

## $^{60}\text{Co}$ 감마선 조사에 의한 꿩의 정세관 손상에 관한 조직학적 연구

이 동 명

군산전문대학 방사선과  
(1994년 8월 24일 접수)

### Histological study on the injury of the seminiferous tubules of the pheasant(*Phasianus colchicus*) following $^{60}\text{Co}$ $\gamma$ -irradiation

Dong-myung Lee

Department of Radiotechnology, Kun San Junior College  
(Received Aug 24, 1994)

**Abstract :** This study was undertaken to investigate histological changes according to the radiosensitivity in the spermatogenic cells in Korean native pheasants. During spermatogenic period, testes were collected from male adult Korean native pheasant and they were used as experimental and control birds. The experimental group was divided into a single-dose whole body irradiation group(400, 600, 800 and 1000 rads) and a split-dose whole body irradiation groups(400/2, 600/2, 800/2 and 1000/2 rads). A Henseky's  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -radiotherapy machine was used for this experiment and the dose rate of  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -ray was 104 rads/min.

The experimental birds were sacrificed at 24 and 72 hrs after irradiation and the control pheasants were sacrificed at the same time. General histological changes of seminiferous epithelial cells were observed by hematoxylin-eosin stain with light microscope.

The results obtained are summarized as follows ;

1. In the single-dose and the split-dose irradiation groups, the average diameter of the seminiferous tubule was decreased compared with control group.
2. Seminiferous epithelial cells were more severely damaged after 72 hrs than after 24 hrs of single-dose irradiation of 400, 600 and 800 rads but the difference of cell injury was almost not observable with the elapsed time in the group of the single-dose irradiation of 1000 rads.
3. The damage of spermatogenic cells were more severe after 24 hrs than after 72 hrs of the split-dose irradiation of 400 rads but the split-dose irradiation of 600, 800 and 1000 rads were more severe after 72 hrs than after 24 hrs.

**Key words :**  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -ray, seminiferous epithelial cells, pheasant, histological changes

방사선이 생체에 조사되어 방사선의 에너지가 생물체의 조직에 흡수되면 세포핵 속의 DNA사슬을 끊으로써 염색체의 이상을 일으켜 돌연변이와 유전적인 장애를 일으킨다는 사실은 많은 연구자들에 의하여 보고되어 왔다.<sup>1,2,6,25</sup> 또한 방사선에 대한 감수성의 차이는 세포 및 조직의 종류에 따라서 다른 바<sup>14,15,16,17,39,40</sup> 정조세포(spermatogonia)와 백혈구 등은 감수성이 높은 반면 근육세포와 신경세포 등은 감수성이 낮다는 사실도 널리 알려져 있다.<sup>7,10</sup>

방사선조사가 실험동물의 수컷생식선에 영향을 미쳐 비정상적인 번식활동을 야기시킴으로써 성숙한 마우스에서 일과성으로 불임이 된다는 보고가 있으며<sup>24,33,35</sup>, Dym과 Clermont(1970)<sup>11,12</sup>는 쥐의 고환에 X-ray를 조사한 후 정세관 상피 정조세포의 형태에 따라 방사선 저항성의 차이가 나타남을 보고하였고 Erickson과 Blend<sup>17</sup>는 <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -radiation을 미성숙 쥐에 조사했을 때 정세관의 Sertoli 세포와 미성숙 생식세포에서 감수성의 차이에 관한 보고를 하였으며, Van Alphen et al<sup>17</sup>은 X-ray를 조사후 원숭이의 정세관상피(semiferous epithelium)에서 정조세포의 형태가 변화되었음을 관찰하였다.

Van Alphen et al<sup>18</sup>은 Rhesus monkey에 방사선을 조사하고 일정기간 경과후 어느 형태의 정조세포에 영향이 있는지에 관한 연구를 수행하였다. 이와 같이 포유동물류에서는 방사선 조사에 따른 정세관의 손상에 관한 형태학적인 연구가 다각적으로 이루어지고 있다. 그러나 조류는 일반적으로 포유동물류보다 방사선에 저항성이 강하다고 알려져 있다.<sup>13,14</sup> 그러나 복강내에 생식선을 가지고 있는 조류에 방사선을 조사하여 정세관의 세포에 어떤 영향을 미치는 가에 관한 연구는 진전이 없는 상태이다. 그러므로 선량에 따른 조류의 생식세포 손상의 차이를 밝혀내고 어느 시점에서 정세관의 손상이 최고조에 이르는지를 조직학적으로 비교해 보는 것은 큰 의의가 있을 것으로 생각된다. 또한 단일조사와 분할조사에 따른 방사선 장애에 관한 연구는 각 포유동물류에서 많은 보고가 있으나<sup>9,18,26,36</sup> 조류의 고환에 대한 이러한 방법의 연구시도는 찾아볼 수 없으므로 본 연구는 계절번식하는 조류 중, 한국산 꿩을 대상으로 정자형성기에 방사선을 조사시켜 선량의 차이에 따라서 정세관내의 정자세포와 Sertoli cell에 미치는 영향과 단일조사와 분할조사에 따른 감수성의 차이를 조직학적으로 구명하고자 이 실험을 시도하였다.

가. 실험동물 : 성 성숙이 완료된 한국산 꿩 (*Phasianus colchicus*) 85수를 정자형성이 왕성한 4-6월 경에 사육장에서 구입하여, 실험기간 동안 인공사육지침에 따라 전북대학교 수의과대학 사육장에서 삼양유지사료로 사육시키면서 실험에 이용하였다.

나. 실험군 처리 및 실험동물 배정 : <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -ray 조사 방법은 Henseky의 방사선조사기기(USA NIOK CO)를 사용하여 조사야(15x20cm)를 결정하고 선원-피층간거리(source-skin distance)를 40cm로 하였으며 방사선 조사량은 400, 600, 800 및 1000 rads로 하고(선량율:104rads/min), 단일조사(single-dose irradiation)군(실험군 I)과 분할조사(split-dose irradiation)군(실험군 II)으로 구분하여 전신조사(whole body irradiation)하였다. <sup>60</sup>Co  $\gamma$ -ray 단일조사의 경우는 상기 선량에 따라 방사선 조사 24시간과 72시간후에, 각 실험군에서 5마리씩 희생시켰으며 분할조사는 각 조사선량을 2회로 분할(분할간격시간:4시간)하여 단일조사 실험군과 동일한 방법으로 5마리씩 희생시켜 실험에 사용하였다.

다. 정세관의 계측 : 대조군과 각 실험군의 조직표본에서 원형 정세관을 25-30개 택하여 정세관의 직경을 미측계(micrometer)를 이용하여 광학현미경하에 계측하고 SAS(Statistical Analysis System) 방법에 의하여 Duncan's Multiple Range Test로 통계 처리하였다.

라. 광학현미경적 관찰 : 각 실험기간에 따라 꿩을 경동맥 방혈로 희생시킨 후 복강을 절개하고 복대동맥 양측에 위치한 고환을 즉시 적출하여 Bouin액에 48시간 고정시켰다. 이 조직은 일반적인 paraffin 표본제작 방법에 따라 포매한 조직을 조직 박절기로 6 $\mu$ m 두께의 조직표본을 제작하고 Hematoxylin-Eosin으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

가. 정세관의 계측 : 대조군과 실험군 각 군별 정세관의 직경을 계측한 결과는 Table 1과 같다. 단일조사 600 rads군 24시간과 72시간 경과군을 제외한 단일조사와 분할조사의 모든 실험군은 대조군에 비하여 통계적으로 5% 수준의 유의성 있는 변화가 나타났다. 단일조사와 분할조사 24시간 경과군은 선량에 따라 통계적 유의성은 없었으나 1000 rads 단일조사 72시간 경과군에서는 5% 수준의 유의성 있는 변화를 나타내었다.

