

한국재래 닭 고환 지지세포와 간질세포의 부화 후 발달에 관한 연구

태현진¹, 장병귀², 최철환², 박영재¹, 양홍현¹, 김인식^{1*}

¹전북대학교 생체안전성연구소, 수의과대학 해부학교실, ²축산연구소 가금과

Studies on the Post-hatching Development of Sertoli and Leydig Cells in the Testis of Korean Native Chickens

H. J. Tae¹, B. G. Jang², C. H. Choi², Y. J. Park¹, H. H. Yang¹ and I. S. Kim^{1*}

¹Bio-Safety Research Institute, Department of Veterinary Anatomy, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University,

²Poultry Division National Livestock Research Institute

ABSTRACT Morphometric changes in testicular Sertoli and Leydig cells from hatching to adulthood were studied using Korean native chickens of 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 21, 24, 28, 32, 44, 52 and 64 weeks (n=13 chickens per group) of age. The objective of this study was to understand the developmental phase of the Sertoli and Leydig cells with age. Testis of chickens was fixed by whole body perfusion using a fixative containing 2.5% glutaraldehyde in cacodylate buffer, processed and embedded in Epon-araldite. Using 1 μ m sections stained with methylene blue-azure II, qualitative and quantitative (stereological) morphological studies were performed. The average volume of a testis of 1 week old Korean native chickens was determined as 0.148 cm³ and the parameter increased linearly from 1 week to 21 weeks days (28.86 cm³), and did not change from 21 weeks to 64 weeks. The volume density of the seminiferous tubules increased with age from 32.6% at week 1 to 92.89% at week 64. The volume density of the interstitium represents 67.4% of the testicular parenchyma at week 1. This proportion progressively diminished during development to reach a value of 7.11% at week 64. The volume density of the Leydig cells decreased almost linearly from 1 week (4.9%) to 14 weeks (1.7%) and remained unchanged thereafter. In contrast, the Sertoli cells occupied a volume density of 3.4% at week 1, increased progressively up to 18 weeks of age (10.79%) and remained unchanged thereafter. The absolute volume of the Leydig and Sertoli cells per testis increased significantly from week 1 to week 21 but did not change significantly from week 24 to week 64. The number of Leydig cells per testis increased almost linearly from 1 week to 21 weeks, remained high and unchanged with advancing age. The number of Sertoli cells per testis increased gradually with age from 1 week to 14 weeks and remained unchanged thereafter.

(Key words : Korean native chickens, Sertoli and Leydig cells, post-hatching development)

서 론

고환을 이루고 있는 세포 중에서 2가지의 중요한 체세포(somatic cell) 즉, 지지세포(Sertoli cell)와 간질세포(Leydig cell)가 있는데 간질세포는 일반적으로 미분화된 중간엽세포에서 발생하는 것으로 알려져 있고(Gondos, 1980; Kerr, 1988), 간질세포자극호르몬(Interstitial cell stimulating hormone, LH)은 간질세포막에 있는 특수한 막수용체에 작용하여 간질세포의 성장, 분화 및 간질세포의 세포질내 미세구조에 존재하는 몇 가지 효소에 의하여 테스토스테론을 합성하여 분

비(Saez, 1994; Payne and Youngblood, 1995) 하는 작용이 있으며, 이 호르몬은 정자 발생의 조절, 부속 생식기관의 유지 및 발기 기능 등을 포함한 수컷 생식계통에서 중요한 작용을 나타내고(Saez, 1994), 간질세포의 발생시기, 테스토스테론의 합성 그리고 안드로젠에 의해서 조절되는 수컷 생식기관의 발달은 서로 밀접한 연관성이 있는 것으로 보고되어 있다. 또한 간질세포에서 합성되는 테스토스테론은 aromatase enzyme의 작용에 의해서 에스트라디올로 만들어진다(Payne & Youngblood, 1995; Saez, 1994).

지지세포는 그 기원에 관하여 명확하지 않고 일반적으로

* To whom correspondence should be addressed : iskim@chonbuk.ac.kr

성숙동물 고환의 크기는 정자를 생산하는 능력과 상호 연관성이 있고 다양한 종류의 수컷 동물에서 고환내 지지세포의 총 숫자는 성숙동물 고환의 크기를 결정하는 것으로 알려져 있고(Berndtson et al., 1987; Johnson et al., 1991), 지지세포의 증식은 성성숙 이전에 일어나며, 지지세포의 총 숫자는 혈관-고환장벽 형성 및 성성숙보다 빠르게 확립되어 있다(Chubb, 1992; Sharpe et al., 2000). 또한 대부분의 동물 종에서 출생 후 성장과정 동안 정상적인 고환의 성장은 간질조직내 간질세포의 증식 및 지지세포와 생식세포 숫자의 증가와 밀접하게 연관되어 있으며, 지지세포는 안드로젠 결합 단백질(androgen binding protein)을 합성 분비하는데, 안드로젠 수용체가 없는 생식세포가 정상적인 지지세포의 존재 하에 수정능력이 있는 정자로 발달하기 때문에 정자 발생에 있어서 테스토스테론의 효과는 지지세포를 통하여 증대된다(Baker and O'Shaughnessy 2001; McCoard et al., 2001).

