

진도견 정세관의 정세포와 Sertoli 세포내 glycogen의 분포

박영석·이성호*

일본낙농대학 수의학부학교실
공주전문대학*
(1996년 3월 18일 접수)

Glycogen distribution of germ cells and Sertoli cells of seminiferous tubules in Jindo dog

Young-seok Park, Seong-ho Lee

Department of Veterinary Anatomy, Rakuno Gakuen University, Hokkaido, Japan
KongJoo National Junior College, Korea*

(Received Mar. 18, 1996)

Abstract : In an effort to obtain basic data of carbohydrate metabolism during spermiogenesis of the sexually-matured Jindo dog, the glycogen distribution in the testis was investigated by light and transmission electron microscopy. Periodic acid thiocarbohydrazide silver proteinate physical development(PA-TCH-SP-PD) staining method provided better results in the detection of glycogen granules from Sertoli cells and germ cells than the periodic acid schiff(PAS) staining method did. Pre-treatment of the tissue sections with α -amylase elicited a significant decrease in PA-TCH-SP-PD stained granules, which suggested that the stained granules were of glycogen origin. High concentration of the glycogen granules were observed in the Sertoli cells, especially in its column, sheet-like processes, club-like processes, and tubular processes. The glycogen granules were unevenly distributed in some Sertoli cell columns. These results strongly indicated that the Sertoli cells of Jindo dogs showed vigorous activity of carbohydrate metabolism.

Key words : glycogen, PAS, PA-TCH-SP-PD, testis, dog, Sertoli cell.

서론

정자발생 부위인 정세관 상피에서 탄수화물은 각 정세포들의 구조물 형성과 에너지원의 필수적인 요소이다^{1,2}. 이러한 탄수화물들은 정세관의 관강액이나 Sertoli 세포에

의해 혈액 및 체액에 존재하는 glucose를 촉진적 확산방법으로 정세포들에게 공급하고 있다¹⁻³.

쥐의 태아 발육기 고환에서 탄수화물의 세포질내 저장 과립인 glycogen은 출생후 10일령까지는 다량으로 검출되었으나 10일령 이후부터 거의 검출되지 않거나 미량만 존재하며⁴, 사람의 태아와 임신 9~30주령 고환에서는 원

Address reprint requests to Dr. Young-seok Park, Young-jae animal clinic, sansu 2 dong 542-62, Kwangju city 501-092. Republic of Korea.

시 정세포와 원시 정세포에 glycogen 과립이 존재하였다⁵. 38-72세의 잠복고환 환자의 정세관은 대단히 손상되어 있고 Sertoli 세포에는 커다란 지방조직과 수많은 glycogen 과립이 관찰되었다⁶. 사람의 비정상적인 고환에서 Sertoli 세포는 확장된 SER과 glycogen 과립의 군락이 자주 관찰되었다⁷. 숫양의 고환동맥을 결찰하여 실험적 국소빈혈을 유발한 고환의 Sertoli 세포에는 지방의 축적과 glycogen 과립이 증가되었으며⁸, 비번식기 동안의 여우 정세관내 Sertoli 세포에서도 glycogen 과립의 축적이 관찰되었다⁹. 상기와 같이 Sertoli 세포내에서 당질의 저장물질인 glycogen 과립에 관한 연구는 PAS(Periodic acid schiff)반응 등에 의해 조직화학적으로 조사되었으나, 주로 비정상적인 증상을 보이는 개체와 쥐 등 일부 실험동물에 국한되어 있다^{4,6-9}. 따라서 정상적이며 성숙한 다양한 동물 고환에서 glycogen 과립과 당질류의 분포에 대한 정확한 연구자료의 필요성이 인식되어, 최근에는 고환내 당질의 검출을 위해 Lectin 면역조직화학법을 이용하여 산양, 쥐, 황소 등의 정세관내 정세포계에서 시도되고 있다¹⁰⁻¹².

본 연구는 정자형성과정에서 Sertoli 세포와 각종 정세포 사이에 이루어지는 당질대사에 관한 기초자료를 얻기 위하여 기존의 PAS염색법과 최근 개발된 당질검출법인 periodic acid thiocarbonylhydrazide silver proteinate physical development (PA-TCH-SP-PD) 염색법^{13,14}을 활용, 개의 고환을 조직학적 및 세포학적으로 비교, 분석하였던 바 다음과 같은 결과를 얻어 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험동물 : 성숙한 1-2년생 웅성 진도견 4마리를 이용하였다.

