

소화관 폐쇄조건에 따른 interstitial cells of Cajal (ICC) 및 소화관운동의 가소성

전제열¹, 김진호², 유호진³, 김주영, 오재욱, 문정석, 장인엽
조선대학교 의과대학 해부학교실, ¹생리학교실, ²신경과학교실, ³약리학교실

간추림 : Interstitial cells of Cajal (ICC)은 소화관벽에 위치하며 소화관 운동의 향도잡이 역할을 수행할 뿐만 아니라, 창자신경으로부터 소화관으로 가는 신호를 매개하며 민무늬근으로 전달하는 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다. 영아비대성날문협착증 및 여러 소화관폐쇄질환에서 소화관근육의 비대를 초래하게 되고, 소화관운동의 감소 및 소실을 초래하게 된다. 본 연구자들도 이미 생쥐의 작은창자를 기계적으로 폐쇄시킨 동물에서, 폐쇄 부위보다 입쪽으로 ICC의 소실 및 비정상적인 서파가 나타나는 것을 확인하였다. 이러한 결과들을 바탕으로 이 동물모델에서 작은창자에 가해진 폐쇄조건을 제거하였을 때 과연 ICC 및 서파가 회복되는가를 알아보는 것을 확인하기 위하여 작은창자를 부분폐쇄시켜 창자벽의 비대가 초래된 후, 부분폐쇄조건을 제거하고 1~2개월 생존시킨 후 다음과 같은 결과를 얻었다. 1) 폐쇄에 따른 근육증비후를 나타냈던 부위가 육안적으로 거의 정상으로 회복되었고, 2) 면역조직화학적염색결과 폐쇄동물에서 사라졌던 ICC 그물망들이 회복됨을 관찰할 수 있었고, 3) 생리학적으로 세포내 전압을 측정할 결과, 정상적인 서파의 회복을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과들로 미루어 기계적 폐쇄에 따라 ICC가 소실되는데, 이들 세포들이 작은창자의 폐쇄조건을 제거함에 따라 다시 소화관 근육세포 사이에 다시 나타남을 알 수 있었다. 본 실험에서 ICC가 조건에 따라 소실되고, 다시 복원되는 가소성(plasticity)을 보인다는 것을 밝혀냈는데, 앞으로 여기에 관여하는 분자생물학적 요소를 밝혀낸다면 소화관운동 장애 질환의 치료에 이용될 수 있으리라 사료된다.

찾아보기 낱말 : c-kit, interstitial cells of Cajal (ICC), 소화관운동, 창자폐쇄, 가소성

서 론

Interstitial cells of Cajal (ICC)은 내장민무늬근세포들과 내장신경종말들 사이에 위치하는 세포로 그 기능에 대해서는 오랫동안 잘 알려지지 않았지만 소화관생리에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되어 왔다(Thuneberg 1982, Suzuki 등 1986, Hara 등 1986). 그 후 ICC가 소화관 연동운동에 있어서 서파(slow wave)를 발생시키는 소화관 연동운동의 향도잡이(pace-maker)로서 역할을 수행할 뿐만 아

니라, 창자신경으로부터 민무늬근세포로 전해지는 신경전달을 매개, 조절한다고 보고되었다(Huizinga 등 1988, Du와 Conklin 1989, Serio 등 1990). ICC가 창자운동에 있어서 중추역할을 수행한다는 것은 알려져 있지만, 아직도 세포학적 범위 또는 발생기전에 대해서는 명확히 밝혀지지 않은 실정이다. 최근 ICC가 receptor tyrosine kinase (kit)를 암호화하는(encoding) c-kit에 의해 표지된다는 사실들이 밝혀짐으로써 ICC의 형태학적 및 생리생화학적 연구가 많이 이루어지고 있는 실정이다(Ward 등 1994, Komuro와 Zhou 1996, Hudson 등 1999, 윤상필 등, 2001).