Table 1. Changes in size of seminiferous tubule according to irradiated dose and time (Unit :  $\mu\text{m}$ )

Control group		245.33 ± 29.93*	
Experimental group		After 24 hours	Ater 72 hours
Single-dose	400 rads	220.98 ± 31.74 <sup>bcd</sup>	214.96 ± 34.34 <sup>bcd</sup>
	600 rads	228.32 ± 34.45 <sup>ab</sup>	225.41 ± 23.00 <sup>abc</sup>
	800 rads	210.72 ± 47.93 <sup>bcd</sup>	218.59 ± 33.60 <sup>bcd</sup>
	1000 rads	204.90 ± 33.09 <sup>cdef</sup>	184.66 ± 43.15 <sup>fg</sup>
Split-dose	400 rads	176.29 ± 22.81 <sup>g</sup>	185.40 ± 36.39 <sup>fg</sup>
	600 rads	179.31 ± 32.25 <sup>g</sup>	202.14 ± 36.04 <sup>def</sup>
	800 rads	191.91 ± 23.09 <sup>efg</sup>	153.56 ± 24.60 <sup>h</sup>
	1000 rads	176.97 ± 34.91 <sup>g</sup>	206.86 ± 27.99 <sup>bcd</sup>

1) Means followed by a common letter within a column are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

나. 일반조직표본의 광학현미경적 관찰

1. 대조군 : 정세관의 가로절편에서는 구형 또는 타원형으로 잘 발달된 세포들이 관찰되었다. 기저막(basement membrane) 인접부에 있는 정조세포는 그 형태가 구형이고 염색질이 뚜렷한 핵을 간직하고 있었으나 정조세포의 형태적 차이는 명확하지 않았다. 정조세포 사이에서 일정한 간격으로 배열된 Sertoli 세포는 핵소체(nucleolus)가 명확하게 관찰되었다. 기저부에서 관강을 향하여 배열된 정모세포(spermatocytes)는 세사기(leptotene), 비후기(pachytene) 등의 분열상을 인정할 수 있으며 감수분열 전기의 정모세포들이 관강을 향하여 일정 간격으로 배열되어 있다. 관강 인접부에 잘 발달된 정자세포(spermatid)와 성숙된 정자(spermatozoa)가 7-8내지 15-16개의 묶음으로 나타나며 정자의 머리(head)는 기저막을 향하고 있었다. 관강내에서는 정자세포와 Sertoli 세포의 세포질의 탈락물로 보이는 호산성 물질이 나타났고 성숙한 정자들이 유리되는 것도 관찰되었다(Fig 1a, 2b).

2. 실험군 I (방사선 단일 조사군)

가) 400 rad 조사군 : 24시간 경과군의 정세관은 기저막의 일부분에서 물결모양 주름을 형성하고 정자세포들의 배열상이 부분적으로 분산되었으며 정모세포들 사이에 공포(vacuole)가 출현하였다. 정조세포의 일부의 핵은 핵농축(pyknosis)현상이 나타나고 몇 묶음의 정자들이 관강으로 유리되는 것이 관찰되었다(화살표)(Fig 2a). 72시간 경과군의 정세관 기저막은 심한 물결모양 주름이 형성되고 수축현상이 나타났으며, 정세관

의 기저부에 배열된 정조세포가 기저막으로부터 부분적으로 유리되고 정조세포의 부분적인 핵농축과 후사기의 정모세포들이 감소된 것을 관찰할 수 있었다(Fig 2b).

600 rad 조사군 : 24시간 경과군의 정세관 기저막에서 심한 물결 모양의 주름이 400 rad 조사군에 비하여 광범위하게 나타나고(화살표) 기저부 인접부에 다수의 정조세포들은 핵융해(karyolysis)현상이 관찰되었다(Fig 3a). 72시간 경과군의 정세관 기저막은 물결모양 주름을 형성하고 정조세포는 핵농축현상이 나타났으며 부분적으로 핵융해된 세포들도 발견할 수 있었다. 또한 정조세포 배열부위에서는 세포손상이 많아 세포가 분산되는 것이 관찰되었다(양측화살표). 수개의 정자가 기저막 가까이에 위치하고 있는 것도 볼 수 있었다(굵은 화살표)(Fig 3b).

다) 800 rad 조사군 : 24시간 경과군의 정세관에서는 감수분열 전기에 있는 후사기의 세포들만이 많이 나타나고 정자세포들이 정모세포들 사이에서도 관찰할 수 있었다(Fig 4a). 72시간 경과군에서는 정세관 기저막의 물결모양 주름이 24시간 경과군에 비하여 광범위하게 나타났으며 감수분열 전기의 세포들이 현저하게 감소되었다. 또한 정모세포가 부분적으로 탈락된 것이 관찰되었다(Fig 4b).

라) 1000 rad 조사군 : 24시간 경과군에서 정세관 기저막과 간질조직(interstitial tissue)이 확연하게 유리되었다. 정조세포가 다수 괴사되고 공포를 형성하며 일

부에서는 정모세포의 감수분열현상이 현저히 감소되고 정자세포가 탈락(양측화살표)되어 관강으로 유리되는 것이 관찰되었다(Fig 5a). 72시간 경과군 정세관 기저막은 전반적으로 물결모양 주름이 나타나고 기저층의 일부가 유리된 것이 관찰되었다(Fig 5b).

### 3. 실험군 II (방사선 분할 조사군)

가) 400 rad 분할 조사군 : 24시간 경과군에서 정세관 기저막은 물결모양 주름을 형성하고 정조세포와 정모세포가 괴사되거나 공포를 형성하고(화살표) 분열기의 정모세포가 심한 장애를 받고 정자세포의 다발이 정조세포가 위치한 기저막 인접부에서도 관찰되었다. 세포변성이 뚜렷한 정자세포들이 일정한 간격을 두고 관강내로 탈락되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig 6a). 72시간 경과군에서 정세관 기저막이 물결모양 주름을 형성하고 정조세포와 정모세포가 변성되어 탈락되고 정자세포가 정조세포에 근접되어 출현하는 것을 관찰하였다(Fig 6b).

나) 600 rad 분할 조사군 : 24시간 경과군에서 정세관 기저막은 부분적으로 물결모양의 주름을 형성하고 일부의 정모세포와 정자세포가 형성하는 세포군들이 일정한 간격을 두고 탈락되었으며(화살표) 정조세포들은 대부분 남아 있었으나 정자세포와 Sertoli 세포의 세포돌기 탈락물을 관강내에서 쉽게 관찰할 수 있었다(Fig 7a). 72시간 경과군에서는 정자의 다발에서 탈락된 일부의 정자가 기저막 가까이에 위치하고 있었다. 그 중 일부는 정조세포 배열 부위(화살표)까지 근접되어 관찰되고 정자세포의 탈락물이 관강내에서 산재되어 나타났다(Fig 7b).

