

창자 가로절단-재문합 실험모델에서 창자신경계통의 형태계측학적 변화

오수연, 박웅채, 김경래, 왕준호¹

이재동¹, 김순제¹, 송우철², 박승화²

건국대학교 의과대학 외과학교실, ¹내과학교실, ²해부학교실

간추림 : 작은창자의 손상 후 시간경과에 따른 재생과정에서 근육층신경절기와 제1형 카할사이질세포가 각각 어떻게 변화하는지를 살펴보고자 들창자 가로절단-재문합 실험모델을 제작하여 형태계측학적 방법으로 비교분석 하였다.

형태계측학적 분석을 하기위해 Sprague Dawley계 성숙흰쥐의 들창자를 가로절단한 후 재문합시킨 실험군과 가로절단을 하지 않고 개복 후 봉합수술만을 시행한 대조군에서 수술 후 3일, 7일, 15일, 30일군의 근육층신경절기와 제1형 카할사이질세포의 변화를 영상분석기를 이용하여 계수하고 통계처리 하였다.

작은창자의 가로절단으로 인한 손상효과는 근육층신경절기와 제1형 카할사이질세포에서 동시에 일어났으며 손상부위를 중심으로 앞쪽과 뒤쪽(구강쪽과 항문쪽) 양 방향으로 고르게 나타났다. 손상효과는 수술 후 3일군과 7일군에서 가장 심하게 나타나 근육층신경절기의 경우 신경세포의 형태적 변성과 아울러 세포수가 약 40% 감소하였다. 제1형 카할사이질세포는 세포수가 20~37% 감소하였으며 대부분 세포의 세포질에는 많은 공포가 형성되어 있었다. 수술 후 15일 이후부터는 재생이 일어나기 시작하여 근육층신경절기에서 신경세포의 감소정도는 20~25%로 줄어들었으며 세포의 염색정도나 형태가 정상으로 회복되는 양상을 보였다. 제1형 카할사이질세포 수의 감소정도도 13~20%로 줄어들었으며 세포질 내 공포가 형성된 세포의 수도 감소하였다. 수술 후 30일군에서 근육층신경절기를 이루는 신경세포의 형태는 대조군과 유사하였으며 신경세포의 수는 수술 면을 기준으로 구강쪽과 항문쪽에서 각각 12.3%, 15.6% 씩 감소하여 ($p < 0.01$) 정상으로의 완전한 회복은 이루어지지 않았다. 제1형 카할사이질세포 수는 구강쪽과 항문쪽에서 각각 7.5%, 4.2% 씩 감소하였으나 유의한 차이는 없었으며 ($p > 0.01$) 세포 형태도 정상이었다.

이로서 작은창자의 가로절단으로 인한 손상효과는 근육층신경절기에서 좀 더 심하게 나타나며 정상으로의 회복도 제1형 카할사이질세포에 비해 더디게 나타남을 알 수 있었다.

찾아보기 낱말 : 창자가로절단-재문합, 근육층신경절기, 제1형 카할사이질세포, 재생, 형태계측학

서 론

소화관은 우리 인체의 다른 장기들과 달리 자체 내 독립적인 창자신경계통(enteric nervous system)을 갖고 있어 소화관의 운동이나 물질분비를 자동 조절 할 수 있다. 창자신경계통은 세로근육층과 들

림근육층 사이에 존재하는 근육층신경절기(myenteric plexus)와 점막밑조직에 존재하는 점막밑신경절기(submucous plexus)로 이루어져 있으며(Langly 1921), 이외에 소화관의 각 층 사이에 분포하는 카할사이질세포(interstitial cells of Cajal)를 포함하고 있다(Cajal 1894). 일반적으로 근육층신경절기는 창자운동을, 점막밑신경절기는 점막의 샘분비 및 혈류를 조절하는 것으로 알려져 있다(Gabella 1969,

교신저자: 박승화(건국대학교 의과대학 해부학교실)
전자우편: seunghwa.park@kku.ac.kr

Gabella 1971, Furness와 Costa 1987). 창자신경계통에 관한 초기의 연구에서는 이 두 신경얼기의 구조 및 기능에 초점이 맞추어졌으나 근래에 들어 카할사이질세포의 중요한 역할이 밝혀지면서 이에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.

카할사이질세포는 소화관 벽의 각 층 사이에서 그물을 이루며 분포하고 있는 별모양의 세포로 분포위치에 따라 그 기능이 다르다(Thuneberg 1982). 특히 제1형과 3형 카할사이질세포는 민무늬근육세포와 신경세포사이를 연결해주는 세포로 주된 작용은 소화관운동의 향도잡이(pacemaker) 역할, 전기과동의 전파촉진, 신경전달물질의 분비조절 등으로 알려져 있다(Rogers와 Burnstock 1966, Rumessen과 Thuneberg 1982, Christensen과 Rick 1987, De-Shan과 Komuro 1992, Sanders 1996). 근래에 들어 카할사이질세포에 대한 연구가 활발해지면서 이 세포가 c-Kit 단백질에 대한 수용체를 가지고 있음이 밝혀졌으며(Wester 등 1999) 면역계통의 조절, 성장 및 재생에 관여하기도 한다고 한다(Powell, 1999).

소화관은 높은 성형성(plasticity)을 갖고 있어 손상 후 재생과정을 연구하는데 좋은 재료가 되며 이를 바탕으로 실제 임상에서는 여러 요인에 의해 유발되는 소화관 질환의 치료를 위해 소화관 절제 후 재문합(transsection-reanastomosis) 수술을 시행하고 있다. 그러나 수술 후 소화관의 운동력 저하로 인한 후유증상이 나타나며 그 기간이 짧게는 수일에서 길게는 몇달에 이르기까지 한다(Kalff JC 등 1998, Behm과 Stollman 2003). 이러한 문제점을 해결하기 위해 소화관 내의 근육층신경얼기와 민무늬근육의 손상 후 회복과정에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으나 재생기전에 대해서는 연구자들에 따라 견해를 달리하고 있다(Gabella 1975, Hanson 등 1977, Galligan 등 1989, Tokui 등 1994, Giaroni 등 1999, Hanani 등 2003). 또한 소화관운동 조절에 필수적인 역할을 하는 카할사이질세포도 소화관 운동장애를 동반한 각종 질병들, 즉 히르쉬스프룽병(Hirschsprung's disease), 샤가스 병(Chagas' disease), 괴양대장염, 음성 또는 악성 소화관 종양에서 변성이 일어나며(Rumessen 1996, Vanderwinden 등 1996, Isozaki 등 1997, Hagger 등 2000), 최근에는 이들 세포도 변성 후 재

생이 가능하다는 일부 연구보고가 있으나 회복기간이나 재생기전에 대해서는 아직 많은 논란이 있다(Torihashi 등 1999, Chang 등 2001, Fausone-Pellegrini 등 2002, Yanagida 등 2004, Fausone-Pellegrini 등 2006). 따라서 소화관 손상 후 회복과정에서 창자신경계통 내의 근육층신경얼기와 카할사이질세포의 변화과정을 연구함은 소화관 운동장애를 동반하는 여러 질병들의 발병기전을 밝히는데 많은 도움을 주리라 생각한다.

이에 본 연구자들은 성숙흰쥐의 돌창자를 가로절단한 후 재문합하는 수술을 통한 소화관 가로절단-재문합 실험모델을 제작하여 돌창자 손상 후 시간경과에 따른 근육층신경얼기와 제1형 카할사이질세포의 변화를 형태정량적으로 분석하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험동물로는 Sprague Dawley계 흰쥐(200~250g) 64마리를 사용하였다. 실험동물을 sham 수술을 시행한 대조군과 가로절단-재문합 수술을 시행한 실험군으로 나누고 각 군의 실험동물을 수술 후 3일, 7일, 15일, 30일 후에 희생시켜 실험에 사용하였다. 근육층신경얼기와 카할사이질세포는 이를 관찰하기 위한 염색방법이 각기 다르므로 동일한 실험동물에서 동시에 관찰할 수가 없다. 따라서 각 군의 8마리 실험동물 중 4마리에서는 근육층신경얼기의 변화를, 나머지 4마리에서는 제1형 카할사이질세포의 변화를 관찰하였다.