민무늬근의 비대증(hypertrophy)은 어느 장기에 기능적 요구가 증가되어 나타나는 생리학적 반응

*이 논문은 2001년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

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

이다. 소화관의 부분적 폐쇄에 따른 소화관근육층 비대증도 임상적으로나 동물모델에서 보고되고 있다. 소화관의 부분적 폐쇄가 가해짐에 따라 근육층(tunica muscularis)의 육안적 형태 및 근육세포의 미세현미경적 소견의 변화가 일어나며 (Gabella 1979, 1987, 1990), 이러한 변화는 단지 민무늬근육 세포에만 국한되지는 않는다. 창자신경에 있어서는 비대증을 보이는 창자의 신경지배 밀도의 저하 및 신경전달물질의 발현의 변화 등이 초래된다 (Ekblad 등 1998, Brehmer 등 2000, Wang 등 2000). 그러나 폐쇄부위보다 항문쪽에서는 ICC와 서파의 이상소견은 관찰되지 않음을 알 수 있었다 (전제열 등 2002). 임상적으로 소화관의 비대에 따라 임상 증상을 호소하는 질환의 경우 대부분 여러 가지 소화관 운동장애를 초래할 수 있다. 선천적으로 영아비대성날문협착증 (infantile hypertrophic pyloric stenosis)과 특발성 거대급이창자 (idiopathic megacolon) 등과 같은 조임근의 발달이상이나 기능저하를 나타내는 경우 (Vanderwinden 등 1996a, Gattuso 등 1998, Oue와 Puri 1999), Hirschprung 씨병에서와 같은 소화관의 협착증상을 보이는 질환에서는 폐쇄부위의 입쪽(oral)으로 근육층비대증이 발생한다 (Lane 1966, Webster 1973). 소화관 근육층의 비대증은 후천적인 폐쇄에 따라 발생 할 수도 있는데 이러한 경우는 식도이완불능증 (Achalasia: Friensen 등 1983), Chaga 씨병 (Smith 1982, Hagger 등 2000), 양성과 악성종양이 소화관 안에서 자라나 소화관벽의 근육층을 누르는 경우 (Zollinger 1986, Nozoe 등 1999), 소화관염증 (Blennerhassett 등 1999) 등이 있다. 이러한 소화관운동장애를 일으키는 질환들에서 근육세포, 창자신경세포의 변화 뿐만 아니라 ICC의 변화도 초래되는 것으로 추측되고 있다. 본 연구자들도 생쥐모델을 이용하여 작은창자에 기계적 폐쇄를 유도하여 소화관에 나타나는 변화를 알아본 결과, 작은창자의 폐쇄 2주 후, 폐쇄부위보다 입쪽의 작은창자부위에서 육안적으로 창자의 직경이 증가하고, 광학현미경적으로 근육층의 비대가 나타나는 것을 관찰할 수 있었다 (전제열 등 2002). ICC에 대한 면역형광염색 (c-kit staining) 결과, ICC 그물망이 폐쇄부위보다 입쪽으로 25 mm 정도까지 소

실 또는 뚜렷하게 감소되는 것을 관찰할 수 있었으며, 이러한 형태학적 결과와 병행하여 전기생리학적으로도 서파의 소실 또는 감소가 나타남을 관찰할 수 있었다.

본 실험에서는 이상의 결과에 대한 추가적인 실험으로 2주 동안 작은창자를 부분폐쇄시켜 소화관 비대가 나타나는 것을 확인하고, 부분폐쇄 clip을 제거하고, 다시 1~2개월 정도 생존케 한 후 소화관벽에 나타나는 ICC 및 서파의 변화, 즉 ICC의 재생여부를 알아보고자 한다. ICC의 재생여부를 알아내는 것은 여러 소화관운동장애질환의 치료 가능성 기초자료를 제공할 것으로 사료되어 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 동물처리

출생 40~60일된 수컷 Balb-C 생쥐 (n=10)를 사용하였다. Nembutal (60 mg/kg)로 마취를 유도하였고, 왼쪽 배를 열고 막창자를 기준으로 이로부터 2~3 cm 입쪽의 작은창자에 polyethylene clip (6mm 길이, 4 mm 내경)을 삽입하였다. 이 크기는 통상 생쥐의 작은창자 직경보다 1~2 mm 정도 크기 때문에, 완전한 폐쇄는 이루어지지 않고, 음식물의 통과를 지연시키게 하였다. Clip을 삽입한 후 다시 창자를 복강내로 원위치시키고 봉합한 후, 보온담요에서 회복시켰다. 수술 및 회복시기에 97% O₂-3% CO₂ 혼합가스를 공급하여 저산소증을 예방하였다. 이렇게 부분적 폐쇄를 유도한 실험동물들은 식이 섭취와 배설에 별다른 차이를 보이지 않았다. Clip 삽입 2주 후에 배팽만을 보이는 동물을 다시 마취시킨 후 소화관비대를 확인한 후 (Fig. 1a), clip을 제거하고 창자를 복강내로 원위치 시키고 봉합한 후, 회복시켰다. 그 후 1~2개월 동안 생존시킨 다음, 배팽만이 육안적으로 감소된 것을 관찰한 다음, 동물을 희생시켜 창자조직을 얻었다. 이 조직표본은 세로방향으로 둘로 나누어 한쪽은 조직화학염색으로, 한쪽은 전기생리학적 실험에 이용하였다.

