

흰쥐 성곽유두 맛봉오리의 퇴화와 재생과정에 따른 렉틴조직화학

계명대학교 의과대학 해부학교실

문용석 · 김 욱 · 정효순 · 최인장

Lectin Histochemistry of Degenerating and Regenerating Taste Buds in Rat Circumvallate Papilla

Yong Suk Moon, Ph.D., Yu Jin, M.D., Hyo Soon Jeong, Ph.D., In Jang Choi, Ph.D.

*Department of Anatomy,
Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea*

Abstract : The present study was carried out to investigate the structure and glycoconjugate properties of degenerating and regenerating taste buds in the circumvallate papilla. The bilateral glossopharyngeal nerves of Sprague-Dawley male rats (300–350 g) were crushed by tweezers for 15 seconds. The animals were sacrificed 1, 4, 7, 10 days, 2, 3, 4 and 6 weeks later. The circumvallate papilla of the tongue was dissected, the tissues were then fixed with 4% paraformaldehyde solution, and tissue samples after hematoxylin-eosin staining were examined for morphological changes. They were also reacted with 8 biotinylated lectins: Con A, PSA, UEA I, ECL, DBA, HPA, SJA and sWGA. In the control, the taste buds in the circumvallate papilla were oval shape, and the two types of cells, round pale-staining nuclei and more slender darker-staining nuclei, were present in the taste buds. The taste buds and taste cells were extremely atrophied in the 4 days group, and a large number of the taste cells with round nuclei appeared in the 7 days group. The taste buds and taste cells regenerated in the 2 weeks group and they had the structure similar to the control in the 4 weeks group. In the control, strong positive reaction of taste pore and taste cells in the taste buds to UEA I, SBA, HPA and SJA may suggest that the taste cells secrete glycoconjugates which contained α -L-fucose and N-acetyl-D-galactosamine. The DBA, HPA and SJA positive reactive taste cells decreased in the 7 days group and increased in the 10 days and 4 weeks groups.

Key Words : Circumvallate papilla, Degeneration, Histochemistry, Lectin, Regeneration, Taste bud

서 론

혀의 성곽유두(circumvallate papilla)에 위치하고 있는 맛봉오리(taste buds)는 특별히 분화된 상피조직으로서 음식물에 대한 화학적 감각기의 기능을 담당하고 있다. 맛봉오리를 구성하는 미각세포(taste cell)들은 입안을 통해 유입되는 음식물을 화학적 자극으로 인식하여 맛구멍(taste pore) 부위의 세포막에서 탈분극과정이 일어나 화학적 자극 즉, 미각신호를 뇌의 미각중추에 전달한다. 혀의 뒤쪽 1/3 부위에 위치하고 있는 성곽유두의 맛봉오리에서 감지된 자극은 혀인두신경(glossopharyngeal nerve)에 의해서 미각중추에 전달되는데, 이 신경은 맛봉오리의 바닥판 밑에서 맛봉오리 밑 신경섬유 열기(subgemmal nerve plexus)를 형성하며 이로부터 분지된 신경섬유는 바닥판을 뚫고 맛봉오리 주위와 안으로 들어가 각각 맛봉오리주위 및 맛봉오리속 신경섬유를 형성한다[1]. 또한 맛봉오리의 형태 보존, 발생 그리고 세포분화는 인접한 미각신경의 공급에 의해서만 가능한데 이러한 사실들은 미각신경을 자른 후 맛봉오리가 퇴화되거나, 미각신경이 재생된 후 맛봉오리가 재생되는 것을 관찰한 여러 연구자들의 보고[2-9]에 의해 증명되어졌다.

렉틴(lectin)은 식물뿐만 아니라 동물 혹은 미생물에서 추출된 단백질 혹은 당단백질로서, 여러 가지의 당잔기(sugar residue)에 특이적으로 결합하는 특성을 가지고 있다[10,11]. 따라서 렉틴-당 상호작용을 이용하여 조직내에 존재하는 복합당질(glycoconjugate)의 당잔기분자의 종류를 규명할 수 있다. 또한, 렉틴들은 막성분의 분리 및 세포막 표면의 성분[12,13], 암세포의 동정[14]과 암세포의 진행과정[15]에 관한 연구에도 이용되고 있다. 복합당질들은 세포의 표면, 특히 상피세포의 자유면(luminal surface)과 분비물내에 주로 존재하며, 세포에 안정성을 주고 또한 세포가

어떤 물질을 인식하는데 중요한 작용을 한다[16,17].