다) 800 rad 분할 조사군 : 24시간 경과군에서 정세관 기저막이 심한 물결모양 주름을 형성하고(화살표) 정자세포가 부분적으로 분산되어 있고 정자다발의 일부가 기저막 인접부에서도 관찰되었다(Fig 8a). 72시간 경과군의 정세관 기저막이 심한 물결모양 주름을 형성하였고 소수의 정모세포를 제외하고 변성된 정자세포가 산재되어 나타났다. Sertoli세포의 세포돌기 잔여물과 다수의 정자들이 관강내에 분산되어 나타났다(Fig 8b).

라) 1000 rad 분할 조사군 : 24시간 경과군에서 정세관 기저막이 심하게 물결모양의 주름을 형성하였고 정조세포와 정자세포가 변성되어 나타났으며 정모세포가 위치한 부위에서 부분적으로 큰 공포도 관찰되었다. 정조세포 일부가 기저막으로부터 유리되어 나타났으며 부분적인 핵농축 및 핵용해현상도 쉽게 관찰할 수 있었다(Fig 9a). 72시간 경과군에서는 정세관 기저막이 간질조직으로부터 유리되어 나타났으며 정모세포들에서

핵의 농축과 세포의 형태가 부정형으로 되는 것도 관찰되었고 정자세포 및 정자가 관강내에 산재되어 나타났다(Fig 9b).

## 고 찰

방사선에 조사된 성숙 설치류의 고환은 생식세포의 방사선 감수성(radio-sensitivity)을 연구하는 중요한 모델로 이용되어 왔다.<sup>15,27,28,29,43</sup>

방사선은 선량에 따라 일시적 또는 영구적인 불임을 야기하고 돌연변이와 염색체 장애를 유발시키는 것으로 알려져 있고 정조세포의 재생과 분화의 정도를 입증하기 위해서 중등도 선량의 방사선을 조사시키면 방사선 저항성이 있는 줄기세포(stem cell)를 제외하고 모든 정조세포가 선택적으로 치사되는 것이 연구보고된 바 있다.<sup>4,11,12,21</sup>

Huckins<sup>20</sup>는 정조세포가 세포간교(intercellular bridges)에 의해서 결합되어 있기 때문에 정조세포가 분화되거나 변성되는데 중개적인 역할을 할 수 있으며 정조세포군이 동시 발생하는 것도 이 세포간교가 있기 때문이라 하였다. 고환내의 정조세포가 정상시와 방사선 조사에 의하여 일어나는 변성은 이 구조의 존재에 따라서 결정된다고 하였으며 생식세포의 발달에도 중요한 역할을 한다고 하였다. 본 실험에서 방사선조사 실험군의 세포의 변화상이 거의 동시에 변성을 초래한 것은 Huckins<sup>20</sup>의 보고와 같이 세포간교가 일률적으로 형태변화를 일으키는 역할을 한 것으로 믿어지며 정모세포의 분산이나 정자세포가 일정 간격을 두고 탈락되거나 세포변성 등을 일으키는 것도 비슷한 양상으로 관찰되었다.

Pinon-Lataillade<sup>34</sup>는 성숙한 쥐에 저선량률(7cGy와 12cGy/day)로써 총용량이 9.1Gy와 10.69Gy의 <sup>60</sup>γ-ray를 3일부터 131일에 걸쳐 각기 조사한 후 장기간에 걸쳐 관찰한 바 형태적인 변화상은 A 정조세포와 세사전기 정모세포(preleptotene spermatocytes)가 일차적으로 영향을 받았고 이어서 선량에 따라 비후기 정모세포(pachytene spermatocytes)의 숫자가 감소되고 원형의 정자세포(round spermatids)와 후기 정자세포(late spermatids)가 영향을 받는다고 하였다. Kangasniemi<sup>23</sup>는 성숙한 Sprague-Dawley계 흰쥐를 실험동물로 사용하여 300 rads의 X-ray를 조사한 후 7일 후에는 정세관의 정조세포와 초기 1차 정모세포가 정세관 기저막으로부터 없어졌다고 보고하였다. Oakberg<sup>30</sup>는 후기 A, 중간 및 초기 B 정조세포는 <sup>60</sup>Co γ-ray 조사에서 감수성이

일정하다고 보고하였으며 Erickson<sup>14</sup>과 Withers et al<sup>43</sup>과 다른 연구자들<sup>27,28</sup>은 방사선 조사후 생식세포의 재생에 관하여 보고하였다.

Oakberg<sup>31,32</sup>는 쥐에 저선량의 방사선을 조사한 후 많은 정조세포의 변성이 발생하였다고 보고하였으며 특히 생쥐에 150 rads를 전신조사시키면 생식줄기세포를 제외한 거의 모든 정조세포의 재생력이 없어진다고 보고하였으며 Withers et al<sup>43</sup>은 쥐에서 줄기세포 생존률의 측정방법으로 하나의 줄기세포가 생존해 있으면 정자상피세포를 재생시킬 수 있다고 하였다. 이와같은 설치류 실험동물에서 실시한 저선량에서 정조세포의 변화상은 본 실험의 400 rads 조사군에서 나타난 조직변화상과 상당한 차이를 보이는 것으로 보아 조류인 꿩에서는 방사선에 대한 저항성에 차이가 있음을 알 수 있다.

본 실험에서는 1000 rads 단일조사군에서 정조세포가 심한 공포변성을 일으키고 정모세포의 감수분열 현상이 현저히 감소되는 것으로 나타났으며 정자세포가 탈락되어 관강으로 유리된 것이 관찰되었다. 이는 Oakberg<sup>30</sup>와 다른 연구자들<sup>16,22,29</sup>이 방사선 감수성에 관한 실험에서 정조세포는 미분화상태이므로 방사선에 더욱 민감하여 많은 장애를 받는다는 보고와 일치하여 정조세포가 일차적으로 심한 손상을 받는 것으로 사료된다.

본 실험에서는 800 rads 조사군중 24시간 및 72시간 경과군에서 정조세포들의 괴사와 핵융해가 나타나며 정조세포와 정모세포들은 대부분 비대되거나 괴사되어 소실되었고 많은 공포가 나타나는 조직소견을 볼 수 있었다. 정조세포는 포유동물류와 같이 A 정조세포가 명료하게 구분되지는 않았으나 정조세포가 400 rads 단일조사 72시간부터 심한 장애를 받고 정세관의 정조세포의 배열은 기저막으로부터 부분적으로 이탈되었으며 비후기의 정모세포들이 감소된 것이 관찰되는 바 저선량에서도 이와 비슷한 조직변화상이 선량에 따라 차이가 있는 것으로 보아 정조세포가 정모세포에 비하여 감수성이 높은 것으로 추정되나 정조세포의 형태적 차이를 구별하기 위해서는 본 실험에서 사용한 선량보다 저선량에서 장기적으로 세포의 변화상을 관찰할 필요가 있다고 생각된다.

Gunawardana<sup>19</sup>는 닭에서 정자세포의 형태를 광학현미경적으로 관찰 보고하였으며 국내의 보고로는 한<sup>46</sup>이 닭에서, 이와 박<sup>45</sup>은 오리에서, 김과 박<sup>44</sup>은 메추리에서 성장기별로 정자형성세포의 정자형성과정에 관한 연구를 시도하였다. 그러나 꿩에서 정자형성단계나 정세포 발생주기에 관한 연구는 진전이 없는 상태이다. 닭과

같은 형제목인 꿩에서도 정자형성주기는 유사할 것으로 생각된다. 그러나 이 정조세포의 명확한 형태적 차이를 체계적으로 연구한다면 Clermont와 Antar<sup>3</sup>가 원숭이에서 Ap 정조세포와 Ad 정조세포 및 B 정조세포를 구별한 것과 같이 방사선 감수성 차이를 포유동물류와 비교할 수 있을 것으로 사료된다.