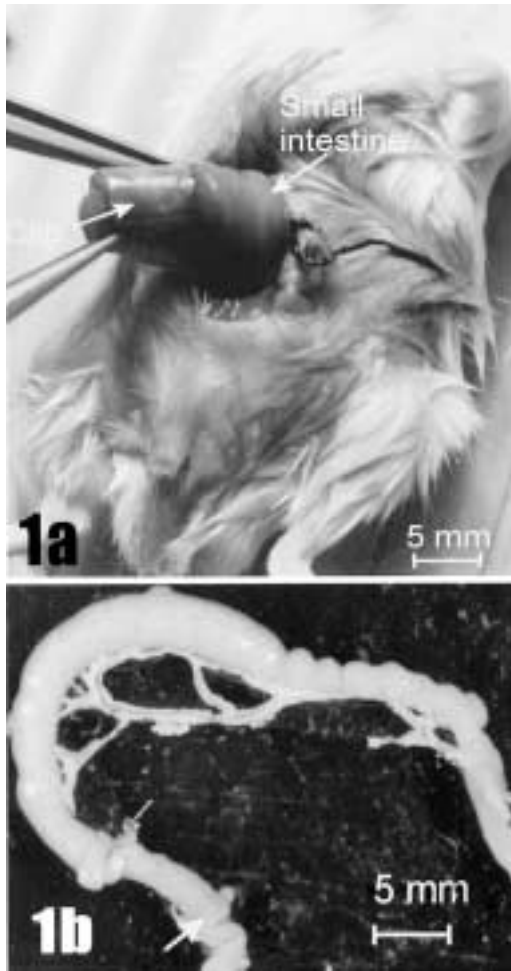


Fig. 1. a. Oral to the clip, gross distension of the small intestine 14 days after insertion of clip was developed by obstruction clip. Clip was carefully removed from the murine small intestine. These animals were subsequently allowed to recover for a period of 1 month. b. After 1 month, the distension of the small intestine was greatly reduced during the recovery period. Arrow indicates the site of previous clip insertion.

2. 면역조직화학염색

신선표본을 5 cm 정도 절단한 후, 주사기로 창자 내부를 phosphate-buffered solution (PBS, 0.01 M, pH 7.4)로 수 차례 세척한 후, 실리콘이 발라진 용

기를 사용하여 핀으로 고정하여 움직이지 않게 한 다음 장간막의 경계를 따라 절개한 후 해부현미경을 사용하여 점막층을 제거하고 근육층전층표본 (whole mount preparation)을 얻어 -20°C acetone을 사용하여 10분 동안 고정시킨 후 면역형광염색을 실시하였다. 고정이 끝난 조직을 PBS에서 20분씩 3회 세척하고, 0.3% Triton X-100이 함유된 PBS를 실온에서 1시간동안 반응시킨 후, 비특이적 반응을 억제하기 위해 1% bovine serum albumin (BSA)가 함유된 PBS를 실온에서 1시간 반응시켰다. 제1항체는 c-Kit항체인 ACK2 (GIBCO)를 1% BSA가 함유된 PBS에 1:200으로 희석하여 4°C 에서 48시간 동안 진탕시키면서 반응시켰다. PBS로 수차례 세척한 후, 면역표지물질인 2차 항체는 Texas-red-conjugate anti-rat Ig G (Vector)를 1:100으로 PBS에 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 수차례 PBS로 세척한 후 습윤봉입하여 공초점 주사 현미경 (FV300, Olympus, Japan)으로 관찰하고 3차원적 영상을 얻었다. 염색시 대조군으로는 1차 항체를 생략하고 2차 항체인 형광표지물질만 반응시킨 조직을 사용하였다.

3. 전기생리학적 실험 및 분석

동물들을 희생시킨 후 배를 열고 소화관 전체를 Krebs-Ringer Buffer (KRB, pH 7.3~7.4)에 담고, Clip에서 입쪽으로 100 mm길이 만큼, clip에서 항문쪽으로 10 mm만큼, 그리고 clip에 덮여 있는 폐쇄부위의 작은창자를 잘라내었다. 창자간막 모서리를 따라 절개하여, 창자내용물을 제거하고자 창자 안쪽면을 청결하게 한 다음 silicon이 발라진 판위에 점막이 위로 향하게 벌려서 핀으로 고정하였다. 조심스럽게 점막을 제거한 후 각각 $25 \times 5 \text{ mm}$ 크기로 근육층 표본을 만들어서 세포내전압기록장치 (intracellular voltage recording apparatus)에서 막전압 (transmembrane potential)을 측정하였다. Nifedipine이 생쥐 서파에 영향을 미치지 않는다는 보고 (Ward 등, 1994)에 따라 Nifedipine ($1 \mu\text{M}$; Sigma)이 함유된 KRB를 관류액으로 사용하여 수축을 방지하여 움직이지 않게 하였다. 전기생리학적 분석은

(1)안정막전압 (resting membrane potential; RMP), (2)서파의 크기 (slow wave amplitude), (3)서파의 지속기간 (duration of slow wave), (4)서파의 빈도 (frequency of slow wave)등을 이용하였다. 자료들은 평균±표준편차(mean±SD)로 표시하였으며 student t test로 평가하였다.

결 과

작은창자를 폐쇄시켜 2주 후에 창자벽이 비대해진 것을 확인한 후, clip을 제거하여 폐쇄조건을 없애고 다시 1~2개월 동안 생존시킨 후 나타나는 ICC의 변화를 조직학적 및 전기생리학적으로 조사하였다. 본 연구자들은 창자폐쇄에 따라 ICC그물망과 서파들이 폐쇄부위보다 입쪽에서 완전히 사라지거나 감소하였다고 이미 보고하였다(전제열 등 2002). 따라서 정상대조군의 결과는 이를 이용하였다.

