ± 0.14	0.88 ± 0.05	0.80 ± 0.13	0.85 ± 0.14
	P-Value	0.003*		0.075*		0.397		0.46	
QHCl	Preference ratio	0.09 ± 0.08	0.14 ± 0.14	0.16 ± 0.12	0.21 ± 0.11	0.18 ± 0.07	0.19 ± 0.11	0.15 ± 0.08	0.16 ± 0.14
	P-Value	0.418		0.71		0.25		1.0	
HCl	Preference ratio	0.36 ± 0.29	0.22 ± 0.09	0.37 ± 0.20	0.25 ± 0.07	0.20 ± 0.09	0.21 ± 0.09	0.28 ± 0.25	0.27 ± 0.10
	P-Value	0.5		0.18		0.87		0.58	

Exp - Experimental group (unilateral lingual nerve transection)

Con - Control group(sham dissection)

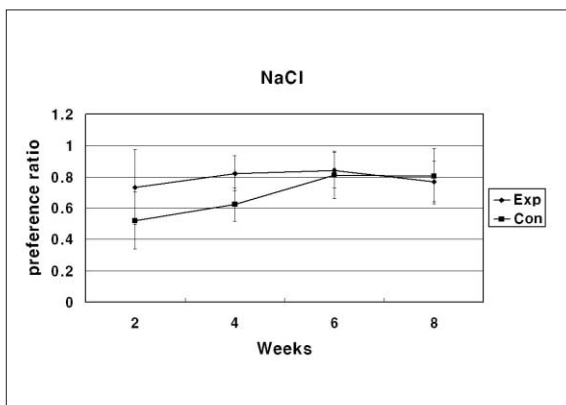


Fig. 1. Change of salty taste (NaCl preference ratio) after unilateral lingual nerve transection. NaCl preference ratio : NaCl intake/total fluid intake
Exp - Unilateral lingual nerve transection
Con - Sham dissection

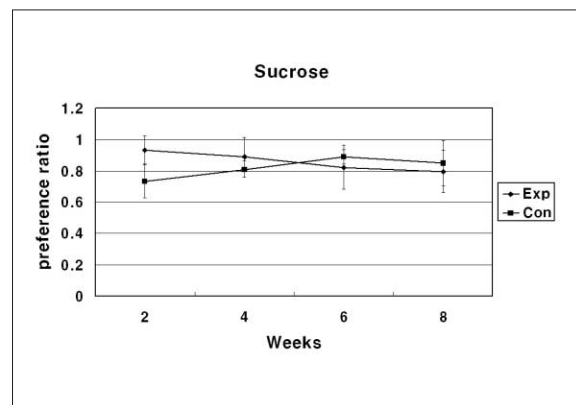


Fig. 2. Change of sweet taste (sucrose preference ratio) after unilateral lingual nerve transection. Sucrose preference ratio : Sucrose intake/total fluid intake
Exp - Unilateral lingual nerve transection
Con - Sham dissection

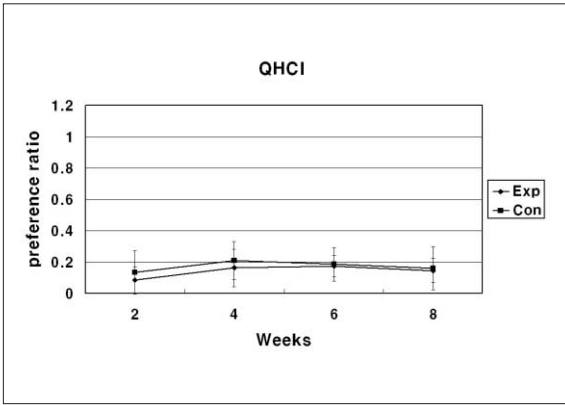


Fig. 3. Change of bitter taste (QHCl preference ratio) after unilateral lingual nerve transection. QHCl preference ratio : QHCl intake/total fluid intake
Exp - Unilateral lingual nerve transection
Con - Sham dissection

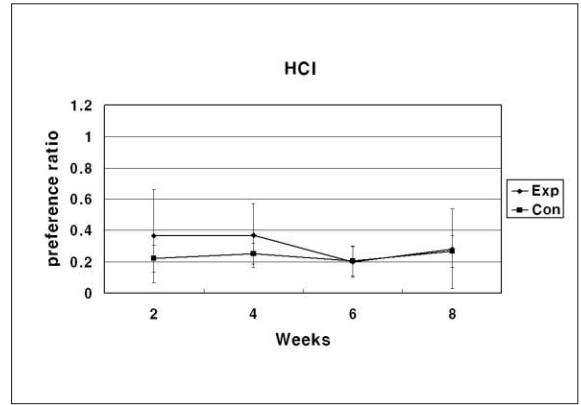


Fig. 4. Change of sour taste (HCl preference ratio) after unilateral lingual nerve transection. HCl preference ratio : HCl intake/total fluid intake
Exp - Unilateral lingual nerve transection
Con - Sham dissection

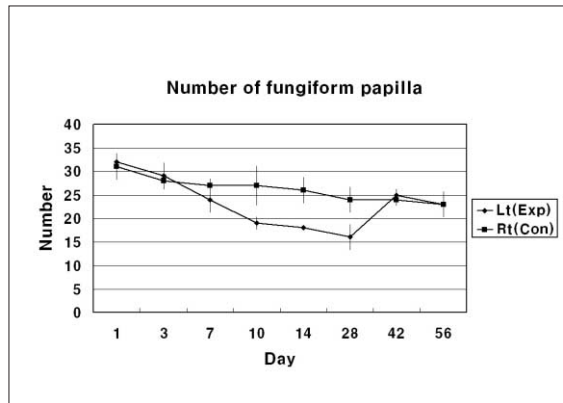


Fig. 5. Change of fungiform papilla count after unilateral lingual nerve transection. Lt (Exp) - Lingual nerve transection
Rt (Con) - Sham operated control

다. 4주째(실험군 16 ± 2.8 , 대조군 24 ± 2.8)에는 심상유두의 수가 급격히 감소하였다(Fig. 6-E, M). 그러나 대조군에서도 심상유두의 수는 점차 감소하는 양상을 보였다. 또한, 실험군에서 심상유두의 수는 6주째(실험군 25 ± 1.4 , 대조군 24 ± 1.4)부터 회복되는 양상을 나타내었다(Fig. 6-F, N). 6주 이후에는 실험군과 대조군에서 비슷한 정도의 심상유두의 수를 나타냈다.

