

Capsaicin 투여 후 흰쥐 소장 장신경세포의 변화

이종은, 김경희*, 이원택, 윤 호, 박경아

연세대학교 의과대학 해부학교실
춘천의료원 소아과*

〈 초 록 〉

우리나라 사람들이 많이 섭취하는 고추의 매운 성분인 capsaicin이 장신경계에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 신생동물과 성숙동물에 capsaicin을 투여한 후 시기에 따라 장신경세포의 수와 크기 변화를 조직계측학적 방법으로 조사하였고, 미세구조의 변화를 전자현미경을 이용하여 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다. NADH-TR 염색한 표본에서 근육층신경절 세포의 수를 시야당 $5487\mu\text{m}^2$ 의 단위 면적으로 20~30 시야에서 계수한 결과, 단위면적당 장신경세포의 수는 실험군에서 대조군에 비하여 통계적으로 유의있게 감소하였으며, 이러한 현상은 소장 중 회장에서 가장 뚜렷하게 나타났다. 한 신경절 내에 존재하는 장신경세포의 수도 실험군에서 감소하였으며, 역시 회장에서 감소현상이 가장 뚜렷하였다. 장신경세포체의 면적은 성장에 따라 증가하여 생후 20일부터 뚜렷한 증가를 보였으며, 생후 30일에는 성숙흰쥐의 크기에 도달하였다. Capsaicin을 투여한 실험군에서 전반적으로 세포체 크기의 감소현상을 관찰할 수 있었다. 미세구조의 변화는 capsaicin 투여 후 10일군에서부터 세포소기관의 변화가 시작되어 20일이 경과한 후부터 세포의 퇴화 현상이 뚜렷하게 나타났으며, 이러한 퇴화현상은 투여 후 10주가 지난 실험군에서도 뚜렷하였다. 본 실험의 결과들로부터 capsaicin은 장신경절 세포의 수와 크기를 감소시키고, 전자현미경 소견에서도 세포의 퇴화 현상이 뚜렷하게 나타났다. 따라서 capsaicin이 장신경계에 형태적인 변화를 초래하지 않는다는 종래의 개념과는 달리 심한 퇴행성 변화를 초래하는 것으로 생각되었다.

찾아보기 낱말 : Capsaicin, 흰쥐 소장, 장신경세포, 수와 면적, 미세구조

서 론

Capsaicin은 붉은 고추에서 매운 맛을 내는 성분으로 그 생화학적 구조는 vanillyl 고리와 alkyl 사슬이 펩티드 결합에 의해 연결되어 있는 8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide이다. 세계적으로 고추 소비가 많은 나라로는 동양에서는 한국, 서양에서는 헝거리를 꼽을 수 있다. 헝거리에서는 일찌기 1940년대부터 Jancso 등에 의하여 capsaicin의 효과에 대한 연구가 계속되어 왔다 (Jancso 등, 1977; Crozier 등, 1982). Capsaicin을 투여하면 심장혈관계통 (Longhurst 등, 1980), 호흡기계통 (Coleridge와 Coleridge, 1977), 소화기계통 (Napanitaya, 1973), 신경계통 (Jancso 등, 1977; Virus와 Gebhart, 1979) 등에 다양한 변화를 일으킨다고 알려져 있다. Capsaicin은 화학적 통증을 수반하는 자극물질로 반응효과는 투여되는 양이나 동물의 발달정도에 따라 다양하게 나타나며 (Virus와 Gebhart, 1979; Jancso와 Kiraly, 1981), 성숙동물에 피하주사하였을 경우 다른 자극성 화학물질과 마찬가지로 통증을 수반하는 염증반응을 일으키고, 피부의 화학적 자극에

대해 전반적인 탈감작 (desensitization)을 보이며 (Szolcsanyi 등, 1975), capsaicin을 신생동물에 투여하였을 경우에는 신경독성물질 (neurotoxin)로 작용하여 상당 수의 무수초신경섬유 (unmyelinated nerve fiber)를 파괴시키는 것으로 보고되고 있다 (Jancso 등, 1977; Nagy 등, 1980; Scadding, 1980). Henry (1976)는 신생흰쥐에 capsaicin을 5일간 투여한 후 척수의 후각에서 substance P가 48% 감소하였음을 보고하였고, Hayes와 Tyers (1980)는 81%의 감소를 보고하여 capsaicin의 neurotoxic effect가 신경전달물질인 substance P와 관계 있음을 발표하였다. 과거의 연구들이 capsaicin이 중추신경계통에는 전혀 영향을 미치지 않는다고 보고했던 데에 반하여 최근에는 capsaicin이 중추신경계통에도 영향을 준다는 보고가 나오는 등 연구자들에 따라 주장이 엇갈리고 있는 실정이다 (Ritter와 Dinh, 1988; 1990; 김봉옥, 1993; 오중환, 1994; 조기홍, 1994). 또한 성숙동물에 투여한 경우에도 자율신경계통을 포함한 말초신경계에 뚜렷한 형태학적인 변화를 일으킨다는 보고 (Panerai 등, 1983; Chung 등, 1985)와 함께 각 장기에서의 substance P의 감소나 또는 전체 혈관계의 변화 및

각 장기 내부의 신경얼기의 변화 등에 관한 많은 연구들이 보고되고 있다(Napanitaya, 1973; Jancso와 Kiraly, 1981). 따라서 중추신경계통 밖의 중추신경계통이라 불리는 장신경계통(enteric nervous system)에 미치는 영향에 관하여 관찰하여 보는 것은 매우 흥미롭다고 하겠다.

장신경계는 점막밑신경얼기(submucosal plexus)와 근육층신경얼기(myenteric plexus) 및 그 사이를 연결하는 신경절사이띠(internodal strands)로 구성되어 있다(Gabella, 1972; Karczmar 등, 1986). 장신경계를 구성하는 장신경세포는 다양한 신경펩타이드를 함유하고 있는 것으로 알려져 있으며, 이들의 분포는 동물이나, 장의 각 부위에 따라 다양한 것으로 알려져 있다(Costa와 Furness, 1982). Calcitonin과 같은 유전자 부위에서 생성되는 calcitonin gene-related peptide (CGRP)는 척수의 뒤뿌에 주로 분포하며(Girgis 등, 1985), 장에서는 장의 운동을 억제하는 효과가 있다고 알려져 있고(Zittel 등, 1994), substance P (SP) 역시 뇌와 장에서 추출되어 알려진 물질로 장신경계의 substance P 신경세포는 흥분성 신경세포로 작용하여 주로 돌립근육층의 근육을 수축시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Pearse와 Polak, 1975; Costa 등, 1985).

포유동물의 장에서 추출한 물질로(Said와 Mutt, 1972), 소화관의 점막과 중추신경계 내에서도 발견되는 vasoactive intestinal polypeptide (VIP)는 장에서 평활근을 이완시키고 위산의 분비를 억제하며, 장 분비 및 인슐린과 글루카곤의 분비를 촉진시키는 것으로 알려져 있다(Larsson 등, 1976). Baumgarten 등(1970)이 처음 전자현미경을 이용하여 장신경계통의 존재를 발견한 이후 면역조직화학 염색법의 발달로 장신경계통의 펩타이드 함유 신경세포에 관한 연구가 계속되어 왔으며, 최근에는 이러한 펩타이드 함유 장신경세포들 사이의 상호 연관성과 각 세포의 기능에 대해 보고되고 있다(Costa 등, 1985; Raybould와 Holzer, 1993; Zittel 등, 1994). 또한 이러한 펩타이드가 장의 기능과는 어떠한 연관성이 있는가에 대한 연구의 수단으로 capsaicin의 영향에 관하여도 많이 연구되고 있다(Holzer 등, 1991; Takaki 등, 1993).

본 실험은 capsaicin의 영향에 대한 연구의 일환으로, capsaicin이 장신경계통에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 시도하였다. 신생동물과 성숙동물에 capsaicin을 투여한 후 시기에 따라 장신경세포의 수와 크기 변화를 조직계측학적 방법으로 조사하였고, 미세구조의 변화를 전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

체중 200 gm 내외의 성숙흰쥐(Sprague-Dawley계) 30마리와 임신쥐 20마리를 사용하였다.

2. 실험방법

1) Capsaicin 주사

신생 동물에 capsaicin 투여는 흰쥐를 생후 2일과 4일에 capsaicin (sigma사 제품)을 ethanol-Tween 80-생리 식염수 혼합액(1:1:8)에 10 mg/ml로 녹여 50 mg/kg을 피하주사하였다. 성숙 흰쥐에도 같은 방법으로 50 mg/Kg의 농도로 1회 피하주사하였다. 대조군은 capsaicin을 제외한 나머지 혼합액을 같은 방식으로 같은 양 주사하였다.

주사 후 각각 5일, 10일, 20일, 30일, 10주군과, 성숙흰쥐에 주사한 군으로 구분하여 실험을 시행하였다.

2) NADH-TR 반응 염색

Gabella (1969)의 방법을 변형하여 nicotinamide adenine dinucleotide-tetrazolium reductase (NADH-TR) 효소 반응을 이용하여 근육층사이신경절 세포의 형태와 크기 및 신경절의 배열을 관찰하였다. 각 시기의 흰쥐를 에테르 마취하에서 배를 열고 십이지장, 공장, 회장 부위를 떼어내었다. 떼어낸 장의 한쪽 끝을 묶고 식염수로 채운 후, 남은 한쪽 끝도 묶어 -70°C 냉동실에 48시간동안 보관하였다. 48시간 후에 실온에서 녹여 NADH-TR 반응 염색을 시행하여, 10% 중성포르말린 용액에서 24 시간 고정 후 근육층을 분리하였다. 염색한 표본은 글라이세린-젤리로 봉입하였다.

3) 장분리 표본제작

에테르 마취하에 4% paraformaldehyde (0.1 M PBS, pH 7.3)로 관류고정한 후, 배를 열어 장의 길이를 측정 후 십이지장, 공장, 회장을 떼어 내었다. 십이지장은 위십이지장 연결부위로부터 아래쪽으로 3cm, 공장은 십이지장을 떼어낸 부위에서 10cm 버리고 그곳으로부터 5cm를 취하였고, 회장은 회장맹장판막(ileocecal valve)으로부터 5cm 위쪽의 5cm 부위를 취하여 실험재료로 사용하였다. 떼어낸 장은 장간막 부착부를 따라 절개하여 장을 펼친 후, 나무판에 핀으로 고정하여 다시 4% paraformaldehyde 용액에 담그어 4°C에서 하룻 동안 후고정하였다. 고정한 표본을 80%, 90%, 100% 알콜에 각각 20분씩 탈수시키고, 자일렌으로 투명화한 후, 다시 100%, 80%, 50% 알콜에 함유한 후, 0.1 M 인산염 완충액(pH 7.4)에 보관하였다. 이를 해부현미경 하에서 분리하였으며, 근육층신경얼기(myenteric plexus)를 세로근층에 붙여 사용하였다.

