

## TNBS (trinitrobenzene sulphonic acid)로 유도된 대장염에서 시간 경과에 따른 대장 통과 시간과 수축력의 변화

연세대학교 의과대학 내과학교실, 생리학교실\*

윤상진 · 김지현 · 송대훈 · 이영호\* · 박효진 · 이상인

### Changes in Colonic Transit and Contractility of Muscle According to The Time Course in TNBS-Induced Colitis

Sang Jin Yoon, M.D., Jie Hyun Kim, M.D., Dae Hoon Song, M.D., Young Ho Lee, Ph.D.\*, Hyojin Park, M.D. and Sang In Lee, M.D.

Departments of Internal Medicine and Physiology\*, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background/Aims:** Trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)-induced colonic inflammation alters contractility of colonic circular muscle. The aims of this study were to investigate the effect of TNBS-induced colitis on the colon transit and contractility of colonic muscle and to document persistently altered colonic motor function. **Methods:** Colitis was induced in about 300 g male guinea pigs (Hartley) by intrarectal administration of 0.3 mL TNBS in 50% ethanol, while controls received 0.3 mL of 50% ethanol or not. After 3, 7, and 21 days, the distal colon was taken. **Results:** Maximal mucosal injury and inflammation were evident at the 3rd day following the induction of colitis. Seven days after the induction of colitis, some portions of the damaged mucosa began to recover. Development of tension in response to electrical field stimulation (EFS) was not altered significantly. Colonic transit was delayed significantly at 3 day, 1 week. But at 3 weeks after TNBS administration, colon transit time was recovered. **Conclusions:** Colonic transit in TNBS-induced colitis was not linearly correlated to the degree of inflammation. Delayed colonic transit was recovered along the course of colitis. The tension in response of EFS was decreased but, not altered significantly along the course of colitis. Further studies are required to determine the mechanism(s) involved in this motor change. (Kor J Neurogastroenterol Motil 2008;14:122-129)

**Key words:** Colitis, Trinitrobenzene sulphonic acid, Colonic muscle contraction, Colonic transit

## 서 론

식도염, 위염 혹은 염증성 장질환 등은 염증 혹은 면역 활성화의 결과로 다양한 소화관 증상을 일으키는데, 식도에서는 흉통 및 연하곤란이 나타날 수 있으며, 위 및 상부 소장에서 팽만감, 오심 및 구토, 그리고 대장에서는 설사 혹은 변비가 나타날 수 있다.<sup>1</sup> 염증에 의한 평활근 수축의 변화는 평활근 자체, 신경 전달 물질에 대한 반응의 차이, 혹은 장관 신경에 대한 영향에 의한 것으로 제시되고 있다.<sup>2</sup> 이런 염증성 질환이 과민성 장증후군(irritable bowel syndrome, IBS)과 유사한 증상을 일으키는데, mast cell과 같

은 염증세포의 증가가 IBS의 기전과 연관되어 있으며, 장관 운동의 이상, 소장에서 세균의 과증식, 내장 과감각 등과 더불어 IBS의 중요한 병인으로 인식 되고 있다.<sup>3</sup> 최근에는 장내 감염, 즉 급성 감염 후 속발해서 생긴 감염후 과민성 장증후군(postinfectious IBS, PI-IBS)에 관한 많은 연구가 보고되고 있다. 특히 점막내 저등급 염증이 내장 과민성의 병태생리에 관여한다고 알려져 있으며, 염증으로 인하여 점막 면역계와 장에 분포하는 구심성 신경 말단간의 변화된 상호작용이 중요한 인자로 알려져 있다.<sup>4,7</sup>

Trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS)는 대장염 유발 약물로서 널리 사용되고 있으며 과민반응에 의한 점막내 염증을 유발하며, 점막 투과를 원활하게 하기위해 에탄올에 녹여 주입시, TNBS가 장벽으로 들어가 병변을 유발 한다.<sup>8</sup> TNBS로 유도된 대장염에서 대장 통과 시간은 이상성(biphasic) 변화를 보인다. 즉 초기 4시간 동안은 빨라지다가 이후 감소되는 양상을 보인다고 알려져 있다.<sup>9</sup> 본 교실의 연구에

접수: 2008년 11월 10일, 승인: 2009년 1월 2일

책임저자: 박효진, 서울시 강남구 언주로 612번지(135-270)  
연세대학교 영등세브란스병원 내과  
Tel: (02) 2019-3310, Fax: (02) 3463-3882  
E-mail: HJPARK21@yuhs.ac

따르면 TNBS로 유도된 실험적 대장염의 육안적 및 현미경적 소견은 TNBS 주입 후 2~3일째에 가장 심하였고 이후 감소하기 시작하였다. 대장 통과 시간은 육안적 염증 정도와 다르게 일주일째 가장 지연되는 결과가 나타났으며, 염증이 회복되는 2주째에도 지연되어 있었다. 그 기전을 알아보기 위하여 콜린성 표현제인 카바콜을 이용한 실험에서 카바콜 농도가 증가함에 따라 수축이 증가하는 농도-의존적인 소견을 보였으나, 시간 경과에 따른 대장염 경과와 대장 근육의 수축 정도는, 대조군에 비하여 유의한 차이가 없었다.<sup>10</sup> 후속 연구로 신경 전달 물질의 차이를 본 바, TNBS에 의한 실험적 대장염 모델에서 TNBS 노출 기간에 따른 장근 신경총내의 neuronal NOS 양성 신경세포들의 숫자의 유의한 변화는 관찰되지 않아, 이들 세포의 분포가 대장통과시간 변화에 주 역할을 하지 않는 것으로 생각되었다.<sup>11</sup> 이에 장내 신경에 대한 효과의 변화를 알아보기 위해, 기니 픽에서 TNBS로 유도한 실험적 대장염 모델을 만든 후, 급성기와 염증 회복후의 시간 경과에 따른 염증 정도의 차이와 대장 통과 시간 변화의 차이를 알아보고, 전장 자극(electrical field stimulation, EFS)에 의한 윤상근의 수축력 변화의 차이를 알아보고자 한다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