C. 미각세포의 면역조직화학적 관찰

Gustducin으로 염색한 결과 심상유두의 수가 급격히 감소하는 시기인 7일째 경에는 미각 수용기세포의 발현에서 대조군과는 별 차이가 없었지만, 2주와 4주째에는 미각 수용기의 염색 발현 정도가 현저히 떨어지는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 6주경이 지나면서 미각 수용기의 발현은 다시 대조군과 비슷한 정도로

관찰되었다(Fig. 7).

PLC β 2의 경우에는 형광발현이 거의 이루어지지 않았으며 실험군과 대조군 모두에서 거의 발현되지 않았다.

TiR1의 경우에는 Gustducin과 마찬가지로 4주째에 그 염색 발현 정도가 크게 떨어지는 것을 확인할 수 있었으나, Gustducin에 비해서는 그 발현 정도가 미약하였다(Fig. 8).

IV. 고 찰

편측 설신경 손상시 미각 변화가 초래되는가 하는 점은 치과 임상에서 매우 중요한 의미를 가진다. 본 연구를 시작할 때 여러 문헌을 고찰하고 그리고 선학들과 상의하였으나 편측 설신경 손상으로 미각의 변화가 초래되기는 어려울 것이라는 의견들이 대부분이었다. 남아 있는 반대측 신경에 의해 맛을 느낄 수 있으며,

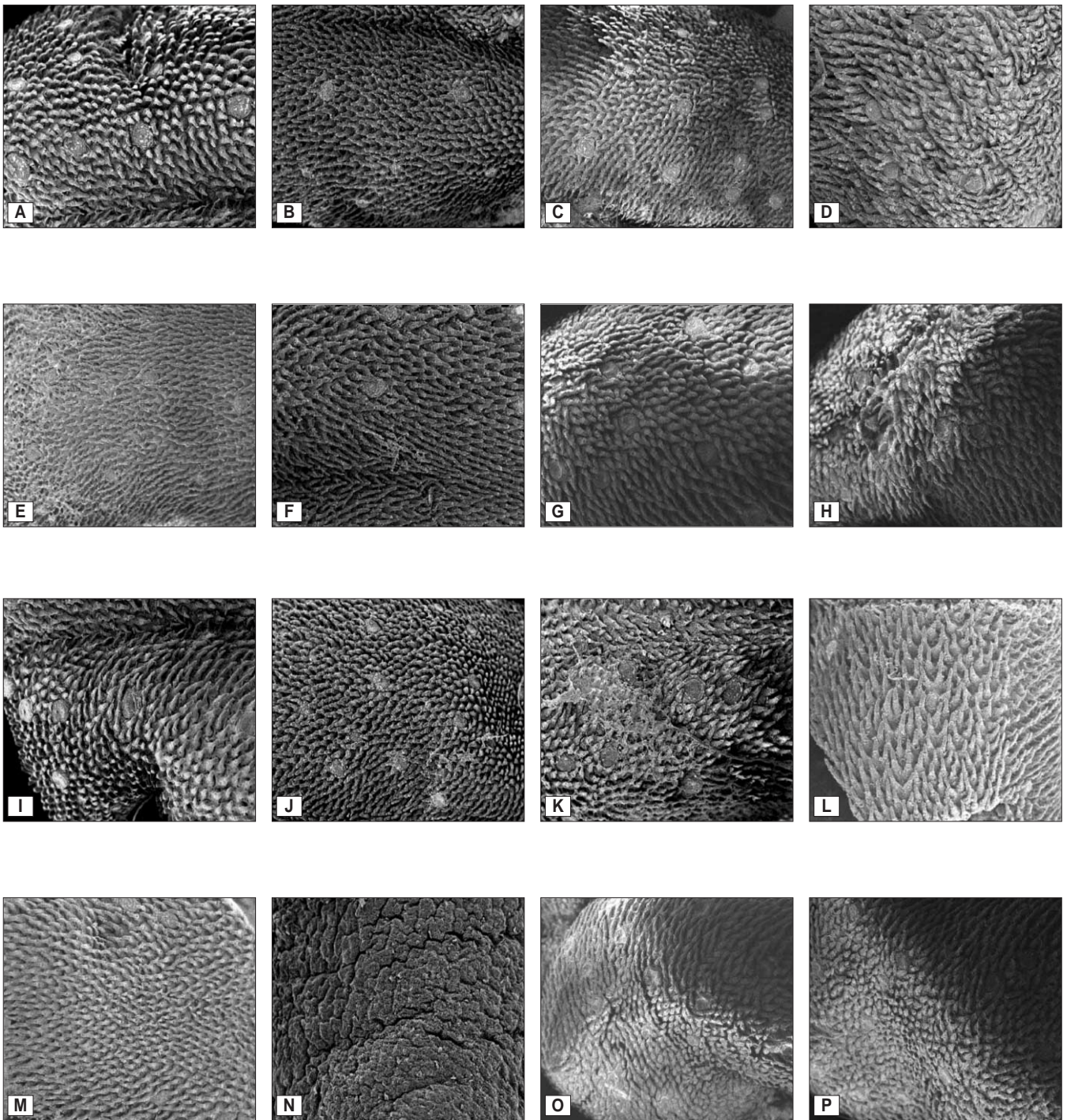


Fig. 6. Scanning electron photomicrographs(SEM) of dorsal tongue surface at various interval after unilateral lingual nerve transection (original magnification $\times 65$).

A-H : Sham control 1, 3, 7, 10, 14, 21, 42, 56 days, respectively

I-F : Experimental group, 1, 3, 7, 10, 14, 21, 42, 56 days after lingual nerve transection

The number of fungiform papilla was counted by manually using scanning electron photomicrograph