4) 전자현미경 표본제작

전자현미경 관찰을 위해서는 3% paraformaldehyde-3%, glutaraldehyde-0.1% picric acid 혼합용액으로 실험동물을 관류 고정하였다. '다'에서의 방법과 마찬가지로 장의 각 부위를 떼어낸 다음 OsO₄ 용액에 후고정한 후, 일반적인 전자현미경 표본제작과정에 따라 epon에 포매하였다. 얇은절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 Hitachi-500,

Philips CM-10 전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

5) 관찰, 계측 및 분석

장분리표본을 NADH-TR 염색한 표본에서 근육층신경절 기 세포의 수를 시야당 $5487 \mu\text{m}^2$ 의 단위 면적으로 20~30 시야에서 계수하여 비교하였고, 또한 한 신경절 내에 존재하는 신경세포의 수를 표본 하나당 20~30개의 신경절에서 계수하여 비교하였다.

장신경절 부위를 사진촬영 후 최종 520배의 배율로 확대 인화하여 YAP 1.0 computer program을 이용하여 장신경절 세포의 세포체 크기를 계측 비교하였다.

모든 실험결과는 SAS computer program을 이용하여 통계 처리하였으며, 일부 결과는 Wilcoxon 2-Sample Test로 검정 하였다.

결 과

1. 신생원쥐에 capsaicin 투여 후 시기에 따라 나타나는 변화

1) 단위면적당 신경세포 수의 변화

신생원쥐에 capsaicin을 투여한 후 시기에 따라 원쥐를 희생하여 장분리표본을 제작하였고, NADH-TR 염색한 표본에서 근육층신경절 기 세포의 수를 시야당 단위면적 $5487 \mu\text{m}^2$ 으로 20~30 시야에서 계수하여 비교하였다. 그 결과 capsaicin 주사 후 5일째부터 영향을 받아 대조군에 비해 세포수가 감소하였다(표 1). 초기에는 소장 중에서 십이지장과 공장에서는 별다른 영향이 없었던 반면, 회장부위에서는 통계적으로 유의 있게 수치가 감소하였다. 이와 같은 경향은 주사후 1개월이 경과할 때까지 같았으며, 주사 후 10주가 경과한 후에는 공장부위의 세포도 유의 있게 수가 감소하였다(표 1,

Fig. 1a,b). 형태학적인 변화로는 capsaicin 투여 5일부터 신경절의 배열이 대조군에 비해 불규칙하였고(Fig. 2a,b) 세포수도 감소하였으며(Fig. 2c,d), 이러한 양상은 투여 10주까지 계속 관찰되었다(Fig. 1a,b).

2) 하나의 신경절을 이루는 신경세포 수의 변화

Capsaicin 주사 후 하나의 신경절 내에 존재하는 신경세포의 수를 비교해 보기 위해 표본 하나당 20~30개의 신경절에서 신경절을 구성하는 장신경세포의 수를 계수하여 비교하였다(표 2).

Capsaicin 주사 후 5일, 10일까지는 하나의 신경절을 이루는 신경세포의 수가 대조군보다 오히려 실험군에서 그 수가 약간 증가하였으며, 이와 같은 양상은 소장의 전부위에서 관찰할 수 있었다.

그러나, 주사 후 20일이 경과한 후부터는 실험군의 세포수가 약간 감소하였고(Fig. 2c,d), 주사 후 30일이 경과한 후에는 실험군의 세포수가 통계학적으로 유의 있게 감소하여, 주사후 10주가 경과할 때까지 같은 양상을 보였다(Fig. 1a,b). 이러한 경향은 역시 회장 부위에서 두드러지게 나타났다.

3) 장신경세포의 세포체 면적의 변화

Capsaicin 투여 후 장신경절 세포의 세포체 크기를 계측 비교하였다. Capsaicin 투여후 장신경세포의 세포체의 크기는 전반적으로 작아졌으나, 일부 크기가 큰 세포들도 관찰되어 평균 세포체의 면적에는 큰 변화가 없었다. 십이지장, 공장, 회장 등 소장의 전부위에 걸쳐 다소 수치의 차이는 있지만 큰 변화는 관찰할 수 없었고, 다만 capsaicin을 투여한 후 10주가 경과한 실험군의 회장부위에서는 세포의 크기가 통계학적으로 유의 있게 감소하였다(표 3). 세포체의 면적에 따른 세포의 분포를 조사하였다(Fig. 3a,b,c). 십이지장의 경우 실험군에서 일부 크기가 작은 세포의 수가 증가하였으나, 크기

Table 1. Number of enteric neurons in unit area ($5487 \mu\text{m}^2$) of the myenteric plexus of the rat.

Group	Portion	Duodenum		Jejunum		ileum	
		Control Group	Experimental Group	Control Group	Experimental Group	Control Group	Experimental Group
5 days after neonatal capsaicin treatment		96.8 ±13.0	76.7 ±11.7	92.1 ±15.9	88.8 ±17.3	137.6 ±18.2	82.9* ±18.7
10 days after neonatal capsaicin treatment		82.2 ±15.5	73.2 ±16.9	84.2 ±14.7	81.2 ±11.7	97.3 ±12.9	75.7* ±12.3
20 days after neonatal capsaicin treatment		82.3 ±8.8	75.5 ±11.7	66.7 ±9.4	63.5 ±9.2	79.4 ±13.8	69.5* ±9.5
30 days after neonatal capsaicin treatment		80.6 ±14.6	79.6 ±18.5	74.0 ±11.1	69.2 ±12.9	105.3 ±18.8	73.5* ±10.9
10 weeks after neonatal capsaicin treatment		53.7 ±9.8	46.6 ±9.2	70.5 ±11.4	45.0* ±9.9	74.8 ±15.7	53.1* ±9.9
1 week after adult capsaicin treatment		53.7 ±9.8	46.6 ±9.2	70.5 ±11.4	54.2* ±8.9	74.8 ±15.7	59.6* ±10.5

Mean S.D., * $p < 0.01$

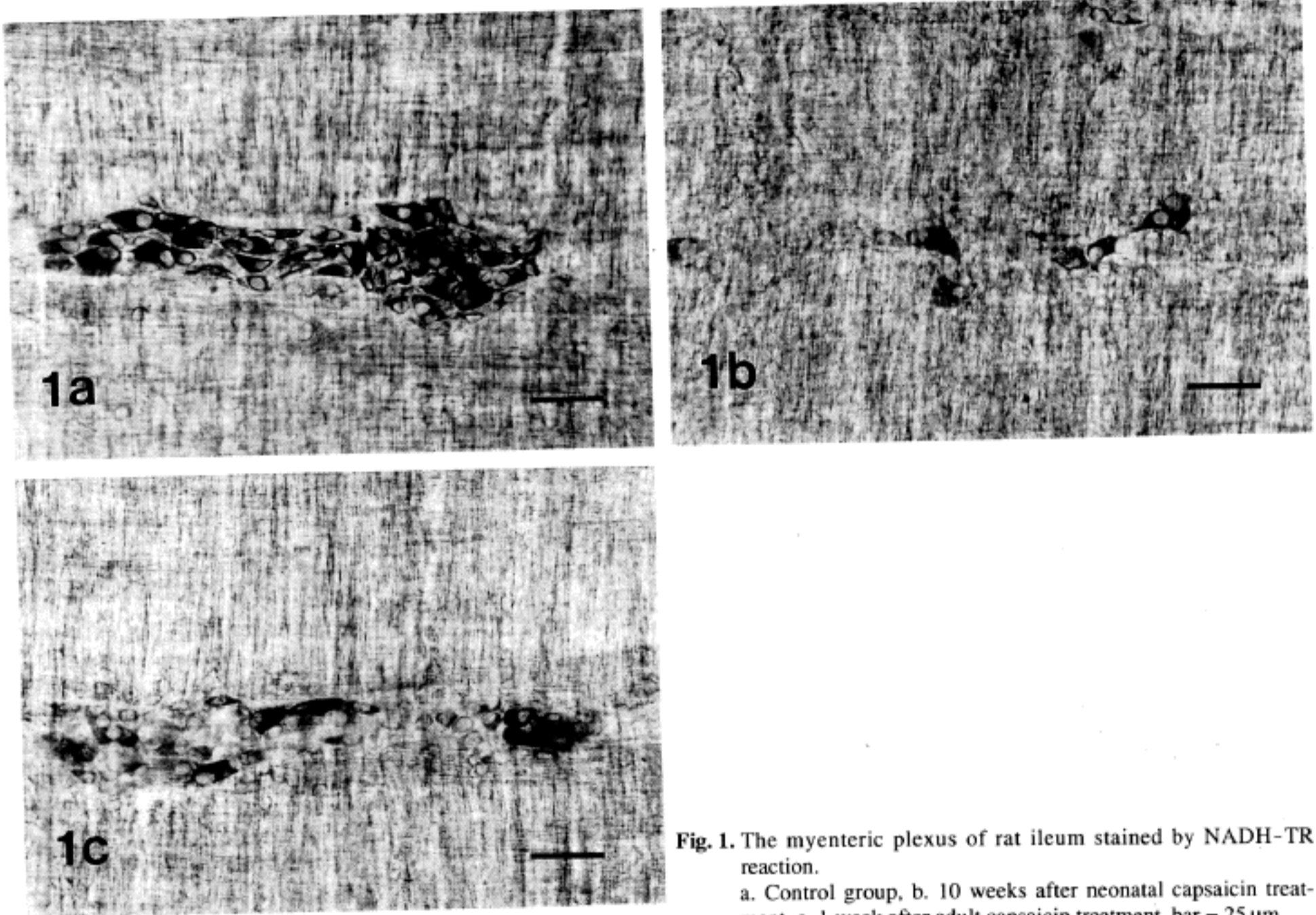


Fig. 1. The myenteric plexus of rat ileum stained by NADH-TR reaction.
a. Control group, b. 10 weeks after neonatal capsaicin treatment, c. 1 week after adult capsaicin treatment, bar = 25 μ m.