1. 육안적변화

폐쇄조건을 없애고 1개월 동안 생존시킨 실험동물의 육안적 소견은 폐쇄시켰을 때 비대를 보였던 작은창자부위가 훨씬 더 정상에 가까운 모습으로 회복되었다. Clip이 있었던 곳 (막창자에서 입쪽으로 2 cm 부위)에는 clip을 겹겹으로 둘러싸고 있던 복막들이 흔적으로 남아 있었다(Fig. 1b). Clip부분 입쪽으로 25 mm까지 창자직경은 2.6 ± 0.25 mm으로 대조군의 1.95 ± 0.25 mm에 비해 약간 증가되어 있으나, 폐쇄군에서 보여준 직경 (5.5 ± 0.3 mm)에 비해서는 훨씬 정상소견에 접근해 있었다(전제열 등 2002).

2. 면역조직화학적 염색

Clip을 제거한 후 kit 면역조직화학적염색을 실시하였을 때 ICC그물망들이 회복되어 나타남을 알 수 있었다. 특히 폐쇄실험군에서 사라졌던 kit 면역반응이 (Figs. 2b-4b), 폐쇄조건을 제거하고 1개월 이상 생존시킨 실험군에서 폐쇄부위보다 입쪽으로 1~50 mm 부위에서 ICC그물망이 나타나는 염색소

견을 보였다 (Figs. 2a-4a). 폐쇄부위보다 입쪽으로 75~100 mm 부위에서는 폐쇄군과 회복군 모두 정상형태의 소견을 보여 차이를 관찰할 수 없었다 (Fig. 5a, b). 폐쇄부위보다 항문쪽의 ICC그물망은 정상적인 소견을 보였다. Kit 염색은 주로 근육층의 myenteric plexus (IC-MY)와 돌림근육층 (circu-

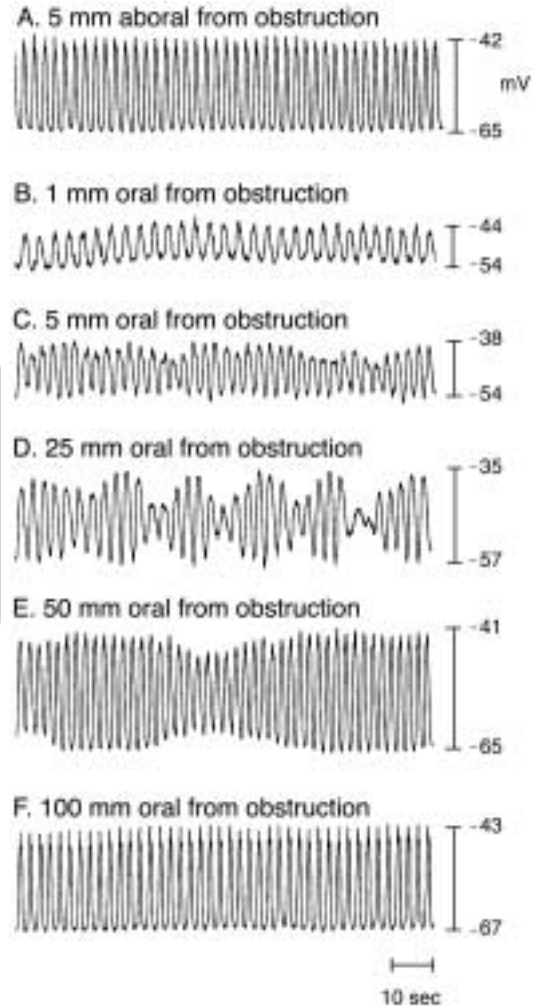


Fig. 6. Electrical slow waves recorded after removal of partial obstruction for 30 days. A, Normal electrical slow wave 5mm aboral to the site of obstruction. B-D, Partial recovery of slow waves 1~25 mm oral to the site of occlusion. F-H, Normal slow wave activity 50~100 mm oral to the occlusion.

lar muscle layer: IC-CM)에 존재하는 ICC에서 나타났다.

3. 전기생리학적 소견

Kit 염색성이 회복되는 것과 병행하여 폐쇄부위보다 입쪽 부위에서 전기적활성도가 회복되는 것을 관찰할 수 있었다. 정상대조군(clip을 삽입하지 않은 생쥐) 작은창자의 돌림근육층에서 안정막전압은 -65 ± 4 mV, 서파의 크기는 30 ± 1.0 mV, 서파의 지속시간은 2.2 ± 0.25 sec, 서파의 빈도는 29.0 ± 1.5 cycle/min이었다. 회복군에서는 폐쇄부위보다 입쪽으로 1 mm 부위의 돌림근육층은 폐쇄군과 유사하게 안정막전압은 -53 ± 1.5 V로 탈분극되어 있었지만, 서파의 크기는 11 ± 1.4 mV, 서파의 지속시간은 2.5 ± 0.5 sec, 서파의 빈도는 20.3 ± 1.7 cycle/min으로 각각 증가되었다(Fig. 6B). 이러한 서파의 회복 소견은 폐쇄군에서 나타난 전기적활성도소견(안정막전압 -46 ± 1.0 mV, 서파의 크기는 3.2 ± 2.0 mV, 서파의 지속시간 1.8 ± 0.5 sec, 서파의 빈도 11.0 ± 5.0 cycles/min)과 큰 차이를 보였다(전제열 등 2002). 전기생리학적 소견은 입쪽으로 갈수록 정상에 가까운 서파를 보였다. 25 mm에서 안정막전압은 57 ± 1.7 mV, 서파의 크기는 18 ± 1.2 mV, 서파의 빈도는 21.5 ± 1.2 cycle/min, 서파의 지속시간은 2.4 ± 0.4 sec로 서파의 전기활성도가 입쪽으로 50 mm 이후에서는 거의 정상에 가까운 전기활성도를 보였다(Figs. 6C-F). 폐쇄부위보다 항문쪽의 서파는 정상적인 전기활성도를 보였다(Fig. 6A).