실험 동물로는 약 300 g 정도되는 6~7주령의 건강한 수컷 기니 픽(Hartley) 32마리를 사용하였다(Charles River Laboratories, Inc, MA, USA). 사육실의 조건으로 온도는 20~22°C, 습도는 50%, 채광은 12시간 주기(07:00-19:00)로 형광등으로 조명하였다.<sup>12</sup> 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 하였고, 조단백질 16% 이상, 조지방 2.0% 이상, 조섬유 20% 이하, 조회분 12% 이하, 칼슘 0.8% 이상, 인 0.52% 이상으로 구성된 사료를 공급하였다. 동물실험은 연세대학교 의과대학 임상의학연구센터 실험동물부의 사용과 관리 규정에 따라 진행하였다.

## 2. 방법

### 1) 실험적 대장염 유발 및 재료 채취

Ketamine 0.25 mL (57.68 mg/mL)을 복강 내 투여하여 마취 후, 50% 에탄올에 녹인 TNBS 0.3 mL (80 mg/kg)를 대장 내로 투여하여 염증을 유도하였다. 대조군으로는 생리식염수 0.3 mL (n=6) 또는 50% 에탄올 0.3 mL (n=6)를 투여하여 3일 후 희생시켰다. 대장염 유발군은 약물 투여 후 각각 3일(n=6), 1주일(n=7), 3주일(n=7) 후 대장을 적출하였다.

항문연으로부터 5 cm부위에서 육안적 염증 소견을 평가한 후 구측 약 1 cm 길이의 조직을 절제하여 장력 측정에 이용하고, 근위부에서 10 cm 절제하여 대장 통과 시간을 측정하는데 사용하였다.

### 2) 육안적 염증 소견의 평가

대장 원위부 5 cm부위를 Krebs-Henseleit 용액(K-H 용액; mmol L<sup>-1</sup>: 138.5 Na<sup>+</sup>, 4.6 K<sup>+</sup>, 2.5 Ca<sup>2+</sup>, 1.2 Mg<sup>2+</sup>, 125 Cl<sup>-</sup>, 21.9 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 1.2 H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, 1.2 SO<sub>4</sub><sup>-</sup> and 11.5 glucose)에 담근 후 절개하여 점막 부위를 노출 시킨 후 병변 유무를 관찰하였으며 병변의 정도는 Table 1에 따라 분류 하였다.<sup>13</sup>

### 3) 대장 절편의 제조

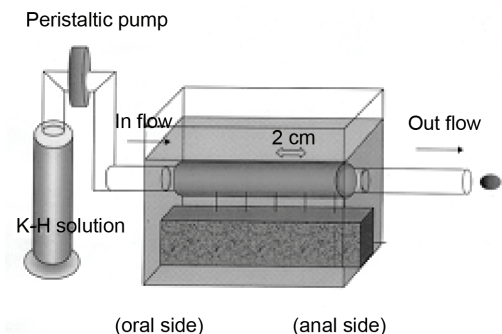
채취한 대장 조직은 실온에서 혼합기체(95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>)로 포화된 K-H 용액이 채워진 용기 내에서, 현미경하에서 미세용 수술기구를 이용하여 점막층과 점막하층을 박리하고 윤상근이 표면에 노출되게 하였다. 윤상근의 주행 방향을 따라 길이 10 mm, 너비 3 mm 되는 근육절편을 만들었다.

### 4) 장력의 측정

분리된 근육 절편을 20 ml의 챔버에 담고 절편의 한쪽 끝은 챔버 하단의 유리 고리에 연결하고 다른 한쪽 끝은 strain gauge transducer에 연결하여 등척성 장력을 기록하였다. 근육절편은 혼합 기체가 충분히 공급되고, 온도가

**Table 1.** Grading Criteria for Macroscopic Damage Score of Intestine<sup>13</sup>

0. No damage
1. Hyperemia
2. Hyperemia with thickening of the bowel wall
3. Linear ulceration without hyperemia or thickening
4. Two or more sites of ulceration and/or inflammation
5. Two or more sites of ulceration and ulceration or inflammation extending > 1 cm along the length of the colon
6-10. If ulceration is more than 2 cm along the length of the colon, the score is increased by 1 for each additional cm of involvement



**Fig. 1.** Estimation of colonic transit time. The distal colon (approximately 10cm from the anus) was excised and flushed clean with K-H solution. And then it was immediately placed into a bath containing K-H solution at 37°C saturated 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub>, and was connected to both side (oral to anal side) in chamber. After stabilization for about 60 min, artificial feces (length 12 mm, width 3 mm) were inserted into the oral side of the lumen, and K-H solution was pumped (0.4 mL/min) into the lumen of the colon. Total 8 cm was observed and the time taken for moving artificial feces about each 2 cm was measured.