Van Vliet et al<sup>41</sup>은 분할 조사 후의 생식줄기세포 생존률이 단일조사 후보다 현저히 낮았다고 보고하였으며 이 결과는 De Ruiter-Bootsma et al<sup>49</sup>이 CBA 생쥐에 분할조사한 생식줄기세포가 한번 방사선조사를 받은 후에는 방사선 감수성이 증가하므로 생존률이 낮고 하는 견해와 일치되는 것이다.

본 실험에서도 방사선을 분할조사한 경우가 단일조사한 경우보다 더 많은 생식줄기세포들이 괴사되었을 뿐만 아니라 정조세포 분화도 장애를 받는 바 이 결과는 Van den Aardwet<sup>42</sup>가 주장한 정자형성의 변화가 생식세포 생존률의 감소와 더불어 미분화의 상태로 오랫동안 남아있기 때문이라는 견해에서 근거를 제시할 수 있으리라 생각된다. 또한 본 실험에서 조사선량이 증가함에 따라 24시간 경과군부터 방사선 장애가 더욱 증가되었으며 단일조사와 비교하여 기저막이 더욱 장애의 정도가 더욱 심한 것으로 관찰되었다. 방사선 분할조사 400 rads 24시간 경과군이 단일조사군에서 보다 더 많은 손상을 입은 것은 De Ruiter-Bootsman et al<sup>48</sup>이 보고한 방사선에 한번 노출된 세포는 방사선 감수성이 증가되어 두번째 노출시는 더 많은 장애를 받는다는 것과 유사한 결과를 얻었다. 또한 방사선 분할조사 400 rads 24시간 경과군이 72시간 경과군보다 더 많은 장애를 받은 것은 저선량에서는 24시간 경과군에서 아치선량을 받은 세포들이 72시간 경과군에서 회복된 양상을 보였으므로 이에 관한 회복기에서의 세포변화상에 관련된 연구는 앞으로 더욱 추구되어야 할 것이다.

방사선이 생체에 조사되면 방사선의 에너지가 생물의 조직에서 흡수되어 전리와 여기분자(exiting molecule)를 생성하는 물리적 단계를 거쳐 1차 생성물인 이온(ion)과 유리기(free radical)가 생성되는 등 방사선으로 인한 직접효과와 간접효과로 인하여 염색질 DNA사슬을 끊어 염색체의 구조에 변화를 일으켜 단백질의 변성을 초래함으로써 각종 방사선 장애가 나타날 수 있다는 보고가 있다.<sup>1,5,13,25</sup>

Erickson과 Blend<sup>17</sup>는 미성숙 쥐의 고환에 <sup>60</sup>Co γ-ray를 조사한 후 출생 4일 전의 gonocyte는 방사선 감수성이 높았고 출생후 4-15일된 동물의 Sertoli 세포들은 가장 영향을 많이 받는 세포라고 보고하였다. 이 보고에 의하면 100 rads를 조사하였을 때 Sertoli 세포들

은 대조군에 비하여 63%로 감소되고 2일 경과한 실험군 중에서는 9일째 가장 심한 변화를 나타냈으며 400 rads를 조사하고 9일된 고환의 정자의 수효는 대조군에 비하여 21%로 감소되었다. 또한 출생전 20일과 출생 후 4일 사이에 300 rads를 조사받은 줄기세포는 영구적으로 감소하였으나 성숙한 쥐에서는 600 rads 조사하면 이와 비슷한 장애를 나타낸다고 하였다. 본 실험에서도 방사선 분할조사 400 rads 조사군의 24시간 경과군에서 정세포와 정모세포의 핵이 농축되거나 소실되었으며 공포를 형성하고 정자세포들이 세포변성을 일으켜 방사상으로 관강내로 탈락되는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 방사선량이 증가될 수록 이러한 현상은 더욱 심화되었다. 방사선 단일조사 600 rads 조사군 72시간 경과군에서는 정자발생상피세포가 기저막으로부터 유리되고 세포가 부분적으로 사멸되는 것으로 보아 포유동물류에서의 연구와 유사한 소견을 나타내었다. 특히 방사선 분할조사 400 rads의 72시간 경과군에서 정자가 기저막 가까이에서 관찰되는 것은 방사선 조사로 인하여 정자가 Sertoli 세포의 세포질돌기로부터 관강으로 탈락되고 일부 세포질돌기로부터 탈락된 정자가 기저막 근처의 정세포 사멸부위까지 흩어져 나타난 것으로 생각된다. 정세포와 Sertoli 세포의 방사선에 대한 저항성 및 구조적인 변화를 알아보기 위해서는 실험동물에 방사선을 저선량으로부터 단계적으로 증가시켜 세포질내 세포소기관의 변화상태를 전자현미경적 관찰이나 면역화학적 방법으로 구명할 수 있으리라 생각된다.

$^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 선 조사가 한국산 평의 정세관내의 정자 형성 세포와 Sertoli 세포에 미치는 영향을 조직학적으로 구명하였고, 실험동물로서는 성 성숙이 완료된 한국산 평을 대조군과 실험군으로 나누었으며, 실험군은  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 선 조사를 1회 조사군과 2회 분할조사군으로 구분하고 조사선량은 400, 600, 800 및 1000 rads군으로 세분하여 실험을 시행하였다.

방사선 조사는 실험동물에 전신조사 방법(whole-body irradiation)을 사용하고 선량별로  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 선원을 이용하였으며 선량율은 104 rad/min이었다. 방사선 조사후 24시간 경과군과 72시간 경과군의 정세관의 일반적인 조직학적 변화를 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin 염색을 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정세관의 평균직경은 방사선 조사군이 대조군에 비하여 방사선 선량이 증가함에 따라 감소되는 경향이 있었다.
2. 방사선 단일조사군에서의 정자형성 상피세포의 손상은 방사선 단일조사 400, 600 및 800 rads군에서 24시간 경과군보다 72시간 경과군이 심하게 나타났고 1000rads군에서는 시간경과에 따른 차이가 없었다.
3. 방사선 분할조사에서의 정자형성 상피세포의 손상은 400 rad군에서 24시간 경과군의 손상이 72시간 경과군에 비하여 심하게 나타났으나 600, 800 및 1000 rads에서는 24시간 경과군보다 72시간 경과군에서 보다 심하게 나타났다.