광학현미경 조직표본제작 : 적출된 우측고환은 $5 \times 10 \times 10 \text{mm}^3$ 로 잘라 2% calcium acetate를 함유한 10% formalin 용액으로 고정하였으며 일반적인 조직표본 제작과정을 거쳐 parplast에 포매한 후 $5 \mu\text{m}$ 두께의 조직표본을 만들어 periodic acid schiff reagent (PAS) 염색^{14,15}과 periodic acid thiocarbonylhydrazide silver proteinate physical development (PA-TCH-SP-PD)염색^{13,14}을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

투과전자현미경 조직표본제작 : 적출된 좌측고환은 5% glutaraldehyde (0.05M cacodylate buffer, pH 7.2, 4℃)용액으로 고환동맥을 통하여 관류 고정하였다. 관류 고정한

고환은 1mm^3 로 세절, 같은 고정액으로 2시간동안 재고정하였다. 고정된 조직은 -20°C 에서 50, 80, 90% N,N-dimethylformamide(DMF)로 탈수하였으며 glycol methacrylate(GMA)로 채워진 gelatin capsule에 넣은 후, wave length peak가 360nm인 UV로 조사(-20°C)하여 중합시켰다^{16,17}. GMA에 포매된 조직은 diamond knife로 60-80nm 두께로 연속절편을 만든 후 각각의 nylon grid와 gold grid에 연속절편을 부착하였다. Nylon grid group은 PA-TCH-SP-PD염색을 하였으며 gold grid group은 0.1% α -amylase (pH 6.0, 0.8% sodium chloride PB)효소 용액에서 36°C , 24시간¹⁴ 동안 처리한 후 PA-TCH-SP 염색을 실시하였다.

전자현미경용 PA-TCH-SP, -PD 염색법 : 60-80nm의 초박절편이 부착된 nylon grid와 gold grid는 DW로 5분간 함수시킨 후 1% PA(periodic acid aqueous solution)에 30분간 방치하였다. 1% PA로 처리된 grid들은 세척한 후 60°C 에서 1% TCH(thiocarbonylhydrazide, 20% acetic acid) solution에서 60분간 처리한 후 세척하였으며, 암실에서 1% SP(silver proteinate aqueous solution)로 반응시켰다. Nylon grid들은 PA-TCH-SP 반응성 관찰을 더욱 높이기 위하여 PD(physical development)를 실시하였다. PD용액은 20% arabic gum이 함유된 10% silver nitrate 용액과 bromohydroquinone, citric acid가 첨가된 DW용액을 암실에서 혼합하였으며, 이 혼합된 용액에 grid를 넣어 5-10분간 반응시켰다¹³.

PA-TCH-SP,-PD가 염색된 gold 및 nylon grid들은 세척후 uranyl acetate와 lead citrate로 전자염색하고 carbon coating한 후 JEM-100S 투과전자현미경으로 관찰하였다. Sertoli 세포의 관찰은 Park 등¹⁸이 보고한 Sertoli 세포 원주(column)와 돌기로 나누어 관찰하였다.

결 과

광학현미경 관찰 :

PAS 염색 반응 : 중층편평상피로 구성된 정세관 기저막과 혈관 등은 PAS염색에 양성반응을 나타냈으며, 정세관내 정자형성체를 구성하는 각종 정세포에서는 변태과정에 있는 정자세포의 침단체(acrosome)에서 양성반응이 나타났다(Fig 1a, 1b). Sertoli 세포는 거의 반응이 없었으나 극소수의 세포에서 매우 강한 반응을 나타냈다(Fig 1b).

PA-TCH-SP-PD 염색 반응 : 정세관 사이에 존재하는

혈관벽과 정세관의 기저막에서 강한 반응을 나타냈으며 (Fig 2a) 정자형성계를 구성하는 각 기(stage)에 따르는 정자세포의 첨단체는 밤색의 반응색을 나타내어 구분이 용이하였다(Fig 2b). 또한 정세포의 영양공급 및 대사에 관여하며, 정세관을 지지하는 Sertoli 세포는 미약, 중등도 및 검정색에 가까운 강한 반응 등이 다양하게 나타나 Sertoli 세포에서 당질류의 대사가 활발하게 이루어지고 있음이 관찰되었다(Fig 2a, 2b).

당질류의 검출 염색법인 PAS와 PA-TCH-SP-PD염색 반응을 비교해본 결과 정세관의 기저막과 각종 정자세포의 첨단체 부위 등의 반응성은 PA-TCH-SP-PD염색 반응이 PAS염색 반응보다 강한 반응성을 보였다. 특히 일부의 Sertoli 세포는 기저부에서부터 내강에 이르는 전세포질에 PA-TCH-SP-PD염색 반응을 보여 당질류의 물질이 다량으로 존재하고 있음이 확인되었다. 정조세포의 세포질에서도 PA-TCH-SP-PD염색에 반응을 보여 정조세포의 세포질에도 다량의 당질류가 존재함을 알 수 있었다. 하지만 정모세포, 정자세포의 세포질은 양성반응이 나타나지 않았다.

