

한국 재래 닭 고환 간질세포의 미세구조에 관한 연구

장병귀³ · 태현진¹ · 최철환³ · 박영재¹ · 양홍현¹ · 김남수 · 박상열 · 강형섭 · 박병용 · 이영훈² · 안동춘⁴ · 김인식^{1,†}

전북대학교 생체안전성연구소, ¹수의과대학 해부학교실, ²전북대학교 치과대학, ³축산연구소 가금과, ⁴강원대학교 수의학과

The Ultrastructure of Leydig Cells in the Testis of Korean Native Chickens

B. G. Jang³, H. J. Tae¹, C. H. Choi², Y. J. Park¹, H. H. Yang¹, N. S. Kim, S. Y. Park, H. S. Kang, B. Y. Park, Y. H. Lee², D. C. Ahn⁴ and I. S. Kim^{1,†}

Bio-Safety Research Institute, ¹Department of Veterinary Anatomy, College of Veterinary Medicine, ²School of Dentistry, Chonbuk National University, ³Poultry Division National Livestock Research Institute, ⁴Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University

ABSTRACT Changes in the fine structure of testicular Leydig cell from hatching to adulthood were studied in 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 were to elucidate Leydig cell ultrastructure during testicular development. Testes of chickens were fixed by whole body perfusion using a fixative containing 2.5% glutaraldehyde in cacodylate buffer, processed and embedded in Epon-araldite. Using $1\mu\text{m}$ sections stained with methylene blue-azure II, qualitative and quantitative(stereological) morphological studies were performed. The ultrastructural changes of the Leydig cell were investigated by ultrathin section with the transmission electron microscope. The stages of the Leydig cell development described focus on mitochondria, endoplasmic reticulum, and lipid droplets which are involved in androgens as follows. 1) Approaching puberty. The closely packed Leydig cells and sparse intercellular space. The nucleus occupied a large portion of the Leydig cell volume. The population of Leydig cells contained two types of cells that differed in the appearance of their nuclei which were either highly electron-opaque or relatively electron-lucid. The cytoplasm was characterized by large amounts of lipid droplets, relatively few spherical mitochondria, and sparse smooth endoplasmic reticulum. 2) Puberty to adult. The Leydig cells which display features compatible with significant androgen synthesis: large volume of cytoplasm containing extended smooth endoplasmic reticulum, abundant mitochondria, and reduction of lipid droplets.

(Key words : ultrastructure, testis, Leydig cell, Korean native chickens)

서 론

고환내 간질세포는 간질세포 자극 호르몬(interstitial cell stimulating hormone(leuteinizing hormone))의 자극을 받아 콜레스테롤로부터 테스토스테론을 생합성한다(Ford et al., 1980; Lipsett, 1980; Mendis-Handagama et al., 1988). 이때 콜레스테롤은 간질세포의 세포 골격(cytoskeleton)과 스테로이드 운반 단백질(sterol carrier protein)에 의해서 사립체(mitochondria)에 들어가 내막에 있는 측쇄 절단 효소(side-chain cleavage enzyme)의 작용으로 pregnenolone이 되어서 세포기질로 나온다. 그 후 복잡한 단계를 거쳐 테스토스테론에 이

르나 이 과정에 필요한 모든 효소는 무과립형질내세망(smooth endoplasmic reticulum, sER)에 존재한다(Payne and Youngblood 1995). 간질세포에서 합성 분비된 이 testosterone은 발생기 동안에 수컷 생식기관의 형태 형성에 중요한 역할을 하고 출생 후에 정자 발생이 개시와 유지, 그리고 난포 자극 호르몬(follicle stimulating hormone)과 협력하여 정자 형성의 조절 및 2차 성징의 발현에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Russell et al., 1987; Tahka, 1986). 그러므로 간질세포의 분화, 형태, 기능은 물론 이세포의 수용체에 결합되는 호르몬도 많은 연구의 대상이었다.