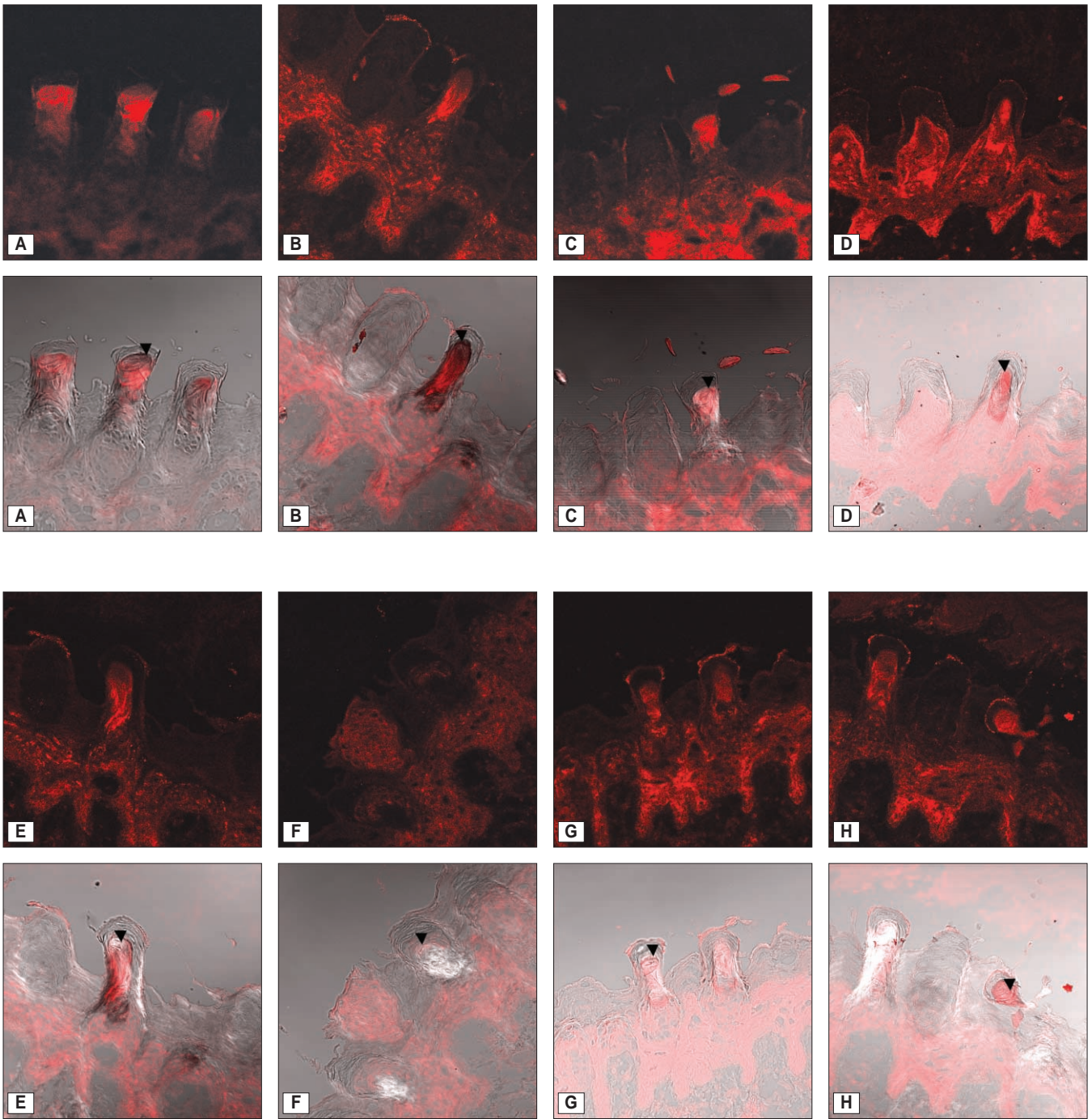


Fig. 7. Photomicrograph of coronal section through fungiform papilla (Immunohistochemical(Gustducin) staining, Original magnification $\times 500$).

A : Control

B : 3 days after lingual nerve transection

C : 7 days after lingual nerve transection

D : 10 days after lingual nerve transection

E : 2 weeks after lingual nerve transection

F : 4 weeks after lingual nerve transection

G : 6 weeks after lingual nerve transection

H : 8 weeks after lingual nerve transection

Expression of Gustducin was very low in the sample of 4 weeks after lingual nerve transection. However, that of Gustducin was similar at 6 weeks after transection (Arrow head indicates the stained taste receptor cell of taste bud).

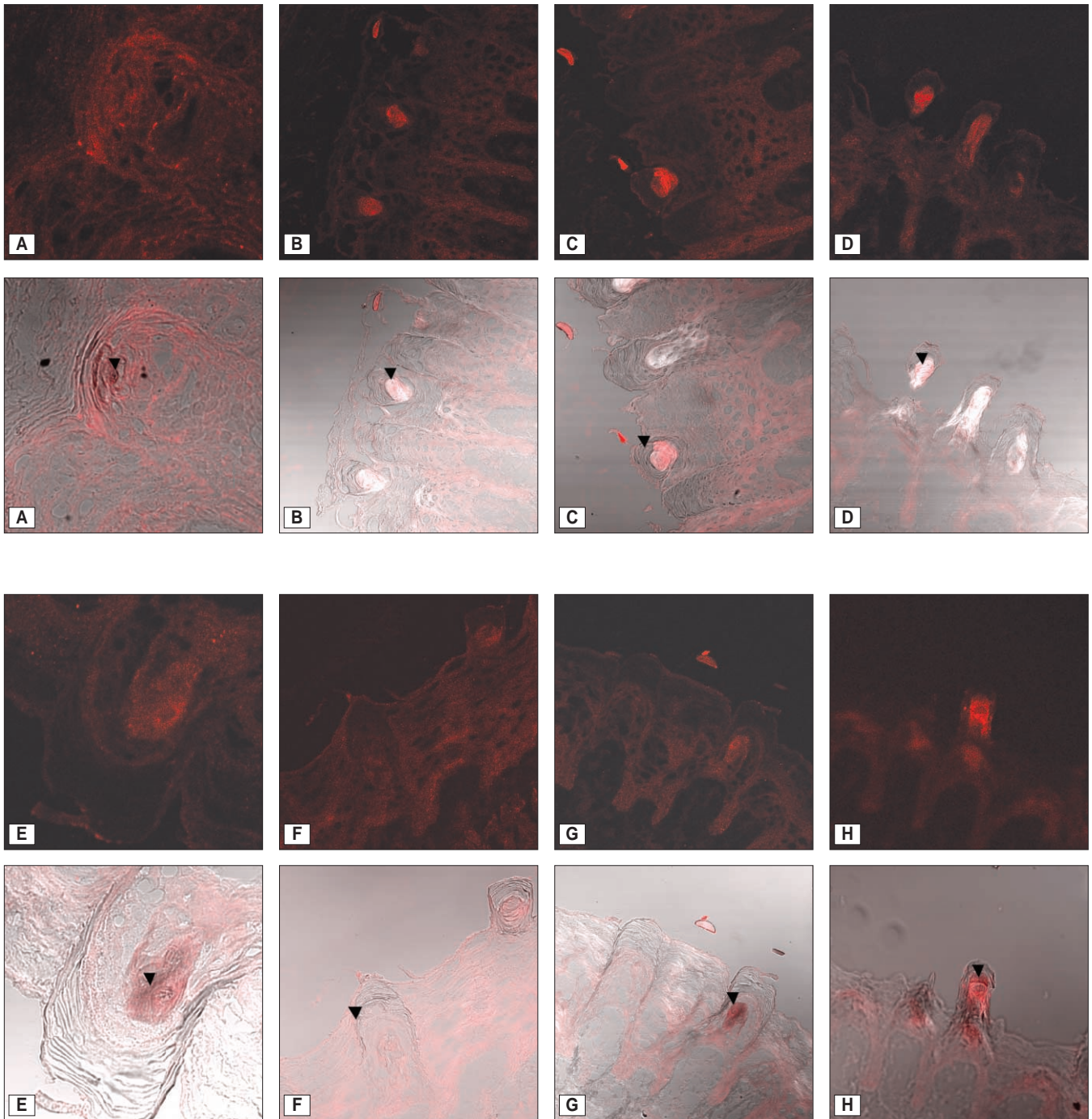


Fig. 8. Photomicrograph of coronal section through fungiform papilla (Immunohistochemical(T1R1) staining, Original magnification $\times 500$).