전자현미경 관찰 : Sertoli 세포는 기저부에서 내강의 정자세포를 둘러싸고 있는 Sertoli 세포 돌기까지 전반적으로 PA-TCH-SP-PD 염색에 강한 반응을 띄는 과립들이 산재되어 있었다(Fig 3). 그러나 일부의 Sertoli 세포는 1개의 Sertoli 세포 원주에서도 부분적으로 산재된 반응과립의 분포 밀도가 큰 차이를 보이고 있었다(Fig 4).

반응과립의 분포 밀도가 큰 Sertoli 세포를 중심으로 관찰하면 각 정세포들을 감싸고 있는 Sertoli 세포돌기인 종이모양 돌기(sheet-like process), Sertoli 세포 원주나 종이모양 돌기에서 발생된 공봉모양 돌기(club-like process)와 관상돌기(tubular process)에서도 수많은 반응과립이 산재되어 있음이 관찰되었다(Fig 3, 5, 7).

정자형성계를 구성하는 각종 정세포에서는 기저부에 위치한 정조세포의 세포질에서 반응과립이 관찰되었다. 원형 정자세포에서는 첨단체세포막과 첨단체과립, 골지체 및 골지체에서 분비된 것으로 추측되는 미세과립에서 강한 반응성을 나타냈다(Fig 5). 세장된 정자세포는 PA-TCH-SP-PD에 반응한 과립들이 산재한 Sertoli 세포원주와 종이모양 돌기에 깊이 함몰되어 있었으며, 정자세포의 두부를 감싸고 있는 첨단체 부위도 강한 반응성을 나타내고 있었다(Fig 7). 그러나 원형 정자세포의 세포질(Fig 3, 5)과 세장된 정자세포의 잔류체(Fig 3, 7)에는 Sertoli 세포

질 및 돌기에 산재된 반응과립은 관찰할 수 없었다.

PA-TCH-SP-PD염색에 반응한 과립물질들의 성분을 분석하기 위해 원형 정자세포와 세장된 정자세포가 존재하는 같은 부위를 연속 초박절하여 α -amylase 효소처리군과 비처리군으로 나눈후 PA-TCH-SP(PD)로 염색한 결과 α -amylase 효소처리군(Fig 6, 8)의 Sertoli 세포질에 나타난 과립물질들은 비처리군(Fig 5, 7)에 비해 과립의 크기는 작았으며, 산재된 과립의 수에서도 현저히 적었다. 따라서 Sertoli 세포질에 분포한 PA-TCH-SP-PD 반응과립은 glycogen이며, Sertoli 세포질에는 수많은 glycogen이 산재되어 있음이 관찰되었다.

고 찰

PAS와 PA-TCH-SP-PD염색의 비교 : 근래까지 당질류의 검출을 위한 실험방법은 광학현미경 관찰을 위하여 PAS염색법이 주로 이용되어 왔으며, 전자현미경 관찰은 일반적인 전자염색법에 의존한 형태학적 구조를 기준으로 분류되었다. 본 실험에서 광학현미경적 관찰을 위한 PAS염색과 PA-TCH-SP-PD 염색의 반응결과는 명확한 차이를 보였다(Fig 1a,b, 2a,b). PAS염색상의 Sertoli 세포들은 대부분 반응성을 나타내지 않았지만 PA-TCH-SP-PD염색상에서 Sertoli 세포들은 미약, 중등도 및 검정색에 가까운 강한 반응성이 관찰되었다. PAS와 PA-TCH-SP-PD 두가지 염색법은 모두 당질의 인접 수산기를 periodic acid로 산화시켜 2가의 aldehyde에 PAS는 Schiff시약과 반응시키는 방법^{14,15}이지만, PA-TCH-SP-PD염색법은 TCH로 반응시킨 후 단백질은(SP;silver-protein)으로 환원시켜 반응성을 높이고 물리적 현상법(PD)의 적용으로 그 반응성은 더욱 증폭되기 때문이다¹³.

정세관내 glycogen의 분포 : 정자형성과정에서 형성되는 정자세포의 첨단체 부위, 세포연접부 및 정자세포 운동 에너지원은 당단백질과 당질류로 구성되어 있다^{1-3,19}. 쥐의 태아 발육기 동안 정세관에 존재하는 glycogen은 출생 후 10일까지는 다량으로 검출되었으나 그 이후는 거의 검출되지 않았고⁴, 사람의 임신 9-30주령의 태아 고환에서 원시 정조세포⁵와 성숙한 정조세포²⁰에 glycogen 과립이 존재하며, 정모세포 및 정자세포의 감수분열 시기에는 glycogen 과립의 함량이 감소하였다²¹. 이는 원시 정세포 및 원시 지지세포들의 분화 생성이 활발하게 이루어지기 때문에 다량의 당질류가 에너지원으로 요구되기 때문이

