

흰쥐 어금니 치수에서 Peripherin 발현 축삭의 분포

김태현, 배용철, 양은선

경북대학교 치의학전문대학원 구강해부학교실

(2013년 2월 13일 접수, 2013년 3월 8일 수정접수, 2013년 3월 13일 게재승인, Published Online 30 March 2013)

간추림 : 치아 내에 존재하는 축삭들은 대부분 민말이집 축삭들과 일부 작은말이집 축삭들로 구성되어 있다. 이러한 축삭들은 각각 다른 통증전도에 관련되어 있으며, 축삭들의 종류에 따라 다양한 신경전달물질들과 수용체들을 함유하고 있다. 그러나 치수 내에 존재하는 다양한 축삭들의 분포양상과 종류에 따른 특징들에 대해 아직 정확하게 알려진 바가 없다.

이 연구에서 민말이집 축삭과 작은말이집 축삭들의 표지자인 peripherin을 발현하는 축삭들의 치수 내 분포양상을 알아보기 위해, 흰쥐의 위턱 어금니 치수를 대상으로 peripherin항체를 사용하여 면역조직화화법을 실시하였다.

Peripherin 면역양성 축삭들은 대부분 치수 가쪽 영역에 분포하였으며, 일부는 상아질모세포층에도 분포하였다. 또한, neurofilament200을 함유한 peripherin 면역양성 축삭들은 치수머리영역 중심부 ($79.3 \pm 2.8\%$)와 신경얼기 영역 ($78.6 \pm 1.9\%$)에 비해 상아질모세포층에서 공존율 ($86.3 \pm 3.0\%$)이 유의하게 높게 나타났으며 CGRP를 함유한 peripherin 면역양성 축삭들은 치수머리영역 중심부 ($37.7 \pm 10.1\%$)와 신경얼기부분 ($40.0 \pm 5.7\%$)에 비해 상아질모세포층에서 유의하게 낮은 공존율 ($17.7 \pm 5.0\%$)을 나타냈다.

이상의 결과들은 치수 내에 존재하는 축삭들 중 작은말이집 축삭들은 상아질모세포층 영역에서 통증전달에 관여하며, 펩타이드성 민말이집 축삭들은 주로 치수머리부분의 중심부와 신경얼기 영역에서 통증전달에 관여할 것이라는 것을 시사한다.

찾아보기 낱말 : Peripherin, 신경분포, 치수

서 론

치아는 여러 자극에 의해 극심한 통증이 빈발하는 부위이며, 감각신경들이 풍부하게 분포하고 있어 통증 연구모델로 많이 활용되고 있다. 치수(dental pulp) 내에 존재하는 축삭(axon)들은 대부분 삼차신경절(trigeminal ganglion)에서 투사되는 감각신경축삭으로 구성되어 있으며 이들의 대부분은 민말이집 C 축삭(unmyelinated C axon)과 일부 작은말이집 A δ 축삭(small myelinated A δ axon)으로 구성되어 있으며, 소수의 큰말이집

A β 축삭(large myelinated A β axon)도 존재한다고 알려져 있다[1,2]. 이러한 축삭들 중 치수 내 대부분을 차지하는 민말이집 축삭과 작은말이집 축삭은 각기 다른 통증을 전도한다고 알려져 있다. 민말이집 축삭은 염증 등과 같은 치수에 직접적으로 가해지는 자극에 의해 활성화되며, 둔한 통증(dull pain)과 작열감(burning pain)을 매개하는 반면, 작은말이집 축삭은 상아질 노출에 의한 자극(drilling 또는 air drying)을 통해 활성화되며, 극심하고(acute) 날카로운 통증(sharp pain)을 매개한다[3,4]. 따라서, 어떤 형태의 축삭이 치수의 어느 부분에서 발현되는가를 이해하는 것은, 염증이나 신경손상 시 발생하는 치수 과민화 현상을 연구하는데 중요하다.

Neurofilament200 (NF200)은 말이집 축삭의 표지자로 널리 사용되고 있다[5,6]. 그러나 최근 전자현미경학에 의한 연구는 성취의 치수에서 NF200 면역양성 신경 섬유가 다수 민말이집 축삭에 분포하며, 이는 삼차신경

*이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임(No. 2012 R1A1A3007549 to YES)
저자(들)는 '의학논문 출판윤리 가이드라인'을 준수합니다.

저자(들)는 이 연구와 관련하여 이해관계가 없음을 밝힙니다.

교신저자: 양은선(경북대학교 치의학전문대학원 구강해부학교실)

전자우편: yes95@hanmail.net

절에서 유래한 말미집 축삭이 치수의 가쪽(peripheral) 부위로 가지를 내면서 형태학적 변화를 수반함으로써 야기된다고 보고하고 있다[7].

치수 내에 분포하는 축삭들은 많은 신경전달물질들을 포함하고 있으며, 그 중에서 CGRP는 염증성 동통과 관련된 신경전달물질로써 주로 펩타이드성 민말미집 혹은 작은 말미집 축삭에서 발현된다[8,9]. 본 연구에서는 흰쥐 어금니 치수에서 신경섬유의 분포에 따른 신경전달에 관한 기능적인 의미를 이해하고자, 통각을 전달하는 신경섬유인 민말미집 신경섬유와 작은말미집 신경섬유에서 발현되는 peripherin [10,11], NF200, 그리고 CGRP항체를 이용하여 면역형광염색을 실시한 후, 이들의 발현양상과 공존률을 정량분석하였다.