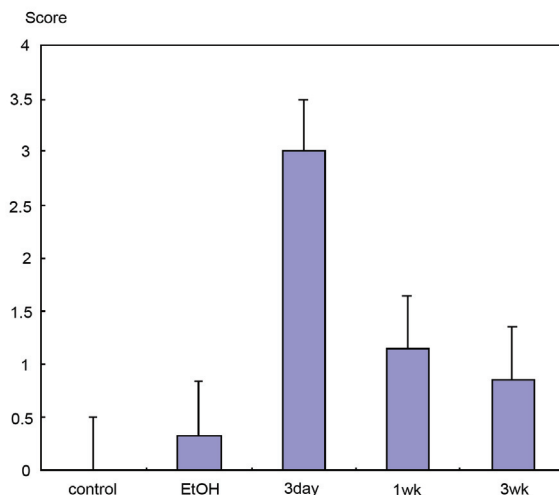
37°C로 유지되는 K-H 용액을 채운 챔버에 고정 시킨 후, 1g의 기초 장력을 가하여 60분간 온도 및 흥분성이 일정해 질 때까지 평형을 유지시켰다. 전장자극을 자극기(Grass, Quincy, MA, USA)로 2개의 양극성 백금 전극을 이용하여 빈도(1, 2, 5, 10, 20 Hz), 기간(1 msec), 강도(60V)로 주교수축력을 측정하였다.

5) 대장 통과 시간

채취된 10 cm 길이의 대장을 K-H 용액으로 세척한 후, 혼합 기체가 공급되고 온도가 37°C로 유지되는 K-H 용액을 채운 욕조 양측 단에 연결하였다(Fig. 1). 60분간 평형을 유지한 후, 기니 픽 대변의 형태 및 굳기와 유사하게 만든 인공 배설물(12 mm×3 mm)을 구측단(oral side)에 넣은 후, 연동 펌프를 통해 내강내로 K-H 용액을 0.4 ml/min의 유속으로 관류시키면 연동 수축과가 유발되어 인공 배설물이 이동하게 되며 2 cm 간격으로 인공 배설물이 이동하는 시간을 구하였다.

6) 통계학적 분석

각 변수에 대한 결과는 평균±표준오차로 기록하였다. 통계적인 분석은 SPSS (version 11.0.1; Chicago, IL, USA)를 이용하여 수행하였다. TNBS 노출시간에 따른 대장 통과 시간의 Mann-Whitney U test를 실시하였고, 전장 자극에 의한 수축력의 변화는 repeated measured ANOVA를 이용하였다. p값이 0.05 미만일 경우 통계학적으로 유의한 것으로 간주하였다.



**Fig. 2.** Sequential gross grade of inflammation after TNBS administration. Maximal mucosal injury and inflammation were evident from the 3rd day following the induction of colitis. Seven days after the induction of colitis, some portions of the damaged mucosa began to recover. TNBS, trinitrobenzene sulphonic acid

결 과

1. TNBS로 유도된 실험적 대장염

50% 에탄올에 녹인 TNBS의 투입으로 기니 픽의 원위부 대장은 이전 연구에서 기술한 것과 같이 발적과 부종의 소견을 보이고 이외에도 괴사나 궤양의 소견을 보였다. 그러나 대조군으로 식염수나 50% 에탄올을 주입한 경우에는 점막에 큰 변화를 보이지 않았다. 육안적 염증 정도는 3일째가 가장 심하였고, 이후 감소하는 양상을 보였다(Fig. 2).

2. 대장 통과 시간의 변화

대장 통과 시간은 생리 식염수 만을 주입한 대조군에서 27.5±13.6초, 50% 에탄올 처치군에서 21.4±15.3초였다. 대조군에 비하여 TNBS로 대장염을 일으킨 군은 3일 및 7일째에 유의하게 지연된 소견을 보였으며(p<0.05) 21일째에는 다시 회복된 소견을 보였다. 육안적 염증 정도가 가장 심했던 3일째 보다 염증이 조금 회복된 7일째가 대장 통과 시간이 더 지연되었다. 또한 염증이 충분히 회복된 후인 21일째에는 21.2±9.9초로 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 3).

3. 전장자극에 의한 수축력의 변화

대조군에서 채취한 근육 절편을 이용하여 전장자극을 주었을 때 수축력은 전장자극의 빈도에 비례하여 증가하는

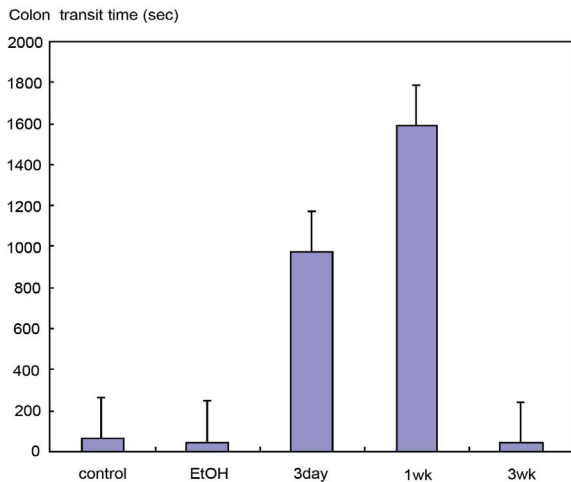


Fig. 3. Colonic transit along the course of TNBS colitis. Colonic transit was delayed significantly at 3 day, 1 week after administration of TNBS. But at 3 weeks after TNBS administration, colon transit time was recovered. ( $p < 0.05$ )

소견을 보였다. 하지만 TNBS 투여 후 시간에 따른 변화는 각 구간 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았고, 주파수의 고저에 따라서도 유의한 차이가 없었다(Fig. 4).