A : Control

B : 3 days after lingual nerve transection

C : 7 days after lingual nerve transection

D : 10 days after lingual nerve transection

E : 2 weeks after lingual nerve transection

F : 4 weeks after lingual nerve transection

G : 6 weeks after lingual nerve transection

H : 8 weeks after lingual nerve transection

Expression of T1R1 was very low in the sample of 4 weeks after lingual nerve transection. However, that of T1R1 was similar with control group in 6 weeks after transection (Arrow head indicates the stained taste receptor cell in taste bud). However, T1R1 expressions are weaker than Gustducin.

맛을 지배하는 신경이 단지 설신경과 동행하는 고삭신경 만이 아니고 미주 및 설인신경이 있기 때문이 그 이유였다. 그러나 치과 임상에서는 종종 미각 이상을 호소하는 설신경 손상 환자를 접하게 되는 데, 이것이 단지 환자의 주관적인 느낌 변화가 아니라 실제 미각을 담당하는 미뢰의 변화가 발생할 수도 있을 것이라는 생각 하에 본 연구를 시작하게 되었다.

먼저 미각선호도 측정을 위한 two-bottle test에서 설신경 손상 2주 및 4주째에 짠맛과 단맛의 소비가 명확히 증가하였다. 짠맛의 인지를 담당하는 나트륨 채널(sodium channel)은 혀의 전 영역에 걸쳐 존재하는데 특히 심상유두가 이를 담당한다고 알려져 있다. 따라서 백서 짠맛의 역치 상승은 설신경 손상에 의한 심상유두 미각세포의 구조적, 기능적 변화가 야기되어 온 것으로 추측할 수 있다. 단맛도 주로 혀의 전방 2/3부분에서 고삭신경에 의해 인지되는 것으로 알려져 있으며, 한 연구에서는 백서의 전방부에 있는 심상유두에서 sucrose로 자극을 준 경우 adenylyl cyclase activity가 2배 이상 높았다고 보고하여⁹⁾, 단맛 역시 심상유두 변화와 관계 있는 것으로 생각되었다. 쓴맛의 경우에는 칼슘 이온(Ca²⁺)과 이차 전달자(second messenger (IP₃))에 의해 미각을 전달하는데 주로 혀 후방의 성곽유두와 설인신경에 의존한다. 따라서 이번 실험에서의 결과와 부합하여 설신경 손상 후에도 쓴맛의 인지 능력은 별 차이가 없었다. 신맛의 경우에는 짠맛과 비슷한 경로를 통하여 미각을 인지한다고 밝혀져 있으나 부위에 있어서는 주로 엽상유두와 성곽유두에 있는 미뢰와 미각세포를 통하여 인지하므로 설신경 손상이 쓴맛의 인지에는 크게 영향을 미치지 않았을 것이다. 그러나, 신맛의 경우에는 통계적인 유의성은 없었지만 2주와 4주째에 약간의 약간의 차이를 보였으며 이는 신맛을 담당하는 유두가 엽상유두 뿐만 아니라 심상유두의 미각 수용기에도 존재하므로 설신경 손상이 심상유두의 미각 수용기에 변화를 일으켜 약간의 차이를 일으킨 것으로 생각되었다.

고삭신경과 설신경은 특히 NaCl에 대해 다른 미각 물질에서보다 더 민감한 반응을 나타내었는데⁵⁻¹⁰⁾, 고삭신경의 손상 후에 NaCl에 대한 인지 역치(detection threshold)가 상승했다는 보고가 있다¹¹⁻¹²⁾. 이번 실험의 경우에는 설신경의 손상 후에도 NaCl, 즉 짠맛을 인지하는 능력이 저하되어 더 많은 양의 섭취를 통하여 짠맛을 인지함을 알 수 있었다. 위의 실험 결과를 토대로 설신경 손상 후에는 주로 고삭신경과 설신경의 지배를 받는 짠맛과 단맛이 변함이 확인되었으며, 다른 맛의 경우에는 영향을 미치지 않는다고 볼 수 있다. 심상유두는 고삭신경과 설신경에 의해 양측성 지배를 받으며 고삭신경은 주로 미뢰의 중심부분, 설신경은 미뢰의 측방부분과 감각을 담당한다는 기존의 결과와 비교하여 설신경 손상 후에도 미뢰의 변성을 야기하여 미각의 구조적, 기능적 변화를 일으키며, 이는 설신경 손상이 다른 성곽유두(circumvallate papilla-주로 bitter taste를 담당)나 엽상유두(foliate papilla-주로 sour taste를 담당)에는 영향을 끼치지 않음도 확인할 수 있었다.

신경 손상 후 6, 8주째에는 모든 맛에서 선호도 차이를 보이지 않았는데, 이것은 신경 재생에 의한 미각 회복에 따른 것으로 생

각되었다. 본 연구에서는 설신경 절단 후 신경을 잇는 봉합을 시행치 않았으나, 신경 박리 시 주변의 mesoneurial tissue를 보존한 채 단순히 신경을 절단하여 신경 재생이 용이하였으리라 판단되었다. 향후 연구에서는 설신경이 절단된 원위부에서 무수섬유와 유수섬유 변화를 조사하여 신경 재생 정도와 미각 회복의 상관관계를 조사하여 보는 것이 필요하다고 생각되었다.

설신경 손상은 지금까지는 미각과는 거리가 먼 감각을 담당하는 것으로 알려져 있었으나 이번 실험의 결과를 토대로 설신경 손상이 짠맛과 단맛의 변화에 영향을 주는 것으로 판명되었다. 그러나 쓴맛의 경우에는 어떠한 영향도 나타나지 않았으며, 신맛의 경우에는 약간의 차이는 있었으나 통계적인 유의성은 없어 전기 전도 자극 실험과 같은 실험을 통한 관련성 입증에 보완되어야 할 것으로 보였다. 그리고 농도 변화에 따른 미각의 역치 및 인지 능력도 검토되어야 할 것으로 생각되었다.