재료 및 방법

이 연구와 관련하여 수행한 실험동물의 보호 및 처치는 경북대학교 동물실험윤리위원회에서 승인을 받아서 진행하였다.

본 연구에서는 몸무게 300~330 g 사이의 Sprague-Dawley계 흰쥐 3마리를 사용하였다. 실험동물을 sodium pentobarbital (80 mg/kg, i.p.)을 사용하여 깊이 전신마취를 시키고 오름대동맥을 통하여 100 mL의 헤파린을 함유한 생리식염수로 혈관 내 혈액을 제거한 후, 400 mL의 4% paraformaldehyde (PFA, in 0.1 M Phosphate buffer, pH 7.4)를 사용하여 관류고정을 시행하였다. 관류고정 후 위턱 어금니에서 치과용 절삭기구를 사용하여 치아 경조직을 제거한 다음 치수를 분리하였다. 분리한 치수는 인산완충용액 (Phosphate buffer; PB)에 10분간 3회 세척하였으며, 동결에 의한 손상을 최소화하기 위해 30% sucrose 용액에 약 16시간 동안 처리한 후, 동결절편기를 이용하여 30 μ m 두께의 절편을 제작하고 형광면역조직 화학법을 시행하였다. 형광면역염색 과정의 모든 반응은 실온에서 그리고 진탕을 하면서 시행하였다. 조직절편 내 항체의 침투를 용이하게 하기 위해 50% ethanol에 30분간 절편을 침적하였으며, 0.01 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 5분간 3회 세척한 후 10% normal donkey serum (NDS, Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA)에서 30분간 반응시켜 비특이적 반응을 최소화하도록 하였다. 그 후 peripherin 항체 (1:100; Goat anti-peripherin, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), neurofilament200 항체 (1:5000; Mouse anti-neurofilament200, Sigma, St. Louis, USA), CGRP 항체 (1:1000;

Rabbit anti-CGRP, Immunostar, Hudson, WI)를 16시간 동안 처리하였으며, 0.01 M PBS로 치수 절편을 10분간 3회 세척한 다음, 2% NDS로 30분간 반응하였다. 이후 2차 항체로서 형광물질이 결합된 항체 (Cy3-conjugated donkey anti-goat IgG antibodies, FITC-conjugated donkey anti-mouse IgG antibodies, FITC-conjugated donkey anti-rabbit IgG antibodies; 1:200, Jackson ImmunoResearch)를 3시간 반응시킨 후, 0.01 M PBS 및 증류수로 다시 10분간 3회씩 세척한 다음 형광용 슬라이드 위에 절편을 올린 후 공초점레이저주사현미경 (LSM510META; Carl Zeiss, Gottingen, Germany)으로 관찰 및 분석을 실시하였다. 이들 현미경 영상은 TIFF 확장자 파일로 저장하였으며, Adobe Photoshop 7.0 (Adobe System, San Jose, CA)을 이용하여 명도와 대비를 조정하였다.

흰쥐의 위턱 어금니 치수에서 peripherin 면역양성 축삭과 CGRP 혹은 NF200 면역양성 축삭간의 공존을 확인을 위해 다음과 같은 정량분석을 실시하였다. 흰쥐 3마리의 어금니에서 얻은 9개의 치수절편에서 치수 중심부, 관상치수 가쪽 (plexus of Raschkow), 상아질모세포층 영역별로 각 3장씩의 이미지를 채득한 후, 사진을 통해 분석하였다. 이 사진은 치수머리부분의 중심부와 가쪽에서 공초점레이저주사현미경을 이용하여 40 \times /1.2 NA objectives (1 μ m of optical slice thickness)로 촬영하였다. 촬영된 이미지에서 peripherin 면역양성 축삭과 CGRP를 함유한 peripherin 면역양성 축삭, peripherin 면역양성 축삭과 NF200을 함유한 peripherin 면역양성 축삭의 수를 헤아림으로써 공존율을 측정하였다. 그리고 축삭들간의 정확한 공존을 확인하기 위해 z-series images를 이용하여 다시 한번 확인하였다.

치수 내 영역 구분을 위해 이미지상에서 밝기와 대비 값을 조정하여 상아질모세포층을 경계로 구분하였다. 또한, 망상으로 분포하는 치수 내 축삭들의 중복산정 오류를 최대한으로 줄이기 위해 연속으로 자른 절편에서 4장 간격으로 절편을 획득하여 실험을 실시하였다. 치수 영역별 측정 결과에 대한 통계학적 분석과 비교는 one-way ANOVA (Scheffe 검정)를 사용하여 신뢰수준 95%에서 실시하였다.