2. 실험방법

1) 창자손상 실험모델 제작

실험군의 흰쥐를 에테르로 마취하고 복강을 연 후, 돌창자입술로부터 7cm 떨어진 돌창자 부위를 노출시켜 안과용 미세가위를 이용하여 돌창자 벽의 전층을 맞창자간막(antimesenteric border) 부위에서 반가로절단(semitransect)하고 절단면을 따라 최대한 좁은 일정간격으로 6/0호 미세봉합사를 사용하

여 봉합수술을 시행하였다. 감염을 막기 위해 수술 부위에 penicillin-streptomycin (Lif Technology, Inc)을 1:1,000으로 희석 하여 뿌려준 후, 배벽을 단았다. 수술 후 1 mL의 penicillin-streptomycin을 다시 복강주사 하였다. 대조군은 개복술(laparotomy)만을 시행한 sham 수술군으로서 수술 후 처리는 실험군과 같은 방법으로 하였다. 대조군과 실험군의 실험 동물은 정상 사료와 물을 주어 실험기간 동안 사육하였다.

2) 근육층신경얼기 염색

흰쥐를 에테르로 마취하고 배벽을 절개한 후 수술부위를 중심으로 구강 쪽과 항문쪽에서 각각 2 cm의 돌창자 부위를 잘라내었다. 잘라낸 돌창자는 Krebs's 용액에 담가 창자의 내용물을 제거하고 한 쪽 끝을 실로 묶은 후, Krebs's 용액을 넣어 창자를 충분히 팽창시키고 나머지 한 쪽 끝도 실로 묶었다. 이 때 창자가 팽창되는 정도는 가능하면 일정하도록 하였다.

이것을 Gabella의 방법(1969)에 따라 nicotinea-mide adenosine dinucleotide tetrazolium reductase (NADH-TR) 반응용매에 실온에서 한 시간 동안 조직 화학 반응을 시켰다. 한 마리 흰쥐의 돌창자를 조직반응 시키는데 20 mL의 용매를 만들어 사용하였다.

반응이 끝나면 조직이 짙은 보라색을 띄게 되는데 이를 10% 포르말린 용액에 담가 냉장고에서 24 시간 동안 고정하였다. 고정된 표본은 증류수로 여러 번 세척한 후, 실로 묶은 양쪽 부위를 자르고 창자간막 가장자리를 따라 창자를 바르게 펼친 다음, 해부현미경하에서 점막과 점막밑층을 제거하고 근육층을 분리하여 전층표본(whole mount preparation)을 제작하였다. 이와 같이 제작된 근육층신경얼기 전층표본을 유리 슬라이드에 잘 펴서 글리세린 젤리로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

3) 카탈사이질세포 염색

최근에 카탈사이질세포 염색은 일반적으로 c-kit 단백질에 대한 면역염색법을 사용하고 있으나 면역염색의 경우 생리상태의 변화에 의해 세포 표현형(phenotype)의 변화가 일어나 제대로 발현되지 않는

경우가 있다. 본 연구에서는 카탈사이질세포의 변화를 형태계측학적 방법을 이용하여 세포수를 계수하고 이를 분석해야하므로 c-kit 단백질에 대한 면역염색법을 시행하지 않고 Rumessen과 Thuneberg(1982)의 보고를 바탕으로 zinc iodide osmium acid (ZIO) 염색을 시행하였다.

잘라낸 돌창자 조각을 깨끗이 씻은 후, 창자간막 가장자리를 따라 절개하여 편평하게 펼친 다음 납작한 나무판에 핀으로 고정하여 95% O₂와 5% CO₂를 공급하는 37°C의 Krebs's 용액에 담가두었다. 카탈사이질세포를 염색하기 위해 돌창자가 붙여져 있는 나무조각을 3%의 zinc Iodide와 2% 오스뮴산이 3:1의 비율로 섞인 Champy-Maillet용액(Champy 등 1945)에 3일 동안 담가두어 ZIO 염색을 시행하였다. 염색이 끝나면 돌창자 조각을 흐르는 물에 씻은 후, 해부현미경 하에서 점막과 점막밑층을 제거하고 근육층을 분리하였다. 근육층신경얼기를 동반한 제1형 카탈사이질세포는 돌림근육층에 붙어있었으며 이를 유리슬라이드위에 올려놓은 후 글리세린 젤리로 봉입하고 광학현미경으로 관찰하였다.

4) 세포구분과 자료처리

(1) 근육층신경얼기

본 연구에서는 Schofield(1962)의 기능에 따른 형태 분류방법과 기원에 따른 분류방법(Gunn 1951)을 같이 적용한 Song 등(1984)의 분류방법에 의해 세포모양이 둥글고 크며 세포질이 핵에 비해 많은 세포를 제1형, 세포의 모양이 방추형인 세포를 제2형, 세포질의 양이 매우 적어 핵이 세포체의 대부분을 차지하는 세포를 제3형으로 구분하였다(Fig. 1). 이 분류방법에서는 제1형 세포는 바깥기원운동신경세포(extrinsic motor nerve), 제2형 세포는 바깥기원감각신경세포(extrinsic sensory nerve), 제3형 세포는 자체기원신경세포(intrinsic nerve)임을 의미한다.

(2) 카탈사이질세포

근육층신경얼기들 사이에서 그물을 형성하고 있는 제1형 카탈사이질세포는 그 모양이 타원형과 둥근형 2종류가 있다. 본 연구에서는 Park 등(1994)의 분류방법에 의하여 세포 모양이 둥글며 3개 이상의

세포질 돌기를 갖고 있는 세포를 A형, 세포 모양이 타원형이며 2~3개의 세포질돌기를 갖고 있는 세포를 B형으로 분류하여 계수하였다(Fig. 2).

또한 돌창자의 가로절단에 의한 손상 후 시간 경과에 따른 회복과정에서 손상부위로부터 구강쪽(oral side)과 항문쪽(anal side)에서 서로 다른 변화를 나타낼 가능성을 감안하여 수술면을 기준으로 구강쪽과 항문쪽의 표본을 따로 제작하여 관찰하고 계측하였다.

한 마리의 흰쥐에서 표본을 5장씩 제작하였다. 슬라이드 한 장 당 20시야를 중복을 피하여 임의로 선택한 후, 영상분석기(Image plus pro-5.0, Media Cybermedics, USA)를 이용하여 사진촬영하고 계수하였다. 모든 통계자료는 SPSS 통계프로그램을 이용하여 분석 처리하였다.

결 과

1. 근육층신경얼기의 변화

1) 조직학적 변화

근육층신경얼기는 소화관의 돌림근육층에 직각 방향으로 배열된 수많은 신경절(ganglia)들이 이웃하는 신경절과 신경절사이띠(internodal strand)에 의해 연결되어 격자모양의 그물을 이루고 있다. 본 연구에서는 NADH-TR 염색에 의해 근육층신경얼기 표본을 제작하여 관찰하였다. 따라서 신경세포의 세포질만이 NADH-TR 염색에 반응을 나타내어 신경절사이띠는 관찰되지 않았다. Sham 수술을 시행한 대조군에서 수술 후 시간경과에 따른 각 구간간의 뚜렷한 형태적 차이를 나타내지 않았으므로 sham 수술 후 3일군의 근육층신경얼기를 사진 촬영하여 대조군으로 사용하였다. 대조군에서 한 신경절을 이루는 신경세포 수는 5~30으로 각 신경절의 크기나 모양은 다양하였다. 한 신경절 내에는 제1형, 2형, 3형 세포들이 섞여 있었으며 2형세포의 분포가 가장 적어 2형 세포가 결여되어 있는 신경절도 관찰되었다. 세포질이 풍부한 제1형과 2형 신경세포는 NADH-TR 염색에 강한 반응을 나타내어 짙은 보라색을 나타내었으며 핵은 세포질보다 열게 염색되었

다. 각 유형의 세포는 세포의 경계가 뚜렷하여 분류 기준에 맞는 전형적인 형태를 나타내었으며 세포질 양이 매우 적은 제3형 세포는 세포체의 대부분을 핵이 차지하고 있었다(Fig. 3A).

