大韓獸醫學會誌(2003) 第43卷 第4號
Korea J Vet Res(2003) 43(4) : 531~539

흰쥐에서 출생후 고환 간질세포의 발생

태현진 · 이여광 · 박병용 · 박영재 · 최은영 · 이영훈[2] · 안동춘[3] · 강형섭[1] · 박상열[1]
박수현[1] · 이존화[1] · 양홍현[1] · 김인식[1]*

전북대학교 수의과대학, [1]생체안전성연구소,
[2]전북대학교 치과대학 해부학교실, [3]강원대학교 수의학과

(게재승인: 2003년 11월 20일)

The postnatal development of the rat Leydig cell

Hyun-Jin Tae, Li-Guang Li, Byung-Yong Park, Young-Jae Park, Eun-Young Choi, Young-Hoon Lee[2], Dong-Choon Ahn[3], Hyung-Sub Kang[1], Sang-Youel Park[1], Soo-Hyun Park[1], John-Hwa Lee[1], Hong-Hyun Yang[1], and In-Shik Kim[1]*

[1]Bio-Safety Research Institute, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea
[2]School of Dentistry, Chonbuk National University,, Chonju 561-756, Korea
[3]Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

(Accepted: November 20, 2003)

Abstract : Changes in the rat testis interstitium from birth to adulthood were studied using Sprague Dawley rats of 1, 7, 14, 21, 28, 40, 60, and 90 days of age to investigate Leydig cell differentiation. In addition, serum testosterone concentrations and luteinizing hormone stimulated (LH; 100 ng/ml) testosterone secretory capacity per testis in vitro were determined via radioimmunoassay. Fetal Leydig cells were present in rat testes from birth to 21 days, and they were only steroidogenic cells in the testis at days 1 and 7. The average volume of a fetal Leydig cell and the absolute volume of fetal Leydig cell per testis were similar at all ages of experimental groups except at day 21 when lower values were observed for both parameters. The number of fetal Leydig cells per testis remained constant from birth through 21 days. Adult Leydig cells were recognized at day 14 and their absolute volume and number per testis increased linearly from 14 to 90 days. The average volume of an adult Leydig cell increased significantly with age and reached maximum size by 60 days of age where the volume was nearly three times bigger than that of at day 14. Total testosterone production per testis in vitro and serum testosterone concentrations were not significantly different at day 1 compared with 7, 14, and 21 days of age. Significant increases were observed at days 40 and 60. Values at days 60 and 90 were not significantly different.

Key words : Rat, Leydig cell, Postnatal development

서 론

고환의 간질세포는 일반적으로 미분화된 중간엽세포에서 발생하는 것으로 알려져 있고 [7, 9, 15], 간질세포는 세포질내에 존재하는 몇 가지 효소에 의하여 테스토스테론을 합성하여 분비하며 [20, 23], 이 호르몬은 정자발생의 조절, 부속생식기관(accessory sex organs)의 기능유지 및 발기 기능 등을 포함한 수컷 생식기계통에서 중요한 작용을 나타낸다 [21, 23, 25]. 또한 간질세포의 발생시기, 테스토스테론의 합성 그리고 안드로젠에 의해서 조절되는 수컷 생식기관의 발달은 서로 밀접한 연관성이 있는 것으로 보고되어 있다[2].

포유동물류에서 간질세포의 발생은 임신시기에 나타나는 태자 간질세포(fetal Leydig cells)와 출생 후에 일

이 논문은 2003년도 두뇌한국21사업에 의하여 지원되었음
이 연구는 2003년도 전북대학교 생체안전성연구소 학술연구비의 일부지원으로 이루어졌음

*Corresponding author: In-Shik Kim
Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea
[Tel: 82-63-270-2556, Fax: 82-63-270-3780, E-mail: iskim@chonbuk.ac.kr]

정한 시기에 발생하여 성숙동물에까지 계속 존재하는 성숙 간질세포로 2단계의 연속적인 발생단계를 나타내는 것으로 알려져 있다 [12, 14, 22]. 그러나 태자 간질세포와 성숙 간질세포의 발생유형은 동물에 따라서 많은 차이를 나타내고 있다. 정자발생(spermatogenesis)이 출생 후 짧은 시간에 이루어지는 흰쥐 [9, 15]에서는 일정기간 태자 간질세포와 성숙 간질세포가 혼합되어 관찰되며, 사람 [19]에서 태자 간질세포는 6개월 이내에 퇴축되고 사춘기에 접어들면서 성숙 간질세포가 관찰된다. 기니픽 [3]에서는 태자 간질세포와 성숙 간질세포의 구조적인 차이가 없고 고양이 [24]는 간질세포, pre-Leydig cell, 성숙 간질세포로 구분되며, 돼지 [5]에서는 간질세포의 발생이 3단계로 나뉘어져 있는데, 이는 초기태자시기(early fetal period), 신생자돈 시기(neonatal period)와 마지막 단계로 성성숙 시기인 출생 후 90일령에 나타나서 지속되는 단계로 나뉘어져 있다. 그러나 아직까지 같은 동물에서조차 태자 간질세포와 성숙 간질세포의 역학(kinetics)에 관하여는 연구자에 따라 많은 견해 차이를 보이고 있다.