결 과

흰쥐 위턱 어금니 치수에서 peripherin에 대한 면역반응은 치수뿌리영역에서 치수머리영역에 이르기까지 선형대로 나타났으며, 염주알(varicosity) 모양과 같은 형태

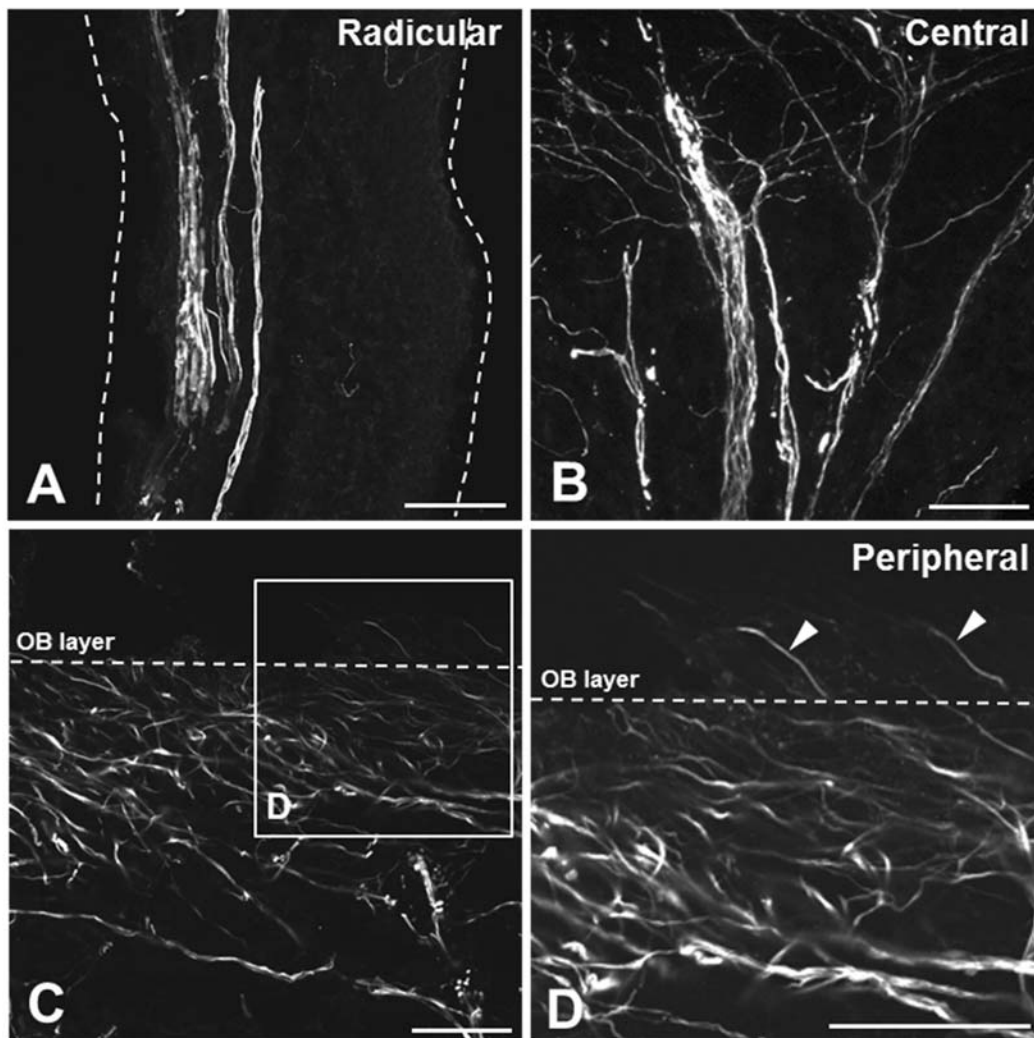


Fig. 1. Photomicrograph showing peripherin+ axons in the rat maxillary molar pulp. A: Peripherin+ axons run within the axon bundle of the radicular pulp where they usually do not branch. B: Peripherin+ axons branch to the peripheral region in the central portion of the coronal pulp. C: Peripherin+ axons form plexus in the peripheral pulp. D: Some peripherin+ axons (arrowheads) run into the odontoblast layer of the peripheral pulp. D is higher magnification of the rectangle in the C. Scale bars=50 μ m (A, B), 25 μ m (C, D). OB layer: odontoblast layer.

는 관찰되지 않았다. 또한 치수 내 다른 조직에서 면역양성은 관찰되지 않았다.

Peripherin 면역양성 축삭은 치수뿌리 (radicular pulp) 부분에서는 대부분 가지를 거의 내지 않은 채 치수머리 영역으로 다발 형태를 이루어 주행하며, 소수 peripherin 면역양성 축삭은 치수뿌리 영역에서 날가지 (single fiber) 로 존재하였다 (Fig. 1A). 이들 축삭은 치수의 중심부에서 치수 가쪽 (peripheral pulp) 으로 여러 갈래로 나뉘어 주행한 후 (Fig. 1B), 상아질모세포층 (odontoblast layer) 의 아래쪽에서 신경얼기 (plexus) 를 형성하였고 (Fig. 1C), 일부는 상아질모세포층 사이로 주행하는 것을 관찰하

였다 (Fig. 1D).