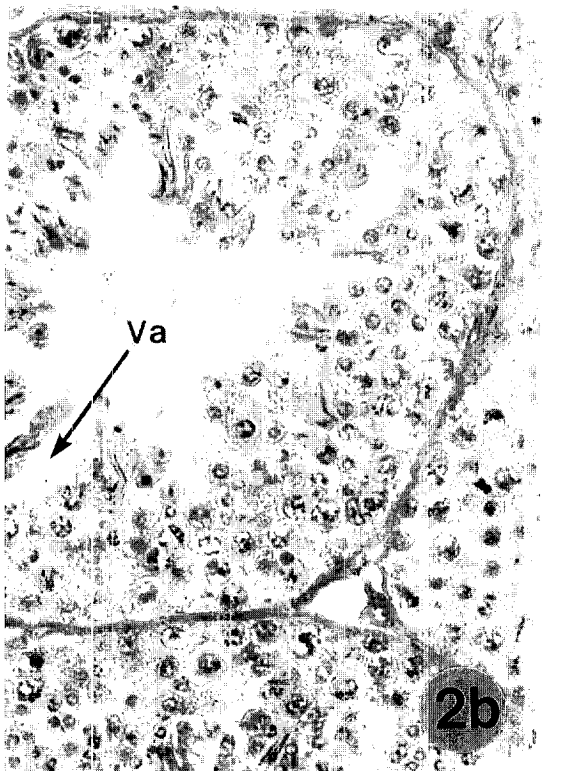
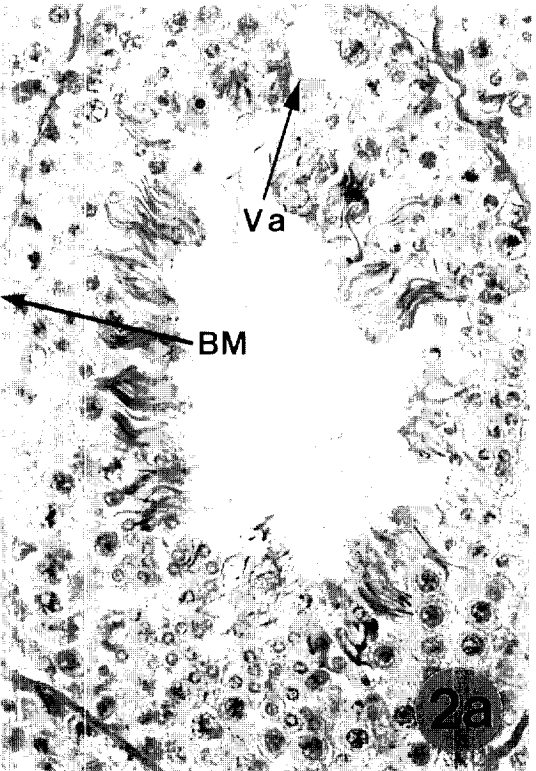
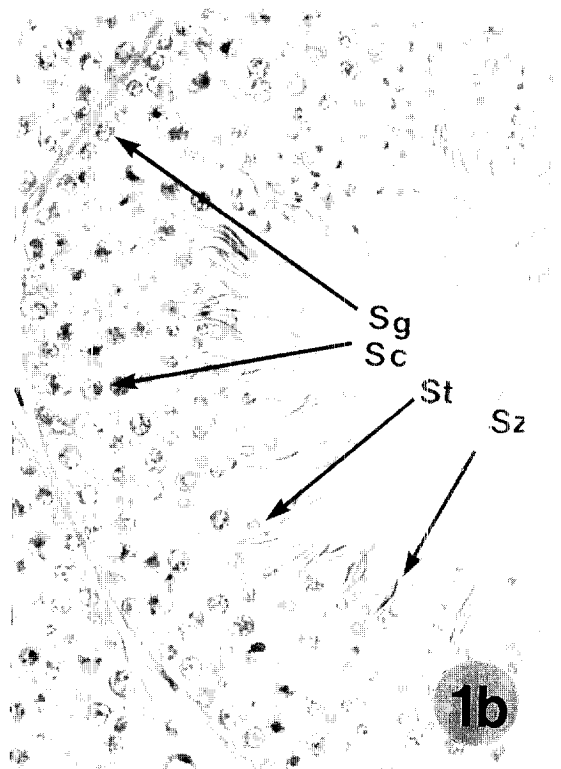
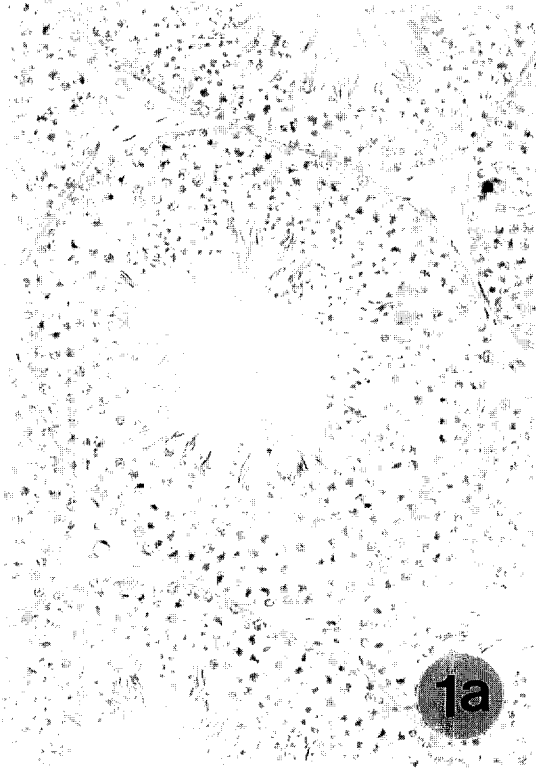
Legends for figures

- Fig 1a & 1b : A photomicrograph of the normal pheasant testis. Seminiferous tubules were well developed and Sertoli cells were arranged in good order and their nucleus were very distinctive in appearance. Leptotene and pachytene stages of spermatocytes(Sc) appeared distinctly and spermatocytes of prophase were well arranged toward the lumen. Well developed spermatid(St) and matured spermatogonia(Sg) appeared as bundles consist of 7-8 to 15-16 spermatozoa(Sz) near the lumen. X200 and X400.
- Fig 2a. A photomicrograph of 24 hrs after single-dose irradiation of 400 rads to the pheasant testis. The basement membrane(long arrow) was folded partially. The spermatocytes were dispersed partly. Vacuoles were observed in the spermatocytes and pyknosis of spermatogonia was also observed. X 400.
- Fig 2b. A photomicrograph of 72 hrs after single-dose irradiation of 400 rads to the pheasant testis. The spermatogonia of seminiferous tubule were observed to be deciduous from the basement membrane. The seminiferous tubule showed shrinkage and some spermatogonia appeared to be pyknotic change. The pachytene spermatocyte observed to be reduced. X 400.