Table 2. Number of enteric neurons in one ganglion of the myenteric plexus of the rat.

Group	Portion	Duodenum		Jejunum		ileum	
		Control Group	Experimental Group	Control Group	Experimental Group	Control Group	Experimental Group
	5 days after neonatal capsaicin treatment	24.3 ± 7.4	25.9 ± 5.4	25.0 ± 7.2	25.2 ± 6.0	27.3 ± 6.1	27.5 ± 8.2
	20 days after neonatal capsaicin treatment	40.6 ± 8.1	42.6 ± 11.1	51.9 ± 15.4	43.7 ± 12.8	45.2 ± 12.6	38.3 ± 10.2
	30 days after neonatal capsaicin treatment	44.5 ± 10.9	26.3* ± 6.5	30.1 ± 8.8	25.3 ± 8.9	34.7 ± 10.2	26.3* ± 9.9
	10 weeks after neonatal capsaicin treatment	26.3 ± 8.2	24.8 ± 7.3	31.4 ± 10.3	20.4* ± 7.9	34.3 ± 12.7	21.1* ± 5.5
	1 week after adult capsaicin treatment	26.3 ± 8.2	20.1 ± 4.4	31.4 ± 10.3	25.4 ± 7.2	34.3 ± 12.7	25.0* ± 6.6

Mean S.D., * $p < 0.01$

가 유난히 큰 세포들도 많이 관찰되었다. 따라서 전반적인 평균 세포체의 크기에는 큰 변화가 없었다 (Fig. 3a). 공장에서도 큰 변화가 없었던 반면 (Fig. 3b), 회장에서는 세포체의

면적이 전반적으로 감소하다가 주사 후 10주가 경과한 후에는 유의있게 감소하였는데, 주로 크기가 큰 세포들의 감소가 두드러졌다 (Fig. 3c).

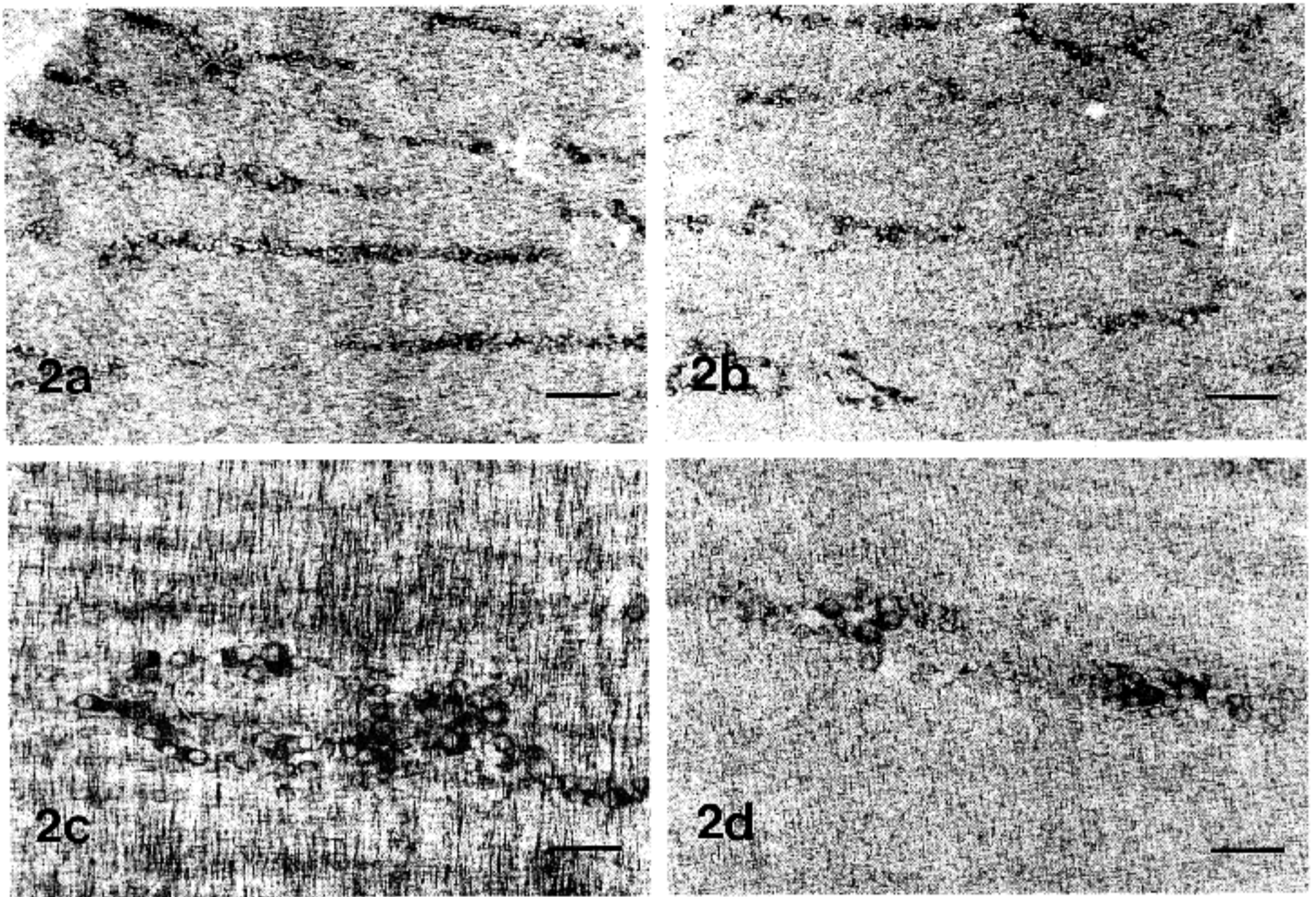


Fig. 2. The myenteric plexus of rat small intestine by NADH-TR reaction after neonatal capsaicin treatment. a. Duodenum of control 5 day group, bar = 1 μ m, b. Duodenum of experimental 5 day group, bar = 1 μ m, c. Ileum of control 20 day group, bar = 25 μ m, d. Ileum of experimental 20 day group, bar = 25 μ m.

Table 3. Average cross-sectional area of enteric neurons in myenteric plexus of the rat (μ m²).

Group	Portion	Duodenum		Jejunum		Ileum	
		Control Group	Experimental Group	Control Group	Experimental Group	Control Group	Experimental Group
5 days after neonatal capsaicin treatment		123.9 ±49.2	116.3 ±52.9	101.5 ±43.7	102.9 ±40.6	106.5 ±39.5	94.3* ±27.4
10 days after neonatal capsaicin treatment		136.5 ±49.7	117.9 ±49.2	129.7 ±48.2	119.5 ±50.6	115.6 ±41.3	106.2 ±31.9
20 days after neonatal capsaicin treatment		182.5 ±95.3	157.8 ±75.4	170.7 ±91.1	165.7 ±68.5	172.8 ±78.6	143.5 ±81.5
30 days after neonatal capsaicin treatment		240.5 ±131.9	208.7 ±123.3	231.1 ±128.9	212.7 ±113.9	186.4 ±92.7	190.0 ±80.2
10 weeks after neonatal capsaicin treatment		229.5 ±122.1	230.5 ±138.1	234.1 ±151.7	208.6 ±118.8	256.1 ±138.2	213.2* ±151.0
1 week after adult capsaicin treatment		229.5 ±122.1	208.1 ±90.5	234.1 ±151.7	208.3 ±81.2	256.1 ±138.2	210.1* ±94.8

Mean S.D., * p < 0.01

2. 성숙흰쥐에 capsaicin 투여 후 나타나는 변화

성숙흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 1주일 이 경과한 후에 흰쥐를 희생하여 장분리표본을 제작하였고, 이를 NADH-TR 염색한 표본에서 장신경세포의 수와 세포체의 면적을 비교하여 신생흰쥐에 투여하였을 때의 결과와 비교하였다. 근육층 신경얼기 세포의 수를 시야당 $5487 \mu\text{m}^2$ 의 단위 면적으로 20~30 시야에서 계수한 결과, 역시 소장의 전부위에서 세포수가 감소하였으며, 특히 공장과 회장 부위에서는 통계학적으로 유의있게 감소하였다(표 1). 또한 성숙흰쥐에 capsaicin을 주사한 경우, 하나의 신경절 내에 존재하는 신경세포의 수가 소장의 전부위에서 통계적으로 유의있게 감소하였다(표 2).

장신경세포의 세포체의 면적을 계측한 결과에서도 capsaicin 투여로 인해 세포체의 크기가 작아진 것을 알 수 있었으며, 회장 부위에서 이와 같은 감소가 뚜렷하였다(표 3).