간질세포의 분화에 관한 연구는 토끼(Gondos et al., 1977),

[†] To whom correspondence should be addressed : iskim@chonbuk.ac.kr

기니픽(Black and Christensen, 1968), 돼지(van Vorstenbosch et al., 1982), 소(Hullinger and Wensing, 1985), 사슴(Prince 1984)의 배자 및 태자를 대상으로 하여 그 미세구조에 관한 연구가 수행되어졌을 뿐 아니라 각종 포유 동물류(Gondos et al., 1975; Lunstra et al., 1986) 및 사람에서는 출생 후부터 성 성숙에 이르는 기간동안 간질세포의 미세구조적 특징에 관한 연구가 보고되어 있으며, 또한 성 성숙이 완전히 이루어진 후의 미세구조를 관찰한 보고도 있다(Christensen and Fawcett 1966; Christensen, 1965; Connell and Christensen, 1975). 간질세포의 형태학적 연구에 따르면 동물의 종류에 따라서 차이가 있기는 하지만 포유류의 간질세포는 일반적으로 초기에 나타나는 태생 기형(fetal type)과 성 성숙기에 나타나서 지속되는 성숙기형(adult type)이 있고 각기 다른 미세구조적 특징을 가지고 있는 것으로 밝혀졌다. 태생기형 세포는 분화 후 일정 기간 동안 기능을 하다가 성숙기형 세포로 분화되거나 얼마 후 완전히 퇴화되어 소실되는 것으로 알려져 있다(Russell et al., 1995). 간질세포의 구조에 관한 연구는 주로 포유 동물류를 중심으로 이루어져 있으나 조류에서 이 세포에 관한 전자현미경적 연구는 희소하며 닭(Rothwell 1973)과 메추라기(Nicholls and Graham, 1972))에서 일부만이 이루어져 있지만 이 세포의 미세구조에 관해서는 아직도 연구자들에 따라 많은 견해차를 나타내고 있고 한국 재래 닭에서 간질세포 미세구조에 관한 연구보고는 접할 수 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 다른 실험 동물에 비하여 고환 간질세포의 미세구조적인 특징에 관하여 명확하게 밝혀져 있지 않고, 최근 국제 상표 등록을 목표로 축산기술연구소 가금과에서 사육중인 한국 재래닭 적색 계통을 실험 동물로 하여 부화 후부터 64주령까지 일정한 주령별로 고환 발달 과정에 따르는 간질세포의 미세구조를 명확하게 구명하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

본 연구에 이용된 공시축은 농촌진흥청 축산기술연구소 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, 64주령 ($n=8$ /주령)의 수컷 재래닭(Korean native chicken)을 실험에 사용하였다.

2. 사양 관리

1) 사육 방법

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

2) 사료 급여 관리

축산기술연구소 사료공장에서 생산한 사료를 NRC 사료 표준에 준하여 급여하였으며, 0~6주령에는 어린 병아리 사료, 7~14주령에는 중병아리 사료, 15~18주령에는 큰 병아리 사료, 19주령부터 시험 종료시까지 산란 종계 사료를 급여하였다.

3) 점등 관리

점등 관리는 발생시부터 4주령까지는 종야 점등을 실시하였고 5주령부터 19주령까지는 자연 일조에 따랐으며, 19주령부터는 매주 15분씩 점등 점등하여 자연 일조 시간과 합하여 17시간이 되도록 하였으며, 그 후 시험 종료시까지 고정점등을 실시하였다.

3. 조직 표본 제작

고환 조직을 관류 고정($n=8$ /group)하기 위하여 실험 동물을 ketamine(3 mL/kg)으로 마취한 후 체중을 측정하고 관류 고정(perfusion fixation) 도중 혈액이 응고하는 것을 방지하기 위하여 heparin(Sigma, 100,000 Unit) 150 IU/kg을 복강 내에 주입하고 15분 후에 복강을 절개하고, 고정 전 고환의 용적을 측정하기 위하여 오른쪽 고환을 적출하여 chemical balance(Sartorius, BP 210 S, Germany)로 무게를 측정한 다음 동맥을 절개하여 cutdown tube를 삽입하고 전신의 혈관을 1~2분 동안 세척하였다. 이후 2.5% glutaraldehyde로 대체하여 약 40분 동안 관류 고정하였다. 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. 전자현미경 관찰

초박절편기(ultramicrotome, Leica ultracut-s, Austria)를 이용하여 1 μ m로 후박절편(semi-thin section)을 제작하고 1% methylene blue-azure II로 염색하고, canada balsam으로 봉입

하였다. 고환내 지지세포, 간질세포, 중간엽세포, 림프 공간, 혈관, 혈관 주위 세포, 혈관 내피 세포, 근모양 세포를 광학 현미경(Leica, DMRBE, Germany)에서 관찰하고 사진을 촬영하였고, 고환 조직의 일부를 택하여 초박절편(thin-section)을 작성하고 투과전자현미경(Jeol 1200 EX, Japan)으로 관찰하고 사진 촬영하였다.

결 과

부화 후 2주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 곱슬정세관 내에는 원형의 핵을 갖고 있고 치밀하게 배열되어 있는 정조세포(spermatogonia, Sg)가 관찰되며, 이들 세포 사이에 핵의 외형은 삼각형이고 핵소체(nuclei)가 뚜렷한 지지세포(Sertoli cell, S)가 관찰되었다. 지지세포의 세포질에는 무과립형질내세망(smooth endoplasmic reticulum, 큰 화살표 머리)과 사립체(mitochondria, 작은 화살표 머리)가 산재되어 나타났다. 간질조직내 간질세포(Leydig cell, L)는 치밀하게 배열되어 있고 핵은 전자밀도가 풍부한(electron-opaque)것과 전자밀도가 희박한(electron-lucid) 2종류가 관찰되었으며, 핵의 외형이 불규칙한 타원형, 다각형 또는 세로축으로 길게 되어 있었다. 세포질 내에는 산재되어 있는 사립체(mitochondria, 짧은 화살표)와 다수의 지방방울(Lipid droplets, Ld)이 보이며, 세로축으로 불규칙하게 길게 되어 있는 핵을 갖고 있는 중간엽세포(mesenchymal cell, Mc), 핵의 외형은 난원형 또는 세로축으로 길게 되어 있고 이웃하는 세포끼리 치밀하게 배열되어 있으며 기저막(basement membrane, BM)과 맞닿아 있는 근모양세포(Myoid cells, M)가 관찰되었다(Fig. 1A).

