

흰쥐 뇌의 Serotonin-2 수용체 분포에 대한 자기방사법적 연구

이화여자대학교 의과대학 해부학교실
이 희 래

= Abstract =

Autoradiographic Study on the Distribution of Serotonin-2 Receptors in the Rat Brain

Hee Lai Lee

Department of Anatomy, College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

The distribution of serotonin-2 receptors in the rat brain was studied by light microscopic autoradiography, using [^3H] ketanserin as a ligand. The serotonin-2 receptor densities were quantified by an actual count of labeled silver grains from the tissue preparations. A heterogeneous distribution of serotonin-2 receptor densities was found in the rat brain.

High concentrations of serotonin-2 receptors were localized over the superior colliculus, neostriatum, amygdaloid complex and mammillary body. Intermediate concentrations were found over the dentate gyrus and visual cortex (area 17). Low densities were found over the substantia nigra and olfactory tubercle.

The observations made in this study indicate that the anatomical distribution of serotonin-2 receptor is in accord with the distribution of serotonergic innervation and the densities of serotonin-2 receptor are differences in brain area of rat.

서 론

포유류의 뇌에서 serotonin을 함유한 신경세포는 Dahlström & Fuxe¹⁾가 처음으로 흰쥐에서 관찰하였고 그 후 흰쥐^{2,3)}, 토끼⁴⁾, 고양이^{5,6)}, 및 원숭이^{7,8,9)}의 연수, 뇌교 및 중뇌등의 뇌간에서 주로 봉선핵(nuclei raphe)과 그 주위에 serotonin 신경세포가 분포함을 관찰하였다. 이들 serotonin 신경세포로부터 기원하는 상행신경섬유는 중뇌^{10,11,12,13,14)}를 비롯하여 신전조체¹⁵⁾, 시상^{10,16,17,18)}, 시상하부^{10,19)}, 후뇌계^{14,16,20,21)}

및 대뇌피질^{10,16,22)}에 투사한다고 알려져 있다.

이처럼 serotonin 신경섬유가 뇌의 여러 부위에 투사함에 따라서 이들 신경섬유가 분포한 부위에는 serotonin 수용체가 존재할 것으로 생각된다. Serotonin 수용체는 그의 약리학적 결합특성에 의하여 [^3H] 5-HT에 매우 예민하게 표지되는 serotonin 1(5-HT₁) 수용체와 [^3H]-spiperon에 매우 예민하게 표지되는 serotonin 2(5-HT₂) 수용체로 구분되고 있다²³⁾. 사람의 뇌에는 5-HT₁ 및 5-HT₂ 수용체가 존재하며^{24,25,26)} 특히 최근에는 5-HT₂ 수용체의 감소는 노인성 치매와 관련성이 있다는 보고^{27,28,29)}에 따라서 임상적으로

관심의 대상이 되고 있는 실정이다.

본 연구는 serotonin 신경섬유가 투사하고 있는 뇌의 여러 부위에서 5-HT₂ 수용체의 분포양상을 자기방사법으로 관찰하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

실험동물은 체중 250g내외의 건강한 흰쥐(Sprague Dowley) 5마리를 사용하였다. 동물들은 nembu-tal 마취하에 뇌고정대에 자리잡은 다음 serotonin 수용체에 표지시키기 위한 결합물질로서 ³H-ketan-serin(34.9Ci/mM, Janssen Life Science Products)을 50μl씩 측뇌실에 주사하였다. 뇌실내에 주사 20분후에 동물들은 각각 상행대동맥을 통하여 1% parafor-maldehyde-2% glutaraldehyde 혼합고정액으로 관류고정하였다. 2시간후 두개골을 제거하고 뇌를 적출하여 동일한 고정액에 1일간 담가두었고 완전히 고정된 뇌는 약 1mm두께의 전두단면 절편을 만들고 절편에서 후질(substantia nigra), 상구(superior col-liculus), 신선조체(neostriatum), 편도체(amygda-loid complex), 유두체(mammillary body), 치상회(dentate gyrus), 대뇌피질 시각영역(area 17) 및 후결절(olfactory tubercle) 부위 조직을 절취하였다.

