

흰쥐 정소의 미세구조에 미치는 Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)의 영향

김 완 중*, 길 영 천, 신 길 상
순천향대학교 자연과학대학 생명과학부

Effects of Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on Ultrastructure of Rat Testis

Wan-Jong Kim*, Young-Chun Kil and Kil-Sang Shin
Department of Life Science, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University,
Asan, Choongnam, 336-745, Korea
(Received July 14, 1999)

ABSTRACT

Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) is a plasticizer known as one of endocrine disruptors. The present study was carried out to investigate the ultrastructural changes of prepubertal rat testis after oral administration of DEHP in dosages of 1 g/kg, 3 g/kg or 5 g/kg in 0.5 ml of corn oil daily for a week.

This study revealed the DEHP inhibited the development of seminiferous tubules and induced structural changes on various cell types of the rat testis. Leydig cells, Sertoli cells and the developing germ cells seemed to be impaired their differentiations in terms of the structural changes of cell organelles. The increase of heterochromatin in amount were common features in all 3 cell types. In addition, the Leydig cells were characterized by the increases in number and size of lysosomes and the scantiness of smooth endoplasmic reticulum. The Sertoli cells became irregular in nuclear envelope and the cytoplasm decreased, but the number of lysosomes and vacuoles seemed to be increased. There were some indications of necrosis of the germ cells, such as vacuolized nucleus and segregated nucleolus.

These detrimental effects of DEHP on the rat testis were dose dependent and suppressed spermatogenesis decreasing developing germ cells in number and appearances. The effect of DEHP on ultrastructure of rat testis, as its known physiological functions, seems come from the decreased level of testosterone by Leydig cells, followed by the abnormalities of Sertoli cells and the germ cells.

Key words : DEHP, Testis, Ultrastructural changes

* Correspondence should be addressed to Dr. Wan-Jong Kim, Department of Life Science, College of Natural Sciences, Soonchunhyang University Asan, Choongnam, 336-745 Korea. Ph: (0418) 530-1251, FAX: (0418) 530-1256, E-mail: wjkim56@asan.sch.ac.kr
Copyright © 1999 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)는 1930년대 이후 대부분의 플라스틱 제품에 가소성을 제공하는 성분으로 많이 쓰여져 왔고, 유제품이나 주방기구 혹은 도료(emulsion paint) 등에도 포함되어 있으며, 최근에는 내분비 교란물질들 중의 하나인 것으로 밝혀졌다(Karle et al., 1997).

DEHP의 독성작용에 대해서는 오래 전부터 보고되어져 왔다. 대부분의 척추동물들에서 생식소의 구조와 기능에 영향을 줄 뿐만 아니라, 생식부속선에도 손상을 주는 것으로 알려져 있다. 또한 임신 6일에서 15일까지 10일 동안 흰쥐에 DEHP를 투여한 결과 출생한 흰쥐 태아는 성장이 지연되고, 일부 기형이 유발되거나 간 무게가 증가하는 결과를 초래하였다(Tomita et al., 1982). 이 외에도 DEHP는 몇몇 설치류의 간세포내에서 피옥시좀의 증식을 유도하고, 미토콘드리아내 효소들인 malic dehydrogenase, cytochrome-c-oxidase 그리고 diaphorase의 활성을 감소시킬 뿐만 아니라, 심한 경우 간암의 발병률을 증가시킨다는 보고도 있다(Srivastava et al., 1978, 1989; Richmond et al., 1996; James et al., 1998). 또한, 흰쥐에 DEHP를 투여한 결과 간에서 glucose-6-phosphate dehydrogenase, phosphorylase, 그리고 glucose-6-phosphatase의 활성을 감소시킴으로써 간세포내에서의 글리코젠 대사과정에 변화를 일으키는 것으로 밝혀졌다(Mushtaq et al., 1980; Muhlenkamp & Gill, 1998). 특히 DEHP는 포유동물들의 음성 생식기관에 강한 독성작용을 나타내는 것으로 알려져 있다(Mattison et al., 1990). 이 화합물에 노출된 흰쥐의 경우, 부고환내 정자의 수가 감소하였고, gamma-glutamyl transpeptidase와 lactate dehydrogenase, 그리고 beta-glucuronidase의 활성이 증가하였으나, acid phosphatase의 활성은 감소하였다. 또한 DEHP는 정소내 아연(zinc)의 결핍을 초래하는 것으로도 알려져 있는데 이러한 결과로 미루어 볼 때 정소내 몇몇 효소들의 활성도 변화는 체내 필수 금속원소인 아연의 결핍에 의해 초래되는 것으로 생각되며, 정상적인 정자형성과정의 억제 또한 앞에 언급된 사실들에 의해 초래되는 것