Peripherin 면역양성 축삭들 (Fig. 2A and 2D) 의 대다수는 NF200 (Fig. 2B and 2E) 에 대해서도 면역양성 반응을 보였다. 치수머리 부분의 중심부 (core; Fig. 2C-III and 2F) 에서의 공존율 (NF200면역양성/peripherin면역양성) 은 약 $79.3 \pm 2.8\%$ (297/375) 였고, 신경얼기 (Fig. 2C-II) 에서의 공존율은 $78.6 \pm 1.9\%$ (363/462) 로써 중심부 및 신경얼기부위 사이에서 공존율은 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 상아질모세포층 (Fig. 2C-I and 2F) 에서의 공존율은 약 $86.3 \pm 3.0\%$ (252/292) 로 앞의 다른 두 부위에 비해 유의하게 높았다 ($P < 0.05$; Fig. 4).

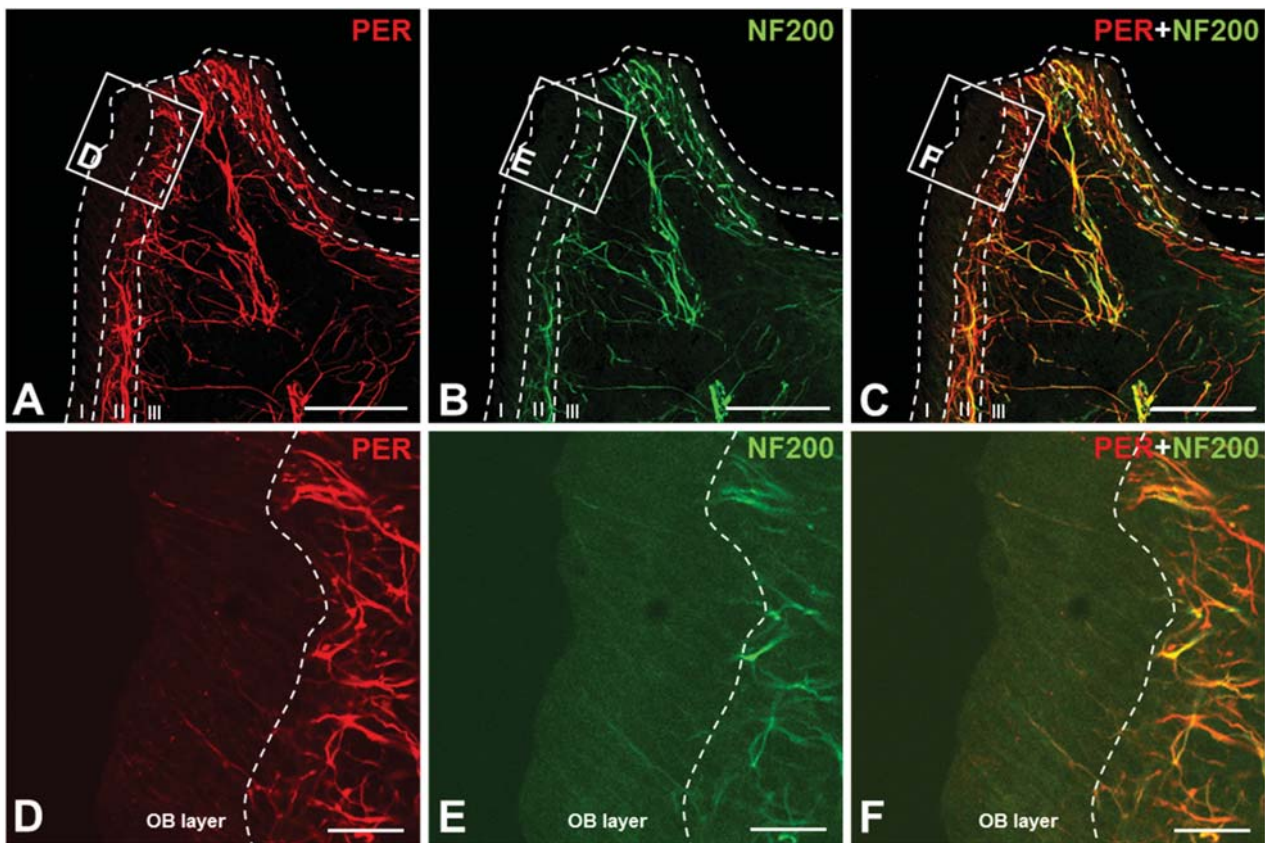


Fig. 2. Photomicrographs showing colocalization of peripherin+ axons with NF200 in the rat maxillary molar pulp. A~C: Immunostaining of rat molar pulp reveal almost peripherin+ axons colabeled with NF200 in pulpal horn (A: red, peripherin, B: green, NF200, C: yellow, colabeled). D~F: D, E, F are higher magnifications of the boxed areas in the A, B, C, respectively showing peripherin and NF 200 immunopositive axons in peripheral region. Peripherin+ axons are colabeled with NF200+ fibers in peripheral region. Scale bars=50 μ m (A~C), 10 μ m (D~F). I: odontoblast layer, II: plexus, III: core. OB layer: odontoblast layer.

