

영아 비후성 유문협착증에서 유문부의 신경분포의 비교

대구가톨릭대학교 의과대학 외과학교실, 병리학교실*

김강도 · 주대현 · 유용운 · 박성환 · 박기호 · 박재복*

Comparative Nerve Distribution of the Pylorus in Infantile Hypertrophic Pyloric Stenosis

Gang-Do Kim, M.D., Dae-Hyun Joo, M.D., Yong-Oon Yoo, M.D., Sung-Hwan Park, M.D., Ki-Ho Park, M.D., Jae-Bok Park*, M.D.

Department of Surgery, Department of Pathology*, School of Medicine, Catholic University of Daegu, Daegu, Korea

Infantile hypertrophic pyloric stenosis (IHPS) a common childhood disorders characterized by nonbilious projectile vomiting, an olive shaped mass in the right upper quadrant of the abdomen and visible gastric peristaltic wave in the upper abdomen. Its etiology and pathogenesis are not clear but abnormal nerve distribution of the pylorus has been postulated²⁻⁶. We performed immunocytochemical staining to the pyloric muscle from 10 IHPS and 3 controls patients, utilizing specific monoclonal antibody to NCAM(neural cell adhesion molecule). In IHPS patients, the number of NCAM protein immunoreactive nerve fibers were less than that in normal subjects. Auerbach myenteric plexus was well developed and interbundle nerve plexus was present but nerve fibers supplying individual muscle cells in smooth muscle bundles were poorly developed. These results indicate reduction of innervation in smooth muscles in IHPS patients that possibly contributes to the pathogenesis of IHPS. (J Kor Assoc Pediatr Surg 8(1):23~27, 2002.

Index Words : Infantile hypertrophic pyloric stenosis, Neural cell adhesion molecule, Nerve distribution

서 론

영아 비후성 유문협착증 (IHPS, infantile hypertrophic pyloric stenosis)은 생후 3개월 이후에는 드물고 대개 생후 1개월 전후의 영아기에 흔히 볼 수 있는 외과적 질환으로, 무담즙성 분출성 구토, 올리브 모양의 위상복부 종괴 및 가시성 위 유동

과 등을 특징으로 한다.

이 질환의 원인은 아직 명확하게 밝혀지지 않았으며, 위산 과다증에 의한 유문부 근연축 및 비대¹, 유문부 근층내의 신경분포의 이상²⁻⁶, 조율세포 (pacemaker cell) 감소에 의한 운동장애⁷ 등이 발생 원인으로 제시되고 있다.

저자들은 태아의 발생기간 중에 세포와 세포간의 부착물 절로서 말초신경계의 발달과 기능에 중요한 역할을 하며 신경연접 발생 (synaptogenesis)시 근육세포와 신경원 (neuron)의 상호작용과 초기 배태발육 (early embryogenesis)의 조직형성에 주된 역할을 하는 세포표면 당단백질인 신경세포 부착분자 (NCAM, neural cell adhesion molecule)⁸를 이용해서

Correspondence : Dae-Hyun Joo, M.D., Division of Pediatric Surgery, Department of Surgery, School of Medicine, Catholic University of Daegu, 3056-6 Daemyung 4-dong, Nam-gu, Daegu 705-718, Korea

유문부 근층내 신경분포의 상태를 관찰하고 영아 비후성 유문협착증의 원인에 대하여 검토하였다.

