

흰쥐 소장 근육층신경얼기의 신경전달물질에 미치는 Capsaicin의 영향

이 종 은, 이 원 택, 윤 호, 박 경 아

연세대학교 의과대학 해부학교실

〈 조 록 〉

Capsaicin은 붉은 고추에서 매운 맛을 내는 성분으로 capsaicin을 투여하면 심장혈관계통, 호흡기계통, 소화기계통, 신경계통 등에 다양한 변화를 일으킨다. 이러한 capsaicin이 장신경계통 내의 신경전달물질들에 어떠한 영향을 주는지 조사하기 위해 신생흰쥐와 성숙흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P, somatostatin, vasoactive intestinal polypeptide (VIP)와 met-enkephalin (met-ENK)에 대한 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하여 각 신경전달물질에 대한 면역반응성을 비교하고, 근육층신경얼기 (myenteric plexus)의 배열을 관찰 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다. Capsaicin을 투여한 실험군의 면역조직화학 염색 결과, CGRP, substance P, somatostatin에 대하여는 면역반응성이 유의있게 감소하는 현상을 관찰할 수 있었던 반면, VIP나 met-enkephalin에 대하여는 전반적으로 면역활성도의 변화를 관찰할 수 없었다.

이와 같은 결과들을 종합하면 capsaicin은 CGRP, substance P, somatostatin과 같이 장의 기능조절에 관여하는 신경전달물질의 면역 활성도를 감소시킨 반면 VIP나 met-enkephalin의 면역활성도에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 생각되었다.

찾아보기 낱말 : Capsaicin, 흰쥐 소장, 근육층신경얼기, 신경전달물질

서 론

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 장 (intestine)의 각 부위에 따라 다양한 것으로 알려져 있다 (Schultzberg 등, 1978; 1980; Costa와 Furness, 1982). Calcitonin gene-related peptide (CGRP)는 calcitonin과 같은 유전자 부위에서 생성되는 신경펩타이드로, 이를 함유한 신경종말은 여러 말초신경에 분포하고, 척수의 뒤뿌리에 주로 분포하는 것으로 알려져 있다 (Brain 등, 1985). CGRP는 장에서는 장의 운동을 억제하는 효과가 있다고 알려져 있고 (Zittel 등, 1994), 흰쥐와 개에서는 위산의 분비를 억제하는 효과를 나타내는 등 여러가지 생리학적 작용에 관여한다. CGRP는 cAMP에 결합되어 있는 수용기를 통해 평

활근 세포에 직접 작용하므로써 장의 운동과 공복상태를 억제하는 것으로 생각되고 있다 (Tache 등, 1991).

Substance P (SP) 역시 뇌와 장에서 추출되어 알려진 물질로 (von Euler와 Gaddum, 1931), 장신경계의 substance P 신경세포는 흥분성 신경세포로 작용하며 주로 돌립근육층에 작용하여 근육을 수축시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있다 (Pearse와 Polak, 1975; Holzer와 Lembeck, 1979; Costa 등, 1981; 1985).

Vasoactive intestinal polypeptide (VIP)는 포유동물의 장에서 추출한 물질로 (Said와 Mutt, 1972), 소화관의 점막과 중추신경계 내에서도 발견되었다 (Larsson 등, 1976; Fahrenkrug, 1979).

장에서 VIP는 평활근을 이완시키고, 위산의 분비를 억제하며, 장 분비 및 인슐린과 글루카곤의 분비를 촉진시키는 것으로 알려져 있다 (Furness와 Costa, 1980; Mutt, 1983).

Somatostatin이나, met-enkephalin 등도 역시 장과 중추신경계통에서 발견되는 신경전달물질로 이들이 어떠한 기능을 하며, 서로 어떠한 상호작용을 하는 지에 대하여는 확실하게 밝혀져 있지 않으나 (Hökfelt 등, 1975; Pearse와 Polak, 1975; Costa 등, 1980), somatostatin의 경우에는 주로 장의 운동과

* 이 논문은 1995년 연세대학교 의과대학 과별 project 연구비에 의하여 연구되었음.

음식물의 흡수 등에 관여하는 것으로 보고되고 있다 (Costa 등, 1980).

Capsaicin은 붉은 고추에서 추출한 매운 맛을 내는 성분으로 화학적 통증을 수반하는 자극물질로 알려져 있다. 이들 물질은 일차 감각신경세포 및 섬유만을 선택적으로 파괴시켜 통증을 억제시키는 효과가 있는 것으로 보고되어 있으며, Capsaicin의 반응효과는 투여되는 양이나 동물의 발달 정도에 따라 다양하게 나타나는 것으로 알려져 있다 (Virus와 Gebhart, 1979). Capsaicin을 신생동물에 투여하였을 경우에는 신경독성물질 (neurotoxin)로 작용하여 상당 수의 무수초신경섬유 (unmyelinated nerve fiber)를 파괴시키는 것으로 보고되고 있으며 (Jancso 등, 1977; Nagy 등, 1980; Scadding, 1980), 최근에 와서는 capsaicin을 성숙동물에 투여한 경우 자율신경계를 포함한 말초신경계에 뚜렷한 형태학적인 변화를 일으킨다는 실험적인 증거들이 보고되고 있다 (Panerai 등, 1983; Chung 등, 1985). Capsaicin에 대한 연구 범위는 무척 넓어져, 각 장기들에서의 substance P의 감소 (Jancso와 Jancso-Gabor, 1959)나, 또는 전체 혈관계의 변화 (Makara 등, 1967) 및 각 장기 내부의 신경얼기의 변화 (Napanitaya, 1973) 등에 관하여 많은 연구가 보고되고 있다. 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). 따라서 중추신경계통 밖의 중추신경계통이라 불리우는 장신경계통 (enteric nervous system)에 미치는 영향에 관하여 관찰하여 보는 것은 매우 흥미롭다고 하겠다.

Capsaicin은 외재성 감각신경섬유 (extrinsic sensory nerve fibers)를 자극하여 장신경세포의 느린 탈분극반응 (depolarizing response)을 유도하며, 이와 같은 자극은 이들 여러 신경전달물질의 분비를 중재하여 이들이 장 운동에 반응하도록 유도한다고 한다 (Surrenti와 Maggi, 1991; Fargeas 등, 1993; Raybould와 Holzer, 1993). 특히 substance P나 acetylcholine의 분비를 자극하여 근육의 수축을 유도하고 (Takaki 등, 1993), CGRP의 분비를 자극하여 위 기능 (gastric function) 및 췌장의 분비에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다 (Sternini 등, 1987). Holzer 등 (1980)은 위장관에 존재하는 substance P의 분포가 capsaicin에 의해 어떻게 변화하는 지를 추출방법 (extraction method)을 이용하여 조사한 바 있으며 그 결과 변화가 전혀 없다고 발표하는 등, 그동안 장신경계 내의 신경전달물질은 capsaicin에 의해 영향을 받지 않는다고 알려져 왔다 (Holzer 등, 1980). 따라서 capsaicin이 장신경계 내의 신경전달물질에 어떠한 영향을 주는 지, 이들이 관여한다고 알려져 있는 장의 운동성과는 어떠한 연관성이 있는지를 조사하는 것은 매우 흥미로운 과제이며, 나아가서는 이러한 형태학적 자료가 capsaicin과 장의 운동성과의 연관성을 밝힐 수 있

는 기초 자료로도 이용될 수 있을 것이다.