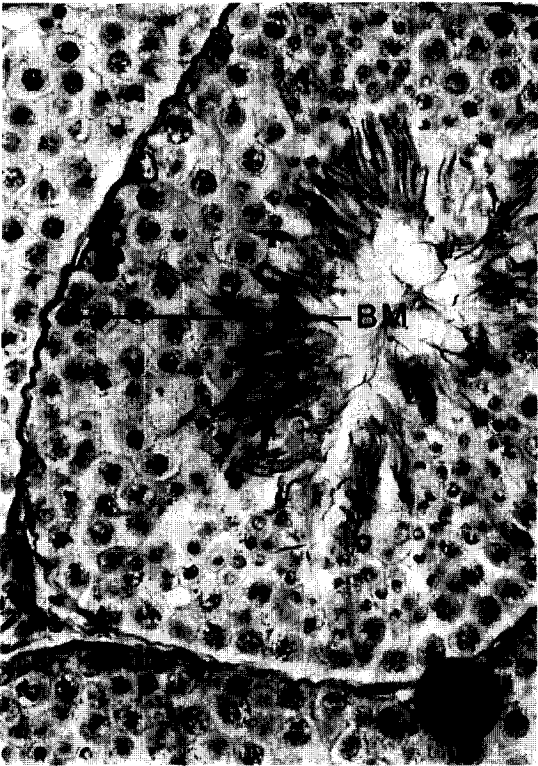
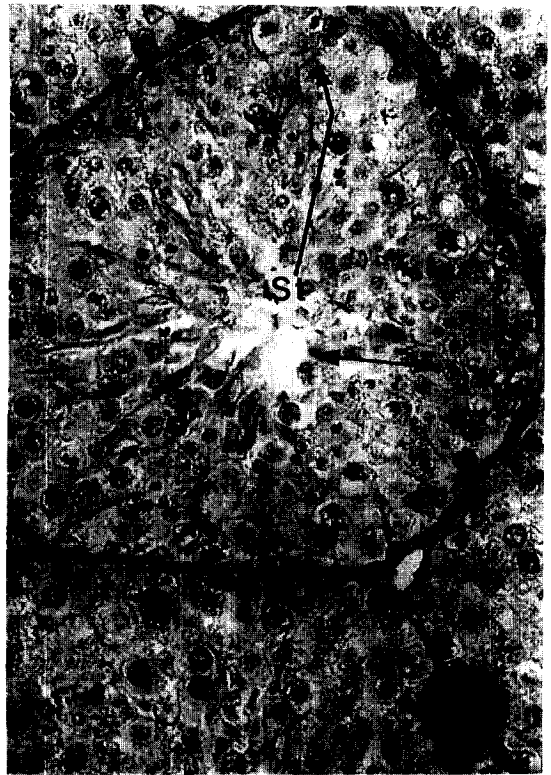
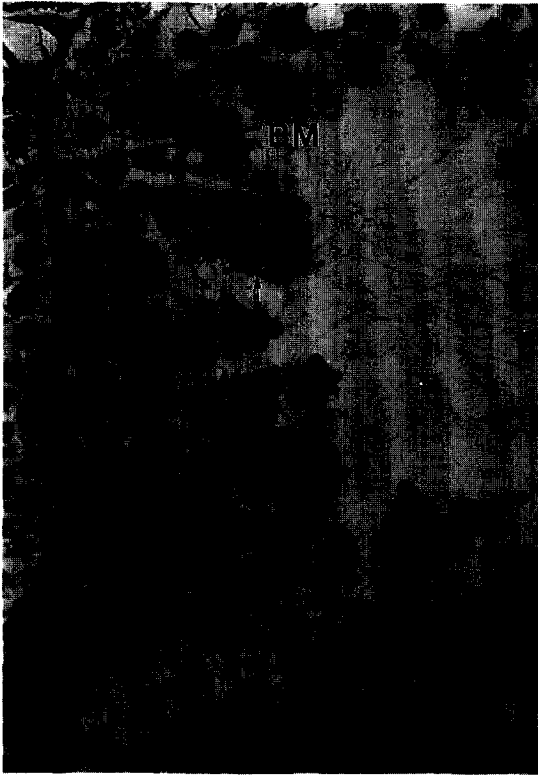
- Fig 3a. A photomicrograph of 24 hrs after single-dose irradiation of 600 rads to the pheasant testis. The pyknosis of spermatogonia was observed near the basement membrane. X 400.
- Fig 3b. A photomicrograph of 72 hrs after single-dose irradiation of 600 rads to the pheasant testis. The cells at the spermatocytes were severely damaged and they were observed to be dispersed(double headed arrow). Some spermatozoa were seen near the basement membrane(bended arrow). X 400.
- Fig 4a. A photomicrograph of 24 hrs after single-dose irradiation of 600 rads to the pheasant testis. Spermatids were observed between the Spermatocytes. X 400.
- Fig 4b. A photomicrograph of 72 hrs after single-dose irradiation of 800 rads to the pheasant testis. Folding was appeared widely in comparison with 24 hrs group of 800 rads. X 400.
- Fig 5a. A photomicrograph of 24 hrs after single-dose irradiation of 1000 rads to the pheasant testis. The large number of spermatogonia formed vacuoles and meiosis of spermatocytes was diminished. Spermatocyte was observed to be dispersed into the lumen. X 400.
- Fig 5b. A photomicrograph of 72 hrs after single-dose irradiation of 1000 rads to the pheasant testis. Basement membrane were folded and partial basement membrane was seperated partially from the interstitial cell. X 400.
- Fig 6a. A photomicrograph of 24 hrs after split-dose irradiation of 400 rads to the pheasant testis. Spermatogonia and spermatocytes were disappeared and vacuoles(arrow) were formed. Some piece of bundle of spermatozoa were appeared near the basement membrane. X 400.
- Fig 6b. A photomicrograph of 72 hrs after split-dose irradiation of 400 rads to the pheasant testis. Spermatogonia and spermatocytes were degenerated and deciduous. Spermatids were appeared near the spermatozoa. X 400.
- Fig 7a. A photomicrograph of 24 hrs after split-dose irradiation of 600 rads to the pheasant testis. Partial column of spermatogonia and spermatocytes(arrow) was deciduous with even interval. Spermatocytes were observed in the lumen. X 400.
- Fig 7b. A photomicrograph of 72 hrs after split-dose irradiation of 600 rads to the pheasant testis. Heads of spermatozoa(arrow) were situated near the basement membrane. The remnants of spermatocytes were scattered in the lumen. X 400.
- Fig 8a. A photomicrograph of 24 hrs after split-dose irradiation of 800 rads to the pheasant testis. Spermatids were partly appeared to be scattered and some piece of bundle of spermatozoa were observed near the basement membrane. X 400.
- Fig 8b. A photomicrograph of 72 hrs after split-dose irradiation of 800 rads to the pheasant testis. Remnants of cytoplasmic process of Sertol cell and spermatids were disappeared in the lumen. X 400.
- Fig 9a. A photomicrograph of 24 hrs after split-dose irradiation of 1000 rads to the pheasant testis. A part of stem cell were appered to be isolated from the basement membrane(arrow). X 400.
- Fig 9b. A photomicrograph of 72 hrs after split-dose irradiation of 1000 rads to the pheasant testis. Basement membrane was appeared to be isolated from the interstitial cell. X 400.

