

Alkylating agent가 생쥐 정소의 Sertoli Cell에 미치는 영향

정 해 만 · 조 광 필* · 김 정 상**

조선대학교 치과대학 인체생물학교실, *목포전문대학 물리치료과, **동신대학교 한의학과

Effects of Alkylating Agent on the Sertoli Cell of the Seminiferous Tubule in the Mouse

Jung, Hae Man, Kwang Phil Cho* and Jeong Sang Kim**

Dept. of Human biology, College of Dentistry, Chosun University

*Dept. of Physical Therapy, Mokpo Junior College

**Dept. of Oriental Medicine, Dongshin University

(Received July 8, 1996)

ABSTRACT

This paper aims to probe that the effect of high dose of cyclophosphamide to the Sertoli cells of the mouse was examined by transmission electron microscope.

In the normal group, Sertoli cells contact each other around the basal aspect of the seminiferous tubule, forming numerous row of tight junction, blood-testis barrier. Sertoli cells contain smooth endoplasmic reticulum, well developed Golgi complex, a number of round mitochondria and microfilament.

The cytoplasmic necrosis are observed from the 1-time treated group. In the 2-times treated group, smooth endoplasmic reticulum are more developed than normal group, but cisternae are partially dilated. In the 3-times treated group, the smooth endoplasmic reticulum are not developed.

In the 2-times treated group, the inner membrane of the mitochondria are partially disrupted, and cristae are all disrupted in the 3-times treated group.

The microfilaments are not observed in the all treated groups.

According to the results above, it seems that smooth endoplasmic reticulum, mitochondria, and microfilament are disrupted by toxic effects of the cyclophosphamide to the Sertoli cells of the mouse.

Key words : Sertoli cells, Seminiferous tubule, Cyclophosphamide

* 이 논문은 1994년도 조선대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

서 론

정세관의 Sertoli 세포는 정자형성시 중요한 생리적인 역할을 하며, 정세관을 두부분으로 나누는데 기계적인 역할을 한다 (Dym and Fawcett, 1970). 생리적 기능으로 anti-Mullerian hormone (Tran 등, 1977), androgen binding protein (Sanborn 등, 1975), inhibin (Steinberger와 Steinberger, 1976)과 estrogen (Armstrong 등, 1975) 등의 합성작용을 한다. 또한 식세포작용 (Black, 1971)과 정세포 세포질 잔사체 제거 역할을 한다 (Reddy and Svoboda, 1967).

포유동물의 Sertoli 세포는 정자형성동안 세포의 형태와 내부체제에 있어서 많은 변화를 겪게 된다. 즉, 특수 지역의 막성 세포질소기관의 축적, 세포의 확장, 세포사이 연결의 변화, 정단부 합입 등은 분화의 특수단계에서 정모세포들과 상호작용을 한다 (Clermont 등, 1980).

Sertoli 세포가 형성하는 장벽은 일부의 이온과 거대 분자들에 대한 구배를 형성하여 정자에서 생산되고 수송된 액체 조성을 조절한다 (Setchell 등, 1969; Setchell and Waites, 1975; Waites, 1977). Sertoli 세포는 장벽을 형성하여 일부 이온과 분자에 대한 농도구배를 형성하여 정자에 의하여 형성되고 수송되는 액체의 조성을 조절하게 된다 (Setchell and Waites, 1975; Waites, 1977). 한편 Sertoli 세포들은 정세관의 기저면에서 서로 접하여 수 많은 폐쇄띠 (tight junction)를 형성하는데 (Gilula 등, 1976; Russel and Peterson, 1985), 이들은 실험적으로 혈관내 주사된 electron-opaque tracers가 통과하는 것을 제한한다 (Fawcett 등, 1969; Dym and Fawcett, 1970). 이들 장벽에 의해서 제공된 넓은 접촉지역은 정모세포나 정세포에서 방출된 항원을 격리 시킨다 (Millette와 Bellve, 1977).

Sertoli 세포사이의 연결 지역은 피질 섬유사의 다발이 내세망의 편평한 수조와 연루되어 있는데 이것을 ectoplasmic specialization이라고 하였다 (Russell, 1981). Actin 섬유사는 이 부위에 육각형 다발로 배열되어 있으며 (Tyoma, 1976; Franke 등, 1978), NBD-phalloidin (Vogel와 Soucy, 1985)과 myocin probes (Tyoma, 1976)에 의하면 효과적으로 관찰할 수 있다.