## 고 찰

위장관내 염증은 위장 운동기능의 변화를 유발한다.<sup>1,2,4,7</sup> 장 신경계(enteric nerve system, ENS)는 중추 신경계에 비의존적으로 위장관 운동 기능의 조절에 관여한다. 장내 염증 반응은 장 신경계에 의한 운동 조절 기능에 장애를 유발하고, 설사와 같은 증상이 유발된다. 이러한 염증 반응은 점막에만 국한 되는 것이 아니라 점막하층과 근육층까지 침범하여 신경 전달 물질이나 근육 자체의 수축력 변화를 초래한다. 특히 염증반응은 카탈 간질 세포와 장근 신경총 사이의 신경 조직을 침범하여 장운동의 장애를 초래한다.<sup>14-16</sup> 본 연구에서는 TNBS로 유도한 실험적 대장염 모델을 만들어 장 운동에 대한 영향 및 그 기전을 알아보았는데, 육안적 염증의 정도는 3일째 가장 심하였고, 이후 21일째 회복되는 소견이 관찰되었다. 대장통과시간은 대조군에 비하여 3일, 7일째에 유의하게 지연 되었고 21일째는 회복되는 소견이 관찰 되었는데, 염증이 심할수록 대장통과시간의 지연을 관찰할 수 없었다. EFS시 TNBS 투여 후 시간에 따른 수축력 변화는 지속적으로 감소되었으나, 각 구간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

TNBS는 hapten으로 작용하여 면역반응을 유발하는데, 점막 투과도를 원활하게 하기 위해 에탄올을 녹여 주입시

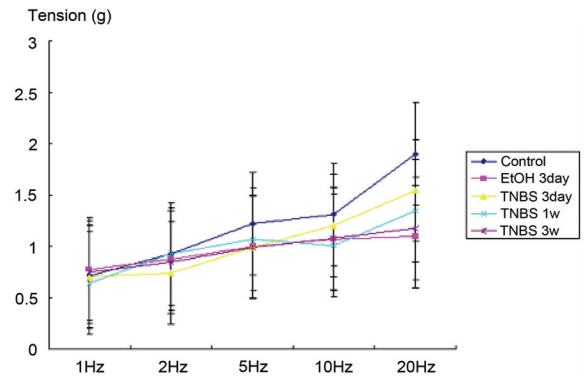


Fig. 4. EFS induced contraction of circular muscle in TNBS induced colitis. Tension in response of EFS was not altered significantly along the course of colitis. ( $p > 0.05$ )

TNBS가 장벽으로 들어가 병변을 유발하여 크론병과 유사한 소견의 점막 및 전벽성 염증을 초래한다.<sup>17</sup> TNBS로 유도된 원위 대장염 모델에서 중성구의 현저한 침윤이 나타나고 평활근의 형태에는 변화가 없지만 점차적으로 근육층의 비후가 현저해지는 윤상근의 개조(remodeling)가 부분적으로 나타나게된다.<sup>18</sup>

염증에 의한 수축력의 변화에 관여하는 인자로는 대장내 평활근 자체의 변화, 신경 전달 물질에 대한 반응의 차이, 혹은 장관 신경에 대한 영향 등이 있다.<sup>2</sup> 염증시 평활근의 콜린성 조절 변화가 유도되며, 평활근 세포에는 콜린성 수용체가 존재하므로 대장염 경과에 따른 콜린성 효현제인 카바콜에 대한 수축반응이 증가한다.<sup>19,20</sup> Percy등<sup>21</sup>은 TNBS를 직장내 주입하여 대장염을 만든 토끼에서, 채취한 윤상근 장력은 변화하지 않았다고 보고하였다. 본 교실의 연구에서도 TNBS에 의한 기니픽 대장염모델에서 대장통과시간이 지연되었고, 콜린성 효현제인 카바콜을 이용한 실험에서 대장 근육 절편에 카바콜을 처리 하였을 때, 농도가 증가함에 따라 수축이 증가하는 농도-의존적인 소견을 보였으나, 시간 경과에 따른 대장염 경과와 대장 근육의 수축 정도는 대조군에 비하여 유의한 차이가 없는 것으로 나타나 평활근 자체의 문제는 아님을 확인하였다.<sup>10</sup>

장내 선충(nematode)으로 유도된 쥐의 소장염 모델에서 공장(jejunum)의 억제성 신경 자극이 감소됨이 보고 되었고,<sup>22</sup> 케양성 대장염 환자에서 nitric oxide (NO)가 증상과 관련된 주된 신경 전달 물질로써, 비아드레날린성 비콜린성 억제 신경원(non-adrenergic non-cholinergic inhibitory neuron)에 작용한다고 하였다.<sup>23</sup> 본 교실에서도 신경 전달 물질에 대한 반응의 차이를 보기 위하여, NO 합성 효소(nitric oxide synthase, NOS)에 대한 면역조직 화학염색을 해보니,