Peripherin을 발현하는 신경섬유들 (Fig. 3A and 3D) 중 CGRP를 발현하는 신경섬유들 (Fig. 3B and 3E)은 치수머리 중심부 (Fig. 3C and 3F-III)와 신경얼기 (Fig. 3C and 3F-II)에서는 각각 약 $37.7 \pm 10.1\%$ (143/381), $40.0 \pm 5.7\%$ (190/474)였으나, 상아질모세포층 (Fig. 3C and 3F-I)에서는 약 $17.7 \pm 5.0\%$ (54/305)로 다른 두 부위에 비해 유의하게 낮은 공존율을 보였다 ($P < 0.05$; Fig. 4).

고 찰

이 연구를 통하여 치수 내에서 발현하는 peripherin 면역양성 축삭들은 1) 대부분 신경얼기와 상아질모세포층에서 밀집되어 분포하고, 2) peripherin 면역양성 신경섬유들의 대부분이 NF200에 대하여 면역양성 반응을 나타내며, 특히 상아질모세포층에서 보다 높은 공존율

을 나타낸 반면, 3) CGRP와의 공존율은 상아질모세포층에서 유의하게 낮아진다고 밝혔다.

이전 보고에 의하면 말초신경계에서 peripherin 면역양성 반응은 작거나 중간 크기의 뒤뿌리신경절 (dorsal root ganglion, DRG) 신경원의 세포체에서 대부분 나타나고 [10], 이러한 형태학적 특징을 나타내는 DRG의 신경원은 일반적으로 전기생리학적으로 민말이집 C 신경섬유 혹은 작은말이집 A δ 신경섬유를 가지는 통증전도 감각신경세포체가 대다수인 것으로 알려져 있다 [12]. 또한 Ho와 O'Leary [13]에 의하면 DRG에서 단세포배양을 하여 RT-PCR을 통한 peripherin을 발현하는 신경세포체의 크기를 분석한 결과 큰 신경세포체 ($> 30 \mu$ m)에 비해 작은 신경세포체 ($< 25 \mu$ m)에서 1.5배 더 많이 발현하였다고 보고하였으며, 이를 통해 peripherin은 작거나 중간 크기의 신경세포체에서 발현함을 유추할 수 있다. 민말이집 축삭과 작은말이집 축삭은 통각을 전달