출생 후 성장 단계별 고환 발달에 관한 많은 연구는 주로 흰쥐(Ewing and Zirkin, 1983; Mendis-Handagama et al., 1987), 토끼(Castro et al., 2002) 등의 많은 포유동물류에서 다양한 기법을 적용하여 보고된 바 있으나, 닭에서 부화 후부터 성성숙 시기까지 고환의 발달에 관한 연구를 살펴보면 브로일러(Bennett, 1967; Sharp et al., 1977; Parker et al., 1972), 레그혼(Aire, 1973), guinea-fowl(Brillard, 1986) 및 Fayomi(Kalmer, 1969)에서 극히 제한되어 있고 이들 결과의 대부분은 고환무게, 볏(comb) 무게, 체중 및 곱슬정세관의 길이 등의 결과만이 보고되어 닭에서 성장단계별 고환의 발달 정도를 이해하는데에는 많은 어려움이 있다. 또한 포유동물류와 조류의 고환 발달에 관한 연구를 살펴보면 출생 후부터 성성숙 시기까지 성장단계별로 고환조직을 구성하고 있는 각각 세포의 절대용적, 고환내 총 숫자 등의 변화는 간질세포 및 지지세포 분화 정도, 고환 발달 정도, 정자 발생과 간질조직의 상호관계, 간질조직의 구조와 기능의 유연관계를 이해하는데 중요하지만 포유동물류 및 조류에서 이러한 연구 내용은 극히 적다.

따라서 다른 실험동물에 비하여 고환 구조의 특징에 관하여 명확하게 밝혀져 있지 않고, 최근 국제 상표등록을 목표로 축산연구소 가금과에서 사육중인 한국재래 닭 적색계통을 실험동물로 하여 부화 후부터 64주령까지 일정한 주령별로 고환조직을 이루고 있는 각종 구성물의 용적 치밀도(volume density), 절대용적(absolute volume), 평균용적(average volume), 고환내 총숫자(total number per testis) 등을 확인하여 고환 발생동안 지지세포, 간질세포 및 정자 발생 사이의 상호 연관성을 이해하고 고환 발달 과정과 연령 사이의 상호 연관성 등을 알아봄으로써 한국재래 닭을 실험동물로 하

는 각종 연구를 위한 해부학적 기초자료를 마련하기 위하여 이 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 연구에 이용된 공시축은 농촌진흥청 축산연구소 가금과에서 1992년부터 1994년까지 수집한 재래 닭을 기초로 하여 1995년부터 계통 조성한 적갈색(Dark Brown) 계통을 2002년 2월 21일에 부화하여 사육하면서 출생 후 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 21, 24, 28, 32, 44, 52 및 64주령 (n=13/주령)의 수컷 재래 닭(Korean native chicken)을 실험에 사용하였다.

2. 사양관리

1) 사육방법

병아리는 발생 직후부터 6주령까지는 육추 케이지에서 사육하였고 7~15주령까지는 중추, 대추 케이지에서 사육하였으며, 16주령부터 시험종료시(64주령)까지는 산란케이지 1칸에 1수씩 사육하였다.

2) 사양관리

축산연구소 사료공장에서 생산한 사료를 NRC 사료표준에 준하여 급여하였으며, 0~6주령에는 어린병아리 사료, 7~14주령에는 중병아리 사료, 15~18주령에는 큰병아리 사료, 19주령부터 시험종료시까지 산란중계 사료를 급여하였으며, 사육단계별 급여사료의 영양성분은 Table 1과 같다.

3) 점등관리

점등관리는 발생시부터 4주령까지는 종야 점등을 실시하

Table 1. The nutrient composition of the feed by rearing stage in Korean native chickens

Nutrients	Starter	Grower	Developer	Layer
	0~6weeks	7~14weeks	15~18weeks	over 19 weeks
CP(%)	18.0 more	15.0 more	13.0 more	15.0 more
ME(kcal/kg)	2,900	2,800	2,700	2,700
Ca(%)	0.9	0.8	0.8	3.25
P(%)	0.4	0.35	0.3	0.25

였고 5주령부터 19주령까지는 자연일조에 따랐으며, 19주령부터는 매주 15분씩 점증 점등하여 자연일조시간과 합하여 17시간이 되도록 하였으며, 그 후 시험종료시까지 고정점등을 실시하였다.

3. 조직 표본 제작

고환조직을 관류 고정(n=8/group)하기 위하여 실험동물을 ketamine(3 mL/kg으로 마취한 후 체중을 측정하고 관류 고정(perfusion fixation) 도중 혈액이 응고하는 것을 방지하기 위하여 heparin(Sigma, 100,000 Unit) 150 IU/kg를 복강 내에 주입하고 15분 후에 복강을 절개하고, 고정전 고환의 용적을 측정하기 위하여 오른쪽 고환을 적출하여 chemical balance(Sartorius, BP 210 S, Germany)로 무게를 측정한 다음 대동맥을 절개하여 cutdown tube를 삽입하고 전신의 혈관을 1~2분 동안 세척하였다. 이후 2.5% glutaraldehyde로 대체하여 약 40분 동안 관류 고정하였다. 고환의 고정 후 용적을 측정하기 위하여 고환을 적출한 후 chemical balance를 이용하여 무게를 측정하고 sucrose를 사용하여 부양법(flotation method)으로 비중(specific gravity)을 측정하여 고정 후의 고환용적을 산출하였다(고환용적 = 고환무게/고환비중). 조직표본 제작을 위하여 고환을 2~3 mm로 세절하여 2.5% glutaraldehyde로 4°C에서 12시간 동안 고정한 후 1% osmium tetroxide로 2시간 동안 고정한 후 alcohol로 탈수하고 Epon-812로 포매하여 각 개체당 블록 20개씩을 제작하였다.

