

생쥐 작은창자 근육층의 calcitonin gene-related peptide 양성섬유의 분포 및 창자사이질세포에 대한 작용

윤상필, 전제열¹, 임 용², 김인정, 김주영, 김장만, 장인엽

조선대학교 의과대학 해부학교실, ¹생리학교실, ²미생물학교실

간추림 : 중추신경계 및 말초신경계에서 널리 분포하는 것으로 알려진 Calcitonin gene-related peptide (CGRP)는 소화관에서 창자신경계의 활성을 통하여, 소화관호르몬의 분비, 소화관운동의 조절, 근육층신경절의 흥분, 혈관의 확장 등에 관여하는 것으로 알려져 있다. 점막에서 역할은 근육층에 비해 잘 밝혀져 있지만, 근육층에서는 거의 감각신경전달물질로 작용하는 것으로 주로 알려지고 있다. 본 실험에서는 CGRP와 c-kit에 대한 항체를 이용하여 생쥐 작은창자근육층에서 면역조직화학적염색과 전기생리학적 방법을 이용하여 창자운동에 관한 CGRP의 작용을 알아보았다. 흰쥐 작은창자근육층에 존재하는 CGRP양성신경세포체와 신경돌기들이 창자근육층신경절에 널리 퍼져있었고, 이중면역형광염색 결과 CGRP양성신경돌기들이 근육층신경절기에서 창자사이질세포들과 밀접한 관련이 있음을 밝혀내었다. 또한 전기생리학적으로 CGRP가 창자사이질세포의 전기생리학적 활성도를 억제한다는 것도 알 수 있었다. 이러한 본 실험의 결과를 바탕으로 창자운동에 있어서 CGRP를 통한 창자사이질세포의 조절이 창자근육세포의 활성화에 영향을 미친다고 추측된다.

찾아보기 낱말 : calcitonin gene-related peptide (CGRP), 창자근육층, 창자운동, 생쥐

서론

Calcitonin gene-related peptide (CGRP)는 흰쥐 뇌에서 calcitonin 유전자 발현과정 중 발견된 물질이다(Amara 등 1982). 중추 및 말초신경계의 분포 뿐만 아니라, 소화관에서 CGRP면역반응은 면역조직화학적염색과 방사선면역측정법에 의해 확인되었다(Okimura 등 1987, Sternini 등 1992). 소화관에서 CGRP의 작용은 창자신경계(enteric nervous system)의 활성을 통하여 이루어지는데, 소화관호르몬의 분비, 소화관운동의 조절, 근육층신경절(myenteric plexus)의 흥분, 혈관의 확장, 면역세포의 활성화에 관여한다고 알려지고 있다(Goodman과 Iversen,

1986, Palmer 등 1986, Dunning과 Taborsky, 1987, Takaki 등 1989, Ahrén과 Pettersson, 1990). 포유류의 창자에 분포하는 CGRP-면역반응은 두 가지로 나눌 수 있는데, 이들은 감각신경으로 작용하는 외인성(extrinsic)신경과 근육층신경절기와 점막밑신경절기(submucosal plexus)에 존재하는 내인성신경원이다(Costa 등 1986, Ekblad 등 1987, Sternini 등 1987, Belai와 Burnstock, 1988). 창자에 CGRP면역반응이 존재한다는 것으로 보아 CGRP가 작은창자의 조절에 영향을 미치는 것으로 알려지고 있다. CGRP를 투여하면 사람의 작은창자 돌림근육층이나 세로근육층의 수축을 억제하고(Maggi 등 1989, 1990), 기니픽의 돌창자 돌림근육층에 대해서는 흥분성과 억제성으로 작용하고, 창자팽창에 의해 유발된 창자 연동운동을 억제한다고 알려지고 있다(Holzer 등 1989). 그러나 이러한 CGRP가 근육층의 흥분 및 억제에 미치는 영향에 대한 정확한 기전에 대해서는

*이 논문은 2003년도 조선대학교 연구보조비 지원으로 연구되었음.

