선천성 거대결장증 및 특발성 거대결장증에서 카할 세포의 역할

연세대학교 대학원

의 학 과

김 일 호

선천성 거대결장증 및
특발성 거대결장증에서
카할 세포의 역할

지도 유 수 영 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2001년 12월 27일

연세대학교 대학원

의 학 과

김 일 호

김일호의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2001년 12월 27일

감사의 글

이 한 편의 논문은 여러 선생님들의 지도와 편달의 결과물입니다. 처음부터 끝까지 인내와 여유로 지도해주신 유수영 교수님과 꼼꼼히 결과를 분석하여 주신 정순희 교수님, 그리과 공인덕 교수님께 먼저 감사를 드립니다. 또한 직접 관여 되지는 않았지만 한결같은 관심과 충고를 아끼지 않으셨던 교수님들과 외과 의국원들에게도 감사 드립니다. 항상 멀리에서도 못난 아들의 정신적인 지주가 되어주시는 부모님께 감사드리며 늘 친아들처럼 돌보아 주시고 걱정하여 주신는 장인 장모님께도 감사 드립니다. 밤늦게 집문을 열고 들어 갈 때마다 한번도 찡그린 표정 하지 않고 밝은 미소로 반기며 항상 나의 건강을 걱정하여주는 집사람과 맑고 밝고 건강하게 커가고 있는 두 딸에게 이 논문을 바칩니다.

저 자 씀

차 례

표 차례

그림 차례

국 문 요 약

선천성 거대 결장증 및 특발성 거대 결장증에서 카할 세포의 역할

지금까지 위장관 연동운동은 장내 자율 신경계에 의하여 조절되는 것으로 알려져 있으며 장내 신경절 세포의 존재 여부가 그 진단과 치료에 중요한 역할을 하였다. 그러나 최근 연구에 의하면 위장관 자율운동의 조절은 신경절 세포뿐 아니라 위장관 세포 간질에 존재하는 카할 간질세포(interstitial cells of Cajal) 또한 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다 카할 세포의 발달에는 proto-oncogene인 C-Kit이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 선천성 거대결장환자에서 신경절 세포가 존재하는 부위의 장운동 장애가 근본 수술후에도 계속되어 근위부 거대 결장이 다시 발생된 경우와 신경절 세포는 전장에 존재하면서도 장폐색 증상 및 거대 결장이 있는 환자가 있어 이러한 환자에서 카할 세포의 유무 또는 감소 여부를 조사하여 카할 세포와 결장 연동운동과의 관계를 알아보았다. 제 1군은 정상 장운동을 가진 2예를 대조군으로 정하였고 제 2군은 선천성 거대결장 근본 수술 시행된 환자 9예로 이 중 수술 후 정상 배변이 이루어진 경우를 A조(n=5), 배변 장애가 지속된 경우를 B조(n=4)로 하였다. 제 3군은 장 신경단위 형성장애(intestinal neuronal dysplasia) 1예, 제 4군은 신경절 세포는 존재하였으나 만성적 배변 장애로 결장 제거술 시행된 2예를 대상으로 하였다. 제 5군은 신생아 시기 태변 배출 지연으로 인한 장폐색증이 있어 일시적인 회장조루술 시행후 결장의 연동 운동이 회복된 후 조루 복원술 시행하였던 환아 4예를 대상으로 정하여 각 환자의 결장 또는 회장에서 카할 세포의 분포를 조사하였다. 카할 세포의 존재 여부는 C-Kit 항체를 이용한 면역조직화학 염색법을 이용하였으며 카할 세포의 존재 유무 또는 감소 여부는 대조군의 검사결과와 비교하여 결정하였다. 제 1군인 대조군의 카할 세포는 결장의 신경총 주위와 근육층에

서 망상구조를 가지고 분포하는 소견을 나타내었다. 제 2군의 A조는 신경절 세포가 없는 부위에서는 카할 세포도 존재하지 않았으며 신경절 세포가 존재하는 부위에서는 카할 세포 역시 존재하였다. 제 2군의 B조에서는 신경절 세포가 없는 부위뿐 아니라 신경절 세포가 정상적으로 존재하는 부위에서도 카할 세포가 없거나 현저히 저하된 소견 관찰되었으며 회장에서는 신경절 세포와 카할 세포 모두 정상적으로 존재하였다. 제 3군에서는 C-Kit 양성 반응이 대조군에 비하여 오히려 강하게 나타났다. 제 4군에서는 신경절 세포가 양성이었지만 카할 세포는 없거나 감소하였으며 제 5군에서는 회장 조루술시에는 카할 세포가 없거나 감소하였지만 결장의 기능이 돌아온 후에는 카할 세포가 정상적으로 관찰 되었다. 본 연구의 결과 신경절 세포와 카할 세포가 모두 정상적으로 발달된 경우에는 정상적인 대장 연동운동이 가능한 것으로 나타났으나 신경절 세포가 존재함에도 만성적인 배변 장애가 있는 경우에는 카할 세포가 현저히 감소된 것으로 관찰 되었다. 신생아에서 태변성 장폐색증의 경우에도 카할 세포의 발달 지연 내지는 미성숙으로 인한 일시적인 연동 운동 장애가 그 원인으로 사료된다. 결론적으로 과거에는 그 원인을 알 수 없었던 특발성 거대 결장 환자나 신생아의 태변성 장 폐색증의 경우에 카할 세포의 이상이 그 원인이 될 수 있을 것으로 사료된다.

핵심되는 말 : 선천성 거대 결장, 특발성 거대 결장, 태변성 장폐색, 신경절 세포, C-Kit, 카할 세포

선천성 거대결장증 및 특발성 거대결장증에서 카할 세포의 역할

<지도교수 유 수 영>

연세대학교 대학원 의학과

김 일 호

I. 서 론

과거 소아의 만성적인 배변장애 및 선천성 거대결장증 환자에서 신경절 세포의 존재 유무는 그 진단과 치료의 유일한 지표가 되어 왔다. 그러나 선천성 거대결장증 환자 중 신경절 세포가 존재하는 부위에서 근본적 수술을 시행한 이후에도 배변장애 및 중독성 장염, 근위부 거대결장증 등이 지속되는 경우가 있어 위장관 운동의 연동운동에 신경절 세포 외의 다른 요인이 작용할 것이라는 가정이 있어왔다.