이 연구는 흰쥐 수컷의 혀인두신경에 좌상을 준 후 시간의 변화에 따른 성곽유두 맛봉오리의 형태적 변화를 관찰하고, 맛봉오리의 복합당질 양상을 여러 가지 렉틴들을 이용하여 알아 본 후 맛봉오리의 퇴화와 재생과정에 따른 렉틴반응성의 특이성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물로는 Sprague-Dawley 계의 수컷 흰쥐(체중 300-350 g)을 사용하였다. 모든 동물은 12시간씩의 명/암 하에서 물과 사료를 충분히 공급하면서 사육하였다.

2. 혀인두신경 좌상

흰쥐를 sodium pentobarbital(4 mg/kg)로 마취시킨 후 배쪽 목 피부의 정중부를 1 cm 정도 절개하였다. 두힘살근(digastric muscle)의 뒤힘살 중간부분을 저치고 혀인두신경을 노출시킨 후 동맥류용 핀셋으로 양쪽 혀인두신경에 15초간 압박하여 상해를 가한(좌상, crush injury)후 자른 피부를 봉합하였다. 실험군은 혀인두신경 좌상 후 1일, 4일, 7일, 10일, 2주, 3주, 4주 및 6주 군으로 나누어 각 군마다 3마리씩 배당하였다. 대조군은 일정한 조건하에서 사육한 동물을 이용하였다.

3. 렉틴 조직화학법

각 시기의 실험동물에 sodium pentobarbital(Sigma, 미국)을 배안으로 주사하여 마취시

킨 뒤 가슴안을 열고 4% paraformaldehyde 용액으로 관류고정시킨 후 허를 절취하였다. 떼어낸 허의 성곽유두 부위를 해부현미경으로 보면서 분리하였고, 4% paraformaldehyde 용액으로 후고정한 후 알코올과 자일렌을 이용한 탈수와 침투과정을 거쳐 파라핀(Paraplast, Oxford, 미국)에 포매하여 4 μ m 두께의 연속절편을 만들었다.

이 연구에 사용한 8가지 렉틴들의 종류, 이들과 특이적으로 결합하는 당잔기 및 특이적 저해제를 Table 1에 나타내었다. 모든 렉틴(Vector, 미국)은 비오틴화한 것을 사용하였으며 가장 적절한 반응을 보이는 렉틴의 농도는 5–40 μ g/mL 이었다. 조직절편을 탈파라핀과정과 수세과정을 거친 후 0.01 M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.1)액으로 옮겼다. 그리고 3% H₂O₂를 함유한 메

탄올액으로 30분간 반응하여 내인성 peroxidase의 활성을 제거시키고, 비특이적인 반응을 억제하기 위하여 5% 정상 집토끼 혈청으로 20분 동안 처리하였다. 렉틴반응은 비오틴화 렉틴을 반응액인 0.1 mM의 CaCl₂, MnCl₂ 및 MgCl₂를 함유하는 0.01 M PBS액에 일정농도(Table 1)로 희석하여 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 비오틴화 렉틴과 반응한 조직표본은 avidin-biotin-horseradish peroxidase 복합체(Vector, 미국)로 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 각 반응 사이에 조직표본을 PBS액으로 20분씩 3차례 씻어 주었다. 조직표본을 0.01% H₂O₂를 함유하는 0.05% diaminobenzidine(Sigma, 미국)액으로 발색반응을 시켜 갈색의 반응산물을 얻었다.

렉틴반응의 특이성은 각 렉틴과 특이적으로 반

Table 1. Carbohydrate binding specificities and inhibitory sugars of lectins

Lectins	Lectin concentration (μ g/mL)	Carbohydrate binding specificity	Inhibitory sugar
<i>Concanavalin A</i> (Con A)	5	α -D-Man> α -D-Glc	0.4 M M α M
<i>Pisum sativum agglutinin</i> (PSA)	20	α -D-Man> α -D-Glc	0.4 M M α M
<i>Ulex europaeus agglutinin I</i> (UEA I)	20	α -L-Fuc	0.4M Fuc
<i>Erythrina cristagalli lectin</i> (ECL)	20	Terminal Gal β 1,4GlcNAc	0.4 M Gal
<i>Dolichos biflorus agglutinin</i> (DBA)	20	Terminal α GalNAc	0.4 M GalNAc
<i>Helix pomatia agglutinin</i> (HPA)	20	Terminal GalNAc α 1,3GalNAc	0.4 M GalNAc
<i>Sophora japonica agglutinin</i> (SJA)	40	Terminal GalNAc> α -D-Gal	0.4 M GalNAc
<i>Succinylated Wheat germagglutinin</i> (sWGA)	40	GlcNAc(β 1,4GlcNAc)1-2	0.01 M TATC

Fuc, fucose; Gal, galactose; GalNAc, N-acetyl-D-galactosamine; Glc, glucose; GlcNAc, N-acetyl-D-glucosamine; Man, mannose; M α M, methyl- α -mannopyranoside; TACT, N,N',N''-triacylchitotriose; >, automatic effect results in increasing binding.