재료 및 방법

1. 실험동물

체중 200 gm 내외의 성숙흰쥐 (Sprague-Dawley계) 30마리와, 20마리 임신쥐로부터 태어난 신생흰쥐를 사용하였다.

2. 실험방법

가. Capsaicin 주사

갓 태어난 신생흰쥐는 생후 2일과 4일에 2회에 걸쳐 capsaicin (sigma사 제품)을 ethanol-Tween 80-생리 식염수 혼합액 (1:1:8)에 10 mg/ml로 녹인 용액을 50 mg/kg의 양이 되도록 피하주사하였다. 성숙 흰쥐의 경우에는 같은 방법으로 50 mg/Kg의 농도로 1회 피하주사하였다. 대조군은 capsaicin을 제외한 나머지 혼합액을 같은 방식으로 같은 양을 주사하였다.

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

나. 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 48시간 동안 보관하였다. 48시간 후에 실온에서 녹여 NADH-TR 반응 염색을 시행하여, 10% 중성포르말린 용액에서 24시간 고정된 후 근육층을 분리하였다. 염색한 표본은 글라이세린-젤리로 봉입하였다.

다. 장분리 표본제작

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

(myenteric plexus)를 분리하였으며, 세로근층에 붙여 사용하였다.

라. 면역조직화학 염색

일차항체로 calcitonin gene-related peptide (CGRP, Peninsula Lab. INC., Belmont, CA, U.S.A.), substance P (Chemicon International INC., Temecula, CA, U.S.A.), somatostatin (Chemicon International INC., Temecula, CA, U.S.A.), vasoactive intestinal polypeptide (VIP, Chemicon International INC., Temecula, CA, U.S.A.), met-enkephalin (Incstar Co., Stillwater, MN, U.S.A.)을 사용하여 일반적인 면역과산화효소 염색법 (Sternberger, 1986)을 이용하여 염색하였다. 이차항체로는 항토키-염소면역글로블린 (GAR, Biogenex Lab., San Ramon, CA)을 사용하였고, 과산화효소-항과산화효소 복합체 (PAP, Biogenex Lab., San Ramon, CA)를 이용하여 diaminobenzidine (DAB) 용액으로 발색시켰다.

결 과

신생 흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 시기에 따라 흰쥐를 희생하여 장분리표본을 제작하였고, capsaicin이 장신경계의 신경섬유들과 장신경절세포들이 포함하고 있는 신경전달물질에는 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 다섯가지 물질, 즉 calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P, somatostatin, vasoactive intestinal polypeptide (VIP), met-enkephalin에 대한 항혈청을 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하였으며, 각 신경전달물질에 대한 면역반응성을 비교하고, 근육층신경절기의 배열을 관찰 비교하였다.

1. Calcitonin gene-related peptide에 대한 면역반응성

신생 흰쥐에 투여 후 시간이 경과함에 따라 나타나는 영향을 관찰하였다. 투여 후 5일이 경과한 경우 이미 영향이 나타나기 시작하여 전체적으로 면역양성 반응성이 크게 떨어졌다 (Fig. 1a,b,c,d). 특징적인 변화로는 capsaicin 투여군의 경우 신경절사이를 이어주는 신경절사이띠 (internodal strand)를 구성하는 신경섬유의 수가 현격하게 감소된 것을 관찰할 수 있었고 (Fig. 1a,b,c,d), 신경절의 배열이 매우 불규칙해졌으며, 신경절의 크기가 작아진 것을 관찰할 수 있었다. 십이지장, 공장, 회장 모두 유사한 결과를 보였다. 신생 흰쥐에 capsaicin 투여 후 5일이 경과한 후에도 면역양성 반응성이 현저하게 감소하였으며, 신경절사이띠의 섬유들이 크게 감소한 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1b). 신생 흰쥐에 capsaicin 투여 후 10일이 경과한 후 역시 신경절사이띠의 신경섬유들이 감소한 것이 가장 특징적이며, 면역양성 반응성은 약간 회복된 양상을 보였다 (Fig. 1c). 또한 근육층 전체에 분포하는 가는 신경섬유들의

연결이 capsaicin군에서는 관찰되지 않았다. 이와 같은 소견은 주사후 30일, 10주가 경과할 때까지 같은 경향을 보였다 (Fig. 1d). 성숙 흰쥐에 투여하였을 경우에도 십이지장, 공장, 회장의 전 부위에서 정상대조군에 비해 CGRP에 대한 면역반응성이 크게 떨어졌다 (Fig. 2a,b,c,d).

2. Substance P에 대한 면역반응성

Capsaicin 투여 후 5일 경과한 후에 substance P (SP)에 대한 면역반응성을 조사한 결과, SP에 대해서도 면역 양성 반응성이 크게 떨어졌으며, 신경절사이띠의 섬유들의 수가 크게 감소하였다.

역시 신경절의 크기가 감소하였고, 신경절의 배열이 매우 불규칙하였다 (Fig. 3a,b). Capsaicin 투여 후 20일, 30일이 경과하면서 신경절사이띠의 신경섬유가 현격히 감소하는 것을 관찰할 수 있었고, 일부 신경절사이띠가 소실된 것도 관찰할 수 있었다. 이와 같은 경향은 투여 후 10주군에서도 관찰할 수 있었다.

성숙 흰쥐에 capsaicin을 투여하면 SP에 대한 면역반응성 역시 크게 감소하는 것을 볼 수 있다 (Fig. 4a). 그러나 somatostatin이나 VIP, met-enkephalin에 대한 면역반응성에는 큰 영향을 미치지 않았다 (Fig. 4b,c,d).