절취한 조직은 1% osmium tetroxide 용액에 2시간 동안 후고정하였고 ethanol과 aceton을 이용한 소정의 탈수과정을 거친다음 epon 812에 포매하였고 60 °C oven에서 3일간 중합시켰다. 포매된 조직은 1mm 두께의 박절편을 만들고 자기방사표본을 위하여 조직절편은 slide glass에 부착시키고 이를 암실에서 40°C 기온상태의 Ilford L₄ emulsion에 담근 다음 건조시켜서 암상자에 넣고 4°C 냉장고에서 2주일간 노출시켰고 Kodak D-17 developer로 현상하였다.

표본을 관찰할 때에는 광학현미경 400배 시야에서 각 조직에 표지된 은입자의 분포양상을 확인하였고 일정한 면적내에 표지된 은입자의 수를 10회 계수하여 그의 평균치를 표지율로 삼아서 표지밀도를 비교분석하였다.

성 적

흰쥐 뇌의 여러 부위에서 표지된 은입자가 관찰되었는데 표지된 은입자의 표지율은 부위에 따라서

Table 1. Densities of ³H-Ketanserin binding sites in the rat brain

Area	No. of labeled grains/17600um ²
	Mean± SEM
Substantia nigra	59± 18.7
Sup. colliculus	127± 33.2
Neostriatum	245± 76.5
Amygdaloid complex	281± 52.0
Mammillary body	118± 10.8
Dentate gyrus	82± 22.4
Visual cortex(Area 17)	96± 25.3
Olfactory tubercle	52± 24.5

차이가 있었다(표 1).

뇌의 각 부위별로 표지된 양상을 살펴보면, 먼저 후질에서는 치밀부와 망상부 모두에서 표지된 은입자는 비교적 소수로 관찰되었다(표 1). 치밀부에 표지된 은입자는 신경세포 주위와 신경모에 고루 분포하고 있으며 때로는 은입자들이 수상돌기를 따라 열지어 배열되어 있는 경우도 있었고(그림 1), 망상부에서 은입자는 전반적으로 드물게 분산되어 있어서 치밀부보다 다소 낮은 표지율을 보였다(그림 2).

상구에서 은입자는 전반적으로 분포하였으나 중간층에서 더욱 많이 표지되는 경향을 보였고 신경모에서는 비교적 적은 수의 은입자가 분포한 반면 신경세포 주위에 더욱 밀집되는 양상을 나타내었다(표 1, 그림 3).

신선조체에서는 전부위에 걸쳐서 은입자가 고루 분포하고 있었고 신경세포 주위와 신경모내에 다수 분포하여 높은 표지율을 나타냈다. 그러나 신경섬유속이 있는 부위에서는 은입자가 거의 관찰되지 않았다(표 1, 그림 4).

편도체에서 표지된 은입자는 전체적으로 조밀하게 관찰되어 높은 표지율을 나타냈는데 외측핵이 다른 부위에 비하여 보다 조밀하게 표지된 편이었다. 신경세포와 주위 신경모내에는 비교적 고르게 표지되었다(표 1, 그림 5).

유두체에서 은입자는 내측핵과 외측핵에서 신경세포뿐 아니라 신경모에도 모두 조밀하게 표지되어 비교적 높은 표지율을 보였다(표 1, 그림 6).

치상회에서 은입자는 과립층과 분자층에 약간 많이 표지되었고 다형층에는 적게 표지되어 전체적으

로는 비교적 낮은 표지율을 보였다(표 1, 그림 7). 대뇌피질 시각영역에서 피질 전체층에서 비교적 낮은 표지율을 나타냈는데 은입자는 신경세포 주위에 보다 조밀하게 표지되는 양상을 보였으며 피질의 신경세포층에 따른 표지은입자의 밀도 차이는 인정할 수 없었다(표 1, 그림 8).

후결절에서 은입자는 신경세포와 신경모에 드물게 표지되어 낮은 표지율을 나타냈으며 이러한 소견은 후결절 전반에 걸쳐 거의 비슷하였다(표 1, 그림 9).

고 찰

Serotonin 신경섬유가 투사하고 있는 뇌의 부위에서 serotonin-2 수용체의 분포양상을 확인하기 위하여 ^3H -ketanserin을 뇌실내에 주입한 결과 상구, 신선조체, 편도체 및 유두체에서는 은입자의 높은 표지율을 보였고, 치상회 및 대뇌피질 시각영역에서는 중등도의 표지율을, 그리고 후질 및 후결절에서는 낮은 표지율을 나타내었다.