응하는 저해당질을 섞은 후 48시간 실온에서 반응시킨 반응액을 이용하여 검정하였다. 그리고, 렉틴 반응의 강도는 - (음성), + (약한 양성), ++ (중등도의 양성) 그리고 +++ (강한 양성) 등으로 표시하였다.

성 적

1. 맛봉오리의 구조

흰쥐의 성곽유두는 혀 등의 정중 뒷부분에서 유두고랑에 둘러싸인 채로 1개 존재하였다. 대조군에서 맛봉오리들은 유두고랑을 따라 함입된 점막상피층에 싸여 있었으며 난원형 형태를 하고 있었다. 하나의 맛봉오리에는 맛봉오리의 바닥부분에서 맛구멍까지 긴 방추형의 형태를 하고 있는 15여개의 미각세포들이 관찰되었다. 미각세포들은 핵이 둥글면서 hematoxylin에 연하게 염색된 세포와 핵이 방추형이면서 hematoxylin에 진하게 염색된 두종류의 세포들로 구성되어 있었다(Fig.

1A). 혀인두신경 좌상 후 1일군과 4일군의 맛봉오리와 미각세포의 세포질은 대조군에 비하여 위축된 형태를 보였으며 hematoxylin에 진하게 염색되어 방추형을 하고 있는 핵들이 많이 관찰되었다(Fig. 1B&C). 그렇지만 맛봉오리속 미각세포의 수는 대조군과 비슷하였다. 7일군의 맛봉오리는 대조군과 비슷한 난원형의 형태를 하고 있었지만 인접한 상피조직과의 경계가 불분명 하였으며, 미각세포는 방추형의 핵을 가진 세포들이 1일군과 4일군에 비하여 적게 관찰되는 반면에 둥근 핵을 가진 미각세포가 많이 관찰되었다(Fig. 1D). 10일군의 맛봉오리는 7일군에 비하여 좀 더 뚜렷한 형태의 맛봉오리가 관찰되었으나 거품과 같은 구조물을 많이 가지고 있는 둥근형태의 핵들이 많이 관찰되었다(Fig. 1E). 2주군과 3주군에서는 10일군의 맛봉오리 구조에 비하여 뚜렷한 변화를 관찰할 수 없었다. 혀인두신경 좌상 후 4주군부터는 대조군과 거의 동일한 맛봉오리와 미각세포의 구조가 관찰되었다(Fig. 1F).