사람에서 Sertoli 세포의 호르몬 조절에 대한 연구는

극소수에 불과하지만 흰쥐의 Sertoli 세포의 배양으로 부터 얻어진 결과는 사람을 포함한 모든 포유동물에서 일반적으로 타당하게 적용된다고 하였다 (Lipshultz 등, 1982). Hatier와 Grignon (1980)은 기능적인 발달과 함께 정상적인 형태적 특성의 점진적인 획득과의 상호관계를 위하여 자궁내에서 Sertoli 세포의 성숙과 사춘기 이전의 이데세포의 발생에 관하여 미세구조적인 연구를 수행하였다.

Cyclophosphamide (이하 'CP' 라고 함)는 alkylating agents로 alkyl화 반응에 의한 세포의 분열과 성장 및 대사기능을 억제하기 때문에 종양세포의 치료제로 사용되지만 (Genka 등, 1990) 정상세포에 독성을 야기시키는 부작용이 알려져 있다. Kerr와 Sharpe (1985)에 의하면 수정 억제제인 EDS (Ethylene dimethane sulfonate)는 Leydig 세포 뿐만 아니라 정세관에 존재하는 Sertoli세포의 기능에 영향을 미친다고 하였다. Hales (1981, 1982)에 의하면 생쥐에 CP를 과량 투여하면 정소의 무게가 감소하며, 정자 수가 줄어든다고 (Pacchieroti 등, 1983)하였다.

이제까지 CP가 정소에 미치는 연구들이 행하여 졌지만 정세관 내의 Sertoli 세포의 미세구조에 미치는 영향에 관한 연구가 거의 이루어지지 않아 이에 본 연구자들은 CP의 과량투여가 Sertoli 세포에 대한 세포 독성을 규명하기 위하여 미세구조적 변화를 투과형 전자현미경으로 관찰하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

체중이 약 30g 정도인 숫컷 생쥐 (ICR strain)를 사용하였다. 실험군은 정상군과 CP 투여군으로 나누었으며 각 실험군 마다 10마리씩 사용하였다. 투여약품은 cyclophosphamide (상품명 : cyclophosphamide monohydrate, 和光純藥 Co., 日製)를 사용하였으며, 실험기간중 사료 (제일사료)와 식수는 충분히 공급하였다.

2. 실험방법

1) CP 투여

CP를 주사용 증류수에 희석한 후 체중 1kg당 200mg를 복강내 투여 (1회 투여군)한 후 48시간 간격으로 2회

투여 (2회 투여군)와 3회 투여 (3회 투여군)하여 7일째에 모두 도살하였다.

2) 전자현미경 관찰

대조군과 실험군은 ethyl ether로 마취하여 흉곽을 열어 심장을 노출 시키고 주사 바늘로 좌심실을 통하여 먼저 heparin (2 I.U/ml)를 첨가한 생리식염수로 혈관을 세정한 후 우심방을 절개하여 유출케 하고 2.5% glutaraldehyde로 관류고정 시킨 다음 음낭을 절개하여 정소를 적출하였다. 정소를 1 mm³ 크기로 세절한 후 2.5% glutaraldehyde (phosphate buffer, pH 7.2)로 2시간 동안 전고정하였다. 전고정이 끝난 조직은 동일 완충액을 사용 10분 간격으로 3회 세척한 후 1% osmium tetroxide (OsO₄)로 2시간 후고정 한 다음 동일 완충액으로 3회 세척하였다. 세척후 시료들은 상승농도순의 에탄올로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 후 Epon-Araldite 혼합액으로 포매 하였고 60°C 오븐에서 30시간 중합시켰다. 포매된 조직들을 LKB-V형 ultramicrotome을 사용 1 μm 두께로 절편을 제작하여 1% methylene blue나 1% toluidine blue로 hot plate (60°C) 상에서 염색하였다. 염색된 시료를 광학현미경으로 관찰하여 조직을 확인한 다음 동일한 부위에서 50 nm 두께로 초박절편을 제작하여 cooper grid에 부착하였고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 다음 JEM 100 CX II 투과형 전자현미경 (80 KV)으로 관찰하였다.