4. 광학현미경 관찰

초박절편기(ultramicrotome, Leica ultracut-S, Austria)를 이용하여 1 µm로 후박절편(semi-thin section)을 제작하고 1% methylene blue-azure II로 염색하고, canada balsam으로 봉입하였다. 고환내 지지세포와 간질세포를 광학현미경(Leica, DMRBE, Germany)에서 관찰하였다.

5. 형태 계측(Morphometry)

1) 고환 지지세포와 간질세포의 용적 치밀도 (Volume Density; Volume per Unit Volume)

Point Counting(Kim et al., 2002; Weibel, 1969)법을 적용, 121 point ocular grid를 장착한 광학현미경을 이용하여 point와 만나는 각 구조물(곱슬정세관, 간질조직, 간질세포 및 지지세포)의 수를 네 모서리와 가운데, 즉 5부위를 측정하였으며 각 개체당 최소 50부위에서 최대 100부위를 중복되지 않게 측정하였다. 이것을 전체 point(121 × 5)로 나누어 각 고환 간

질조직 구조물의 용적 치밀도(v/v%)를 구하였다.

V/v% of a component

$$= \frac{\text{Number of points on the component}}{\text{Total number of points on the testis tissue}} \times 100$$

2) 고환 지지세포와 간질세포의 절대용적(Absolute Volume)

이미 구해진 용적 치밀도(volume density)와 고환 용적(fresh testis volume)을 이용해서 절대용적(absolute volume)을 다음과 같은 공식에 의해서 구하였다(Kim et al., 2002; MendisHandagama et al., 1987)

Absolute volume of testicular component =

$$\text{Volume density of the component} \times \text{Fresh testis volume}$$

여기서 고환의 용적은 고환의 무게와 비중으로부터 구하였다.

3) 고환 단위용적당 세포의 수(Numerical Density; Nv, Defined as the Number of Cells Per Unit Volume of Testis)

Floderus(1944) 방정식($Nv = Na / (T + D - 2h) \times (1 - S_T)$)을 적용하여 numerical density를 계산하였다. 이 공식에서 Na는 단위면적당 각 세포핵의 숫자(단위면적 = $48520.8 \mu m^2$), 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(Mori and Christensen, 1980). 단위면적당 각 세포핵의 숫자와 핵의 크기는 조직 표본에서 5부위를 중복되지 않도록 선택하여 영상분석기(image analyzer system, Leica Q500MC, Germany)를 이용하여 측정하였다. 고환당 각 세포의 총 숫자(total number)는 단위용적당 세포의 수에 각 고환의 용적을 곱하여 구하였다(Kim et al., 2002; Mendis-Handagama et al., 1987).

$$\text{Total number} = \text{Numerical density} \times \text{Fresh testis volume}$$

6. 통계분석

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 유의성

은 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였으며 $p < 0.05$ 이하의 유의성을 통계학적 차이로 인정하였다.

결 과

1. 체중과 고환 무게

한국재래 닭에서 부화후 1주령에 체중은 32.5 g이고 24주령까지 유의성 있게 증가하였고($p < 0.05$), 28주령부터 64주령까지는 증가 및 감소를 반복하는 양상이 나타났으나 유의성이 관찰되지 않았다($p > 0.05$). 부화 후 1주령 한국재래 닭 고환무게는 0.015g이었고 1주령부터 14주령까지 점진적으로 증가하여 14주령에는 3.5g이었으며, 16주령부터 급격히 증가

Table 2. Changes in body weight (g) and testis weight (g) in post-hatching Korean native chickens from 1 to 64 week (mean \pm SEM)

Weeks	Parameter	
	Body weight (n=13/group)	Testis weight (n=13/group)
1	32.5 \pm 1.9 ^a	0.02 \pm 0.001 ^a
2	95.3 \pm 5.7 ^b	0.03 \pm 0.001 ^b
4	252 \pm 1.8 ^c	0.1 \pm 0.01 ^c
6	452 \pm 16.6 ^d	0.12 \pm 0.01 ^c
8	666 \pm 22.9 ^e	0.23 \pm 0.03 ^d
10	1106 \pm 31.8 ^f	0.57 \pm 0.09 ^e
12	1215 \pm 41.2 ^f	2.02 \pm 0.46 ^f
14	1470 \pm 75.1 ^g	3.51 \pm 0.76 ^g
16	1653 \pm 38.7 ^g	8.71 \pm 0.75 ^h
18	1772 \pm 53 ^g	12.8 \pm 0.57 ⁱ
21	1798 \pm 52 ^h	28.9 \pm 1.65 ^j
24	1994 \pm 71.5 ^h	25.1 \pm 1.83 ^j
28	2601 \pm 91.9 ⁱ	30.1 \pm 2.5 ^j
32	2660 \pm 55.3 ⁱ	27.6 \pm 2.9 ^j
44	2467 \pm 36.9 ⁱ	27.2 \pm 1.56 ^j
52	2278 \pm 43.5 ⁱ	27.3 \pm 2.3 ^j
64	2368 \pm 72.9 ⁱ	34.2 \pm 1.34 ^j