2. 렉틴 조직화학

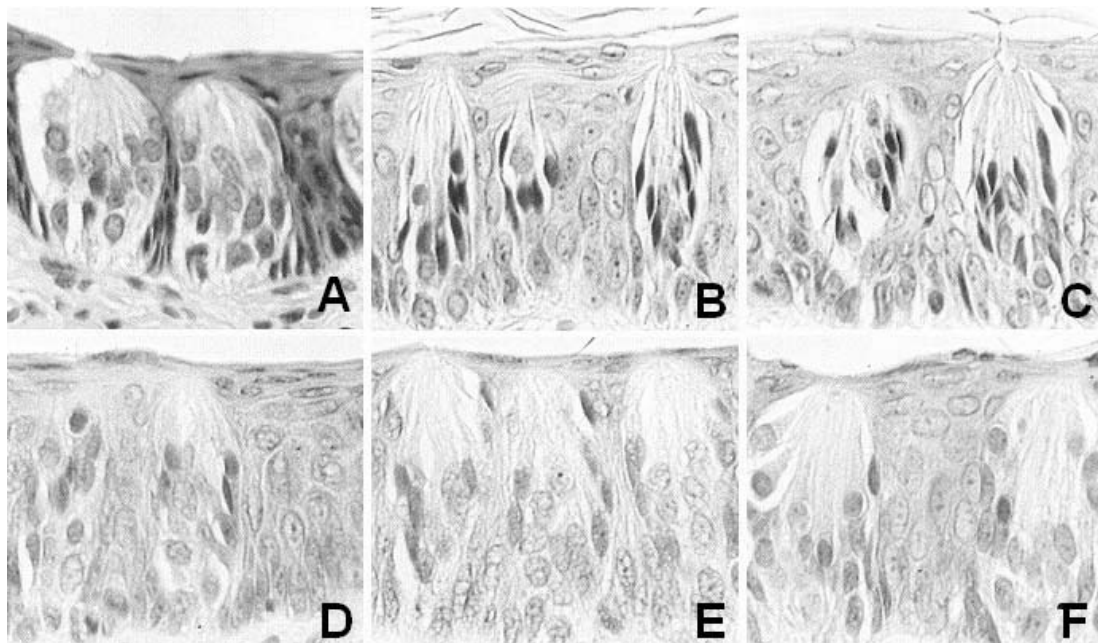


Fig. 1. The taste buds in the circumvallate papilla of control rat (A) and 1 day (B), 4 days (C), 7 days (D), 10 days (E) or 4 weeks (F) after crush injury (H&E stain, $\times 132$).

대조군에서 흰쥐 성곽유두의 맛봉오리와 인접한 상피조직 및 결합조직의 렉틴반응 결과를 Table 2에 요약하였다.

대조군에서 맛봉오리의 미각세포는 UEA I (Fig. 2A), DBA (Fig. 2D) 및 HPA (Fig. 2B) 렉틴에서 강한 양성반응을 나타내었으며, SJA (Fig. 2C) 렉틴에서 중등도의 양성반응을 나타내었다. UEA I 렉틴은 모든 미각세포에서 강한 양성반응을 나타낸 반면 DBA, HPA 및 SJA 렉틴에서는 음

성반응을 나타내는 소수의 미각세포가 관찰되었다. 맛봉오리의 맛구멍에서는 UEA I, DBA, HPA 및 SJA 렉틴에서 강한 양성반응이 나타남을 관찰할 수 있었다. 맛봉오리를 둘러싸고있는 상피조직에서는 UEA I 렉틴이 강한 양성반응을 나타냈으며 DBA, HPA 및 SJA 렉틴에서는 음성반응이 관찰되었다. 상피층 아래의 결합조직에서는 Con A, PSA 및 ECL 렉틴에서 약한 양성반응이 나타남을 관찰할 수 있었다.

Table 2. Lectin binding patterns of the taste buds and the adjacent tissues in control

Lectins	Taste buds		Epithelial tissue	Connective tissue
	Taste cell	Taste pore		
Con A	+	+	+	+
PSA	+	+	+	+
UEA I	+++	+++	+++	-
ECL	+	+	+	+
DBA	-<+++	+++	-	-
HPA	-<+++	+++	-	-
SJA	-<++	+++	-	-
sWGA	+	+	+	-

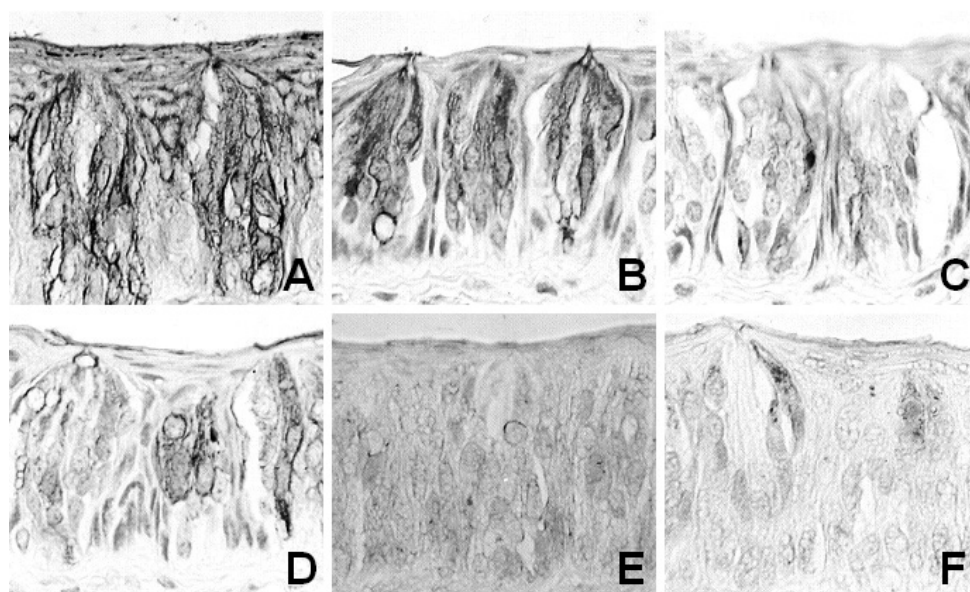


Fig. 2. UEA I (A), HPA (B), SJA (C) and DBA (D) binding pattern of the taste buds in the circumvallate papilla of control, and DBA binding pattern of 7 days (E) or 10 days (F) after crush injury ($\times 132$).