이처럼 ^3H -ketanserin 주입에 의하여 은입자가 표지된 것은 ^3H -ketanserin이 5-HT₂ 수용체에 선택적으로 결합되는 길항제^{29,30)}이므로 뇌의 각 부위에 존재하는 5-HT₂ 수용체에 ^3H -ketanserin이 결합됨으로서 나타낸 결과임을 알 수 있다.

그런데 뇌의 각 부위별로 은입자의 표지율은 뚜렷한 차이를 나타내었다. 이결과는 사람의 뇌에서 5-HT₂ 수용체의 밀도가 유두체, 편도체 및 기저핵 부위에서는 높고 후질 및 후결절등에서는 낮다는 보고²⁶⁾와 매우 유사한 경향이였다. 이처럼 표지율이 차이를 나타낸 사실은 Chan-Palay & Palay³²⁾의 견해에 의하면 자기방사법에 의하여 표지된 은입자와 실제로 존재하는 수용체는 서로 숫적으로 반드시 1:1의 비율로 존재한다고 생각할수 없으나 실제적으로는 표지된 은입자와 수용체의 수는 어느 정도 비례관계를 갖고 있을 것으로 추측된다. 따라서 표지율이 높게 나타난 부위는 5-HT₂ 수용체가 조밀하게 존재하는 것으로 생각되며 결과적으로 뇌는 부위에 따라서 5-HT₂ 수용체 분포에 차이가 있는것으로 생각된다.

이러한 5-HT₂ 수용체 분포의 차이는 해당 부위에 있는 serotonin 신경섬유의 분포면적이나 또는 serotonin 대사 활동의 차이에서 기인하는 것으로 생각

되어 5-HT₂ 수용체의 밀도와 신경섬유와의 상호관련성을 추측할 수 있으나 확인하기는 곤란하다. 본 실험에서는 serotonin 신경섬유가 비교적 풍부하게 분포하는 부위로 알려진 신선조체, 유두체 및 편도체^{31,10)}에서 5-HT₂ 수용체의 표지율은 높았으나 역시 serotonin 신경섬유가 풍부한 후질^{31,10,33)}에서는 5-HT₂ 수용체의 표지율이 낮게 나타났고 또 사람의 뇌에서 serotonin 신경섬유가 많은 봉선핵, 시상 및 후결에서 5-HT₂ 수용체의 밀도가 낮았다는 보고는 5-HT₂ 수용체의 밀도가 serotonin 신경섬유와의 관련성을 설명하는데 문제점이 되므로 이 분야에 대해서는 앞으로 더욱 연구되어야 할 과제라 하겠다.

그러나 흰쥐 뇌에서 해부학적으로 serotonin 신경섬유가 분포하는 모든 부위서 ^3H -ketanserin에 의하여 표지된 은입자가 관찰되었으므로 serotonin 신경섬유가 분포한 부위에서 모두 5-HT₂ 수용체가 존재함을 알 수 있다.

한편 본 실험에서 변연계에 속하는 유두체 및 편도체는 물론 5-HT₂ 수용체의 밀도가 높았고 치상회에서도 비교적 높은 점은 5-HT₂ 수용체가 변연계의 기능, 즉 내장감각을 비롯하여 정서활동 및 기억등의 기능 조절에 깊이 관여할 것으로 추측되며 또 시각기능과 관련있는 부위인 상구와 대뇌피질 시각영역에도 5-HT₂ 수용체가 상당히 분포하는 사실은 매우 흥미있는 결과로서 이 문제들도 더욱 검토되어야 할 과제라고 생각한다.

결 과

흰쥐의 측뇌실에 ^3H -ketanserin을 주입한 다음 뇌의 후질, 상구, 신선조체, 편도체, 유두체, 치상회, 대뇌피질 시각영역 및 후결절에서 serotonin-2(5-HT₂) 수용체의 분포양상을 광학현미경 자기방사법으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

뇌조직에서 ^3H -ketanserin에 의한 표지 은입자는 상구, 신선조체, 편도체 및 유두체에서 매우 조밀하게 표지되었고, 치상회 및 대뇌피질 시각영역에서는 비교적 중등도로, 그리고 후질 및 후결절에서는 낮은 밀도로 표지되었다.