교신저자: 장인엽(조선대학교 의과대학 해부학교실)
전자우편: iyjang@chosun.ac.kr

잘 알려져 있지 않은 실정이다. CGRP가 창자감각신경에 분포하고, vanilloid 수용체 등과 동일세포에서 공존한다는 것이 밝혀졌지만(Poonyachoti 등 2002), CGRP의 창자에 대한 역할에 관한 보고들은 대부분 창자점막에 관한 것이었다(Kawashima 등 2002). CGRP양성창자신경과 창자근육세포, 창자사이질세포(interstitial cells of Cajal: ICC)를 연관시켜 창자운동에 대한 접근방법은 거의 시도되지 않은 실정이다. 따라서 본 실험에서는 CGRP면역양성세포들의 분포를 알아보고, 나아가 창자운동의 향도잡이역할(pacemaker)과 창자신경전도를 창자근육층에 전달하는 역할을 수행한다고 알려진 창자사이질세포와 CGRP함유 창자신경과의 관계를 알아보고자 한다. 형태학적으로 CGRP양성창자신경의 분포 및 CGRP양성창자신경과 창자사이질세포 사이의 형태학적 관계를 규명하고, 전기생리학적으로 CGRP투여가 창자사이질세포에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

6~8주된 수컷 생쥐(Balb/C) 6마리를 사용하였으며, ether로 마취시킨 후 둘창자를 얻어 염색에 사용하였다

2. 근육전층조직표본제작

(whole-mount preparation)

신선표본을 7~8 cm 정도 절단한 후, 주사기로 창자내부를 0.01 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)로 수차례 세척한 후 양쪽 끝을 실로 묶어 c-kit 염색 또는 c-kit과 CGRP의 이중염색은 -20°C acetone에서, CGRP염색을 위한 고정에서는 4% paraformaldehyde를 주입하여 창자를 팽창시킨 다음, 동일 고정액으로 20분동안 고정시켰다. Silga gel 이 발라진 판을 사용하여 창자를 창자간막을 따라 절개한 후, 창자안쪽을 노출시켜 해부현미경을 사용하여 점막층을 제거하였다.

3. 면역조직화학염색

0.3% Triton X-100이 함유된 PBS를 실온에서 1 시간 반응시킨 후, 1% bovine serum albumin (BSA) 가 함유된 PBS를 실온에서 1시간 반응시켜 비특이적 반응을 억제하였다. rabbit anti-CGRP (Sigma)와 rat anti-c-kit (GIBCO)를 각각 1:200으로 희석하여 4°C 에서 48시간 정도 반응시켰다. 광학현미경을 위한 조직은 통상의 면역조직화학염색 방법으로 처리하였고, 이중형광염색은 2차 항체인 fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugate IgG (Vector)와 Texas red-conjugate IgG (Vector)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간동안 반응시켰다. 이중염색은 두 종류의 1차 항체를 섞어서 동일하게 처리하고, 또 두 종류의 2차 항체를 반응시켜 관찰하였다. 대조군으로는 1차 항체들을 생략하고 2차 항체만 반응시킨 조직을 사용하였다. 염색이 끝난 조직은 유리 슬라이드에 얹어서 습윤 봉입제로 마무리하였다.

4. 공초점주사현미경

모든 면역형광염색된 조직표본을 공초점주사현미경(FV300, Olympus, Japan)을 사용하여 관찰하였다. 레이저 광선의 흥분파장으로서는 488 nm 파장을 FITC 용으로, 568 nm 파장을 Texas-red용으로 사용하였다. Whole-mount 조직표본에서는 1 µm 간격으로 주사영상을 얻었는데 10~30 µm 두께까지 주사하였다. Flow View Software program (Olympus, Japan) 을 사용하여 최종 3차원적 영상으로 재조립하였다.