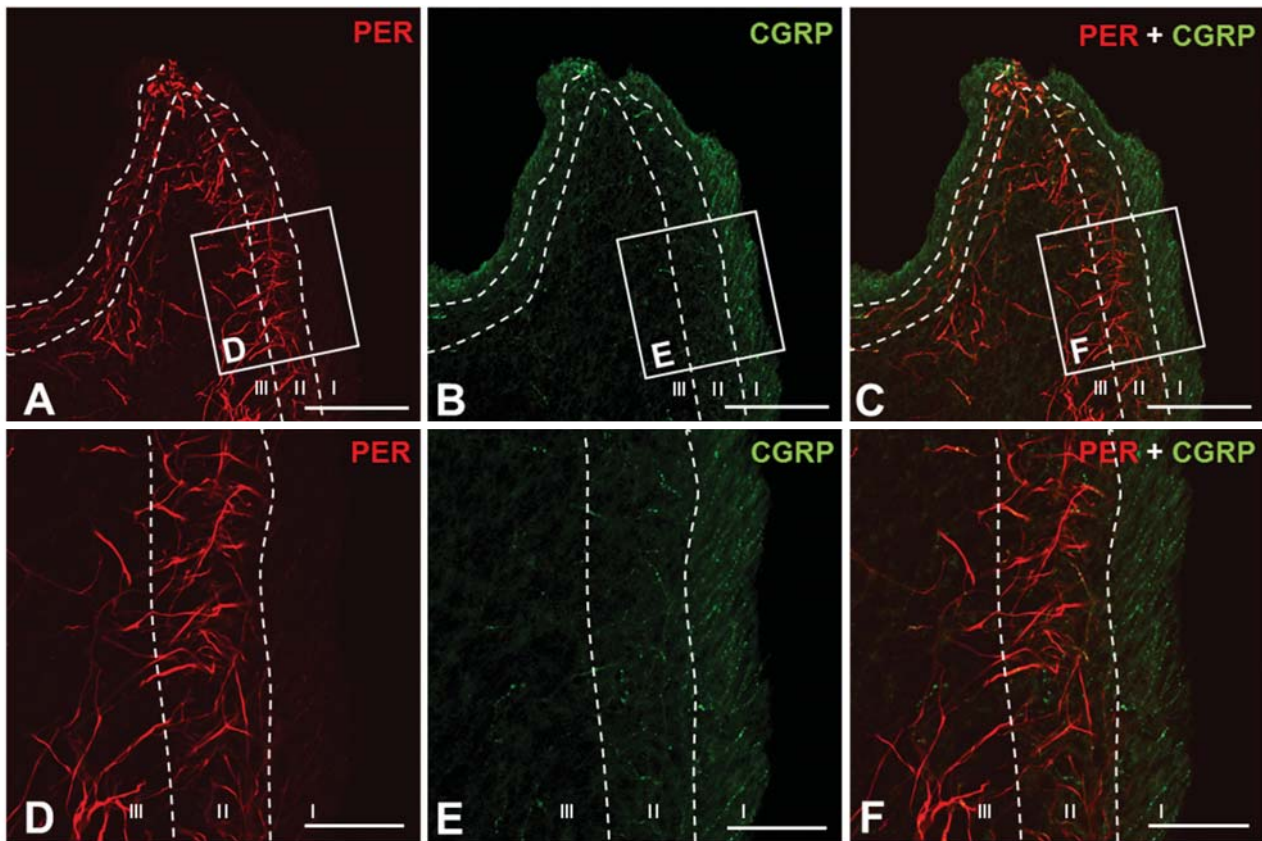


Fig. 3. Photomicrographs showing colocalization of peripherin+ fibers with CGRP in the rat maxillary molar pulp. A~C: Some peripherin+ axons show colocalization with CGRP in the pulp horn (A: red, peripherin, B: green, CGRP, C: yellow, colabeled). D~F: D, E, F are higher magnifications of the boxed areas in the A, B, C, respectively showing colocalization of peripherin+ axon with CGRP in the peripheral region. Scale bars=50 μ m (A~C), 10 μ m (D~F). I: odontoblast layer, II: plexus, III: core.

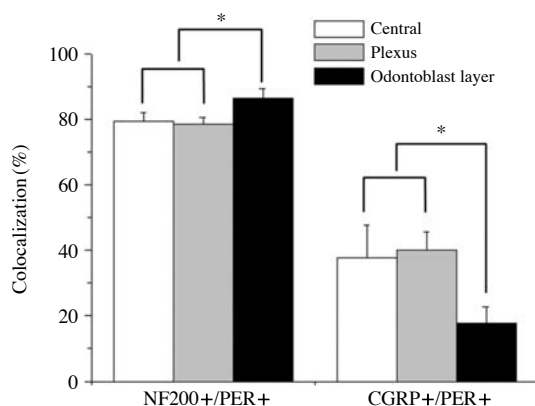


Fig. 4. Histogram showing colocalization (%) of peripherin+ axon with neurofilament200 (NF200) or CGRP in rat maxillary molar. Proportion of peripherin+ axons showing colocalization with NF200 is significantly higher in the odontoblast layer than in the central and plexus regions. Proportion of peripherin+ axons showing colocalization with CGRP is significantly lower in the odontoblast layer region than in the central and plexus regions (One-way ANOVA, $P < 0.05$).

하는데 관여하는 신경축삭들이다. 민말이집 축삭은 둔하게 느끼는 통증(dull), 작열감(burning pain)을 매개하며 치수자극에 의해 활성화되는 축삭이며, 작은말이집 축삭은 날카로운 통증(sharp pain), 급성통증을 매개하는 축삭이다[3,4]. 따라서 peripherin 면역양성 축삭들은 민말이집 축삭과 작은말이집 축삭이므로 이러한 축삭들에 의한 통증을 전달할 것으로 추측된다.

본 연구에서 peripherin 면역양성 축삭들은 치수머리 영역의 신경얼기(plexus of Raschkow)와 상아질모세포층에 주로 분포되어 있었다. 이러한 분포양상은 Veerayutthwilai 등[14]의 보고와 유사하며, 이는 이들 대다수가 주로 치수 가쪽의 신경얼기부위, 상아질모세포층부위에서 통증 전도와 관련한 기능을 주로 수행할 것이라는 것을 나타낸다.

Peripherin은 주로 작거나 중간크기의 신경세포체와 그들의 민말이집 축삭과 작은말이집 축삭에서 발현하는 반면, NF200은 중간 크기와 큰 크기의 신경세포체

와 이들로부터 유래하는 말이집 축삭에서 발현한다[10, 15]. 또한, Goldstein 등[10]은 peripherin과 neurofilament 모두를 발현하는 DRG 신경세포체는 전체 신경세포체의 약 5.6%이며, 이들 대부분은 작은말이집 축삭을 가진 중간크기의 신경세포체라고 보고하였다. 이러한 보고와 peripherin 면역양성 축삭들은 대다수 NF200을 발현한다는 본 연구의 결과를 고려하면, 삼차신경절에서도 peripherin과 NF200을 발현하는 중간 크기의 신경세포체가 소수 존재할 가능성이 있으며, 이들로부터 유래하는 작은말이집 축삭들이 치수로 투사할 것이라는 점을 시사한다. 이는 Paik 등[7]이 흰쥐 어금니 치수로 투사하는 삼차신경절 인접부의 축삭은 대다수 작은말이집 축삭이라는 보고와 일치한다. 또한 이 연구에서 peripherin과 NF200을 공히 발현하는 축삭들이 치수뿌리 영역과 신경얼기 영역에 비해 상아질모세포층부위에서 훨씬 더 많이 분포하였다는 결과는 치수로 투사된 작은말이집 축삭들이 상아질모세포와의 상호작용을 통한 odontogenic pain 혹은 hydrodynamic theory와 같은 상아세관 내에서의 액체이동에 의한 통증전달에 크게 기여할 것임을 시사한다[16,17].