결 과

정상군의 Sertoli 세포의 핵은 핵막이 불규칙한 형태를 하고 있거나 기저막과 인접한 곳에서 난원형으로 나타났다. 핵의 염색질은 대부분 진정염색질로 구성되어 있어 비교적 전자 밀도가 낮게 나타났다. Sertoli 세포 사이의 세포막 연결부위에서는 폐쇄띠가 있어 혈액-고환 관문 (blood-testis barrier)을 이루고 있었다. 핵 주변부 세포질에서는 무과립형질내세망이 매우 발달되어 있었으며, 구형의 사립체들이 다수 관찰되었다. 다수의 미세사들이 존재하였다. 자유면에서는 골지체들이 매우 발달되어 있었는데 이들 골지체에서 형성된 것으로 보이는 골지소포들이 다수 관찰되었다. 세포질 전반에 걸쳐 크고 작은 지방방울들이 나타났으며, 자유리보소체들이 세포

질 전반에 걸쳐 드물게 나타났다. 세포막 연결 부위에서는 전자밀도가 낮은 물질들을 함유하고 있는 크고 작은 소포들이 관찰되었다. 핵막 주변 세포질에서는 미세소관의 다발들이 관찰되었으며, 세포막과 인접하여 미세사들이 드물게 나타나기도 하였다 (Fig. 1과 2).

1회 투여군에서는 핵은 정상군과 유사한 소견을 보여주었으나 세포질 전반에 걸쳐 세포질의 괴사 현상이 나타나기 시작하였다. 특히, 커다란 pyknotic body가 Sertoli세포의 여러 곳에서 관찰되었다. 전자 밀도가 낮은 물질들을 함유한 크고 작은 소포들이 정상군에 비하여 증가하여 나타났으며, 다수의 골지소포로 사료되는 소포들이 세포막과 인접하여 나타났지만 골지체의 발달은 미약하였다. 혈액-고환 관문을 형성하고 있는 폐쇄띠는 정상군에 비하여 아주 짧고 불안정한 형태를 보여 주었다. 2차 용해소체들이 드물게 관찰되었고 커다란 지방방울과 작은 지방방울들이 세포질에서 고르게 나타나기도 하였다. Sertoli 세포의 세포막 인접 세포질에서 미발달된 과립형질내세망이 관찰되었다. 사립체들이 관찰되었지만 정상군에 비하여 그 수가 적었다 (Fig. 3과 4).

2회 투여군에서는 Sertoli 세포는 핵의 핵질과 염색질은 정상군과 유사한 소견을 보여주었으나 핵의 고유 형태인 핵막의 함입현상은 관찰되지 않았다. 핵주변 세포질에서 관찰된 무과립형질내세망은 정상군에 비하여 매우 발달되었으며, 그들의 내강은 다소 팽대되어 나타났다. 정상군에 비하여 소수가 관찰되는 사립체들은 그들이 내막을 구성하고 있는 크리스테가 불안정한 형태를 보여 주었을 뿐만 아니라 다소 파괴된 양상을 보여주었다. 중심원 상의 형태를 이루고 있는 무과립형질내세망이 발달되어 있었는데 그들이 내측과 외측에서는 크고 작은 지방방울들이 다수 관찰되었다. 세포질에서는 커다란 액포가 관찰되었으며 소수의 지방방울을 함유하고 있었다. 소수의 일차 용해소체들이 나타나기도 하였다 (Fig. 5와 6).

3회 투여군에서는 정상군에서 발달되어 나타났던 무과립형질내세망은 그들의 발달이 미약하게 나타났으며, 골지체들이 뚜렷한 형태를 나타내고 있었으나 정상군에 비하여 소수의 골지소포들이 관찰되었다. 세포질의 한 중앙에서는 커다란 액포가 관찰되었는데 액포막 일부가 파괴되어 나타났다. 크고 작은 지방방울들은 세포질 전반에 걸쳐 고르게 흩어져 있었다. 사립체들은 둥글게 나타났으나 내막의 대부분이 파괴되어 크리스테가 거의 관

찰되지 않았다 (Fig. 7).