3. Somatostatin에 대한 면역반응성

Capsaicin 투여 후 5일이 경과하였을 때에는 별다른 영향을 보이지 않았고, 대조군에 비하여 신경절의 배열이 불규칙하였다. Capsaicin 투여 10일군의 경우에도 면역 반응성에 큰 변화가 없었다. Capsaicin 투여 후 20일이 경과한 경우 일부 양성섬유들이 감소한 양상을 보였고, 투여 후 30일이 경과한 경우에는 면역양성 반응성이 현격하게 감소하였으며 (Fig. 5a,b), 강한 양성반응을 보이는 섬유들의 감소가 두드러졌다. 이와 같은 경향은 capsaicin 투여 후 10주가 지난 경우 신경절사이띠의 섬유들의 수가 감소하고, 전체적으로 면역 양성 반응성이 떨어지는 등 변화가 더욱 두드러지게 나타났다.

4. Vasoactive intestinal polypeptide에 대한 면역반응성

Capsaicin 투여 5일군의 경우 면역 반응성에 있어서 큰 영향을 보이지 않았다. 신경절과 신경절을 연결시켜주는 섬유, 또는 다른 부위와 연결시키는 섬유 모두 면역반응성에 큰 변화가 없었다. 투여 후 20일이 경과한 실험군의 경우 일부 신경절 섬유의 면역 양성도가 감소하였으나, 신경절사이띠 섬유의 수에는 큰 변화가 없었으며, 이같은 양상은 투여 후 30일이 경과하였을 때까지 별 변화가 없었다. Capsaicin 투여 10주군에서는 신경절사이띠의 면역양성 반응성이 전체적으로 약하게 나타났지만, 역시 신경섬유의 감소 현상은 관찰할 수 없었다 (Fig. 6a,b).

5. Met-enkephalin에 대한 면역반응성

Met-enkephalin에 대한 면역반응성의 변화는 capsaicin 투여 후 시간이 경과함에 따라, 또한 부위에 따라 별다른 변화를 보이지 않았다. 시간이 지남에 따라 양성 반응성이 약간 감소하는 경향을 나타냈으나, 신경절사이피 섬유 수에는 변화가 없었고, 일부 양성반응 섬유의 반응성이 감소하였다 (Fig. 7a,b).

고 찰

장신경세포는 여러가지 다양한 신경펩타이드를 함유하고 있는 것으로 알려져 있으며, 이들의 분포는 동물이나, 장의 각 부위에 따라 다양한 것으로 알려져 있다 (Hökfelt 등, 1975; Pearse와 Polak, 1975; Schultzberg 등, 1980; Costa와 Furness, 1982). 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, 1980; Raybould와 Holzer, 1993; Zittel 등, 1994). 또한 이러한 펩타이드가 장의 기능과는 어떠한 연관성이 있는가에 대한 연구의 수단의 하나로 capsaicin의 영향에 관하여도 많이 연구되고 있다 (Stermini 등, 1987; Mayer 등, 1990; Holzer 등, 1991; Takaki 등, 1993). 이에 본 실험에서도 capsaicin이 장신경계통의 신경섬유들과 장신경절세포들이 포함하고 있는 신경전달물질에는 어떠한 영향을 미치는 지를 알아보기 위하여 다섯가지 물질, 즉 calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P, somatostatin, vasoactive intestinal polypeptide (VIP), met-enkephalin에 대한 면역반응성을 비교하고, 근육층신경얼기의 배열을 관찰 비교하였다.

CGRP와 SP에 대한 면역반응성은 신생흰쥐에 투여 후 5일이 경과한 후부터 이미 영향이 나타나기 시작하여 전체적으로 면역 반응성이 크게 떨어졌으며, 이와 같은 변화는 주사 후 10주까지 지속적으로 나타났다. 특징적인 변화로 capsaicin 투여군에서 신경절사이피를 이어주는 신경절사이피 (internodal strand)를 구성하는 신경섬유의 수가 특히 감소된 것을 관찰할 수 있었다. 이와 같은 보고는 capsaicin이 CGRP와 SP 양성섬유의 파괴를 초래하였음을 의미하며, 이러한 결과는 capsaicin이 크기가 작은 감각신경세포와 CGRP 양성섬유를 파괴시킨다고 보고한 Stermini 등 (1987)의 방사면역측정법 (radioimmunoassay)을 사용한 정량적 연구와 일치하는 결과이다.

Stermini (1987) 등에 따르면 특히 혈관과 연관된 섬유 즉 외재성 감각섬유 (extrinsic sensory fiber)들이 완전히 파괴되고, 혈관과 연관되지 않은 내재성 즉 장신경섬유 (intrinsic enteric fiber)는 약간만 파괴된다고 하였다. Holzer 등 (1980)도

capsaicin이 SP를 함유하고 있는 일차감각섬유에는 작용하나 내재성 SP함유 신경세포에는 큰 영향을 주지 않는다고 하였다.

본 실험에서는 Stermini 등 (1987)의 보고에서와 같이 50% 이상의 파괴는 관찰하지 못했다. 그 이유는 본 실험의 경우에는 장신경섬유들로 주로 구성되어 있는 장신경얼기 내에서의 변화만을 관찰하였기 때문이라고 생각된다. 그러나 주사 후 10주가 경과한 후에도 신경절사이피의 섬유들의 수가 감소한 것으로 보아 capsaicin에 의해 CGRP나 SP를 함유하고 있는 장신경섬유도 영향을 받음을 확인할 수 있었다. 장에서 CGRP는 흰쥐와 개에서 위산의 분비를 억제하고 (Tache 등, 1984, 1991), cAMP에 결합되어 있는 수용기를 통해 평활근 세포에 직접 작용하므로써 장의 운동을 억제하는 효과를 가지고 있다고 알려져 있는데 반해 (Zittel 등, 1994), 장신경계통의 substance P 신경세포는 흥분성 신경세포로 작용하여 주로 돌림근육층의 수축에 관여하는 것으로 알려져 있다 (Holzer와 Lembeck, 1979; Costa 등, 1985). 그러나 Stermini 등 (1987)이나 Eysselein 등 (1991)은 이들 물질들을 함께 포함하고 있는 장신경세포가 상당 수 존재하는 것으로 보고하고 있다. 본 실험에서는 이들 물질의 공존성에 관하여는 실험하지 못하였으나, 조사한 다섯가지 물질 중 capsaicin에 의한 CGRP와 SP에 대한 면역반응성의 변화가 가장 뚜렷하게 관찰되었고, 이들 물질을 포함하고 있는 세포들이 capsaicin에 의해 영향을 많이 받는 것으로 생각되었다.

