

## 흰쥐에서 한쪽 고환 거세 후 고환간질세포의 형태계측학적 연구

안동춘<sup>1</sup>, 태현진, 나성진, 이석원, 이영덕, 강형섭,  
박상열, 이기창, 양홍현, 김인식

전북대학교 수의과대학 생체안전성연구소, 2단계 BK21, <sup>1</sup>강원대학교 수의학과

**간추림** : 수컷 흰쥐에서 각기 다른 일령에 한쪽 고환을 제거하고 일정한 시간경과 후 남아 있는 고환 간질세포의 형태계측학적인 변화를 살펴보기 위하여 본 연구를 수행하였다.

출생 후 20, 30, 40, 50 및 60일령( $n=18$ 마리/일령)의 흰쥐 한쪽 고환을 거세한 후 100일령에 회생시켜 실험에 이용하였다. 흰쥐를 전신관류고정하고 고환을 적출 한 후 조직 처리과정을 거쳐 초박절편한 다음 methylene-blue 염색을 하여 일반적인 조직학적인 변화를 관찰하고 형태계측을 시행하였다. 황체형성호르몬 자극에 대한 고환내 테스토스테론 생성과 혈청내 테스토스테론 농도는 방사면역측정법을 이용하여 측정하였다.

실험군과 대조군의 몸무게는 차이가 없었지만 대조군이 실험군보다 그 값이 높았으며 고환 무게도 유의성 있는 차이는 없었으나 30, 40 및 60일령에 거세한 실험군에서 대조군에 비해 약간 높았다. 곱슬정세관, 간질조직 및 간질세포의 용적치밀도는 영향이 없었으나 절대용적은 20, 30 및 40일령에 거세한 실험군에서 유의성 있게 증가하였다( $P<0.05$ ). 고환조직 당 간질세포의 총 숫자는 60일령을 제외한 전 실험군에서 유의성 있게 증가하였다( $P<0.05$ ). 간질세포의 평균용적, 혈청내 테스토스테론농도 및 황체형성호르몬자극에 대한 고환내 테스토스테론 분비는 30일과 40일령에 거세한 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다( $P<0.05$ ).

이상을 종합하면 흰쥐에서 30일령과 40일령에 한쪽 고환을 거세하면 성 성숙후에 남아 있는 고환의 보상작용으로 간질세포의 크기와 분비가 증가함을 확인하였고 흰쥐에서 성 성숙이 이루어지는 즈음에 거세를 하면 간질세포의 보상작용이 이루어지는 것을 알 수 있었다.

(2008년 9월 2일 접수, 2008년 10월 27일 게재승인)

**찾아보기 낱말** : 한쪽고환 제거, 흰쥐, 고환간질세포, 형태계측

### 서 론

고환은 다양한 종류의 세포들로 구성된 수컷 생식기관으로서 주로 정자형성을 담당하는 곱슬정세관과 내분비기능을 담당하는 간질세포를 포함한 간질조직으로 이루어져 있고(Russell 등 1995, Ariyaratne와 Chamindrani Mendis-Handagama 2000, Kim 등 2001, 2002), 간질조직은 간질세포(Leydig cells),

중간엽세포(mesenchymal cells), 근모양세포(myoid cells), 림프공간(lymphatic spaces), 혈관, 혈관내피세포(vascular endothelial cells) 및 혈관주위세포(pericytes)로 구성되어 있다(Ewing과 Zirkin 1983, Mendis-Handagama 등 1987, 1988, Kim 등 2001)

포유동물류에서 한쪽 고환을 반거세(hemicastration)하고 남아 있는 고환조직에서 일어나는 보상 비대현상(compensatory hypertrophy)에 관한 연구는 흰쥐(Ojeda와 Ramirez 1972, Furuya 1990), 돼지(Kittok 등 1984), 먼양(Voglmayr와 Mattner 1968,

교신저자: 김인식(전북대학교 수의과대학 해부학교실)  
전자우편: iskim@chonbuk.ac.kr

Land와 Carr 1975) 그리고 말(Ott 등 1984) 등에서 수행되어 왔다. 그러나 유사한 비대현상이 마우스에서는 관찰되지 않으며(Fawke 등 1972), 흰쥐에서 한쪽 고환을 거세하고 초래되는 고환 조직의 비대현상은 특정 연령에서 결정된다는 보고(Cunningham 등 1978)가 있으나 이에 관한 정확한 연구보고는 희소한 실정이다.

한쪽 고환의 거세 후 또는 잠복고환 수술 후 고환(Liang과 Liang 1970)과 고환 조직 내에서 간질세포(Cunningham 등 1978)와 지지세포(Lunstra 등 2003)는 비대되고 혈중 테스토스테론 농도가 감소(Moger 1977, Lee 등 1989, Umapathy 등 1997)된다는 보고가 있다. 테스토스테론은 고환의 간질세포에서 주로 생성되어 정자발생, 부속생식기관의 유지 및 발기 등을 포함한 수컷생식계통의 기능조절에 중요한 역할을 담당한다(Ewing과 Zirkin 1983). 한쪽 고환을 거세한 후 나타나는 중요한 특징은 혈중과 고환 내 테스토스테론의 농도가 감소하는 것이며 이로 인해 골다공증, 근력의 감소, 체지방의 증가, 그리고 성기능의 감퇴를 초래하는 것으로 밝혀져 있다(Moger 1977, Lee 등 1989).