최근 연구에 의하면 세포 간질의 C-Kit 면역 양성 세포인 카할 세포에서 위장관의 자율박동을 생성함으로서 그 연동운동에 관여하는 것으로 보고하고 있다[2]. 카할 세포는 최초 1893년 Cajal[1]이 위장관 조직내에 작은 방추 또는 방사형의 세포가 정맥류의 돌기를 가지며 망상 구조를 이루고 있는 세포를 발견한 이래 그 발생기원과 기능에 대하여 연구 보고 되어지고 있다. 1982년에 Thunberg 등[2]은 카할 세포가 위장관 연동운동의 자율 박동능을 가지고 있다고 보고하였고 1992년 Maeda 등[3]은 전구 발암유전자인 c-kit이 receptor

tyrosin kinase인 C-Kit을 형성하며 이 C-Kit이 카할 세포의 발생에 필수적이라고 보고하였다. 이후 여러 저자들에 의하여 C-Kit 항체를 이용하여 카할 세포의 이상과 관련된 여러 질환에 대한 연구가 보고 되었다.[4-14]

이에 본 연구에서는 C-Kit 항체를 이용하여 정상적인 연동운동을 보였던 결장조직(대조군)과 선천성 거대결장증 환자, 지속적 배변 곤란으로 인한 거대결장증 환자, 신생아 태변성 장폐색증 환자 등 배변 장애가 있었던 환자들의 결장 및 회장 조직에서 카할 세포의 존재 여부 및 분포를 대조군과 비교하여 위장관 연동운동과의 관계를 알아 보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

1995년부터 2001년까지 연세대학교 원주의과대학 외과학교실에서 여러 가지 원인으로 배변 장애가 있는 환자중 선천성 거대결장증으로 근본 수술 시행 후 정상적인 대장 운동을 회복한 환자와 근본 수술 후에도 배변 장애가 지속되어 총결장 제거술 시행받은 환자, 특발성 거대결장증으로 결장제거술 시행받은 환자, 신생아 장폐색증으로 회장조루술을 시행받았던 환자등 여러 형태의 배변 장애를 나타낸 경우를 대상으로 하였고 배변 장애 없이 다른 원인에 의하여 결장 부분 제거술을 받았던 환자를 대조군으로 하여 결장 및 회장에서 각각 신경절 세포와 카할 세포의 분포를 관찰하였다.

제 1군은 배변 장애나 거대 결장증 없이 결장 림프종으로 결장 부분 제거술 시행받은 환자와 재발성 장중첩증으로 우측 결장 제거술 시행받은 환자 2예를 대상으로 결장에서 신경절 세포와 카할 세포의 분포를 조사하여 대조군으로 정하였다. 제 2군은 신경절 세포가 없는 선천성 거대결장증 환자에서 근본 수술 후 정상적인 배변이 이루어진 경우 5예와 근본 수술 시행하였지만 수술 후에도 지속적인 배변 장애 및 거대 결장증이 계속된 환자 4예를 각각 제 2군의 A조와 B조로 정하였다. B조 4예중 3예는 총 결장제거술이 시행되었으며 수술후 정상 배변이 가능한 상태였으나 나머지 1예는 관장 및 약물 치료 중이다. 제 3군은 장 신경단위 형성장애로 좌측 결장 제거술 시행하였으나 제거술 후에도 배변 장애가 있어 총 결장 제거술 시행 후 배변 기능이 돌아온 경우 1예였고 제 4군은 특발성 거대 결장증으로 대장의 신경절 세포는 정상적으로 존재하면서도 만성적인 배변 불능에 의한 거대 결장증으로 결장 제거술 시행받은 환자 2예 대상으로 하였으며 제 5군은 신생아 시기 태변 배출의 지연과 함께 결장의 연동 운동 장애가 있어 일시적인 회장 조루술 시행후 원위부 결장의 연동운동 회복을 시차적으로 확인한 후 조루 복원술 시행하여 정상

적인 배변이 가능하였던 4예를 정하여 출생 초기와 조루 복원술 후의 결장과 회장의 신경절 세포 및 카할 세포 분포의 변화를 알아보았다.

2. 방법 - 면역 조직화학 염색

가) 염색 방법

C-Kit 항체를 이용한 면역 조직화학 염색법을 이용하였으며 1) 결장 및 회장의 전층 표본을 10% 포르말린 용액에 고정한 후 2) 파라핀에 끼워 넣어 사용하였으며 3) 파라핀 블럭을 5㎛ 두께로 절편한 후 slide glass에 부착하여 4) Xylen으로 10분간 2회 처리하여 파라핀을 제거한 후 5) 알코올로 함수하여 6)포도당으로 세척하였다. 7) Citrate buffer(PH 6.0)에 슬라이드를 담가 압력용기에 넣고 5분간 3회 microwave로 처리한 후 8) 다시 5분간 Tris buffer에서 처리하였다. 9) Methanol에 희석한 3% 과산화수소수에 10분동안 담가 놓아 endogenous peroxidase를 제거후 10) anti-rabbit polyclonal antibody (DAKO, USA)를 초기 항체로 사용하여 염색하였다. 11) 4℃ 배양기에서 12시간 숙성하였으며 표준적인 peroxidase-labeled avidin-biotin complex method를 이용하여 면역 조직화학 염색을 시행한 후 12) hematoxylin을 이용하여 대비염색을 시행하였다.

나) 결과 판정

면역 조직 화학 염색을 마친 후 광학현미경으로 점막하층 및 근육층에서 신경절 세포 및 C-Kit 양성 세포의 존재 유무와 분포를 관찰하였다. 관찰 결과 장 근층 사이에 위치한 신경총 주위와 장 근층의 내원형근 및 외종형근의 세포간질에 강한 적갈색으로 골고루 염색된 경우를 양성으로 판단하였으며 양성, 음성, 감소, 또는 증가의 판정은 대상 환자의 임상 특성이 전혀 고지되지 않은 상태에서 동일 병리학 전문의에 의해 대조군의 염색정도와 비교하여 평가되었다.

III. 결 과

각 군의 카할 세포의 존재 유무 및 분포는 표 1과 같다.