CGRP는 주로 염증성 동통전달에 관련된 신경전달물질로서, 펩타이드성 민말이집 혹은 작은 말이집 축삭 표지자로 많이 사용되며[8,9], 혈관확장, 대식세포와 백혈구 조절 등의 면역작용에 관여한다고 알려져 있다[18,19]. 또한 치수에 염증이 발생하였을 때 CGRP 면역양성 축삭들은 염증부위에서 급격히 그 수가 증가하는 sprouting 현상을 보임으로써 치수염에 따른 염증성 통각과민에 깊이 관여하는 물질로 알려져 있으며[20-22], 이러한 sprouting이 이차상아질형성과 재생과정에 관여할 것이라는 주장도 제시된 바 있다[22,23].

본 연구에서 peripherin 면역양성 축삭들 중 CGRP를 함유한 축삭들이 다수(약 40%) 존재하였으며, 상아질모세포층 아래 신경얼기 영역에서 CGRP를 함유한 peripherin 면역양성 축삭이 많고 상아질모세포층 영역에서는 적게 관찰되었다. 이는 치수 내에 분포하는 민말이집 혹은 작은말이집 축삭들 중 40%는 CGRP를 함유한 펩타이드성 축삭이며, 이들은 주로 신경얼기 그리고 일부 상아질모세포층 영역에서 통증전도 및 염증성 지각과민에 관여할 것으로 추측된다. 이러한 분포양상은 Rodd와 Boissonade [24]이 CGRP 면역양성 축삭들은 신경얼기 영역에 많이 분포한다는 보고와 일치하며 Byers와 Närhi [25]이 CGRP를 함유한 축삭들이 상아질모세포층으로 투사되며 일부 상아세관으로 투사된다는 보고와도 일치한다. 따라서 CGRP를 함유한 펩타이드

성 민말이집 혹은 작은말이집 축삭들은 신경얼기 영역과 상아질모세포층 혹은 상아세관 내에 일부 분포하면서 염증성 동통전달뿐 아니라 염증에 의한 조직손상 시 재생작용에도 관여할 것으로 추측된다. 또한 peripherin 면역양성 축삭 중 CGRP를 발현하지 않는 축삭이 60% 정도 존재하며 이러한 축삭들은 펩타이드를 함유하지 않은 비펩타이드성 축삭이라고 추측된다. Byers 등[26]에 의하면 치수 내에 존재하는 작은말이집과 민말이집 축삭에는 많은 신경화확물질들이 존재하며 비펩타이드성인 Isolectin B4 (IB4)가 발현된다고 보고하였다. 또한 IB4를 발현하는 축삭은 강한 전압에 의한 자극이나 유해한 조직손상에 의해 활성화 될 것이라고 추측하였다. 그리고 Alavi 등[27]은 ATP수용체인 P2X3가 치수에 분포함을 보고하였고 이러한 P2X3를 발현하는 축삭은 NF200을 발현하는 축삭과 완전히 일치하며 IB4를 발현하는 축삭과 약 40% 정도의 공존율을 보인다고 했다. 따라서, 이러한 결과는 치수 내에 펩타이드성 민말이집 축삭뿐만 아니라 다른 여러 종류의 축삭들이 존재하며 이러한 다양한 축삭들에 의해 치아에 발생하는 통증이 전달될 것으로 추측된다.

치아통증은 여러 가지 원인들에 의해서 발생하며 이러한 통증은 여러 전달경로를 통해서 전달된다. 본 실험에서 살펴본 치수내의 신경축삭들은 통증전달에 관여하는 중요한 요소이다. 따라서 치수 내에 존재하는 민말이집, 말이집 축삭에 대한 정확한 기능적 역할이 밝혀진다면 치아통증연구에 좀더 도움이 될 것이라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Bueltmann KW, Karlsson UL, Edie J. Quantitative ultrastructure of intradental nerve fibres in marmosets. Arch Oral Biol. 1972; 17:645-60.
2. Naftel JP, Bernanke JM, Qian XB. Quantitative study of the apical nerve fibers of adult and juvenile rat molars. Anat Rec. 1994; 238:507-16.
3. Narhi MV. Dentin sensitivity. J Biol Buccale. 1985; 13:75-96.
4. Markowitz K, Kim S. Hypersensitive teeth. Experimental studies of dentinal desensitizing agents. Dent Clin North Am. 1990; 34:491-501.
5. Lawson SN, Waddell PJ. Soma neurofilament immunoreactivity is related to cell size and fibre conduction velocity in rat primary sensory neurons. J Physiol. 1991; 435:41-63.
6. Sann H, McCarthy PW, Jancso G, Pierau FK. RT97: a mar-