다^{1,22}. 본 실험의 대상인 성 성숙한 개의 정세관내 glycogen 과립의 분포는 정조세포의 세포질, 일부의 Sertoli 세포의 원주와 3가지형의 돌기¹⁸들에서 다량의 glycogen 과립이 관찰되었으며 또한 한개의 Sertoli 세포에서도 부위에 따라 산재된 glycogen 과립의 분포 밀도가 큰 차이를 나타내고 있어, 사람²³, 쥐²⁴에서와 같이 개의 Sertoli 세포에서도 대단히 활발한 당질대사가 이루어지고 있음을 추측할 수 있었다. 이는 혈중에 있는 glucose가 Sertoli 세포질에 확산되어¹⁻³ 일부는 이용되어지고 나머지 잔여량은 glycogen 과립으로 잠시 저장되어 있는 것으로 생각된다. 38-72세의 잠복고환⁶, Klinefelter syndrome²⁵ 등 사람의 비정상적인 고환내 Sertoli 세포⁷에서 다량의 glycogen 과립이 관찰되었다. 또한 숫양에서 고환동맥을 결찰하여 실험적 국소빈혈을 유발한 고환에서 Sertoli 세포는 지방축적과 glycogen 과립의 증식이 관찰되어⁸ 비정상적인 질핵 또는 실험적인 상태를 유발시켜 고환의 조정기능 저하 또는 상실의 경우 Sertoli 세포내 glycogen 과립이 다량으로 존재한다고 하였으나 Rigau와 Steinberger¹는 정상적으로 성 성숙한 일부 동물의 고환내 정조세포 및 Sertoli 세포내 glycogen 과립의 존재는 동물종에 따라 차이가 있음을 보고 하였다. 즉 사람^{1,7}과 소¹는 glycogen 과립이 존재하지만 쥐^{1,24}, 마우스^{1,26} 등에서는 과립이 거의 존재하지 않으며, 계절번식을 하는 여우에서 비번식기 동안의 Sertoli 세포는 다량의 glycogen 과립을 함유하고 있으나⁹, 정자형성계와 glycogen의 존재여부와는 연관성이 없다고 주장²⁵한 바 있어, 동물종과 번식형태 등에 따라 차이가 있음을 시사하고 있다. 이러한 연구결과의 차이는 사람과 일부의 실험동물을 대상으로 하였기 때문으로, 다양한 동물 고환에 대한 glycogen 존재여부 및 정자형성계와의 상관성 등에 관한 깊은 연구가 수행되어야 한다고 사료된다.

PA-TCH-SP-PD 염색반응 과립의 조직화학적 분석 : 전자현미경의 관찰에서 PA-TCH-SP-PD에 반응한 과립의 성분이 glycogen인지를 확인하기 위하여 당질분해효소인 0.1% α -amylase 효소 소화반응법¹⁴을 이용하였다. 전자현미경 시료의 같은 부위를 연속 절편한 후 α -amylase 처리군(Fig 6, 8)과 비처리군(Fig 5, 7)으로 나누어 비교한

결과 α -amylase 처리군의 과립수 및 크기는 비처리군에서 나타난 과립수 보다 현저히 적어졌으며, 과립의 크기 또한 현저히 작아졌다. 이는 0.1% α -amylase(pH 6.0)로 36°C에서 24시간동안 처리한 처리군은 glycogen의 구조에서 1-4 links(horizontal) 만을 분해시킴으로써 glycogen 과립의 일부분이 소화^{14,24,27}되어 크기가 작아지며 과립수에서도 적어졌다. 따라서 PA-TCH-SP, PD염색에 반응한 과립은 glycogen으로 추정할 수 있으며, α -amylase 처리군에 남아 있는 과립 등은 1-6 branched link(vertical) 부위인 α -limit dextrins 이거나²⁷, 또는 GMA 조직절편의 section 두께인 60-80nm 사이에 존재한 glycogen 과립으로서 α -amylase 효소의 침투, 소화작용이 이루어지지 않았던 것으로 추측된다.

이상의 결과들로서 개의 정세관내 정세포질에는 glycogen 과립이 존재하며 일부의 Sertoli 세포질과 돌기들에는 다량의 glycogen 과립이 존재하였다. 또한 하나의 Sertoli 세포의 원주에서도 glycogen 과립의 분포가 차이를 보이고 있어 Sertoli 세포의 당질대사는 무척 활발한 것으로 추측되고 있으나 이러한 결과는 성장별 glycogen 과립의 함량 변화 유무와 정자형성과정의 기(stages) 특이성과의 관련 여부 등은 더욱 연구되어야 한다고 사료된다.