흰쥐에서 태자 간질세포는 임신 17일에 나타나서 출생 후 짧은 시간 내에 퇴화하며, 형태학적으로 결합조직으로부터 발생하는 성숙 간질세포와 유사하여 태자 간질세포가 성숙 간질세포로 분화하고 [14], 고환 간질세포 숫자의 변화 또는 간질세포 자체의 기능 변화에 의하여 테스토스테론 생성이 조절된다 [26]. 그러나 고환 내 태자 간질세포의 숫자와 성숙 간질세포사이의 일시적인 상호 연관성에 관하여는 명확하게 밝혀지지 않았고 특히, 출생 후 고환 간질세포의 상세한 양적인 정보와 스테로이드 형성능(steroidogenic function)을 결부시킨 연구결과는 미흡한 실정이다.

따라서 흰쥐를 대상으로 출생 후부터 성 성숙 시기까지 형태계측학적 방법, 방사면역측정법, 일반조직학적인 방법 등을 적용하여 출생 후 흰쥐 고환에서 태자 간질세포의 출현과 소실 시기를 파악하고 일령에 따라 고환 간질세포 용적치밀도(volume density), 절대용적(absolute volume), 평균용적(average volume), 고환내 총숫자(total number per testis), 혈청 및 고환내 testosterone 형성능을 파악하여 고환 간질세포의 출생 후 형태와 기능의 상호 연관성을 규명하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물

출생 후 1, 7, 14, 21, 28, 40, 60 및 90일령(n=13마리/일령)의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 사용하였다. 전북대학교 생체안전성연구소로부터 1일령과 7일령의 수컷 흰쥐를 얻기 위하여 임신중반기의 암컷 흰쥐, 14일령과 21일령의 수컷 흰쥐를 얻기 위하여 수유중인 암컷 흰쥐 및 28, 40, 60 및 90일령의 수컷 흰쥐를 구입하여 사료와 물을 자유급식시키는 조건으로 사육하면서 실험에 사용하였다.

고환 조직표본제작

출생 후 1일령과 7일령의 고환은 2.5% glutaraldehyde (pH 7.4)에 침지고정(immersion fixation)하였고 그 이외의 일령은 전신 관류고정(whole-body perfusion fixation)하였다 [10]. 고환조직을 관류고정(n=5마리/group)하기 위하여 실험동물을 8% chloral hydrate solution(4 ml/100 g BW)을 복강주사하여 마취한 후 체중을 측정하고 혈액이 응고하는 것을 방지하기 위하여 heparin(Sigma, 100,000 Unit) 150 IU/kg를 복강내에 주입하였다. 10분 후에 복강을 절개하고 오른쪽 고환을 적출하여 chemical balance(Sartorius, Germany)를 이용하여 무게를 측정하고 sucrose를 사용하여 부양법(flotation method)으로 비중(specific gravity)을 측정하고 고정 전의 고환용적(fresh testis volume)을 산출하였다(고환용적=고환무게/고환비중). 이 후 왼쪽심실을 절개하여 cutdown tube를 오름대동맥에 삽입하고 오른쪽 심방귀를 절개하여 방혈시킨 후 0.9% 생리식염수를 사용하여 전신의 혈관을 1~2분 동안 세척하였고 2.5% glutaraldehyde(pH 7.4)로 대체하여 약 40분 동안 전신 관류고정하였다. 고환의 고정 후 용적을 측정하기 위하여 고환을 적출한 후 무게를 측정하여 고정 후의 고환용적(fixed testis volume)을 산출하였다. 조직표본 제작을 위하여 고환을 2~3 mm로 세절하여 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 12시간 동안 고정한 후 1% osmium tetroxide로 2시간 동안 고정하고 alcohol로 탈수하고 Epon-812로 포매하여 각 개체 당 블록 20개씩을 제작하였다.

광학현미경관찰

초박절편기(ultramicrotome, Leica Ultracut-S, Austria)를 이용하여 1 μm로 절편을 제작하고 1% methylene blue-azure II로 염색, Permount(Fisher Scientific Co., NJ)로 봉입하여 고환 간질조직을 구성하고 있는 간질세포(Leydig cell), 중간엽세포(mesenchynal cell), 림프공간(lymphatic space), 혈관, 혈관주위세포(pericyte), 혈관내피세포(endothelial cell) 및 근모양세포(myoid cell)를 광학현미경(Leica, DMRBE, Germany)에서 관찰하고 사진을 촬영하였다.

형태계측(Morphometry)

(1) 고환 간질세포의 용적치밀도(volume density;

volume per unit volume):

Point Counting [11, 17, 27]법을 적용, 121 point ocular grid를 장착한 광학현미경을 이용하여 point와 만나는 각 간질세포의 수를 네 모서리와 가운데, 즉 5부위를 측정하였으며 각 개체 당 최소 50부위에서 최대 100부위를 중복되지 않게 측정하였다. 이것을 전체 point(121×5)로 나누어 각 고환간질조직 구조물의 용적치밀도(v:v%)를 구하였다.

Vv% of a component
=number of points on the component
×100/total number of points on the testis tissue

(2) 고환 간질세포의 절대용적(absolute volume):

이미 구해진 용적치밀도(volume density)와 고환용적(fresh testis volume)을 이용해서 절대용적(absolute volume)을 다음과 같은 공식에 의해서 구하였다 [11, 17, 27].

Absolute volume of Leydig cell
=volume density of Leydig cell
×fresh testis volume

여기서 고환의 용적은 고환의 무게와 비중으로부터 구하였다.