으로 알려져 있다(Thomas et al., 1982). 뿐만 아니라 DEHP는 정소의 퇴축(testicular atrophy)을 유발하는 것으로 알려져 있으며, DEHP와 테스토스테론을 동시에 투여하였을 경우에는 정상 대조군과 비교하였을 때 별다른 차이가 없다는 보고가 있다. 이는 이 화합물이 정소내 테스토스테론의 합성을 억제하였기 때문에 정소의 퇴축이 유도되는 것으로 추측되고 있다(Parmar et al., 1987). 이상과 같이 DEHP의 독성에 관한 연구는 수중 효소의 에너지 대사에 관련된 내용에 관하여 주로 연구되어져 왔고, 일부 정자의 생성에 미치는 영향이 부분적으로 조사되었으나, 현재까지 사춘기 직전 성숙과정에 있는 흰쥐에 DEHP를 반복 투여하여 정자형성과 관련된 여러 세포들의 미세구조에 미치는 영향을 조사한 바는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 상기의 보고들을 토대로 하여, 사춘기 직전의 흰쥐를 대상으로, 체내 지방조직에 장기간 축적되어 영향을 미치는 내분비 교란물질들 중의 하나인 DEHP를 구강으로 반복 투여한 후, 분화중인 정소의 미세구조적 변화를 관찰하고자 하였다. 특히 DEHP에 의한 정소내 Sertoli 세포, Leydig 세포 및 분화중인 생식세포들의 미세구조적 변화를 관찰함으로써, 이 화합물이 정자형성과정에 미치는 형태 및 기능적인 영향을 고찰하고자 하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 실험동물은 Sprague-Dawley 계통의 음성 흰쥐(생후 20일, 체중 55g 내외)로서, 동물실험실내에서 물과 사료를 정상적으로 공급하면서 투약하였다. 투약은 다양한 농도의 di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP, Sigma 사)를 corn oil에 용해하여 구강으로 삼관투여(intubation)하였다. 대조군으로서는 intact한 상태의 정상대조군과 동량의 corn oil만을 투여한 실험대조군을 설정하여 비교하였으며, 실험군들로서는 DEHP를 체중 kg당 1g/0.5ml, 3g/0.5ml 혹은 5g/0.5ml씩 매일 1회 일주일 동안 투여하고, 마지막 투여 다음날 희생시켜 조직을 적출하였다.

적출된 정소는 인산완충액(0.1 M, pH 7.2)으로 조정된 4% glutaraldehyde 용액으로 전고정하였다. 광학현

미경 표본은 탈수와 파라핀 포매과정을 거쳐 절편을 제작한 후 hematoxylin과 eosin으로 이중염색하여 광학현미경하에서 세정관의 직경을 측정하고, 조직학적 변화를 관찰하였다. DEHP에 의한 정소의 미세구조 변화를 관찰하기 위해 4% glutaraldehyde 용액으로 고정된 시료를 1% O_5O_4 용액으로 후고정하여 알코올 농도상승순으로 탈수하고, epon 혼합액에 포매하였다. Epon 블록을 70~90 nm의 두께로 초박절편한 후 uranyl acetate와 lead citrate로 염색하여 투과전자현미경(JEM-1010)으로 80 KV하에서 검경하였다.