고 찰

Sertoli 세포는 정세관의 기저막에서 자유면에 이르는 세포로서 그 모습은 매우 다양하며 발생 중인 많은 생식 세포들이 존재한다. 핵은 난원형이며 염색성이 약하고 핵소체는 뚜렷하다. 세포질에서는 무과립형질내세망, 사립체, 용해소체 결정소체, 미세사, 지방방울 등이 관찰된다. 지지세포들 사이의 세포 사이 연결은 50개 이상의 폐쇄띠들이 나란히 배치된 매우 견고한 복합 세포사이 연결 (compound intercellular junction)을 이루는데 이들 복합 세포사이 연결과 세포질안의 형질내세망은 서로 평행하며 이들 사이에는 미세사의 다발이 많이 존재한다. 복합세포사이 연결들은 세포들을 서로 강하게 연결시켜 혈액-고환 관문 (blood-testis barrier)을 이룬다. 이 관문을 경계로 곱슬정세관의 자유면 쪽은 내강부분 (adluminal compartment)이라고 하며 기저막 쪽은 기저부분 (basal compartment)이라 한다. 이 관문은 혈관으로 부터의 물질이동이 기저부분에서만 자유로이 이루어지고 내강부분에서는 물질이동이 선택적으로 이루어지도록 제한한다. 또한 이 관문은 혈액 속의 항체들이 곱슬정세관 (seminiferous tubule)의 내강부분에 이르지 못하도록 하고 지주세포의 분비물인 안드로젠 결합단백질 (ABP)의 농도가 내강쪽에 더 높도록 유지시킨다. 또 유전적으로 체세포와 다른 생식세포들을 전신면역계통에서 분리시켜 이들의 단백질이 생체에서 항원으로 작용하는 것을 막음으로써 곱슬정세관상피를 자가면역작용으로 부터 보호한다 (Lesson 등, 1988)

Sertoli 세포의 핵은 핵막이 깊이 함입되어 있는 것이 특징이며, 정세관의 벽에 대한 핵의 방향은 정세관 상피 세포의 주기동안 다르게 나타난다. 이러한 결과는 핵의 수준에서 세포질 섬유사에 의한 결과일 것이며 Sertoli 세포의 활성의 중요한 변화를 나타낸 것일 것이라고 했다. 핵막의 깊은 함입은 길게 확장되어 나타났으며 정소절편에서 Sertoli 세포의 특징으로써 쉽게 인식되었다. 그러한 핵막의 함입은 Sertoli 세포의 성숙동안에 발달되었으며 (Ramos and Dym, 1979; Haiter and Grignon, 1980), 혈청 gonadotropin의 정상적인 수준에 의존하였다 (Cameron and Markwald, 1975; Chemes

등, 1979). 이러한 사실들은 병든 정소나 혈청 testosterone 수준의 감소, 생화학적 상태로 testosterone에 대한 감수성 결여는 Sertoli 세포 핵의 함입이 축소되어 나타났다고 하였다 (Chemes 등, 1977; Nistal 등, 1982).

본 실험에서도 정상군의 핵은 핵막이 불규칙한 형태를 나타내고 있었으나 CP 2회 투여군과 3회 투여군에서는 핵막이 기저막에 가까이 부착된 형태를 보이면서 핵막의 함입 현상이 거의 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 CP 독성에 의한 영향이라고 사료되는데 핵의 형태변형에 대한 유전자 발현에 미치는 영향과 그 결과 Sertoli 세포의 기능변화에 대해서는 앞으로 더 연구를 해야 할 것이라고 본다. 또한 본 연구의 정상군에서는 무과립형질내세망이 발달되어있지만 CP의 투여 횟수가 증가 할수록 그들의 발달은 미약하게 나타났다. 이와 같은 결과는 testosterone의 합성저하 현상을 가져올 것이라고 사료된다.

Ghadially (1985)에 의하면 사립체의 내강이 확장되거나 내막과 외막이 분리되는 것은 삼투압의 변화에 따라서 세포질내의 물이 내강으로 유입된 결과라고 하였다. 본실험에서도 CP의 투여 횟수가 증가 할 수록 사립체의 파괴 현상이 뚜렷하게 나타났는데 그 결과 정상군보다 호흡능력이 저하 되었을 것으로 보인다.