돼지에서 14일령 때 거세하여 10, 38, 66, 94 및 122일 지난 후 곱슬정세관의 직경과 길이를 측정할 결과 직경은 일령이 증가함에 따라 감소한 반면 총 길이는 일령이 증가함에 따라 증가하였다(Kosco 등 1987). 성 성숙 전에 한쪽 고환을 거세한 흰쥐에서 25일 후 혈중 황체형성호르몬 농도의 변화는 대조군에 비해 모두 증가하고 혈중 테스토스테론의 농도는 일령이 증가함에 따라 증가하나 대조군에 비해 낮게 나타나며 고환내 테스토스테론의 농도는 35일령까지 증가하는 양상을 보이다가 45일까지 감소한 후 다시 증가하는 양상을 보여 40일령부터 대조군보다 높게 나타난다고 한다(Moger 1977). 또한 성 성숙 흰쥐의 고환거세 후 혈중 황체형성호르몬 농도는 대조군보다 모두 높게 나타나며(Howard와 Ford 1992), 어린 돼지에서 고환 거세 후 성 성숙 전 혈중 황체형성호르몬의 농도도 실험군이 대조군보다 높게 나타난다고 한다(Kosco 등 1987).

이와 같이 고환의 한쪽 거세 후 또는 잠복고환수

술 후 고환 간질조직과 간질세포의 형태학적 및 호르몬 분비량변화에 대한 연구가 여러 종에서 다양하게 수행되어 왔으나 성숙 전 한쪽 고환을 거세한 흰쥐에서 성 성숙 후 고환 간질세포의 형태학적인 변화와 테스토스테론 농도의 변화에 대한 연구는 진전이 없는 상태이다. 따라서 이 연구는 흰쥐를 실험동물로 하여 20, 30, 40, 50, 60일령별로 한쪽 고환을 거세하고 성 성숙에 이른 후 고환 간질세포의 형태학적 변화와 간질세포에서 분비하는 테스토스테론변화를 관찰하여 고환의 형태와 그 기능을 이해하는 각종 연구의 기초 자료로 활용하기 위하여 이 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

출생 후 20, 30, 40, 50, 60 및 100일령(n=18마리/일령)의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 한일실험동물센터(Hanil Animal Laboratory Co.)에서 구입하여 물과 사료를 자유급식하고 실험에 사용하였다. 실험동물 중 100일령의 흰쥐(대조군)를 제외한 각 실험동물은 케타민(3 mL/kg)으로 마취 후 체중을 측정하고 음낭을 절개하여 한쪽 고환을 제거하였다. 이후 모든 실험동물은 100일령에 희생시켜 실험에 사용하였다.

### 2. 고환조직표본제작

실험동물(n=8/group)은 8% chloral hydrate solution(4 mL/100 g BW)을 복강 주사하여 마취시킨 후 2.5% glutaraldehyde(pH 7.4)로 약 40분 동안 전신 관류고정 하였다. 고정 후 고환을 적출하고 무게를 측정하여 고정 후 고환용적(fixed testis volume)을 산출하였다. 조직표본을 제작하기 위하여 고환을 2~3 mm 두께로 세절하여 2.5% glutaraldehyde 용액에 4°C에서 12시간 동안 담가두어 고정한 다음, 1% osmium tetroxide로 2시간 동안 고정하고 알코올로 탈수하여 Epon-812로 포매하였다. 각 개체 당 블록 20개씩을 제작하였다.

### 3. 광학현미경관찰

초박절편기 (ultramicrotome, Leica ultracut-s, Austria)를 이용하여 1 μm로 절편을 제작하고 methylene blue-azure II로 염색하여 고환 간질조직을 구성하고 있는 간질세포, 중간엽세포, 림프공간, 혈관, 혈관주위 세포, 혈관내피세포 및 근모양세포를 광학현미경 (Leica, DMRBE, Germany)으로 관찰하였다.

### 4. 형태계측

#### 1) 고환조직 구성물의 용적치밀도 (volume density)

Point Counting 법을 적용 (Kim 등 2001, 2002), 121 point ocular grid를 장착한 광학현미경을 이용하여 point와 만나는 각 구조물 (곱슬정세관, 간질조직 및 간질세포)의 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 고환조직 구성물의 용적치밀도 (v : v%)를 구하였다.

#### Vv% of a component

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

#### 2) 고환조직 구성물의 절대용적 (absolute volume)

이미 구해진 용적치밀도와 고환용적 (fresh testis volume)을 이용해서 절대용적을 다음과 같은 공식에 의해서 구하였다 (Mendis-Handagama 등 1987, 1988, Kim 등 2001, 2002).

#### 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 단위용적 당 간질세포의 수 (numerical density)

Floderus (Kim 등 2001, 2002) 방정식 ( $N_v = N_a / (T + D - 2h) \times (1 - S_T)$ )을 적용하여 numerical density를

계산하였다. 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 간질세포의 수에 각 고환의 용적을 곱하여 구하였다 (total number = numerical density × fresh testis volume) (Mendis-Handagama 등 1987, 1988, Kim 등 2001, 2002).

#### 4) 간질세포의 평균 용적 (average volume)

간질세포의 평균용적은 간질세포의 용적치밀도를 단위용적 당 세포의 수로 나누어 구하였다 (Mendis-Handagama 등 1987, 1988, Kim 등 2002).