In each column, values with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

하기 시작하여, 28주령까지 이러한 증가양상이 지속되었고, 32주령부터 소폭으로 감소되었고, 이러한 감소 양상이 52주령까지 지속되다가 64주령에는 34.2g을 나타내었다(Table 2).

2. 고환조직의 용적 치밀도

곱슬정세관의 용적 치밀도는 부화후 1주령에 32.6%로 관찰되었고 점차적으로 유의성 있게 증가하여($p < 0.05$) 10주령에 80.2%이었고 이 후 곱슬정세관내에 정자가 관찰되기 직전 시기인 14주령부터 성숙동물의 수치와 차이가 없었고 64주령까지 큰 변화 없이 ($p > 0.05$) 89.2~93.38%를 나타내었다(Fig. 1). 간질조직의 용적 치밀도는 부화후 1주령에 67.4%를 나타내었고 단계적으로 감소되어 곱슬정세관내에 정자가 관찰되기 직전인 16주령에는 8.35%이었다. 이 후 18주령에 9.5%이었으며, 이 시기부터 유의성 없이($p > 0.05$) 소폭의 증가 및 감소를 나타내어 64주령에는 7.11%이었다(Fig. 2).

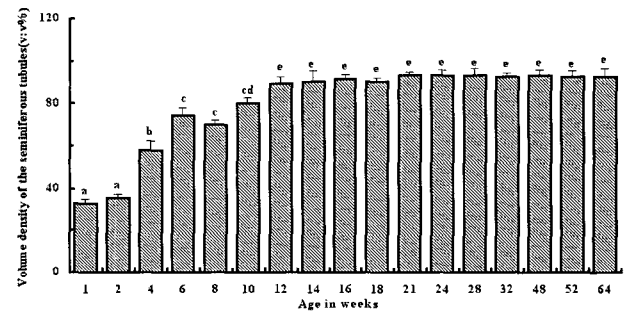


Fig. 1. Volume density (v:v %) of the seminiferous tubule in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean \pm SEM). Different letters indicate statistically significant difference ($p < 0.05$) among the age groups.

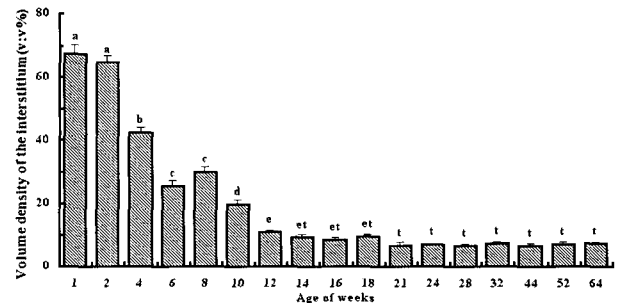


Fig. 2. Volume density (v:v %) of the interstitium in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean \pm SEM). Different letters indicate statistically significant difference ($p < 0.05$) among the age groups.

3. 간질세포의 용적치밀도, 절대용적 및 고환내 총 숫자
부화후 1주령에서 간질세포의 용적 치밀도는 4.9%이고 8주령에는 4.6%로서 이 시기에는 유의성이 관찰되지 않았으며, 10주령에 급격하게 감소하여 2.7%를 나타내었고 14주령부터 64주령까지는 1.5~1.9%로 유의성이 관찰되지 않았다 ($p > 0.05$)(Fig. 3).

간질세포의 절대용적은 부화후 1주령에서 0.73 mm^3 이었고 18주령까지 단계적으로 유의성 있게 증가하였으며($p < 0.05$), 12주령과 14주령, 16주령과 18주령에서는 유의성이 관찰되지 않았고($p > 0.05$) 또한 21주령부터 64주령까지도 큰 차이가 없었다(Fig. 4).

고환내 간질세포의 총 숫자는 부화후 1주령에서 0.07×10^6 으로 관찰되었고 16주령까지 유의성 있게($p < 0.05$) 단계적으로 증가하였으며 18주령에서는 16주령과 큰 차이 없이 57.4×10^6 을 나타내었다. 21주령부터 큰 폭으로 증가하여

135.5×10^6 이었고 이 시기부터 64주령까지는 유의성이 관찰되지 않았다(Fig. 5).