정자형성시 Sertoli 세포의 actin 섬유사 패턴에서 변화는 생식세포 집단에 있어서 변화와 상호관계를 가지고 있으며 (Vogl and Soucy, 1985; Vogl 등, 1985), 미세소관은 Sertoli 세포에서 핵의 정단부 세포질에 집중되어 있는데 세포의 장축과 평행하게 배열되어 있다고 하였다 (Christensen, 1965; Fawcett, 1975; Wolosewick and De Mey, 1982). 이들은 세포형태를 유지하는 역할 (Fawcett, 1975; Russel 등, 1981; Vogl 등, 1983a, b) 그리고 세포질소기관의 이동을 용이하게 하고 (Fawcett, 1975; Vogl 등, 1983a, b) 정세관의 상피 세포내에서 정모세포들의 자리바꿈을 하게 하며 (Fawcett, 1975; Russel 등, 1981; Vogl 등, 1983a, b), 정세포 모양의 발달 (Fawcett, 1975; Handel, 1979; Vogl 등, 1983a, b), 세포잔사체의 위치선정 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서도 정상군에서는 미세소관의 다발들이 관찰되었으나 CP 투여군에서는 관찰할 수 없었다. 이것은

CP의 과량 투여에 의한 세포독성의 영향이라고 보며 그 결과 Sertoli 세포의 형태의 변화 및 핵의 변형과도 관계를 갖고 있는 것으로 보인다. 이상의 결과로 볼 때 CP의 세포독성에 의한 Sertoli 세포의 형태적 변화는 결국 정자형성과정에 영향을 미치게 될 것으로 보이며 이에 대한 연구는 앞으로 계속되어야 하리라 본다.

결 론

본 연구는 CP의 과량 투여가 정세관내의 Sertoli 세포에 미치는 영향을 규명하기 위하여 전자현미경으로 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

정상군 Sertoli 세포사이에서는 폐쇄체에 의하여 혈액-고환 관문을 이루고 있었다. 세포질소기관으로는 무과립형질내세망과 골지체가 발달되어 있으며, 구형의 사립체들과 다수의 섬유사들이 관찰되었다.

CP 투여 횟수가 증가할 수록 핵의 형태적 변화를 초래하였으며, CP 1회 투여군에서부터 세포질의 괴사현상이 나타나기 시작하였다. 특히 CP 2회 투여군에서는 무과립형질내세망이 정상군에 비하여 다소 발달되었으나 내강이 부분적으로 팽대되어 있었다. CP 3회 투여군에서는 그들의 발달이 미약하게 나타났다. 사립체들은 CP 2회 투여군에서부터 그들의 내막이 다소 불안정한 형태로 관찰되며 CP 3회 투여군에서는 Cristae의 대부분이 파괴되어 나타났다. 핵주변에서 관찰되었던 미세섬유사는 처치군에서는 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 볼때 미세섬유사, 무과립형질내세망, 사립체 등 세포질소기관의 파괴현상은 CP의 세포독성에 의한 결과로 보인다. Sertoli 세포의 손상결과에 의한 정자형성과정에 미치는 영향에 대해서는 앞으로 더 연구할 필요가 있다고 사료된다.