제 1군(대조군)의 결장에서는 신경절 세포뿐 아니라 카할 세포 모두 존재하였으며 그 분포가 신경절과 신경총 주위 및 근육층에 고루 존재하며 수상돌기 형태의 망상구조를 이루는 것을 관찰하였다 (그림 1). 근본수술 후 정상 배변이 이루어진 선천성 거대결장 환자로 이루어진 제 2군-A조 5예의 경우 신경절 세포가 존재하는 부위에서는 카할 세포가 모두 존재하였으며 그 분포에 있어서도 대조군에 비해 다소 감소된 양상이기는 하지만 신경총 주위나 근육층 사이에 모두 존재하였다 (그림 2-a). 그러나 신경절 세포가 없는 결장에서는 C-Kit 염색에서 음성을 보였다 (그림 2-b). 제 2군의 B조인 경우 4예에서 신경절 세포가 없는 부위에서는 A조와 마찬가지로 C-Kit 음성이었지만, 신경절 세포가 존재하는 결장에서도 역시 C-Kit 음성이거나 (그림 3-a) 현저히 감소한 소견 (그림 3-b)을 나타내었다. 총결장 제거술 시행한 3예의 회장에서는 신경절 세포뿐 아니라 카할 세포 역시 모두 존재하였으며 그 분포 또한 정상적인 분포를 보였다. 제 3군은 장 신경단위 형성장애 환자에서는 신경절 세포가 존재하였으나 위치가 이소성이고 (그림 4-a) 신경총 비후 (그림 4-b) 소견과, Acetycholine esterase 염색에 양성 반응 (그림 4-c)을 나타내었으며 카할 세포는 오히려 대조군에 비하여 C-Kit 염색의 강도가 증가하여 관찰되었다 (그림 4-d). 제 4군의 경우 결장에서의 면역 조직화학 염색상 신경절 세포는 존재하였지만 C-Kit양성 세포의 염색은 현저히 감소되어 있었으며 (그림 5), 임상적으로 이들은 아직도 정기적인 관장 및 투약으로 보조적인 치료 중이다. 신생아 장폐색이 있었던 제 5군의 면역 조직 화학 염색 결과 회장 조루술 시행하였던 출생 초기에는 결장에 신경절 세포는 존재하였지만 C-Kit 음성이거나 (그림 6-a) 현저히 감소된 양상 (그림 6-b)이었던 반면에 회장에는 카할 세포가 정상적으로 존재하는 것으로 나타났다 (그림 6-c). 가스트로그라핀과 생리식염수를 이용하여 원위부 결장을 세척 후 정기적인 바륨관장술을 통하여 결

장의 연동운동이 돌아온 것을 확인한 이후 회장 조루 복원술 시행하였으며 복원술 당시의 면역 조직화학 염색 결과 결장에서 카할 세포가 확연히 존재하였고 정상에 가깝게 분포하고 있음을 관찰 하였다 (그림 6-d).

표 1. C-Kit 면역 조직화학 염색 검사에 의한 카할 세포의 분포

	1군	2군		3군	4군	5군(n=4)	
	(n=2)	A(n=5)	B(n=4)	(n=1)	(n=2)	조루술	복원술
결장 신경절 세포	+	+	+	+	+	+	+
카할세포	+	+	-, □	□	-, □	-, □	+
회장 신경절 세포			+	+		+	
카할세포			+	+		+	

제 1군: 대조군

제 2군: 선천성 거대 결장증

A조 - 근본수술후 정상 배변

B조 - 근본수술후 배변장애 및 근위부 거대결장증

제 3군: 장 신경단위 형성 장애

제 4군: 특발성 거대 결장증

제 5군: 신생아 태변성 장폐색증

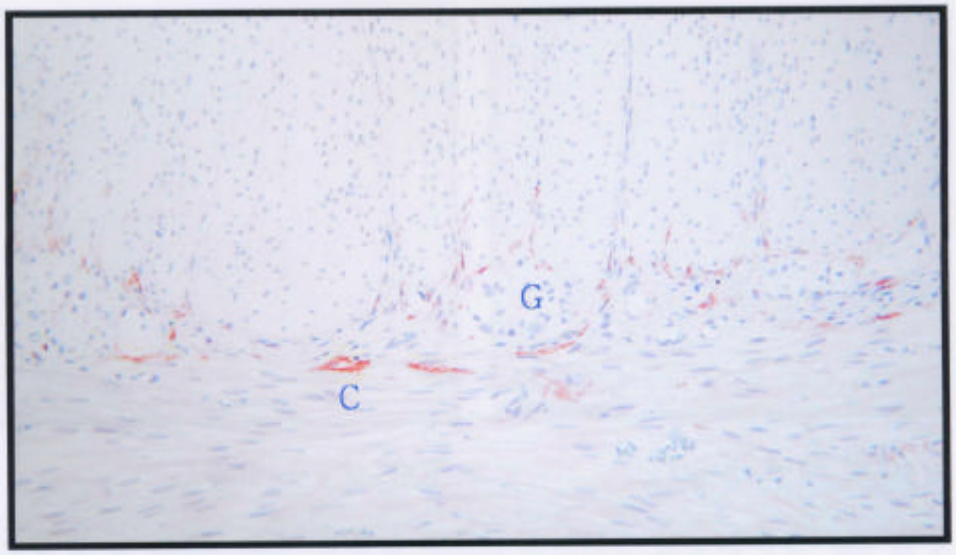
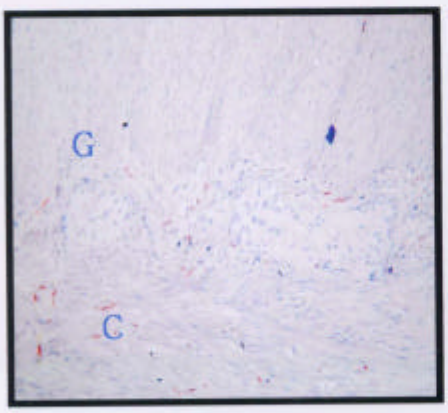


그림 1 (X 200)

그림 1. 제1군, 대조군의 신경절 세포와 카할 세포의 현미경 소견으로 신경절과 신경총 주위 및 근육층에 고루 존재하며 수상돌기 형태의 망상 구조를 이루고 있다.
G; 신경절 세포, C; C-Kit양성세포



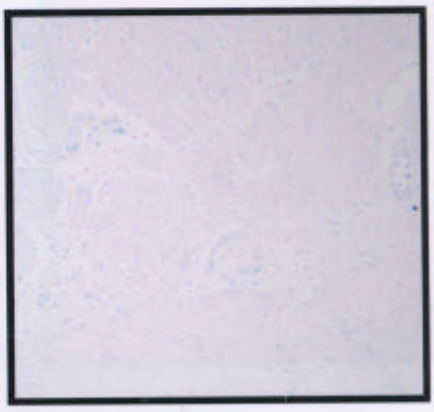


그림 2-a (X 200)　　그림 2-b (X 200)

그림 2-a. 제 2군 A조, 신경절 세포가 존재하는 부위에서는 카할 세포가 존재하였다.
그림 2-b. 제 2군 A조, 신경절 세포가 없는 결장에서는 C-Kit 염색에서 음성을 보이고 있다.