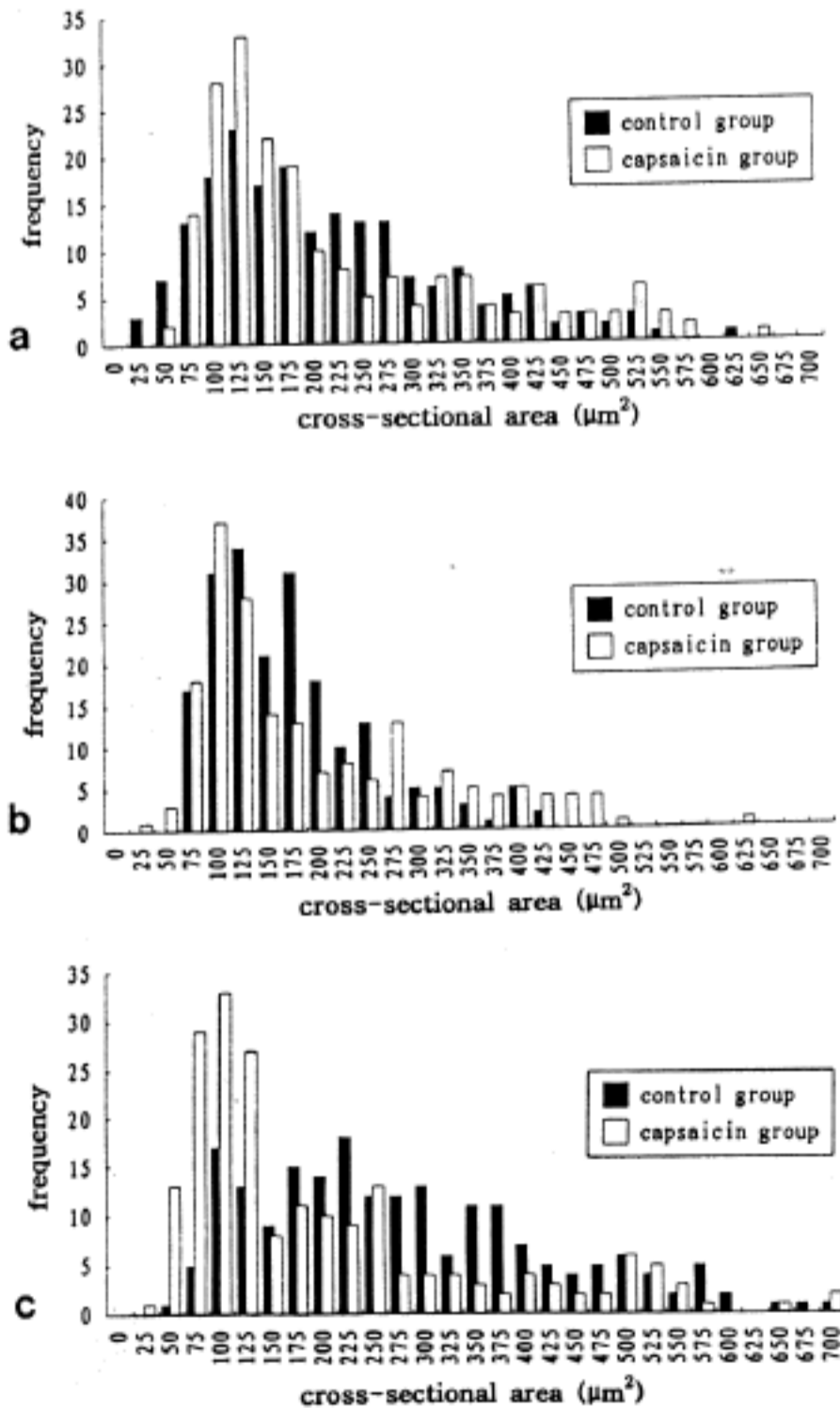


Fig. 3. Histogram of cross-sectional area-distribution of enteric neurons at 10 weeks after neonatal capsaicin treatment. a. Duodenum, b. Jejunum, c. Ileum

3. Capsaicin이 근육층신경얼기에 미치는 영향-전자현미경 소견

Capsaicin을 투여한 후 5일이 경과한 군에서는 장신경세포의 전체적인 모양이나 핵의 모양이 대조군에 비해 별다른 변화를 보이지 않았으며, 세포소기관의 변화도 관찰되지 않았다(Fig. 4a,b). Capsaicin 투여 10일군에서는 세포소기관의 변화로 치밀소체가 출현하기 시작하였으나, 그 정도가 심하지 않았다(Fig. 5a,b). 그러나 capsaicin 투여 20일 군에서는 핵의 변화가 나타나기 시작하여 핵파쇄(karyorrhexis) 현상을 보이기 시작하였으며, 세포 자체의 경계도 불규칙하게 변화하였다. 세포소기관의 변화는 심해져 치밀소체(dense bodies)가 매우 증가하였으며, 사립체 파괴로 인한 공포들도 많이 관찰되었다. Capsaicin 투여 30일군에서 가장 심한 핵의 변화를 나타내어 핵의 크기가 매우 작아져 소실되기 직전의 상태로 관찰되었다. Capsaicin 투여 10주군의 경우 소실되지 않고 남아있는 장신경세포에서는 전자밀도가 높은 치밀소체의 증가와 팽대된 사립체가 나타났으나 나머지 세포소기관들은 정상으로 나타나 심한 파괴현상을 보이지는 않았다. 반면에 함께 근처를 주행하는 말초축삭의 경우, 심한 팽대현상을 나타내어 미세관(microtubule)을 거의 관찰할 수 없었고, 세포소기관의 대부분이 파괴되어 세포질 내에 뚜렷한 세포소기관을 관찰할 수 없었다(Fig. 6a,b). 성숙흰쥐에 capsaicin을 투여한 경우에는 신생흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 10주일 이 경과한 군과 거의 같은 형태학적인 변화를 나타내었다(Fig. 7a,b).

고 찰

Capsaicin은 붉은 고추에서 추출한 매운 맛을 내는 성분으로, 화학적 통증을 수반하는 자극물질로 알려져 있으나, 이들 물질이 일차 감각신경세포 및 섬유만을 선택적으로 파괴시켜 통증을 억제시키는 효과가 있는 것으로 알려져 capsaicin에 대한 연구가 계속되어 왔다(Coleridge와 Coleridge, 1977; Jancso, 1977; Napanitaya, 1973; Virus와 Gebhart, 1979; Longhurst 등, 1980).

본 실험에서는 capsaicin이 장신경계통 내의 장신경세포에 어떠한 영향을 주는지 조사하기 위하여 신생흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 시기에 따라 흰쥐를 희생하여 장분리표본을 제작하였고, 장신경계통의 세포수와 세포체 면적의 변화 및 미세구조의 변화를 관찰하였다. 세포 수의 변화를 보기 위하여 NADH-TR 염색한 표본에서 단위면적($5487 \mu\text{m}^2$)당 근육층 신경얼기 세포의 수와 신경절 당 장신경세포 수의 변화를 조사하였다. 단위 면적에서의 세포 수의 변화를 살펴 본 결과, capsaicin 주사 후 5일째부터 영향을 받아 대조군에 비해 세포수가 감소하였으나 감소폭에 있어서 큰 의의가 없었고, 주사 후 10주가 경과한 후 감소가 두드러졌다. 신경절 하나당

세포 수의 변화는 capsaicin 주사 후 5일, 10일까지는 하나의 신경절을 이루는 신경세포의 수가 대조군에서보다 오히려 그 수가 약간 증가하였으나, 주사 후 20일이 경과한 후부터는 실험군의 세포수가 약간씩 감소하여 주사 후 30일이 경과한 후에는 실험군의 세포수가 통계학적으로 유의있게 감소하였다. 이러한 경향은 회장 부위에서 두드러지게 나타났다. Capsaicin 주사로 인해 세포 수가 감소한 것으로 보아 capsaicin은 장신경세포를 파괴시키며, 파괴된 세포들은 10주가 경과한 후에도 회복되지 않은 것을 알 수 있었다. 본 실험에서 주사한 capsaicin의 농도는 50 mg/kg로 이 농도는 일반적으로 감각신경세포 및 섬유만을 선택적으로 파괴시키고 중추신경계통이나 다른 구조에는 영향을 주지 않는다고 알려져 있는 농도이다 (Szolcsanyi 등, 1975; Jessell 등, 1978; Gamse 등, 1981; Jancso 등, 1985; Jancso와 Maggi, 1987). 따라서 용량이 과다하기 때문에 이러한 결과가 나타난 것은 아니라고 생각된다.

또한 신경절 하나당 신경세포의 수가 출생 초기인 5일과 10일에 오히려 약간 증가한 이유는, 일반적으로 중추신경계통의 신경세포의 수는 출생무렵 급격히 증가하였다가 출생후 성장과정에서 급격히 감소하기 때문 (Altman과 Das, 1966; Gabella, 1971, 1972)에 초기에 capsaicin으로 인해 세포수가 감소하였으나 자연발생적으로 증가하는 세포수에 미치지 못하여 오히려 약간 증가한 것으로 생각할 수 있다.

Capsaicin이 신경세포의 수 뿐만 아니라, 세포체의 면적에 어떠한 영향을 주는지 조사해 본 결과, capsaicin 투여 후 크기가 작은 장신경세포의 수가 현격하게 증가되었으나 평균 세포체의 면적에는 큰 변화가 없었다. 이는 일부 크기가 매우 큰 세포들이 관찰되어 전체 평균 면적에는 큰 변화가 없게 나타난 것으로 생각된다. 다만 capsaicin을 투여한 후 10주가 경과한 실험군의 회장부위에서는 세포체 면적의 감소가 두드러졌는데 세포의 분포를 살펴보면 대조군에 비해 전 범위의 세포가 전반적으로 감소하였으나 크기가 큰 세포의 파괴가 더욱 두드러져 전체 평균 세포체의 면적이 감소한 것으로 생각되었다. 이와 같이 장신경 세포의 수를 감소시키고, 세포체의 면적을 감소시키는 등의 capsaicin의 효과가 회장 부위에서 특히 두드러지게 나타났다. 이것은 일반적으로 소장의 전 부위를 거쳐 여러가지 물질들이 흡수되게 되는데, capsaicin의 효과가 회장에서 뚜렷하게 나타나는 것으로 보아 아마도 capsaicin의 흡수가 주로 회장에서 이루어지는 것이 아닐까 생각되나 이에 대한 보고는 전혀 없으며, 따라서 앞으로 더욱 연구되어야 할 과제라 생각된다.

성숙흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 1주일이 경과한 후 장 분리표본을 제작하여 이를 NADH-TR 염색한 표본에서 장신경세포의 수와 세포체의 면적을 신생흰쥐에 투여하였을 때의 결과와 비교하였다. 단위 면적이나 하나의 신경절 내에 존재하는 신경세포의 수가 소장의 전부위에서 감소하였으며, 이

와 같은 경향은 역시 회장부위에서 특히 두드러지게 나타났다. 장신경세포체의 면적을 측정한 결과에서도 capsaicin 투여로 인해 세포체의 크기가 작아진 것을 알 수 있었으며, 이 결과 역시 회장 부위에서 가장 뚜렷한 감소를 나타내었다. 이와 같은 결과는 Hoyes와 Barber (1981)이 성숙동물에 capsaicin을 투여 후, 요관이나 십이지장에서 광범위한 축삭과 축삭종말의 파괴를 관찰한 결과와 일치하는 것으로, 본 실험에서는 이를 소장의 부위에 따라 더 자세하게 관찰하였다.

Capsaicin을 투여한 후 미세구조의 변화도 관찰하였다. Capsaicin 투여 후 5일이 경과한 군에서는 장신경세포의 전체적인 모양이나 핵의 모양에 별다른 변화를 보이지 않았고 세포소기관도 큰 변화가 없었으나, capsaicin 투여 10일군에서부터 세포소기관의 변화로 치밀소체 (dense bodies)가 출현하기 시작하였고, 이와 같은 변화는 투여후 10주가 경과한 후에도 계속 관찰되었다.