부화 후 6주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 곱슬정세관 내에는 정조세포가 위치한 기저막 인접부에 지지세포(S)가 명확하게 관찰되었고 기저막(BM) 바로 밑에는 난원형의 핵을 갖고 있는 근모양세포(M)가 관찰되었다. 간질조직내에는 불규칙한 타원형, 다각형 등 다양한 형태의 핵과 세포질 내에 많은 수의 크기가 다양한 지방방울(Ld)을 갖고 있는 간질세포(L)가 무리를 이루어 관찰되었다(Fig. 1B).

부화 후 10주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 간질조직내 간질세포(L)는 핵의 외형이 불규칙한 타원형이었고 핵소체가 명확하였으며 핵내에는 주로 진정염색질(euchromatin)이 관찰되었다. 세포질 내에는 사립체(짧은 화살표), 용해소체(lysosome, 긴 화살표), 크기가 다양한 지방방울(Ld) 및 지방방울을 둘러싸고 있는 무과립형질내세망이 관찰되었다. 또한 간질세포 사이에 세로축으로 길게 되어 있는 핵을 갖

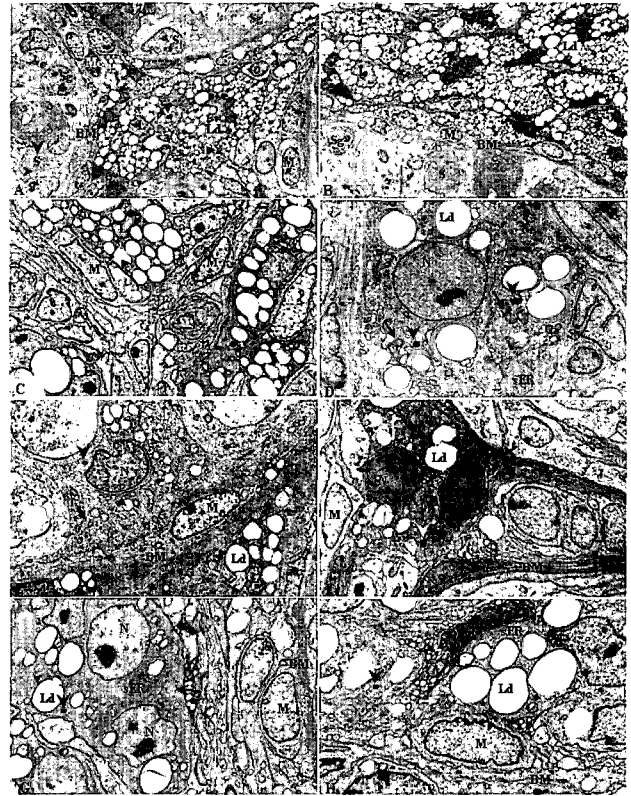


Fig. 1. Electron micrograph of 2 (A, $\times 1,500$), 6 (B, $\times 1,500$), 10 (C, $\times 2,000$), 12(D, $\times 4,000$), 14 (E, $\times 3,000$), 16(F, $\times 3,000$), 18(G, $\times 3,000$), and 21 weeks (H, $\times 5,000$) old chicken testis. S, Sertoli cell; M, Myoid cell; BM, Basement membrane; L, Leydig cell; N, Nucleus of the Leydig cell; sER, Smooth endoplasmic reticulum; Ld, Lipid droplets.

고 있는 중간엽세포(Mc)가 다수 관찰되었다(Fig. 1C).

부화 후 12주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 간질세포(L)의 외형은 원형이었고 핵소체가 명료하였고 이중 막으로 구성된 핵막(nuclear membrane, 작은 화살표 머리)을 관찰할 수 있었다. 세포질 내에는 다양한 크기의 지방방울(Ld), 소포형의 무과립형질내세망(sER) 및 사립체(큰 화살표)가 관찰되었다(Fig. 1D).

부화 후 14주령에 채취한 한국 재래 닭 고환 곱슬정세관 내에는 기저막 인접부에 정세관사이에 위치하고 있는 지지세포 핵(N)의 외형은 불규칙하였으며 세포질 내에는 과립형질내세망(rough endoplasmic reticulum, 작은 화살표 머리), 자유리보소체(free ribosome), 사립체(긴 화살표) 및 용해소체(큰 화살표 머리)가 관찰되었다(Fig. 1E).