TNBS 노출 기간에 따른 장근 신경총내의 nNOS와 iNOS 양성 신경세포들의 숫자의 유의한 변화는 관찰되지 않았고 이들 세포의 분포가 대장통과시간에 주 역할을 하지 않는 것으로 보고한 바 있다.<sup>11</sup> 염증시 iNOS는 조직을 손상시키고, 염증 후기에는 재생에도 일부 관여 하지만, nNOS 활동 세포의 분포와는 연관성이 없으며 일시적이므로,<sup>24</sup> nNOS의 기능을 밝히기 위해서는 nNOS mRNA와 대사산물인 단백 조절에 대한 후속 검사가 필요하리라 생각된다. NO 외에, 또 다른 신경전달 물질인 세로토닌(serotonin, 5-hydroxytryptamine, 5-HT)은 뇌-장관 상호작용을 매개하는 중요한 신경전달물질의 하나로, 설사 우세형 IBS 환자나 장내 감염 후 발생한 IBS 환자에서 증가됨이 확인 되었으며,<sup>25</sup> 세로토닌 재흡수로 신경전달을 종결 시키는 세로토닌 수송단백질(serotonin transporter, SERT)은 감소한다.<sup>26</sup> 기니픽을 이용한 TNBS 대장염 모델에서 5-HT 농도는 증가하고 SERT를 발현시키는 mRNA와 SERT의 면역반응력(immunoreactivity)이 감소되는 5-HT signalling의 변화를 보고하였는데, 변화된 5-HT signalling은 염증성 장질환의 장운동 장애에 관여한다고 하였다.<sup>27,28</sup> 이와 같이 염증성 장질환이나 IBS에 있어서 혈중 5-HT 농도는 중요한 역할을 하리라 생각되며 IBS의 병태생리를 이해하는데 도움이 될 것으로 생각된다.<sup>29</sup>

대장벽내 염증시 장관 신경계에 구조적인 변화가 동반된다. Sanovic 등<sup>30</sup>은 쥐를 이용한 dinitrobenzene sulphonic acid (DNBS) 대장염 모델에서 장근 신경절내 신경원(neuron)개수에는 차이가 없었지만 구조적으로 변화됨을 관찰하였고 회복과 관련하여 신경섬유 축색돌기의 증식이 관여한다고 하였다. 대장염에 대한 여러 전기생리학적인 연구에서도 장근 신경원의 과감작(hyperexcitability)이 주된 요인으로 나타나는데, 장근 신경총과 접합하 장 신경계 활동의 변화를 관찰 하였고,<sup>31,32</sup> 케양성 대장염 환자의 경우 대장의 근전기 활성화도 저하 및 대장 통과시간의 지연이 나타난다.<sup>33,34</sup> 실험실내에서 acetic acid를 이용한 개의 대장염 모델에서 거대 유주성 수축의 빈도는 증가되었고,<sup>35</sup> 면역복합체에 의한 토끼의 대장염 모델에서는 비탈분극성 전류 자극시 활동 전위의 진폭이 감소된다.<sup>17</sup> 토끼에서 채취한 회장을 이용한 근전기 활성화도 실험에서 억제성 접합 전위(inhibitory junction potential)가 증가한 반면,<sup>36</sup> 장내 선충으로 유발한 쥐의 대장염 모델에서는 장내 억제성 신경원의 기능이 감소함을 나타내었다.<sup>22</sup> 특히, EFS시 저주파( $\leq 5$  Hz)에서는 신경이 자극되고 고주파( $>5$  Hz)에서는 근육자체가 자극되는 현상이 나타나는데,<sup>37</sup> Zhao 등<sup>38</sup>은 장염에서 전장 자극시

대장의 수축력(off contraction)에 대한 반응의 변화가 나타난다고 하였고, 급성 장염시 수축력은 증가하며 만성 장염에서도 고주파수에서 수축력이 증가 한다고 하였다. 반면, 본 연구에서는 전장 자극시 TNBS 투여 후 시간에 따른 수축력 변화는 각 군 간과, 주파수의 고저에 따른 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았는데, 이렇게 결과들이 일치하지 않는 것은 연구들마다 실험동물의 종이 다르고, 채취한 대장 부위나 사용된 절편이 종주근 혹은 윤상근으로 다를 수 있으며, 실험시 사용된 염증 유발 물질의 차이에서 비롯될 수 있다.<sup>39,40</sup>