결과 및 고찰

환경호르몬이라 불리는 내분비 교란물질(endocrine disruptor)이 생물체에 미치는 영향들에 관하여 논란이 되고 있다. 내분비 교란물질이란, 환경으로 배출된 후 체내로 유입되어 생체내에서 정상적인 호르몬의 기능을 방해하는 화학물질, 혹은 천연물질을 일컫는다. 즉, 항상성 유지, 생식, 성장발육을 조절하는 호르몬의 합성, 분비, 수송, 수용체와의 결합과 작용 혹은 분해과정을 방해함으로써, 생식기능 저하, 기형, 성장장애, 암 등을 유발하는 물질이다.

내분비 교란물질들 중의 하나로 알려져 있는 di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)는 플라스틱 제품의 가소성을 제공하는 성분으로 쓰여지고 있으며, 유제품이나 주방기구 혹은 도료(emulsion paint) 등에도 포함되어 있는 것으로 알려져 있어서, 점차 이 화합물에 노출되고, 체내에 축적될 가능성이 높아지고 있다. 따라서, DEHP가 사춘기 직전의 흰쥐 정소의 발달에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 형태학적으로 관찰하였던 바, DEHP는 흰쥐 정소의 발육을 크게 저해하는 것으로 관찰되었다. 한편, DEHP의 용매로 사용하였던 corn oil만을 투여한 실험대조군에서 나타나는 특징은 아무런 처리도 하지 않은 정상대조군과 별다른 차이를 보이지 않는 것으로 확인되었다.

실험군들의 경우 흰쥐 정소는 조직적출시 육안으로도 크기가 대조군에 비해 매우 왜소하였으며, 투여량이 높을수록 영향은 더 크게 나타나는 것으로 관찰되었다. 특히 고농도 처리군들에서는 부고환두

(head of epididymis) 부위에서 울혈(congestion)이 육안으로 관찰되기도 하였는데, 이는 DEHP가 정맥혈관의 협착이나 폐쇄를 일으켜 나타난 순환 장애의 결과로 생각된다. 정소내 세정관 단면의 직경을 측정할 결과, 정상 및 실험대조군의 경우, $371.82 \pm 27.1 \mu\text{m}$ 였으나, 체중 kg당 1g, 3g 혹은 5g을 처리한 실험군에서는 직경이 각각 $254.95 \pm 27.5 \mu\text{m}$, $241.25 \pm 7.72 \mu\text{m}$, $203.75 \pm 25.6 \mu\text{m}$ 로 측정되어 DEHP 처리량이 증가할수록 세정관의 직경이 대조군에 비해 매우 작아지는 경향을 나타냈다. 뿐만 아니라, 세정관내 생식세포들의 층수도 대조군의 경우 5~7층이었으나, 실험군에서는 세포 층의 수가 점차 감소하는 경향을 보였으며, 특히 고농도인 5g 처리군에서는 3~4층 정도인 것으로 나타났다. 이는 세정관 직경의 변화와 비교되는 결과이며, DEHP가 세정관이 발달하는 시기에 테스토스테론의 합성을 억제하고, 이로 인해 Sertoli 세포의 증식과 분화를 억제하였기 때문인 것으로 판단된다. 또한 대조군에서 세정관 내부가 Sertoli 세포와 생식세포들로 치밀하게 분포되어 있는 것과는 달리, 실험군에서는 세정관내에서 비교적 커다란 공포(vacuole)들이 형성되어 있는 모습이 나타났다(Figs. 1, 2, 3, 4). 이러한 공포들은 Sertoli 세포들의 분화가 저해됨으로 인해 이들 세포로부터 영양물질을 공급받고 외부환경으로부터 격리된 공간에 분포하고 있는 생식세포들이 세정관 강소에 노출됨으로 인해 괴사현상이 나타나는 것으로 생각된다(Goldman et al., 1990; Jacharewski et al., 1998).

DEHP가 간이나 정소와 같은 일부 기관들에 독성작용을 나타내는 물질로 알려져 있으나, 아직까지 성숙중인 흰쥐 정소에서 DEHP에 의한 변화를 정소의 기능과 관련된 세포들 및 세포소기관들을 중심으로 하여 미세구조적 측면에서 연구된 바는 거의 없는 실정이다. 따라서, 본 실험에서는 미성숙한 상태의 흰쥐를 실험모델로 정하여, 대조군과 실험군에서 정소의 기능에 중요한 역할을 하는 체세포들과 생식세포들의 미세구조상의 변화를 관찰함으로써, 특정 세포 혹은 세포소기관들의 분화와 기능수행에 미치는 DEHP의 영향을 고찰하고자 하였다.