부화 후 16주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 간질세포 핵(N)의 외형이 불규칙한 타원형이었고 크기와 외형이 다양

한 사립체(긴 화살표), 용해소체(큰 화살표 머리), 이전의 주령보다 숫자가 현저하게 감소되어 있는 지방방울(Ld), 근모양세포(M)와 기저막(BM)이 잘 관찰되었다(Fig. 1F).

부화 후 18주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 곱슬정세관내에는 삼각형의 핵을 갖고 있고 썩기모양으로 박혀 있는 지지세포가 관찰되었고 기저막(BM)내에는 난원형의 핵을 갖고 있는 근모양세포(M)가 관찰되었다. 또한 간질세포(N)는 몇 개의 세포가 군집을 이루어 관찰되었고 핵의 외형은 원형 또는 다각형이었고 핵소체는 명확하였으며 핵내에는 주로 진정염색질이 관찰되었다. 간질세포의 세포질 내에는 지방방울(Ld), 용해소체(큰 화살표 머리) 및 관모양(tubular form)의 수조(cristern)을 갖고 있는 무과립형질내세망(sER)이 잘 발달되어 있었고 세포질 전반에 고르게 분포되어 있었고 일부 무과립형질내세망(작은 화살표 머리)은 지방방울 주위를 둘러싸고 있었다(Fig. 1G).

부화 후 21주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 간질세포 핵(N)은 핵소체가 명확하였고 층판상능선이 뚜렷하고 외형이 원형인 사립체(긴 화살표), 용해소체(큰 화살표 머리) 및 관모양의 수조를 갖고 있는 무과립형질내세망(sER)이 세포질 내에 전반적으로 고르게 분포되어 있었고 일부 무과립형질내세망은 지방방울(Ld) 주위를 둘러싸고 있었다. 또한 간질세포의 이웃하여 세로축으로 길게되어 있는 중간엽 세포(Mc)와 기저막(BM) 근처에서 근모양세포(M)가 관찰되었다(Fig. 1H).

부화 후 24주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 지지세포는 핵(N)의 외형이 원형이었고 핵내에는 고르게 분산되어 관찰되는 진정염색질이 주로 관찰되었고 핵의 주변 세포질에는 기질이 치밀하고 층판상능선이 뚜렷한 사립체(긴 화살표)가 주로 핵 가까이 밀집되어 있고 외형은 주로 원형이었다. 전자밀도가 높은 치밀소체(dense body)가 관찰되었고 이 소체 주위에는 골지 복합체(Golgi complex, 작은 화살표 머리), 소포형의 무과립형질내세망(sER), 쌍으로 된 중심소체(centrioles, C) 및 세포질 전반에 걸쳐 당원과립(glycogen granuels)이 분산되어 관찰되었다(Fig. 2A).

부화 후 28주령에 채취한 한국 재래 닭 고환의 간질조직에는 이웃하는 간질세포(N)와 치밀하게 결합되어 있고 핵의 외형은 다각형이었으며, 세포질 내에는 다수의 지방방울(Ld)과 원형으로 능선이 뚜렷한 사립체(긴 화살표), 용해소체(큰 화살표 머리) 및 관모양의 수조를 갖고 있는 무과립형질내세망(sER)이 세포질의 대부분을 차지하고 있었다(Fig. 2B).

부화 후 28주령에 채취한 간질세포(N)의 세포질에는 치밀

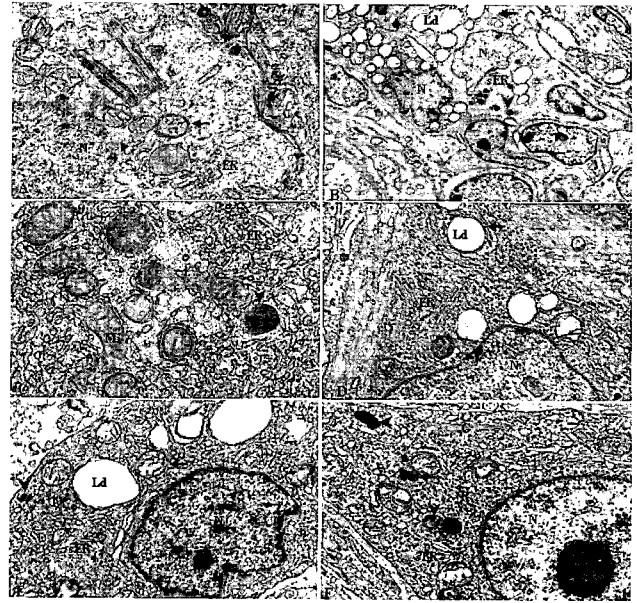


Fig. 2. Light micrograph of the 24 (A, ×10,000), 28 (B, ×3,000), 28 (C, ×15,000), 32 (D, ×10,000), 44 (E, ×10,000), and 64 weeks (F, ×10,000) old chicken testis. Ld, Lipid droplets; N, Nucleus of the Leydig cell; sER, Smooth endoplasmic reticulum; Mi, Mitochondria; G, Golgi complex; R, Free ribosome; C, Centrioles.