5. 세포막전압 및 전류의 기록

1) 세포분리

8~13일 된 Balb/C 생쥐를 희생시킨 후, 배를 열어 날문조임근부터 작은창자끝부위를 적출하였다. 실온에서 Krebs-Ringer bicarbonate용액으로 채워진 준비용기 속에서 창자간막가장자리를 따라 절개하여 점막층을 제거하고 돌림근층을 분리시켰다. 분리된 작은창자근육 조직을 collagenase (Worthington type II), 1.3 mg/mL, bovine serum albumin (Sigma), 2 mg/mL, trypsin inhibitor (Sigma), 2 mg/mL, ATP,

0.27 mg/mL 등이 들어 있고, Ca^{2+} 이 들어있지 않는 Hank's 용액에 옮긴 다음 37°C에서 20분간 항온 소화시킨 후, 진탕시켜 단일세포를 분리하였다. 분리된 세포들을 유리 coverglass위에 분주하고, 10분 후에

stem cell factor (SCF, 5ng/mL, Sigma)와 2% antibiotic/antimycotic (Gibco)이 들어있는 SmGm (smooth muscle growth medium, Clonetics Corp)용액을 분주한 후 37°C (95% O_2 -5% CO_2) 배양기에서 배양시켰

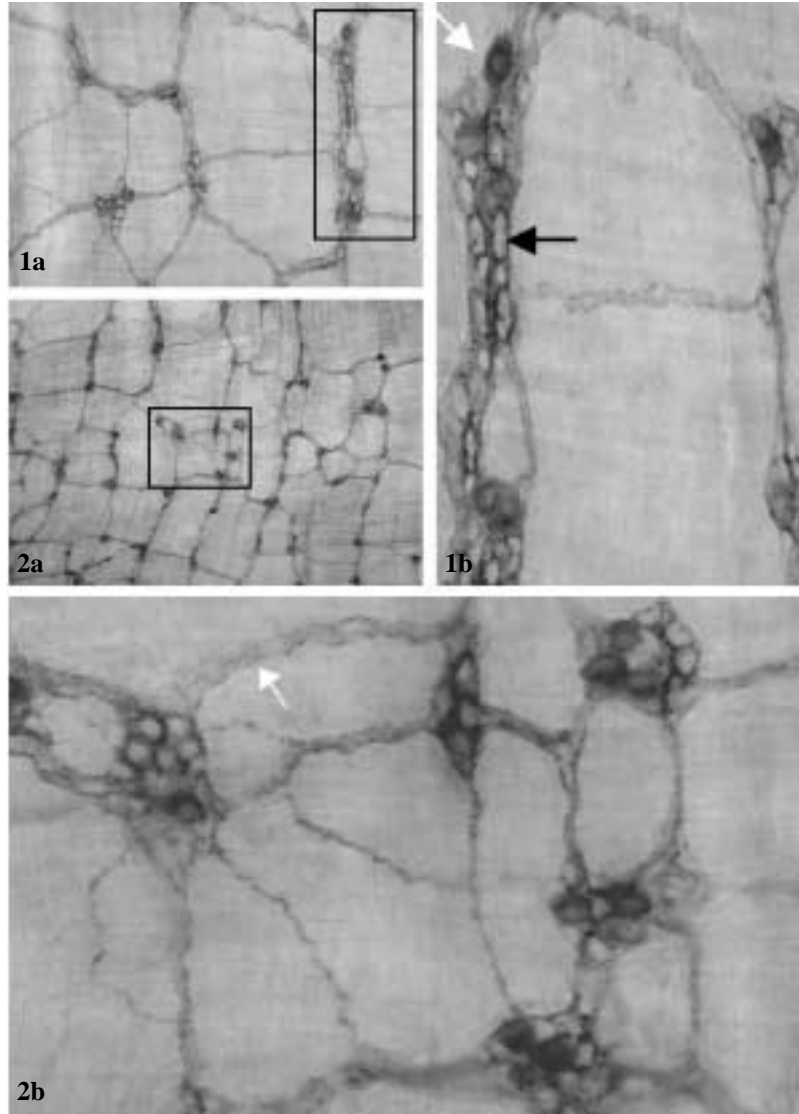


Fig. 1. Light microscopic findings of the whole-mount murine small intestine revealed the CGRP-immunoreactive nerve fibers in the myenteric plexus with cell bodies (white arrow) and varicose nerve fibers. In high magnification (1b), various CGRP-immunoreactive nerve fibers surround other cell bodies and connect the adjacent myenteric plexuses.