(3) 고환 단위용적 당 간질세포의 수(numerical density; Nv, defined as the number of cells per unit volume of testis)

Floderus 방정식($Nv=Na/(T+D-2h)\times(1-S_T)$)을 적용하여 numerical density를 계산하였다 [11, 17, 27]. 이 공식에서 Na는 단위면적 당 각 세포핵의 숫자(단위면적=48520.8 μm^2), D는 평균 핵 직경, T는 평균 절편 두께, S_T(total shrinkage=histologic correction factor)는 총 고환조직의 고정 전, 고정 후, 표본제작 후의 총 수축량, h는 가장 작다고 생각되는 핵의 높이이며 이는 보통 평균 핵 직경의 10% 정도이다 [18, 28]. 단위면적 당 간질세포핵의 숫자와 핵의 크기는 조직 표본에서 5부위를 중복되지 않도록 선택하여 영상분석기(image analyzer system, Leica Q500MC, Germany)를 이용하여 측정하였다. 고환 당 간질세포의 총 숫자(total number)는 단위 용적 당 세포의 수에 각 고환의 용적을 곱하여 구하였다[11, 17, 27].

Total number of Leydig cell
=numerical density×fresh testis volume

(4) 간질세포의 평균용적(average volume):

간질세포를 포함한 각 세포의 평균용적(average volume)은 용적치밀도(volume density)를 단위용적 당 세포의 수(numerical density)로 나누어 구하였다 [11, 17, 27].

Average cell volume
=volume density/numerical density of each cell type

시험관내 고환조직배양(incubation of testis tissue *in vitro*)

각 실험군의 동물(n=8마리)에 8% chloral hydrate solution(4 ml/100 g BW)을 복강주사하여 마취한 후 혈청내 테스토스테론 농도를 측정하기 위하여 오른쪽 심실에서 혈액을 채취하고 혈청을 분리하여 -20°C에 보관하였다. 신속하게 왼쪽 고환을 적출하여 무게를 측정하고 피막(capsule)을 제거한 후 무게를 측정하고 2 ml medium (Krebs-Ringer bicarbonate solution, pH 7.4)에 황체형성호르몬 자극에 대한 고환내 테스토스테론 생성을 알아보기 위하여 황체형성호르몬(oLH-26, NIH, Bethesda, MD, U.S.A) 100 ng/ml을 첨가하고 산소탱크를 이용하여 10분 동안 처리한 후 0.004 g/ml의 glucose를 첨가하고 20 ml scintillation vials에 담아 34°C shaking water bath (90 shaking/minute)에서 3시간 동안 배양하고 원심 분리한 후 상층액만을 채취하여 -70°C에 보관하였다.

방사면역활성측정(radioimmunoassay)

혈청과 배양액내의 테스토스테론 농도는 RIA kit(Coat-A-Count; DPC, Los Angeles, CA)를 구입하여 측정하였다. 사용한 kit 항체의 dehydrotestosterone과 androstenedione에 대한 cross-reactivity는 각각 2.8%와 0.5%이였고 기타 스테로이드 호른몬은 0.02%이였다.

통계처리

본 실험에서 얻어진 자료에 대한 통계학적 유의성은 SAS package의 General Linear Model(GLM) Procedure (SAS Ver. 6.12, SAS Institute, 1998)를 ANOVA로 통계처리 후 유의성은 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였으며 $P < 0.05$ 이하의 유의성을 통계학적 차이로 인정하였다.

결 과

태자 간질세포와 성숙 간질세포의 형태학적 특징

태자 간질세포(화살표)는 출생 후 1~21일령 까지의 흰쥐 고환에서 형태학적인 특징에 의해서 쉽게 구분된다. 이 세포는 고환 간질조직내에서 가끔 큰 무리를 이루어 관찰되었고 외형은 다각형이었다. 지방방울(lipid

droplets)은 짙게 염색되고 또는 전자현미경 처리과정 중에 지방이 빠져나감으로 인하여 많은 소포(vesicles)가 세포질내에서 관찰되었고 이러한 세포의 핵의 외형은 불규칙한 타원형, 다각형 또는 원형으로 다양한 형태로 관찰되었다(Figs. 1A, 1B, 1C).

성숙 간질세포(화살표머리)는 14일령(Fig. 1C)의 고환에서 처음으로 관찰되었다. 세포질에는 극소수의 지방방울이 관찰되었고 세포질이 차지하고 있는 비율이 적었으며, 핵의 외형은 주로 원형 또는 난원형이었다. 흰쥐 28일령 고환에서는 태자 간질세포가 관찰되지 않았지만 세포의 크기는 커져있었다(Fig. 1D). 흰쥐 60일령(Fig. 1E)과 90일령(Fig. 1F)의 고환에서 성숙 간질세포는 간질조직내의 기타 세포에 비하여 짙게 염색되었고 혈관주위에 주로 위치하고 있고 핵이 성숙 간질세포 부피의 대부분을 차지하고 있었다.