4. 지지세포의 용적치밀도, 절대용적 및 고환내 총 숫자
한국재래닭 부화후 1주령 고환에서 지지세포의 용적치밀도는 3.4%이었고 12주령과 18주령에 큰 폭으로 증가하여 각각 6.9%와 10.79%로 관찰되었으며, 1주령~10주령, 12~16주령 및 18~64주령에서는 유의성이 관찰되지 않았다($p < 0.05$)(Fig. 6). 지지세포의 절대용적은 부화후 1주령에서 0.51 mm^3 이고 이 수치는 4주령, 10주령 및 18주령에서 각각 4.7 mm^3 , 26.79 mm^3 및 1380 mm^3 으로 유의성 있게 단계적으로 증가하였고 ($p < 0.05$) 21주령에서는 2505 mm^3 으로 이 시기부터 64주령까지는 유의성이 관찰되지 않았다($p < 0.05$)(Fig. 7).

고환내 지지세포의 총 숫자는 부화후 1주령에서 0.08×10^6 이었고 6주령, 12주령 및 16주령에서 각각 0.58×10^6 , 9.6×10^6 및 45.2×10^6 로 관찰되었으며, 곱슬정세관내에서 정

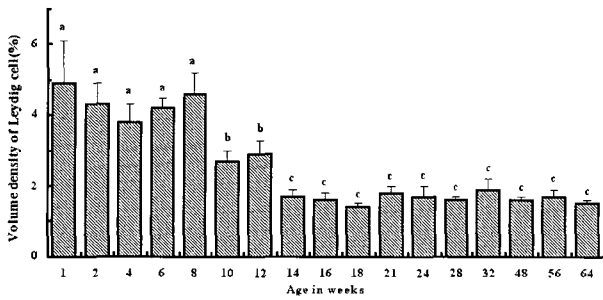


Fig. 3. Volume density (%) of the Leydig cells in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean \pm SEM). Different letters indicate statistically significant difference ($p < 0.05$) among the age groups.

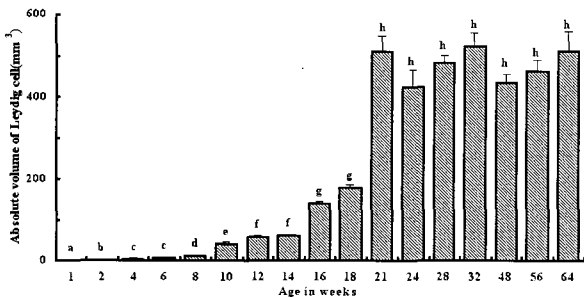


Fig. 4. Absolute volume of the Leydig cells in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean \pm SEM). Different letters indicate statistically significant difference ($p < 0.05$) among the age groups.

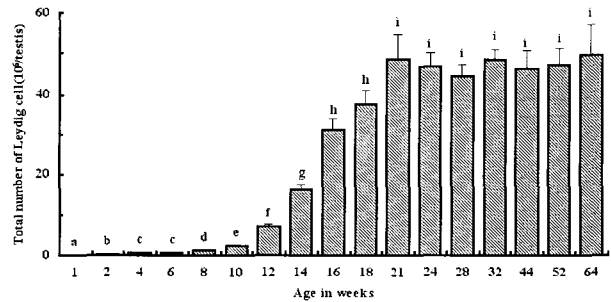


Fig. 5. Total number (10^6 /testis) of the Leydig cells in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean \pm SEM). Different letters indicate statistically significant difference ($p < 0.05$) among the age groups.

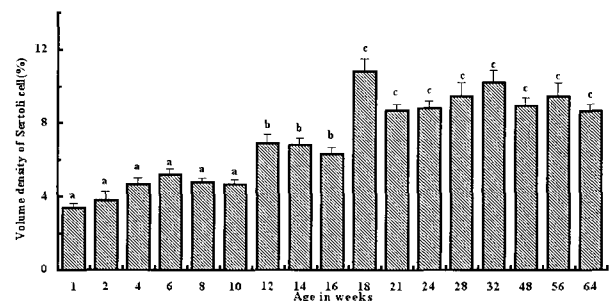


Fig. 6. Volume density (%) of the Sertoli cells in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean \pm SEM). Different letters indicate statistically significant difference ($p < 0.05$) among the age groups.

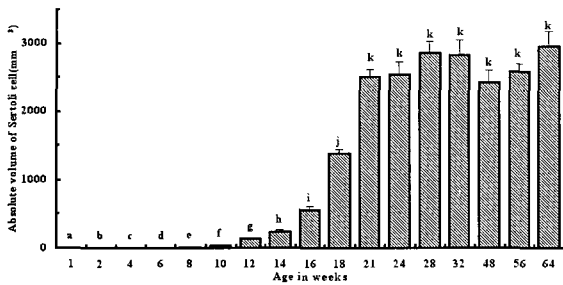


Fig. 7. Absolute volume (mm^3) of the Sertoli cells in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean \pm SEM). Different letters indicate statistically significant difference ($p < 0.05$) among the age groups.