Hoyes와 Barber (1981)는 capsaicin 처리 후 장에서 미세구조의 변화를 살펴본 결과 중심부의 전자밀도가 높은 연접세포를 함유한 축삭종말이 대량으로 파괴되는 것을 관찰하였으나 신경세포에는 거의 영향이 없거나 약간만이 파괴된다고 하였다. 본 실험에서도 소실되지 않고 남아있는 장신경세포의 경우 진한 치밀소체의 증가와 팽대된 사립체가 관찰되었으나, 그 정도가 심하지 않았다. 반면에 함께 근처를 주행하는 말초축삭의 경우에는 심한 팽대현상을 나타내어 미세관 (microtubule)을 거의 관찰할 수 없었고, 세포소기관의 대부분이 파괴되어 텅 빈 양상을 보였다.

본 실험의 결과들로부터 capsaicin은 장신경절 세포의 수와 크기를 감소시키고, 전자현미경 소견에서도 capsaicin 투여후 세포의 퇴화 현상이 뚜렷하게 나타났다. 따라서 capsaicin이 장신경계통에 형태적인 변화를 초래하지 않는다는 종래의 개념과는 달리 심한 퇴행성 변화를 초래하는 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

- 김봉옥 : 성숙 흰쥐에 투여한 capsaicin이 신경조직에 미치는 영향(학위논문), 연세대학교 대학원, 1993.
- 오중환 : 흰쥐 흉수 Lissauer 신경로의 substance P 및 calcitonin gene-related peptide (CGRP) 함유 신경섬유에 대한 면역세포화학적 연구 (학위논문), 연세대학교 대학원, 1994.
- 조기홍 : 성숙 흰쥐에 capsaicin 투여가 척수 뒤뿌리의 Lissauer 신경로에 미치는 영향에 관한 형태 정량적 연구 (학위논문), 연세대학교 대학원, 1994.
- Altman J, Das GD: Autoradiographic histological studies of postnatal neurogenesis: A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate rats with special referance to postnatal neurogenesis in