고 찰

ICC가 소화관 근육운동에 있어 향도잡이 역할을 수행할 뿐만 아니라, 서파를 민무늬근으로 널리 전파시키고, 창자신경세포로부터 오는 신경전도를 매개 조절한다는 주장이 최근 여러 보고에 의해 밝혀지고 있다(Tokutomi 등 1995, Koh 등 1998, Ward 등 1998). 본 실험결과도 이러한 소화관운동에 있어서 ICC가 주요한 역할을 수행한다는 상기 주장들을 뒷받침하고 있다. 즉 작은창자의 부분폐

쇄에 따라 폐쇄부위보다 입쪽으로 ICC가 사라지고, 아울러 서파도 사라진 것(전제열 등 2002), 또한 본 실험에서 나타난 것과 같이 소화관 폐쇄를 유도하여, 소화관 벽의 비대를 확인 한 다음, 폐쇄 조건을 없애고 1~2개월 동안 생존시킨 동물에서 ICC가 다시 소화관 민무늬근에 다시 나타나고, 이와 함께 서파도 거의 회복되는 소견을 관찰할 수 있었다. 따라서 ICC의 소실은 소화관 운동장애를 초래한다는 사실을 뒷받침하는 결과였으며, 많은 실험들이 ICC의 변화와 소화관 운동장애질환 사이의 연관성을 보고하고 있다(Faussone-Pellgrini와 Cortesini 1985, Rumessen 1996, Vanderwinden 등 1996 a,b, Isozaki 등 1997, Kenny 등 1998, Hagger 등 2000, He 등 2000, Ordog 등 2000).

ICC의 그물망 구조가 폐쇄부위 인접부위에서는 소실되다가 입쪽으로 갈수록 단계적으로 정상으로 나타나고, 폐쇄기간이 길어짐에 따라 ICC그물망 구조가 점차 소실되어 간다는 보고(전제열 등 2002)와, 본 실험에서 보여준 바와 같이 폐쇄조건을 제거하였을 때 ICC의 재생이 가능하다는 소견은 앞으로 폐쇄부위와의 거리와 시간에 따른 ICC의 형태학적 변형 및 분자생물학적 신호전달체계에 대한 연구에 중요한 자료를 제공할 수 있으리라 기대된다.

본 실험에서 소화관의 폐쇄에 따라 소실되었던 ICC가 단순히 폐쇄조건을 제거했을 때 소화관 근육층에 다시 출현하는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 현상은 첫째, 폐쇄에 의해서 ICC가 괴사되고 폐쇄조건이 없어짐에 따라 ICC 전구세포나 다른 세포로부터 새로 분화되어 나오거나, 둘째, 폐쇄에 의해서 ICC의 형질(phenotype)전환이 이루어져 어떤 세포로 변했다가 폐쇄조건이 없어진 후 재차 ICC로 환원되는 것으로 생각할 수 있다. 이를 규명하기 위해서는 본 실험의 연장선상에서 전자현미경적 접근과 분자생물학적 분석이 함께 이루어져야 할 것이다. 본 실험에서 발생중인 소화관이 아니라 이미 성장한 소화관에서 ICC가 재생되고, 기능을 수행할 수 있는 적절한 해부학적 관계를 재설정할 수 있다는 가능성을 제시하고 있다. 이러한 ICC 재생에 관계하는 분자생물학적 전달체계를 알

아내는 것이 다음 단계 실험목표라고 사료된다.

ICC와 창자신경과의 긴밀한 연결은 창자운동신경으로부터 오는 신경전도에 매우 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다(Burns 등 1996, Ward 등 2000). 근육내 ICC와 창자신경종말사이에서는 신경연접과 유사한 연결을 있으며(Ward 등 2000, Wang 등 2000), 작은창자의 IC-DMP와 창자신경들 사이에서도 비슷한 소견을 보인다고 보고되고 있다(Wang 등 1999). 따라서 본 실험에서 폐쇄 Clip을 제거한 작은창자에서 ICC가 다시 출현하고, 소화관 운동이 회복되는 것으로 보아, ICC와 창자신경종말 사이에 새로운 연결이 형성되었음을 추측케 한다. 그뿐만 아니라, Ekblad 등(1998)이 폐쇄된 창자에서 창자신경원들이 가지고 있는 신경전달물질들의 변화를 초래한다고 보고한 것으로 미루어, ICC-창자신경 사이의 연결의 파괴는 창자신경의 신경전달물질의 발현에도 영향을 줄 것이다. 따라서 이러한 모델에서 ICC에 대한 연구와 더불어 창자신경의 신경전달물질에 대한 추가적인 조사도 필요하다고 생각된다.