#### Average cell volume

$$= \frac{\text{volume density}}{\text{numerical density}} \text{ of each cell type}$$

### 5. 시험관내 고환 조직 배양

신속하게 고환을 적출하여 무게를 측정하고 피막을 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 20 mL scintillation vials에 담아 34°C shaking water bath (90 shaking/minute)에서 3시간 동안 반응시키고 원심분리한 후 상층액만을 채취하여 -70°C에 보관하였다.

### 6. 방사면역활성측정

혈청 및 배양액내 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%이었고 기타 스테로이드 호르몬은 0.02%이었다.

## 7. 통계처리

본 실험에서 얻어진 자료에 대한 통계학적 유의성은 Student's t-test로 처리하였고  $P < 0.05$  이하의 유의성을 통계학적 차이로 인정하였다.

## 결 과

### 1. 체중과 고환무게의 변화

대조군에서 체중과 고환무게는 각각  $364.6 \pm 12.8$  g,  $1.69 \pm 0.12$  g이었다. 실험군에서의 몸무게는 대조군에 비해 다소 적었지만 통계적 유의성은 없었다. 고환 무게도 유의성 있는 차이가 없었지만 실험군 20, 30 및 60일령에서 대조군에 비해 약간 높은 수치를 보였다(Table 1).

### 2. 흰쥐 고환조직의 광학현미경적 관찰

고환 거세 20일령 실험군의 흰쥐 고환 간질조직에서는 세포질이 적고 방추형의 핵을 갖고 있는 중간엽세포(짧은 화살표)와 원형, 다각형, 또는 방추형인 간질세포(긴 화살표)와 근모양세포(큰화살표머리) 및 혈관내피세포(작은화살표머리)를 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 고환 거세 30일령과 40일령 실험군의 흰쥐 고환 간질조직은 20일령의 고환에 비하여 간질세포와 중간엽세포의 크기가 커지고 혈관은 적게 관찰되었다. 그 이외의 세포형태는 20일령과 유사하였다(Fig. 1B, C). 고환 거세 50일령과 60일령 실험군의 흰쥐 고환 간질조직은 40일령의 고환에 비하여 간질세포의 크기가 감소되어 있었으며 중간엽세포와 혈관은 50일령에서 별다른 변화가 없었고 60일령에서는 그 수가 감소하였다. 또한 60일령에서 간질세포의 수도 감소되어 있었다. 그 외의 세포 형태는 기타 실험군과 유사하였다(Fig. 1D, E). 대조군 100일령의 흰쥐 고환 간질조직이 차지하는 비율은 실험군에 비해 낮게 나타났으며 얇은 혈관벽이 충분히 확장되어 있었고 간질세포의 크기는 실험군 거세 50일령과 유사하였다. 중간엽세포의 크기는 모

**Table 1.** Body and testis weights of control and hemicastrated rats

Age at hemicastration	Body weight (g)	Testis weight (g)
20 days	$308.1 \pm 12.4$	$1.66 \pm 0.01$
30 days	$345.3 \pm 10.6$	$1.76 \pm 0.07$
40 days	$331.9 \pm 10.6$	$1.72 \pm 0.03$
50 days	$324.5 \pm 19.1$	$1.60 \pm 0.05$
60 days	$333.1 \pm 14.2$	$1.71 \pm 0.11$
Control	$364.6 \pm 12.8$	$1.69 \pm 0.12$

Sprague Dawley rats were left intact (control) or were hemicastrated at 20, 30, 40, 50, or 60 days of age ( $n=18$  rats per group). At 100 days of age, all rats were sacrificed. Values are mean  $\pm$  SEM.

**Table 2.** Volume density of seminiferous tubules (ST), interstitium (IT) and Leydig cells in control and hemicastrated rats

Age at hemicastration	ST (%)	IT (%)	Leydig cells (%)
20 days	$80.8 \pm 1.5$	$19.2 \pm 1.5$	$2.53 \pm 0.1^*$
30 days	$86.1 \pm 0.9$	$13.9 \pm 1.1$	$2.08 \pm 0.1$
40 days	$84.7 \pm 1.5$	$15.3 \pm 1.2$	$2.06 \pm 0.2$
50 days	$85.3 \pm 1.8$	$14.7 \pm 0.9$	$1.78 \pm 0.2$
60 days	$87.1 \pm 2.1$	$12.9 \pm 2.1$	$1.67 \pm 0.1$
Control	$87.6 \pm 1.1$	$12.4 \pm 0.9$	$1.76 \pm 0.1$