하게 배열된 소포형 수조를 갖고 있는 무과립형질내세망(sER)이 많은 부분을 차지하고 있었고 원형 또는 타원형으로 능선이 잘 발달된 사립체(Mi)가 관찰되었으며 일부에서는 무과립형질내세망이 사립체의 주위를 둘러싸고 있었고 세포질 전반에 분산되어 있는 당원과립과 전자밀도가 높은 용해소체(큰 화살표머리)가 관찰되었다(Fig. 2C).

부화 후 32주령에 채취한 간질세포 핵(N)의 외형은 불규칙하였고 관모양의 수조를 갖고 있는 무과립형질내세망(sER)이 핵 근처부터 세포질 전반에 걸쳐 폭 넓게 관찰되고 소수의 지방방울(Ld)과 일부 지방방울은 무과립형질내세망에 의해서 완전히 둘러싸여 있으며 세포질 전반에 걸쳐 자유 리보소체가 관찰되었다(Fig. 2D).

부화 후 44주령에 채취한 고환의 간질세포는 핵(N)의 외형이 불규칙하였고 핵소체가 명료하였으며 지방방울(Ld), 사립체(긴 화살표), 용해소체(큰 화살표 머리) 및 폭 넓게 분포되어 있는 무과립형질내세망(sER)이 관찰되었다(Fig. 2E).

부화 후 64주령에 채취한 고환의 간질세포는 이중막으로 구성된 핵막이 명확하였고 핵(N)의 외형은 원형이었으며 핵소체는 과립부분(pars granulosa)과 섬유부분(pars fibrosa)이 뚜렷하게 구분되어 관찰할 수 있었다. 세포질 내에는 외형이

원형으로 능선이 잘 발달된 사립체(긴 화살표), 원형 및 난원형의 용해소체(큰 화살표 머리), 이전의 주령 보다 양이 감소한 소포형 무과립형질내세망(sER), 골지 복합체(G) 및 세포질에 고르게 분포되어 있는 자유 리보솜(R)을 관찰할 수 있었다(Fig. 2F).

고 찰

간질세포내에 존재하는 콜레스테롤은 사립체에 있는 콜레스테롤 축쇄 절단 효소의 작용으로 pregnenolone이 되어서 세포기질로 나오고 이어서 무과립형질내세망에 존재하는 3β -hydroxy steroid dehydrogenase, 17α -hydroxylase 및 C_{17-20} lyase 효소의 작용으로 테스토스테론을 분비하는 것으로 알려져 있다(Payne and Youngblood, 1995). Suzuki와 Racey(1978)의 보고에 의하면 두더지에서 간질세포는 번식기 이전에 간질 조직내의 미분화된 세포에서 발생하여 무과립형질내세망, 사립체 및 지방방울이 증가하여 스테로이드를 분비하는 세포로 성숙한다. 이후 번식기가 끝나갈 무렵에는 일반적으로 cholesterol을 함유하고 있는 큰 지방방울이 축적되고 퇴화된 다음 미분화된 상태로 돌아가는 것으로 알려져 있고 너구리에서 간질세포의 발달은 혈중내 testosterone 농도의 변화와 일치한다고 보고되었다(Neaves, 1973). 따라서 간질세포의 미세구조에 관한 연구는 스테로이드합성 정도와 연관지어 연구하는 것이 바람직하다. 본 연구에서 간질세포 미세구조 중에서 스테로이드 합성과 관련된 지방방울, 사립체 및 평활형질내세망을 관찰한 결과 혈청내 테스토스테론 농도가 급격하게 증가하는 시기인 16주령에 간질세포내 미세구조 특히, 평활형질내세망과 사립체가 증가하여 위의 결과와 일치하는 결과를 얻었고 한국 재래닭에서 간질세포의 미세구조는 16주령부터 성숙동물의 한국 재래닭과 큰 차이가 없었다.

포유 동물류에서 간질세포의 발생은 임신시기에 나타나는 태자 간질세포(fetal Leydig cells)와 출생 후에 일정한 시기에 발생하여 성숙 동물에까지 계속 존재하는 성숙 간질세포로 2단계의 연속적인 발생 단계를 나타내고 이러한 두 종류의 간질세포를 분류하는데 있어서 테스토스테론 합성에 주로 관여하는 미세구조인 사립체, 지방방울 및 평활형질내세망이 중요한 요소이며(Kuopio et al., 1989; Lording and de Krester, 1972), 태자 간질세포와 성숙 간질세포의 발생 유형은 동물에 따라서 많은 차이를 나타내고 있다. 출생 후 짧은 시간에 정자 발생(spermatogenesis)이 이루어지는 흰쥐(Kerr,