이러한 사실에 의하여 흰쥐 뇌에서 5-HT₂ 수용체의 해부학적 분포는 serotonin 신경섬유의 분포 부위와 일치하며, 5-HT₂ 수용체의 밀도는 뇌 부위에 따라서

차이가 있는 것으로 생각한다.

References

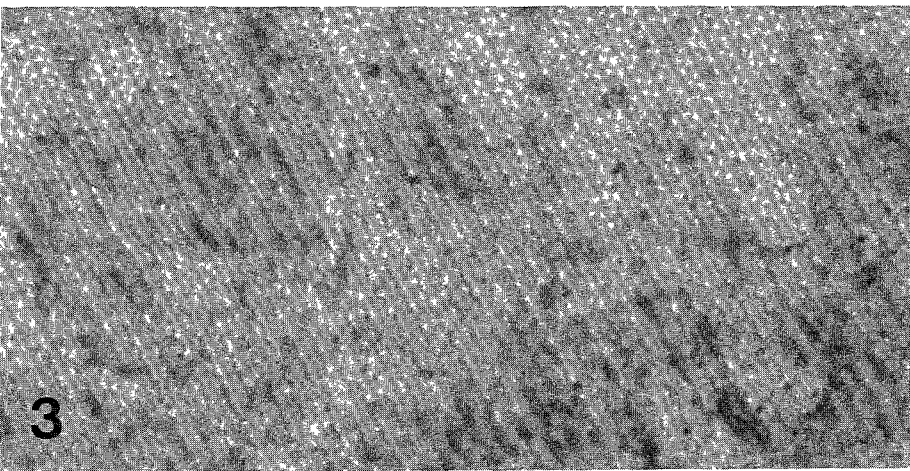
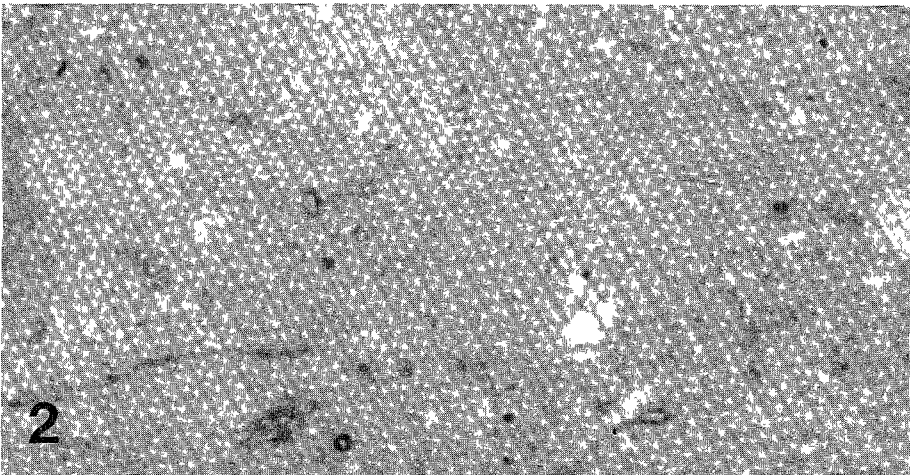
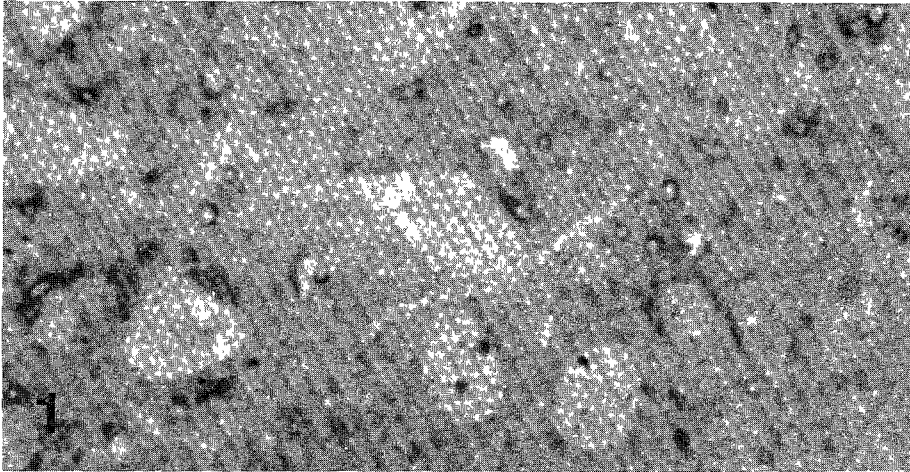
- 1) Dahlström A, Fuxe K : *Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. 1. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. Acta Physiol Scand* 1964 ; 62, Suppl 232 : 1-55
- 2) Lidov HGW, Grzanna R, Molliver ME : *The serotonin innervation of the cerebral cortex in the rat-An immunohistochemical analysis. Neuroscience* 1980 ; 5 : 207-227
- 3) Steinbusch HWM : *Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat. Cell bodies and terminals. Neuroscience* 1981 ; 6 : 557-618
- 4) Felten DL, Cummings JP : *The raphe nuclei of the rabbit brain stem. J Comp Neurol* 1979 ; 187 : 199-244
- 5) Wiklund L, Leger L, Persson M : *Monoamine cell distribution in the cat brain stem. A fluorescence histochemical study with quantification of indolaminergic and locus coeruleus cell groups. J Comp Neurol* 1980 ; 203 : 613-647
- 6) Jacobs BL, Gannon PJ, Azmitia EC : *Atlas of serotonergic cell bodies in the cat brainstem : an immunocytochemical analysis. Brain Res Bull* 1984 ; 13 : 1-31
- 7) Saavedra JP, Pausek T, Pasik P : *Immunohistochemistry of serotonergic neurons in the central nervous system of monkey, IBRO monograph series, Raven Press, New York* 1982 ; 19 : 81-96
- 8) Takeuchi Y, Kimura H, Matsunra T, Sano Y : *Immunohistochemical demonstration of the organization of serotonin neurons in the brain of the monkey. Acta Anat (Basel)* 1982 ; 114 : 106-124
- 9) Felten DL, Sladek JR, Jr : *Monoamine distribution in primate brain v. monoaminergic nuclei. Anatomy : pathways and local organization. Brain Res bull* 1983 ; 10 : 171-284