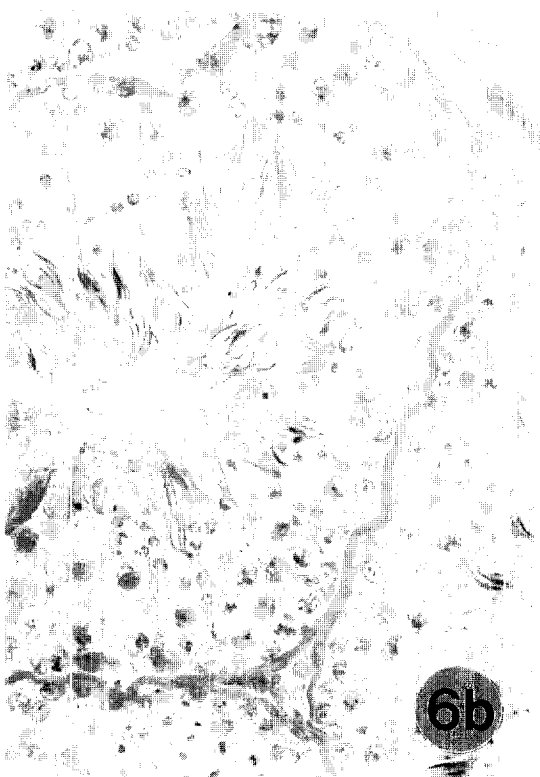
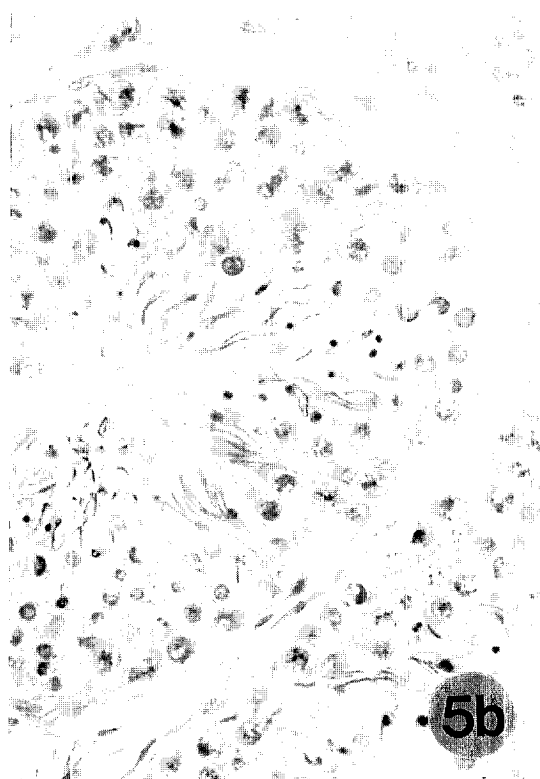
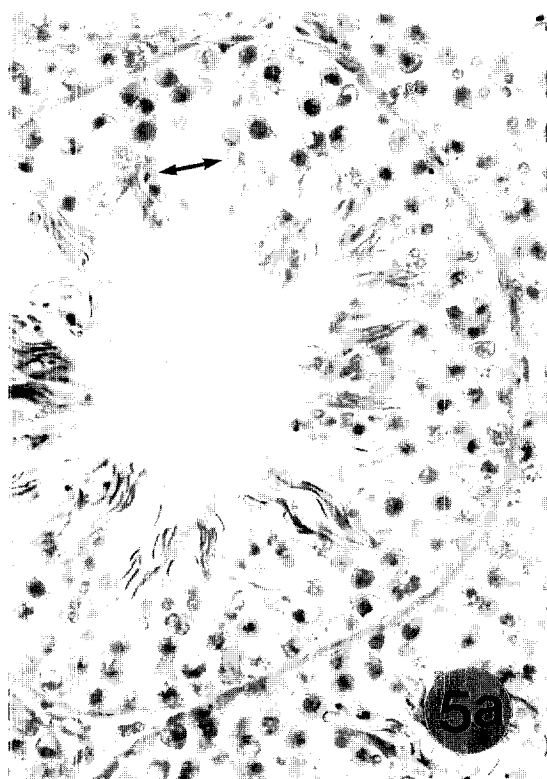
## 참 고 문 헌

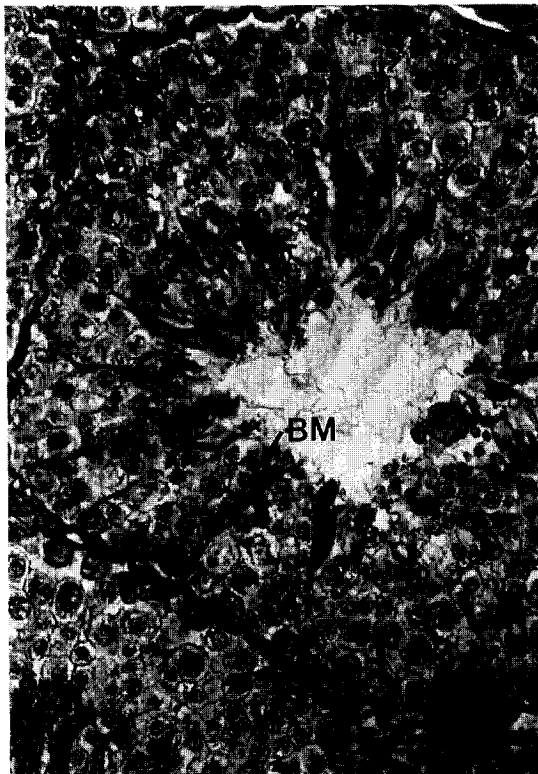
1. Bender MA, Griggs HG, Bedford JS. Mechanisms of chromosomal aberration production. III, Chemical and ionizing radiation. *Mutat Res* 1974; 23: 197-212.
2. Cattanaeh BM, Murray I, Tracy JM. Translocation yield from the immature mouse testis and the mature of spermatogonial stem cell heterogeneity. *Mutat Res* 1977; 44: 105-117.
3. Clermont Y, Antar M. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium and the spermatogonial renewal in the monkey, *Macaca arctiodes*. *Am J Anat* 1973; 136: 153-166.
4. Clow DJ, Gillette EL. Survival of type A spermatogonia following X-irradiation. *Radiat Res* 1970; 42: 397-404.
5. Coogan TP, Rosenblum IY. DNA double-strand

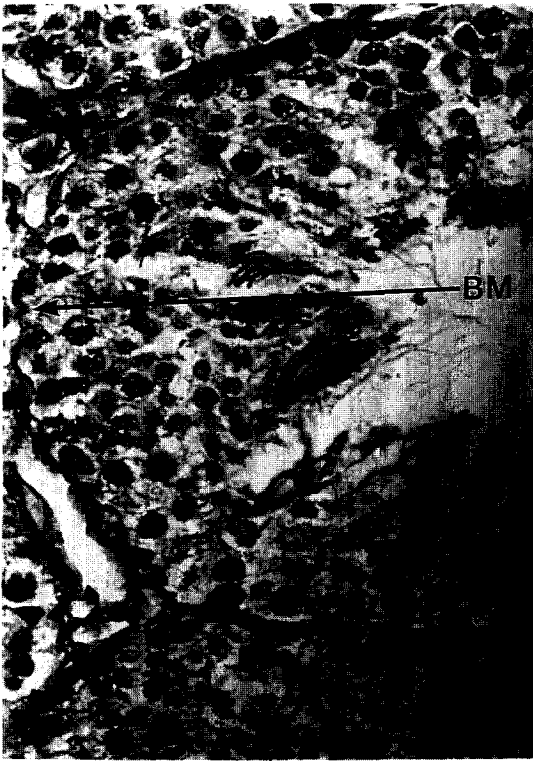












damage and repair following  $\gamma$ -irradiation. *Mutat Res* 1988; 194: 183-191.

6. Covelli V, Di Majo V, Bassani B, et al. Influence of age life shortening and tumor induction after x-ray and neutron irradiation. *Radiat Res* 1984; 100: 348-364.

7. Davids JAG. Acute effects of 1 MeV fast neutrons on the haematopoietic tissues, intestinal epithelium and gastric epithelium in mice. In *Advances in Radiation Research*(Duplan JF, Chapiro A, Eds), Gordon and Breach, New York/London/Paris, *Biology and Medicine* 2: 565-576.