또한 somatostatin을 함유하고 있는 신경세포에 capsaicin이 미치는 영향을 조사한 결과 somatostatin 함유 신경섬유의 파괴를 관찰할 수 있었다. Somatostatin 함유 신경섬유의 고갈 현상은 주사 후 30일에 가장 심하게 나타났으며, 주사 후 10주가 경과한 경우 역시 신경절사이피의 섬유들의 수가 감소하고, 전체적으로 면역 양성 반응성이 떨어지는 등 변화가 두드러지게 나타났다. Somatostatin은 장에서 장의 운동이나, 음식물의 흡수를 조절하는 기능과, 장관의 외분비작용과 내분비작용을 조절하는 역할, 장신경세포의 신경전달물질의 기능 및 위나 췌장의 국소호르몬 (paracrine)의 기능을 하는 것으로 알려져 있는데 (Costa 등, 1980), somatostatin에 대한 면역반응성 역시 capsaicin에 의해 크게 떨어지는 것으로 보아, 이러한 기능에도 영향을 주는 것으로 생각되었다.

Vasoactive intestinal polypeptide (VIP)는 포유동물의 장관에서 추출한 물질로 (Said와 Mutt, 1972), 장에서 평활근을 이완시키고, 위산의 분비를 억제하며, 장 분비 및 인슐린과 글루카곤의 분비를 촉진시키는 것으로 알려져 있다 (Furness와 Costa, 1980; Mutt, 1983). 그러나 신생흰쥐에 capsaicin을 투여한 후 시기에 따라 VIP에 대한 면역반응성을 조사한 경우, 면역반응성에 큰 영향이 없었으며, 이와 같은 양상은 주사 후 10주가 경과한 후에도 큰 변화가 없었다. 일부 신경절사이피의 면역 양성 반응성이 전체적으로 약하게 나타났지만, 신경

정사이때를 이루고 있는 신경섬유의 수에는 변화가 없었다. 또한 met-enkephaline에 대한 면역반응성의 변화 역시 capsaicin 투여 후 시간의 경과나 부위에 따라 별다른 변화를 보이지 않았다. Maggi 등(1989, 1990)은 capsaicin이 오히려 VIP의 분비를 자극한다고 하였으나, 본 실험에서는 capsaicin에 의한 VIP에 대한 면역반응성의 증가는 관찰하지 못하였고, VIP에 대한 면역반응성이 capsaicin에 크게 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 본 실험에서는 기존의 가설에서와 마찬가지로 capsaicin이 외재성 감각신경섬유(extrinsic sensory nerve fibers)를 자극하여 장신경세포의 느린 탈분극반응(depolarizing response)을 유도하며, 이와 같은 자극은 이들 여러 신경전달물질의 분비를 증대하여 이들이 장 운동에 반응하도록 유도하는 것으로 생각되었고(Surrenti와 Maggi, 1991; Tache 등, 1991; Fargeas 등, 1993; Raybould와 Holzer, 1993; Takaki 등, 1993), 특히 substance P나 acetylcholine의 분비를 자극하여 근육의 수축을 유도하고, CGRP의 분비를 자극하여 위 기능(gastric function)의 조절에 관여할 것으로 생각되었다(Tache 등, 1991; Takaki 등, 1993).

본 실험의 결과들로부터 capsaicin은 장신경계의 신경펩타이드에 초기부터 영향을 미치며, CGRP, substance P, somatostatin과 같은 장의 기능조절에 관여하는 신경전달물질의 면역 활성도를 감소시킨 것으로 보아 전체적인 장의 운동성에도 영향을 미칠 것으로 생각되었다.