Fig. 2. CGRP-immunoreactive myenteric plexus formed network in murine myenteric plexus. In high magnification (2b), CGRP-immunoreactive varicose nerve fibers interconnects the strands of myenteric plexus of the murine small intestine.

다. 실험은 배양 2일째 후부터 시행하였다.

2) 세포막 전압 및 전류의 기록

배양된 용기를 항온 조절계에 옮긴 후 분당 2~3 mL 속도로 세포외용액을 관류시켰다. Whole-cell patch clamp를 사용하여 배양된 창자사이질세포에서 세포막전류(voltage clamp)와 세포막전압(current clamp)을 기록하였다. Patch clamp 증폭기(Axopatch 1-D, Axon Instruments)를 통하여 나오는 신호는 디지털 오실로스코프, 생리적 기록기를 통해서 관찰하였고, 고정전압과 자극전압의 조정 및 전류의 기록은 pClamp (version, 6.0, Axon Instruments)를 사용하였다. 세포막 전류는 -70 mV의 유지전압에 고정하여 기록하였다. 막전압고정실험에서 얻어진 결과는 Pclamp와 GraphPad Prizm (version 2.01, San Diego, CA, USA)을 이용하여 분석 처리하였다. 모든 실험은 30°C에서 시행하였다.

결 과

Calcitonin gene-related peptide (CGRP)과 창자사이질세포에 대한 항체를 이용하여 생쥐 작은창자근

육층에서 면역조직화학적 염색과 배양된 창자사이질세포에서 전기생리학적 방법을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 작은창자 근육층의 CGRP 면역조직화학적 소견

CGRP양성신경섬유들이 작은창자의 근육층신경얼기(myenteric plexus)와 근육층신경절(myenteric ganglion)에 분포하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1a-b). 신경얼기들의 형태와 크기는 다양하였으며, CGRP양성신경섬유들이 근육층신경절, 근육층신경얼기들 사이에서 두꺼운 연결띠(white arrow)를 형성하거나, 가는 연결띠(arrow)를 형성하였다(Fig. 2a-b). 이런 연결띠들이 창자의 장축에 평행으로 주행하거나, 직각으로 주행하였는데, 이들은 그물망처럼 가지를 내면서 퍼져나가 주변 신경얼기들과 연결되었다. CGRP양성신경섬유들은 보통 규칙적이지 않고, 염주모양의 팽창을 보이는 주행경로를 가지고 있었다(Figs. 2-3). 근육층신경얼기의 CGRP양성신경섬유들은 근육층신경절의 다른 세포들을 둘러싸는 양상이었다. 근육층신경절의 CGRP양성반응은 두가지 형태로 나타났다. CGRP양성신경섬유에 의해 둘러싸여있는 신경절 세포들(arrow)과 CGRP양