허인두신경 좌상에 따른 맛봉오리 미각세포의 렉틴 반응양상을 조사하기 위하여 미각세포에만 특이적으로 강한 반응을 나타내는 DBA, HPA 및 SJA 렉틴을 대조군과 실험군의 조직절편에 반응시켰고 그 결과를 계수하여 Fig. 3에 나타내었다. Positive index는 맛봉오리속의 전체 미각세포수에 대한 DBA, HPA 및 SJA 렉틴에 양성반응을 보이는 미각세포의 수를 계수하여 백분율로 환산하였고, 대조군과 실험군 모두 30개 이상의 맛봉오리를 계수하였다. 대조군에서 DBA, HPA 및 SJA 렉틴에 양성반응을 보이는 미각세포의 positive index는 각각 64.2, 67.5 및 69.1%이었는데 허인두신경 좌상 후 4일군에서는 약간의 감소를 보였고, 7일군에서는 DBA(Fig. 2E), HPA 및 SJA 렉틴에 각각 4.7, 7.2 및 2.6%로 현저한 감소를 보였을 뿐만 아니라 반응자체도 약한 양성반응을 나타내었다. 10일군부터 DBA(Fig. 2F), HPA 및 SJA 렉틴에 각각 23.7, 30.0 및 27.8%로 증가하였고 강한 양성반응을 나타내는 세포도 일부 관찰되었다. 4주군부터는 DBA, HPA 및 SJA 렉틴에 각각 63.7, 60.8 및 67.3 %로 대조군과 유사한 positive index와 반응강도를 나타내었다(Fig. 3).

고 찰

맛봉오리의 미각세포(taste cell)들은 핵과 세포질의 염색상에 따라 어두운세포(dark cell)와 밝은세포(light cell)로 구별되어 왔으며[1], 근래에는 주로 기능과 연관되어 미각감각세포(taste receptor cell), 버팀세포(sustentacular cell) 및 바닥세포(basal cell)로 분류되고 있다[18]. Takeda와 Hoshino[19]는 전자현미경하에서 흰쥐의 미각세포를 I형(어두운세포), II형(밝은세포), III형(중간형세포) 및 바닥세포로 구분하였다. I형세포는 어두운세포로서 풍부한 과립세포질세망(rough endoplasmic reticulum, rER), 골지복합체 및 전자밀도가 높은 둥근 과립들을 많이 가지고 있으며 이 과립을 exocytosis에 의해 맛구멍으로 배출한다. II형세포는 밝은세포로서 수많은 소포들(vesicles)과 무과립세포질세망(smooth endoplasmic reticulum, sER)을 가지고 있으며, 신경섬유와 연결되어 있지만 연결소포들(synaptic vesicles)은 없다. III형세포는 바닥쪽 세포질에 특징적인 중심부의 어두운 소포(dark-cored vesicles)와 밝은 소포(clear vesicles) 덩

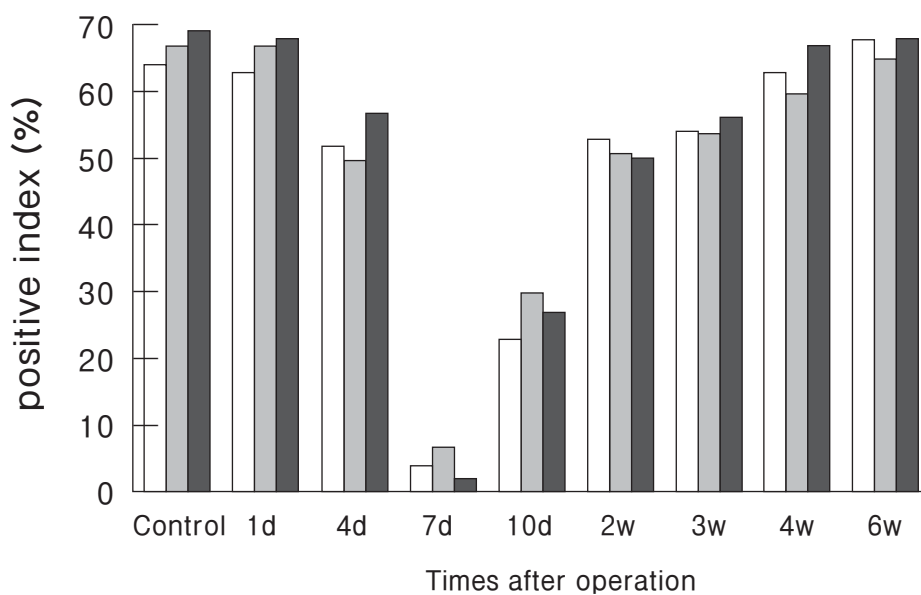


Fig. 3. Time course of DBA-, HPA- and SJA-positive index of the taste cells in the taste buds after the glossopharyngeal nerve injury. d, day; w, week.