결 론

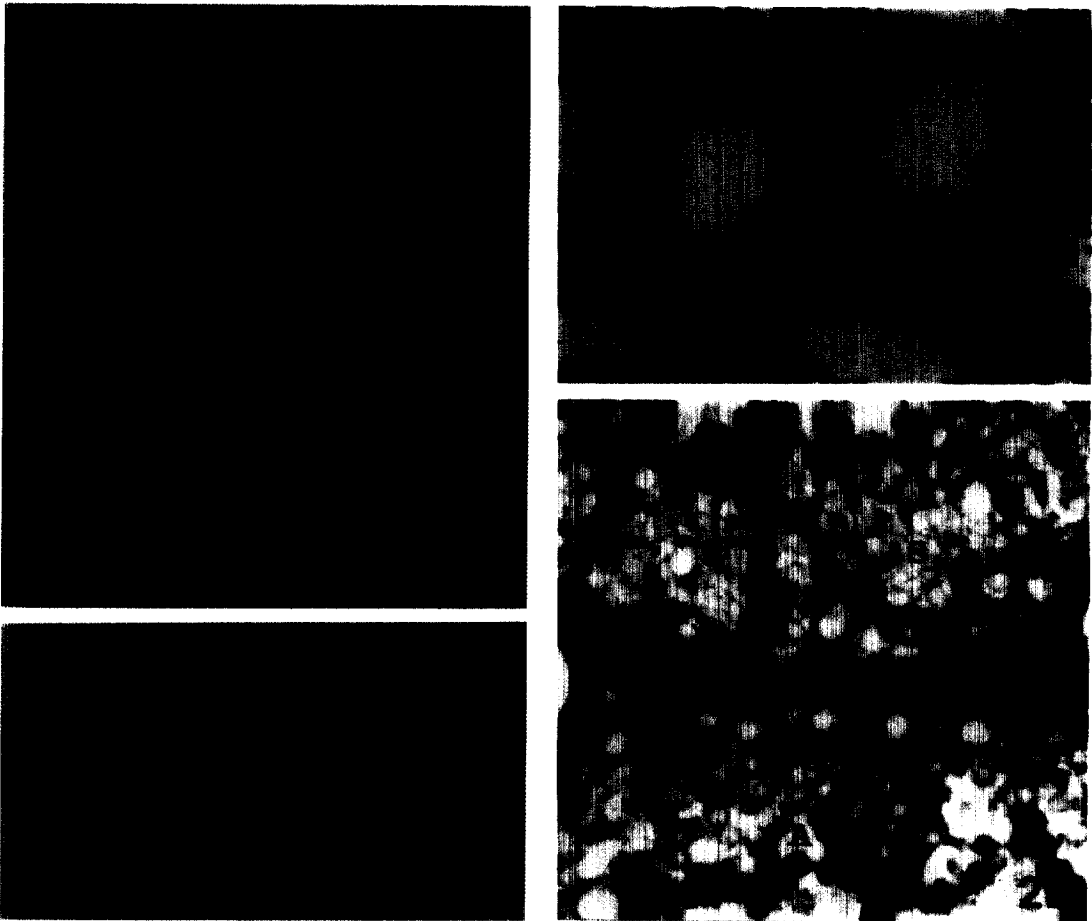
진도건의 정세포와 Sertoli 세포내 glycogen의 분포를 확인하기 위하여 PAS 염색방법과 새로 개발된 PA-TCH-SP-PD 염색방법을 활용, 조직학적 및 세포학적으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

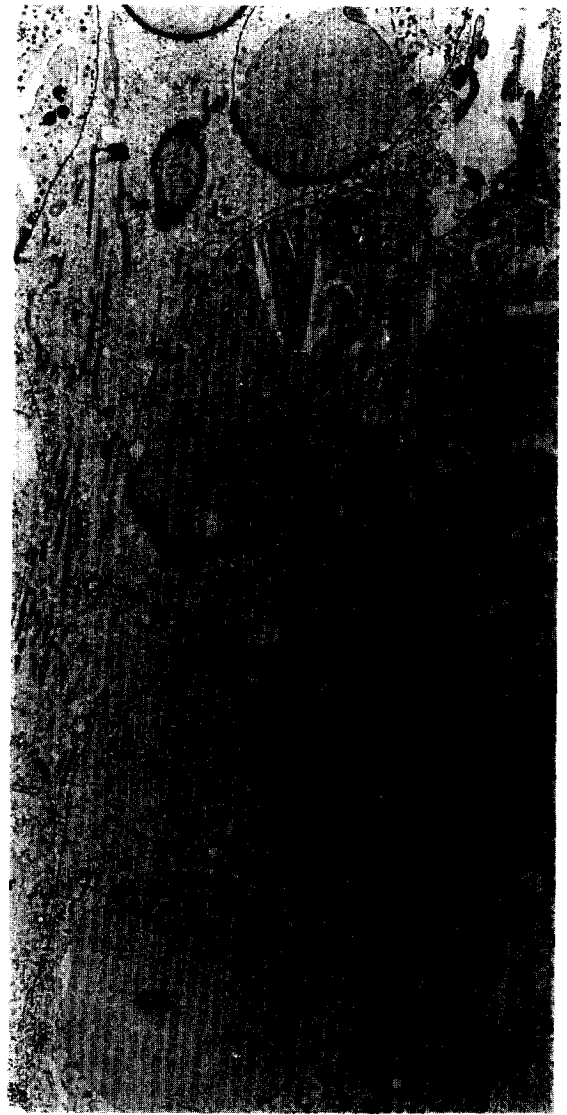
PA-TCH-SP-PD 염색은 당질류 검출에서 PAS 염색보다 반응성이 우수하였으며, α -amylase 전처리에 의해 PA-TCH-SP-PD에 반응한 과립은 glycogen이었다.