수술 후 3일군과 7일군에서는 신경세포의 변성이 심하게 나타나 NADH-TR 염색에 반응을 나타내지 않는 세포들이 다수 관찰되었으며 NADH-TR 염색에 반응을 나타낸 세포들도 대조군의 신경세포들에 비해 세포의 경계가 뚜렷하지 않았으며 반응정도도 떨어졌다(Fig. 3B, C). 수술 후 15일군에서도 역시 변성으로 인해 NADH-TR 염색에 반응을 나타내지 않는 신경세포들이 관찰되었으나 염색반응을 나타낸 세포들은 세포의 경계가 뚜렷하고 세포질이 짙게 염색되어 강한 반응을 나타내었다. 따라서 수술 후 15일군에서는 더 이상의 신경세포의 변성은 일어나지 않음을 알 수 있었다(Fig. 3D). 수술 후 30일군에서는 NADH-TR 염색에 강한 반응을 나타내는 세포가 15일군에 비해 더 많이 출현 해 많은 신경세포가 정상으로 회복되고 있음을 확인 할 수 있었다(Fig. 3E).

2) 형태계측학적 변화

(1) 구강쪽 근육층신경얼기의 형태계측학적 변화

개복술만을 시행한 대조군은 수술 후 시간 경과에 따라 단위면적 당(1 mm²) 신경세포의 유형별 분포비율이나 총수에 별다른 변화가 없었다(Table 1).

돌창자를 가로절단한 후 재문합 시킨 실험군에서 수술 후 3일군의 신경세포 총수는 39.2% (p<0.01) 감소하였으며 이러한 신경세포의 감소현상은 제1형과 2형에서 현저하게 나타나 외재성신경이 손상에 의해 더 빠른 반응을 보임을 알 수 있었다. 수술 후 7일군에서는 수술 후 3일군에 비해 제3형 신경세포의 감소현상이 다소 증가하였으나 전체적인 신경세포의 감소정도는 유사하게 나타나 손상 후 7일까지 신경세포의 변성이 지속되고 있음을 알 수 있었다(Table 1).

수술 후 15일군에서 신경세포의 총수는 25.2% (p<0.01) 감소하였으며 각 유형별 신경세포 수의 감소정도가 수술 후 3일군이나 7일군에 비해 줄어들어 창자 가로절단으로 인한 손상으로부터 점차

Table 1. Time dependent change of numbers of myenteric plexus (per 1 mm²) in oral to the site of transection

Types of cells		1	2	3	Total
3 d	CON	23.1±5.3	14.7±3.4	59.3±13.6	97.1±20.2
	EXP	9.7±2.4	5.5±1.3	43.9±10.6	59.1±14.2
	% change	58.0% ↓*	62.4% ↓*	26.1% ↓*	39.2% ↓*
7 d	CON	24.3±6.2	13.3±2.8	58.8±12.7	96.4±19.3
	EXP	11.5±2.4	5.2±11.0	39.9±8.5	59.1±14.2
	% change	52.9% ↓*	61.2% ↓*	32.2% ↓*	38.7% ↓*
15 d	CON	23.0±4.8	15.0±4.0	57.4±11.2	95.4±18.2
	EXP	13.4±3.2	7.8±1.9	50.2±12.0	71.4±17.1
	% change	41.6% ↓*	45.1% ↓*	12.7% ↓*	25.2% ↓*
30 d	CON	23.9±5.5	14.2±3.84	59.9±14.0	98.0±20.4
	EXP	20.1±4.8	10.9±2.6	55.0±15.6	85.9±23.0
	% change	16.0% ↓*	23.4% ↓*	8.2% ↓	12.3% ↓*

number: M±S.D., *: p<0.01
d: days, CON: control group, EXP: experimental group

Table 2. Time dependent change of numbers of myenteric plexus (per 1 mm²) in anal to the site of transection

Types of cells		1	2	3	Total
3 d	CON	19.7±4.5	12.5±2.9	62.4±14.4	94.6±19.7
	EXP	9.7±2.4	5.5±1.3	43.9±10.6	59.1±14.2
	% change	50.7% ↓*	56.0% ↓*	29.7% ↓*	37.6% ↓*
7 d	CON	20.3±4.2	11.5±2.0	61.4±13.9	93.2±18.7
	EXP	8.8±2.1	5.7±1.4	39.1±9.4	53.6±10.0
	% change	56.8% ↓*	50.3% ↓*	36.3% ↓*	42.5% ↓*
15 d	CON	22.4±4.9	15.0±4.0	59.3±12.8	96.7±19.4
	EXP	15.0±3.6	7.7±1.9	55.1±13.2	77.9±18.7
	% change	32.8% ↓*	48.4% ↓*	7.1% ↓	19.5% ↓*
30 d	CON	23.5±5.3	14.1±4.0	60.2±13.0	97.8±22.5
	EXP	16.8±5.0	9.6±2.5	56.2±14.6	82.5±19.2
	% change	28.6% ↓*	31.9% ↓*	6.7% ↓	15.6% ↓*

number: M±S.D., *: p<0.01
d: days, CON: control group, EXP: experimental group

회복됨을 알 수 있었다. 수술 후 30일군에서는 수술 후 15일군에 비해 특히 제1형과 2형 신경세포의 감소율이 저하되어 외재성 신경이 빠르게 회복되었으며 정상으로의 완전한 회복에는 더 많은 시간 경과가 필요한 것으로 나타났다(Table 1).

(2) 항문쪽 근육층신경얼기의 형태계측학적 변화
대조군의 신경세포 수는 구강쪽 근육층신경얼기

에서의 결과와 비교해 볼 때 각 유형별 신경세포의 분포나 시기별 총수가 유사한 값을 나타내어 sham 수술에 의해 별다른 변화를 나타내지 않았다(Table 2).

실험군의 수술 후 3일군에서 신경세포의 총수는 대조군에 비해 37.6% (p<0.01) 감소하였으며 역시 외재성신경인 제1형과 2형 신경세포가 두드러진 감소현상을 나타내었다. 수술 후 7일군에서는 수술 후

3일군에 비해 제1형과 3형 신경세포가 많이 감소하여 창자의 가로절단으로 인한 손상효과가 지속됨을 알 수 있었다(Table 2).

수술 후 15일군에서 전체 신경세포 수는 19.5% 감소하였으며 수술 후 30일군에서 신경세포의 총수는 15.6% 감소하여 점차 정상으로 회복됨을 알 수 있었다(Table 2, $p < 0.01$). 따라서 작은창자의 가로절단으로 인한 손상효과는 구강쪽과 항문쪽에서 유사한 경향을 나타내었다.

2. 카탈사이질세포의 변화

1) 조직학적 변화

본 연구에서 관찰 계측한 제1형 카탈사이질세포는 근육층신경얼기 사이를 채우고 있는 크기가 작은 별모양의 세포로 각 세포는 세포질돌기에 의해 이웃하는 세포와 연결되어 그물을 이루고 있었다. Sham 수술을 시행한 대조군에서 수술 후 시간경과에 따른 각 군 사이의 뚜렷한 형태적 차이를 나타내지 않았으므로 sham 수술 후 3일군의 사진을 대조군으로 하였다(Fig. 4A). 수술 후 3일군에서 전체적인 세포의 모양은 변화하지 않았으나 대부분의 카탈사이질세포의 세포질 내에는 공포가 형성되어 있었다(Fig. 4B). 이러한 세포질 내 공포형성은 수술 후 7일군(Fig. 4C)과 15일군(Fig. 4D)에서도 관찰되었으나 그 정도는 시간 경과에 따라 점차 감소하였다. 수술 후 30일군에서 카탈사이질세포의 형태와 분포는 대조군과 유사한 정상적인 소견을 나타내었다(Fig. 4E).

2) 형태계측학적 변화

(1) 구강쪽 카탈사이질세포의 형태계측학적 변화

작은창자 가로절단으로 인한 손상 후 시간경과에 따른 회복과정에서 대조군의 구강쪽 카탈사이질세포의 총수는 단위면적 당 (1 mm^2) 164~176으로 sham 수술 후 시간경과에 따라 세포 유형별 분포비율이나 총수가 별다른 차이를 나타내지 않았다(Table 3).