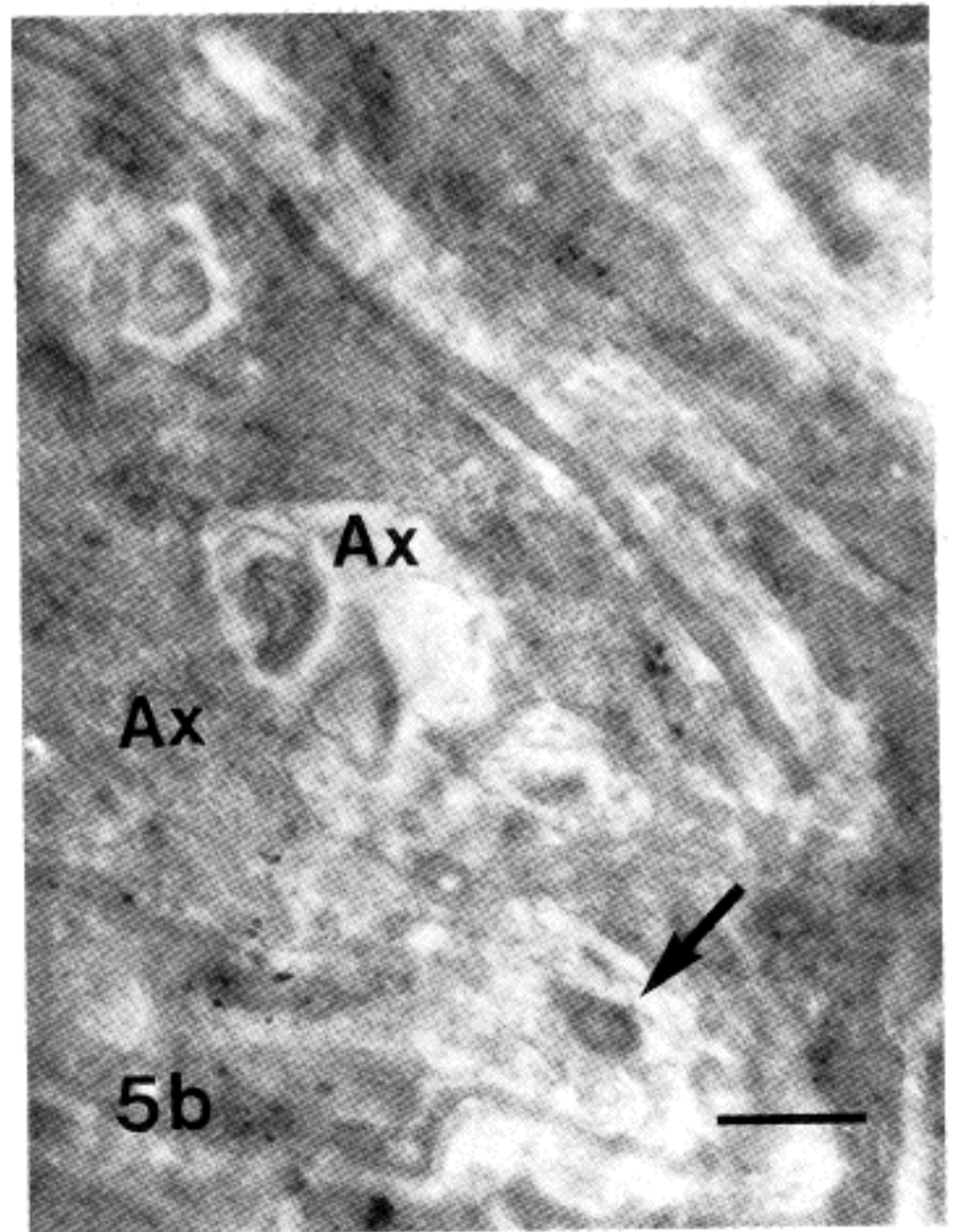
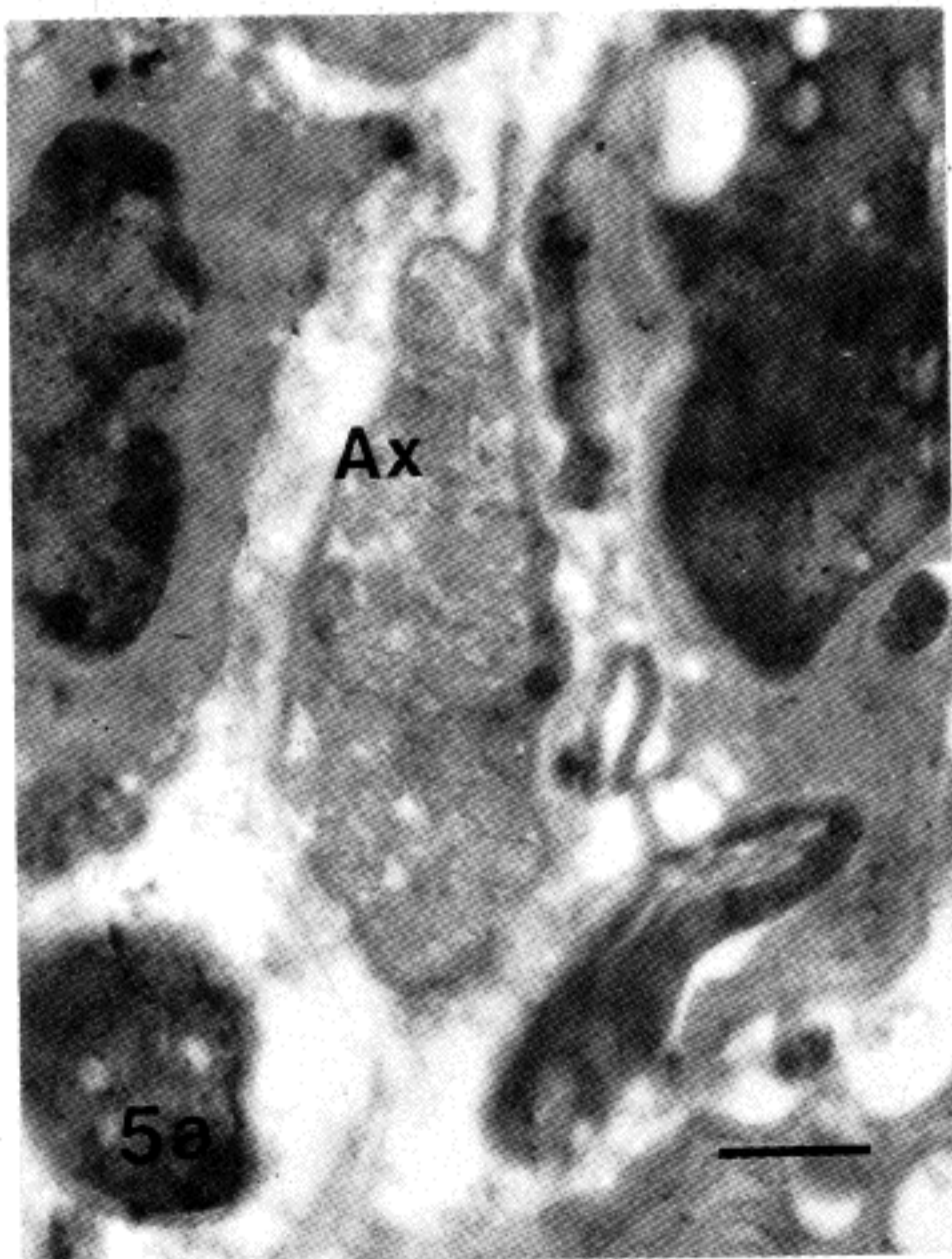
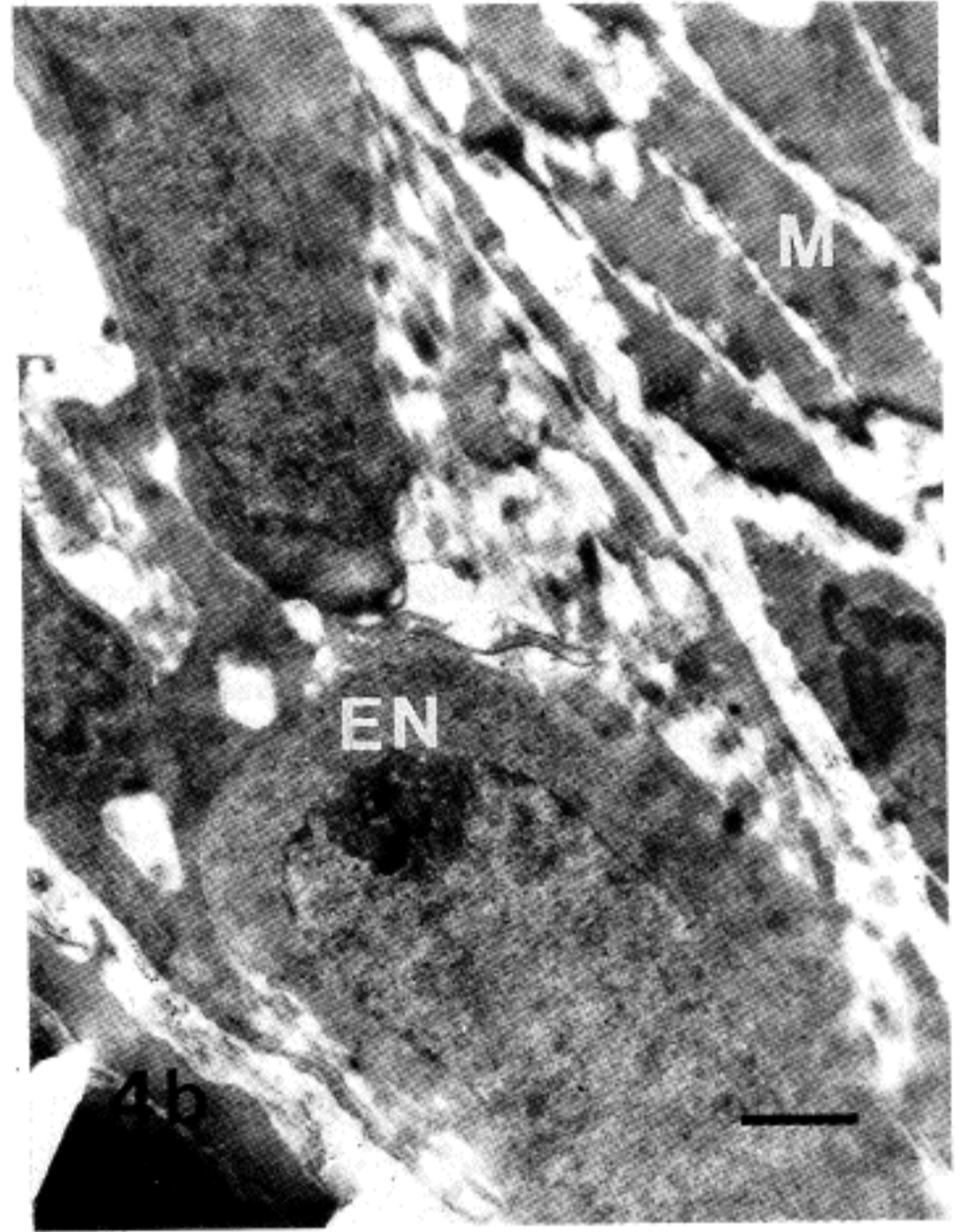
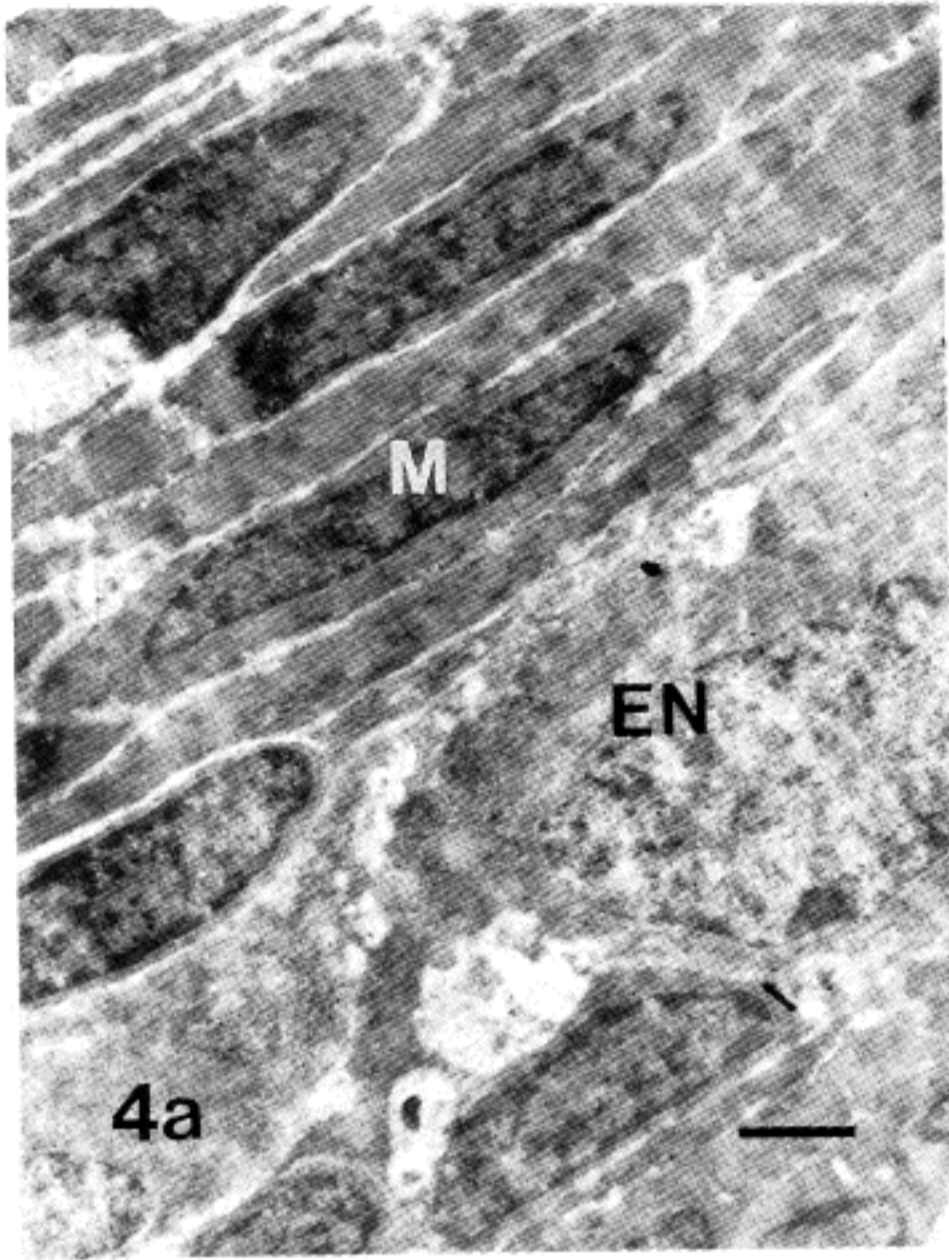
- some brain region. *J Comp Neurol* 126: 337-390, 1966.
- Baumgarten HG, Holstein AF, Owman C : Auerbach's plexus of mammals and man: Electron microscopic identification of three different types of neuronal processes in myenteric ganglia of the large intestine from rhesus monkeys, guinea-pig and man. *Z Zellforsch Mikros Anat* 106: 376-397, 1970.
- Chung KS, Schwen RJ, Coggeshall RE : Ureteral axon damage following subcutaneous administration of capsaicin in adult rats. *Neurosci Lett* 53: 221-226, 1985.
- Coleridge JC, Coleridge HM : Afferent C-fibers and cardiorespiratory chemoreflexes. *Am Rev Respir Dis* 115: 251-256, 1977.
- Costa M, Furness JB : Neuronal peptide in the intestine. *Br Med Bull* 38: 247-252, 1982.
- Costa M, Furness JB, Pullin CO, Borstein J : Substance P enteric neurons mediate non-cholinergic transmission to the circular muscle of the guinea-pig intestine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 328: 446-453, 1985.
- Crozier AC, Hill RG, Salt TE : The effect of capsaicin pretreatment on substance P levels and sensory responses of neurons in the trigeminal nucleus caudalis. *J Physiol (London)* 324: 78P, 1982.
- Gabella G : Detection of nerve cells by a histochemical technique. *Experientia* 25: 218-220, 1969.
- Gabella G : Neuron size and number in the myenteric plexus of the newborn and adult rat. *J Anat* 109: 91-95, 1971.
- Gabella G : Fine structure of the myenteric plexus of the guinea-pig ileum. *J Anat (London)* 111: 69-97, 1972.
- Girgis SI, MacDonald DWR, Stevenson JC et al. : Calcitonin gene-related peptide: potent vasodilator and major product of calcitonin gene. *Lancet* 2: 14-17, 1985.
- Gamse R, Leeman SE, Holzer P, Lembeck F : Differential effects of capsaicin on the content of somatostatin, substance P and neurotensin in the nervous system of the rat. *Arch Pharmacol (Weinheim)* 317: 140-148, 1981.
- Hayes AG, Tyers MB : Effects of capsaicin on nociceptive heat, pressure and chemical thresholds and substance P levels in the rat. *Brain Res* 189: 561-564, 1980.
- Henry JL : Effects of substance P on functionally identified units in cat spinal cord. *Brain Res* 114: 439-451, 1976.
- Holzer P, Livingston EH, Guth PH : Sensory neurons signal for an increase in the rat gastric mucosal blood flow in the face of pending acid injury. *Gastroenterology* 101: 416-423, 1991.
- Hoyes AD, Barber P : Degeneration of axons in the ureteric and duodenal nerve plexuses of the adult rat following in vivo treatment with capsaicin. *Neurosci Lett* 25: 19-24, 1981.
- Jancso G, Kiraly E : Sensory neurotoxins: chemically induced selective destruction of primary sensory neurons. *Brain Res* 210: 83-89, 1981.
- Jancso G, Kiraly E, Jancso-Gabor A : Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurons. *Nature (London)* 270: 741-743, 1977.
- Jancso G, Kiraly E, Joo F, Such G, Nagi A : Selective degeneration by capsaicin of a subpopulation of primary sensory neurons in the adult rat. *Neurosci Lett* 59: 209-214, 1985.
- Jancso G, Maggi CA : Distribution capsaicin-sensitive urinary bladder afferents in the rat spinal cord. *Brain Res* 418: 371-376, 1987.
- Jessell TM, Iversen LL, Cuello AC : Capsaicin induced depletion of substance P from primary sensory neurones. *Brain Res* 152: 183-187, 1978.
- Karczmar AG, Koketsu K, Nishi S : *Autonomic and enteric ganglia: transmission and its pharmacology*, New York, Plenum Press, London, pp. 39-50, 1986.
- Kuntz A, Napolitano LM : Autonomic neuroeffector formation. *J Comp Neurol* 104: 17-31, 1956.
- Larsson L-I, Fahrenkrug J, Schaffalitzky de Muckadell OB, Sundler F, Hakanson R, Rehfeld JF : Localization of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) to central and peripheral neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 73: 3197-3200, 1976.
- Longhurst JC, Achton JH, Iwamoto CH : Cardiovascular reflexes resulting from capsaicin stimulated gastric receptors in anesthetized dogs. *Circ Res* 46: 780-785, 1980.
- Nagy JI, Vincent SR, Staines WMA, Fibiger HC, Reisine TD, Yamamura HI : Neurotoxic action of capsaicin on spinal substance P neurons. *Brain Res* 186: 435-444, 1980.
- Napanitaya W : Long-term effects of capsaicin on fat absorption and the growth of the rat. *Growth* 37: 269-275, 1973.
- Panerai AE, Martini A, Locatelli V, Mantegazza P : Capsaicin decreases β -endorphin hypothalamic concentrations in the rat. *Pharmacol Res Comm* 15: 825-832, 1983.
- Pearse AG, Polak JM : Immunocytochemical localizations of substance P in mammalian intestine. *Histochemistry* 41: 373-375, 1975.
- Raybould HE, Holzer HH : Duodenal-acid-induced inhibition of gastric motility and emptying in rats. *Am Physiol Sci: G540-G546*, 1993.
- Ritter S, Dinh TT : Capsaicin induced neuronal degeneration: Silver impregnation of cell bodies, axons, and terminals in the central nervous system. *J Comp Neurol* 271: 79-90, 1988.
- Ritter S, Dinh TT : Capsaicin induced neuronal degeneration in the brain and retina of preweaning rats. *J Comp Neurol* 296: 447-491, 1990.
- Said SI, Mutt V : Isolation from porcine intestinal wall of a vasoactive octacosapeptide related to secretin and to glucagon. *Eur J Biochem* 28: 199-204, 1972.
- Scadding W : The permanent anatomical effects of neonatal capsaicin on somatosensory nerves. *J Anat* 131: 473-484, 1980.
- Szolcsanyi J, Jancso-Gabor A, Joo F : Functional and fine structural characteristics of the sensory neuron blocking effect of capsaicin. *Arch Pharmacol (Weinheim)* 287: 157-169, 1975.
- Takaki M, Namba T, Fujii W, Suga H : Adenosine inhibits efferent function of extrinsic capsaicin-sensitive sensory nerves in the enteric nervous system. *Eur J Pharma* 237: 51-59, 1993.
- Virus RR, Gebhart CF : Pharmacologic actions of capsaicin: apparent involvements of substance P and serotonin. *Life Sci* 25: 1273-