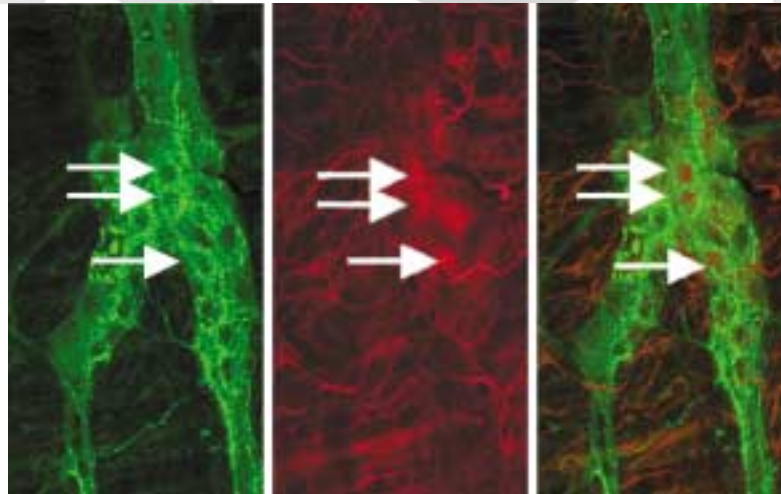


Fig. 3. The merged images (3C) showed intimate relationship(synapse-like, arrows) between CGRP-immunoreactive nerve fibres (3A) and c-kit-positive ICC (3B). Soma of ICC is encircled by CGRP-immunoreactive nerve fibers.

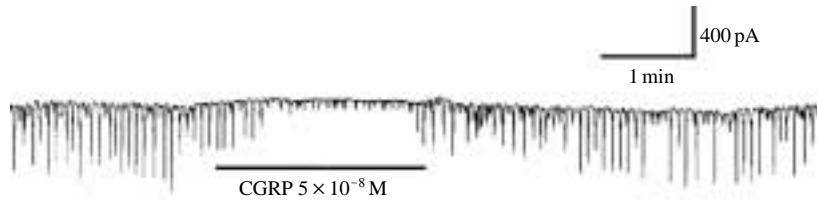


Fig. 4. The electrical activity (frequency and amplitude) of cultured ICC is inhibited by treatment of CGRP (5×10^{-8} M).

성염색 세포체를 가지고 있는 세포들(white arrow)이었다(Fig. 1). 소화관운동을 조절하는 창자사이질세포와 CGRP면역양성세포 사이의 관계를 알아보기 위해 이중형광염색을 실시하여 공초점주사현미경으로 조사하였다. 그 결과 창자사이질세포에서는 CGRP면역반응을 관찰할 수 없었지만, 많은 CGRP양성신경섬유들이 c-kit양성 창자사이질세포들을 둘러싸는 양상을 관찰할 수 있었다(Fig. 3).

2. CGRP 처치에 따른 사이질세포의 세포막 전압 및 전류의 기록

유지전압 -70 mV로 막전압을 고정하면 자발적 내향성 전류인 향도잡이 전류가 기록된다. 기록된 향도잡이 전류의 빈도는 15.2회에서 CGRP 투여 후 11.3회로 저하되고, 또 최고 600 pA를 보이던 향도잡이 전류의 크기는 CGRP 투여 후 69.5 ± 0.3 pA로 감소하였다. 즉 배양된 창자사이질세포에 투여된 CGRP는 향도잡이 전류의 발생빈도나 전류의 크기를 억제하였다(Fig. 4).

고 찰

본 실험에서 생쥐 작은창자근육층에 존재하는 CGRP양성신경세포체와 신경돌기들이 근육층에 널리 퍼져있고, CGRP양성신경돌기들이 근육층신경절기에서 창자사이질세포들과 밀접한 관련이 있음을 밝혀내었다. 또한 전기생리학적으로 CGRP가 창자사이질세포의 전기생리학적 활성도를 억제한다는