- ker for capsaicin-insensitive sensory endings in the rat skin. *Cell Tissue Res.* 1995; 282:155-61.
7. Paik SK, Park KP, Lee SK, Ma SK, Cho YS, Kim YK, et al. Light and electron microscopic analysis of the somata and parent axons innervating the rat upper molar and lower incisor pulp. *Neuroscience.* 2009; 162:1279-86.
8. Awawdeh L, Lundy FT, Shaw C, Lamey PJ, Linden GJ, Kennedy JG. Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth. *Int Endod J.* 2002; 35:30-6.
9. Hill EL, Elde R. Calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerve fibers in mandibular periosteum of rat: evidence for primary afferent origin. *Neurosci Lett.* 1988; 85: 172-8.
10. Goldstein ME, House SB, Gainer H. NF-L and peripherin immunoreactivities define distinct classes of rat sensory ganglion cells. *J Neurosci Res.* 1991; 30:92-104.
11. Garry EM, Delaney A, Anderson HA, Sirinathsinghji EC, Clapp RH, Martin WJ, et al. Varicella zoster virus induces neuropathic changes in rat dorsal root ganglia and behavioral reflex sensitisation that is attenuated by gabapentin or sodium channel blocking drugs. *Pain.* 2005; 118:97-111.
12. Harper AA, Lawson SN. Conduction velocity is related to morphological cell type in rat dorsal root ganglion neurones. *J Physiol.* 1985; 359:31-46.
13. Ho C, O'Leary ME. Single-cell analysis of sodium channel expression in dorsal root ganglion neurons. *Mol Cell Neurosci.* 2011; 46:159-66.
14. Veerayutthwilai O, Luis NA, Crumpton RM, MacDonald GH, Byers MR. Peripherin- and CGRP-immunoreactive nerve fibers in rat molars have different locations and developmental timing. *Arch Oral Biol.* 2006; 51:748-60.
15. Lawson SN, Perry MJ, Prabhakar E, McCarthy PW. Primary sensory neurones: neurofilament, neuropeptides, and conduction velocity. *Brain Res Bull.* 1993; 30:239-43.
16. Hildebrand C, Fried K, Tuisku F, Johansson CS. Teeth and tooth nerves. *Prog Neurobiol.* 1995; 45:165-222.
17. Brannstrom M. Etiology of dentin hypersensitivity. *Proc Finn Dent Soc.* 1992; 88 Suppl 1:7-13.
18. Payan DG, McGillis JP, Renold FK, Mitsuhashi M, Goetzl EJ. Neuropeptide modulation of leukocyte function. *Ann N Y Acad Sci.* 1987; 496:182-91.
19. Peck R. Neuropeptides modulating macrophage function. *Ann N Y Acad Sci.* 1987; 496:264-70.
20. Kimberly CL, Byers MR. Inflammation of rat molar pulp and periodontium causes increased calcitonin gene-related peptide and axonal sprouting. *Anat Rec.* 1988; 222:289-300.
21. Khayat BG, Byers MR, Taylor PE, Mecifi K, Kimberly CL. Responses of nerve fibers to pulpal inflammation and periapical lesions in rat molars demonstrated by calcitonin gene-related peptide immunocytochemistry. *J Endod.* 1988; 14: 577-87.
22. Taylor PE, Byers MR, Redd PE. Sprouting of CGRP nerve fibers in response to dentin injury in rat molars. *Brain Res.* 1988; 461:371-6.
23. Byers MR. Segregation of NGF receptor in sensory receptors, nerves and local cells of teeth and periodontium demonstrated by EM immunocytochemistry. *J Neurocytol.* 1990; 19:765-75.
24. Rodd HD, Boissonade FM. Comparative immunohistochemical analysis of the peptidergic innervation of human primary and permanent tooth pulp. *Arch Oral Biol.* 2002; 47: 375-85.
25. Byers MR, Narhi MV. Dental injury models: experimental tools for understanding neuroinflammatory interactions and polymodal nociceptor functions. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1999; 10:4-39.
26. Byers MR, Suzuki H, Maeda T. Dental neuroplasticity, neuro-pulpal interactions, and nerve regeneration. *Microsc Res Tech.* 2003; 60:503-15.
27. Alavi AM, Dubyak GR, Burnstock G. Immunohistochemical evidence for ATP receptors in human dental pulp. *J Dent Res.* 2001; 80:476-83.

Distribution of Peripherin Immunoreactive Axons in Rat Molar Pulp

Tae-Heon Kim, Yong-Chul Bae, Eun-Sun Yang

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

Abstract : Dental pulp is innervated mostly by unmyelinated axons and small myelinated axons. These axons are implicated pain transmission and contain various neurotransmitters and receptors. However, little information, so far, is available on the distribution pattern and characterization of axons involved in the dental pain. In this study, to enhance understanding of dental pain processing, we observed distribution of axons expressing peripherin, an unmyelinated and small myelinated axonal marker, the in rat maxillary molar pulp.

Peripherin-immunopositive (+) axons are mostly distributed in the peripheral pulp, and a few peripherin+ axons ascend into the odontoblast layer. Peripherin+ axons expressing NF200 are more frequently observed in the odontoblast layer ($86.3 \pm 3.0\%$) than in the pulpal core region ($79.3 \pm 2.8\%$) and nerve plexus region ($78.6 \pm 1.9\%$). In contrast, peripherin+ axons expressing CGRP are less frequently observed in the odontoblast layer ($17.7 \pm 5.0\%$) than in the pulpal core ($37.7 \pm 10.1\%$) and nerve plexus regions ($40.0 \pm 5.7\%$).

These findings indicate that small myelinated axons are implicated in the transmission of dental pain arising from the odontoblast layer while peptidergic unmyelinated axons are implicated in the transmission of dental pain arising from central core and nerve plexus regions of the dental pulp.

Keywords : Peripherin, Innervation, Dental pulp