대상 및 방법

대 상

환아는 1998년 10월 1일부터 2002년 2월 28일까지 대구가톨릭대학병원 외과에서 영아 비후성 유문협착증으로 유문부 근층 절개술을 시행한 10예에 대하여 유문부 근층의 신경분포를 NCAM 면역화학염색을 통해 측정하고, 다른 질환으로 복부 수술을 시행한 비슷한 연령의 소아 대조군 3명에서 유문부 근층을 생검하여 신경분포를 비교하였다. 대조군의 질환은 신생아 괴사성 장염 2예 및 태변성 복막염 1예이었다. 영아 비후성 유문협착증의 진단은 위상복부에서의 올리브 형태의 복강내 종물의 촉진과 전예에서 시행한 복부 초음파검사 소견으로 진단하였다. 영아 비후성 유문협착증 환자의 수술 전 시행한 초음파검사에서는 전예에서 유문부 근층의 비후가 있었다. 검사 소견에서 종괴 크기의 평균치는 유문근 두께 4.7 mm, 유문 직경 12.2 mm, 유문관 길이 16.3 mm이었다. 상부 위장관촬영은 1예에서 시행하였다. 환자의 연령분포는 생후 20일에서 62일이며 성비는 남아 8예, 여아 2예이었다. 미숙아나 과숙아는 없었으며 출생시의 체중은 3,286±191 g (mean±SD)이었으며 3.0 kg에서 3.5 kg이 대부분

(8/10)이었다. 저체중 출생아는 없었다. 전예에서 무담즙성 구토를 나타내었으며 상복부의 종물로서 촉진된 경우가 6예이었다. 병력기간은 3일에서 40일까지 다양하였으며 10일 전후가 가장 많았다 (6/10).

방 법 (면역조직화학 검색)

면역조직화학 염색은 Avidin-biotin enzyme complex (ABC) 법으로 염색하였다. 파라핀에 포매된 조직절편을 Probe-on-Plus (Fisher Biotech®, Pittsburgh, USA) 유리슬라이드에 4 μm 두께로 박절하여 붙이고 모세관 원리를 이용한 Microprobe system (Fisher Scientific, Chicago, USA)으로 염색하였다. Xylene과 Histoclear를 1 : 3의 비율로 섞은 용액으로 탈파라핀 한 후 95% 알코올과 100% 알코올에서 탈수하였다. 내재성 과산화효소 (peroxidase)를 억제하기 위해 내부차단제 (end-blocker)에 반응시킨 후 조직항원이 잘 노출되게 pepsin 용액으로 전 처치를 하고 인산염 완충식염수 (PBS, phosphate buffered saline)로 3회 세척하였다.

NCAM의 일차항체로는 murine monoclonal antibody (Cat. MONO 9010, Monosan, Uden, Netherland)를 지정된 희석배율 농도로 사용하였다. 일차항체는 45℃에서 25분간 반응시킨 후 PBS에 3회 세척하였다. Biotin 결합 이차항체 (Cat. N2391, Immunotec, Marseille, France)를 가하고 45℃에서 8

Table 1. NCAM Immunostaining Patterns of the Pyloric Muscle

Case		Sex	Age	Auerbach plexus	Interbundle plexus	Intrabundle Outer layer	nerve fiber Inner layer
IHPS	1	M	20d	Present	Present	None	None
	2	M	20d	Present	Present	None	None
	3	F	28d	Present	Present	A few	None
	4	M	29d	Present	Present	None	None
	5	M	30d	Present	Present	None	None
	6	M	30d	Present	Present	A few	None
	7	M	31d	Present	Present	A few	None
	8	F	40d	Present	Present	None	None
	9	M	60d	Present	Present	A few	None
	10	M	62d	Present	Present	None	None
Control group	1*	F	6d	Present	Present	Multiple	Some
	2†	M	10d	Present	Present	Some	None
	3+	M	30d	Present	Present	Multiple	Some

IHPS ; Infantile hypertrophic pyloric stenosis, NCAM ; Neural cell adhesion molecule,