고환 간질세포의 용적치밀도

태자 간질세포의 용적치밀도는 1일령에서 1.62%를 나타내었고 점차적으로 감소하여 21일령에서는 0.02%로 관찰되었다. 성숙 간질세포는 14일령에서 관찰되기 시

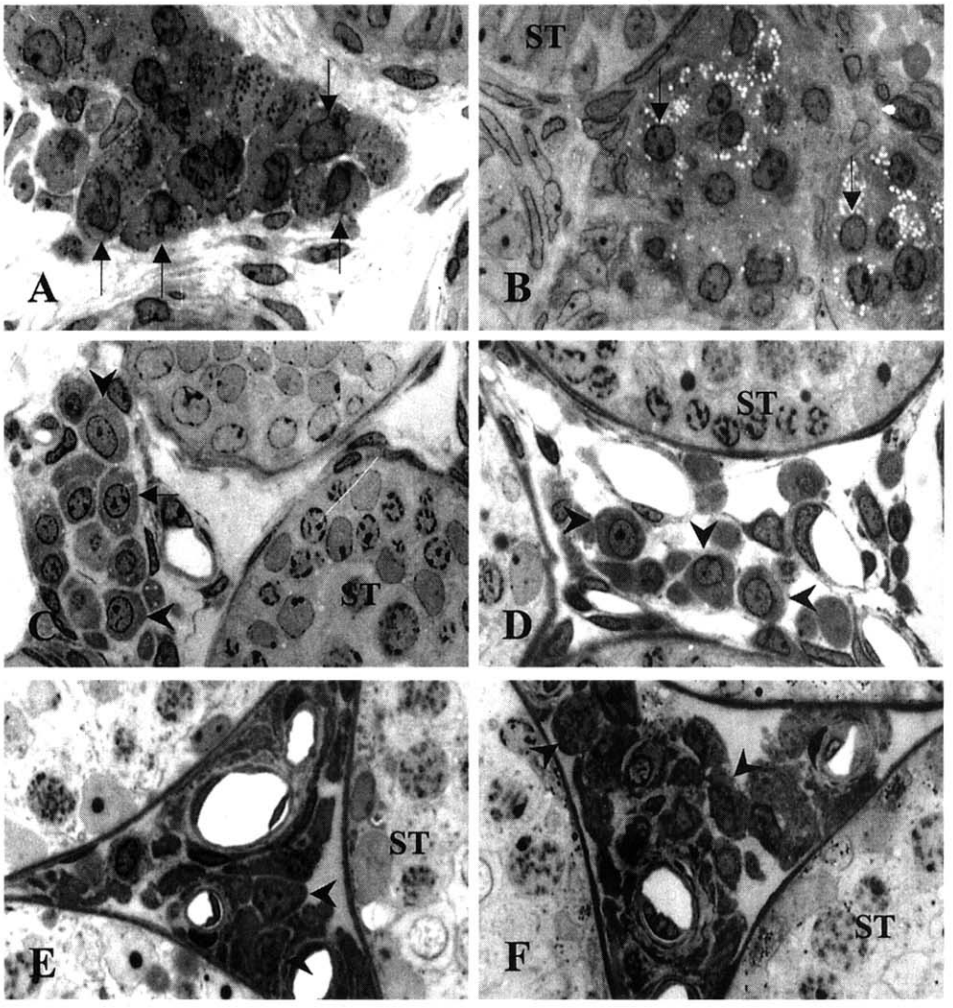

Fig. 1. Representative light micrographs showing testis interstitium of Sprague Dawley rats at postnatal ages 1(A), 7(B), 14(C), 28(D), 60(E), and 90(F) days. All figures were of the same magnification (×1,000). ST, Seminiferous tubules; Arrows; Fetal Leydig cells; Arrow heads, Adult Leydig cells.

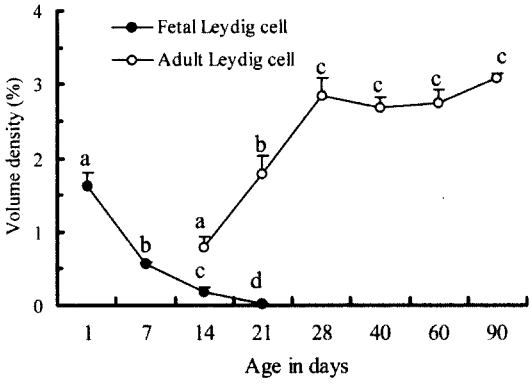

Fig. 2. Volume density (v:v%) of Leydig cells in rats from postnatal day 1 to 90 (mean±SEM). Different letters indicate statistically significant differences ($P<0.05$) among the age groups.

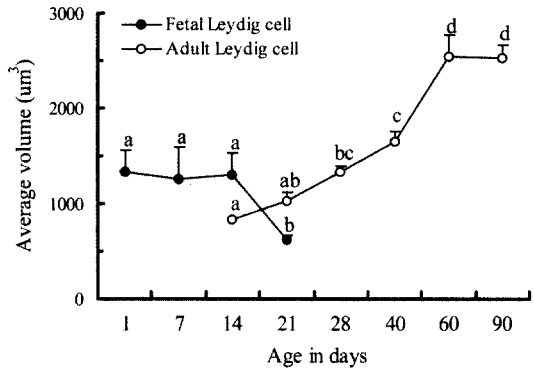

Fig. 4. Average volume (μm^3) of Leydig cells in rats from postnatal day 1 to 90 (mean±SEM). Different letters indicate statistically significant differences ($P<0.05$) among the age groups.