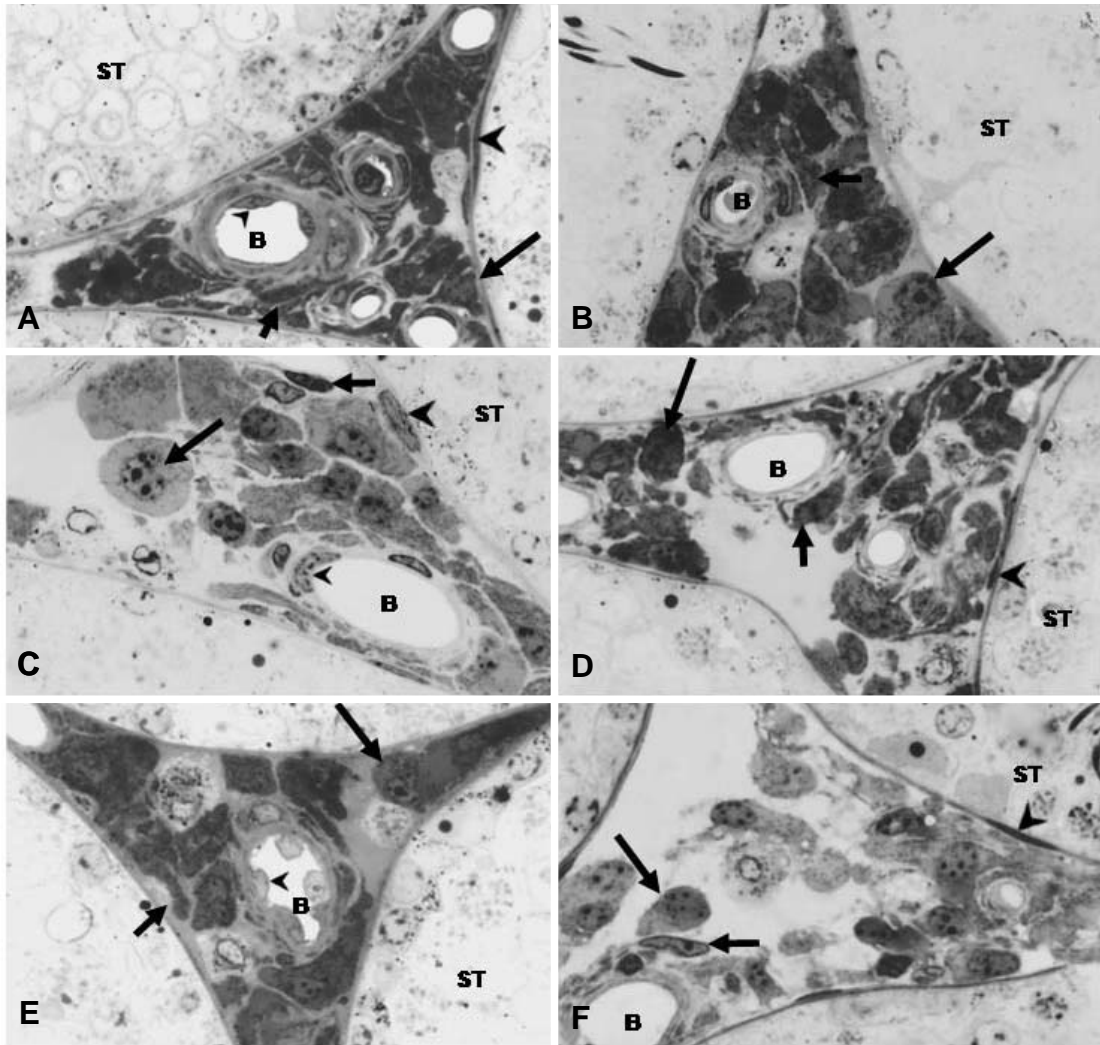
Vv% of a component = number of points on the component  $\times$  100 / total number of points on the testis tissue. Sprague Dawley rats were left intact (control) or were hemicastrated at 20, 30, 40, 50, or 60 days of age ( $n=8$  rats per group). At 100 days of age, all rats were sacrificed. Values are mean  $\pm$  SEM. Significantly different from the control:  $*P < 0.05$ .

든 실험군에서 보다 작았으며 림프공간의 비율도 낮았다(Fig. 1F).

### 3. 고환조직 구성물의 형태계측학적 관찰

#### 1) 고환조직 구성물의 용적치밀도

곱슬정세관의 용적치밀도는 대조군에서  $87.6 \pm 0.97\%$ 이며, 거세 20일령에서  $80.8 \pm 1.5\%$ 로 제일 낮았으며 30일령에서 증가한 후 거세 40일령에서  $84.7 \pm 1.48\%$ 로 감소하였고, 거세 60일령에서 제일 높았다(Table 2). 고환 간질조직의 대조군 용적치밀도는  $12.4 \pm 0.97\%$ 이고, 거세 20일령 ( $19.2 \pm 1.5\%$ )부터 거세 60일령 ( $12.9 \pm 1.97\%$ )까지 감소와 증가가



**Fig. 1.** Light micrographs of hemicastrated rats testis from 20 day (A), 30 day (B), 40 day (C), 50 day (D), 60 day (E), and 100 day (control, F). At 100 days of age, all rats were sacrificed. ST, Seminiferous tubules; B, Blood vessel; Long arrows, Leydig cells; Short arrows, mesenchymal cells; Large arrow heads, myoid cells; Small arrow heads, endothelial cells. All figures the same magnification ( $\times 1,000$ , methylene blue-azure II stain).

반복되었으며 모든 실험군이 대조군에 비해 높게 측정되었다(Table 2). 간질세포의 대조군 용적치밀도는  $1.76 \pm 0.16\%$  이었고, 거세 20일령에서 유의성 있게 증가하였으며 ( $P < 0.05$ ) 이외의 일령에서는 대조군과 비교하여 차이를 보이지 않았다(Table 2).