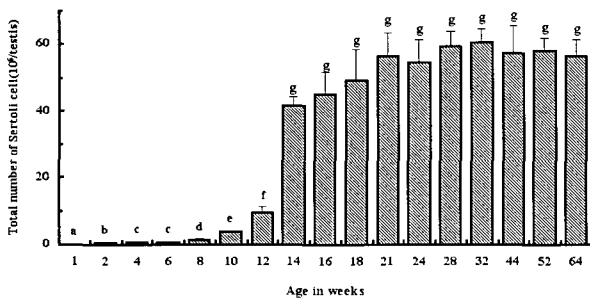


Fig. 8. Total number of (10^6 /testis) of the Sertoli cells in post-hatching chickens from the 1 to 64 weeks of age (mean \pm SEM). Different letters indicate statistically significant difference ($p < 0.05$) among the age groups.

자가 관찰되는 시기인 18주령부터 64주령에서는 유의성이 관찰되지 않았다(Fig. 8).

고찰

고환을 구성하고 있는 곱슬정세관과 간질조직에 관한 형태계측학적인 연구는 흰쥐(Ariyaratne and Mendis-Handagama, 2002), 햄스터(Sinha-Hikim, 1989), 말(Johnson and Neaves, 1981), 돼지(Franca et al., 2000), 소(Wrobel, 1990, 1992), 토끼(Castro et al., 2002) 등 각종 동물에서 폭넓게 연구되었다. 본 연구에서 실험 대상으로 한 한국재래 닭 고환의 곱슬정세관, 간질조직, 간질세포, 지지세포의 용적치밀도, 지지세포와 간질세포의 절대용적 및 간질세포와 지지세포의 고환내 총 숫

자에 관한 연구는 첫 시도이다. 포유동물류와 비교하여 볼 때 여러 가지 차이를 나타내었고 특히, 지지세포와 간질세포의 형태계측학적인 결과가 다른 동물과 많은 차이가 있음을 확인하였고 이러한 결과는 비교해부학적인 면에서 향후 조류 고환의 형태 및 기능과 관련된 각종 연구에 기초 자료로 활용할 수 있는 결과로 생각된다.

한국재래 닭에서 부화 후 1주령의 고환 간질조직이 67.4%, 곱슬정세관이 32.6%를 차지하고 있었고, 이러한 비율은 성장기동안 간질조직은 점진적으로 감소하고 이와는 반대로 곱슬정세관은 점차적으로 증가하여 64주령에서는 간질조직이 7.11%, 곱슬정세관이 92.89%를 나타내었다. 이러한 결과에 의하면 고환은 크게 곱슬정세관과 간질조직으로 이루어져 있는데 고환 절대용적에서 곱슬정세관의 절대용적 증가율이 간질조직의 절대용적 증가보다 27배 높다고 보고한 Rey et al. (1993)의 결과에 의하여 설명될 수 있으며 출생 후 일령에 따른 고환용적의 증가는 성 성숙 시기가 가까워지면서 곱슬정세관내의 정자발생세포(spermatogenic cells)의 분화가 활발해짐에 따라 곱슬정세관이 차지하고 있는 용적이 증가하기 때문인 것으로 생각된다.

Aire (1997)는 닭, 오리, 메추라기의 간질조직의 구조에 관한 연구에서 간질세포가 적게 관찰됨을 보고하였고 흰쥐(Ariyaratne and Mendis-Handagama 2000), 햄스터(Sinha-Hikim et al., 1988) 및 말(Johnson and Neaves, 1981; Johnson and Thomson, 1986)에서 고환 1g 당 간질세포의 숫자는 각각 12.1×10^6 , 15.32×10^6 , 18.7×10^6 이었으나 한국재래 닭에서는 3.65×10^6 이었다. 또한 고환 1g당 지지세포의 숫자는 흰쥐, 토끼, 개 및 말에서 각각 28.5×10^6 , 24.9×10^6 , 43.4×10^6 및 61.3×10^6 이었고(Russell et al., 1990) 본 연구에서는 4.29×10^6 이었다. 따라서 이러한 결과를 종합하여 볼 때 일반적으로 조류가 포유동물류보다 간질세포와 지지세포의 숫자가 적음을 확인할 수 있었고 특히, 조류의 간질세포의 숫자가 적게 나타나는 것은 조류의 테스토스테론 농도가 낮게 측정되는데 이러한 원인을 이해하는데 중요한 실마리를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

한편 출생 후부터 성숙시기까지 고환 발달동안 지지세포와 간질세포 숫자의 변화를 살펴보면 지지세포는 신생기-성 성숙이전기(neonatal-prepubertalperiod)에는 지지세포의 숫자가 명확하게 증가하고 성성숙(puberty)시기에 접어든 직후부터 완전히 성숙할 때까지 숫자의 변화가 없었다(Bortolussi et al., 1990). 또한 간질세포의 숫자는 포유동물류에서 출생 후부터 성숙할 때까지 지속적으로 증가하는 특징이 있는 것으

로 보고되었다(Kim et al., 2002; Wrobel, 1990). 본 연구에서 지지세포의 숫자는 부화 후부터 지속적으로 증가하였고 성숙에 접어드는 14주령부터 64주령까지는 숫자의 차이가 없게 관찰되어 한국재래 닭에서 지지세포의 발달 유형은 포유동물류와 같이 크게 2기로 나눌 수 있으며 간질세포는 1주령부터 21주령까지 지속적으로 증가하고 그 이후에는 변화가 없어 간질세포 또한 포유동물류와 큰 차이는 없었다. 이와 같이 한국재래 닭과 포유동물류의 지지세포와 간질세포의 숫자의 변화를 비교하여 볼 때 한국재래 닭에서 14주령부터 수컷이 성숙에 접어들고 21주령부터 성숙동물로 분류한 것이 타당하다는 사실을 뒷받침해 주고 있다.