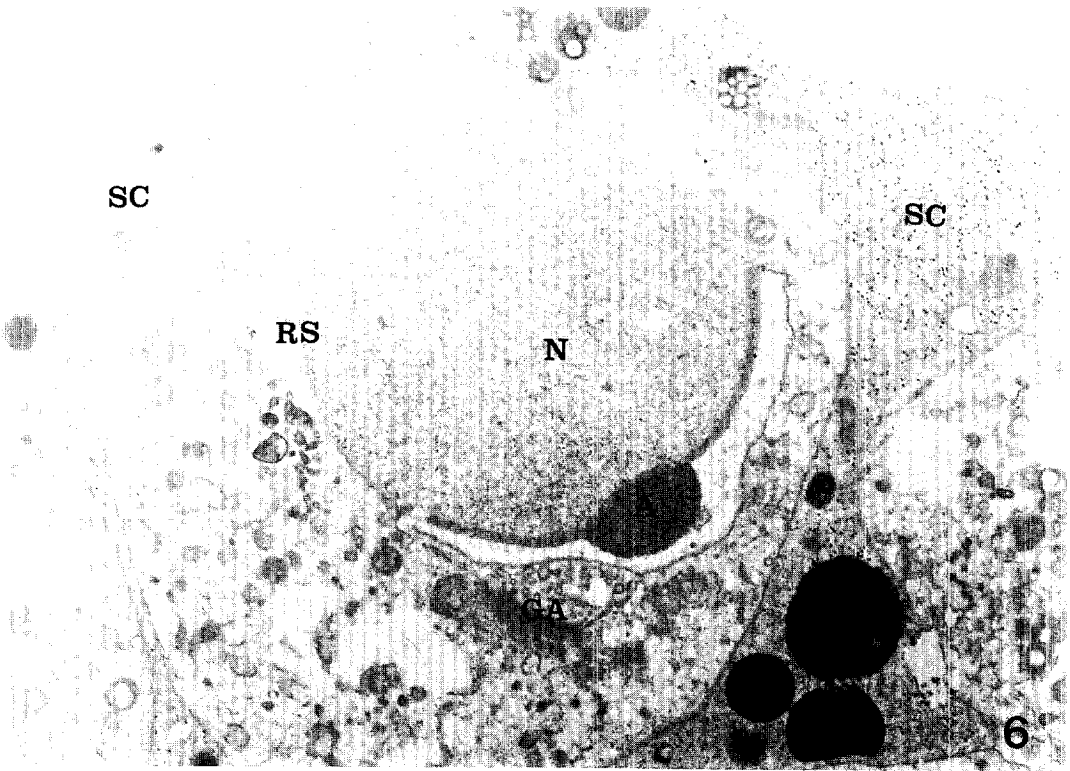
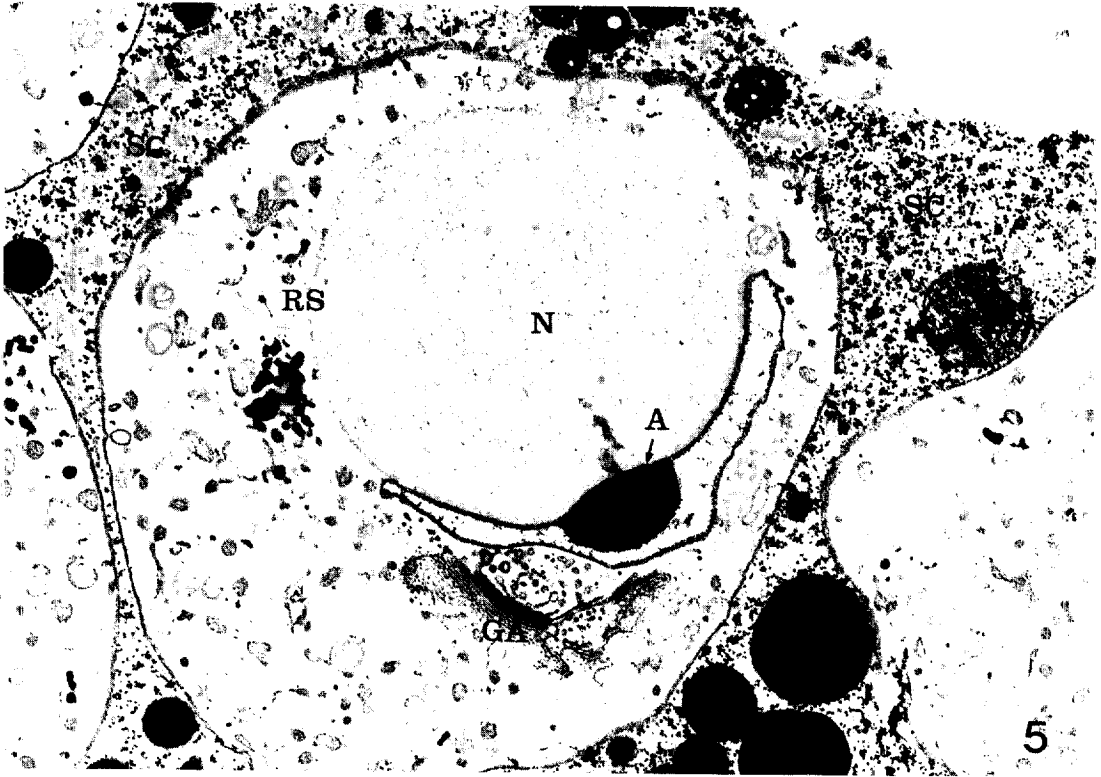
정조세포와 Sertoli 세포는 수많은 glycogen 과립을 함유하고 있었다. 특히 Sertoli 세포는 column과 3가지형 돌기(sheet-like, club-like, tubular process)에 수많은 glycogen 과립이 관찰되었다. 한개의 Sertoli cell column에서도 부위에 따라 glycogen 과립의 분포는 차이를 나타내고 있어 활발한 당질대사가 이루어지는 것으로 추측된다.