* ; Meconium peritonitis, † and +; Necrotizing enterocolitis

A few ; Occasionally present, 5 per 400 high power field

Some ; 6-29 per 400 high power field

Multiple ; Over 30 per 400 high power field

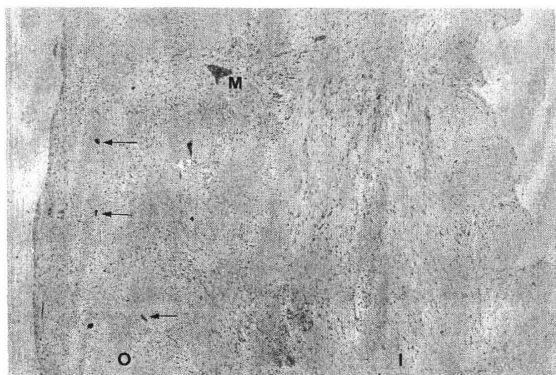


Fig. 1. Photomicrogram of the muscle in IHPS. Myenteric plexus (M) and small nerve plexus among the muscle bundles (arrow) are more frequent in outer layer than inner layer (NCAM immunostain, x 40).

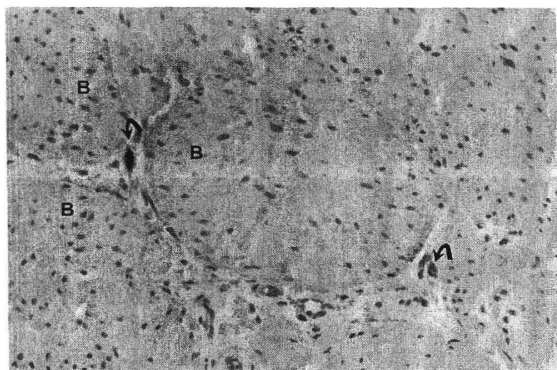


Fig. 2. Photomicrogram of the Pyloric muscle in IHPS. Absence of nerve fibers supplying the smooth muscle cells in the muscle bundles. B; Smooth muscle bundle. Curved arrow; Nerve plexus between the smooth muscle bundles (NCAM immunostain, x 200).

분간 반응시킨 후 streptavidin HRP conjugate (Cat. N2391, Immunotec, Marseille, France)로 표식하고 AEC chromogen solution (3-amino-9-ethyl-carbazole in N, N-dimethyl formamide, Code No, K3464, Dako, Carpinteria, USA)으로 발색하였다. Mayer's hematoxylin으로 약 20초간 대조염색하여 글리세롤 봉입 배지 (glycerol mounting medium)로 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

NCAM 면역염색으로 관찰된 유문부 근육층의 신경분포는

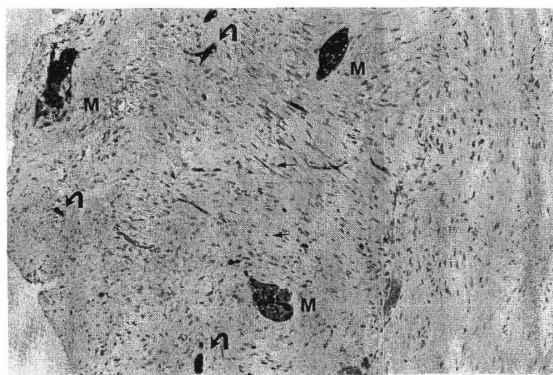


Fig. 3. Photomicrogram of the normal pyloric muscle. M; myenteric plexus. Curved arrow ; small interbundle nerve plexus between the smooth muscle bundles. Arrow; nerve fibers supplying smooth muscle cells (NCAM immunostain, x 100).

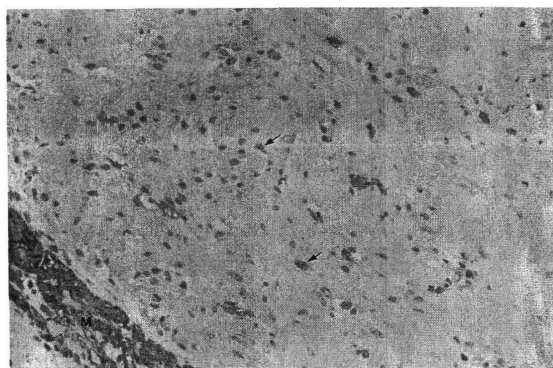


Fig. 4. Photomicrogram of the normal pyloric muscle. Multiple brown spots (arrows) are nerve fibers. M; myenteric plexus (NCAM immunostain, x 200).