두 번째로 설신경 손상이 심상유두의 수에 어떤 영향을 끼치는지 알아보려고 하였는데 이는 과연 설신경 손상 자체가 기능면에서뿐만 아니라 형태적인 변화를 야기하는지 확인하고자 하는 것이었다. 심상유두가 형태와 기능을 유지하기 위해서는 고삭신경-설신경(chorda tympani-lingual nerve)에 의한 신경분포가 반드시 필요하며, 성숙 백서에서도 그 정도는 비성숙 백서에서 보다는 심하지는 않지만 신경 절단시 약 28% 정도에서 심상유두의 변성을 가져온다고 보고되어 있다²⁰⁾. 또한 고삭신경-설신경의 절단 후 유두의 형태 및 기능의 변성은 심상유두에서만 볼 수 있으며, 비록 시상유두가 설신경의 지배를 받고 있지만 그 형태에 있어서는 변함이 없다고 알려져 있다²³⁻²⁴⁾. 미뢰의 신경분포에 관한 연구에서는 고삭신경-설신경의 절단이 미뢰의 기능적 손상을 야기하며²²⁾, 재생에 따라 그 시기와 관련 없이 미뢰의 재생이 이루어지고²⁵⁾, 구조와 기능 유지를 위해서는 반드시 미각신경(gustatory nerve)의 영향(trophical influence)이 있어야 한다고 알려져 왔다²⁶⁻³⁰⁾. 그러나 최근 연구에서는 미각 이외의 신경(non-gustatory nerve)의 역할의 중요성도 알려지고 있다³¹⁻³³⁾.

신경의 재생과 관련하여 태생 후 바로 고삭신경 절단 후 고삭신경의 재생이 이루어지지 않는다 하더라도 약 70% 정도의 심상유두는 형태와 기능면에서 정상적이라는 실험이 있는 반면²²⁾, 최근 연구에서는 고삭신경의 절단 후에 심상유두의 재생이 이루어지지 않는다고 발표되었다⁶⁾. 또한 성장기 백서(juvenile rat)의 고삭신경 절단 후에는 심상유두의 약 30% 정도가 완전 소실된다고 보고되었고³⁴⁾ 성장 백서(adults rats)에서는 신경 절단 후 5에서 100일 사이에서 심상유두의 수는 변하지 않는다고 보고되었다²²⁾. 또한 Oakley 등³⁵⁾은 위의 경우에 약 20% 정도의 심상유두가 소실된다고 보고하였다. 본 실험에서도 설신경 절단 후 2주와 4주에서 심상유두의 소실이 관찰되었다. 이는 심상유두의 형태를 유지하기 위하여 설신경의 분포도 중요함을 확인할 수 있었으며, 상호 작용에 관한 연구는 추가 실험이 필요할 것으로 보였다.

또한, 이번 연구에서는 손상된 설신경의 회복을 짐작할 수 있는 시점에서 다시 심상유두의 수가 회복됨을 관찰할 수 있었는데 그간의 연구에 의하며 신경손상이 설유두와 미뢰의 변성 및 재생과 관련이 있으며, 유두의 형태와 구조적인 기능을 유지하

기 위해서는 고삭신경과 설신경이 반드시 필요하고 손상의 시기와도 연관이 있다는 연구가 있다¹³⁻¹⁵. 주로 생후 1일, 1, 2, 3, 4, 7, 10 주 후에 고삭신경의 편축 손상을 시킨 후 3, 7, 10일, 2, 3, 4, 6, 8주, 3, 4개월 후에 조직을 얻어 광학현미경과 전자현미경을 이용해 조사한 결과 생후 초기에 신경 손상을 시킨 경우에서 더 급속도로 심상유두의 형태와 기능 변성이 야기 되었으며, 또한 생후 3 주에 즉, 대부분의 심상유두의 성숙이 완료된 후에 고삭신경의 손상은 심상유두의 위축은 이루어졌으나 모든 경우에 그렇지는 않았고 생후 1일에 시행한 경우에서는 대부분의 심상유두가 성숙하지 못하였고 대부분 심상유두 모양의 유두만이 관찰되었다. 흥미로운 것은 설신경이 그대로 있고 고삭신경만 절단한 경우도 고삭신경-설신경 모두를 절단한 경우(생후 10일경 절단)와 비슷하게 약 65% 정도에서 심상유두의 변성이 일어났다¹⁶. 이번 연구에서도 설신경의 절단 시기가 성숙 백서에서였지만 심상유두의 손상은 약 60% 정도 발생하였다.

최근의 연구에서는 심상유두가 생후 적어도 30일까지 그 형태적 성숙이 지속된다고 하였다¹⁷⁻¹⁹. 이번 연구에서는 심상유두의 구조적인 변화는 설신경 손상 후 약 3일 이후부터 나타나는 것으로 보였으며 구조적인 변화가 다시 정상적인 심상유두로 재생되는 시기는 약 6주경이었다.

한 실험에서는 태생 후 곧바로 고삭신경을 절단한 경우에 설신경 섬유층의 수를 세어본 결과 유수신경섬유(myelinated fiber), 무수신경섬유(unmyelinated fiber) 모두에서 특별한 차이를 보이지 않았다¹⁹. 그러나 이는 위의 실험에서 설신경 손상 후에도 비슷한 결과를 보이는 것으로 보아 둘은 상호작용을 하고 있는 것으로 보이며 하나의 손상이 다른 신경의 변성을 가지고 오는지는 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다. 사실 고삭신경은 유두에 직접 분포하는 것은 아니며 미뢰의 수용세포(receptor cell)에 연결(synapse)되는 것으로 유두의 구조(papillary structure)를 유지하는데 설신경과 공동으로 하는데 설신경의 절단이 심상유두의 구조에 더 큰 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다¹⁹.

1960년대와 1970년대 연구들을 보면 태생 백서 혀의 심상유두의 분포는 성장 완료된 백서와 비슷하다고 하였으며²⁰ 이와는 반대로 심상유두는 발생 16일째에 어떠한 신경의 분포도 없이 발생한다고 보고하였다. 이후에 생후 12일째에 비로소 미공(taste pore)과 신경 원위부(nerve ending)가 나타난다고 하였다²¹. 위의 결과를 종합해 보면 심상유두의 형태를 유지하기 위해서는 반드시 고삭신경과 설신경의 상호 작용에 의한 유지가 필요하며 어느 하나의 신경 손상이 발생하여도 그 시기와는 큰 차이 없이 심상유두의 손상으로 이어짐을 확인할 수 있었다. 다만 이번 실험에서는 백서의 시기에 주안점을 두지 않았으므로 신경 손상이 성숙된 백서의 어느 정도까지 영향을 미치는지는 추가 실험이 필요할 것으로 보였다.