- 10) Bobillier P, Seguin S, Petitjean F, Salvart D, Touret M, Jouvet M : *The raphe nuclei of the cat brain stem : a topographical atlas of their efferent projections as revealed by autoradiography. Brain Res* 1976 ; 113 : 449-486
- 11) Taber Pierce E, Foote WE, Hobson JA : *The efferent connection of the nucleus raphe dorsalis. Brain Res* 1976 ; 107 : 137-144
- 12) Palkovits M, Saavedra JM, Jacobowitz DM, Kizer JS, Zaborszky L, Brownstein MJ : *Serotonergic innervation of the forebrain : effect of lesions on serotonin and tryptophan hydroxylase levels. Brain Res* 1977 ; 130 : 121-134
- 13) Fibiger HC, Miller JJ : *An anatomical and electrophysiological investigation of the serotonergic projection from the dorsal raphe nucleus to the substantia nigra in the rat. Neuroscience* 1977 ; 2 : 975-987
- 14) Parent A, Descarries L, Beaudet A : *Organization of ascending serotonin systems in the adult rat brain. A radioautographic study after intraventricular administration of [³H] 5-hydroxytryptamine. Neuroscience* 1981 ; 6 : 115-138
- 15) Van der Kooy D, Hattori T : *Dorsal raphe cells with collateral projections to the caudate-putamen and substantia nigra : A fluorescent retrograde double labeling study in the rat. Brain Res* 1980 ; 186 : 1-7
- 16) Moore RY, Halaris AE, Jones BE : *Serotonin neurons of the midbrain raphe : ascending projections. J Comp Neurol* 1980 ; 180 : 417-438
- 17) Mantyh PW, Kemp A : *The distribution of putative neurotransmitters in the lateral geniculate nucleus of the rat. Brain Res* 1983 ; 288 : 344-348
- 18) Cropper EC, Eisenman JS, Azmitia EC : *An immunocytochemical study of the serotonergic innervation of the thalamus of the rat. J Comp Neurol* 1984 ; 224 : 38-50
- 19) Bobillier P, Seguin S, Degueurce A, Lewis BD, Pujol J-F : *The efferent connections of the nucleus raphe centralis superior in the rat as revealed by autoradiography. Brain Res* 1979 ; 166 : 1-8
- 20) Azmitia EC, Segal M : *An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. J Comp Neu-*