고환은 부화 후 성장해감에 따라서 형태적 및 기능적 변화를 초래하는데 부화후 고환의 성장은 레그혼에서 50일령까지 느리게 증가하는 시기, 50~80일령까지 일반적인 증가, 110~160일령까지 급격한 증가 또는 성숙 초기, 성숙이 이루어진 후의 거의 변화가 없는 시기를 관찰하여 4기로 나누어져 있음을 보고하였다(Parker et al., 1972). 이와는 달리 Fayomi 수탉에서는 고환의 정상적인 발달을 관찰한 결과 3기로 나누었는데 즉, 초기 12주까지 점진적인 증가시기, 16~24주령까지 급격한 증가 그리고 25주령~1년까지 큰 변화가 없는 시기로 나누어져 있다(Kalmer, 1969). 고환의 크기와 성숙 사이에는 명확한 연관성이 있지만 성숙이 이루어지는 시기인 5개월 이후에는 연령과 고환의 상호 연관성이 없다(Bennett, 1967). 본 연구의 실험동물인 한국재래 닭에서 고환의 성장을 관찰한 결과 1주령부터 21주령까지 지속적으로 유의성 있게 증가하였고 24주령부터 64주령까지는 큰 차이가 없었다. 따라서 위의 연구보고와 같이 고환의 성장을 정확하게 몇 기로 나눌 수는 없지만 형태적인 변화관점에서 나누어 볼 때 1~10주령(0.015~0.57 g)까지 점진적인 증가, 12~21주령(2.02~28.86 g)까지 급격한 증가 및 24~64주령(25.08~34.2 g)까지 변화가 없는 시기로 나누어 3기로 나누어 볼 수 있다. 한국재래 닭에서 부화 후 고환의 성장은 레그혼보다는 Fayomi 수탉과 조금 더 유사함을 알 수 있었고 성숙이 이루어진 후에 고환 성장이 변화가 없어 Bennett(1967)의 보고와 일치하는 결과를 얻었으며, 조류에서 종에 따라서 차이가 있음이 확인되었다.

적 요

한국재래 닭에서 고환 지지세포와 간질세포의 발달유형을 명확하게 이해하기 위하여 부화 후 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12,

14, 16, 18, 21, 28, 32, 44, 52 및 64주령($n=13$ 마리/일령)의 한국재래 닭을 이용하여 이 연구를 수행하였다. 한국재래 닭의 고환은 2.5% glutaraldehyde를 이용하여 전신 관류 고정하고 조직 처리과정을 거쳐 Epon-araldite에 포매하였다. 초박절편기를 사용하여 1 μ m로 절편한 다음 methylene blue로 염색하여 형태 계측을 하였다. 부화후 1주령의 한국재래 닭 고환의 평균용적은 0.148 cm³이었고 점진적으로 증가하여 21주령에는 3.93 cm³이고 21주령부터 64주령까지는 변화가 없었다. 곱슬정세관의 용적 치밀도는 1주령에 32.6%이었으나 점차적으로 증가하여 64주령에서는 92.89이었다. 1주령의 한국재래 닭에서 고환 간질조직은 고환실질의 67.4%를 나타내었고 이러한 비율은 성장하는 동안에 점차적으로 감소하여 64주령에 7.11%를 나타내었다. 간질세포의 용적 치밀도는 1주령부터 14주령까지 단계적으로 감소하였고 이후에는 변화가 관찰되지 않았다. 이와는 다르게 지지세포의 용적 치밀도는 1주령에 3.4%를 차지하고 있었고 점진적으로 증가하여 18주령에 10.79%이었으며 이후에는 변화가 없었다. 고환조직내 지지세포와 간질세포의 절대용적은 일령에 1주령부터 24주령까지는 유의성 있게 증가하였으나 24주령부터 64주령까지는 차이가 없었다. 고환조직당 간질세포의 총 숫자는 1주령부터 21주령까지는 유의성 있게 증가하였으나 그 이후에는 변화가 없었고 지지세포의 숫자는 1주령부터 14주령까지 점진적으로 증가하였고 그 이후의 주령에서는 변화가 없었다.

인용문헌

- Aire TA 1973 Development of puberty in Nigerian and White Leghorn cockerels. *Poult Sci* 52: 1765-1769.
- Aire TA 1997 The structure of the interstitial tissue of the active and resting avian testis. *J Vet Res* 64:291-299.
- Ariyaratne HBS, Chamindrani Mendis-Handagama SML 2000 Changes in the testis interstitium of sprague dawley rats from birth to sexual maturity. *Biol Reprod* 62:680-690.
- Baker PJ, O'Shaughnessy PJ 2001 Role of gonadotrophins in regulating numbers of Leydig and Sertoli cells during fetal and postnatal development in mice. *Reproduction* 122: 227-234.
- Bennett CH 1967 Relation between size and age of the gonads in the fowl from hatching date to sexual maturity. *Poult Sci* 26:99-104.