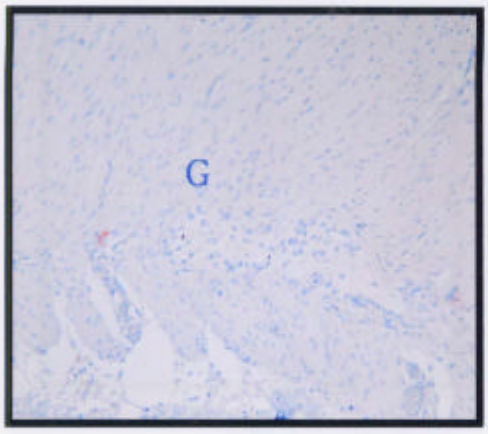


그림 3-a (X 200)

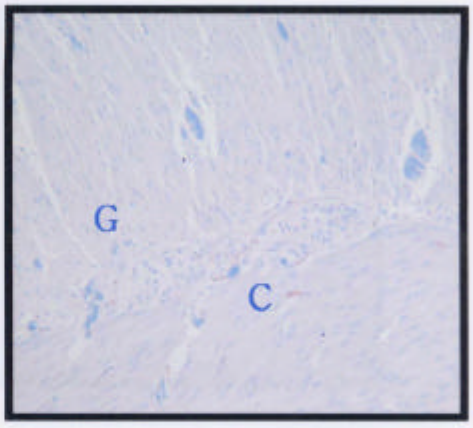


그림 3-b (X 200)

그림 3-a. 제2군 B조, 신경절 세포가 존재하는 결장에서 C-Kit 음성으로 나타났다.
그림 3-b. 제2군 B조. 신경절 세포가 존재하는 결장에서 C-Kit 양성 세포의 현저한 감소 소견 보이고 있다.

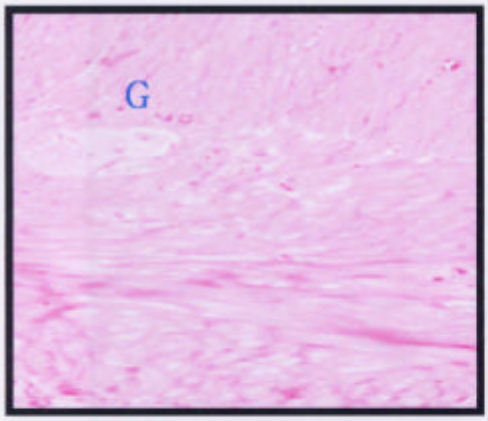


그림 4-a (X 200)

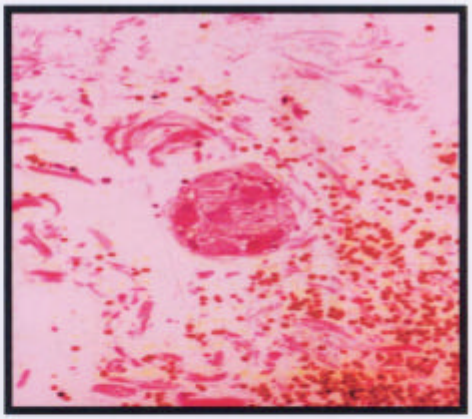


그림 4-b (X 200)

그림 4-a. 제 3군, 신경절 세포가 존재하였으나 위치가 이소성이다.
그림 4-b. 제 3군, 신경총의 비후를 관찰할 수 있다

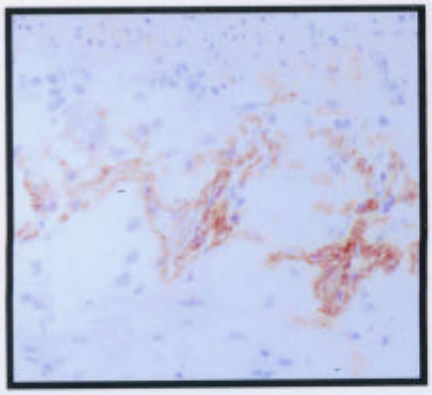


그림 4-c (X 200)

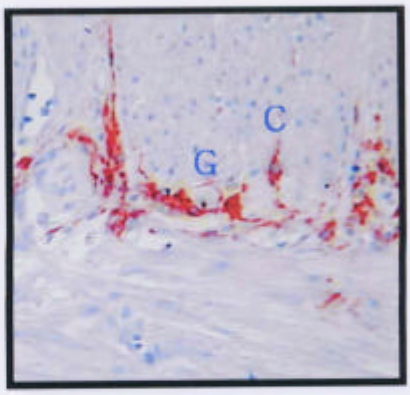


그림 4-d(X 200)

그림 4-c. 제 3군, Acetylcholine esterase 염색에 양성 반응을 나타내고 있다.
그림 4-d. 제 3군, 대조군에 비하여 C-Kit염색의 강도가 증가하여 있다.

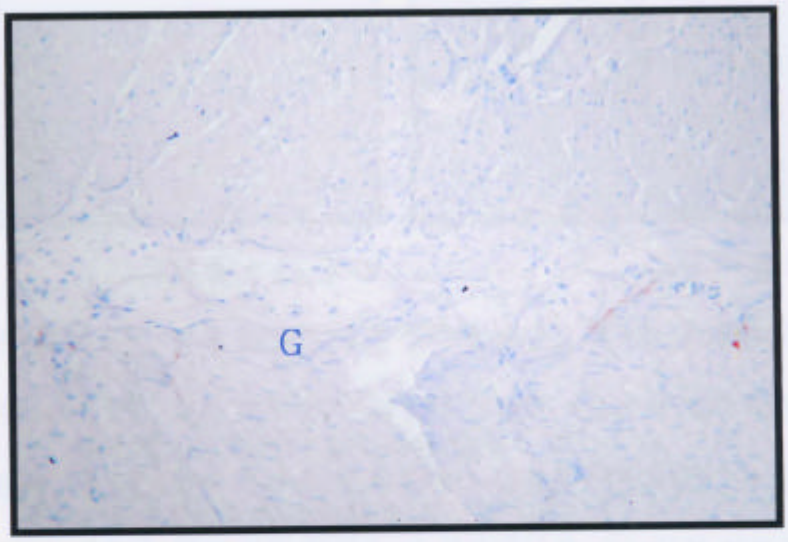


그림 5 (X 200)

그림 5. 제 4군, 신경절 세포는 존재하지만 C-Kit 양성 세포의
염색은 현저히 감소되어 있다.