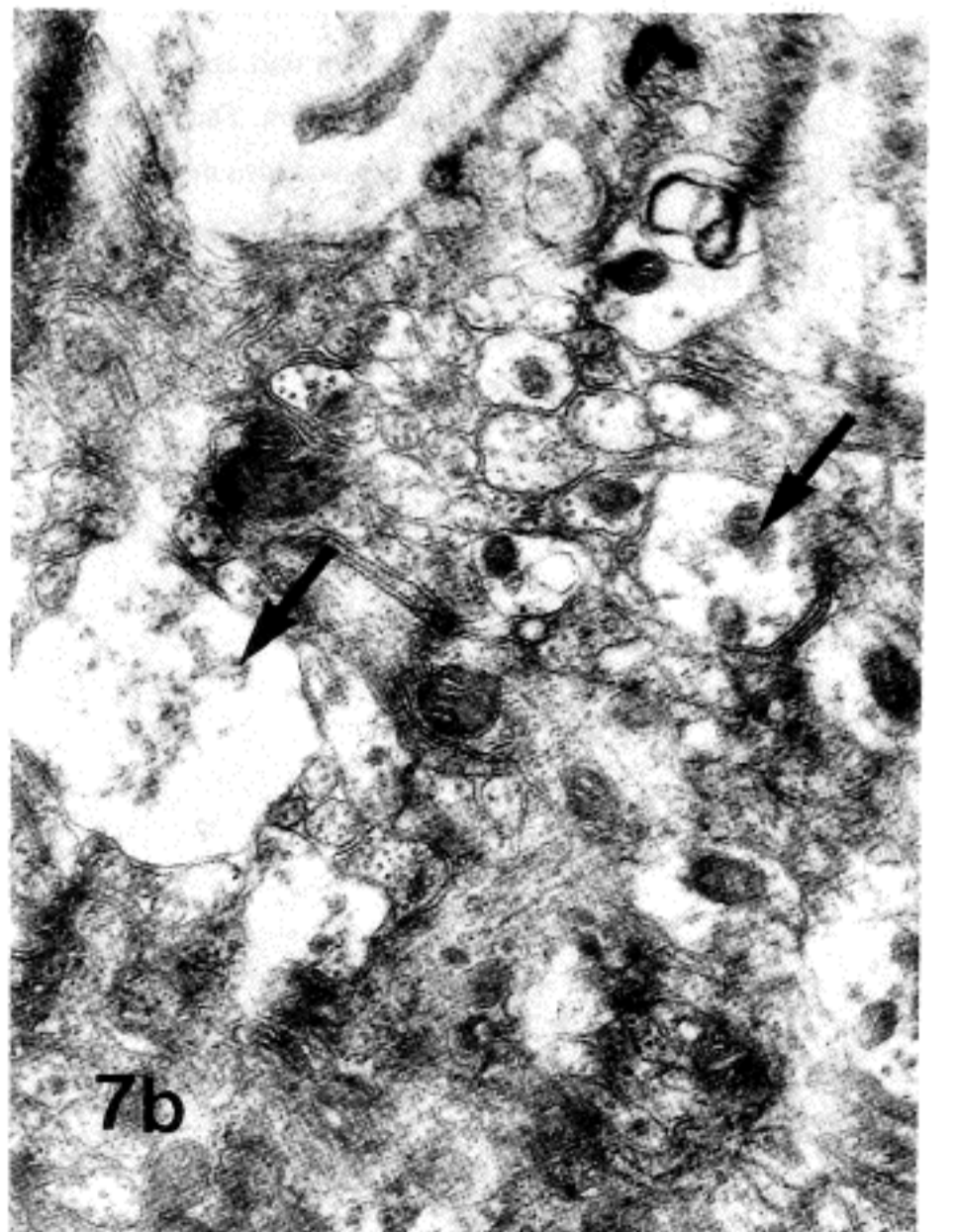
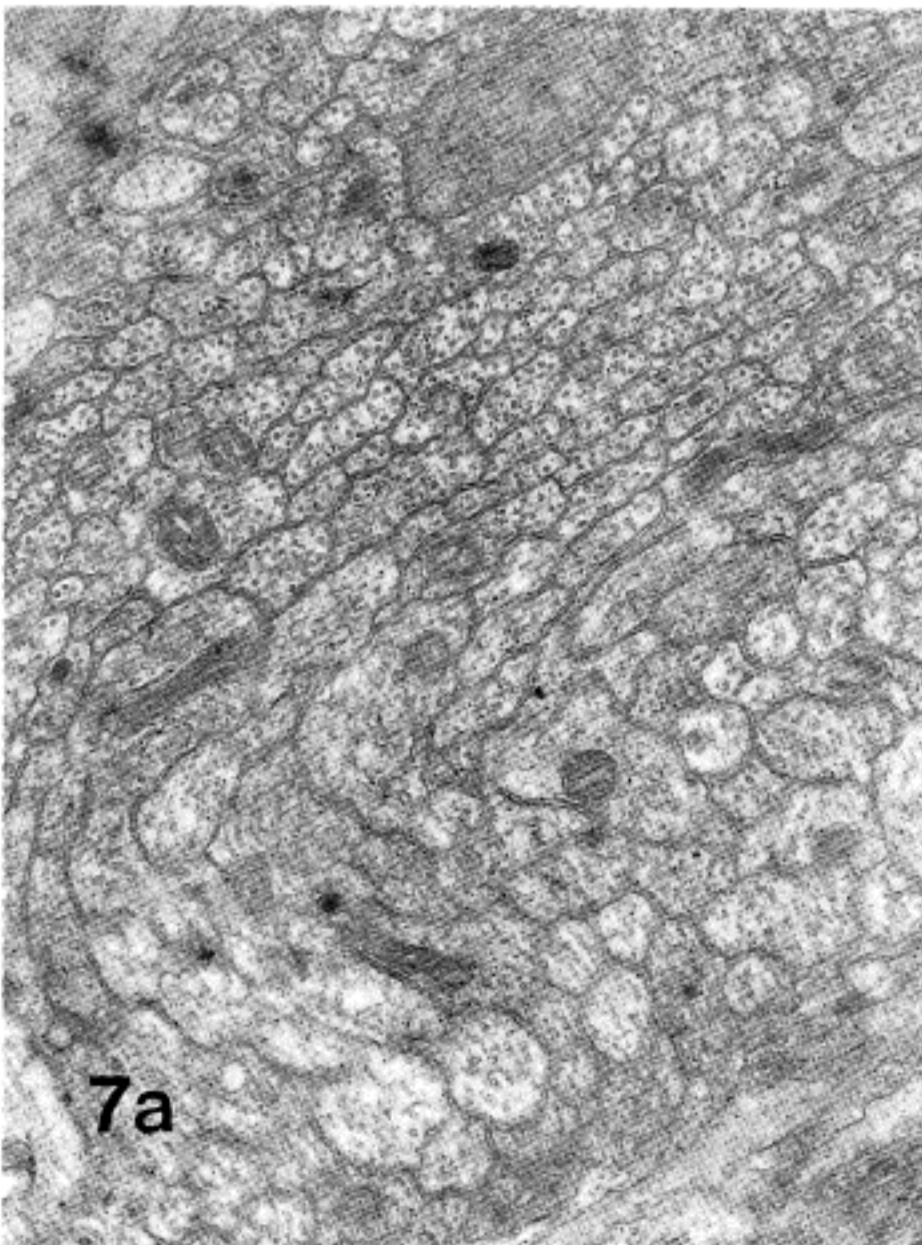
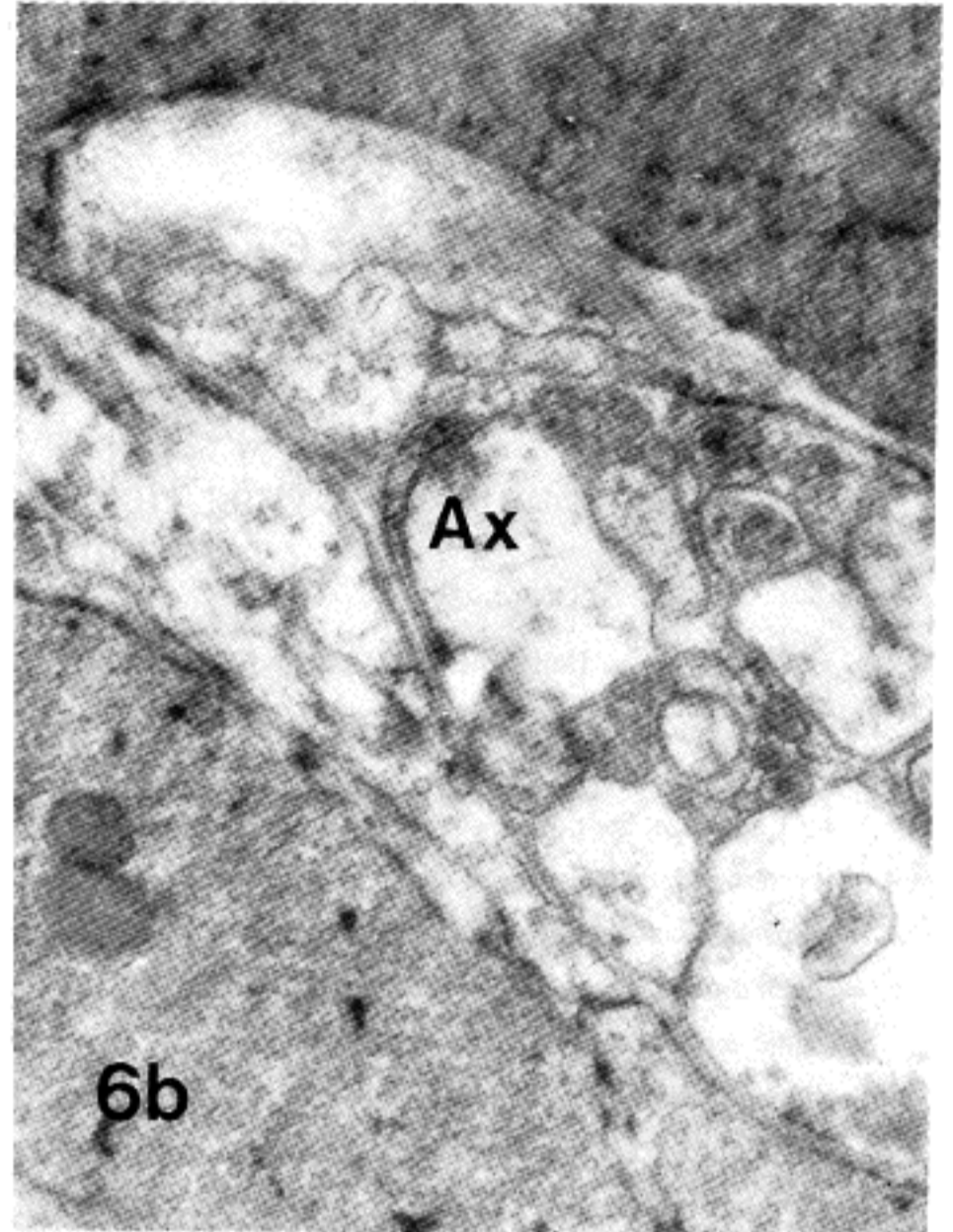
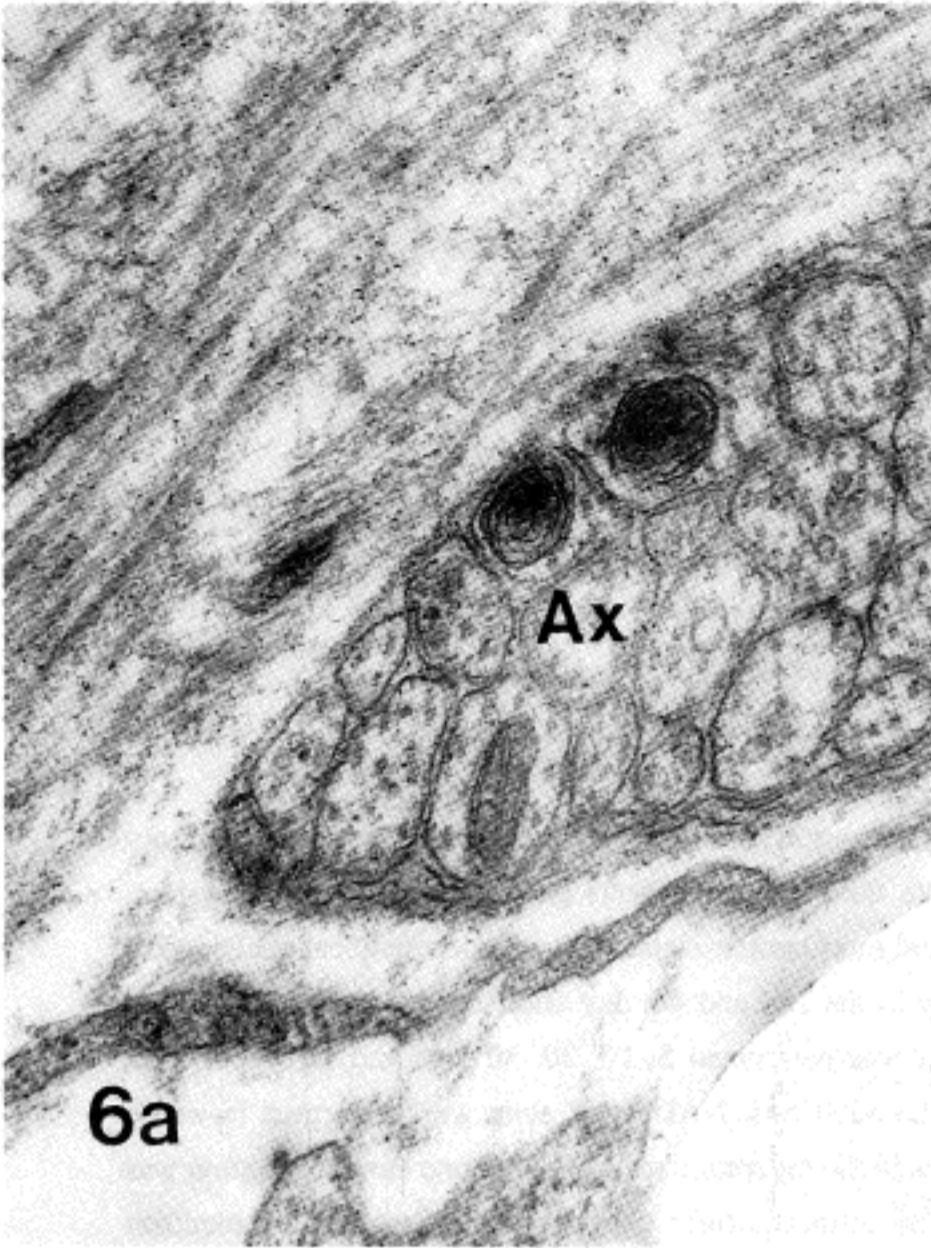
1278, 1979.
Zittel TT, Reddy SN, Plourde V, Raybould HE : Role of spinal