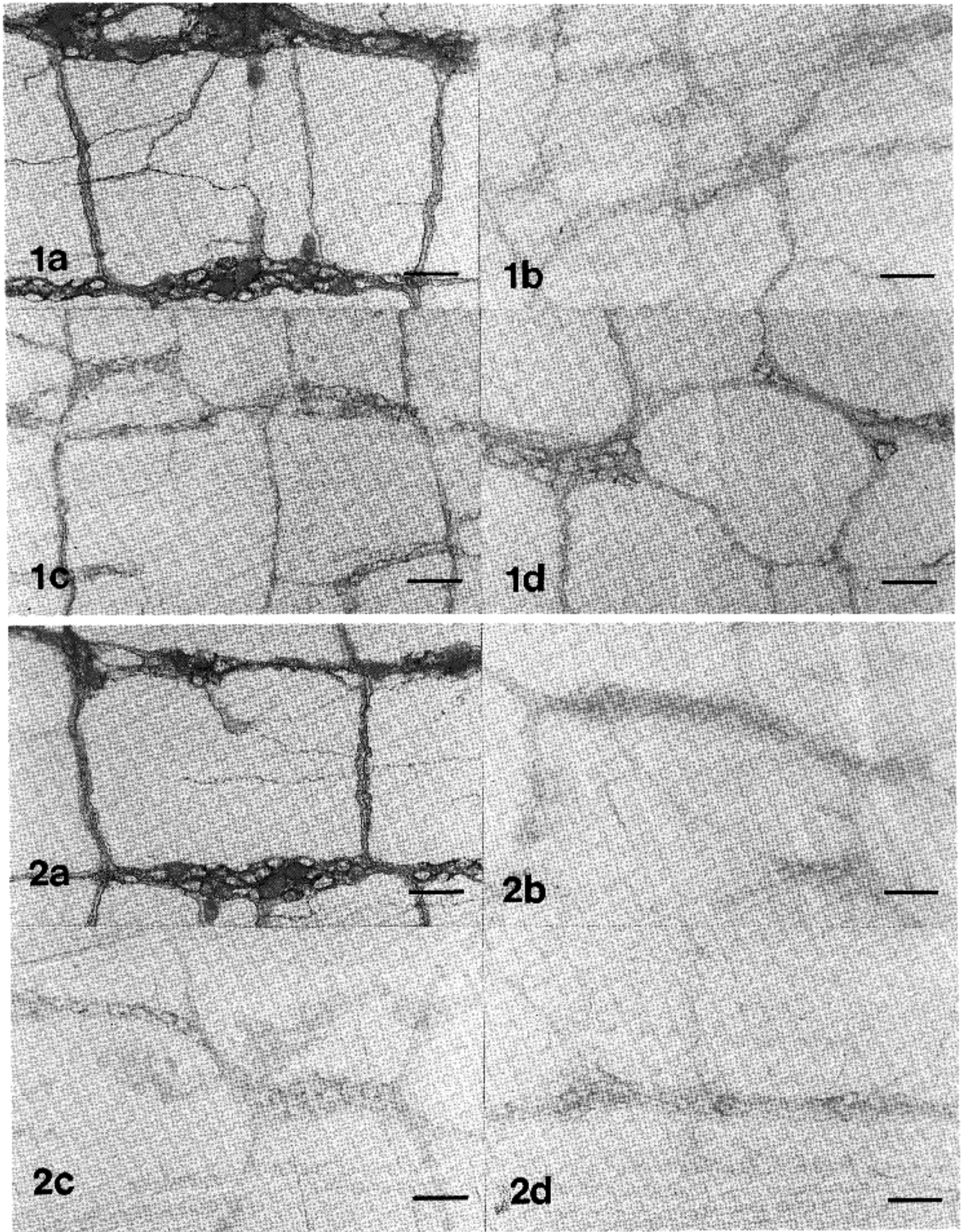
참 고 문 헌

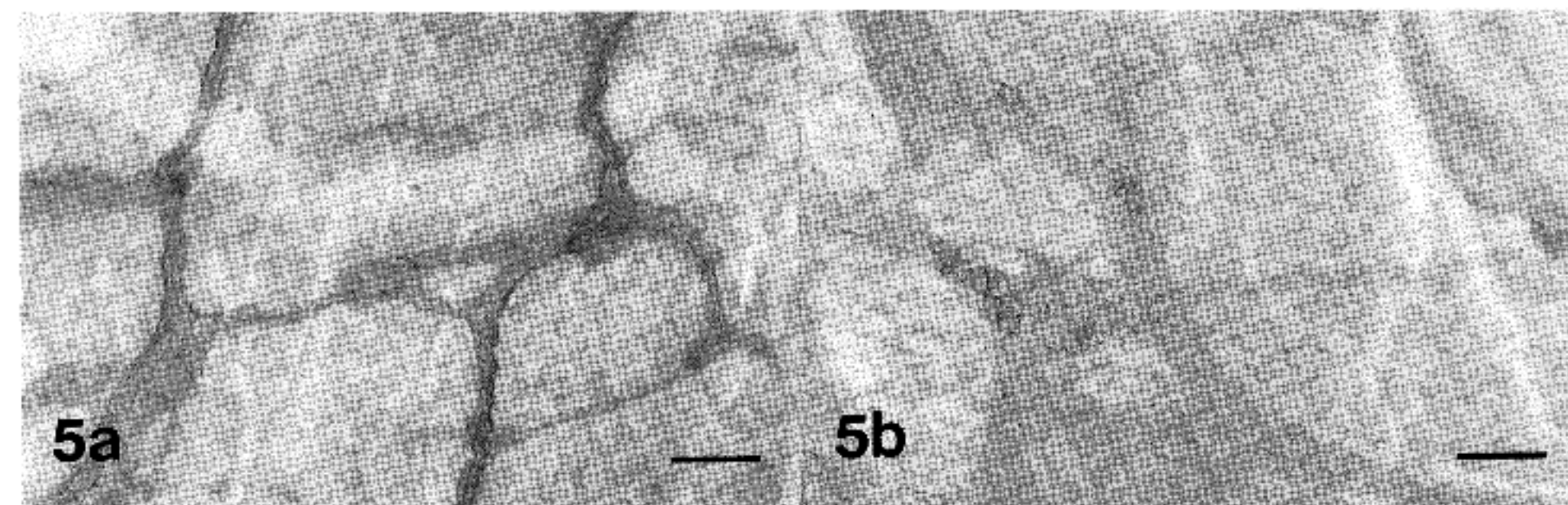
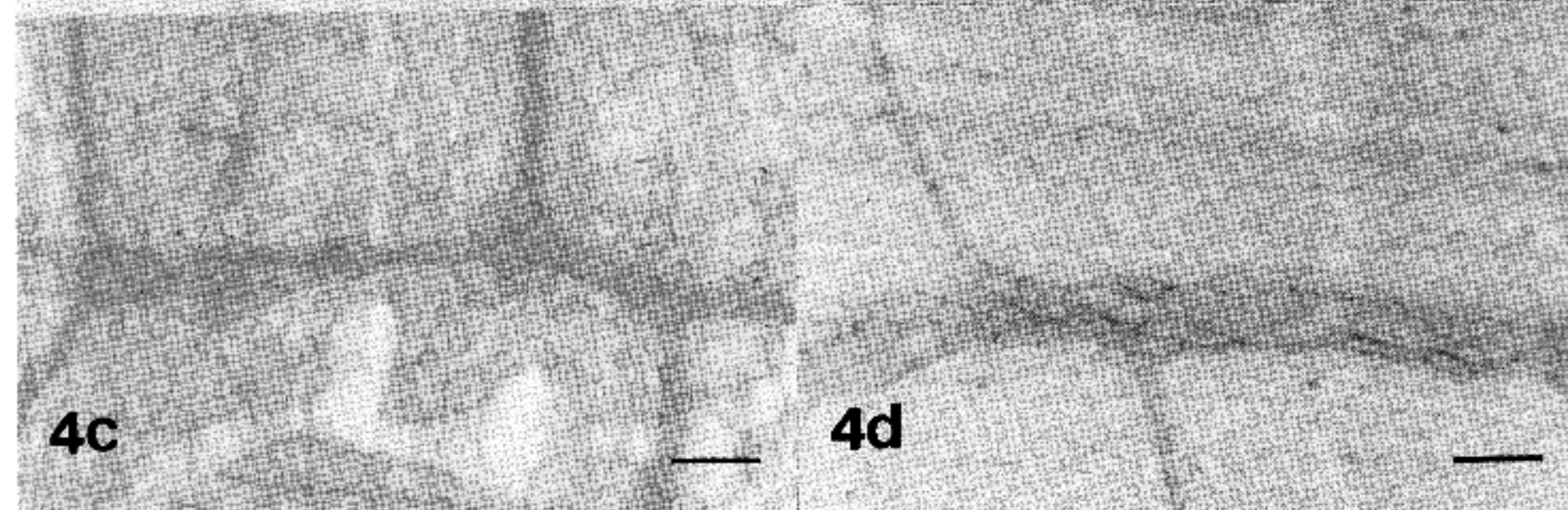
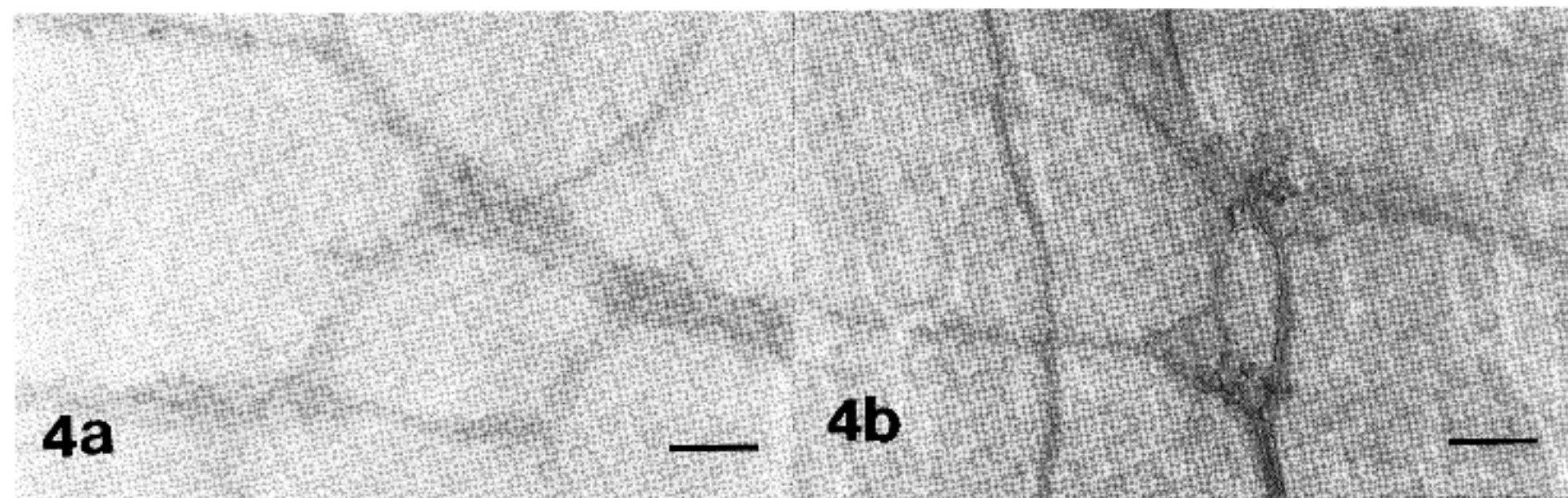
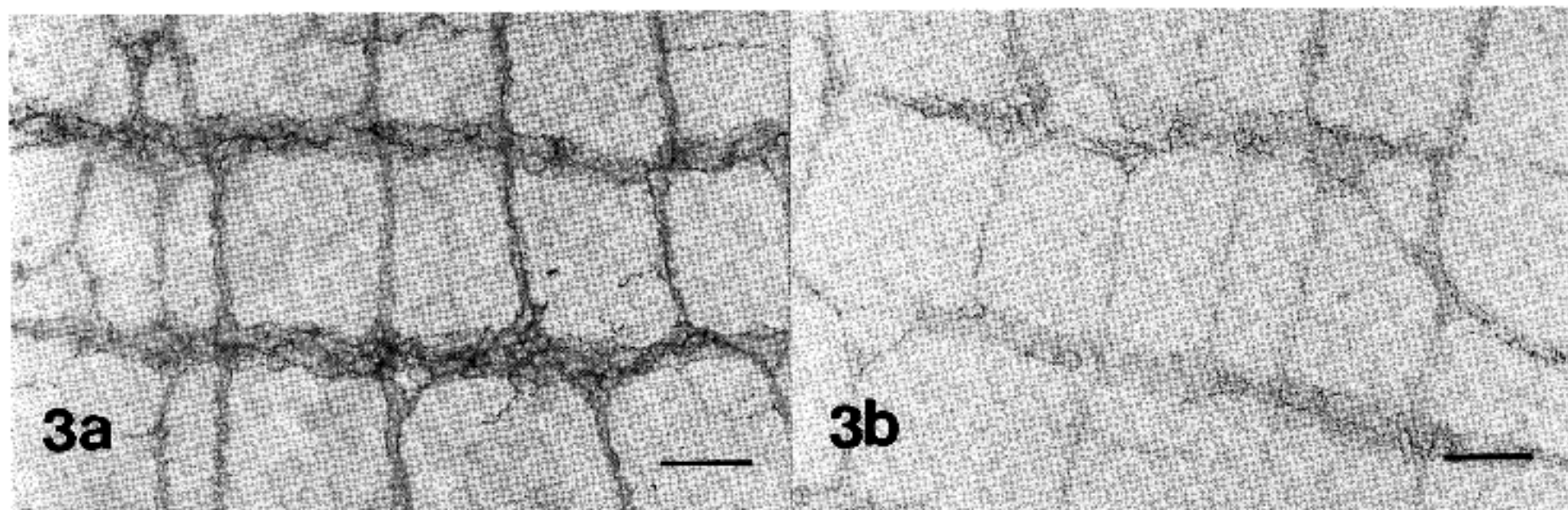
- 김봉옥 : 성숙 흰쥐에 투여한 capsaicin이 신경조직에 미치는 영향(학위논문), 연세대학교 대학원, 1993.
- 오중환 : 흰쥐 흉수 Lissauer 신경로의 substance P 및 calcitonin gene-related peptide (CGRP) 함유 신경섬유에 대한 면역세포화학적 연구(학위논문), 연세대학교 대학원, 1994.
- 조기홍 : 성숙 흰쥐에 capsaicin 투여가 척수 뒤뿌리의 Lissauer 신경로에 미치는 영향에 관한 형태 정량적 연구(학위논문), 연세대학교 대학원, 1994.
- Baumgarten 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.
- Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR, MacIntyne I : Calcitonin gene-related peptide is potent vasodilator. *Nature* 313: 54-56, 1985.
- Chung KS, Schwen RJ, Coggeshall RE : Ureteral axon damage following subcutaneous administration of capsaicin in adult rats. *Neurosci Lett* 53: 221-226, 1985.
- Costa M, Cuello AC, Furness JB, Franco R : Distribution of enteric neurons shown immunoreactivity for substance P in the guinea-pig ileum. *Neuroscience* 5: 323-331, 1980.
- Costa M, Furness JB : Neuronal peptide in the intestine. *Br Med Bull* 38: 247-252, 1982.
- Costa M, Furness JB, Llewellyn-Smith IJ, Cuello AC : Projections of substance P neurons within the guinea-pig small intestine. *Neuroscience* 6: 411-428, 1981.
- 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.
- Eysselein VE, Reeve JR, Sternini C, Cominelli F, Davis WM, Davis MT, Lee TDJE, HO F-J, Ridout D, Shively JE : Structural characterization of calcitonin gene-related peptide purified from rabbit intestine. *Peptides* 12: 289-295, 1991.
- Fahrenkrug J : Vasoactive intestinal polypeptide: measurement, distribution and putative neurotransmitter function. *Digestion* 19: 149-169, 1979.