대조군의 경우, 정소의 세정관들 사이에 존재하며 음성 호르몬인 테스토스테론을 생성·분비하는 Ley-

dig 세포는 모세혈관과 인접하여 존재하는 경향을 보였으며, 짧은 미세융모들이 세포유리면에 분포하고 있었다. 또한 진염색질과 이질염색질이 고르게 분포하고 있는 구형의 핵을 포함하고 있었고, 세포질내에서는 구형 혹은 난형의 미토콘드리아와 지방적들이 다수 분포하고 있었으며, 특히 활면소포체가 조밀하게 발달하고 있었다(Fig. 5). 이러한 미세구조적 특징은 혈액으로부터 콜레스테롤을 원활하게 공급받고 이로부터 테스토스테론을 효율적으로 합성하기 위해 분화되어 있는 구조적 장치들로 생각된다(Cross & Mercer, 1993). 한편, 세정관내에서 정자형성과정을 조절하는 체세포인 Sertoli 세포는 세포질 기저부가 세정관벽에 부착하고, 정단부는 세정관의 강소 쪽으로 길게 분포하고 있었다. 정단부와 기저부 사이의 세포질은 생식세포들을 완전히 둘러싼 형태를 취하고 있었으며, 이는 외부환경으로부터 생식세포를 보호하고, 분화에 필요한 물질들을 제공하기 위한 구조적 특징으로 판단된다(Li et al., 1998). 이 세포의 핵은 난형이고, 핵질은 진염색질이 대부분을 차지하며, 인(nucleolus)도 뚜렷하게 관찰되었다. 세포질에서는 조면소포체와 골지체가 발달하고 있는 모습을 볼 수 있었고, 리소솜들도 분포하고 있었으며, 다른 세포들과의 연결장치들도 잘 발달하고 있었다. 본 실험에서 DEHP에 의한 정소 미세구조의 변화를 관찰하기 위해 흰쥐를 희생시키고, 정소 조직을 적출하였던 시기는 정자형성과정이 완전히 이루어지기 직전의 미성숙 단계이다. 따라서, 이 시기에 나타나는 대조군 생식세포들의 미세구조를 보면, 정원세포, 정모세포, 정세포들이 전형적인 분화중인 특징을 보였고, 세정관벽 쪽에서 내강 쪽으로 일련의 순서로 분포하고 있었으며, 드물게 정자 편모가 형성되고 있는 모습이 관찰되기는 하였으나, 아직까지 완전히 성숙한 상태로 보이는 정자는 찾아 볼 수 없었다(Fig. 6).

실험군의 경우, DEHP에 의해 나타나는 발달중인 정소내 세포들과 세포소기관 혹은 성분들의 형태학적 특징은 대조군과 비교하여 뚜렷한 차이를 나타냈다. 세정관들 사이의 간질조직에 분포하는 Leydig 세포는 DEHP 처리군에서 그 수가 다소 증가되어 있는 경향을 보였고, 진염색질에 대한 이질염색질의 상대적 양이 대조군에 비해 증가하였다. 세포질내에서는