실험군의 수술 후 3일군에서는 타원형 세포인 B형 세포가 주로 감소하여 작은창자 가로절단으로

Table 3. Time dependent change of numbers of ICC-Is (per 1 mm^2) in oral to the site of transection

Types of cells		A	B	Total
3 d	CON	108.2 ± 19.0	59.3 ± 14.2	167.6 ± 21.2
	EXP	98.8 ± 23.7	34.5 ± 8.3	133.3 ± 32.0
	% change	8.7% ↓	41.8% ↓*	20.4% ↓*
7 d	CON	112.3 ± 19.2	58.8 ± 13.8	171.1 ± 23.2
	EXP	71.2 ± 12.3	36.7 ± 8.8	107.9 ± 20.3
	% change	36.6% ↓*	37.6% ↓*	37.0% ↓*
15 d	CON	104.9 ± 18.5	59.5 ± 14.4	164.4 ± 21.0
	EXP	96.5 ± 14.4	45.9 ± 11.0	142.4 ± 19.1
	% change	8.0% ↓	22.8% ↓*	13.4% ↓*
30 d	CON	115.8 ± 19.5	60.2 ± 14.8	176.0 ± 23.3
	EXP	109.1 ± 18.9	53.8 ± 12.9	162.9 ± 22.9
	% change	5.8% ↓	10.8% ↓	7.5% ↓

number: $M \pm S.D.$, *: $p < 0.01$, ICC-I: type 1 interstitial cells of Cajal
d: days, CON: control group, EXP: experimental group

Table 4. Time dependent change of numbers of ICC-Is (per 1 mm^2) in anal to the site of transection

Types of cells		A	B	Total
3 d	CON	119.7 ± 21.7	55.0 ± 13.2	174.7 ± 28.3
	EXP	85.2 ± 20.4	31.5 ± 7.6	116.7 ± 22.0
	% change	28.8% ↓*	42.7% ↓*	33.2% ↓*
7 d	CON	109.9 ± 19.8	56.2 ± 13.5	166.1 ± 25.8
	EXP	76.9 ± 18.5	40.2 ± 9.7	117.1 ± 22.2
	% change	30.1% ↓*	28.5% ↓*	29.6% ↓*
15 d	CON	111.9 ± 20.8	58.5 ± 14.1	170.4 ± 27.9
	EXP	90.5 ± 21.7	43.8 ± 10.5	134.3 ± 22.3
	% change	19.1% ↓*	25.1% ↓*	21.2% ↓*
30 d	CON	120.8 ± 21.1	58.0 ± 13.9	178.8 ± 28.8
	EXP	119.9 ± 20.9	51.5 ± 12.1	171.4 ± 27.6
	% change	0.8% ↓	11.2% ↓*	4.2% ↓

number: $M \pm S.D.$, *: $p < 0.01$, ICC-I: type 1 interstitial cells of Cajal
d: days, CON: control group, EXP: experimental group

인한 손상에 대해 더 빠르게 반응하였으며 수술 후 7일군에서는 A형 세포뿐만 아니라 B형세포도 유사한 비율로 감소하여 지속적으로 세포변성이 일어나고 있음을 알 수 있었다. 수술 후 15일군에서는 수술 후 7일군에 비해 A형과 B형 세포의 감소율이 줄어들어 손상으로부터 회복되고 있었으며 수술 후

30일군에서 A형과 B형 세포는 통계적으로 의의가 없는 감소정도를 나타내어 거의 정상으로 회복되고 있었다(Table 3).

(2) 항문쪽 카할사이질세포의 형태계측학적 변화

항문쪽의 대조군에서 카할사이질세포의 총수는 단위면적 당(1 mm^2) 166~178이었으며 구강쪽에서와 같이 세포 유형별 분포비율이나 총수가 sham 수술에 의해 변화를 나타내지 않았다(Table 4).

실험군에서의 세포 수 감소정도는 수술 후 3일군에 가장 크게 나타나며 시간 경과에 따라 점차 줄어들어 단계적인 회복이 일어나고 있었다. 또한 구강쪽에서와 같이 타원형 세포인 B형세포가 더 많이 손상되며 정상으로의 회복도 더디게 나타났다(Table 4).

고 찰

소화관의 가로절단-재문합(transsection-reanastomosis) 실험모델은 창자신경계통의 성형성(plasticity) 연구에 좋은 모델로 창자신경계통의 구조나 기능 및 소화관 질병의 병리적 기전을 연구하는데 많이 쓰인다. Tokui 등(1994)은 기니픽의 돌창자를 가로절단한 후 재생과정을 관찰한 결과, 수술 1주일 후 가로절단으로 인한 손상부위 주변(길이 3 mm 범위 내)의 근육층신경얼기에서 심한 신경세포의 파괴가 일어나며, 수술 6주 후부터 손상부위로부터 작은 직경의 신경섬유들이 자라나와 손상된 근육층신경얼기가 재연결 되고, 이러한 재생과정은 수술 후 12개월까지 계속되어 오랜 기간에 걸쳐 정상으로 회복된다고 하였다. Karaosmanoglu 등(1996)도 이와 유사한 보고를 하고 있어 흰쥐의 돌창자를 외과적으로 가로절단한 후 1주일 내에 손상부위 주변(길이 5 mm 범위 내)의 근육층신경얼기에서 신경세포의 변성이 일어나 세포 수가 급격히 감소하였으며 이 후에는 변성과 재생 현상이 함께 일어나 6주 후에는 점차 정상으로 회복된다고 하였다.

본 연구에서는 손상부위를 중심으로 구강쪽과 항문쪽에서 2 cm씩의 돌창자 조직을 잘라내어 근육층신경얼기의 변화를 형태계측학적 방법으로 조사하

였다. 위의 연구자들의 결과와 비교해 볼 때 관찰 대상범위가 넓음에도 불구하고 수술 후 3일군과 7일군에서 약 40%의 신경세포 수가 급격히 감소하여 창자의 가로절단으로 인한 손상효과는 좀 더 넓은 부위에 걸쳐 일어나며, 구강쪽과 항문쪽에서 거의 유사한 결과를 나타내어 손상효과는 어느 한 쪽 방향으로 진행되는 것이 아니라 손상부위를 중심으로 앞쪽과 뒤쪽(구강쪽과 항문쪽) 양 방향으로 일어남을 알 수 있었다. 또한 손상효과는 나타나는 시기는 이들의 보고와 일치하였으나 본 연구의 결과에서는 손상 후 15일군에서 신경세포의 수가 약 20%, 30일군에서 약 15%씩 줄어들어 점차적인 회복이 일어나는 시기는 비교적 빨랐다. 이러한 결과는 NADH-TR 염색 표본에서의 형태적 변화와도 일치하여 수술 후 15일군과 30일군에서의 신경세포의 염색 정도나 형태가 거의 정상적인 소견을 나타내었다(Fig. 3D, E). 형태계측학적 방법을 이용한 본 연구의 결과를 바탕으로 손상으로 인한 근육층신경얼기에서의 신경세포의 소실과 시간 경과에 따른 회복현상을 확인 할 수 있으나 이들 세포의 재생기전에 대해서는 다른 측면에서 더 연구해 보아야 할 것 같다.

또한 본 연구에서는 근육층신경얼기를 이루는 신경세포를 유형별로 분류하여 계측한 결과 크기가 큰 신경세포가 손상에 의해 빠르게 반응하며 정상으로의 회복도 더디게 나타나 신경세포의 종류에 따라 변성과 재생과정에서 서로 다른 기전으로 작용함을 알 수 있었다. 본 연구에서 분류한 신경세포의 유형을 Gunn(1951)의 분류기준에 적용해 보면 세포의 크기가 큰 제1형과 2형은 바깥기원신경(extrinsic nerve)이며 크기가 작은 제3형은 자체기원신경(intrinsic nerve)에 속한다. 따라서 창자의 가로절단으로 인한 손상에 의해 바깥기원신경이 더 빠르게 반응하며 재생도 더 느리게 일어나고, 자체기원신경이 손상에 대해 더 저항성이 높다고 생각할 수 있으나 이에 대해서는 발생학적 및 분자생물학적 측면에서 더 많은 연구가 필요하다고 생각한다.