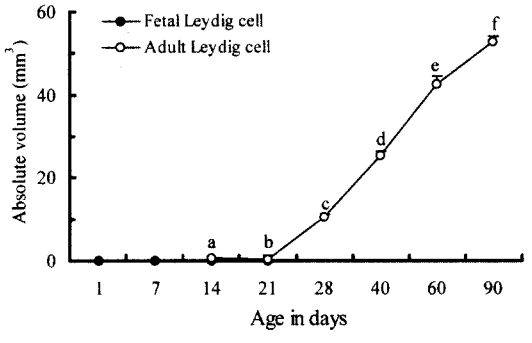

Fig. 3. Absolute volume (mm^3) of Leydig cells in rats from postnatal day 1 to 90 (mean±SEM). Different letters indicate statistically significant differences ($P<0.05$) among the age groups.

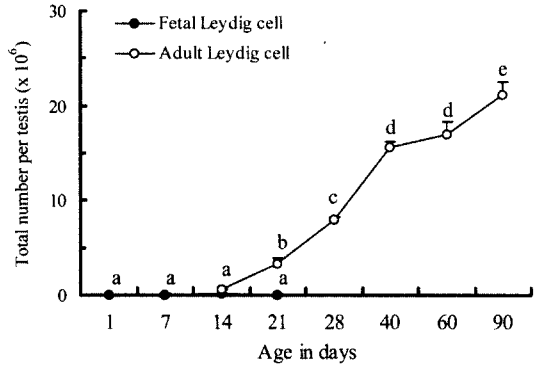

Fig. 5. Total number (10^6 cells/testis) of Leydig cells in rats from postnatal day 1 to 90 (mean±SEM). Different letters indicate statistically significant differences ($P<0.05$) among the age groups.

작하여 0.79%를 나타내었고 점차적으로 증가하기 시작하여 28일령과 90일령에서 각각 2.84%, 3.09%를 나타내었다(Fig. 2).

간질세포의 절대용적

고환 조직내 태자 간질세포의 절대용적은 1, 7, 14일령에서는 유의성이 관찰되지 않았으나 21일령에서는 유의성 있게 감소되었다. 성숙 간질세포의 절대용적은 14일령에서 가장 낮았고 21, 28, 40, 60, 90일령에서 유의성 있게 증가하였다(Fig. 3).

간질세포의 평균용적

태자 간질세포의 평균용적은 1, 7 및 14일령에서는 유의성이 없었으나, 21일령에는 그 이전의 일령에 비하여 거의 50%로 감소되었다. 성숙 간질세포의 평균용적은 14일령과 21일령, 21일령과 28일령에서는 차이가 관찰되지 않았으나 90일령에서는 14, 21 및 28일령에 거의 2배 이상으로 커져 있었다(Fig. 4).

간질세포의 고환내 총 숫자

태자 간질세포의 고환내 총 숫자는 1일령에서 0.054 $\times 10^6$개 이었으며, 21일령 까지 변화가 없었다. 성숙 간질세포의 숫자는 14일령에서 0.6×10^6이었고 40일령 까지 유의성 있게 증가하였고 60일령과 90일령에서는 각각 16.93×10^6, 21.14×10^6 이였다(Fig. 5).

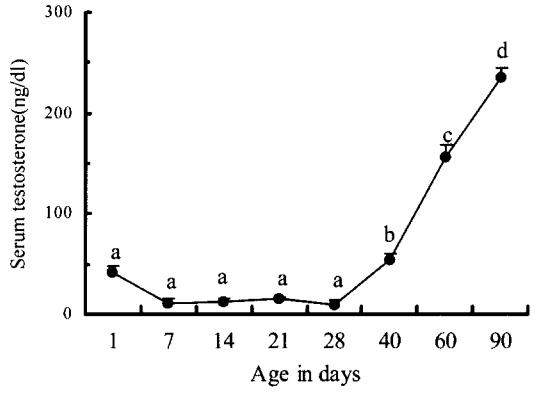

Fig. 6. Serum testosterone levels (ng/dl) in rats from postnatal day 1 to 90 (mean±SEM). Different letters indicate statistically significant differences ($P<0.05$) among the age groups.

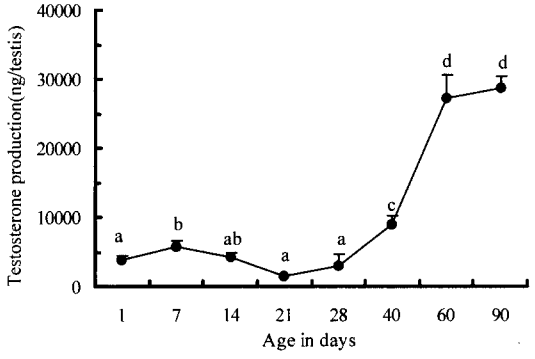

Fig. 7. In vitro testicular testosterone production (ng/testis) in response to LH in rats from postnatal day 1 to 90 (mean±SEM). Different letters indicate statistically significant differences ($P<0.05$) among the age groups.

혈청내 테스토스테론 농도 및 황체형성호르몬 자극에 대한 고환내 테스토스테론 생성

혈청내 테스토스테론 농도는 1일령에서 42.24 ng/dl 이었으며, 1일령부터 28일령 까지는 유의성이 관찰되지 않았고 40일령 부터 유의성 있게 증가하기 시작하여 60일령과 90일령에서도 유의성 있게 증가하였다 (Fig. 6). 고환내 테스토스테론 생성은 1일령과 7, 14, 21 및 28일령을 비교하여 볼 때 유의성이 관찰되지 않았고 40일령과 60일령에서 유의성있게 증가하였으며 60일령과 90일령에서는 유의성이 관찰되지 않았다 (Fig. 7).