발달된 활면소포체의 모습을 관찰하기가 어려웠고, 리소솜들이 증가하였다. 또한 혈관과의 사이에 커다란 공포가 형성되어 있거나, 교원섬유들이 증가하는 섬유화과정이 관찰되기도 하였는데(Figs. 7, 9), 이는 이 세포의 기능이 억제되어 나타나는 변화로 판단되며, 이러한 사실들로 미루어, DEHP는 테스토스테론을 합성하는 Leydig 세포의 미세구조와 기능에 영향을 미치는 것으로 볼 수 있다. 한편 실험군 Sertoli 세포의 경우, 세포의 크기가 감소한 특징 이외에도 핵막이 함입되거나 불규칙하고, 이질염색질이 증가하며, 염색질의 덩어리(clump)가 나타나기도 하였고, 세포질에서는 리소솜과 액포들이 증가하는 모습을 관찰할 수 있었다(Fig. 10). 한편 발생중인 생식세포들은 DEHP에 의해 크게 영향을 받는 것으로 관찰되었다. 세정관내에서 분화중인 여러 단계의 생식세포들을 볼 수 있었으나, 대조군에 비해 분화의 정도가 미약하고 고농도군으로 갈수록 정모세포의 수는 뚜렷이 감소하여 세정관내에 거의 존재하지 않고 약간의 정원세포들만 관찰되었다. 또한 세포들 사이의 세포간공간이 대조군 보다 더 크게 확장되고, 발생중인 생식세포들의 핵은 공포화되어 있거나 이질염색질이 증가하며, 인의 분리(segregation) 현상이 나타나기도 하였으며, 심한 경우 핵응축(pyknosis) 혹은 세포 괴사(necrosis)가 진행중인 모습들도 관찰할 수 있었다(Figs. 8, 10). 이러한 특징들로 보아, DEHP가 Leydig 세포의 테스토스테론 생성과 분비에 영향을 주고, 이어서 Sertoli 세포의 미분화 혹은 기능저하로 정자형성과정이 억제되는 것으로 판단된다. 이러한 추론은 이 화합물에 의한 정소의 손상과 퇴축은 테스토스테론 함량 저하에 기인된다(Parmar et al., 1987)는 보고와 유사한 결과이다. 한편 Sertoli 세포에 독성효과를 보이는 물질이 생식세포들의 세포 사멸(apoptosis)을 유도한다(Lee et al., 1997)는 주장이나, MEHP가 배양중인 Sertoli 세포와 생식세포간의 물리적인 접촉을 방해함으로써, 정자형성과정을 억제한다(Richburg & Boekelheide, 1996)는 보고와 비교되는 결과이다.

DEHP가 동물체내의 어떤 특정한 세포에만 작용하고, 이어서 효과가 증폭되는 것인지, 아니면 대부분의 세포에 독성효과를 나타내는 것인지에 대해서는 아직 논란의 여지가 있다. 또한 이 화합물은 체내에서

소량으로 존재할 경우에는 심각한 문제가 되지 않으나, 지질 용해성을 지니고 있어 체지방에 쉽게 축적되고, 난분해성 특징으로 체내에 장기간 축적될 수 있다. 또한 먹이사슬을 통한 농축이 이루어질 때 이상이 발생할 수 있으며, 다음 세대에도 악영향이 나타날 수 있다는 점에 심각성이 있다. 보고에 의하면, DEHP가 에스트로젠 수용체와 결합하여, 에스트로젠의 효과를 과잉으로 나타내도록 하는 것으로 알려져 있다(Zacharewski et al., 1998; Makoto et al., 1999). 또한 본 연구의 결과로 추측할 수 있는 것처럼 정자형성과정에서 방해받는 기전은 DEHP에 의해 Leydig 세포가 손상되고, 기능 부진이 나타나 테스토스테론의 분비가 감소하고, 이어서 Sertoli 세포의 손상과 생식세포의 분화 저해가 일어난 것으로 생각된다.