동물실험모델에서 ICC가 소실되고, 재생될 수 있다는 가능성은 앞으로 ICC 표현형에 관여하는 분자생물학적 및 유전적 인자를 알아내는 작업에 유용하게 이용될 수 있을 것이며, 이러한 인자를 밝혀내는 것은 생쥐 모델에서 소화관 운동장애 환자를 치료하는데 유용한 기본 자료가 되리라 사료된다.

참 고 문 헌

윤상필, 김종중, 문정석, 신 호, 전제열, 유호진, 장인엽 : 생쥐 소화관의 c-Kit면역반응세포에 대한 형태학적 연구. 대한해부학회지 34 : 487-494, 2001.
 전제열, 정춘혜, 유호진, 김경희, 김장만, 김기훈, 박도영, 장인엽 : 소화관 기계적 폐쇄에 따른 interstitial cells of Cajal (ICC) 및 위장관운동의 변화. 대한해부학회지 35 : 387-396, 2002.
 Blennerhassett MG, Bovell FM, Lourenssen S, McHugh KM: Characteristics of inflammation- induced hypertrophy of rat intestinal smooth muscle cell. Dig Dis Sci 44 : 1265-1272, 1999.

Brehmer A, Gobel D, Frieser M, Graf M, Radespiel-Troger M, Neuhuber W : Experimental hypertrophy of myenteric neurones in the pig: a morphometric study. Neurogastroenterol Motil 12 : 155-162, 2000.
 Burns, AJ, Lomax AEJ, Torihashi S, Sanders KM, Ward SM : Interstitial cells of Cajal mediate inhibitory neurotransmission in the stomach. Proc Nati Acad Sci 93 : 12008-12013, 1996.
 Du C, Conklin JL : Origin of slow waves in the isolated proximal colon of the cat. J Auton Nerv Syst 28 : 167-178, 1989.
 Ekblad E, Sjuve R, Arxer A, Suxdler 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, Cortesix IC : The muscle coat of the lower esophageal sphincter in patients with achalasia and hypertensive sphincter. An electron microscopic study. J Submicrosc Cytol 17:673-685, 1985.
 Friesen DL, Hexdersox RD, Haxxa W : Ultrastructure of the esophageal muscle in achalasia and diffuse esophageal spasm. Am J Clinic Pathol 79 : 319-325, 1983.
 Gabella G : Hypertrophic smooth muscle. I Size and shape of cells, occurrence of mitoses. II Sacroplasmic reticulum, caveolae and mitochondria. Cell Tissue Res 201 : 63-92, 1979.
 Gabella G : Muscle hypertrophy in the partially obstructed intestine. In Hypertrophic Response In the Smooth Muscle, ed. Seidel CL Weisbrodt NW, pp. 45-76. CRC PRESS, Boca Raton, FL, USA, 1987.
 Gabella G : Hypertrophy of visceral smooth muscle. Anat Embryol 182 : 409-424, 1990.
 Gattuso JM, Smith VV, Kama MA : Altered contractile proteins and neural innervation in idiopathic megarectum and megacolon. Histopathology 33 : 34-38, 1998.
 Hagger R, Finlayson C, Kahn F, De Oliveira R, Chimelli L, Kumar D : A deficiency of interstitial cells of Cajal in Chagasic megacolon. J Auton Nerv Syst 12; 80 : 108-111, 2000.
 Hara Y, Kubota M, Szurszewski JH : Electrophysiology of smooth muscle of small intestine of some mammals. J Physiol (Lond) 372 : 501-520, 1986.
 He CL, Burgart L, Wang L, Pemberton J, Young-Fadok T, Szurszewski J, Farrugia G : Decreased interstitial cell of Cajal volume in patients with slow transit constipation.