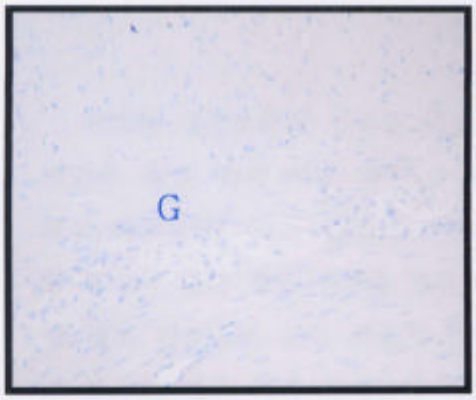


그림 6-a (X 200)

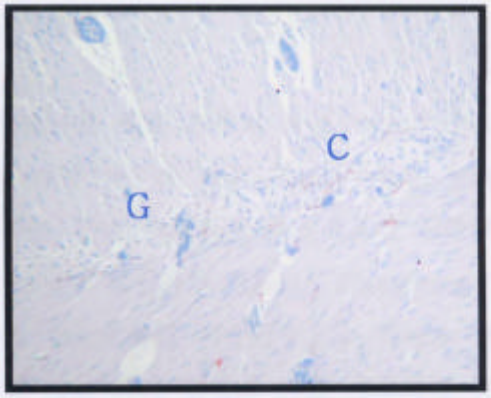


그림 6- b (X 200)

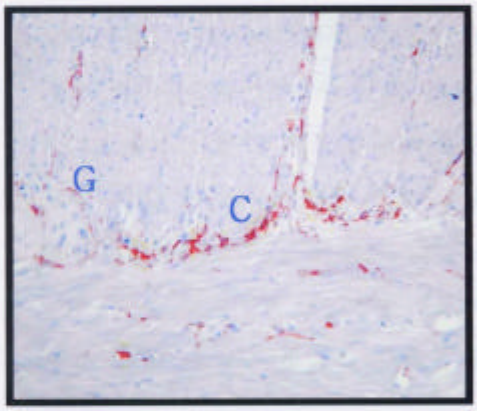


그림 6-c (X 200)

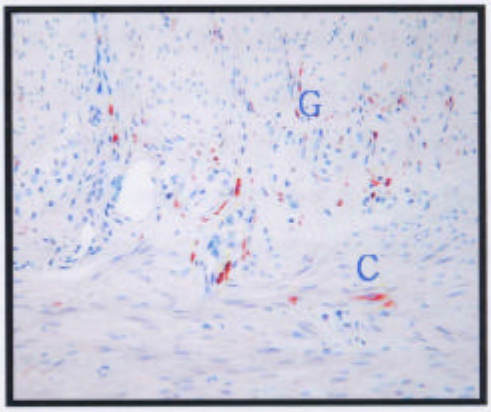


그림 6-d (X 200)

그림 6-a. 제 5군, 회장 조루술 시 결장에서 신경절 세포는 존재하지만 C-Kit 음성이었다.
그림 6-b. 제 5군, 회장 조루술 시 결장에 신경절 세포는 존재하지만 C-Kit 양성 세포는 현저히 감소되어 있다.
그림 6-c. 제 5군, 회장 조루술 시 회장에는 신경절 세포와 C-Kit 양성 세포 모두 정상적으로 존재한다.
그림 6-d. 제 5군, 회장 조루 복원술 시 결장에서 C-Kit 양성 세포가 확연히 존재한다.

Ⅳ. 고 찰

위장관 연동운동은 신경절 세포뿐 아니라 세포 간질의 카할 세포가 중요한 역할을 하며, 특히 자율 박동 운동은 카할 세포가 박동 조율기역할을 한다고 보고 하고있다[2]. 최근 연구보고에 의하면 장내 신경계와 카할세포의 비정상적인 발달이 있는 경우 위장관 운동에 장애가 발생하며 1982년 Thuneberg 등[2]이 세포 간질내의 카할 세포가 위장관 연동운동의 자율박동능을 가지고 있다고 보고한 이후 여러 저자들에 의하여 여러 가지 질병과 카할 세포와의 연관관계에 대하여 연구 보고 되어지고 있는데, 영아의 비후성 유문부 협착증[4], 유사 선천성 거대결장증[5], 선천적 거대결장증의 무신경절 결장[6] ,일시적인 신생아 가성 장폐색증[7], 직장항문 이상을 동반한 장운동 장애 질환[8], 만성 특발성 가성 장폐색증[9], 신생아 괴사성 장염[10], 특발성 위천공[11], 장 신경단위 형성장애[12], 샤가스 거대결장증[13]등에서 카할 세포의 이상이 관계한다고 보고하고 있다.

1893년 카할이 위장관 조직내에 작은 방사형의 세포가 정맥류의 돌기를 가지며 망상 구조를 이루고 있는 세포를 발견한 이래, 카할 세포에 대한 연구는 형태학적인 면[15,26]과 위장관 내의 분포와 연관되어 카할 세포의 기능에 관한 연구[15,16,17,19,20,21,22,23,25], 카할 세포의 기원과 발달에 대한 연구[13,29] 그리고 최근에는 카할 세포와 위장관 간질성 종양과의 연관관계에 대하여 보고 되어지고 있다.[14]

Nemeth 등[15]과 Hiroki 등[26]은 3차원적인 형태학적 검사에서 각 세포는 가지를 내며 서로 망상 구조를 이루면서 근육층으로 연결되어 있는 양상을 관찰하였으며 총 위장관 무신경절증에서 결장과 회장에서 카할 세포의 감소와 위장관 근육의 이완 장애의 연관관계에 대하여 보고 하였다.

카할 세포의 기능적인 면에서의 연구보고로 Hanami 등[15]은 카할 세포의 형태학적인 관찰에서 장내 신경계가 분포한 곳과 내장 근육층에 C-Kit 양성 세포가 존재하며 정맥류의 돌기를 가지며 망상의 구조를 가지고 있는 것으로 미루어 카할 세포가 생리적인 연동운동의 자율박동의 기원을 발생시키며 또한

내장 근육층으로 자극을 전도하여 연동운동을 조절할 것이라고 보고하였으며 이러한 결과는 본 연구에서의 결과와 일치하였다.