카할사이질세포의 주된 기능은 소화관운동의 유도도입(pacemaker) 역할로 소화관운동에 장애가 있는 각종 질병들에서 카할사이질세포가 소실된다는

많은 보고가 있다. 조임근의 기형이나 기능부전으로 인한 신생아비대성유문협착증 (infantile hypertrophic pyloric stenosis), 특발성 거대큰창자증 (idiopathic megarectum and megacolon) 그리고 직장항문 부위에 협착이 일어나는 히르쉬스프룽병 (Hirschsprung's disease) 등 (Vanderwinden 등 1996, Robertson 등 1997, Gattuso 등 1998, Oue와 Puri 1999)이 그 예이며 이러한 질병들에서는 폐쇄가 일어난 구강쪽 창자의 근육층이 심하게 비대되며 (Gabella 1984), 근육층신경절기 내 신경세포와 척수신경절 세포의 크기가 증가하고 (Williams 등 1993) 카할사이질세포의 소실이 일어난다고 한다 (Ekblad 등 1998, Chang 등 2001). 이와 같이 카할사이질세포가 소화관 운동에 결정적인 역할을 함이 밝혀지면서 최근에 들어서는 이들 세포의 소실 및 재생기전에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. Yanagida 등 (2004)은 소화관의 외과적 수술이나 내독소 (endotoxin)에 의해 유도된 염증때문에 나타나는 소화관 운동장애는 근육층신경절기 사이에 존재하는 고정큰포식세포 (resident macrophage)로부터 분비된 유도성일산화질소 합성효소 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)가 신경세포나 카할사이질세포에 작용하여 운동장애를 일으키게 된다고 주장하고 있으며, 생쥐의 소화관 가로절단-재문합 실험모델에서 이러한 손상효과는 수술 후 5시간에 가장 심하게 나타나기 시작하며 24시간 이후부터 점차적으로 회복된다고 하였다. 또한 Mei 등 (2006)은 기니피크의 소화관 가로절단-재문합 실험 모델에서 카할사이질세포의 손상효과는 수술 후 5~10일 사이에 가장 심하게 나타나며 10~30일 사이에는 재생이 일어나기 시작하여 수술 후 150일 후에는 거의 정상으로 회복되고 민무늬근육층에 있는 미분화세포가 카할사이질세포 재생의 기원이 된다고 하였다. Faussonne-Pellegrini 등 (2006)은 생쥐의 주름창자에 근육층신경절기만을 선택적으로 파괴시키는 약제인 bezalkonium chloride (BAC)를 처리한 후 카할간질세포의 변화를 살펴본 결과 BAC 처리 후 2일째에 가장 심하게 손상되며 14일째부터 재생이 시작되나 60~70일째 까지도 c-kit 단백질에 양성반응을 나타내는 세포가 출현하지 않아 정상으로의 회복이 더디게 일어난다고 하였다. 이상의 연구

보고를 살펴볼 때 소화관 운동장애 시 근육층신경절기의 손상과 함께 카할사이질세포의 소실현상이 일어나며 일정 시간 경과 후 재생이 일어나 운동력이 회복된다는 공통적인 보고를 하고 있으나 소실기전이나 정상으로의 회복 기간 및 재생기전에 대해서는 의견이 일치하지 않고 있다.

본 연구의 결과에서는 흰쥐의 돌창자 가로절단-재문합 수술 후 3일군과 7일군에 약 20~40%의 카할사이질세포 수가 감소하였고, 수술 후 15일군에서는 약 15~20%의 세포 수가 감소하여 수술 후 3일군과 7일군에 비해 그 감소정도가 덜하여 더 이상의 세포소실이 일어나지 않았으며 수술 후 30일군에서는 약 4~7%의 세포 수가 감소하여 ($p > 0.01$) 거의 정상으로 회복되었다. 이러한 세포 수의 변화는 근육층신경절기에서 보다 감소정도가 덜 하였으나 전체적인 변화양상은 유사하게 나타나 운동력의 저하와 회복에 있어 근육층신경절기와 카할사이질세포가 서로 상호의존적으로 작용할 것으로 추정할 수 있다. 또한 본 연구에서는 전층표본제작에 의한 ZIO 염색을 이용하여 카할사이질세포의 형태적 변화와 세포 수를 계수하였다. 이 방법은 창자신경 (enteric nerve)과 카할사이질세포만을 선택적으로 염색하여 이들의 입체적 위치관계를 관찰할 수 있는 방법으로 형태계측학 연구에 적합한 방법이다 (Rumessen과 Thuneberg 1982). 최근에 발표된 카할사이질세포에 관한 논문들에서는 c-kit 항체를 이용한 면역염색에 의한 결과가 주를 이루고 있다. 그러나 본 연구에서는 ZIO 염색에 의한 세포와 c-kit 양성반응세포가 동일한 세포이며 (Komuro와 Zhou 1996), c-kit 단백질의 경우 완전히 분화된 세포에서만 발현되며 세포의 생리적 상태변화에 따라 그 발현정도가 달라지므로 (Faussonne-Pellegrini와 Thuneberg 1999) 이 방법을 사용하지 않았다. 따라서 본 연구의 결과에서는 세포소실에 있어 그 의미의 해석을 다른 연구자들과 달리 할 수 있다. c-kit 면역염색을 이용한 연구자들에 의한 세포의 소실은 면역반응 양성세포의 감소를 뜻하는 것으로 이 경우 카할사이질세포는 표현형을 달리하는 세포 (Faussonne-Pellegrini 등 1999, Torihashi 등 1999)나 섬유모세포와 유사한 세포 (fibroblast-like cell)로 전환된다고 (Chang 등 2001)

보고하고 있다. 그러나 본 연구의 결과에 나타난 수술 후 3일군, 7일군 및 15일군에서의 세포 수의 감소는 세포의 변성 (degeneration)에 의한 세포죽음 (cell death)을 뜻하는 것으로 소화관 가로절단-재문합 수술에 의해 일정 기간 동안 세포가 죽어 소실되고 그 후 점차 재생이 일어남을 알 수 있다. 이러한 사실은 카할사이질세포의 조직학적 변화에 대한 본 연구의 결과에서도 확인 되는데, 세포 수가 급격히 감소한 수술 후 3일군과 7일군의 카할사이질세포의 경우 세포질 내에 많은 공포(vacuole)가 형성되어 있으며 (Fig. 4B, C) 세포 수의 감소정도가 줄어드는 수술 후 15일군 (Fig. 4D)에서는 세포질 내 공포가 형성된 세포의 수가 많이 줄어들어 있었다. 이러한 카할사이질세포의 세포질 내 공포형성은 일종의 세포변성 현상으로 저산소상태 (hypoxia) (Christensen과 Rick 1984)나 궤양대장염 (ulcerative colitis) (Rumessen 1996), 소화관버팀질종양 (GI stromal tumor) (Faussonne-Pellegrini 2002) 및 BAC를 치료한 소화관 (Faussonne-Pellegrini 2006) 등의 카할사이질세포에서 관찰된다고 하여 본 연구 결과를 뒷받침해 주고 있다.

최근 관심이 고조되고 있는 카할사이질세포의 재생현상은 본 연구의 결과로도 확인할 수 있는바, 둘창자 가로절단-재문합 수술 후 15일군부터 더 이상 세포수가 감소하지 않고 수술 후 3일군이나 7일군에 비해 그 감소정도가 줄어들어 재생이 일어남을 알 수 있다. Mei 등 (2006)과 Faussonne-Pellegrini 등 (2006)의 보고에 비추어 볼 때 재생이 일어나기 시작하는 시기는 거의 일치하고 있으나 정상으로의 회복은 매우 빠르게 나타나 수술 후 30일군에서 카할사이질세포의 형태나 단위면적 당 총수가 대조군과 유사하게 나타났다. 이러한 차이는 실험동물이나 카할사이질세포의 염색방법 등의 차이에 의한 것으로 생각할 수도 있으나 본 실험의 결과만으로는 재생기전 등을 밝힐 수 없으므로 이에 대한 보충 실험이 더 필요하다고 생각한다.