- Gastroenterology 118 : 14–21, 2000.
- Hudson NP, Pearson GT, Kitamura N, Mayhew IG : An immunohistochemical study of interstitial cells of Cajal (ICC) in the equine gastrointestinal tract. *Res Vet Sci* 66 : 265–271, 1999.
- Huizinga JD, Shin A, Chow E : Electrical coupling and pace maker activity in colonic smooth muscle. *Am J Physiol* 255 : C653–C660, 1988.
- Isozaki K, Hirota S, Miyagawa J, Taniguchi M, Shinomura Y, Matsuza 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.
- Kenny SE, Connell MG, Rintala RJ, Vaillant C, Edgar DH, Lloyd DA : Abnormal colonic interstitial cells of Cajal in children with anorectal malformations. *J Pediatr Surg* 33 : 130–132, 1998.
- Koh SD, Sanders KM, Ward SM : Spontaneous electrical rhythmicity in cultured interstitial cells of Cajal from the murine small intestine. *J Physiol* 15:513 : 203–213, 1998.
- Komuro T, Zhou DS : Anti-c-kit protein immunoreactive cells corresponding to the interstitial cells of Cajal in the guinea-pig small intestine. *J Auton Nerv Syst* 61 : 169–174, 1996.
- Lane PW : Association of megacolon with two recessive spooying genes in the mouse. *J Hered* 57 : 29–31, 1966.
- Nozoe T, Kuriyama A, Kitamura M, Iso Y, Okita K, Matsu-mata T, Kasai T, Hashimoto H, Sugimachi K : Carcinoid tumor of the ileum with intestinal obstruction. *Hepato-gastroenterology* 46 : 1013–1015, 1999.
- Ordog T, Takayama I, Cheung WK, Ward SM, Sanders KM : Remodeling of networks of interstitial cells of Cajal in a murine model of diabetic gastropareses. *Diabetes* 49 : 1731–1739, 2000.
- Oue T, Puri P : Smooth muscle cell hypertrophy versus hyperplasia in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *Pediatric Research* 45 : 853–857, 1999.
- Rumessen JJ : Ultrastructure of interstitial cells of Cajal at the colonic submuscular border in patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 111 : 1447–1455, 1996.
- Serio R, Huizinga JD, Barahas-Lopez C, Daniel EE : Interstitial cells of Cajal and slow wave generation in canine colonic circular muscle. *J Auton Nerv Syst* 30 : 141–144, 1990.
- Smith B : The neuropathology of pseudo-obstruction of the intestine. *Scand J Gastroenterol Suppl* 71 : 103–109, 1982.
- Suzuki N, Prosser CL, Dahms V : Boundary cells between longitudinal and circular cells : essential for electrical slow waves in cat intestine. *Am J Physiol* 250 : G287–G294, 1986.
- Thuneberg L. Interstitial cells of Cajal : intestinal pace-maker cells. *Adv Ana Embry cell Biol* 71 : 1–130, 1982.
- Tokutomi N, Maeda H, Tokutomi Y, Sato D, Sugita M, Nishikawa S, Nishikawa S, Nakao J, Imamura T, Nishi K : Rhythmic Cl⁻ current and physiological roles of the intestinal c-kit-positive cells. *Pflugers Arch* 431 : 169–177, 1995.
- Vanderwiden JM, Liu H, De Laet MH, Vanderhaeghen JJ : Study of interstitial cells of Cajal in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *Gastroenterology* 111 : 279–288, 1996a.
- Vanderwiden JM, Rumessen JJ, Liu H, Descamps D, De Laet MH, Vanderhaeghen JJ : Interstitial cells of Cajal in human colon and in Hirschprung's disease. *Gastroenterology* 111 : 901–910, 1996b.
- Wang XY, Sanders KM, Ward SM : Intimate relationship between interstitial cells of Cajal and enteric nerves in the guinea-pig small intestine. *Cell Tissue Res* 295 : 247–256, 1999.
- Wang XY, Sanders KM, Ward SM : Relationship between interstitial cells of Cajal and enteric motor neurons in the murine proximal colon. *Cell Tissue Res* 302 : 331–342, 2000.
- Wang ZQ, Watanabe Y, Toki A, Kohno S, Hasegawa S, Hamazaki M : Involvement of endogenous nitric oxide and c-kit-expressing cells in chronic intestinal pseudo-obstruction. *J Pediatr Surg* 5 : 539–544, 2000.
- Ward SM, Beckett EA, Wang X, Baker F, Khoyi M, Sanders KM : Interstitial cells of Cajal mediate cholinergic neurotransmission from enteric motor neurons. *J Neurosci* 20 : 1393–1403, 2000.
- Ward SM, Burns AJ, Torihashi S, Sanders KM : Mutation of the proto-oncogene c-kit blocks development of interstitial cells and electrical rhythmicity in murine intestine. *J Physiol* 480 : 91–97, 1994.
- Ward SM, Morris G, Reese L, Wang XY, Sanders KM : Interstitial cells of Cajal mediate enteric inhibitory neurotransmission in the lower esophageal and pyloric sphincters. *Gastroenterology* 115 : 314–329, 1998.
- Webster W : Embryogenesis of the enteric ganglia in normal