Horisawa 등[16]과 Minoru 등[18]은 정상 결장과 선천성 거대 결장증에서 C-Kit 양성 세포의 분포를 관찰하였는데 정상 결장에서 부위별 차이를 관찰하였으며 원위부에서 근위부보다 C-Kit 양성 세포의 밀도가 높다고 보고하였다. Faussone 등[17]은 신경 세포와 내장 근육 세포 그리고 카할 세포와의 형태학적 접촉에 대하여 위장관 부위별의 차이에 대하여 관찰하였는데 위장관 부위별 카할 세포와의 연결은 일정하지 않았고 이러한 차이가 위장관 연동운동의 차이와 연관이 있을 것이라고 보고 하였다. Hagger 등[20]은 결장과 직장에서 카할 세포의 분포의 차이를 관찰하였는데, 횡행 결장에서 가장 많은 분포를 나타내었고 부위별로는 근육층보다는 신경총 주위에서 많은 분포를 보였음을 관찰하였다고 보고 하였다. 본 연구에서는 연동운동 장애가 있는 환자의 결장에서 C-Kit양성 세포의 분포가 대조군과 비교하여 현저한 저하 소견을 보이기는 하였지만 부위별 C-Kit 양성세포의 뚜렷한 차이를 발견할 수는 없었다.

Laszlo 등[19]과 Keisuke 등[25]은 카할 세포와 신경 세포 그리고 근육 세포 사이의 gap junction의 immunolocalization을 Connexin43 단백질을 이용하여 관찰 하였는데, 카할 세포에는 Connexin43 단백질이 존재하며 정상 장에서는 3차원적인 망상구조를 이루고 있으나 무신경절 부위에서는 Connexin43의 발현이 저하되었으며 이러한 사실이 선천성 거대결장에서 연동운동 장애와 연관이 있을 것이라고 보고 하였으며 Tokutomi 등[21]이 위장관의 C-Kit 양성 세포가 $Ca(2^{+})$-activated K^{+} 전류와 더불어 주기적인 Cl^{-}흐름의 변동이 있음을 관찰하였고 이러한 이유로 위장관 연동운동의 박동 조율기역할을 할 것으로 보고 하였다. Sato 등[22]은 receptor tyrosin kinase인 C-Kit에 대한 단일 항체를 처치한 회장과 정상회장에서 아세틸콜린, bradykinin 그리고 Prostaglandin F2α에 대한 반응의 변화를 관찰하였고 이러한 변화를 미루어 카할 세포가 위장관 운동의 박동 조율기뿐 아니라 위장관 근육 수축의 기능적인 발달에도 중요한 역할을 할 것이라고 보고 하였으며, 또한 Thomesn 등[23]은 전자 현미경에서 카할 세포가 자발적으로 수축하며 calcium channel blocker에 반응하지 않

는 세포막 전극의 세포내로의 흐름이 형성되는 것을 관찰하여 위장관의 박동 조율기로서 역할을 할 것이라고 보고하였다. 이러한 생리, 생화학적인 연구는 카할 세포의 기능을 밝히는데 중요하며 보다 많은 연구가 필요할 것이다.

카할 세포의 발달 기전은 아직까지는 명확하지는 않지만 Maeda 등[3]이 백서를 이용한 동물 실험결과에서 전구 발암 유전자인 C-Kit이 중요한 역할을 할 것이라고 보고하였고 Young 등[16]은 이 C-Kit signaling pathway를 차단하면 카할세포의 분화가 저해된다고 보고하였다. Ward 등[27]은 C-Kit(W) locus를 변이시킨 백서와 정상 백서의 장 근육 조직에서 아세틸 콜린, Nitric oxide에 대한 신경 반응을 비교 연구하여 C-Kit이 박동 조율세포의 발달에 중요한 역할을 한다는 결과를 보고 하였으며, Hitomi 등[31]은 C-Kit의 단일 항체를 이용한 백서 실험에서 현저한 장운동 저해를 관찰하였다고 보고 하였다. 이상과 같은 연구 보고로 미루어 보아 카할 세포가 위장관 연동운동의 박동 조율기로서 역할을 하며, 위장관 근육 운동의 신경 전달의 중간체 역할을 하고 위장관 연동운동을 조절하는 것으로 사료되며 본 연구의 결과에서도 카할 세포가 박동 조율기로서 역할을 할 것이라는 결과와 일치하게 관찰되었다.

카할세포의 발생학적 기원은 잘 알려져 있지는 않지만 Young 등[29]이 동물의 태아를 이용한 실험에서 신경능으로부터 발생하는 신경절 세포와는 그 기원이 다르며 중배엽기원의 평활근의 특수한 형태라고 보고 하였다. 태생 중기에 카할 세포 전구체와 근육 세포 전구체 모두에서 C-Kit을 분비하나 이후의 C-Kit 발현의 차이에 의해 그들의 분화가 결정되어 진다고 보고하였고 출생 이후에도 C-Kit 발현은 얼마간 지속되며, C-Kit 발현의 이상이 있을 경우 카할 세포의 분포에 이상이 발생할 수 있다고 보고 하였다. Jun 등[30]은 또한 태아의 장 조직을 이용한 배양 실험에서 카할 세포가 신경능으로 부터 발생하는 것은 아니라고 보고 하였다. Kenny 등[28]은 임신 9주와 17주의 태아와 신생아 그리고 소아의 위장관에서 카할 세포의 분포를 비교 조사하여 본 결과 임신 초기에 이미 C-Kit양성 세포가 전 위장관에 걸쳐 분포하며, 임신 주수와 위장관의 부위에 따라 그 분포의 차이가 있고, 출생 후에도 카할 세포의 성숙은 계속된다고 보고 하였다. 이들은 카할 세포가 태아의 위장관 발달 초기에 이미

분포하며, 태아의 발생동안 계속하여 복잡하게 분화하며, 부위별로 그 분포의 차이를 보이고 있으며 또한 이러한 분화는 출생 후에도 계속되며 나이를 더해 갈수록 형태학적으로 더욱 복잡하여진다고 보고하였다. Kenny 등[24]이 카할 세포의 성숙과 관련되어 일시적인 신생아 가성 장폐색증이 카할 세포의 성숙 지연과 연관이 있다고 보고하였는데 이러한 결과는 본 연구에서 얻은 결과와 일치하였다.

이러한 카할 세포의 발생학적 연구에 근거하여 최근 위장관 간질성 종양과의 관계에 대한 연구 보고가 계속되어 지고 있다. Taniguchi 등[32]은 124명의 위의 간질성 종양 환자중 71명에서 C-Kit 변이를 관찰 하였다고 보고 하였고, Lux 등[33]과 Lasota 등[34]은 C-Kit 변이가 일어난 위의 간질성 종양 환자의 조직에서 exon 9과 exon 13의 변이를 보고 하였다. Maeyama 등[6]은 간질성 종양이 발생한 두 형제에서 동시에 codon 559의 변이를 발견하여 위장관 간질성 종양이 C-Kit 유전자의 변이와 관련이 있을것이라고 보고 하였다.