근육층신경절기 사이를 채우고 있는 제1형 카할사이질세포는 세포체의 모양이 둥글고 3개 이상의 세포질돌기를 갖고 있는 A형 세포와 세포체의 모양이 타원형이며 2~3개의 세포질돌기를 갖는 B형 세

포로 나누어지며 이들의 분포도 각 부위에 따라 차이가 있어 작은창자에서 멀어질수록 B형 세포의 분포비율이 감소한다고 한다 (Park 등 1994). 이는 카할사이질세포가 세포유형에 따라 그 기능을 달리함을 암시하는 사실로 본 연구에서는 세포의 유형에 따른 이들의 분포 변화를 살펴보았다. 본 연구의 결과 B형 세포가 손상에 의해 더 많은 변성효과를 나타내며 정상으로의 회복도 A형 세포에 비해 느려 세포의 변성과 재생과정에 달리 반응함을 알 수 있었다. Manneschi 등 (2004)도 카할사이질세포의 형태를 이와 같이 분류하고 위 (stomach)의 각 부위에 따라 두극세포 (bipolar cell)와 못극세포 (multipolar cell)의 분포비율이 달라 이들 세포가 서로 다른 기능을 하고 있음을 암시하고 있다. 그러나 카할사이질세포의 형태에 따른 기능적 차이에 대한 연구는 아직 미흡한 상태로 본 연구의 결과는 이 세포의 작용기전을 밝히는데 많은 도움이 되리라 생각된다.

참 고 문 헌

- Behm B, Stollman N : Postoperative ileus: etiologies and interventions. *Clin Gastroenterol Hepatol* 1: 71-80, 2003.
- Cajal SR : Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez les vertébrés. C Reinwald et Cie, Paris, 1894.
- Champy C, Coujard R, Coujard-champy C : L'innervation sympathique des glandes. *Acta Anant* 1: 233-238, 1945.
- Chang IY, Nicholas JG, Ichiro T, Kazuhide H, Sanders KM, Ward SM : Loss of interstitial cells of Cajal and development of electrical dysfunction in murine small bowel obstruction. *J Physiology* 536: 555-568, 2001.
- Christensen J, Rick GA : Intrinsic nerves in the mammalian colon; confirmation of a plexus at the circular muscle-submucosal interface. *J Auton Nerv Sys* 21: 223-231, 1987.
- Christensen J, Rick GA : Interstitial cells of Cajal in the rat colon are damaged by mild hypoxia. *J Auton Nerv Sys* 48: 175-180, 1984.
- De-Shan Z, Komuro T : Interstitial cells associated with the deep muscular plexus of the guinea pig small intestine; with special reference to the interstitial cells of Cajal. *Cell Tissue Res* 268: 205-216, 1992.

- Ekblad E, Sjuve R, Arner A, Sundler F : Enteric neuronal plasticity and a reduced number of interstitial cells of Cajal in hypertrophic rat ileum. *Gut* 42: 836-844, 1998.
- Faussone-Pellegrini MS, Thunberg L : Guide to the identification of interstitial cells of Cajal (ICC). *Microsc Res Tech* 47: 248-266, 1999.
- Faussone-Pellegrini MS, Fociani P, Buffa R, Basilico G : Loss of interstitial cells and fibromuscular layer on the luminal side of the colonic circular muscle presenting as megacolon in an adult patient. *Gut* 45: 775-779, 1999.
- Faussone-Pellegrini MS, Gay J, Vannucchi MG, Corsani L, Fioramonti J : Alteration of neurokinin receptors and interstitial cells of Cajal during and after jejunal inflammation induced by *Nippostrongylus brasiliensis* in the rat. *Neurogastroenterol Motil* 14: 83-95, 2002.
- Faussone-Pellegrini MS, Vannucchi MG, Ledder O, Huang TY, Hanani M : Plasticity of interstitial cells of Cajal: a study of mouse colon. *Cell Tissue Res* 325: 211-217, 2006.
- Furness JB, Costa M : The enteric nervous system. Edinburgh, Churchill Livingstone, pp. 52-96, 1987.
- Gabella G : Detection of nerve cells by a histochemical technique. *Experientia* 25: 218-219, 1969.
- Gabella G : Neuron size and number in myenteric plexus of the newborn and adult rat. *J Anat* 109: 81-95, 1971.
- Gabella G : Hypertrophy of intestinal smooth muscle. *Cell Tissue Res* 163: 199-214, 1975.
- Gabella G : Size of neurons and glial cells in the intramural ganglia of the hypertrophic intestine of the guinea pig. *J Neurocytol* 13: 73-84, 1984.
- Galligan JJ, Furness JB, Costa M : Migration of the myoelectric complex after interruption of the myenteric plexus: intestinal transection and regeneration of enteric nerves in the guinea pig. *Gastroenterol* 97: 1135-1146, 1989.
- Gattuso JM, Smith VV, Kamm MA : Altered contractile proteins and neural innervations in idiopathic megarectum and megacolon. *Histopathol* 33: 34-38, 1998.
- Giaroni C, De Ponti F, Cosentino M, Lecchini S, Frigo G : Plasticity of the enteric nervous system. *Gastroenterol* 117: 1438-1458, 1999.
- Gunn M : A study of myenteric plexuses in some amphibians. *Q J Microsc Sci* 92: 55-77, 1951.
- Hagger R, Finlayson C, Kahn F, Deoliveira R, Chimelli L, Kumar D : A deficiency of interstitial cells of Cajal in Chagasic megacolon. *J Auton Nerv Syst* 80: 108-111, 2000.
- Hanani M, Ledder O, Yutkin V, Abu-Dalu R, Huang TY, Hartig W, Vannucchi MG, Faussone-Pellegrini MS : Regeneration of myenteric plexus in the mouse colon after experimental denervation with benzalkonium chloride. *J Comp Neurol* 462: 315-327, 2003.
- Hanson WR, Osborn DJ, Sharp JG : Compensation by the residual intestine after intestinal resection in the rat. I. Influence of amount of tissue removed. *Gastroenterol* 72: 692-700, 1977.
- Isozaki K, Hirota S, Miyagawa J, Taniguchi M, Shinomura Y, Matsuzawa Y : Deficiency of c-kit⁺ cells in patients with a myopathic form of chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction. *Am J Gastroenterol* 92: 332-334, 1997.
- Kalff JC, Schraut WH, Simmons RL, Bauer AJ : Surgical manipulation of the gut elicits an intestinal muscularis inflammatory response resulting in postsurgical ileus. *Ann Surg* 228: 652-663, 1998.
- Karaosmanoglu T, Muftuoglu S, Dagdeviren A, Durgun B, Aygun B : Morphological changes in the myenteric plexus of rat ileum after transection and end-to-end anastomosis. *J Anant* 188: 323-331, 1996.
- Komuro T, Zhou DS : Anti-c-kit protein immunoreactive cells corresponding to the interstitial cells of Cajal in the guinea-pig small intestine. *J Auto Nerv Syst* 61: 169-174, 1996.
- Langley JN : The autonomic nervous system. Cambridge Heffer, Pt 1, 1921.
- Manneschi IL, Pacini S, Corsani L, Bechi P, Faussone-Pellegrini MS : Interstitial cells of Cajal in the human stomach; distribution and relationship with enteric innervation. *Histol Histopathol* 19: 1153-1164, 2004.
- Mei F, Yu B, Ma H, Zhang HJ : Interstitial cells of Cajal could regenerate and restore their normal distribution after disrupted by intestinal transection and anastomosis in the adult guinea pigs. *Virchows Arch* 449: 348-357, 2006.
- Oue T, Puri P : Smooth muscle cell hypertrophy versus hyperplasia in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *Pediatr Res* 45: 853-857, 1999.
- Park SH, Lee JE, Park KA : The morphometric study of the interstitial cells of Cajal in the rat small intestine. *Experimental Neurobiol* 3: 75-82, 1994.
- Powell DW : Water transport revisited. *J Physiol (Lond)* 514: 1-10, 1999.
- Robertson K, Mason I, Hall S : Hirschprung's disease; gene-