- Fargeas MT, Fioramonti J, Bueno L : Involvement of capsaicin-sensitive afferent nerves in the intestinal motor alteration induced by intestinal anaphylaxis in rats. *Int Allergy Immunol* 101: 190-195, 1993.
- Furness JB, Costa M : Types of nerves in the enteric nervous system. *Neuroscience* 5: 1-20, 1980.
- Gabella G : Fine structure of the myenteric plexus of the guinea-pig ileum. *J Anat (London)* 111: 69-97, 1972.
- Gabella G : Detection of nerve cells by a histochemical technique. *Experientia* 25: 218-220, 1969.
- Hökfelt T, Kellerth JO, Nilsson G, Pernow B : Experimental immunohistochemical studies on the localization and distribution of substance P in cat primary sensory neuron. *Brain Res* 100: 235-252, 1975.
- Holzer P, Gamse R, Lembeck F : Distribution of substance P in the rat gastrointestinal tract-lack effect of capsaicin pretreatment. *Eur J Pharmacol* 61: 303-307, 1980.
- Holzer P, Lembeck F : Effect of neuropeptide on the efficiency of the peristaltic reflex. *Naunyn Schmiedberg's Arch Pharmacol* 307: 257-264, 1979.
- 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.
- Jancso N, Jancso-Gabor A : Dauerausschaltung der chemischen Schmerzen Pfindlichkeit durch Capsaicin. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Exp Pathol Pharmacol* 236: 142-146, 1959.
- Jancso G, Kiraly E, Jancso-Gabor A : Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurons. *Nature (London)* 270: 741-743, 1977.
- Karczmar AG, Koketsu K, Nishi S : Autonomic and enteric ganglia: transmission and its pharmacology, *New York, Plenum Press, London, 1986, pp.39-50.*
- 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. *Pro natl Acad Sci USA* 73: 3197-3200, 1976.
- Maggi CA, Patacchini R, Santicoli S, Giuliani S, Turini D, Barbanti