환아가 대조군보다 신경 분포 (nerve innervation)가 불완전하여 초기 단계에 머물러 있었다 (표 1). 환자의 유문부 근육 내 신경분포의 상태는 내의 근육층 사이에 있는 장근 신경총 (Auerbach myenteric plexus)은 형성되어 있으나 각 근육다발(smooth muscle bundle)내의 신경발달이 저조하였다. 평활근 다발 사이에 있는 신경총에서 나온 신경총보다 작은 신경 분지 (small interbundle plexus로 명명)는 찾아볼 수 있으나 세분지가 자라 나오지 않아서 근육다발내에 신경섬유 (nerve fiber)의 보급이 매우 적었다 (그림 1, 그림 2). 간혹 드물게 외측 평활근에는 드물게 점상의 신경보급은 있었으나 내측 평활근내의 신경섬유는 발견할 수 없었다. 그러나 비슷한 나

이의 소아에서 근육층 신경분포는 더욱 발달되어 있어서 근육세포 사이에 집상으로 많이 분포하고 있는 점이 대비된다 (그림 3, 그림 4).

고 찰

영아 비후성 유문협착증은 원인이 정확히 밝혀져 있지 않으나 추정되는 원인인자들이 제시되고 있다. Tam (1996)⁹ 장근 신경총은 정상이지만 유문부 근층내의 신경분포의 결여를 지적하였으며, 면역조직화학염색법을 이용한 최근의 연구에서는 펩티드성 신경 분포 [enkephalin, substance P, VIP (vasoactive intestinal polypeptide)]의 이상 (감소)에 대해서도 보고하고 있다¹⁰.

일산화 질소 (Nitric oxide)는 위장관근육에서 이완을 담당하는 중요한 신경전달체로 최근 알려져 있는데¹¹⁻¹³, Vanderwinden 등 (1992)¹⁴ 일산화 질소 합성효소 면역 반응 (nitric oxide synthase immunoreactivity)의 정확한 지표인 NADPH (nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate) 전이 효소 조직화화법을 사용하여 영아 비후성 유문협착증 환자의 유문부 환상근에서 일산화 질소 합성 효소능이 현저하게 감소되어 있다는 것을 지적하여 유문부 근육의 과도수축을 설명했다.

또한 Vanderwinden 등 (1996)⁷ 장관 신경 체계의 조울 세포로 알려진 Interstitial cell of Cajal에 대해서 간질성 세포 특이성의 티로신 키나제 수용기 (c-kit) 면역 반응성의 감소를 발견하여 영아 비후성 유문협착증의 운동장애의 원인으로 제시하였다. Kobayashi 등 (1994)³ 영아 비후성 유문협착증에서 신경지지 세포의 감소에 대해 보고하였으며, Cass 등 (1991)¹⁵ 비후된 유문부 근층내에 chondroitin sulfate를 포함하는 세포외 기질의 변화 (증가)를 조사하였다.

Okazaki 등 (1994)² 전 시냅스성 낭포 (presynaptic vesicle)에 대한 항체를 사용해서 감소된 신경 말단부 (nerve terminal)를 지적하여 영아 비후성 유문협착증의 병인과 감소된 신경분포와의 관련성을 보고하였으며, Kobayashi 등 (1995)⁵과 Kobayashi 등 (1997)⁶ 영아 비후성 유문협착증 환자의 유문부의 환상근과 중근에서의 NCAM 면역 반응성의 감소에 대해서 발표하였다.