어리를 가지며, 신경섬유와 연결되어 있고 수많은 연결소포들을 가지고 있다고 하였다. 이러한 사실들은 토끼와 원숭이에서 관찰된 결과들[20,21]과 유사하며, 기능적으로 I형세포가 버팀세포이고 III형세포가 주된 미각감각세포임을 의미한다. 이 연구에서는 흰쥐 성곽유두의 맛봉오리를 광학현미경을 이용하여 관찰하였으며, 핵이 둥글고 hematoxylin에 연하게 염색된 세포와 핵이 방추형이고 hematoxylin에 진하게 염색된 두종류의 세포만을 구분할 수 있었다. 이전 연구자들의 결과들과 비교하였을 때 본 연구에서 관찰된 핵이 둥근 세포가 I형세포이고 핵이 방추형인 세포가 II, III형에 해당하는 세포로 추측된다.

맛봉오리의 퇴화과정을 실험한 이전의 연구자들[3,4,7,8]은 인접한 미각신경을 자른 후 시간에 따른 맛봉오리와 미각세포의 변화를 관찰하였으며, 실험동물의 종의 차이에 따라 퇴화되는 시간적 차이는 있었지만 맛봉오리가 완전히 퇴화되어 사라질 때 까지의 형태적 변화들을 보고하였다. 이 연구에서는 맛봉오리의 퇴화과정과 재생과정을 동시에 관찰하기 위하여 흰쥐 혀인두신경을 자르지 않고 동맥류용 핀셋으로 양쪽 혀인두신경에 15초 동안 좌상을 주었다. 이 결과 좌상 후 1일군 부터 맛봉오리와 미각세포에서 형태적 변화가 일어남을 관찰할 수 있었지만 맛봉오리의 구조가 완전히 퇴화되지는 않았으며 2주군 부터는 서서히 재생되는 변화를 관찰할 수 있었다. Fujimoto와 Murray[4]는 토끼 성곽유두 맛봉오리의 퇴화와 재생과정을 전자현미경을 이용하여 연구하였는데 혀인두신경을 자른 후 12시간부터 맛봉오리의 퇴화과정이 일어나 10일째에 모든 맛봉오리와 미각세포들이 사라졌으며, 이때 III형의 세포가 가장 먼저 퇴화하고 I형과 II형의 세포들은 시간경과에 따라 동시에 퇴화되었다고 보고하였다. 그리고 25일째에 새로운 맛봉오리가 나타났는데 바닥세포가 가장 먼저 출현한 후 I, II 및 III형세포가 동시에 나타나 바닥세포가 I, II 및 III형세포의 기원이 된다고 하였다. 광학현미경으로 관찰한 이 연구에서는 미각세포의 퇴화와 재생과정 동안 형태적 변화는 관찰할 수 있었지만 미각세포들을 구분할 수는 없었다.

렉틴은 1954년 Boyd와 Shapleigh[22]에 의해 최초로 식물에서 분리된 단백질 혹은 당단백질로서 복잡한 탄수화물의 당잔기, 당결합(sugar linkages) 또는 oligomer에 특이적으로 결합할 수 있다. 근래에는 식물뿐만 아니라 동물 혹은 미생물에서도 분리되어 각 렉틴들의 당특이성을 이용한 많은 연구들이 보고되었지만[23-28], 현재까지 맛봉오리의 미각세포에 렉틴 조직화화법을 이용한 보고들은 많지 않다. 이 연구에서는 정상 흰쥐 성곽유두의 맛봉오리에 8가지 렉틴을 반응시켰으며 그 결과 맛구멍과 미각세포에서 UEA I, DBA, HPA 및 SJA 렉틴이 강한 양성반응을 나타내었다. UEA I은 모든 탄수화물의 α -L-fucose에 특이성을 가지는 렉틴이며[23], DBA, HPA 및 SJA 렉틴은 N-acetyl-D-galactosamine 계열에 특이성을 가지고 있다[24]. DBA는 탄수화물 말단의 N-acetyl-D-galactosamine에 특이성을 가지고, HPA는 α 1,3 결합으로 결합된 말단의 N-acetyl-D-galactosamine에 특이성을 가지며, SJA는 말단의 N-acetyl-D-galactosamine에 강한 특이성을 보일 뿐만 아니라 α -D-galactose에도 약하게 결합할 수 있는 특이성을 나타낸다. 따라서 대조군의 맛구멍에서 UEA I, DBA, HPA 및 SJA 렉틴에 강한 양성반응을 나타낸 것은 맛봉오리의 미각세포가 α -L-fucose와 N-acetyl-D-galactosamine 성분의 복합당질을 분비한다는 것을 의미한다. DBA, HPA 및 SJA 렉틴은 맛봉오리에 있는 일부의 미각세포에만 강한 양성반응을 나타내었는데 이러한 결과로 맛봉오리의 미각세포 중 특정 세포만이 N-acetyl-D-galactosamine 성분의 복합당질을 생산함을 알 수 있다.