afferent and calcitonin gene-related peptide in the postoperative gastric ileus in anesthetized rats. *Ann Surg* 219: 79-87, 1994.

Legends for Figures

- Fig. 4.** Electron micrograph of the rat myenteric plexus in 5 days after neonatal capsaicin treatment. bar = 4 μ m
a. Control group, smooth muscle (M) and enteric neuron (EN) in myenteric plexus of ileum, b. Capsaicin group, no morphological changes are observed in enteric neurons, but they are shown in smooth muscle.
- Fig. 5.** Electron micrograph of the rat myenteric plexus in 10 days after neonatal capsaicin treatment. Ax; axon, bar = 1 μ m
a. Control group, bundle of nerve fibers are observed between smooth muscles. b. 10 day group after neonatal capsaicin treatment, dense bodies (arrow) were found.
- Fig. 6.** Electron micrograph of the rat myenteric plexus in 10 weeks after neonatal capsaicin treatment. bar = 0.5 μ m
a. Control group, bundle of unmyelinated axons (Ax) are observed between smooth muscles. b. 10 week group after neonatal capsaicin treatment, axons (Ax) are swollen and microtubules and cell organelles are disappeared.
- Fig. 7.** Electron micrograph of the rat myenteric plexus in 1 week after adult capsaicin treatment. bar = 1 μ m
a. Control group, b. 1 week after adult capsaicin treatment, many swollen axons (arrow) are observed. Irregular arrangement of microtubules are noted.





— Abstract —

The Effects of Capsaicin on the Enteric Nerve Cells of the Rat Small Intestine

Jong Eun Lee, Kyung Hee Kim*, Won Taek Lee, Ho Yoon, Kyung Ah Park

Department of Anatomy, Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea

Department of Pediatrics, Chunchon Medical Center, Chunchon, Korea*

Capsaicin, the pungent algesic substance of red pepper, has various effects on the cardiovascular system, respiratory system, digestive system and nervous system. To investigate the capsaicin effects on the enteric nervous system, capsaicin was administered to the neonatal and the adult rats and morphometric and electron microscopical studies have been done. Capsaicin (50 mg/kg) was injected subcutaneously in the 2nd and 4th day after birth and to the adult rats, same amount was injected once subcutaneously. Experiment was performed 5, 10, 20, 30 days and 10 weeks after injection in the neonatal rats and 1 week after injection in the adult rats. NADH-TR stain was performed in whole mount preparation of small intestine and the number of neurons in the myenteric plexus and in one enteric ganglion was counted and size of the enteric neurons was measured. The ultrastructural changes were observed by electron microscopy. The results obtained were as follows:

The number of enteric neurons in unit area ($5487 \mu\text{m}^2$) decreased significantly in the experimental group and this phenomenon was prominent in the ileum. The number of enteric neurons per one ganglion decreased also significantly in the experimental group and this was also most prominent in the ileum. The cell area of the enteric neurons increased as the animals grow and increment was most prominent in 20 days after birth. Size decrement was observed generally in the experimental group. In electron-microscopical finding, cell organelles changes were observed from experimental 10 day group and cell degeneration was prominent in 20 day group and these were continued to 10 week group.

Key words : Capsaicin, Enteric Neurons, Morphometry, Electron Microscopical Finding