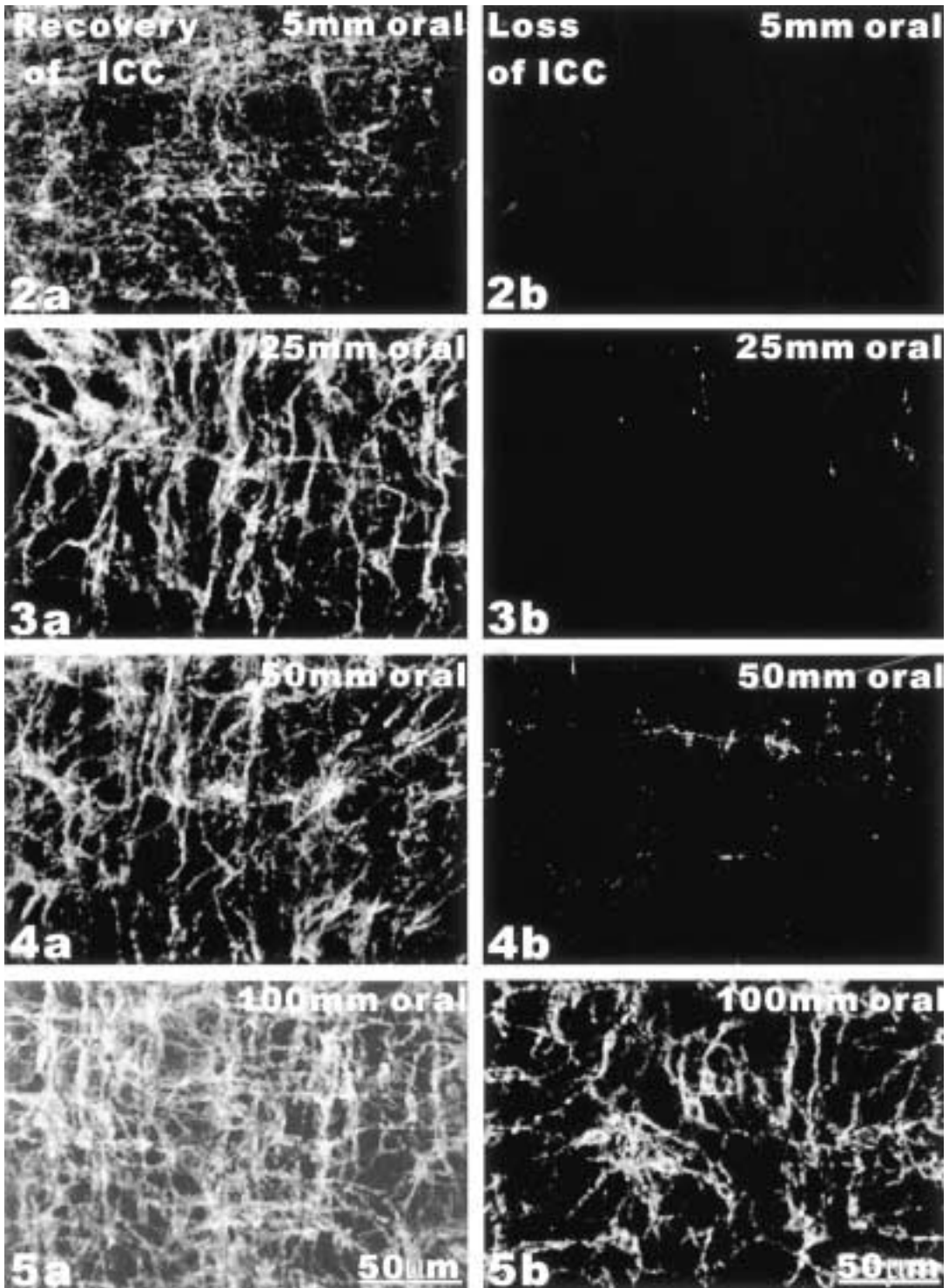
mice and in mice that develop congenital aganglionic megacolon. *J Embryol Exp Morphol* 30 : 573-585. 1973.

Zolinger RM Jr : Primary neoplasmas of the small intestine. *Am J Surg* 151 : 654-658. 1986.

Legends for Figures

Figs. 2-5. Recovery and loss of Kit-like immunoreactivity (Kit-LI) in ICC networks shown in confocal images of whole-mounts at various sites oral to the site of partial occlusion. At 1 ~ 50 mm oral to the occlusion clip, ICC networks were disrupted by partial obstruction for 14 days (2b-4b). ICC networks recovered after removal of partial obstruction for 30 days (2a-4a). At 75 ~ 100 mm oral to the clip ICC networks were essentially normal in both recovery and obstruction group (5a, b). Scale bar indicates 50 μ m in all panels

K C I



Abstract

Plasticity of Interstitial Cells of Cajal (ICC) and Intestinal Motility in Murine Small Bowel Obstruction

**Jae-Yeoul Jun¹, Jin-Ho Kim², Ho-Jin You³, Ju-Young Kim,
Jae-Wook Oh, Jeong-Seok Moon, In-Youb Chang**

*Department of Anatomy, College of Medicine, ¹Department of Physiology, College of Medicine,
²Department of Neurology, College of Medicine, ³Department of Pharmacology, College of Medicine,
Chosun University, Kangju, Korea*

Interstitial cells of Cajal (ICC) are the pacemakers in gastrointestinal slow wave, and also transduce signal inputs from the enteric nervous system to smooth muscle. The abnormal motility corresponded to a lack or decreasing of ICC and a disruption of electrical slow waves. So we developed partial obstruction model in murine small intestine, and found that ICC and electrical slow wave were absent or decreased oral to the occlusion site in previous study. In an additional series of experiments, we examined the ability of tissue regenerate the ICC phenotype and normal electrical slow waves after surgical treatment to relieve the mechanical obstruction, and the animals were allowed to recover for 1~2 months. Removal of the obstruction led to the normal gross appearance and the redevelopment of ICC and recovery of slow wave activity within 30 days. These data demonstrate the plasticity of ICC networks in response to partial obstruction, and suggest that adult tissue retain the ability to regenerate functional ICC. This model may be useful for estimating molecular factors responsible for the regulation of the ICC phenotype. More work is needed to find out the factors in ICC for the therapy of intestinal motility disorders.

Key words : c-Kit, Interstitial cells of Cajal (ICC), Slow wave, Gastro-intestinal motility, Mouse, Plasticity