Legends for figures

- Fig 1a. Positive reaction of PAS stain is noted in blood vessel(V), acrosome area of spermatid, and basement membrane(M) of seminiferous tubules. $\times 100$.
- Fig 1b. Presence of carbohydrates is poorly revealed in the Sertoli cell columns(S) of seminiferous tubules. A:acrosome area of spermatid. PAS, $\times 400$.
- Fig 2a. The same seminiferous tubules as in Fig 1b was stained with PA-TCH-SP-PD. Note increased sensitivity in carbohydrate detection. V:blood vessel, S:Sertoli cell column. $\times 100$.
- Fig 2b. Increased accumulation of carbohydrates is noted in Sertoli cell column(S), acrosome area of spermatid (A), and spermatogonium(G). $\times 400$.
- Fig 3. TEM image of a Sertoli cell of seminiferous tubules. Positive reaction of glycogens is revealed in Sertoli cell column(SC) as numerous granules(G).
- Fig 4. Note uneven distribution of glycogen granules in the Sertoli cell.
N:nucleus, RB:residual body, RS:round spermatid, SH:sheet-like process, CL:club-like process. $\times 5,250$.
- Fig 5. SD:spermatid, SP:spermatocyte, SCS: scattered area of granules, SCC:crowded area of granules. PA-TCH-SP-PD, $\times 3,500$.
- Fig 5,6. Identical tissue sections of a round spermatid-embedded Sertoli cell. More numerous and bigger glycogen granules are noted in Sertoli cell column(SC) when it stained without pre-treatment of α -amylase(Fig 5) than it did with pre-treatment(Fig 6).
- Fig 7,8. Identical tissue sections of elongated spermatid-embedded Sertoli cell before(Fig 7)and after(Fig 8) α -amylase treatment. Distinctive glycogen granules are noted when it stain without pre-treatment of α -amylase(Fig 7).
- SC:Sertoli cell, ES:elongated spermatid, SH:sheet-like process, CL:club-like process, T:tubular process, A: acrosome, RB:residual body. PA-TCH-SP-PD, $\times 14,000$.