고 찰

흰쥐에서 태자 간질세포는 출생시에 존재하는 것으로 알려져 있고 [14, 22], 사람과 흰쥐를 포함한 많은 종에 있어서 출생 후 고환에서 태자 간질세포는 변성(degeneration)을 초래하는 것으로 연구자들에게 폭 넓게 받아들여지고 있다. 그러나 최근의 여러 연구결과에 의하면 태자 간질세포의 숫자는 출생 후 3주까지 감소되지 않고 [16, 17], 형태적으로 태자 간질세포와 유사한 세포가 90일령 까지 존속되는 것으로 보고되어 있다 [8, 15]. 본 연구에서는 출생 후 1일부터 21일령까지 태자 간질세포는 감소되지 않고 그대로 남아 있으나 21일령 이후부터 90일령까지 더 이상의 태자간질세포를 관찰할 수 없었다. 이러한 결과들을 종합하여 볼 때 흰쥐에서 출생 후 태자 간질세포의 변화에 관하여 몇 가지로 정리해 볼 수 있다. 첫째, 태자 간질세포는 출생 후 일정기간(1~21일) 존재하다가 퇴화하거나, 둘째, 28~90일령까지 존재하는 태자 간질세포의 확인은 주로 면역조직화학 염색기법을 적용하여 보고하였으므로 [15], 본 연구를 포함하여 일반적인 형태학적인 기법을 적용하여 수행한 연구에서는 늦게 까지 적은 수로 존재하는 태자 간질세포를 확인하기가 어렵거나 셋째, 출생 후부터 성성숙시기까지 고환내에 관찰되는 태자 간질세포의 관찰은 가치 있는 결과이지만 그 기능에 관하여는 명확한 해석이 없으므로 이에 관한 추가적인 연구가 필요한 것이다.

Lording과 de Krester [14]는 성숙 간질세포는 고환 간질조직내에 존재하는 여러 종류의 세포 중에서 결합조직세포보다는 태자 간질세포에서 유래되는 것으로 보고하였다. 본 연구 21일령에서 태자 간질세포 평균용적의 감소와 동시에 성숙 간질세포 숫자가 증가되는 연구결과는 앞선 보고에 관하여 의문점이 있다. 21일령에 존재하는 태자 간질세포의 숫자는 같은 일령에서 관찰되는 성숙 간질세포 숫자의 2%를 차지하고 있다. 그러므로 만약 각각의 태자 간질세포가 유사분열이 없는 전제하에 성숙 간질세포로 분화된다면 성숙 간질세포 숫자의 단지 2%만을 채울 수 있다. 따라서 대부분의 성숙 간질세포는 태자 간질세포에서 유래하는 것이 아니라 고환 간질조직을 이루고 있는 다른 세포에서 분화되는 것으로 생각되며, 최근에는 이를 뒷받침하는 연구가 보고되었다 [15, 16]. 그러나 본 연구에서 태자 간질세포가 90일령에 존재하는 모든 성숙 간질세포 숫자에 관하여 설명될 수는 없으나 태자 간질세포의 명확한 변성이 관찰되지 않고 14일령에 처음으로 관찰되기 시작하는 성숙간질세포의 형태가 태자 간질세포와 많은 유사점이 있기 때문에 태자 간질세포가 성숙 간질세포로 전환될

수 있는 가능성을 완전히 배제할 수는 없을 것으로 사료되며, 이러한 해석은 뇌하수체를 절제한 흰쥐에 human chorionic gonadotropin을 투여하면 태자 간질세포와 성숙 간질세포를 구분 짓는데 중요한 특징인 지방방울(lipid droplets)이 사라진다는 보고 [1]가 있어 태자 간질세포가 성숙 간질세포로 전환할 수 있는 이론적 배경을 제시하고 있다.

태자 간질세포 평균용적이 본 연구에서 21일령에 명확하게 감소되었으나 이에 관한 중요성 및 원인에 관하여는 아직까지 명확하지 않다. 이러한 관찰 소견은 이전의 몇몇 보고와 [16, 17] 일치하였으나 기타 다른 보고에서는 비교할 만한 결과를 찾아볼 수 없다. 이 시기에 혈청내 간질세포자극호르몬의 낮은 농도가 [13] 21일령에 태자 간질세포 크기 감소를 일으키는 요소일 수도 있다. 게다가 중간엽세포가 성숙 간질세포로 전환하는 것을 자극하는 요소가 태자 간질세포의 일시적인 크기 감소를 일으킬 수 있는 요소일 가능성을 추론해 볼 수 있다. 이러한 관점은 지금까지 보고된 몇 개의 논문에 의하여 입증할 수 있다. 갑상샘(thyroid gland)의 기능이 저하되어 있는 신생 흰쥐에서 중간엽세포가 성숙 간질세포로 분화되는 것이 정지됨으로 인하여 태자 간질세포의 크기 감소는 일어나지 않고 [16], 또한 신생 흰쥐에 human chorionic gonadotropin을 주입하면 태자간질세포 숫자의 증가로 인하여 성숙 간질세포의 분화가 지연되며 [6], 대조적으로 어린 흰쥐에 ethane dimethane sulphonate를 투여하여 태자 간질세포를 파괴시키면 매우 빠르게 중간엽세포가 간질세포로 증식 및 분화한다 [9]. 따라서 이러한 결과들은 태자 간질세포와 성숙 간질세포의 분화 사이에는 상호 억제할 수 있는 연관성이 있을 가능성에 관한 추론을 제공해 주고 있다.