- rol 1978 ; 179-641-668
- 21) Moore RY, Halaris AE : *Hippocampal innervation by serotonin neurons of the midbrain raphe in the rat. J Comp Neurol* 1975 ; 164 : 171-183
 - 22) Fuxe K, Jonsson G : *Further mapping of central 5-hydroxytryptamine neurons : studies with the neurotoxic dihydroxytryptamines. In : Costa E, Gessa GL, Sandler M(eds) Advances in Biochemical Psychopharmacology, Raven Press, New York* 1974 ; 10 : 1-12
 - 23) Peroutka SJ, Snyder SH : *Multiple serotonin receptors : differential binding of [³H]5-hydroxy tryptamine, [³H]lysergic acid diethylamide and [³H]spiperidol. Molec Pharmac* 1979 ; 16 : 687-699
 - 24) Hoyer D, Pazos A, Palacios JM : *Serotonin receptors in the human brain. I. Characterization and autoradiographic localization of 5-HT_{1A} recognition sites. Apparent absence of 5-HT_{1B} recognition sites. Brain Res* 1986 ; 376 : 85-96
 - 25) Pazos A, Probst A, Palacios JM : *Serotonin receptors in the human brain. III. Autoradiographic mapping of serotonin-1 receptors. Neuroscience* 1987a ; 21(1) : 96-122
 - 26) Pazos A, Probst A, Palacios JM : *Serotonin receptors in the human brain. IV. Autoradiographic mapping of serotonin-2 receptors. Neuroscience* 1987b ; 21(1) : 123-139
 - 27) Cross AJ, Crow TJ, Ferrier IN, Johnson JA, Bloom SR, Corsellis JAN : *Serotonin receptor changes in dementia of the Alzheimer type. J Neurochem* 1984 ; 43 : 1574-1581
 - 28) Perry RH, Candy JM, Perry EK, Thompson J, Oakley AE : *The substantia innominata and adjacent regions in the human brain : histochemical and biochemical observations. J Anat* 1984 ; 138 : 713-732
 - 29) Reynolds GP, Arnold L, Rossor MN, Iverson LL, Mountjoy CQ, Roth M : *Reduced binding of ³H-Ketanserin to cortical 5-HT₂ receptors in senile dementia of the Alzheimer type. Neurosci Lett* 1984 ; 44 : 47-51
 - 30) Leysen JE, Niemegeers CJE, Van Nueten JM, Laduron PM : [³H] Ketanserin(R 41468), a selective ³H-ligand for serotonin₂ receptor binding sites. *Molec Pharmac* 1982 ; 21 : 301-314
 - 31) Schotte A, Maloteaux JM, Laduron PM : *Characterization and regional distribution of serotonin-S₂-receptors in human brain. Brain Res* 1983 ; 276 : 231-235
 - 32) Chan-Palay V, Palay SL : *Ultrastructural localization of γ-aminobutyric acid receptors in the mammalian central nervous system by means of ³H-muscimol binding Proc Natl Acad Sci* 1978 ; 75 : 2977-2980
 - 33) Jacobs BL, Gannon PL, Azmitia EC : *Atlas of serotonergic cell bodies in the cat brain stem. an immunocytochemical analysis. Brain Res Bull* 1984 ; 13 : 1-31