것도 알 수 있었다. 이를 바탕으로 창자운동에 있어서 CGRP를 통한 창자사이질세포의 조절이 창자근육세포의 활성화에 영향을 미친다고 추측된다. 창자에서 나타나는 CGRP면역양성반응은 신경돌기와 신경세포체에서 관찰되는 것으로 알려졌다. 다양하게 주행하는 돌기들은 근육층신경절기, 점막밑신경절기, 근육층, 점막, 혈관주변 등에서 광범위하게 존재하고, 신경세포체는 근육층신경절기, 점막밑신경절기에 존재하는 것으로 밝혀졌다(Okimura 등 1987, Sternini 등 1987, Holzer 등 1989, Sternini 등 1992, Rasmussen 등 2001). 창자근육층전층표본(whole-mount preparation)을 이용한 본 실험에서의 결과는 주로 근육층신경절기에서 관찰되었는데 위 보고들과 일치하였다. 동물이나 장기에 따라 CGRP에 대한 반응이 약간 다르게 나타나는 것으로 알려지고 있다. 예를 들면, 기니픽 작은창자의 돌림근육층과 세로근육층에서는 apamin에 대해 CGRP의 작용이 다른 형태로 나타나거나(Holzer 등 1989), 사람에서는 돌창자와 빈창자, 돌림근육층과 세로근육층 사이에 기니픽과 유사한 현상이 나타난다고 보고되고 있다(Maggi 등 1989, 1990). 또한 돼지에서는 CGRP의 양에 따라 수축양상이 다르게 나타난다(Rasmussen 등 1992). 창자에서 CGRP양성 감각신경은 2종류로 나눌 수 있는데, 첫째는 뒤뿌리신경절과 결절신경절에서 기원하는 외인성 무리이고, 둘째는 근육층신경절에서 기원하는 내인성 무리로 부교감신경을 통해 전도되며, 칼슘결합단백인 calbindin에 양성면역반응을 보인다(Sternini와 Anderson, 1992, Costa 등 1996, Furness 등 1998, Mann 등 1999). 외인성 무리는 capsaicin에 의해 활성화 되고(Rasmus-

sen 등 2001), vanilloid 제1형 수용체 (vanilloid receptor type 1: VR1)에 양성반응을 보이는 것으로 알려지고 있다(Sternini와 Anderson, 1992, Ward 등 2003). 또한 VR1과 CGRP사이의 동일세포에 공존하는 경향이 매우 높고, 근육층신경절에서는 CGRP 양성신경세포가 VR1양성신경세포보다 많다는 보고(Ward 등 2003)와, 신생 흰쥐에 capsaicin을 투여하면 식도와 위에서는 95% 정도, 작은창자에서는 50% 정도의 CGRP양이 감소된다는 것(Sternini 등 1987)으로 미루어, VR1과 CGRP사이에는 형태학적, 기능적 연관성이 존재한다고 추측된다. 본 실험에서는 CGRP양성감각신경의 분류에 초점을 두지 않았기 때문에 더 이상 진행하지 않았다.

CGRP의 창자운동에 대한 사실은 잘 알려져 있지 않지만, 창자신경에서 유리된 CGRP가 창자근육에 작용하여 창자운동성에 영향을 미친다고 추측되어 왔다(Holzer 등 1989). 창자운동신경 전달물질로 알려진 substance-P, 또는 calcitonine들이 VR1양성세포나 신경돌기들과 공존한다는 것은, VR1과 CGRP의 연관성으로 볼 때 간접적으로 CGRP가 창자운동신경전도에 관련된 것을 뒷받침하고 있다(Costa 등 1996, Lomax와 Furness 2000, Anavi-Goffer와 Coutts, 2003). 하지만 본 연구자들이 밝혀낸 바에 따르면 VR1양성 창자신경과 창자운동을 담당하는 창자사이질세포는 서로 직접적인 관련이 없었다(전제열 등 2004). 대신 본 실험결과에서 보여준 CGRP양성신경섬유들이 창자사이질세포를 둘러싸고 있는 형태학적 결과, 전기생리학적으로 CGRP의 투여가 창자사이질세포의 활성도를 저하시켰던 결과는 새로운 것이었다. 즉 기존의 창자신경말단에서 유리된 CGRP가 창자근육운동성을 억제한다는 단순한 설정에, 창자사이질세포가 추가된 점이다. 창자신경말단에서 유리된 CGRP가 창자사이질세포를 억제함으로써 이차적으로 창자근육의 운동성이 저하된다는 추론이다. Capsaicin의 투여가 창자신경에서 CGRP의 유리를 촉진시킨다는 보고(Bartho 등 1991)로 미루어 볼 때, capsaicin 투여에 의해 VR1양성 창자신경이 활성화되어 CGRP를 유리시키고, 이 CGRP가 창자사이질세포 활성도를 저하시켜 창자 민무늬근의 이완을 유발한다는 과정

을 설명하는 하나의 추론이 될 수 있으리라 사료된다. 앞으로 이를 뒷받침하기 위해서는 CGRP수용체에 대한 확인과 면역전자현미경적 방법을 이용하여 창자신경과 창자사이질세포와의 연관성을 재차 확인해야 할 필요가 요구된다.