흰쥐에서 성숙 간질세포가 관찰되기 시작하는 시기는 출생 후 10일인 것으로 알려져 있다 [16, 17]. 본 연구에서는 출생 후 14일부터 보이기 시작하여 21일에 고환내 성숙 간질세포의 총 숫자와 절대용적이 유의성 있게 증가하였고 90일령 까지 연장된 결과에 의하면 성숙 간질세포의 숫자와 절대부피는 명확한 변화가 있음이 입증되었으며, 흰쥐에서 출생 후 부터 성 성숙 시기까지 성숙 간질세포의 변화에 관한 결과는 고환에 관한 다른 연구분야에 기초자료를 제공할 수 있는 가치 있는 결과로 생각된다. 또한 원숭이 [4]에서 미분화된 간질세포로 이루어진 출생 초기부터 성 성숙까지 간질세포의 숫자는 연속적으로 증가하고 이 세포의 미세구조적인 변화는 점진적이며 각기 다른 일령에서 명확한 특징이 없어 출생 후 고환 발달 과정에서 2종류의 간질세포로 이루어진 돼지 [5], 소 [29] 및 본 연구를 포함한 흰쥐 [14-17] 와는 달리 단지 1종류의 세포가 2단계의 발생과정을 나타내는 것으로 보고되었다. 따라서 이러한 차이 있는 결과에 견주어 볼 때 출생 후 간질세포의 발달은 동물에 따라서 고유의 특징을 갖고 있음을 알 수 있다.

간질세포 당 고환내 스테로이드 양은 태자시기에 가장 높아서 태자 간질세포가 성숙 간질세포 보다 스테로이드 형성능이 활발할 것으로 추정되고 출생 전에 간질세포 당 스테로이드 양은 명확하게 알려지지 않은 기전에 의해서 감소하였으나 출생 후 2주까지는 성숙 간질세포 보다 여전히 높게 관찰되었다 [26]. 본 연구에서 태자 간질세포로만 이루어진 1~7일령과 성숙 간질세포의 수가 명확하게 증가하기 시작하는 21~28일령까지 혈청내 테스토스테론의 농도를 비교해 보면 1~28일령까지 유의성 있는 변화가 관찰되지 않아 유사한 결과를 얻었다.

황체형성호르몬 자극에 대한 고환내 테스토스테론 분비 능이 1~14일령 까지 유의성이 관찰되지 않은 이유는 출생 직후부터 14일령 까지 고환 당 태자 간질세포의 절대용적의 변화가 없는 결과에 의해서 설명할 수 있고, 21일령에서 고환당 태자 간질세포의 절대용적은 감소함에도 불구하고 테스토스테론 생성에는 변화가 없는 것은 새롭게 발생한 성숙 간질세포가 폭 넓게 분포하기 때문인 것으로 생각된다. 또한 21일령 이후의 성숙 간질세포 숫자와 크기의 증가는 고환당 테스토스테론 생성의 증가를 설명할 수 있음이 본 연구에서 확인되었고 이와 유사한 결과도 흰쥐에서 보고되었다 [15, 16].

결 론

흰쥐에서 출생 후 고환 간질세포의 발생과정을 명확하게 알아보기 위하여 출생 후 1, 7, 14, 21, 28, 40, 60 및 90일령의 흰쥐를 대상으로 고환 간질세포의 형태계측학적인 변화를 관찰하였고 더불어 혈청내 테스토스테론 농도, 황체형성호르몬 자극에 따른 고환내 테스토스테론 분비 능을 측정하였다. 태자 간질세포는 출생 후부터 21일령 까지 관찰되었고 이 세포들은 1일령과 7일령에서는 스테로이드를 생성하는 유일한 세포이였다. 태자 간질세포 평균용적 및 절대용적은 낮게 관찰되는 21일령을 제외하고 1~14일령까지는 변화가 없었다. 성숙 간질세포는 14일령에서 처음으로 관찰되기 시작하였으며, 이 세포의 절대용적과 고환당 총 숫자는 14일령부터 90일령까지 점진적으로 증가하였다. 성숙 간질세포의 평균용적은 연령에 따라서 유의성 있게 증가하였고 60일령에서 최고치를 나타내었으며, 이 수치는 14일령보다 거의 3배정도 높게 나타났다. 황체형성호르몬 자극에 따른 고환내 테스토스테론 생성과 혈청내 테스토스테론 농도는 1일령에 7, 14 및 21일령을 비교하여 볼

때 유의성이 관찰되지 않았고 40일령과 60일령에서 명확하게 증가하였으며 60일령과 90일령에서는 유의성이 없었다.