## 2) 고환조직 구성물의 절대용적

곱슬정세관 대조군 절대용적은  $1,465.4 \pm 16.6 \text{ mm}^3$ 으로 거세 20일령에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고 거세 30일령 및 40일령에서는 유의성 있게 증가하였다 ( $P < 0.05$ , Table 3). 간질조직 대조군 절대용적은  $209.6 \pm 16.6 \text{ mm}^3$ 이었고 거세

**Table 3.** Absolute volume of seminiferous tubules (ST), interstitium (IT) in control and hemicastrated rats

Age at hemicastration	ST (mm <sup>3</sup> )	IT (mm <sup>3</sup> )
20 days	1,260.4 ± 37.3*	299.6 ± 12.1*
30 days	1,543.3 ± 22.6*	244.6 ± 16.4*
40 days	1,556.8 ± 11.9*	263.1 ± 18.2*
50 days	1,401.8 ± 32.7	235.2 ± 15.8
60 days	1,489.4 ± 25.8	218.2 ± 22.1
Control	1,465.4 ± 16.6	209.6 ± 10.6

Sprague Dawley rats were left intact (control) or were hemicastrated at 20, 30, 40, 50, or 60 days of age (n=8 rats per group). At 100 days of age, all rats were sacrificed. Values are mean ± SEM. Significantly different from the control: \**P*<0.05.

**Table 4.** Absolute volume of blood vessel and Leydig cells in control and hemicastrated rats

Age at hemicastration	Blood vessel (mm <sup>3</sup> )	Leydig cell (mm <sup>3</sup> )
20 days	38.3 ± 5.3*	39.5 ± 4.9*
30 days	30.2 ± 2.6	36.6 ± 1.9*
40 days	32.5 ± 3.8	35.4 ± 2.6*
50 days	29.4 ± 2.1	28.5 ± 1.6
60 days	20.9 ± 4.4	28.5 ± 2.9
Control	25.3 ± 3.7	29.7 ± 2.7

Absolute volume of testicular component = volume density of the component × fresh testis volume. Sprague Dawley rats were left intact (control) or were hemicastrated at 20, 30, 40, 50, or 60 days of age (n=8 rats per group). At 100 days of age, all rats were sacrificed. Values are mean ± SEM. Significantly different from the control: \**P*<0.05.

20, 30 및 40일령에서 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다 (*P*<0.05, Table 3). 혈관의 절대용적은 대조군에서 25.3 ± 3.7 mm<sup>3</sup>이었고 20일령에서 유의성 있게 증가하였다 (*P*<0.05, Table 4). 간질세포 대조군 절대용적은 29.7 ± 2.7 mm<sup>3</sup>이었고 20, 30 및 40일령에 거세한 실험군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다 (*P*<0.05, Table 4).

3) 고환조직 당 간질세포의 총 숫자와 간질세포의 평균용적

고환조직 당 간질세포 총 숫자는 대조군에서 9.63 ± 0.36 × 10<sup>6</sup>이었고 거세 20, 30, 40 및 50일령에서 유의성 있게 증가하였다 (*P*<0.05, Table 5). 간질세포의 평균용적은 대조군에서 3079 ± 284 μm<sup>3</sup>이었고

**Table 5.** Total number and average volume of Leydig cells in control and hemicastrated rats

Age at hemicastration	Total number (× 10 <sup>6</sup> cells/testis)	Average volume (μm <sup>3</sup> )
20 days	24.27 ± 0.9*	2752 ± 117
30 days	23.91 ± 1.1*	3828 ± 358*
40 days	23.68 ± 1.4*	3920 ± 480*
50 days	21.22 ± 0.6*	3161 ± 224
60 days	20.64 ± 0.7	2746 ± 211
Control	19.63 ± 1.4	3079 ± 284

Total number = numerical density × fresh testis volume. Average cell volume = volume density / numerical density of each cell type. Sprague Dawley rats were left intact (control) or were hemicastrated at 20, 30, 40, 50, or 60 days of age (n=8 rats per group). At 100 days of age, all rats were sacrificed. Values are mean ± SEM. Significantly different from the control: \**P*<0.05.

**Table 6.** Serum testosterone levels and *in vitro* testicular testosterone production in response to LH in control and hemicastrated rats.

Age at hemicastration	Serum testosterone (ng/dL)	Testicular testosterone (ng/testis)
20 days	188.6 ± 14.8*	15,076 ± 1221
30 days	428.1 ± 29.2*	25,238 ± 1045*
40 days	393.6 ± 27.8*	23,332 ± 1678*
50 days	126.8 ± 10.2*	15,624 ± 1298
60 days	168.9 ± 13.4*	11,472 ± 1023
Control	304.5 ± 37.2	16,564 ± 1972

Sprague Dawley rats were left intact (control) or were hemicastrated at 20, 30, 40, 50, or 60 days of age (n=18 rats per group). At 100 days of age, all rats were sacrificed. Values are mean ± SEM. Significantly different from the control: \**P*<0.05.

고 거세 30 및 40일령에서 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다 (*P*<0.05, Table 5).

4. 혈청내 테스토스테론 농도와 황체형성호르몬 자극에 대한 고환내 테스토스테론 생성

혈청내 테스토스테론 농도는 대조군에서 304.5 ± 37.2 ng/dL이었고 거세 20, 50 및 60일령에서는 유의성 있게 감소하였으며 거세 30일령 및 40일령에서는 유의성 있게 증가하였다 (*P*<0.05, Table 6). 황체형성호르몬 자극에 대한 고환조직 당 테스토스테론 분비는 대조군에서 16,564 ± 1,972 ng/dL이었고 거세 30일령과 40일령에 각각 25,238 ± 1,517 ng/dL,

23,332±1,678 ng/dL로 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였으며( $P<0.05$ ) 그 이외의 일령에서는 차이를 나타내지 않았다(Table 6).