8. De Ruiter-Bootsma AL, Kramer MF, de Rooij DG, et al. Response of stem cells in the mouse testis to fission neutron of 1 MeV mean energy and 300 kV X-rays. Methodology, dose-response studies, relative biological effectiveness. *Radiat Res* 1976; 67: 56-68.

9. De Ruiter-Bootsma AL, Kramer MF, de Rooij DG, et al. Survival of spermatogonial stem cells in the mouse after split-dose irradiation with fission neu-

trons of 1 MeV mean energy of 300 kV X-rays. *Radiat Res* 1977; 71: 579-592.

10. Denekamp J, Rojas A. Cell kinetics and radiation pathology. *Experimental(Basal)* 1989; 45: 33-41.

11. Dym M, Clermont Y. Effects of X-rays on type A spermatogonia in the rat. *Anat Rec* 1967; 157: 238-243.

12. Dym M, Clermont Y. Role of spermatogonia in the repair of the seminiferous epithelium following X-irradiation of the rat testis. *Am J Anat* 1970; 128: 265-282.

13. Elkind J, Hall MAD Sc. *Radiology for the Radiologist*, Harper & Row Co, New York 1972; 205-271.

14. Erickson BH. Effects of gamma-irradiation on the primitive germ cells of the prepubertal bovine testis. *Int J Radiat Biol* 1963; 7: 361-367.

15. Erickson BH. Effect of  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -radiation on the stem and differentiating spermatogonia of the postpubertal rat. *Radiol Res* 1976; 68: 433-448.

16. Erickson BH, Reynolds RA, Brooks FT. Differen-

- tiation and radioresponse(dose and dose rate) of the primitive germ cell of the bovine testis. *Radiat Res* 1972; 50: 388-400.
17. Erickson BH, Blend MJ. Response of the Sertoli and stem germ cell to  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -radiation(dose and dose rate) in the testes of immature rats. *Biol Reprod* 1976; 14: 641-650.
  18. Fogg LC, Cowing RF. Effects of fractionated doses of x-radiation on normal and tumor tissue. *Cancer Res* 1953; 13: 321-326.
  19. Gunawardana VK. Stages of spermatids in the domestic fowl: A light microscope study using Araldite sections. *J Anat* 1977; 123: 351-360.
  20. Huckins C. Spermatogonial intercellular bridges in whole-mounted seminiferous tubules from normal and irradiated rodent testes. *Am J Anat* 1978; 153: 97-122.
  21. Huckins C, Oakberg EF. Morphological and quantitative analysis of spermatogonia in mouse testes using whole mounted seminiferous tubules. II. The irradiated testes. *Anat Res* 1978; 192: 529-542.
  22. Hughes. G. Radiosensitivity of male germ-cells in neonatal rats. *Int J Radiat Biol* 1962; 4: 511-519.
  23. Kangasniemi M, Veroma T, Kulmala J, et al. DNA-flow cytometry of defined stages of rat seminiferous epithelium: Effects of 3 Gy of high-energy X-irradiation *J Andrology* 1990;11: 312-317.
  24. Kim JY. Basic radiology, Kyo Moon Gak, Seoul Korea, 1987; 109:167.
  25. Lyon MF, Cox BD. The induction by X-ray of chromosome aberrations in male guinea pig, rabbit and golden hamster. *Mutat Res* 1975; 29: 407-422.
  26. Lyon MF, Morris Y. Gene and chromosome mutation after lage fractionated or unfractionated radiation doses to mouse spermatogonia. *Mutat Res* 1969; 8: 191-198.
  27. Lu CC, Meistrich ML, Thames Jr HD. Survival of mouse testicular stem cells after  $\gamma$  or neutron irradiation. *Radiat Res* 1980; 81: 402-415.
  28. Meistrich ML, Hunter NR, Suzuki N, et al. Gradual regeneration of mouse testicular stem cells after exposure to ionizing radiation. *Radiat Res* 1978; 74: 349-362.
  29. Oakberg EF. Sensitivity and time of degeneration of spermatogenic cells irradiated in various stages of maturation in the mouse. *Radiat Res* 1955a; 2: 369-391.
  30. Oakberg EF. Gamma-ray sensitivity of spermatogonia of the mouse. *J Exp Zool* 1957; 134: 343-355.
  31. Oakberg EF. Effects of radiation of the testis. In: Handbook of physiology. Vol. 6, The male reproductive system, E. B. Astwood and R. O. Greep, eds. Am Physiological Society, 1971a; 233-243.
  32. Oakberg EF. Spermatogonial stem-cell renewal in the mouse. *Anat Rec* 1971b; 169: 515-532.
  33. Pinkel D, Gledhill BL, van Dilla MA, et al. Radiation-induced DNA content variability in mouse sperm. *Rad Res* 1983; 95: 550-565.
  34. Pinon-lataillade G, Velez de la Calle JF, Viguier-Martinez MC, et al. Influence of germ cells upon Sertoli cells during continuous low-dose rate  $\gamma$ -irradiation of adult rats. *Mol Cell Endocrinol* 1988; 58: 51-63.
  35. Pogany GC. Effects of X-irradiation on the kinetics of abnormal sperm production and sperm loss in the mouse. *J Reprod Fert* 1987; 80: 1-12.
  36. Preston RJ, Brewen JG. X-ray-induced translocations in spermatogonia, I. Dose and fractionation responses in mice. *Mutat Res* 1973; 19: 215-223.
  37. Van Alphen MMA, de Rooij DG. Depletion of the seminiferous epithelium of the Rhesus monkey, *Macaca mulatta*, after X-irradiation *Br J Cancer* 1986; 53: 102-104.
  38. Van Alphen MMA, Van de Kant HJG, De Rooij DG. Depletion of the spermatogonia from the seminiferous epithelium of the Rhesus monkey after X-irradiation. *Radiat Res* 1988; 113: 473-486.
  39. Van Beek MEAB, Davids JAG, Van de Kant HJG, et al. Response to fission neutron irradiation of spermatogonia stem cells in different stages of the cycle of the seminiferous epithelium *Radiat Res* 1984; 97: 556-569.
  40. Van Beek MEAB, Davids JAG, de Rooij DG. Variation in the sensitivity of the mouse spermatogonial stem cell population to fission neutron irradiation during the cycle of the seminiferous ep-

- ithelium. *Radiat Res* 1986; 108: 282-295.
41. Van Vliet J, Bootsma AL, van Peperzeel HA, et al. Protective effect of hypoxia in the ram testis during single and split-dose X-irradiation. *Radiotherapy Oncology* 1988; 13: 9-16.
  42. Van den Aardweg GJM, de Ruiter-Bootsma AL, Kramer MF, et al. Grows and differentiation of spermatogenic colonies in the mouse testis after irradiation with fission neutrons. *Radiat Res* 1983; 94: 447-463.
  43. Withers HR, Hunter N, Barkler HT Jr, et al. Radiation survival and regeneration characteristics of spermatogenic stem cells in mouse testis. *Radiat Res* 1974; 57: 88-103.
  44. 김재홍, 박영석. 메추리(*Coturnix coturix*)의 정자발생에 관한 연구. *한국가금학회지* 1989; 16(2): 91-103.
  45. 이재홍, 박영석. 오리의 정소발육과 정자발생에 관한 연구. *대한수의학회지* 1989; 29(4): 417-424.
  46. 한방근. 육계의 응성 생식기 발육 및 정자형성 과정. *대한수의학회지* 1984; 20(1): 49-61.
-