염증에 의한 장운동의 장애는 특히 교감신경계의 억제성 신경의 장애와 연관이 있으며 주로 설사와 같은 증상을 유발한다.<sup>41</sup> 이런 장애로 인하여 IBS 환자들에서 복통 혹은 복부 불편감 그리고 장운동 이상을 호소하게 되며,<sup>3</sup> 염증성 장질환 환자에서는 장내 감각 지각(sensory perception) 변화나 장운동 장애를 초래하게 된다.<sup>42</sup> 장내 염증과 관련하여 IBS 환자들에서 관찰되는 저등급 염증을 일으키는 원인들로는, 감염성 장염, 유전자, 음식 알레르기, 장내 미생물총의 변화 등이 단독 혹은 복합적으로 작용한다.<sup>43,44</sup> 이 중 감염 후 속발하는 IBS의 경우 전체 과민성 장증후군 중 약 6~17% 차지하며 급성 박테리아 위장염 환자에서 7~33%에서 IBS가 발생한다.<sup>5,45,46</sup> 본 교실에서 조사한 이질 감염 후 발생한 과민성 장증후군의 1년 후 발생률은 13.8%, 3년 후 발생률은 14.9% 였으며 교차비(odds ratio)는 각각 11.9, 3.93 이었다.<sup>47</sup> 이러한 감염에 의한 염증 자극시에 장관의 감각-운동계에 변화를 초래하게 되고 이러한 기능 이상은 염증 반응이 치유된 후에도 장 기능 이상이 발생된다.<sup>4</sup> 염증성 장질환 역시 장기능 이상을 초래하는데 크론병 환자에서 채취한 회장 윤상근을 이용한 장력 실험에서 무스카린 수용체 효현제인 카바콜에 대한 수축력의 증가가 나타난다.<sup>19</sup> 케양성 염증에 대한 대장 윤상근의 전장자극에 대한 수축력은 다른 대장암이나 계실염에서의 수축력에 비해 현저히 떨어진다.<sup>34</sup> 이러한 염증에 의한 장내 신경계의 변화는 아드레날린성(adrenergic), 콜린성(cholinergic), 퓨린성(purinergic), 그리고 니트레직(nitergic) 신경 전달 장애에 기인하며, 장내에 장 운동의 변화, 내장의 비정상적인 분비나 감각의 변화를 포함한 기능적 변화를 초래한다.<sup>48,49</sup>

본 연구에서 대장의 염증 정도가 심할수록 대장통과시간의 지연을 관찰할 수 없었으나, 육안적 염증 정도가 가장 심했던 3일째 보다 염증이 조금 회복된 7일째가 대장 통과 시간이 더 지연되었다. 전장자극시 TNBS로 유도된 대장 절편의 수축력은 대조군에 비해 감소하였고, 시간 경

과에 따라 수축력은 감소하였지만, 각 군 간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. TNBS에 의해 유도된 햄스터의 대장염 모델에서 4주째 대조군과 비교하여 비슷하게 회복된 결과가 나왔고, 장신경계가 염증의 회복에 있어서 중요한 역할을 하며, 평활근 자체의 문제는 아니라 하였는데,<sup>50</sup> 이는 이전 본 교실의 연구의 결과와 일치한다. 하지만 차이점은 본 연구에서 3주째 시행한 전장자극에 대한 수축력에 비해 월등히 회복됨을 보였는데, 이 차이는 본 실험에서 사용한 실험 동물이 기니 피크로 종이 다르며, 채취한 절편이 종주근으로 본 실험에서 사용하였던 윤상근과 차이가 어느 정도 작용했으리라 생각되고, 회복기간의 차이가 관여 했으리라 생각된다. 기니 피크를 이용한 또 다른 대장염 모델에서 대장 수축력의 회복에서 5-HT 농도와 SERT 활성도가 대조군에 비하여 지속적인 차이를 보였는데, 이는 지속적인 신경 신호(neuronal signalling)의 변화를 나타낸다고 하겠으며, 치료에 있어서 앞으로 중요한 고려 대상이 될 수 있음 시사한다.<sup>51,52</sup>

결론적으로 염증에 의한 구조적 변화와 기능적 변화는 급성기와 만성기를 거치면서 회복이 되지만, 수축력은 지속적으로 감소되는 양상을 보였으며 이와 관련된 신경 신호의 변화와 장근 신경계의 여러 종류의 신경 전달 변화에 대한 후속 연구를 통하여 그 기전을 규명하는 것이 필요하리라 생각된다.

## 요 약

**목적 :** 실험적 대장염 쥐의 장 근육절편을 이용한 실험상 근육 장력이 감소되고 대장운동 및 통과 장애가 보고되었다. 이에 저자들은 기니 피크에 trinitrobenzene sulphonic acid(TNBS)로 유도한 실험적 대장염 모델을 만든 후, 시간 경과에 따른 염증의 정도와 대장 통과 시간 변화를 알아보고, 전장 자극(electrical field stimulation, EFS)에 의한 수축력의 변화를 알아보고자 하였다. **대상 및 방법 :** 기니 피크 32마리를 대상으로 TNBS 0.3 mL (80 mg/kg)를 대장내 주입한 후 3일, 7일 및 21일째 희생시킨 후, 대장을 적출하여 발적, 충혈, 궤양 등의 육안적 염증정도를 측정하였고, 대장 윤상근 절편을 이용하여 전장 자극에 반응하는 수축력의 변화를 측정 하였고, 특수 제작한 욕조에 약 10 cm길이의 대장을 위치시킨 후, 인공 배설물을 구축단에 넣고 인공 배설물(12 mm×3 mm)이 대장을 통과하는 시간을 구하였다. **결과 :** 육안적 염증 정도는 3일째 가장 심하였고, 이

후 감소되는 양상을 보였다. EFS에 의한 윤상근 장력의 변화는 저주파수(1, 2, 5 Hz)보다 고주파수(10, 20 Hz)에서 통계적으로 유의한 차이는 없었지만 증가하는 소견을 보였고, TNBS 투여 후 시간에 따른 각 군간의 장력의 변화는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 대장통과시간은 대조군에 비하여 3일, 7일째 유의하게 지연되었으나, 21일째에는 회복 되었다. **결론 :** 이상의 결과로 TNBS로 유도된 실험적 대장염 모델에서 대장 통과 시간의 지연은 평활근 세포의 수용체 변화와 같은 평활근 자체의 문제는 아닌 것으로 생각되며, EFS에 의한 장력의 변화는 신경 전달 물질과 더불어 장근 신경계 밀접한 관계가 있을 것으로 생각된다. 따라서 향후 여러 신경 전달 물질들의 염증 전후의 정량, 정성적인 차이와 다른 요인과의 상호작용에 대한 연구를 통해 그 기전에 대한 규명이 필요하다고 생각한다.