1988; Ariyaratne and Mendis-Handagama, 2000)에서는 일정 기간 태자 간질세포와 성숙 간질세포가 혼합되어 관찰되며, 사람(Nistal et al., 1986)에서 태자 간질세포는 6개월 이내에 퇴축되고 사춘기에 접어들면서 성숙 간질세포가 관찰된다. 기니픽(Christensen, 1965)에서는 태자 간질세포와 성숙 간질세포의 구조적인 차이가 없고 고양이(Sanchez, 1993)는 간질세포, pre-Leydig cell, 성숙 간질세포로 구분되며, 돼지(Franca et al., 2000)에서는 간질세포의 발생이 3단계로 나뉘어져 있는데, 이는 초기 태자시기(early fetal period), 신생아돈 시기(neonatal period)와 마지막 단계로 성 성숙 시기인 출생 후 90일령에 나타나서 지속되는 단계로 나뉘어져 있다. 그러나 아직까지 같은 동물에서조차 태자 간질세포와 성숙 간질세포의 발생 유형에 관하여는 많은 견해 차이를 보이고 있고 코니쉬(Cornish) 수탉(Rosenstrauch, 1998)에서는 간질세포의 발생이 번식력과 밀접한 연관성이 있다는 간단한 보고가 있을 뿐 간질세포의 발생에 관한 상세한 보고는 없다. 본 연구에서 한국 재래닭 간질세포의 발달을 형태학적으로 관찰한 결과 한국 재래 닭 간질세포의 발달 단계는 3개로 나눌 수 있는데 즉, 세포질 내에 주로 지방방울로 채워져 있고 사립체와 평활형질내세망이 점차적으로 많아지는 단계(1~14주령), 지방방울의 숫자가 큰 폭으로 감소되고 세포질 전반에 잘 발달된 평활형질내세망이 고르게 분포되어 있고 다수의 원형의 사립체가 관찰되는 단계(16~21주령) 및 대부분의 세포질을 평활형질내세망이 차지하고 있고 일부에서는 지방방울을 완전히 둘러싸고 있는 단계(24~64주령)이고 성숙 재래닭의 간질세포 미세구조는 포유 동물류의 것과 유사함을 확인하였다. 또한 간질세포에서 분비되어 수컷 생식 기관의 발생과 기능을 조절하고 정자 발생(spermatogenesis)의 개시와 유지에 중요한 기능을 담당하고 있는 테스토스테론(Saez, 1994; Swerloff and Heber, 1981)은 간질세포의 발생과 밀접한 관련이 있어서 태자 시기에는 높고(Lipsett and Tullner, 1965), 출생 후 30일 동안에는 측정할 수 없을 정도로 낮게 유지되며 6주에 급격히 증가하는 것으로 보고하였다(Chubb et al., 1978; Gondos, 1980). 한국 재래 닭의 혈청에서 테스토스테론을 측정된 결과 부화하여 35일 까지는 낮게 유지되다가 완전히 발달한 간질세포가 나타나기 시작하는 16주령부터 급격하게 증가하여 이러한 농도 변화 양상은 간질세포의 발달과 밀접한 관련성이 있음을 알 수 있었다(Tae et al., 2005).

출생 후 태자 간질세포와 성숙 간질세포의 발달 유형에 관한 상호 연관성은 동물의 종에 따라서 많은 차이를 나타내고 있다. 쥐에서 일부 태자 간질세포는 특별한 기능 없이

일생 동안 존재하고 대부분은 2주 내에 변성을 초래하여 사멸되며 발달이 미숙한 성숙 간질세포는 14일에 나타난다 (Ariyaratne and Mendis-Handagama, 2000). 흰쥐에서는 출생 후 초기 기간에 태자 간질세포가 성숙 간질세포로 전환하는 특징을 나타낸다(Blackburn et al., 1973). 한국 재래닭에서 출생 후 6주령까지 간질 조직내 간질세포는 치밀하게 배열되어 있고 원형의 전자 밀도가 희박한 핵과 세포질이 넓은 것과 간질세포핵이 진하게 염색되고 핵이 차지하고 있는 비율이 큰 것 2종류로 관찰되었는데 8주령부터 핵이 진하게 염색되는 세포가 관찰되지 않아 이 세포가 다른 동물에서 주로 주장하고 있는 태자간질세포라고 가정한다면 한국 재래닭에서 태자간질세포는 부화 후 일정기간 즉 6주령까지 존재하다가 사멸되는 것으로 추론을 할 수 있으나 이러한 내용을 입증하기 위하여 먼저 한국 재래 닭에서 6주령까지 실험 기간을 더욱 세분해야할 필요가 있고 고환에서 생물학적으로 활성형인 steroid cortisol을 비활성 대사형인 cortisone으로 전환시키는 작용이 있는 효소로서 태자 간질세포와 발달이 미숙한 성숙 간질세포에는 존재하지 않고 완전히 발달한 성숙 간질세포에만 존재하는 11β -hydroxy steroid dehydrogenase (11β -HSD)(Phillips et al., 1989)에 대한 면역조직화학염색 등의 방법을 적용하여 추가적인 실험이 필요하다. 따라서 현재까지 본 연구에서 얻어진 결과에 의하면 재래 닭 고환에서 관찰되는 간질세포를 명확하게 태자간질세포와 성숙간질세포로 분류하기가 어려워 총체적으로 간질세포로 분류하여 연구를 진행하였다.