- tic mutations in mice and man. *Gut* 41: 436-441, 1997.
- Rogers DC, Burnstock G : The interstitial cells and its place in the concept of the autonomic ground plexus. *J Comp Neurol* 126: 255-284, 1966.
- Rumessen JJ, Thunberg L : Plexus muscularis profundus and associated interstitial cells. I. Light microscopical studies of mouse small intestine. *Anat Rec* 203: 115-127, 1982.
- Rumessen JJ : Ultrastructure of interstitial cells of Cajal at the colonic submuscular border in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterol* 111: 1447-1455, 1996.
- Sanders KM : A case for interstitial cells of Cajal as pacemakers and mediators of neurotransmission in the gastrointestinal tract. *Gastroenterol* 111: 492-515, 1996.
- Schofield GC : Experimental studies on the myenteric plexus in mammals. *J Comp Neurol* 119: 159-185, 1962.
- Song YS, Her KB, Chung IH, Shin TS : Morphometric study of the myenteric plexus of gastrointestinal tract after vagotomy. *Yonsei Med J* 17: 415-425, 1984.
- Thunberg L : Interstitial cells of Cajal: intestinal pacemaker cell? *Adv Anat Embryol Cell Biol* 71: 1-130, 1982.
- Tokui K, Sakanaka M, Kimura S : Progressive reorganization of the myenteric plexus during one year following reanastomosis of the ileum of the guinea pig. *Cell Tissue Res* 277: 259-272, 1994.
- Torihashi S, Nishi K, Tokutomi Y, Nishi T, Ward SM, Sanders KM : Blockade of kit signaling induces transdifferentiation of interstitial cells of Cajal to a smooth muscle phenotype. *Gastroenterology* 117: 140-148, 1999.
- Vanderwinden JM, Rumessen JJ, Liu H, Descamps D, De Laet MH, Vanderhaeghen JJ : Interstitial cells of Cajal in human colon and in Hirschsprung's disease. *Gastroenterol* 111: 901-910, 1996.
- Wester T, Erikson L, Olsson Y, Olsen L : Interstitial cells of Cajal in the human fetal small bowel as shown by c-kit immunohistochemistry. *Gut* 44: 65-71, 1999.
- Williams TH, Zang M-Q, Jew JY : Hypertrophy of rat sensory ganglion neurons following intestinal obstruction. *Gastroenterol* 105: 5-14, 1993.
- Yanagida H, Yanase H, Sanders KM, Ward S : Intestinal surgical resection disrupts electrical rhythmicity, neural responses, and interstitial cell networks. *Gastroenterol* 127: 1748-1759, 2004.

Legends for Figures

- Fig. 1.** Types of myenteric neurons. 1: Type 1 cell, large and round cell with rich cytoplasm. 2: Type 2 cell, ovoid cell with rich cytoplasm. 3: Type 3 cell, small cell with scanty cytoplasm. NADH-TR stain. Scale bars, 25 μ m.
- Fig. 2.** Types of ICC-Is. A: Type A cell, round cell with 3 to 5 cytoplasmic processes. B: Type B cell, ovoid cell with 2 or 3 cytoplasmic processes. MP: myenteric plexus. ZIO stain. Scale bars, 50 μ m
- Fig. 3.** Morphological changes of myenteric neurons in the intestinal transection-reanastomosis model. NADH-TR stain. Scale bars, 25 μ m. A: Control group. All types of neurons were stained for NADH-TR intensely. Each neurons have distinct cell boundary. B: 3 days after transection group. Most neurons showed low NADH-TR reactivity and indistinct cell boundaries. Some neurons showed degenerative changes (*). C: 7 days after transection group. Many neurons showed degenerative changes with low NADH-TR reactivity (*). D: 15 days after transection group. NADH-TR reactivities of neurons were increased compared with that of the 3days and 7days after transection groups. Each neuron showed distinct cell boundary. E: 30 days after transection group. Many neurons showed high NADH-TR reactivity and distinct cell boundaries.
- Fig. 4.** Morphological change of ICC-Is in the intestinal transection-reanastomosis model. ZIO stain. Scale bars, 50 μ m. A: Control group. ICC-Is are found between the myenteric plexus (MP), consisting rough rectangular networks. B: 3 days after transection group. Most ICC-Is were degenerated. ICC-Is had many cytoplasmic vacuoles (arrow head). MP: myenteric plexus. C: 7 days after transection group. Many ICC-Is had cytoplasmic vacuoles (arrow head) as in that of 3 days after transection group. D: 15 days after transection group. Most ICC-Is were normal appearance. Some ICC-Is had cytoplasmic vacuoles. E: ICC-Is in 30 days after transection group. Intact ICC-Is, consisting rough rectangular networks were seen.