## 고 찰

한쪽 고환의 거세 혹은 한쪽 고환의 잠복고환 시술 후 고환을 구성하고 있는 곱슬정세관과 간질조직에 관한 형태계측학적인 연구는 흰쥐(Liang과 Liang 1970, Cunningham 등 1978, Kerr 등 1979, Parsa 등 1988, Furuya 1990), 소(Boockfor 등 1983), 돼지(Kosco 등 1989) 및 양(Mirando 등 1989) 등 각종 동물에서 폭 넓게 연구되었으나 본 연구에서 실험대상으로 한 Sprague-Dawley 흰쥐 거세 고환의 곱슬정세관, 간질조직 및 간질세포의 절대용적, 간질세포의 고환내 총 숫자 및 평균용적에 관한 결과는 아직까지 보고된 바가 없으며, 이러한 결과는 기타 거세 동물과는 여러가지 차이를 나타내었다. 특히, 간질세포의 형태계측학적인 결과가 많은 차이가 있음을 알 수 있었다.

Mirando 등(1989)의 보고에 의하면 성숙한 양 한쪽 고환 거세 150일 후 대조군 간질조직의 용적치 밀도와 절대용적은 각각  $17.4\pm 1.2\%$ 와  $33.8\pm 5.0\text{ cm}^3$ 이고 실험군의 절대용적은 각각  $14.0\pm 1.1\%$ 와  $41.4\pm 4.0\text{ cm}^3$ 이었다. 본 연구에서 흰쥐 20, 30, 40, 50 및 60일령에 한쪽 고환을 거세하여 100일령 때 측정할 결과 실험군이 대조군에 비해 용적치밀도와 절대용적이 모두 높게 관찰되어 거세한 양에서 절대용적이 대조군에 비해 증가한 것은 일치하였으나 용적치밀도에서는 상반되었다. 이런 차이점은 성 성숙 전 거세 혹은 성 성숙 후 거세 즉, 거세시기에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다.

흰쥐에서 고환조직 당 혈관이 차지하고 있는 절대용적은 일령에 따라서 증가한다(Ichihara 등 1993, Mendis-Handagama와 Gelber 1995). 그러나 3개월령의 흰쥐에서는 혈관의 내강이 100% 완전히 열려 있으나 6개월령부터 혈관 벽의 두께 증가로 인하여 혈관의 내강이 부분적으로 폐쇄되고 간질세포의 평

균용적 감소 및 테스토스테론 분비 감소 등이 나타나 흰쥐에서 6개월령부터 노화현상이 나타난다고 한다(Mendis-Handagama와 Gelber 1995). 흰쥐 성 성숙전에 한쪽 고환을 거세하고 성 성숙 후에 관찰한 고환조직 당 혈관이 차지하고 있는 절대용적은 대조군에 비해 모두 증가하며 이러한 원인은 고환 거세로 인한 안드로겐 분비의 자극에 의한 것이라고 한다(Furuya 1990). 본 연구에서는 거세 일령이 증가함에 따라 혈관이 차지하고 있는 절대용적은 점차 감소하는 양상을 보였으며 60일령을 제외한 다른 실험군은 대조군보다 높게 나타났다. 이러한 결과는 간질세포 절대용적의 변화 양상과 일치하였고 거세 20일령 실험군에서 간질세포의 평균용적 감소, 혈중 테스토스테론 농도 감소, 혈관 벽의 두께 증가 및 혈관 내강의 부분적 폐쇄현상 등으로 이루어 보아 어린 시기에 한쪽 고환을 거세하면 성숙 후 고환의 노화를 촉진하는 것으로 사료되고 추후에 고환거세와 노화사이의 상호연관성에 관한 연구를 진행하면 흥미로운 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

간질세포에서 분비되어 수컷생식기관의 발생과 기능을 조절하고 정자발생(spermatogenesis)의 개시와 유지에 중요한 기능을 담당하고 있는 테스토스테론(Saez 1994)은 간질세포의 발생과 밀접한 관련이 있으며 태자시기에는 그 농도가 높다고 한다(Lipsett과 Tullner 1965, Wilson과 Siiteri 1973). Mendis-Handagama 등(1988)에 의하면 테스토스테론의 분비능력은 간질세포의 수보다 간질세포의 크기에 의해서 좌우된다고 한다. 본 연구에서는 최근에 고환에서 흔히 적용하고 있는 형태계측학적인 기법을 적용하여 성 성숙 이전인 20, 30, 40 및 50일령에 거세하고 성 성숙 후에 간질세포의 숫자와 평균용적을 측정할 결과 30일령 및 40일령에서 유의성 있게 증가하였고 혈청내 테스토스테론 농도 또한 이 시기에 가장 높게 관찰되었다. 따라서 거세한 흰쥐에서 테스토스테론의 분비능력은 위의 보고자와는 달리 간질세포의 크기 및 숫자와 밀접한 관련이 있음을 확인하였고 성 성숙 즈음에 거세를 하면 성 성숙 후 보상작용으로 인한 고환간질세포의 비

대가 일어남을 알 수 있었다.