참고문헌

1. **Aoki, A. and Massa, E. M.** Early response of testicular interstitial cells to stimulation by interstitial cell stimulating hormone. Am. J. Anat. 1972, **134**, 239-262.
2. **Black, V. H. and Christensen, A. K.** Differentiation of interstitial cells and Sertoli cells in fetal guinea pig testis. Am. J. Anat. 1969, **124**, 211-238.
3. **Christensen, A. K.** The fine structure of testicular interstitial cells in guinea pigs. J. Cell. Biol. 1965, **26**, 911-935.
4. **Fouquet, J. P., Meu, S. Y. and Dang, D. C.** Relationships between Leydig cell morphometry and plasma testosterone during postnatal development of the monkey, Macaca fascicularis. Reprod. Nutr. Develop. 1984, **24**, 281-296.
5. **Franca, L. R., Silva, V. A., Chiarini-Garcia, H., Garcia, S. K. and Debeljuk, L.** Cell proliferation and hormonal changes during postnatal development of the testis in the pig. Biol. Reprod. 2000, **63**, 1629-1636.
6. **Gaytan, F., Pinilla, L., Romero, J. L. and Aguilar, E.** Differential effects of the administration of human chorionic gonadotropin to postnatal rat. J. Endocrinol. 1994, **142**, 121-126.
7. **Gondos, B.** Development and differentiation of the testis and male reproductive tract. In : Testicular development, structure and function, pp. 3-20, Raven press, New York. 1980.
8. **Kerr, J. B. and Knell, C. M.** The fate of fetal Leydig cells during the development of the fetal and postnatal rat testis. Development. 1998, **103**, 535-544.
9. **Kerr, J. B., Risbridger, G. P. and Knell, C. M.** Stimulation of interstitial cell growth after selective destruction of fetal Leydig cells in the testis of postnatal rats. Cell. Tissue. Res. 1998, **252**, 89-98.
10. **Kim, I. S.** Effects of exposure of lactating female rats to polychlorinated biphenyls (PCBs) on testis weight, sperm production and Sertoli cell numbers in the adult male offspring. J. Vet. Med. Sci. 2001, **63**, 5-9.
11. **Kim, I. S., Ariyaratne, H. B. S. and Mendis-Handagama, S. M. L. C.** Changes in the testis interstitium of Brown Norway rats with aging and effects of luteinizing and thyroid hormones on the aged testes in enhancing the steroidogenic potential. Biol. Reprod. 2002, **66**, 1359-1366.
12. **Kuopio, T., Tapanainen, J., Pelliniemi, L. J. and Huhtaniemi, I.** Developmental stages of fetal-type Leydig cell in prepubertal rats. Development. 1989, **107**, 213-220.
13. **Lee, V. W. K., de Krester, D. M., Hudson, B. and Wang, C.** Variations in serum FSH, LH and testosterone levels in male rats from birth to sexual maturity. J. Reprod. Fertil. 1975, **42**, 121-126.
14. **Lording, D. W. and de Krester, D. M.** Comparative ultrastructural and histochemical studies of the interstitial cells of the rat testis during fetal and postnatal development. J. Reprod. Fert. 1972, **29**, 261-269.
15. **Mendis-Handagama, S. M. L. C. and Ariyaratne, H. B. S.** Changes in the testis interstitium of Sprague Dawley rats from birth to sexual maturity. Biol. Reprod. 2001, **65**, 660-671.
16. **Mendis-Handagama, S. M. L. C., Ariyaratne, H. B. S., Teunissen van Manen, K. R. and Haupt, L.** Differentiation of adult Leydig cells in the neonatal rat testis is arrested by hypothyroidism. Biol. Reprod. 1998, **59**, 351-357.
17. **Mendis-Handagama, S. M. L. C., Risbridger, G. P. and de Krester, D. M.** Morphometric analysis of the components of the neonatal and the adult rat testis interstitium. Int. J. Androl. 1987, **10**, 525-534.
18. **Mori, H. and Christensen, A. K.** Morphometric analysis of Leydig cells in the normal rat testis. J. Cell. Biol. 1980, **84**, 340-354.
19. **Nistal, M., Paniagua, R. and Regadera, J.** A quantitative morphological study of human Leydig cells from birth to adulthood. Cell. Tissue. Res. 1986, **246**, 229-236.
20. **Payne, A. H. and Youngblood, G. L.** Regulation of expression of steroidogenic enzymes in Leydig cells. Biol. Reprod. 1995, **52**, 217-225.
21. **Robert, A. and Delost, P.** Peripheral metabolism of testosterone during puberty in the male guinea-pig. Reprod. Fert., 1978, **53**, 273-276.
22. **Roosen-Runge, E. C. and Anderson, D.** The development of the interstitial cells in the testis of the albino rat. Acta. Anat. 1959, **37**, 125-136.
23. **Saez, J. M.** Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation. Endocrine. Rev. 1994, **15**, 576-626.

24. **Sanchez, B., Pizarro, M., Garcia, P. and Flores, J. M.** Histological study of Leydig cells in the cat from birth to sexual maturity. J. Reprod, Fert. 1993, **47**, 349-353.
25. **Swertloff, R. S. and Heber, D.** Endocrine control of testicular function from birth to puberty. In : The testis. pp. 511-528, Raven press, New York. 1981.
26. **Tapanainen, J., Kuopio, T., Pelliniemi, L. J. and Huhtaniemi, I.** Rat testicular endogenous steroids and number of Leydig cells between the fetal period and sexual maturity. Biol. Reprod. 1984, **31**, 1027-1035.
27. **Weibel, E. R.** Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. Int. Rev. Cytol. 1969, **26**, 235-301.
28. **Wing, T. Y. and Christensen, A. K.** Morphometric studies on rat seminiferous tubules. Am. J. Anat. 1982, **165**, 13-25.
29. **Wrobel, K. H.** The postnatal development of the bovine Leydig cell population. Reprod. Dom. Anim. 1990, **25**, 51-60.