본 연구는 카할 세포와 관련된 여러가지 논점중 카할 세포의 기능에 대한 연구로 Hanami 등[15]과 Kenny 등[24]의 보고와 같은 결과가 관찰되었다. 본 연구의 결과로 선천성 거대결장증 환자 중 근본수술후도 배변 장애가 계속되거나 특발성 거대 결장증, 신생아 태변성 장폐색증 등의 경우에는 신경절 세포 뿐 아니라 카할 세포의 존재 및 분포를 관찰하는 것이 필요할 것으로 생각되며, 선천성 거대 결장증이나 특발성 거대 결장증에서 카할 세포의 이상이 발견될 경우는 총 결장제거술이 배변 기능 회복에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되고 또한 신생아의 경우는 카할 세포의 미성숙이 있을 경우 일시적인 회장 조루술 시행 한 후 원위부 결장의 기능이 돌아올 때, 즉 카할 세포의 성숙이 이루어질 때를 기다려서 조루 복원술을 시행하면 배변 기능의 회복을 기대할 수 있을 것이라고 사료 된다.

V. 결 론

본 연구의 결과 신경절 세포와 카할 세포가 모두 정상적으로 발달된 경우에 정상적인 대장 운동이 가능한 것으로 나타났으며, 신경절 세포가 존재함에도 만성적인 배변 장애가 있는 경우에는 카할 세포가 현저히 감소된 것으로 관찰 되었다. 신생아에서 태변성 장폐색증의 경우 카할 세포의 발달 지연 내지는 미성숙으로 인한 일시적인 대장 운동 장애가 그 원인으로 생각되어지며, 배변 기능 회복 후에는 카할 세포 또한 정상적으로 분포되는 것을 관찰할 수 있었다.

결론적으로 과거에는 그 원인을 알 수 없었던 특발성 거대 결장증 환자나 신생아의 태변성 장 폐색증의 경우에 카할 세포의 이상이 그 원인이 될 수 있으므로 향후 배변 장애및 거대 결장증이 있는 환자에서는 신경절 세포 검사뿐 아니라 카할 세포의 존재 여부를 확인하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Cajal SR. Sur les ganglions et plexus nerveux de l'intestin. CR Soc Biol(Paris) 1893; 45:217-223.

2. Thuneberg L, Rumessen J.J & Mikkelsen HB. Interstitial cells of Cajal - an intestinal impulse generation and conduction system? Scand J Gastroenterology Suppl. 1982; 71:143-4

3. Maeda H, Yamagata A, Nishikawa S, Yoshinaga S, Kobayashi S. Requirement of c-kit for development of intestinal pacemaker system. Development 1992 Oct;116(2):369-75

4. Yamakata A,Fujiwara T, Kato Y, Okazaki T, Sunagawa M,Miyano T. Lack of intestinal pacemaker (C-KIT-positive) cells in infantile hypertrophic pyloric stenosis. Journal of Pediatric Surgery 1996 Jan;31(1):96-8; discussion, 98-9

5. Yamataka A, Ohshiro K, Kobayashi H, FujiwaraT, Sunagawa M, Miyano T. Intestinal pacemaker C-KIT^{+} cells and synapses in allied Hirschsprung's disorders. J. Pediatric Surgery 1997 Jul; 32(7): 1069-74

6. Mayama H, Hidaka E, Ota H, Minami S, Kajiyama M, Kuraishi A. Familial gastrointestinal stromal tumor with hyperpigmentation: association with a germline mutation of the c-kit gene. Gastroenterology 2001 Jan; 120(1):210-5

7. Kenny SE, Vanderwinden JM, Rintala RJ, Connell MG, Lloyd DA, Vanderhaegen JJ, DE Laet MH. Delayed maturation of the interstitial cellsof Cajal: a diagnosis for transient neonatal pseudoobstruction. Report of two cases. Jounal of Pediatric Surgery 1998 Jan(1):94-98

8. Kenny SE, Commell MG, Rintala RJ, Vaillant C, Edga DH, Lloyd DA. Abnormal colonic interstitial cells ofCajal in children with anorectal

malformations. Journal of Pediatric Surgery 1998 Jan;33(1): 130-2

9. Atsuyuki Yamataka, Kiyohiko Ohshiro, Hiroyuki Kobayashi, Geoffrey Lane et al. Abnormal distribution of Intestinal Pacemaker(C-KIT-Positive) Cells in an Infant With ChronicIdiopathic Intestinal Pseudoobstruction. Journal of Pediatric Surger,Vol 33, No 6(June), 1998:pp 859-862

10. Atsuyuki Yamataka, Tamiki Yamataka, Geoffrey J. Lane, Hiroyuki Kobayashi et al. Necrotizing Enterocolitis and C-KIT. J. of Pediatric Surgery, Vol 33, No 11(November), 1998: pp 1682-1685

11.Ohshiro K, Yamatka A,Kobayashi H, Hirai S, Miyahara K, Miyano T. Idiopathic gastric perforation in neonate and abnormal distribution of intestinal pacemaker cells. Journal of Pediatric Surgery 2000 May;35(5):673-6

12. Jeng TM, Mao TL, Hsu WM, Huang SF, Hsu HC. Congenital interstitial cell of cajal hyperplasia with neuronal intestinal dysplasis. Am J Surg Path 2000 Nov;24(11) 1568-72

13. Hagger R, Finlayson C, Kahn G, De Olivera R, Chimelli L, kumar D. A deficiency of interstitial cells of Cajal in Chagasic megacolon. J. Autonomic Nervous system 2000 Apr 12;80(1-2):108-11

14. Vanderwinden JM. Role of Intestinal Cellsof Cajal and their relationship with enteric nervous system. Eur J Morphol 1999 Oct;37(4-5):250-6

15. Nemeth L, Yoneda A, Kader M, Davaney D, Puri P. Three-dimensional morphology of gut innervation in total intestinal aganglionosis using whole-mount preparation. J. Pediatric Surgery 2001 Feb; 36(2):291-5

16. Horisawa M, Watanabe T, Torihshi S. Distribution of c-Kit immunopositive cells in normal human colon and in Hirschsprung's

disease. J. Pediatric Surgery 1998 Aug;33(8): 1209-14

17. Faussone-Pellegrini MS. Comparative study of interstitial cells of Cajal. Acta Anat (Basel) 1987;130(2):109-126

18. Minoru Horisawa, Yoshio Watanabe, Shigeko Torihshi. Distribution of c-kit Immunopositive Cells in Normal Human Colon and in Hirschsprung's Disease. J, of Pediatric Surgery, vol 33, No 8 (August), 1988: pp 1209-1214

19. Laszlo Nemeth, Srinvas Maddur, Prem Puri. Immunolocalization of the Gap Junction Protein Connexin43 in the Interstitial Cells of Cajal in the Normal and Hirschsprung's Disease Bowel. J. of Pediatrics,vol 35, No 6(June), 200:pp 823-828

20. Robert Hagger, Sussan Gharie, Caroline Ginlayson, Devinder Kumar. Regional and transmural density of interstitial cells of Cajal in human colon and rectum. American Journal of Physiology 275(Gastroinest. Liver. Physiology. 38): G1309-G1316,1998.