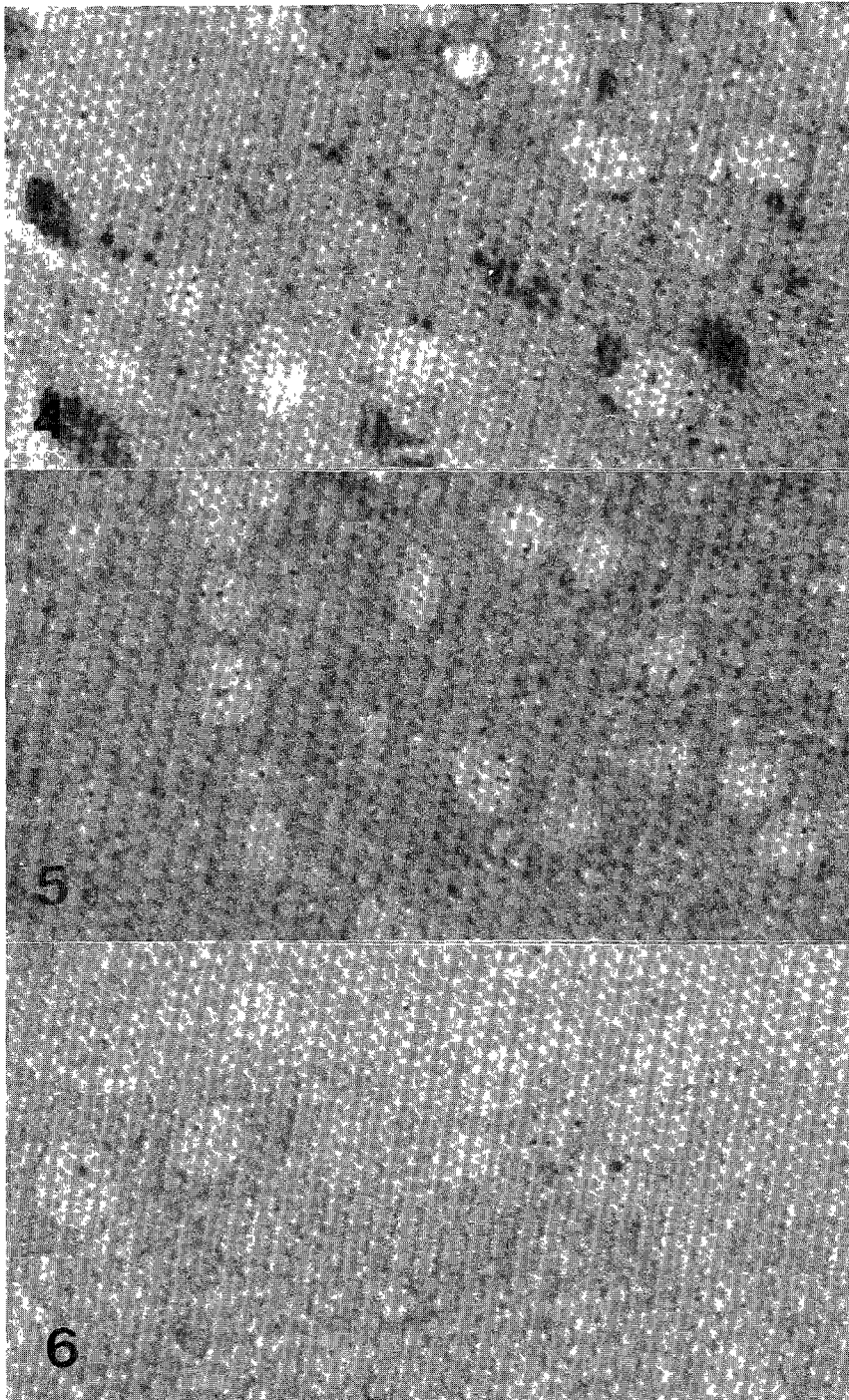
Legends of Figures

- Fig. 1. Pars compacta portion of substantia nigra. Some labeled silver grains are seen on the nerve cells and neuropil. 800×.
- Fig. 2. Pars reticularis portion of substantia nigra. Silver grains are sparsely labeled on the neuropil. 800×.
- Fig. 3. A part of superior colliculus. A lot of labeled silver grains are seen on the nerve cells. 800×.
- Fig. 4. A part of neostriatum. Many silver grains are seen on the nerve cells and neuropil. 800×.
- Fig. 5. A part of amygdaloid complex. Silver granis are densely labeled throughout the tissue. 800×.
- Fig. 6. A part of mammillary body. Many silver grains are seen on the nerve cells. 800×.
- Fig. 7. A part of dentate gyrus. Many silver grains are seen on the nerve cells of graular layer(G) and on the dendrites of molecular layer(M). 800×.
- Fig. 8. A part of visual cortex(area 17). Some silver grains are seen on the nerve cell body and neuropil. 800×.
- Fig. 9. A part of olfactory tubercle. Several silver grains are seen on the nerve cells. 800×.

□ 이회래 논문 사진 부도 ① □



□ 이희래 논문 사진 부도 ② □



□ 이희래 논문 사진 부도 ③ □