이상과 같이 DEHP는 정소의 발육과정에서 미세구조적인 변화를 야기하며, 정소의 내분비 기능과 정자형성과정을 억제하는 것으로 판단된다. 성체 흰쥐를 이용하여 정소의 분화가 완전히 이루어진 상태에서 DEHP에 의한 변화들이나, 이 화합물의 표적세포 혹은 작용기전 등에 관해서는 더욱 깊이 있게 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Cross PC, Mercer KL: Cell and Tissue Ultrastructure. Freeman, New York, pp. 336-350, 1993.
- Goldman JM, Cooper RL, Laws SC, Rehnberg GL, Edwards TL, McElroy WK, Hein JF: Chlordimeform-induced alterations in endocrine regulation within the male rat reproductive system. *Toxicol Appl Pharmacol* 104: 25-35, 1990.
- Jacharewski TR, Meek MD, Clemons JH, Wu ZF, Fielden MR, Matthews JB: Examination of the *in vitro* and *in vivo* estrogenic activities of eight commercial phthalate esters. *Toxicol Sci* 46(2): 282-293, 1998.
- James NH, Soames AR, Roberts RA: Suppression of hepatocyte apoptosis and induction of DNA synthesis by the rat and mouse hepatocarcinogen diethylhexylphthalate (DEHP) and the mouse hepatocarcinogen 1, 4-dichlorobenzene. *Arch Toxicol* 72(12): 784-790, 1998.
- Karle, VA, Short, BL, Martin, GR, Bulas, DI, Getson, PR, Luban, NLC, O'Brien, AM, Rubin, RJ: Extracorporeal membrane oxygenation exposes infants to the plasticizer, di (2-ethylhexyl) phthalate. *Crit Care Med* 25(4): 696-703, 1997.
- Lee JW, Richburg JH, Younkin SC, Boekelheide K: The Fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis. *Endocrinology* 138(5): 2081-2088, 1997.
- Li LH, Jester WF, Orth JM: Effects of relatively low levels of mono-(2-ethylhexyl) phthalate on cocultured Sertoli cells and gonocytes from neonatal rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 153(2): 258-265, 1998.
- Makoto N, Yukiko T, Daisuke A, Yoshikuni Y, Teruo S, Masato N, Mineo T, Yasuyuki S: Binding characteristics of dialkyl phthalates for the estrogen receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 254(2): 311-314, 1999.
- Mattison DR, Plowchalk DR, Meadows MJ, Al-Juburi AZ, Gandy J, Malek A: Reproductive toxicity: Male and female reproductive systems as targets for chemical injury. *Med Clin Nor Am* 74(2): 391-411, 1990.
- Muhlenkamp CR, Gill SS: A glucose-regulated protein, GRP58, is down-regulated in C57B6 mouse liver after diethylhexyl phthalate exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 148(1): 101-108, 1998.
- Mushtaq M, Srivastava SP, Seth PK: Effect of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) on glycogen metabolism in rat liver. *Toxicology* 16(2): 153-161, 1980.
- Parmar D, Srivastava SP, Singh GB, Seth PK: Effect of testosterone on the testicular atrophy caused by di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). *Toxicol Lett* 36(3): 297-308, 1987.
- Richburg JH, Boekelheide K: Mono-(2-ethylhexyl) phthalate rapidly alters both Sertoli cell vimentin filaments and germ cell apoptosis in young rat testes. *Toxicol Appl Pharmacol* 137: 42-50, 1996.
- Richmond RE, Carter JH, Carter HW, Daniel FB, Deangelo AB: Hepatocyte expression of tumor associated aldehyde dehydrogenase (ALDH-3) and p21 Ras following diethylnitrosamine (DEN) initiation and chronic exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). *Carcinogenesis* 17(8): 1647-1655, 1996.
- Srivastava S, Awasthi VK, Srivastava SP, Seth PK: Biochemical alterations in rat fetal liver following in utero exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). *Indian J Exp Biol* 27(10): 885-888, 1989.
- Srivastava SP, Agarwal DK, Mushtaq M, Seth PK: Effect of

- Di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on chemical constituents and enzymatic activity of rat liver. *Toxicology* 11(3): 271-275, 1978.
- Thomas JA, Curto KA, Thomas MJ: MEHP/DEHP: Gonadal toxicity and effects on rodent accessory sex organs. *Environ Health Perspect* 45: 85-88, 1982.
- Tomita I, Nakamura Y, Yagi Y, Tutikawa K: Teratogenicity/fetotoxicity of DEHP in mice. *Environ Health Perspect* 45: 71-75, 1982.