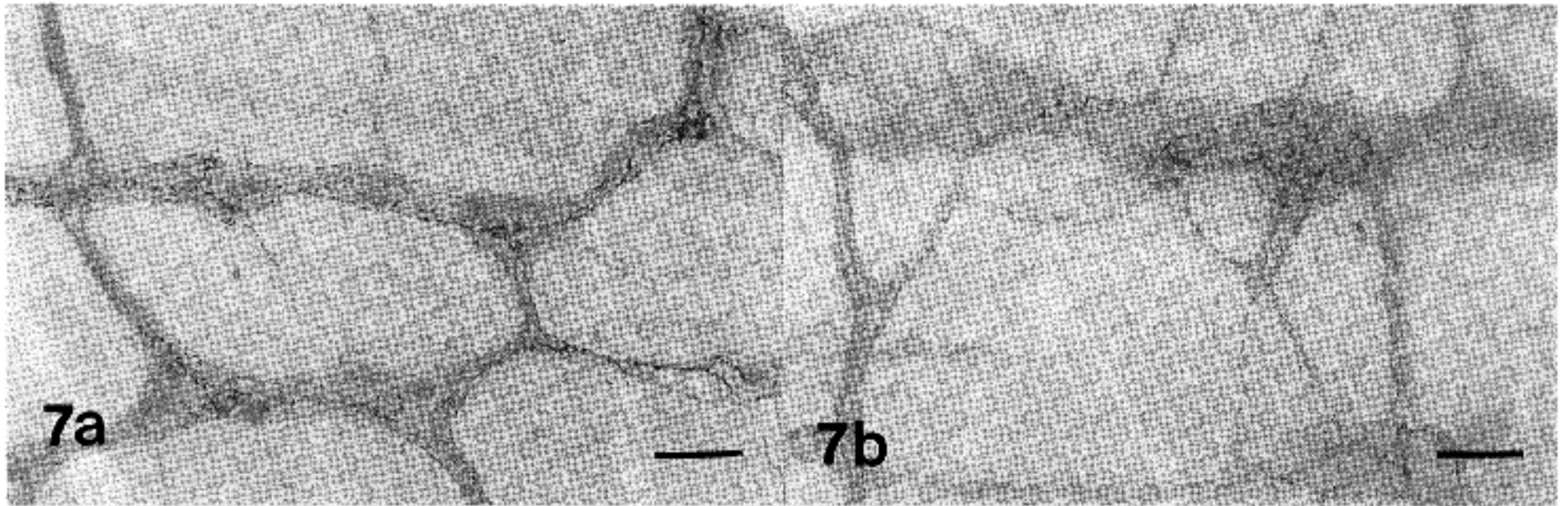
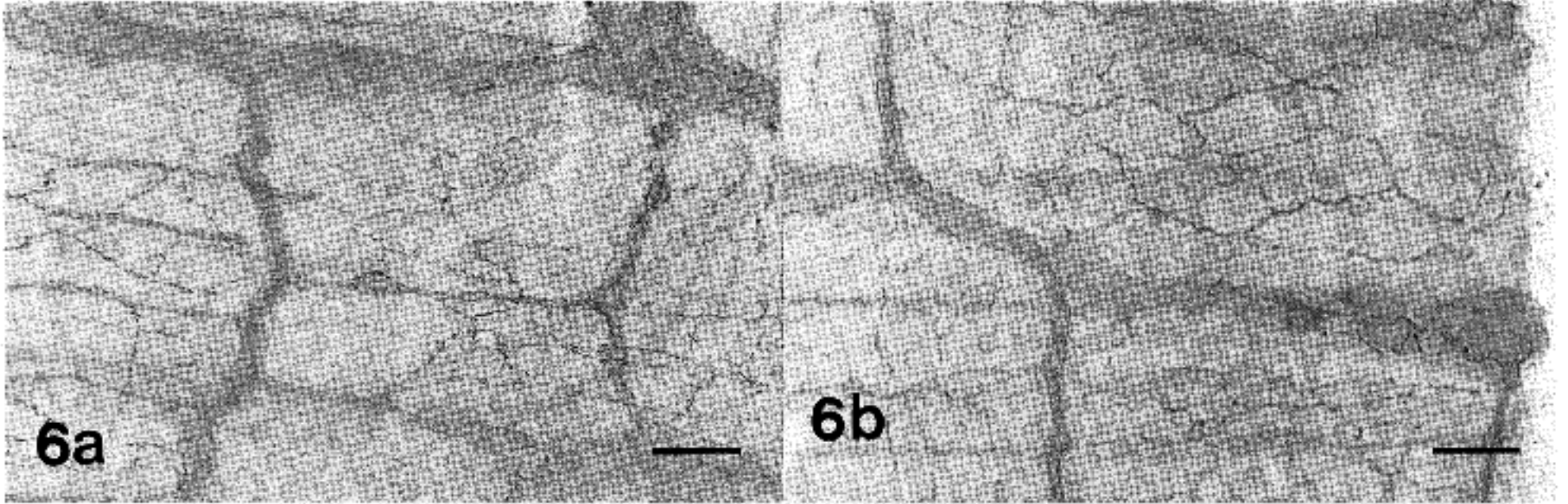
- G, Beneforti P, Misuri D, Meli A : Human isolated small intestine: motor responses of the longitudinal muscle to field stimulation and exogenous neuropeptides. *Naunyn-Schmiedeb Arch Pharmacol* 339: 415-423, 1989.
- Maggi CA, Patacchini R, Santicoli S, Giuliani S, Turini D, Barbanti G, Gaichetti A, Meli A : Human isolated ileum: motor responses of the circular muscle to electrical field stimulation and exogenous neuropeptides. *Naunyn-Schmiedeb Arch Pharmacol* 341: 256-261, 1990.
- Makara GB, Gyorgy L, Molnar J : Circulatory and respiratory responses to capsaicin, 5-hydroxytryptamine and histamine in rats pretreated with capsaicin. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 170: 39-44, 1967.
- Mayer EA, Koelbel CBM, Snape WJ, Eysselein V, Ennes H, Kodner A : Substance P and CGRP mediate motor response of rabbit colon to capsaicin. *Am Physiol Sci*: G889-G897, 1990.
- Mutt V : VIP, Motilin and secretin. In Krieger DT, Brownstein MJ, Martin JB, eds. *Brain peptide*, New York, John Wiley & Sons, 1983.
- 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 preweanling 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.
- Schultzberg M, Dreyfus CF, Gershon MD, Hökfelt T, Elde RP, Nilsson G, Said SD, Goldstein M : VIP-, enkephalin-, substance P- and somatostatin- like immunoreactivity in neurons intrinsic to the intestine. *BrainRes* 155: 239-248, 1978.
- Schultzberg M, Hökfelt T, Nilsson G, Terenius L, Rehfeld J, Brown M, Elde R, Goldstein M, Said SL : Distribution of peptide and catecholamine neurons in the gastrointestinal tract of rat and guinea-pig. *Neuroscience* 5: 689-744, 1980.
- Sternberger LA : Immunocytochemistry. 3rd ed. New York, John Wiley, 1986.
- Sternini C, Reeve JR, Brecha N : Distribution and characterization of calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the digestive system of normal and capsaicin-treated rats. *Gastroenterology* 93: 852-862, 1987.
- Surrenti C, Maggi CA : Sensory nerves in the gastrointestinal tract: changing concepts and new perspectives. *Ital J Gastroenterol* 23: 94-99, 1991.
- Tache Y, Raybould H, Wei JY : Central and peripheral actions of calcitonin gene-related peptide on gastric secretory and motor function. *Adv Exp Med Biol* 298: 183-198, 1991.
- Tache Y, Pappas T, Lauffenburger M, Goto Y, Walsh JH, Debas H : Calcitonin gene-related peptide: potent peripheral inhibitor of gastric acid secretion in rats and dogs. *Gastroenterology* 87: 344-349, 1984.
- 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.
- von Euler US, Gaddum JH : Congenital malformations induced in rats by roentgen ray. *Am J Roentgenol Radium Therap* 57: 455, 1931.
- 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. 1.** CGRP immunoreactivity in myenteric plexus of the rat small intestine after neonatal capsaicin treatment. bar = 25 μ m. a. Ileum of control 10 week group, CGRP immunoreactive cells and fibers are observed well. b. Duodenum of 5 day group after neonatal capsaicin treatment. c. Ileum of 10 day group after neonatal capsaicin treatment, CGRP immunoreactivities are recovered. d. Duodenum of 10 week group after neonatal capsaicin, number of internodal strands were decreased.