결론적으로 본 실험결과를 통하여 CGRP양성 창자신경말단에서 유리된 CGRP는 창자사이질세포의 활성도 저하를 통하여 창자근육의 이완을 초래하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 전제열, 양은석, 김기훈, 장인엽: 생쥐 창자근육층신경절기에 분포하는 vanilloid receptor type-1: 면역조직화학 및 전기생리학적 연구, 대한체질인류학회지 17 : 45-53, 2004.
- Ahrén B, Pettersson M: Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and amylin and the endocrine pancreas, *Int J Pancreatol* 6 : 1-15, 1990.
- Amara SG, Jones V, Rosenfeld M, Ong ES, Evans RM: Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products, *Nature* 298 : 240-244, 1982.
- Anavi-Goffer S, Coutts AA: Cellular distribution of vanilloid VR1 receptor immunoreactivity in the guinea-pig myenteric plexus, *Eur J Pharmacol* 1; 458 : 61-71, 2003.
- Bartho L, Koczán G, Holzer P, Maggi CA, Szolcsányi J: Antagonism of the effects of calcitonin gene-related peptide and of capsaicin on the guinea-pig isolated ileum by human alpha-calcitonin gene-related peptide (8-37), *Neurosci Lett* 5; 129 : 156-159, 1991.
- Belai A, Burnstock G: Release of calcitonin gene-related peptide from rat enteric nerves is Ca^{2+} -dependent but is not induced by K^+ depolarization. *Regul Pept* 23 : 227-235, 1988.
- Costa M, Brookes SJ, Steele PA, Gibbins I, Burcher E, Kandiah CJ: Neurochemical classification of myenteric neurons in the guinea-pig ileum, *Neuroscience* 75 : 949-967, 1996.
- Costa M, Furness JB, Gibbins IL: Chemical coding of enteric neurons, *Prog Brain Res* 68 : 217-239, 1986.
- Dunning GJ, Taborsky JR: Calcitonin gene-related peptide: a potent and selective stimulator of gastrointestinal somato-