마지막으로 위의 두 실험과 관련하여 설신경 손상이 심상유두의 기능 및 형태를 변화시키는 것을 확인하였는데, 그러면 과연 심상유두의 미각 수용기 세포의 영향은 없이 심상유두의 수직인 열세에 의해 미각의 변화가 일어나는지 아니면 형태적인 변화뿐만 아니라 미각 수용기 세포의 기능에도 설신경 손상이 영향을

미치는지 알아보려고 면역조직화학 염색법을 이용하여 알아보려고 하였다. 심상유두의 미각 수용기 세포의 기능적 활성도를 알아보기 위하여는 미각 수용기 세포의 염색을 통한 방법을 사용할 수 있는데 심상유두와 미뢰에 특이 단백질로는 cytokeratin(CK-19)¹⁹, Gustducin, PGP(proline gene product)9.5, serotonin, NCAM(neuronal cell adhesion molecule), AntigenA(carbohydrate blood group antigen), TIR, BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine) 등이 있다. 이 중에서 gustducin이 가장 많이 사용되며 이번 실험에서는 모두 혀의 유두에 많이 존재하고 확인하기 쉬운 gustducin과 다른 유두보다 심상유두에 많이 존재하는 TIR, 그리고, 짠맛과 단맛과 관련이 있는 PLC β 2(Phosphoinositide-specific phospholipase C)를 사용하였다.

α -gustducin은 G-protein의 서브유닛(subunit)으로 단맛과 짠맛(sweet, bitter tasting substances)의 전달에 관여하는 것으로 알려져 있으며 미뢰의 미각 수용기 세포에 풍부하게 함유되어 있다²⁶. 또한 유두의 위치와 각각이 유두 종류에 따라 Gustducin 함유 세포는 다르다고 보고되어 있다²⁷. Gustducin 양성 세포는 방추형을 띠며 미공을 향하여 뻗어 있다. 미뢰는 Type I cell인 dark cell과 Type II cell인 light cell로 구분되어 있는데 light cell은 dark cell에 비해 크기가 크고 더 둥글다. 여러 실험에서 성곽유두에의 미뢰에서 gustducin이 발현하는 세포는 light cell로 알려져 있다²⁸. Gustducin은 미각 특히 단맛과 쓴맛을 전달하는 물질로²⁹ 미각 전달에 있어서의 기전은 완전히 밝혀지지 않았으나 주로 light cell에 존재하며 light cell이 미각세포의 대부분을 차지한다. 그러나 여러 실험결과들에서 light cell에 항상 gustducin이 존재하는 것은 아니라고 하였다^{37,39}. 미각세포는 주의 상피세포에서부터 분화하여 미뢰 즉, 유두의 특정부분(성곽유두에서는 lateral, apical portion, 심상유두에서는 apical portion)에 이주하여 분화함으로써 미각세포의 성격을 나타낸다⁴⁰⁻⁴¹. 이때 미각수용기세포의 성격을 나타내는 것으로 주로 gustducin을 들 수 있다. 또한 gustducin을 함유하지 않은 light cell은 주로 신맛과 짠맛에 관여하는 것으로 알려져 있다³⁶. 심상유두에는 성곽유두에서보다 적은 수의 Gustducin 양성 세포가 존재하며⁴¹ 이로 인하여 많은 실험에서는 주로 성곽유두를 이용한 실험을 진행해 왔다. 그러나 성곽유두는 위에서 언급했듯이 주로 설인신경과 연관이 있으며 따라서 이번 실험에서는 gustducin 이외에 다른 표지자도 사용하여 심상유두의 미뢰에서의 미각세포의 퇴행과 발현에 관하여 알아보게 되었다. 우리의 결과에서도 설신경 손상 후 gustducin염색은 4주경에 현저히 떨어짐을 관찰할 수 있었으며, 설신경 손상이 구조적, 형태적 변화 뿐만 아니라 미각수용기세포의 기능적인 소상도 야기함을 확인하였다. 또한 6주가 되면서 신경재생이 이루어지고 미각수용기세포의 염색도 거의 정상 수준으로 회복되었다. 이러한 결과를 토대로 설신경 손상도 미각수용기세포의 기능에 영향을 준다는 것을 확인할 수 있었으나 미각 수용기 세포의 어떤 기능에 영향을 주는지, 그리고 손상 시기와 관련하여 6주경의 발현 양상이 신경 재생과 관련이 있는지는 추가적인 연구가 필요할 것으로 보였다.

미각의 인지에 대한 분자생물학적인 접근을 위해서는 미각수

용기(taste receptor)에 대한 연구가 필수적이라 할 수 있는데 최근에는 쓴맛과 단맛에 대하여 GPCRs의 family 중 두 가지가 밝혀졌다⁴²⁻⁴⁴. 이들 두 가지는 TiR_1 , TiR_2 인데 이 중 TiR_1 은 특히 단맛과도 연관이 있는 것으로 밝혀졌다. TiR_2 는 주로 쓴맛과 연관이 있는 것으로 밝혀졌으며 최근에 밝혀진 미각 수용기(taste receptor)로서 TiR_3 는 주로 단맛(sweet taste)과 연관이 있다⁴⁵. 또한 최근에 밝혀진 T_2R family는 쓴맛(bitter taste)과 연관이 있다는 보고도 있다^{42,44}. 최근에는 TiR_3 family도 밝혀졌는데 TiR_3 는 TiR_1 , TiR_2 와 결합하여 각각 감미 및 단맛을 나타내며 특히 단맛의 특정 부분을 인식한다는 보고도 있다⁴⁷⁻⁴⁹. In situ Hybridization을 통해 미각과 관련 없는 세포(후각 상피, 뇌 등)를 조사한 결과 어떠한 TR_1 혹은 TR_2 신호는 발견되지 않았다³. 따라서 TiR family의 위치는 미각세포내에 존재한다고 생각할 수 있는데 TiR_2 , TiR_3 가 주로 엽상유두와 성곽유두에 있으며 심상유두에는 4% 미만이다³. 반면에 TiR_1 은 심상유두에 주로 존재하며 성곽유두에는 10% 미만으로 존재한다³. T_2R family는 주로 bitter taste를 담당하는 것과 상응하게 성곽유두와 엽상유두에 주로 존재한다고 밝혀졌다⁴². 또한 In situ Hybridization을 이용한 그간의 실험에서 Gustducin 함유 세포의 약 15% 정도만이 TR_1 혹은 TR_2 양성(positive) 반응을 나타내었다³. 이번 실험에서도 TiR_1 염색은 gustducin에 비해 그 발현정도가 미약하였으나 gustducin과 비슷한 결과를 보였다. TiR_1 을 이용하여 심상유두내에 존재하는 미각 수용기를 염색한 결과 대조군에서 4주경에 그 발현 양상이 급격히 떨어지는 것을 관찰할 수 있었으며 이는 설신경 손상이 Gustducin과 관련된 미각 수용기 이외에도 TiR_1 을 발현하는 미각 수용기에도 영향을 끼침을 확인할 수 있었다. 그러나 앞서도 언급했듯이 설신경 손상이 미각 수용기 세포에 미치는 영향은 추가 연구가 필요할 것이다.