Moger (1977)은 흰쥐 성 성숙기 전에 한쪽 고환을 거세하여 25일후 혈중 테스토스테론의 농도를 측정할 결과 일령이 증가함에 따라 그 농도가 증가하였으나 대조군에 비해 낮은 값을 나타내며, 고환내 테스토스테론의 농도는 35일령까지 점차 증가하는 양상을 보이다가 45일령까지 감소한 후 다시 증가하는 양상을 보여 40일령부터 대조군보다 높은 농도를 유지한다. 본 연구에서 혈중 테스토스테론의 농도는 30과 40일령에 거세한 실험군에서 가장 높게 나타나 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였고 60일령에서는 가장 낮게 측정되어 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 황체형성호르몬 자극에 의한 고환내 테스토스테론의 농도는 혈중 테스토스테론 농도 변화 양상과 유사한 경향을 보여 30일령과 40일령 거세한 실험군에서 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. 이러한 결과와 형태계측학적인 결과를 결부시켜 보면 고환 내 간질세포의 용적치밀도, 절대용적은 거세 일령이 증가함에 따라 점진적으로 감소하는 양상을 보였으나 간질세포의 평균용적은 대조군에 비해 실험군 30, 40일령에서 높게 나타났는데 이러한 변화는 혈중과 황체형성호르몬 자극에 의한 고환내 테스토스테론의 농도 변화와 일치하였다.

본 연구에서 황체형성호르몬 자극에 의한 고환조직 당 테스토스테론 분비는 대조군에 비하여 30일령과 40일령에 거세한 실험군에서 유의성 있게 증가하였다. 이러한 결과는 간질세포가 황체형성호르몬 수용체를 갖고 있다는 보고(Bortolussi 등 1990, Saez 1994, Ariyaratne와 Chamindrani Mendis-Handagama 2000)에 비추어 볼 때 이 시기에 거세를 하면 성 성숙 후에 황체형성호르몬에 대한 수용체가 증가하거나 또는 황체형성호르몬에 대한 반응성이 증가하기 때문인 것으로 사료된다.

본 연구를 요약하면, 흰쥐에서 성 성숙 이전에 한쪽 고환을 거세하여 성 성숙후에 이르기까지 고환 간질세포의 형태계측학적인 변화 양상, 고환과 혈청내 테스토스테론 농도의 변화를 관찰한 결과 흰쥐에서 30일령과 40일령에 한쪽 고환을 거세하면 성

성숙후 간질세포의 보상작용이 있음을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- Ariyaratne HB, Chamindrani Mendis-Handagama S : Changes in the testis interstitium of Sprague Dawley rats from birth to sexual maturity. *Biol Reprod* 62: 680-690, 2000.
- Boockfor FR, Barnes MA, Kazmer GW, Halman RD, Bierley ST, Dickey JF : Effects of unilateral castration and unilateral cryptorchidism of the holstein bull on plasma gonadotropin, testosterone and testis anatomy. *J Anim Sci* 56: 1376-1385, 1983.
- Bortolussi M, Zanchetta R, Belvedere P, Colombo L : Sertoli and Leydig cell numbers and gonadotropin receptors in rat testis from birth to puberty. *Cell Tissue Res* 260: 185-191, 1990.
- Cunningham GR, Tindall DJ, Huckins C, Means AR : Mechanisms for the testicular hypertrophy which follows hemicastration. *Endocrinology* 102: 16-23, 1978.
- Ewing, LL, Zirkin, BR : Leydig cell structure and steroidogenic function. *Recent Prog Horm Res* 39: 599-635, 1983.
- Fawke L, Morris A, Brown PS : Effects of hemicastration and the subsequent administration of drugs in the mouse. *J Reprod Fertil*, 28: 177-183, 1972.
- Furuya T : Onset of compensatory hypertrophy of interstitial tissue and Leydig cells in rats hemicastrated around the time of puberty. *Biol Reprod* 42: 491-498, 1990.
- Howard HJ, Ford JJ : Relationships among concentrations of steroids, inhibin, insulin-like growth factor-1 (IGF-1), and IGF-binding proteins during follicular development in weaned sows. *Biol Reprod* 47: 193-201, 1992.
- Ichihara I, Kawamura H, Pelliniemi LJ : Ultrastructure and morphometry of testicular Leydig cells and the interstitial components correlated with testosterone in aging rats. *Cell Tissue Res* 27: 241-255, 1993.
- Kerr JB, Rich KA, De Kretser DM : Alterations of the fine structure and androgen secretion of the interstitial cells in the experimentally cryptorchid rat testis. *Biol Reprod* 20: 409-422, 1979.
- Kim IS, Ariyaratne HBS, Mendis-Handagama SM : Effects of continuous and intermittent exposure of lactating mother to Aroclor 1242 on testicular steroidogenic function in the