- statin secretion, *Endocrinology* 120 : 1774–1781, 1987.
- Ekblad E, Winther C, Ekman R, Håkanson R, Sundler F: Projection of peptide-containing neurons in rat small intestine, *Neuroscience* 20 : 169–188, 1987.
- Furness JB, Kunze WA, Bertrand PP, Clerc N, Bornstein JC: Intrinsic primary afferent neurons of the intestine, *Prog Neurobiol* 54 : 1–18, 1998.
- Goodman EC, Iversen LL: Calcitonin gene-related peptide: novel neuropeptide, *Life Sci* 38 : 2169–2178, 1986.
- Holzer P, Barthó L, Matusák O, Bauer V: Calcitonin gene-related peptide action on intestinal circular muscle, *Am J Physiol* 256 : G546–G552, 1989.
- Kawashima K, Ishihara S, Rumi MAK, Moriyama N, Kazumori H, Suetsugu H, Sato H, Fukuda R, Adachi K, Shibata M, Onodera S, Chiba T, Kinoshita Y: Localization of calcitonin gene-related peptide receptors in rat gastric mucosa, *Peptides* 23 : 955–966, 2002.
- Lomax AE, Furness JB: Neurochemical classification of enteric neurons in the guinea-pig distal colon, *Cell Tissue Res* 302 : 59–72, 2000.
- Maggi CA, Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Turini D, Barbanti G, Beneforti P, Misuri D, Meli A: Human isolated small intestine: motor responses of the longitudinal muscle to field stimulation and exogenous neuropeptides, *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 339: 415–423, 1989.
- Maggi CA, Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Turini D, Barbanti G, Giachetti A, Meli A: Human isolated ileum: motor responses of the circular muscle to electric field stimulation and exogenous neuropeptides, *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 341 : 256–261, 1990.
- Mann PT, Furness JB, Southwell BR: Choline acetyltransferase immunoreactivity of putative intrinsic primary afferent neurons in the rat ileum, *Cell Tissue Res* 297 : 241–248, 1999.
- Okimura Y, Chihara K, Abe H, Kita T, Kashio Y, Sato M, Fujita T: Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the central nervous system and peripheral organs of rats, *Regul Pept* 17 : 327–337, 1987.
- Palmer JM, Schemann M, Tamura K, Wood JD: Calcitonin gene-related peptide excites myenteric neurons, *Eur J Pharmacol* 132 : 163–170, 1986.
- Poonyachoti S, Kulkarni-Narla A, Brown DR: Chemical coding of neurons expressing delta- and kappa-opioid receptor and type I vanilloid receptor immunoreactivities in the porcine ileum, *Cell Tissue Res* 307 : 23–33, 2002.
- Rasmussen TN, Gregersen H, Harling H, Holst JJ: Calcitonin gene-related peptide: effect on contractile activity and luminal cross-sectional area in the isolated, perfused porcine ileum, *Scand J Gastroenterol* 127 : 787–792, 1992.
- Rasmussen TN, Schmidt P, Poulsen SS, Holst JJ: Localization and neural control of the release of calcitonin gene-related peptide (CGRP) from the isolated perfused porcine ileum. *Regul Pept*, 20; 98 : 137–143, 2001.
- Sternini C, Anderson K: Calcitonin gene-related peptide-containing neurons supplying the rat digestive system: differential distribution and expression pattern, *Somatosens Mot Res* 9 : 45–59, 1992.
- Sternini C, Reeve JR, Brecha N: Distribution and characterization of calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the digestive system of normal and capsaicin-treated rats, *Gastroenterology* 93 : 852–862, 1987.
- Sternini C, De Giorgio R, Furness JB: Calcitonin gene-related peptide neurons innervating the canine digestive system, *Regul Pept* 42: 15–26, 1992.
- Takaki M, Jin JG, Nakayama S: Possible involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in non-cholinergic non-adrenergic relaxation induced by mesenteric nerve stimulation in guinea pig ileum, *Brain Res* 478: 199–203, 1989.
- Ward SM, Bayguinov J, Won KJ, Grundy D, Berthoud HR: Distribution of the vanilloid receptor (VR1) in the gastrointestinal tract, *J Comp Neurol* 6; 465 : 121–135, 2003.

Abstract

Calcitonin Gene-related Peptide Immunoreactivity in the Muscle Layer of Small Intestine; Its Action on Interstitial Cell

Sang-Pil Yoon, Jae-Yeoul Jun¹, Young Lim², In-Jeong Kim, Joo-Young Kim, Jang-Man Kim, In-Youb Chang

*Department of Anatomy,¹Department of Physiology,
²Department of Microbiology, College of Medicine, Chosun University*

In addition to the central and the peripheral nervous system, calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity (CGRP-LI) has been identified throughout the enteric nervous system. Several functions of the CGRP in gastrointestinal (G-I) tract has been identified, but the effect of CGRP on G-I motility is unclear. The distribution of calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity (CGRP-LI) in the murine small bowel were studied by using immunohistochemistry, also analyzed functionally by using electrophysiological method. Immunohistochemical studies demonstrated that CGRP-LI is localized in both nerve fibers and myenteric ganglion cells in the whole-mount preparation of murine small intestine. Double labelling with CGRP and c-kit investigated by confocal microscope was shown that CGRP-LI enteric nerve fiber surrounded the c-kit positive interstitial cells of Cajal (ICC). Electrophysiological finding revealed that treatment of CGRP inhibited electrical activity on culture ICC. Our results suggest a CGRP innervation of murine small bowel ICC. The released CGRP from enteric nerve terminals may induce relaxation of small bowel through the inhibition of ICC.

Key words : Calcitonin gene-related peptide(CGRP), Enteric muscle, Bowel motility, Mouse