참고 문헌

1. Rigau LJR, Steinberger E. The testis and spermiogenesis. In: Zaneveld LJD, Chatterton RT, ed. *Biochemistry of mammalian reproduction*. chapter 1. New York: A Wiley-Interscience, 4-35, 1982.
2. Fawcett DW. Ultrastructure and function of the Sertoli cell. In: Hamilton DW, Greep RO, ed. *Handbook of physiology. Sect 7. Endocrinology Vol 5. Male reproductive system*. Washington DC: American Physiological Society, 143-172, 1975.
3. Setchell BP, Waites GMH. The blood-testis barrier. In: Hamilton DW, Greep RO, ed. *Handbook of physiology. Sect 7. Endocrinology Vol 5. Male reproductive system*. Washington DC: American Physiological Society, 143-172, 1975.
4. Gunaga KP, Rao MC, Sheth AR, et al. The role of glycogen during the development of the rat testis and prostate. *J Reprod Fert*, 29: 157-162, 1972.
5. Fukuda T, Hedinger C, Groscurth P. Ultrastructure

- of developing germ cells in the fetal human testis. *Cell Tiss Res*, 161(1): 55-70, 1975.
6. Amati S, Petrini E, Ceresi E, et al. Particular ultrastructural aspects of crytochid testis in adult and advanced age. *Boll Soc Biol Sper*, 60(4): 805-810, 1984.
 7. De-Kretser DM, Kerr JB, Paulsen CA. Evaluation of the ultrastructural changes in the human Sertoli cell in the testicular disorders and the relationship of the changes to the levels of serum FSH. *Int J Androl*, 4: 129-144, 1981.
 8. Vrzgulova M. Provanie submikroskopických zmien zľazys nalezmi po orchitidach plemenných baranov v proxi. *Vet Med Praha*, 26: 599-608, 1981.
 9. Andersen K, Sundby A, Hansson V. Fine structure and FSH binding of Sertoli cells in the blue fox (*Alopex lagopus*) in different stages of reproductive activity. *Int J Androl*, 4 : 570-581, 1981.
 10. Kurohmaru M, Kanai Y, Hayashi Y. Lectin-binding patterns in the spermatogenic cells of the shiba goat testis. *J Vet Med Sci*, 53 : 893-897, 1991.
 11. Martinez-Menarguez JA, Ballesta J, Aviles M, et al. Cytochemical characterization of glycoproteins in the developing acrosome of the rats. *Histochemistry*, 97 : 439-449, 1992.
 12. Ertl C, Wrobel KH. Distribution of sugar residues in the bovine testis during postnatal ontogenesis demonstrated with lectin-horseradish peroxidase conjugates. *Histochemistry*, 97 : 161-171, 1992.
 13. Kitamura H. Diamine-thiocarbohydrazide-silver proteinate-physical development methods for the histochemical detection of acidic glycoconjugates in electron microscopy. *Acta Histochem Cytochem*, 23 : 281-294, 1990.
 14. 山田和順. 組織化學(初學者のための基礎と實際). 東京; 1987.
 15. Clark G. Miscellaneous methods. In: Clark G, ed. *Staining procedures*. 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 171-215, 1981.
 16. Hoshino M, Kobayashi H. The use of glycol methacrylate as an embedding medium for the histochemical demonstration of acid phosphatase activity. *J Histochem Cytochem*, 19 : 575-576, 1971.
 17. Uchida T. Serotonin-like immunoreactivity in the taste bud of the mouse circumvallate papilla. *Jpn J Oral Biol*, 27 : 132-139, 1985.
 18. Park YS, Abe M, Takehana K, et al. Three-dimensional structure of dog Sertoli cells: A computer-aided reconstruction from serial semi-thin sections. *Arch Histol Cytol*, 56 : 65-73, 1993.
 19. Garner DL, Hafez ESE. Spermatozoa and seminal plasma. In: Reproduction in farm animals. 5th ed, Philadelphia; Lea & Febiger, 187-209, 1987.
 20. Barham SS, Berlin JD, Brackeen RB. The fine structural localization of testicular phosphatase in man: the control testis. *Cell Tiss Res*, 166 : 497-510, 1976.
 21. Seilicovich A, Lloret AP. Glycogen and related enzymes in normal and crytochid human testes: A cytochemical study. *J Reprod Fert*, 33: 379-383, 1973.
 22. Setchell BP. Metabolism in the testis. In: *The mammalian testis*. London, Elek, 285-331, 1978.
 23. Re M, Iannitelli M, Cerasaro A, et al. Histochemical study of glycogen and phosphorylase activity on bilateral biopsies of oligospermic men with varicocele. *Arch Androl*, 10 : 79-83, 1983.
 24. Slaughter GR, Means AR. Follicle-stimulating hormone activation of glycogen phosphorylase in the Sertoli cell-enriched rat testis. *Endocrinology*, 113 : 1476-1485, 1983.
 25. Soderstrom KO. Ultrastructure of the testis in Klinefelter's syndrome. *Arch Androl*, 13 : 113-119, 1984.
 26. Kanai Y, Kawakami H, Kurohmaru M, et al. Changes in lectin binding pattern of gonads of developing mice. *Histochemistry*, 92 : 37-42, 1989.
 27. Gray GM. Starch digestion and absorption in non-ruminants. *J Nutr*, 122 : 172-177, 1992.