$PLC\beta_2$ (Phosphoinositide-specific phospholipase C)는 수용기의 전자 신호 전달(signaltransduction)에 있어서 phosphatidylinositol 4,5-biphosphate로부터 두 개의 이차 전령(second messenger)인 inositol 1,4,5-triphosphate와 diacylglycerol의 생산에 필수적인 역할을 한다⁴⁰. PLC는 많은 수의 동질효소(isozyme)가 존재 하는데 그 중에서 $PLC\beta_5$ 만이 G 단백질에 의해 조절되는 것으로 밝혀졌다^{50,51}. 특히 $PLC\beta_2$ 는 단맛과 쓴맛에서 미각의 전달에 중요한 역할을 하는데 이번 실험에서는 $PLC\beta_2$ 의 발현에 있어서는 실험군과 대조군에서 어떠한 차이도 보이지 않았으며 심상유두에서는 모두에서 거의 발현되지 않았다. 이는 심상유두 내에서는 $PLC\beta_2$ 에 의한 미각 전달은 거의 이루어지지 않음을 확인한 것이며 또한 심상유두의 쓴맛과의 관련 없음을 밝힌 것이라 하겠다. 그리고, 설신경 손상이 기능적인 손상보다는 구조적인 손상을 야기하는 것으로 보였다.

종합해보면, 심상유두의 구조적인 변화 이외에도 미각 수용기 세포의 변화를 확인한 면역조직학적 실험에서는 설신경 손상이 주로 Gustducin, TiR_1 과 관련된 미각 수용기 세포의 변화를 야기하였으며 구조적인 변화보다는 늦은 4주경부터 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 구조적인 재생이 이루어지는 6주경에는 미각 수용기 세포의 재생도 동반됨을 알 수 있었다. 또한 TiR_1 의 변화보다는 Gustducin과 관련된 미각 수용기의 변화를 야기함

을 알 수 있었다. 그러나 $PLC\beta_2$ 의 경우에는 이 물질이 주로 단맛과 쓴맛을 담당하여 맛의 인지를 돕는 물질로 알려져 있지만 설신경 손상이 이 기전에는 영향을 주지 않는 것으로 생각되며 쓴맛의 인지에도 영향이 없음을 입증하였다.

V. 결 론

편측 설신경 절단 시 미각 변화를 알아보려고 백서를 대상으로 미각선호도 검사, 심상유두수의 변화 그리고 Gustducin, TiR_1 과 관련된 미각 수용기 세포의 변화를 면역화학조직학적 방법으로 조사 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 편측 설신경 손상으로 단맛과 짠맛의 미각 인지능에 변화를 일으켰으며 그 시기는 주로 손상 후 2주와 4주째에 나타났다. 그러나 신경 손상이 mesoneurial tissue가 유지되는 상태에서는 재생이 이루어지면 그 시기는 6주 이후부터인 것으로 확인되었다. 또한 설신경 손상은 쓴맛과 신맛에는 직접적인 영향을 주지 않음을 확인하였다.
2. 편측의 설신경 손상은 미각의 인지 능력 변화 외에도 심상유두의 형태적 변화를 야기하여 심상유두의 수적인 변화를 가져오는데 손상 후 약 3일경부터 그 수가 감소하여 4주경에 최고 많이 감소하였고 신경재생의 시기와 맞물려 6주부터는 다시 대조군과 비슷한 정도를 보였다. 또한, 대조군에서도 신경 손상과 관련없이 시간경과에 따라 조금씩 감소하는 양상을 보였다.
3. 설신경 손상은 심상유두의 구조적, 형태적인 변화뿐만 아니라 미각 수용기 세포의 기능적인 변화도 초래하였는데 주로 gustducin, TiR_1 과 관련이 있는 미각 수용기 세포의 변화가 일어났다. 그 시기는 설신경 손상 및 재생의 시기와 관련하여 손상 후 형태적인 손상보다 약간 느린 4주경부터 그 발현정도가 떨어졌으며 손상의 회복시기와 비슷한 시기인 6주에 다시 상승하였다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 백서 편측 설신경 손상시 심상유두의 감소 및 미각수용기 세포 변화에 의한 단맛과 신맛의 미각변화가 명확히 초래됨을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Miller IJ Jr: Branched chorda tympani neurons interaction among taste receptors. J Comp Neurol 1975;155:166.
2. Lindermann B: Taste reception. Physiol Rev 1996;76:718-766.
3. Hoon MA, Adler E, Lindemeier J, Battey J F, Ryba NJ, Zuker CS: Putative mammalian taste receptors. a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. Cell 1999;96:541-551.
4. Striem BJ, Pace U, Zehavi U, Naim M, Lancet D: Sweet tastants stimulate adenylate cyclase coupled to GTP binding protein in rat tongue membranes. Biochem J 1989;260:121-126.
5. Beidler LM: Properties of chemoreceptors of tongue of rat. Journal of Neurophysiology 1953;16:595-607.
6. Nejad MS: The neural activities of the greater superficial petrosal nerve of the rat in response to chemical stimulation of the palate. Chemical Senses 1986;11:283-293.
7. Pfaffmann C: Gustatory nerve impulses in rat, cat, and rabbit. Journal of Neurophysiology 1955;18:429-440.