저자들은 태아 발생기간 중에 세포와 세포간의 부착물질로서 말초신경계의 발달과 기능에 중요한 역할을 하며 세포 표면 당단백질인 NCAM에 대한 조직면역화학염색을 시행하

여 영아 비후성 유문협착증의 유문부 신경발달 상태를 관찰하였다. 장근 신경총은 잘 형성되어 있고 근육다발 사이에 있는 신경총은 발견할 수 있었으나 근육다발내 각각의 근육세포에 분포하는 신경섬유의 발달은 정상 유문부보다 저조함을 확인할 수 있었다.

결 론

위의 결과로서 영아 비후성 유문협착증의 유문부 신경분포는 확실히 감소되어 있었으며 말초신경 발달이 정상적으로 발생하지 않았다. 따라서 이러한 유문부 신경분포의 감소가 이 질환의 원인 인자의 하나로 제시될 수 있다고 생각한다. 그러나 신경의 불완전한 발달이 유문부 근육의 비후의 2차적 결과인지 원인인지는 확인할 수가 없었으며, 이를 위한 더 깊은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Rogers IM: *The enigma of pyloric stenosis. Some thoughts on the aetiology.* Acta Paediatr 87:6-9, 1997
2. Okazaki T, Yamataka A, Fujiwara T, Nishiye H, Fujimoto T, Miyano T: *Abnormal distribution of nerve terminals in infantile hypertrophic pyloric stenosis.* J Pediatr Surg 129:655-658, 1994
3. Kobayashi H, O' Briain DS, Puri P: *Selective reduction in intramuscular nerve supporting cells in infantile hypertrophic pyloric stenosis.* J Pediatr Surg 29:651-654, 1994
4. Wattchow DA, Cass DT, Furness JB, Costa M, O' Brien PE, Little KE, Pitkin J: *Abnormalities of peptide containing nerve fibers in infantile hypertrophic pyloric stenosis.* Gastroenterology 92:443-448, 1987
5. Kobayashi H, O' Briain DS, Puri P: *Immunohistochemical characterization of neural cell adhesion molecule (NCAM), nitric oxide synthase, and neurofilament protein expression in pyloric muscle of patients with pyloric stenosis.* J Pediatr Gastroenterol Nutr 20:319-325, 1995
6. Kobayashi H, Webster T, Puri P: *Age-related changes in innervation in hypertrophic pyloric stenosis.* J Pediatr Surg 32:1704-1707, 1997
7. Vanderwinden J-M, Liu H, DeLaet M-H, Vanderhaeghen JJ: *Study of the interstitial cells of Cajal in infantile hypertrophic pyloric stenosis.* Gastroenterology 111:279-288, 1996
8. Edelman GM: *Cell adhesion and the molecular process*

- of morphogenesis. Am Rev Biochem* 43:135-169, 1985
9. Tam PKH: *An immunochemical study with neuron specific enolase and substance P of human enteric innervation-The normal development pattern and abnormal deviations in Hirschsprung's disease and pyloric stenosis. J Pediatr Surg* 21:227-232, 1996
 10. Malmfors G, Sundler F: *Peptidergic innervation in infantile hypertrophic pyloric stenosis. J Pediatr Surg* 21:303-306, 1986
 11. Dawson TM, Brecht DSW, Fotuhi M, Hwang PM, Snyder SH: *Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissue. Proc Natl Acad Sci USA* 88:7797-7801, 1991
 12. Hope BT, Michael GJ, Knigge KM, Vincent SR: *Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. Proc Natl Acad Sci USA* 88:2811-2814, 1991
 13. Sanders KM, Ward SM: *Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission. Am J Physiol* 262:G379-G392, 1992
 14. Vanderwinden J-M, Mailleux P, Schiffmann SN, Vanderhaeghen JJ, De Laet MH: *Nitric oxide synthase activity in infantile hypertrophic pyloric stenosis. N Engl J Med* 327:511-515, 1992
 15. Cass DT, Zhang AL: *Extracellular matrix changes in congenital hypertrophic pyloric stenosis. Pediatr Surg Int* 6:190-194, 1991