- Fig. 2.** CGRP immunoreactivity in myenteric plexus of the rat small intestine after adult capsaicin treatment. bar = 25 μ m. a. Ileum of control 10 week group, CGRP immunoreactive cells and fibers are observed well. b. Duodenum of 1 week group after adult capsaicin treatment. c. Jejunum of 1 week group after adult capsaicin treatment. d. Ileum of 1 week group after adult capsaicin treatment. CGRP immunoreactivities appeared weakly and ganglionic neurons and internodal strands are destructed severely.
- Fig. 3.** Substance P (SP) immunoreactivity in myenteric plexus of the rat small intestine after neonatal capsaicin treatment. bar = 25 μ m. a. Jejunum of control 10 day group, SP immunoreactive cells and fibers are arranged regularly. b. Jejunum of 10 day group after neonatal capsaicin treatment.
- Fig. 4.** Myenteric plexus of the rat small intestine stained immunohistochemically at 1 week after adult capsaicin treatment. bar = 25 μ m. a. Duodenum stained immunohistochemically against SP. The immunoreactivities against SP was decreased significantly. b. Duodenum stained immunohistochemically against vasoactive intestinal polypeptide. c. Jejunum stained immunohistochemically against somatostatin. d. Ileum stained immunohistochemically against met-enkephalin.
- Fig. 5.** Somatostatin (SOM) immunoreactivity in myenteric plexus of the rat small intestine after neonatal capsaicin treatment. bar = 25 μ m. a. Duodenum of control 30 days group, the immunopositive nerve fibers against SOM. b. Duodenum of 30 days after neonatal capsaicin treatment, cells and nerve fibers that showed positive immunoreactivities against SOM were destructed tremendously.
- Fig. 6.** Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) immunoreactivity in myenteric plexus of the rat small intestine after neonatal capsaicin treatment. bar = 25 μ m. a. Ileum of control 10 week group, regular pattern of VIP immunopositive structures. b. Ileum of 10 weeks after neonatal capsaicin group, similar to control group.
- Fig. 7.** Met-enkephalin (met-ENK) immunoreactivity in myenteric plexus of the rat small intestine after neonatal capsaicin treatment. bar = 25 μ m. a. Jejunum of control 10 week group, cells and nerve fibers that showed positive immunoreactivity against met-ENK. bar = 25 μ m. b. Jejunum of 10 week group after neonatal capsaicin, decreased slightly compared to control group, however, it was not significant.







—Abstract—

The Variabilities of the Neurotransmitter Responses upon Capsaicin on the Myenteric Plexus of the Rat Small Intestine

Jong Eun Lee, Won Taek Lee, Ho Yoon, Kyung Ah Park

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

To investigate the capsaicin effects on the enteric nervous system, capsaicin was administered to the neonatal and the adult rats and morphometric, immunohistochemical and electron microscopic 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. In the immunohistochemical study, the immunoreactivities of various neurotransmitters were compared and arrangement of enteric plexus was also compared. The immunoreactivities against calcitonin gene-related peptide (CGRP), substance P (SP) and somatostatin (SOM) were decreased significantly, while the immunoreactivities against vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and met-enkephalin were not changed much. With these changes, capsaicin decrease the immunoreactivities against CGRP, SP and SOM. It could be assumed that capsaicin influence the intestinal motility.

Key words : Capsaicin, Myenteric Plexus, CGRP, SP, SOM, VIP, met-ENK, Immunohistochemical Staining