간질세포에서 관찰되는 큰 지방방울(lipid droplets)과 양의 증가는 생쥐에서 뇌하수체 절개 후 비활성기(inactive state)의 고환의 특징이며(Aoki, 1970) 흰쥐에서도 성숙 간질세포에 비하여 미성숙 세포에서 크고 많은 양의 지방방울이 관찰되었다(Ariyaratne and Mendis-Handagama, 2000; Hardy et al., 1989) 또한 핑(Kim & Yang, 2001)에서는 비번식기의 간질세포 세포질 내에 번식기에 비하여 숫자는 감소하였으나 크기가 명확하게 증가한 지방방울이 다수 관찰되어 포유 동물류에서 미성숙 간질세포와 유사한 특징을 갖고 있었다. 본 연구에서도 성 성숙이 이루어지기 이전에 간질세포에는 많은 양의 지방방울이 관찰되었으나 16주령부터 간질세포에는 지방방울의 양이 큰 폭으로 감소하였다. 지방방울은 테스토스테론 분비와 밀접한 관련이 있으므로 이는 테스토스테론 분비 대사의 기능이 저하되어 있음을 의미하며 성성숙 이전에 테스토스테론 농도가 낮은 것으로 보아 대부분의 동물에서 간질세포내 지방방울의 양은 혈청 테스토스테론 농도와 반비례의 관계에 있음을 알 수 있었다.

적 요

한국 재래 닭에서 부화 후부터 성숙에 이르는 시기까지 고환 발달동안 간질세포의 미세구조를 구명하기 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 한국 재래 닭을 이용하여 이 연구를 수행하였다. 한국 재래닭의 고환은 2.5% glutaraldehyde를 이용하여 전신관류고정하고 조직 처리 과정을 거쳐 Epon-araldite에 포매하였다. 초박절편기를 사용하여 $1\ \mu\text{m}$ 로 절편한 다음 methylene blue로 염색하여 일반적인 조직의 변화상을 관찰하였고 간질세포의 미세구조는 초박 절편을 제작하여 투과전자현미경으로 관찰하였다. 간질세포내에서 테스토스테론과 연관성이 있는 미세구조인 사립체, 평활형질내세망 및 지방방울의 변화에 따라 간질세포의 발달 유형을 분류하면, 1) 간질세포가 치밀하게 배열되어 있고 세포 사이의 공간이 거의 없으며 핵이 간질세포 용적의 많은 부분을 차지하고 있는 시기로 핵은 전자밀도가 높은 유형과 희박한 유형으로 나눌 수 있었고, 또한 세포질 내에는 많은 양의 지방방울, 소량의 사립체 및 평활형질내세망을 갖고 있는 시기, 2) 세포질 내에 큰 폭으로 확장된 평활형질내세망, 풍부한 사립체 및 감소된 지방방울을 갖고 있는 시기로 나눌 수 있다.

(색인어 : 미세구조, 고환, 간질세포, 한국 재래 닭)

사 사

이 연구에 참여한 연구자(의 일부)는 『2단계 BK21 사업』의 지원비를 받았다.

인용문헌

- Aoki A 1970 Hormonal control of Leydig cell differentiation. *Protoplasma* 71:209-225.
- Ariyaratne HBS, Mendis-Handagama SMLC 2000 Changes in the testis interstitium of Sprague Dawley rats from birth to sexual maturity. *Biol Reprod* 62: 680-690.
- Black VH, Christensen AK 1968 Differentiation of interstitial cells and Sertoli cells in fetal guinea pig testes. *Am J Anat* 124:211-238.
- Blackburn WR, Chung KW, Bullock L 1973 Testicular feminization in the mouse: Studies of Leydig cell structure and