**색인 단어 :** 대장염, TNBS, 대장수축력, 대장통과시간

## 참고문헌

- Collins SM. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. *Gastroenterology* 1996;111:1683-1699.
- Brian SM, John SM, Daniel TD, Henry PP, Rebecca MT, James PR. Acute experimental colitis decreases colonic circular smooth muscle contractility in rats. *Am J Physiol* 1997;273:G928-936.
- Collins SM. Irritable bowel syndrome could be an inflammatory disorder. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1994;6:478-482.
- Park H. Postinfectious irritable bowel syndrome. *Korean J Neurogastroenterol Motil* 2002;8:252-257.
- Neal KR, Hebden J, Spiller R. Prevalence of gastrointestinal symptoms six months after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: postal survey of patients. *BMJ* 1997;314:779-782.
- Rodriguez LA, Ruigomez A. Increased risk of irritable bowel syndrome after bacterial gastroenteritis: cohort study. *BMJ* 1999;318:565-566.
- Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute Campylobacter enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000;47:804-811.
- Elson CO, Sartor B, Tennyson GS, Beagley KW. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995;109:1344-1367.
- Pons L, Droy-Lefaix MT, Bueno L. Leukotriene D4 participates in colonic transit disturbances induced by intracolonic administration of trinitrobenzene sulfonic acid in rats. *Gastroenterology*. 1992;102:149-56.
- Park H, Ji SW, Lim JH, Lee SI. Altered colonic motor function in experimental colitis of guinea pig. *Korean J Neurogastroenterol Motil* 2003;9:73-78.
- Cho SH, Park H, Chung JP, et al. Altered colonic transit in TNBS-induced experimental colitis in guinea pig and distribution of nitric oxide synthase in the colonic wall. *Korean J Gastroenterol* 2004;44:308-313.
- Waynforth H.B. Experimental and surgical technique in the rat. 1st ed.