21. Tokutomi N, Maede H, Tokutomi Y, Sato D, Sugita M, Nishi K et al. Rhythmic Cl^- current and physiological roles of the intestinal c-kit -positive cells. Pflugers Arch 1995 Dec;431(2): 169-77

22. Sato D, LaiZf, Tokutomi Y, Maeda H et al.. Impairment of Kit-development of interstitial cells alters contractile responses of murin intestinal tract. Am J Physiol 1996 Nov;27(5 Pt 1):G762-71

23. Thomsen L, Robinson TL, LeeJC, Farraway LA, Hughes MJ, Andrew DW, Huizinga JD. Interstitial cells ofCajal generate a rhythmic pacemaker current. Nat Med 1998 Jul;4(7): 848-51

24. S.E. Kenny, J.M. Wanderwinden, R.J. Rintala, M.G. Connell er al. Delayed Maturation of the Interstitial Cells of Cajal: A New Diagnosis for Transient Neonatal Pseudoobstruction. Report of Two Cases. Jounal of Pediatric Surgery, Vol 33,N 1(January), 1998:pp 94-98

25. Keisuke Seki, De-Shan Zhou. Immunohistochemical study of the c-kit expressing cells and connexin43 in the guinea-pig digestive tract. Journal of the Autonomic Nervous System 68 (1998) 182-187

26. Hiroki Toma, Kei-ichiro Nakamura,Akio Kuraoka, Masao Tanaka, Masaru Kawabuchi. Three-dimensional structures of c-Kit-positive cellular networksinsthe guinea pig small intestine and colon. Cell Tissue Res (1999) 295; 425-436

27. Ward SM, BurnsAJ, Torihashi S, Sanders KM. Mutation ofthe proto-oncogene c-kit bloks development of interstitial cells and electrical rhythmicity in murine intestine. J. physiology 1994 Oct 1;480 (Pt 1): 91-7

28. Simon E. Kenny, Gwen Connel, Mark N. Woodward, David A. Lloyd. Ontogeny of Interstitial Cells of Cajal in the Human Intestine. Journal of Pediatric Surgery, Vol 32,No8(August), 1999:pp 1241-1247

29. Young HM. Embryological origin of interstitial cells of Cajal. Microsc Res Tech 1999 Dec 1;47(5):303-8

30. Jun J. Wu, Taube P. Rothman, and Michael D. Gershon. Development of the Interstitial Cell of Cajal: Origin, Kit Dependence and Neuronal and Nonneuronal Source of Kit Ligand. J.of Neuroscience : Reserch59:384-401(2000)

31. Hitomi Maeda, Akihiro Yamagata, Satomi Nishikawa, Kazuya Yoshinaga et al. Requirment of c-kit for development of intestinal pacemaker system. Development 116, 369-375 (1992)

32. Taniguchi M, Nishide T, Hirota S, Isozaki K, Ito T, Nomura T et al. Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. Cancer Res 1999 Sep 1;59(17);4297-4300

33. Lux ML, Rubin BP, Biase TL, Chen CJ, Maclure T, Demetri G et al. KIT extracellualr and kinase domain mutation in gastrointestinal

stromal tumor. American Journal of Pathol 2000 Mar; 156(3):791-5

34. Lasota J, Wozuiak A, Sarlomo-Rikala M, Rys J, Kordek R. Mutation in exon 9 and 13 of KIT gene are rare events in gastrointestinal stromal tumors. A study of 200 cases. Americal Journal of Pathol 2000 Oct;157(4):1091-5

Abstract

The Roles of Interstitial Cells of Cajal in the Congenital Megacolon and Idiopathic Megacolon

Kim Il Ho

Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Yoo Soo Young)

It has been well known that the peristalsis of gastrointestinal tract was controlled by autonomic nerve system and the presence of ganglion cells was very important for diagnosis of motility disorders in children.

Recent studies showed that interstitial cells of Cajal (ICC) are thought to modulate gut motility as gastrointestinal pacemaker cells. The aim of this study was to evaluate the distribution of ICC in the bowel walls of patients who had variable motility disorders.

The first group (G1) consisted of 2 children who had normal bowel habits. The second group (G2) consisted of 9 children who underwent definitive procedure for rectosigmoid aganglionosis. Five of them showed normal bowel movements after operation (G2-A) and another 4 had defecation difficulty with persistent megacolon after operation (G2-B). The patient in the third group (G3) had neuronal intestinal dysplasia and the fourth group (G4) consisted of 2 patients who suffered from idiopathic megacolon. Four neonates belong to the 5th group (G5) underwent ileostomy because of meconium obstruction without cystic fibrosis.

The ICC were identified by immunohistochemistry using an anti C-Kit antibody. Immunopositive cells were stained with dark red colors. In the

control specimens, ICC were distributed around the myenteric plexus and showed dendrite patterns in muscle layers. In aganglionic colons of G2-A & B, ICC were absent or scarcely distributed around myenteric plexus. In contrast, ICC were well distributed around myenteric plexus and between muscle layers in the ganglionic segment of G2-A; however, ICC were not present or decreased in the ganglionic colon of G2-B. The C-Kit positive cells were present in G3 and more darkly stained compared with G1. The colons of G4 showed absence or decrease of ICC in spite of presence of ganglion cells. C-Kit '+' cells were completely absent or markedly decreased in all 4 neonates of G5 at the time of ileostomy and the distribution of ICC was changed to normal pattern after restoration of colonic function.

The results suggest that lack of ICC caused reduction of motility in the ganglionic colon and it may be responsible for the development of megacolon after definitive procedure of agnglionosis or idiopathic megacolon. Also delayed maturity of ICC may play a role in meconium obstruction of neonates.

Keyword : Congenital megacolon, Idiopathic megacolon, Meconium ileus, ganglion cell, C-Kit, Interstitial cells of Cajal