< 국문초록 >

플라스틱 제품의 가소제로 널리 사용되며, 내분비 교란물질로도 알려져 있는 di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)를 사춘기 이전 흰쥐에 1주일 동안 구강 투여 (1g/kg, 3g/kg, 5g/kg)한 후 분화중인 정소의 미세구조에 미치는 영향을 조사하였다. DEHP 처리군에서는 대조군

에 비하여 세정관 직경이 매우 작았으며, Leydig 세포, Sertoli 세포 및 분화중인 생식세포들의 증식이 억제되었다. 실험군에서 세정관 사이에 존재하여 테스토스테론을 분비하는 Leydig 세포는 이질염색질이 증가하고, 세포질 내에서 활면소포체의 발달이 미흡하였으며, 리소솜과 지방적이 증가하는 특징을 보였다. 세정관 내에서 Sertoli 세포는 세포질의 크기가 감소하고, 핵막이 불규칙해지거나, 염색질이 응축되어 있는 모습이 나타나며, 세포질내에서 리소솜과 액포들이 증가하였다. 실험군 흰쥐 정소 내에서 분화중인 생식세포들의 핵은 이질염색질이 증가하거나, 응축되어 있고, 인의 분리현상이 관찰되기도 하며, 심한 경우 핵내에 공포가 형성되어 있거나, 괴사과정에 있는 생식세포들도 관찰되었다. 이와 같은 정소 미세구조의 변화는 DEHP 투여량의 농도에 의존성을 보이며, 이 화합물은 Leydig 세포의 테스토스테론 합성 기능을 방해하고, 이어서 Sertoli 세포의 구조와 기능이 손상되어 정자형성과정 중인 생식세포들의 증식과 분화가 억제되는 것으로 사료된다.

FIGURE LEGENDS

Each scale bar on electron micrograph represents 2 μm .

- Fig. 1.** Light micrograph of cross sectioned seminiferous tubules of control rat testis. Typical morphology of seminiferous tubules are seen and the cells are intact and arrange compactly in the tubules. $\times 200$
- Fig. 2.** Cross sectioned seminiferous tubules of rat testis treated with 1.0 g/kg of DEHP. There are several vacuole-like structures (arrows) in the tubules. $\times 200$
- Fig. 3.** Cross sectioned seminiferous tubules of rat testis treated with 3.0 g/kg of DEHP. The interstitial cells including Leydig cells increase in number and there is a decreasing tendency in number and kinds of cells in the tubules. $\times 200$
- Fig. 4.** Cross sectioned seminiferous tubules of rat testis treated with 5.0 g/kg of DEHP. The shrinkage and decrease in diameter of the tubules can be easily observed as well as the vacuole-like structures (arrows) and irregular contour of tubules. $\times 200$
- Fig. 5.** Electron micrograph of Leydig cells of control rat testis. The oval nucleus (Nu) is euchromatic and plentiful lipid droplets (Li) and conspicuous smooth endoplasmic reticulum (SER) are observed. MV; microvilli
- Fig. 6.** Electron micrograph of spermatids of control rat testis. The two cells are connected by their cytoplasmic bridge (arrow). The acrosome (Ac) in the early developing stage can be seen on the nucleus (nu).
- Fig. 7.** Electron micrograph of rat testis treated with 3.0 g/kg of DEHP. The spatial arrangement of smooth endoplasmic reticulum (SER) of Leydig cells (LC) can directly be compared with the control group (Fig. 5), while the endothelial cells (E) of blood vessel (BV) are preserved.
- Fig. 8.** Developing germ cells of rat testis treated with 5.0 g/kg of DEHP. The nucleus (Nu) of the cell appears more heterochromatinized following pyknosis with the increase of vacuoles (Va) in number and size.
- Fig. 9.** Leydig cells of rat testis treated with 5.0 g/kg of DEHP. There are some structural implications of increasing heterochromatin with the spatially defected smooth endoplasmic reticulum (SER). Mi; mitochondrion, No; nucleolus, RER; rough endoplasmic reticulum
- Fig. 10.** Sertoli cells (SC) of rat testis treated with 5.0 g/kg of DEHP. The enlargement of nuclear surface with invaginated nuclear envelope (curved arrows) and the clumped chromatin (C) come into a consequence that the cell is in a degenerating processes. Ly; lysosome, arrows; basal lamina