- function. *Biol Reprod* 9: 9-23.
- Christensen AK, Fawcett DW 1966 The fine structure of testicular interstitial cells in mice. *Am J Anat* 118:551-572.
- Christensen AK 1965 The fine structure of testicular interstitial cells in guinea pigs. *J Cell Biol* 26:911-935.
- Chubb C, Ewing L, Irby D 1978 Testicular maturation in the rabbit. Secretion of testosterone, dihydrotestosterone, 5α -androstan- 3β , 17β -diol and 5α -androstan- 3β , 17β -diol by perfused rabbit testes-epididymides and spermatogenesis. *Biol Reprod* 18:212-218.
- Connell CJ, Christensen AK 1975 The ultrastructure of the canine testicular interstitial tissue. *Biol Reprod* 12:368-382.
- Ford JJ, Christenson RK, Maurer RR 1980. Serum testosterone concentrations in embryonic and fetal pigs during sexual differentiation. *Biol Reprod* 23: 583-587.
- 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, Morrison KP, Renston RH 1977 Leydig cell differentiation in the prepubertal rabbit testis. *Biol Reprod* 17: 745-748.
- Gondos B, Renston RH, Goldstein DA 1975 Postnatal differentiation of Leydig cells in the rabbit testis. *Am J Anat* 145:167-182.
- Gondos B 1980 Development and differentiation of the testis and male reproductive tract. In: *Testicular development, structure and function*, Raven press, New York. 3-20.
- Hardy MP, Zirkin BR, Ewing LL 1989 Kinetics studies on the development of the adult population of Leydig cells in testes of the pubertal rat. *Endocrinology* 12:762-770.
- Hullinger RL, Wensing CJG 1985 Testicular organogenesis in the fetal calf : Interstitial endocrine(Leydig) cell development. *Acta Anat* 121:99-109.
- 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, Yang HH 2001 Seasonal changes of testicular weight, sperm production, serum testosterone, and *in vitro* testosterone release in Korean ring-necked pheasants(*Phasianus colchicus karpowi*). *J Vet Med Sci* 63:151-156.
- Kuopio T, Tapanainen J, Pelliniemi LJ 1989 Developmental stages of fetal-type Leydig cell in prepubertal rats. *Development* 107:213-220.
- Lipsett MB 1980 Physiology and pathology of the Leydig cell. *New Engl J Med* 303:682-688.
- Lipsett MB, Tullner WW 1965 Testosterone synthesis by the fetal rabbit gonad. *Endocrinology* 77:273-277.
- Lording DW, de Krester DM 1972 Comparative ultrastructural and histochemical studies of the interstitial cells of the rat testis during fetal and postnatal development. *J Reprod Fert* 29:261-269.
- Lunstra DD, Ford JJ, Christenson RK 1986 Changes in Leydig cell ultrastructure and function during pubertal development in the boar. *Biol Reprod* 34:145-158.
- Mendis-Handagama SMLC, Zirkin BR, Ewing LL 1988 Comparison of components of the testis interstitium with testosterone secretion in hamster, rat, and guinea pig testes perfused *in vitro*. *Am J Anat* 181:12-22.
- Neaves WB 1973 Changes in testicular Leydig cells and in plasma testosterone levels among seasonally breeding rock hyrax. *Biol Reprod* 8:451-466.
- Nicholls TJ, Graham GP 1972 Observations on the ultrastructure and differentiation of Leydig cells in the testis of the japanese quail(*Coturnix coturnix japonica*). *Biol Reprod* 6 : 179-192.
- Nistal M, Paniagua R, Regadera J 1986 A quantitative morphological study of human Leydig cells from birth to adulthood. *Cell Tissue Res* 246:229-236.
- Payne AH, Youngblood GL 1995 Regulation of expression of steroidogenic enzymes in Leydig cells. *Biol Reprod* 52: 217-225.
- Phillips DM, Lakshmi V, Monder C 1989 Corticosteroid 11β -dehydrogenase in rat testis. *Endocrinology* 125: 209-216.
- Prince FP 1984 Ultrastructure of immature Leydig cells in the human prepubertal testis. *Anat Rec* 209:165-176.
- Rosenstrauch A, Weil S, Degen AA, Friedlander M 1998 Leydig cell functional structure and plasma androgen level during the decline in fertility in aging roosters. *Gen Comp Endocrinol* 109:251-258.
- Rothwell B 1973 The ultrastructure of Leydig cells in the testis of the domestic fowl. *J Anat* 116:245-253.
- Russel LD, Alger LE, Nequin LG 1987 Hormonal control of

- pubertal spermatogenesis. *Endocrinology* 120:1615-1632.
- Russell LD, De Franca LR, Hess R, Cooke P 1995 Characteristics of mitotic cells in developing and adult testes with observations on cell lineages. *Tissue Cell* 27:105-128.
- Saez JM 1994 Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation. *Endocrine Rev* 15:576-626.
- Sanchez B, Pizarro M, Garcia P, Flores JM 1993 Histological study of Leydig cells in the cat from birth to sexual maturity. *J Reprod Fert* 47:349-353.
- Suzuki F, Racey PA 1978 The organization of testicular tissues and changes in the fine structure of the Leydig cells of European moles (*Talpa europaea*) throughout the year. *J Reprod Fert* 52:189-194.
- Swertloff RS, Heber D 1981 Endocrine control of testicular function from birth to puberty. In : Burger H and de Krester D (eds). *The testis*. Raven press, New York. 511-528.
- Tae HJ, Jang BG, Choi CH, Park YJ, Yang HH, Kim IS 2005 Changes in the profiles of serum LH, testosterone, estrogen, and IGF-I during sexual development in male Korean native chickens. *Korean J Poult Sci* 32:135-141.
- Tahka KM 1986 Current aspects of Leydig cell function and its regulation. *J Reprod Fert* 78:367-380.
- van Vorstenbosch CJ, Colenbrander B, Wensing, CJ 1982 Leydig cell development of pig testis in the early fetal period: an ultrastructural study. *Am J Anat* 165:305-318.