Ohmura 등[29]은 햄스터의 성곽유두 맛봉오리에 lectin-gold 복합체를 사용하여 전자현미경으로 관찰하였는데 UEA I, WGA 및 PNA 렉틴이 I형세포의 전자밀도가 높은 과립과 물질들에서 반응성을 보였다고 하였다. 이러한 결과는 맛봉오리의 미각세포중 분비기능을 가진 세포가 I형세포라는 것을 뒷바침 해준다. 실험군에 DBA, HPA 및 SJA 렉틴을 적용시켰을 때 각 렉틴들에 양성반응

을 보인 세포들의 반응성이 7일군에서 거의 나타나지 않다가 10일군부터 증가하는 것을 관찰할 수 있었는데 이러한 사실은 혀인두신경의 좌상으로 인하여 미각세포가 영향을 받아서 분비기능이 감소되었기 때문이라고 추측할 수 있다. 이 연구의 결과들과 이전 연구자들의 결과들을 종합하여 볼 때 DBA, HPA 및 SAJ 렉틴은 회귀 맛봉오리의 I 형세포(버팀 세포)에만 반응하는 특이적인 렉틴이며 이는 맛봉오리를 구성하는 세포들의 구분에 유용한 자료가 될 것이라고 생각된다.

요 약

회귀 성체의 혀인두신경에 15초간 좌상을 주고 성곽유두 맛봉오리의 퇴화와 재생과정에 따른 형태학적 변화를 1일에서 6주에 걸쳐서 관찰하고, 8가지 렉틴(Con A, PSA, UEA I, ECL, DBA, HPA, SJA 및 sWGA)을 이용한 렉틴조직화학을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 대조군에서 성곽유두의 맛봉오리는 난원형 형태를 하고 있었고, 맛봉오리에는 핵이 둥글면서 연하게 염색된 세포와 핵이 방추형 이면서 진하게 염색된 두 종류의 세포가 주로 관찰되었다. 혀인두신경 좌상 후 4일군까지 맛봉오리와 미각세포들이 심하게 위축되었고, 7일군에서는 둥근핵을 가진 미각세포들이 많이 관찰되었다. 맛봉오리와 미각세포들은 혀인두신경 좌상 후 2주군부터 재생되었고 4주군부터는 대조군과 비슷한 구조를 보였다. 대조군에서 맛봉오리의 맛구멍과 미각세포들은 UEA I, DBA, HPA 및 SJA 렉틴에 강한 양성반응을 보여 미각세포들이 α -L-fucose와 N-acetyl-D-galactosamine 성분의 복합당질을 분비함을 알 수 있다. DBA, HPA 및 SJA 렉틴에 강한 양성반응을 보이는 미각세포들은 혀인두신경 좌상 후 7일군에서 급격히 감소하였고 10일군부터 증가하여 4주군에서는 대조군과 비슷한 반응성을 보였다.