8. Pfaffmann C, Bare JK: Gustatory nerve discharges in normal and adrenalectomized rats. *Journal of comparative physiology psychology* 1950;43:320-324.
9. Pfaffmann C, Fisher GL, Frank MK: The sensory and behavioral factors in the taste preferences. In T. Hayashi *Olfaction and taste II*:361-119.
10. Geran LC, Guagliardo NA, Spector AC: Chorda tympani nerve transection, but not amiloride, increases the KCl taste detection threshold in rats. *Behavioral Neuroscience* 1999;113:185-195.
11. Slotnick BM, Sheelar S, Rentmeister-Bryant H: Transection of the chorda tympani and insertion of ear pins for stereotaxic surgery. Equivalent effects on taste sensitivity. *Physiology and Behavior* 1991;50:1123-1127.
12. Spector AC, Andrews-Labinski J, Letterio FC: A new gustometer for psychophysical taste testing in the rat. *Physiology and Behavior* 1990;47:795-803.
13. Nagato T, Matsumoto K, Tanioka H, Kodama J, Toh H: Effects of denervation on morphogenesis of the rat fungiform papilla. *Acta Anat* 1995;153:301-309.
14. Sollars SI, Smith PC, Hill DL: Time course of morphological alteration of fungiform papillae and taste buds following chorda tympani transection in neonatal rats. 2002 Wiley Periodicals. Inc. *J. Neurobiol* 2002;51:223-236.
15. Nagato T, Matsumoto K, Tanioka H, Kodama J, Toh H: Effects of denervation on morphogenesis of the Rat fungiform papilla. *Acta Anat* 1995;153:301-309.
16. Sollars SI, Bernstein IL: Neonatal chorda tympani transection permanently disrupts fungiform taste bud and papilla structure in the rat. *Physiol Behav* 2000;69:439-444.
17. Iwasaki S, Yoshizawa H, Kawahara I: Study by scanning electron microscopy of the morphogenesis of three types of lingual papilla in the rat. *Anat Rec* 1997;247:528-541.
18. Harada S, Yamaguchi K, Kanemaru N, Kasahara Y: Maturation of taste buds on the soft palate of the postnatal rat. *Physiol Behav* 2000;68:333-339.
19. Guagliardo NA, Sollars SI, Hill DL: Degeneration of fungiform papillae after selective denervation of the lingual nerve in 10-day-old rats. *Chem Senses* 1999;24:590.
20. Mistretta CM: Topographical and histological study of the developing rat tongue, palate and taste buds. *Third Symposium on oral sensation and perception. The mouth of the infant.* Springfield, Thomas, 1972;163-187.
21. Farbman AI: Electron microscope study of the developing taste bud in rat fungiform papilla. *Dev Biol* 1965;110-135.
22. Hard af Segerstad C, Hellekant G, Farbman AI: Changes in number and morphology of fungiform taste buds after transection of the chorda tympani or chorda-lingual nerve. *Chem senses* 1989;14:335-348.
23. Kunze K: Die papilla filiformis des Menschen als Tastsinnesorgan. *Erg Anat Entw Gesch* 1969;41:63-64
24. Bock, P: Demonstration intraepithelial axone in the papilla. *Acta Anat* 1971;79:225-238.
25. St, John SJ, Markison S, Spector AC: Salt discriminability is related to number of regenerated taste buds after chorda tympani nerve section in rats. *Am J Physiol* 1995;269:141-153.
26. Zelana J: Development, degeneration and regeneration of receptor organs. in Singer M, JP Schade. *Progress in Brain Research. Mechanism of neural regeneration.* Amsterdam, Elsevier 1964;13:175-213.
27. Oakley B, Benjamin RM: Neural mechanism of taste. *Physiol Rev* 1974;46:173-221.
28. Jeppsson PH: Studies on the structure and innervation of taste buds. *Acta Otolaryngol suppl* 1969;487-495.
29. Guth L: Degeneration and regeneration of taste buds. *Handbook of Sensory Physiology, Chemical senses 2.* Berlin, Springer 1971;14:63-74.
30. Murray RG, Murray A: Relations and possible significance of taste bud cells. *Contribution to sensory physiology.* New York, Academic Press 1971;15:47-95.
31. Zalewski AA: Regeneration of taste buds after reinnervation of a denervated tongue papilla by a normally nongustatory nerve. *J Comp Neurol* 1981;200:309-314.
32. Dinger B, S J Fidone, L J Stensaas: Regeneration of taste buds by nongustatory nerve fibers. *Exp Neurol* 1985;89:189-203.
33. Nagato T, Matsumoto K, Tanioka H, Kodama J, Toh H: Effects of denervation on morphogenesis of the Rat fungiform papilla. *Acta Anat* 1995;153:301-309.
34. Ganchrow JR, Ganchrow D: Long term effects of gustatory neurectomy on fungiform papillae in the young rat. *Anat Rec* 1989;225:224-231.
35. Oakley B, Wu LH, Lawton A, DeSibour C: Neural control of ectopic filiform spines in adult tongue. *Neuroscience* 1990;36:831-838.
36. Kinnamon SC, Cummings TA: Chemosensory transduction mechanisms in taste. *Annu Rev Physiol* 1992;54:715-731.
37. Boughter JD Jr, Pumplun DW, Yu C, Chtisty RC, Smith DV: Differential expression of α -gustducin in taste bud populations of the rat and hamster. *J Neurosci* 15 1997;17:2852-2858.
38. Tabata S, Crowley HH, Bottger B, Finger TE, Margolskee RF, Kinnamon JC: Immunoelectron microscopic analysis of Gustducin in taste cells. *Chem Senses* 1995;20:788.
39. Wong GT, Gannon KS, Margolskee RF: Transduction of bitter and sweet taste by Gustducin. *Nature* 1996;381:796-800.
40. Beidler LM, Smallman R: Renewal of cells within taste buds. *J Cell Biol* 1965;27:263-272.
41. Farbman AI: Renewal of taste bud cells in rat circumvallate papillae. *Cell Tissue Kinet* 1980;13:349-357.
42. Adler E, Hoon MA, Mueller KL, Chandrashekar J, Ryba NJ, Zuker CS: A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* 2000;100:693-702.
43. Chandrashekar J, Mueller KL, Hoon MA, Adler E, Feng L, Guo W, Zuker CS, Ryba NJ: T2Rs function as a bitter taste receptors. *Cell* 2000;100:703-711.
44. Matsunami H, Montmayeur JP, Buck LB: A family of candidate taste receptors in human and mouse. *Nature* 2000;404:601-604.
45. Saintz E, Korley JN, Battey JF, Sullivan SL: Identification of a novel member of the TiR family of putative taste receptors. *J Neurochem* 2001;77:896-903.
46. Kinnamon SC: Taste transduction. A bitter-sweet beginning. *Nature* 1996;381(6585);27:737-738.
47. Eduardo S, Julius NK, James FB, Susan LS: Identification of a novel member of the TiR family of putative taste receptors. *J Neurochem* 2001;77:896-903.
48. Mariana M, Y Gopi S, Liquan H, Mingqing R, Zhan L, Fabien C, Harel W, Sami D, Robert FM: Tas1r3, encoding a new candidate taste receptor, is allelic to the sweet responsiveness locus Sac. *Nature genetics* 2001;28:58-63.
49. Robert FM: Detection of sweet and umami taste in the absence of the taste receptor T1r3. *Science* 2003;301.
50. Zhang W, Neer EJ: Reassembly of phospholipase C-beta2 from separated domains. Analysis of basal and G protein stimulated activities. *J Biol Chem* 2001;276:2503-2508.
51. Suh PG, Hwang JI, Ryu SH, Donowitz M, Kim JH: The roles of PDZ-containing proteins in PLC-beta-mediated signaling. *Biochem Biophys Res* 2001;288:1-7.