- Berndtson WE, Igboeli G, Pickett BW 1987 Relationship of absolute number of Sertoli cells to testicular size and spermatogenesis in young beef bulls. *J Anim Sci* 64:241-246.
- Bortolussi M, Zanchetta R, Belvedere P 1990 Sertoli and Leydig cell numbers and gonadotropin receptors in rat testis from birth to puberty. *Cell Tissue Res* 260:185-191.
- Brillard JP 1986 related variations in seminiferous tubule dimensions and germinal and Sertoli cell numbers in guinea-fowl raised under a 14L:10D photoperiod. *Poult Sci* 65:369-374.
- Castro AC, Berndtson WE, Cardoso FM 2002 Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits. *Braz J Med Biol Res* 35:493-498.
- Chubb BB 1992 Genes regulating testis size. *Biol Reprod* 47: 29-36.
- Ewing LL, Zirkin BR 1983 Leydig cell structure and steroidogenic function. *Recent Prog Horm Res* 39:599-632.
- Floderus S 1944 Untersuchungen über den Bau der menschlichen Hypophyse mit besonderer Berücksichtigung der quantitativen mikromorphologischen Verhältnisse. *Acta Pathol Microbiol Scand* 5:1-276.
- Franca LR, Silva VA, Chiarini-Garcia H 2000 Cell proliferation and hormonal changes during postnatal development of the testis in the pig. *Biol Reprod* 63:1629-1636.
- Gondos B. 1980 Development and differentiation of the testis and male reproductive tract. Pages 3-20 In : *Testicular Development, Structure and Function*, Raven press, New York.
- Johnson L, Neaves WB 1981 Age-related changes in the Leydig cell population, seminiferous tubules, and sperm production in stallions. *Biol Reprod* 24:703-712.
- Johnson L, Thomson DL 1986 Seasonal variation in the total volume of Leydig cells in stallions is explained by variation in cell number rather than cell size. *Biol Reprod* 35: 971-979.
- Johnson L, Varner DD, Tatum ME 1991 Season but not age affects Sertoli cell number in adult stallions. *Biol Reprod* 45:404-410.
- Kalmer GAR 1969 Developmental changes in the reproductive organs of the male Fayomi fowl. *Poult Sci* 38:775-781.
- Kerr JB 1988 A light microscopic and morphometric analysis of the Sertoli cell during the spermatogenic cycle of the rat. *Anat Embryol* 177:341-348.
- Kim IS, Ariyaratne HBS, Mendis-Handagama SMLC 2002 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* 66:1359-1366.
- McCoard SA, Lunstra DD, Wise TH, Ford JJ 2001 Specific staining of Sertoli cell nuclei and evaluation of Sertoli cell number and proliferative activity in Meishan and White Composite boars during the neonatal period. *Biol Reprod* 64:689-695.
- Mendis-Handagama SMLC, Risbridger GP, de Krester DM 1987 Morphometric analysis of the components of the neonatal and the adult rat testis interstitium. *Int J Androl* 110:525-534.
- Mori H, Christensen AK 1980 Morphometric analysis of Leydig cells in the normal rat testis. *J Cell Biol* 84:340-354.
- Parker JE, McKenzie FF, Kempster HL 1972 Development of the testis and combs of White Leghorn and New Hampshire cockerels. *Poult Sci* 21:35-44.
- Payne AH, Youngblood GL 1995 Regulation of expression of steroidogenic enzymes in Leydig cells. *Biol Reprod* 52:217-225.
- Rey RA, Campo SM, Bedecarras C 1993 Histologic, morphometric and functional study of the seminiferous tubules of the Cebus monkey from birth to the end of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 76:1325-1332.
- Russell LL, Ren HP, Sinha-Hikim I 1990 A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes, and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. *Am J Anat* 188:21-30.
- Saez, JM 1994 Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation. *Endocrine Rev* 15: 576-626.
- Sharp PJ, Culbert J, Wells JW 1977 Variations in stores and plasma concentrations of androgens and luteinizing hormone during sexual development in the cockerel. *J Endocr* 74:467-476.
- Sharpe RM, Walker M, Millar MR, Atanassova N 2000 Effect of neonatal gonadotropin releasing hormone antagonist administration on Sertoli cell number and testicular development in the marmoset: comparison with the rat. *Biol Reprod*

62: 1685-1693.

- Sinha-Hikim AP, Amador AG, Bartke A, Russell LD 1989
Structure/function relationship in active and inactive hamster
Leydig cells : A correlative morphometric and endocrine
study. *Endocrinology* 125:1844-1856.
- Sinha-Hikim AP, Bartke A, Russell LD 1988 Morphometric
studies on hamster testes in gonadally active and inactive

states: *Light microscope findings. Biol Reprod* 39:1225-
1237.

- Weibel ER 1969 Stereological principles for morphometry in
electron microscopic cytology. *Int Rev Cytol* 26:235-301.
- Wrobel KH 1990 The postnatal development of the bovine
Leydig cell population. *Reprod Dom Anim* 25:51-60.