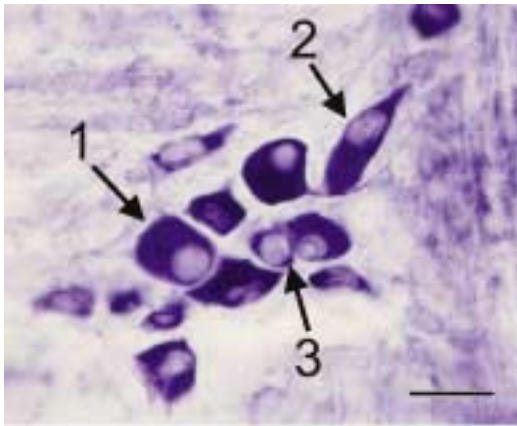


Fig. 1

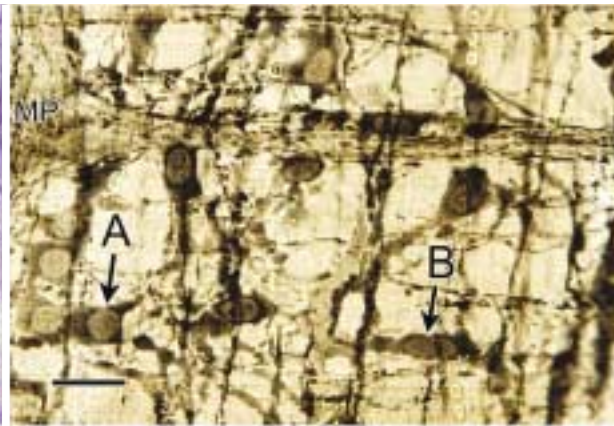


Fig. 2

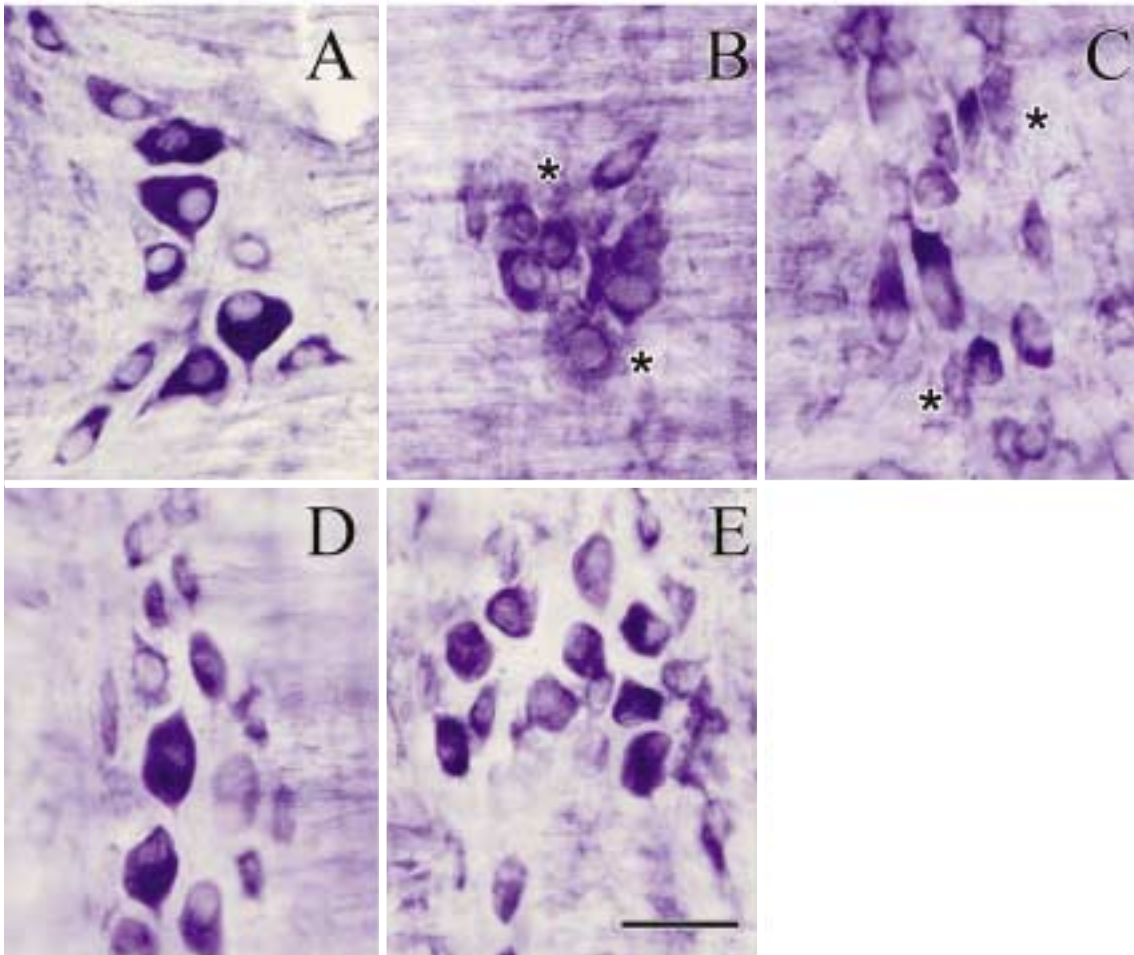


Fig. 3

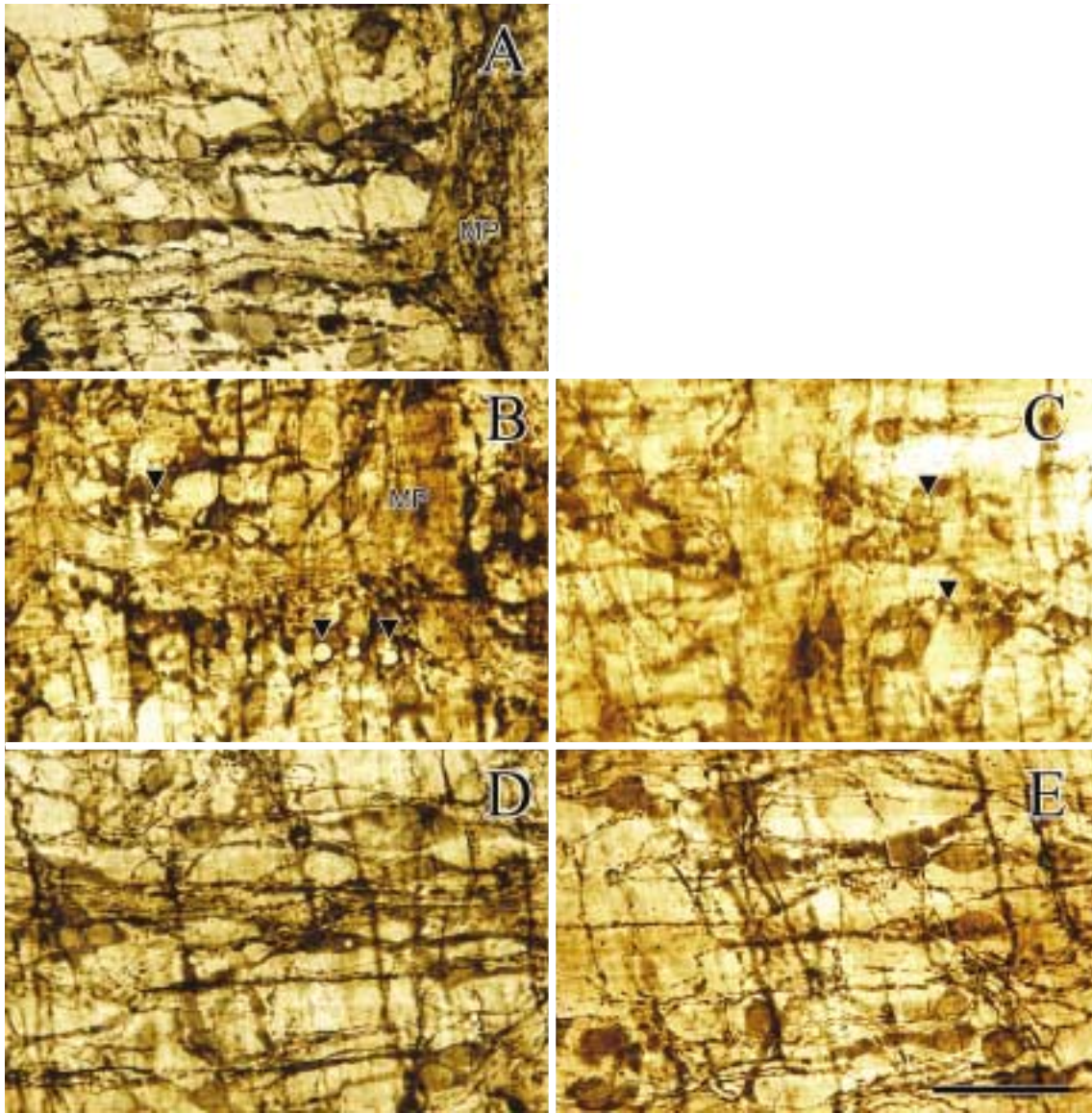


Fig. 4

Abstract

The Morphometric Changes of the Enteric Nervous System in the Intestinal Transection-reanastomosis Model

Soo-Youn Oh, Ung-Chae Park, Kyung-Rae Kim, Jun-Ho Wang¹,
Jae-Dong Lee¹, Soon-Je Kim¹, Wu-Chul Song², Seung-Hwa Park²

*Department of General Surgery, ¹Internal Medicine,
²Anatomy, College of Medicine, Konkuk University*

This study was performed to investigate the morphometric changes of myenteric plexus and type 1 interstitial cells of Cajal (ICC-I) in regeneration process of small intestine transection.

Sprague Dawley rats (200 ~ 250 g) were anesthetized with ether; then the full thickness of ileal wall were semitransected; and subsequent end-to-end anastomosis were performed by using 6-0 silk suture thread. Sham-operated rats, which only underwent the laparotomy, were used for control group. Experimental animals were sacrificed at 3 days, 7 days, 15 days, and 30 days after the operation. In each group myenteric plexus and ICC-Is were prepared by histochemical method (NADH-TR stain for myenteric plexus, ZIO stain for ICC-Is) and cell numbers were counted by image analyzer (Image plus pro-5.0, Media Cybermedics, USA).

Degeneration of myenteric neurons and ICC-Is occurred simultaneously and it was similar in oral and anal to the site of transection. Degeneration effects were most prominent at 3 days and 7 days after intestinal transection. In myenteric plexus, many neurons had degenerated appearances and about 40% of them were lost. Most of ICC-Is had cytoplasmic vacuoles and 20 ~ 37% of the cells were lost. At 15 days after transection, there were no more degeneration in myenteric neurons (20 ~ 25% cell loss) and ICC-Is (20 ~ 13% cell loss). At 30 days after transection, numbers of myenteric neurons were not recovered as that of the control group. However numbers of ICC-Is were as similar as that of the control group.

In conclusion, we confirmed that degeneration effects of intestinal transection are more severe in myenteric plexus than in ICC-Is, and recovery of cell loss occurs more slowly in myenteric plexus.

Key words : Intestinal transection-reanastomosis, Myenteric plexus, Type 1 interstitial cells of Cajal (ICC-Is), Regeneration, Morphometry