- adult male offspring. *Tissue Cell* 33: 169-177, 2001.
- Kim IS, Ariyaratne HBS, Mendis-Handagama SM : 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, 2002.
- Kittok RJ, Kinder JE, Johnson RK : Effect of castration on plasma luteinizing hormone concentrations in prepubertal boars. *J Anim Sci* 58: 1271-1277, 1984.
- Kosco MS, Bolt DJ, Wheaton JE, Loseth KJ, Carbo BG : Endocrine responses in relation to compensatory testicular growth after neonatal hemicastration in boars. *Biol Reprod* 36: 1177-1185, 1987.
- Kosco MS, Loseth KJ, Crabo BG, Wheaton JE : Development of the seminiferous tubules after neonatal hemicastration in the boar. *J Reprod Fertil* 87: 1-11, 1989.
- Land RB, Carr WR : Testis growth and plasma LH concentration following hemicastration and its relation with female prolificacy in sheep. *J Reprod Fertil* 45: 495-501, 1975.
- Lee MH, Jo WY, Kim SK : Studies on reappearance of thymus after orchidectomy in ageing rats. *Korean J Vet Res* 29: 223-229, 1989. (in Korean)
- Liang DS, Liang MD : Testicular hypertrophy in rats. *J Reprod Fertil* 21: 537-540, 1970
- Lipsett MB, Tullner WW : Testosterone synthesis by the fetal rabbit gonad. *Endocrinology* 77: 273-277, 1965.
- Lunstra DD, Wise TH, Ford JJ : Sertoli cells in the boar testis: changes during development and compensatory hypertrophy after hemicastration at different ages. *Biol Reprod* 68: 140-150, 2003.
- Mendis-Handagama SM, Gelber SJ : Signs of aging are apparent in the testis interstitium of Sprague Dawley rats at 6 months age. *Tissue Cell* 27: 689-699, 1995.
- Mendis-Handagama SM, Risbrider GP, De Krester DM : Morphometric analysis of the components of the neonatal and adult rat testis interstitium. *Int J Androl* 10: 525-534, 1987.
- Mendis-Handagama SM, Zirkin BR, Ewing LL : Comparison of components of the testis interstitium with testosterone secretion hamster, rat, and guinea pig testes perfused in vitro. *Am J Anat* 188: 12-22, 1988.
- Mirando MA, Hoagland TA, Woody CO, Riesen JW : The influence of unilateral castration on testicular morphology and function in adult rams. *Biol Reprod* 41: 798-806, 1989.
- Moger WH : Endocrine responses of the prepubertal male rat to hemiorchidectomy. *Biol Reprod* 17: 661-667, 1977.
- Ojeda SR, Ramirez VD : Plasma level of LH and FSH in maturing rats: response to hemigonadectomy. *Endocrinology* 90: 466-472, 1972.
- Ott KM, Mannen KA, Dinger JE, Hoagland TA, Woody CO, Riesen JW : Effects of unilateral castration on the physiological and morphological characteristics of stallion testes. *J Anim Sci* 59 (suppl 1): 355-356, 1984.
- Agee J, Parsa AC, Huntrakoon M : Morphologic response of rat Leydig cells to hemicastration. *Arch Androl* 20: 1-9, 1988.
- Russell LD, de Franca LR : Building a testis. *Tissue Cell* 27: 129-147, 1995.
- Saez JM : Leydig cell : endocrine, paracrine, and autocrine regulation. *Endocrine Rev* 15: 574-626, 1994.
- Umapathy E, Makinde M, Mandisodza KT : Effect of castration on serum concentrations of gonadal hormones, insulin-like growth factor-I and its binding proteins in male pigs. *Reprod Nutr Dev* 37: 541-549, 1997.
- Voglmayr JK, Mattner PE : Compensatory hypertrophy in the remaining testis following unilateral orchidectomy in the adult ram. *J Reprod Fertil* 17: 179-181, 1968.
- Wilson JD, Siiteri PK : Developmental pattern of testosterone synthesis in the fetal gonad of the rabbit. *Endocrinology* 92: 1182-1191, 1973.

**Abstract**

## **Morphometric Studies in the Leydig Cell of Hemicastrated Rats**

Dong-Choon Ahn<sup>1</sup>, Hyun-Jin Tae, Sung-Jin Na, Seok-Won Lee, Young-Deok Lee,  
Hyung-Sub Kang, Sang-Youel Park, Ki-Chang Lee, Hong-Hyun Yang, In-Shik Kim

*College of Veterinary Medicine, Bio-Safety Research Institute, 2nd Stage BK 21, Chonbuk National University,*

*<sup>1</sup>Department of Veterinary Medicine, Kangwon National University*

---

The present study was conducted to investigate the influence of hemicastration and age at hemicastration on the subsequent Leydig cell morphology and function of male rats.

Sprague Dawley rats were left intact or hemicastrated at 20, 30, 40, 50, or 60 days of age (n=18 rats per group). At 100 days of age, all rats were sacrificed. Testes were fixed by whole body perfusion using a fixative containing 2.5% glutaraldehyde in cacodylate buffer, processed and embedded in Epon-araldite. Using 1 µm sections stained with methylene blue, qualitative and quantitative morphological studies were performed. Testis incubations were used to determine lutenizing hormone (LH; 100 ng/mL) stimulated testosterone secretory capacity per testis in vitro. Testosterone levels in the incubation medium, and testosterone and LH levels in serum of these six groups of rats were determined by radioimmunoassay.

Body and testis weights were not changed by hemicastration between experimental and control groups. Volume density of seminiferous tubules, interstitium, and Leydig cells was not significantly affected by hemicastration. Absolute volume of seminiferous and interstitium was significantly increased in unilaterally castrated rats at 20, 30 and 40 days of age compared to control. Significant increases in the total number of Leydig cells per testis occurred in rats hemicastrated at 20, 30, 40 and 50 days of age compared to control. A significant increase in average volume of a Leydig cell was noted in the hemicastrated rats at 30 and 40 days compared to intact rats of the same age but was significantly decreased at 60 days of age. Serum testosterone levels and LH-stimulated testosterone production per testis were significantly ( $P < 0.05$ ) increased in the hemicastrated rats at 30 and 40 days.

In summary, when rats were unilaterally castrated at 20, 30, 40, 50, and 60 days of age, those rats hemicastrated at 30 and 40 days showed compensatory hypertrophy/hypersecretion of Leydig cells when killed at 100 days of age. Especially, these data suggested that compensatory hypertrophy/hypersecretion of Leydig cells in rats hemicastrated around the time of puberty occurs in the remaining testis.

---

**Key words :** Hemicastration, Rat, Leydig cell, Morphometry