- London: Academi Press, 1980.
13. Wallace JL. Release of platelet-activating factor (PAF) and accelerated healing induced by a PAF antagonist in an animal model of chronic colitis. *Can J Physiol Pharmacol*. 1988;66:422-425.
  14. Der T, Bercik P, Donnelly G, et al. Intestinal cells of cajal and inflammation-induced motor dysfunction in the mouse small intestine. *Gastroenterology* 2000;119:1590-1599.
  15. Lu G, Quian X, Berezin I, Telford GL, Huizinga JD, Sarna SK. Inflammation modulates in vitro colonic myoelectric and contractile activity and interstitial cells of cajal. *Am J Physiol* 1997;273:G1233-1245.
  16. Wang XY, Berezin I, Mikkelsen HB, Der T, et al. Pathology of interstitial cells of cajal in relation to inflammation revealed by ultrastructure but not immunohistochemistry. *Am J Pathol* 2002;160:1529-1540.
  17. Cohen JD, Kao HW, Tan ST, Lechago J, Snape WJ Jr. Effect of acute experimental colitis on rabbit colonic smooth muscle. *Am J Physiol* 1986;251:G 538-545.
  18. Hosseini JM, Goldhill JM, Bossone C, Pineiro-Carrero V, Shea-Donohue T. Progressive alterations in circular smooth muscle contractility in TNBS-induced colitis in rats. *Neurogastroenterol Motil* 1999;11:347-356.
  19. Vermillion DL, Huizinga JD, Riddell RH, Collins SM. Altered small intestinal smooth muscle function in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1993;104:1692-1699.
  20. Sjogren RW, Colleton C, Shea-Donohue T. Intestinal myoelectric response in two different models of acute enteric inflammation. *Am J Physiol* 1994;267:G329-337.
  21. Percy WH, Burton MB, Jacobowitz Y, Burakof R. An Investigation in vitro of the properties of the individual muscle layers of the rabbit colon in an induced colitis. In:Snape WJ, Coliins SM, eds. *Effects of immune cells and inflammation on smooth muscle and enteric nerves*. Boca Raton:C.R.C., 1991;95-108.
  22. Crosthwaite AI, Huizinga JD, Fox JE. Jejunal circular muscle motility is decreased in nematode infected rat. *Gastroenterology* 1994;6:478-482.
  23. Tomita R, Munakata K, Tanjoh K. Role of non-adrenergic non-cholinergic inhibitory nerves in the colon of patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol*. 1998;33:48-52.
  24. Miampamba M, Sharkey KA. Temporal distribution of neuronal and inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine during colitis in rats. *Neurogastroenterol. Motil*. 1999;11:193-206.
  25. Bearcroft CP, Perrett D, Farthing MJG. Postprandial plasma 5-hydroxytryptamine in diarrhoea predominant irritable bowel syndrome: a pilot study. *Gut* 1998;42:42-46
  26. Mawe GM, Coates MD, Moses PL. Review article: intestinal serotonin signalling in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23:1067-1076.
  27. Linden DR, Chen JX, Gershon MD, Sharkey KA, Mawe GM. Serotonin availability is increased in mucosa of guinea pigs with TNBS-induced colitis. *Am J Physiol* 2003;285:G207-216.
  28. Chen JX, Pan H, Rothman TP, Wade PR, Gershon MD. Guinea pig 5-HT transporter:cloning, expression, distribution, and function in intestinal sensory reception. *Am J Physiol* 1998;275:G433-448.
  29. Park H, Lee DY, Kim MS, et al. Serotonin transporter gene polymorphism and its relationship to plasma serotonin in irritable bowel syndrome. *Korean J Neurogastroenterol Motil* 2004;10:125-129.
  30. Sanovic S, Lamb DP, Blennerhassett MG. Damage to the enteric nervous system in experimental colitis. *Am J Pathol* 1999;155:1051-1055.
  31. Frieling T, Palmer JM, Cooke HJ, Wood JD. Neuroimmune communications in the submucous plexus of guinea pig colon after infection with *Trichinella spiralis*. *Gastroenterology* 1994;107:1602-1609.
  32. Palmer JM, Wong-Riley M, Shakey KA. Functional alterations in jejunal myenteric neurons during inflammation in jejunal myenteric neurons during inflammation in nematode-infected guinea pigs. *Am J Physiol* 1998;275:G922-935.
  33. Snape WJ, Matarazzo SA, Cohens S. Abnormal gastrocolonic response in patients with ulcerative colitis. *Gut* 1980;21:392-396.
  34. Snape WJ Jr., Williams R, Hyman PE. Defect in colonic smooth muscle contraction in patients with ulcerative colitis. *Am J Physiol* 1991;261:G987-991.
  35. Sethi AK, Sarna SK. Colonic motor activity in acute colitis in conscious dogs. *Gastroenterology* 1991;100:954-963.
  36. Goldhill JM, Shea-Donohue T, Ali N, Pineiro-Carrero VM. Tachykinergic neurotransmission is enhanced in small intestinal circular muscle in a rabbit model of inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;282:1373-1378.
  37. Gonzalez A, Farre R, Clave P. Different responsiveness of excitatory and inhibitory enteric motor neurons in the human esophagus to electrical field stimulation and to nicotine. *Am J Physiol* 2004;287:G299-306.
  38. Zhao A, Bossone C, Pineiro-Carrero V, Shea-Donohue T. Colitis-induced alterations in adrenergic control of circular smooth muscle in vitro in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;299:768-774.
  39. Grossi L, McHugh K, Collins SM. On the specificity of altered muscle function in experimental colitis in rats. *Gastroenterology* 1993;104:1049-1056.
  40. Sanger GJ, Bennett A. Regional differences in the responses to prostanoids of circular muscle from guinea-pig isolated intestine. *J Pharm Pharmacol* 1980;32:705-708.
  41. Lindgren S, Lilija B, Rosen I, Sundkvist G. Distributed autonomic nerve function in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 1991;26:361-366.
  42. Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology* 1998;115:182-205.
  43. Gonskorale WM, Perrey C, Pravica V, Whorwell PJ, Hutchinson IV. Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence to support an inflammatory component? *Gut* 2003;52:91-93.
  44. Smout A, Azpiroz F, Coremans G, et al. Potential pitfalls in the differential diagnosis of irritable bowel syndrome. *Digestion* 2000;61:247-256.
  45. Gwee KA, Leong YL, Graham C, et al. The role of psychological factors in postinfective gut dysfunction. *Gut* 1999;44:400-406.
  46. Ji SW, Park H, Lee DK, Song YK, Choi JP, Lee SI. Post-infectious irritable bowel syndrome in patients with *Shigella* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:381-386.
  47. Kim HS, Kim MS, Ji SW, Park H. The Development of Irritable Bowel Syndrome after *Shigella* Infection: 3 Year Follow-up Study. *Korean J Gastroenterol*. 2006;47:300-305.
  48. Galeazzi F, Haapala EM, Van Roojen N, Vallance B, Collins SM. Inflammation-induced impairment of nerve function in nematode-infected mice is macrophage-dependent. *Am J Physiol* 2000;278:G259-265.
  49. Mizuta Y, Isomoto H, Takahashi T. Impaired nitrergic innervation in rat colitis induced by dextran sulphate sodium. *Gastroenterology* 2000;118:714-723.
  50. Gurung YB, Shimizu Y, Shina T, Mahmud ME, Saito S, Takewaki T. Impairment and restoration of spontaneous contractile activity of longitudinal smooth muscles in the TNBS-inflamed hamster distal colon. *Biomed Res* 2007;28:301-308.
  51. Lamox AE, O'hara JR, Hyland NP, Mawe GM, Sharkey KA. Persistent alterations to enteric neural signaling in the guinea pig colon following the resolution of colitis. *Am J Physiol* 2007;292:G482-491.
  52. Depoortere I, Thijs T, Peeters TL. Generalized loss of inhibitory innervation reverses serotonergic inhibition into excitation in a rabbit model of TNBS-colitis. *Br J Pharmacol* 2002;135:2011-2019.