참 고 문 헌

1. Bloom W, Fawcett DW. *A Textbook of Histology*. 10th ed. Igaku Shoin Ltd; 1978, p.603-4.
2. Guth L. The effects of glossopharyngeal nerve transection on the circumvallate papilla of the rat. *Anat Rec* 1957;**128**:715-31.
3. Farbman AL. Fine structure of degenerating taste buds after denervation. *J Embryol Exp Morphol* 1969;**22**:55-68.
4. Fujimoto S, Murray RG. Fine structure of degeneration and regeneration in denervated rabbit vallate taste buds. *Anat Rec* 1970;**168**:393-414.
5. Zalewski AA. Regeneration of taste buds after transplantation of tongue and ganglia grafts to the anterior chamber of the eye. *Exp Neurol* 1972;**35**: 519-28.
6. State FA, Bowden REM. The effect of transection of the glossopharyngeal nerve upon the structure, cholinesterase activity and innervation of taste buds in rabbits. *J Anat* 1974;**118**:77-100.
7. Nishimoto T, Ichikawa H, Wakisaka S, Matsuo S, Yamamoto K, Akai M. Immunocytochemical observation on substance P in regenerating taste buds of the rat. *Anat Rec* 1985;**212**:430-6.
8. Kinnman E, Aldskogius H. Collateral reinnervation of taste buds after chronic sensory denervation: a morphological study. *J Comp Neurol* 1988;**270**:569-74.
9. Smith DV, Klevitsky R, Akeson RA, Shipley MT. Expression of the neural cell adhesion molecule (NCAM) and polysialic acid during taste bud degeneration and regeneration. *J Comp Neurol* 1994;**347**:187-96.
10. Scott T, Eagleson M. *Concise Encyclopedia Biochemistry*. 2nd ed. Berlin & New York: Walter de Gruyter; 1988, p.333-4.
11. Alberts B, Bray D, Lewis J. *Molecular Biology of the Cell*. 2nd ed. New York & London: Garland Publishing; 1989, p.198-300.

12. Goldstein IJ, Hayes CE. The lectins: carbohydrate binding proteins of plants and animals. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 1978;**35**:127-340.
13. Aoki D, Nozawa S, Iizuka R, Kawakami H, Hirano H. Differences in lectin binding patterns of normal endometrium and endometrial adenocarcinoma, with special reference to staining with *Ulex europaeus* agglutinin I and Peanut agglutinin. *Gynecologic Oncol* 1990;**37**:338-45.
14. Kawakami H, Ito M, Miura Y, Hirano H. Lectin-histochemical studies on the process of liver metastasis of mouse colon carcinoma (colon 26) cells. *Acta Histochem Cytochem* 1992;**25**:577-82.
15. Chang S, Chung LWK. Interaction between prostatic fibroblast and epithelial cells in culture: role of androgen. *Endocrinology* 1989;**125**:2719-27.
16. Nicholson GL. The interaction of lectins with animal cell surfaces. *Int Rev Cytol* 1974;**39**:89-190.
17. Bohinski RC. *Modern Concepts in Biochemistry*. 4th ed. Boston: Allyn and Bacon; 1983, p.217-36.
18. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. *Histology*. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995, p.406-9.
19. Takeda M, Hoshino T. Fine structure of taste bud in the rat. *Arch Histol Jpn* 1975;**37**:395-413.
20. Murray RG, Murry A, Fujimoto S. Fine structure of gustatory cells in rabbit taste buds. *J Ultrastruct Res* 1969;**27**:444-61.
21. Farbman AI, Hellekant G, Nelson A. Structure of taste buds in foliate papillae of the rhesus monkey, *Macaca mulatta*. *Am J Anat* 1985;**172**:41-56.
22. Boyd WC, Shapleigh E. Specific precipitating activity of plant agglutinins (lectins). *Science* 1954;**119**:419-27.
23. Allen HJ, Johnson EAZ, Matta KL. A comparison of the binding specificities of lectins from *Ulex europaeus* and *Lotus tetragonolobus*. *Immunol Commun* 1977;**6**:585-602.
24. Hammarstrom S, Murphy LA, Goldstein IJ, Etzler ME. Carbohydrate binding specificity of four N-acetyl-D-galactosamine specific lectin; *Helix pomatia* A hemagglutinin, soybean agglutinin, lima bean lectin, and *Dolichos biflorus* lectin. *Biochemistry* 1977;**16**:2750-5.
25. Kornfeld K, Reitman ML, Kornfeld R. The carbohydrate-binding specificity of pea and lentil lectins. *J Biol Chem* 1981;**256**:6633-40.
26. Maget-Dana R, Veh RW, Sander M, Roche AC, Schauer R, Monsigny M. Specificities of limulin and wheat-germ agglutinin towards some derivatives of GM3 gangliosides. *Eur J Biochem* 1981;**114**:11-6.
27. Kaladas PM, Kabat EA, Iglesias JL, Lis H, Sharon N. Immunochemical studies on the combining site of D-galactose/ N-acetyl-D-galactosamine specific lectin from *Erythrina cristagalli* seeds. *Arch Biochem Biophys* 1982;**217**:624-37.
28. Spicer SS, Schulte BA. Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically: a perspective. *J Histochem Cytochem* 1992;**40**:1-38.
29. Ohmura S, Horimoto S, Fujita K. Lectin cytochemistry of the dark granules in the type 1 cells of syrian hamster circumvallate taste buds. *Archs Oral Biol* 1989;**34**:161-6.