REFERENCES

- Armstrong DT, Moon YS, Fritz IB, Dorrington JH, 1975. Synthesis of estradiol 17 β by Sertoli cells in culture: stimulation by FSH and dibutyryl cyclic AMP. In: French FS, Hanson V, Ritzen EM, Nayfeh SN (eds), Hormonal regulation of spermatogenesis. Plenum Press, New York, pp. 85-96
- Black VH, 1971. Gonocytes in fetal guinea pig testis: phagocytosis of degenerating gonocytes by Sertoli cells. *Am. J. Anat.* 131, 15-425
- Cameron DF, Markwald RR, 1975. Histochemical and ultrastructural observations on normal and follicle stimulating hormone-injected prepubertal rat Sertoli cells. In: Hormonal regulation of spermatogenesis. F.S. French, V. Hansson, E.M. Ritzen, and S.N. Nayfeh, eds. Plenum Publishing Corp., New York, pp. 479-493
- Chemes HE, Dym M, Fawcett DW, Javadpour, N, Sherins RJ, 1977. Pathophysiological observations of Sertoli cells in patients with germinal aplasia or severe germ cell depletion. Ultrastructural findings and hormone levels. *Biol. Reprod.* 17, 108-123
- Clermont Y, McCoshen J, Hermo L, 1980. Evolution of the endoplasmic reticulum in the Sertoli cell cytoplasm encapsulating the head of late spermatids in the rat. *Anat. Rec.* 196, 83-99
- Dym M, Fawcett DW, 1970. The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentation of the seminiferous epithelium. *Biol. Reprod.* 3, 308-326
- Fawcett DW, 1975. Ultrastructure and function of the Sertoli cell. In: Handbook of Physiology; Section 7, Endocrinology; Vol. 5, Male Reproductive System. R.O. Greep, ed William and Wilkins, Baltimore, pp. 21-25
- Franke WW, Grund C, Schmid E, 1979. Intermediate-sized filaments present in Sertoli cells are of the vimentin type. *Eur. J. Cell Biol.* 19, 269-275
- Genka S, Deutsch J, Stahle PL, Shetty UH, John VC, Robinson, Rapoport SI, Greig NH, 1990. Brain and plasma pharmacokinetics and anticancer activities of cyclophosphamide and phosphamide mustard in the rat. *Cancer, Chemother. Pharmacol.* 27(1), 1-7
- Ghadially FN, 1985. Diagnostic electron microscopy of tumors, 2nd edition, London, Butterworths.
- Gilula NB, Fawcett DW, Aoki A, 1976. The Sertoli cell occluding junction and gap junctions in mature and developing mammalian testis. *Dev. Biol.* 50, 142-168

- Hales BF, 1982. Comparison of the mutagenicity and teratogenicity of cyclophosphamide and its active metabolites, 4-hydroxy cyclophosphamide mustard, and acrolein. *Cancer Res.* 42, 3016-3021
- Hatier R, Grignon G, 1980. ultrastructural study of Sertoli cells in rat seminiferous tubules during intrauterine life and the postnatal period. *Anat. Embryol.* 160, 11-28
- Handel MA, 1979. Effects of colchicine on spermiogenesis in the mouse. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 51, 73-83
- Kerr JB, Sharpe RM, 1985. Stimulatory effect of follicle-stimulating hormone on rat Leydig cells. A morphometric and ultrastructural study. *Cell Tissue. Res.* 239, 405-415
- Lesson TS, Lesson CRL, Parparo AA, 1988. Atlas of histology: The male reproductive system. Saunders press, pp.639-644
- Lipshultz LI, Murthy L, Tindall DJ, 1982. Characterization of human Sertoli cells in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55, 228-237
- Millette CF, Bellv AR, 1977. Temporal expression of membrane antigens during mouse spermatogenesis. *J. Cell Biol.* 74, 86-97
- Nistal M, Paniasua R, Abaurrea MA, Santamaria L, 1982. Hyperplasia and the immature appearance of Sertoli cells in primary testicular disorders. *Hum. Path.* 13, 3-12
- Pacchieroti F, Bellicampi D, Civitareale D, 1983. Cytogenetic observations in mouse secondary spermatocytes on numerical and structural aberrations induced by cyclophosphamide in various stages of spermatogenesis. *Mutat. Res.* 119, 177-183
- Ramos AS, Dym M, 1979. Ultrastructural differentiation of rat Sertoli cells. *Biol. Reprod.* 21, 909-922
- Reddy KJ, Svoboda DJ, 1967. Lysosomal activity in Sertoli cells of normal and degenerating seminiferous epithelium of rat testis. An Ultrastructural and biochemical study. *Am. J. Pathol.* 51, 1-17
- Russel LD, Malone JP, MacCurdy DS, 1981. Effect of the microtubule disrupting agents, colchicine and vinblastine, on seminiferous tubule structure in the rat. *Tissue Cell* 13, 349-367
- Russel LD, Peterson RN, 1985. Sertoli cell junctions: Morphological and functional correlates. *Int. Rev. Cytol.* 94, 177-211
- Sanborn BM, Elikington JSH, Steinberger A, Steinberger E, 1975. Androgen binding in the testis: in vitro production of androgen binding protein (A.B.P.) by Sertoli cells cell culture and measurement of nuclear bound androgen by nuclear exchange assay. In: F.S. French, V. Hansson, E.M. Ritzen, S.N. Nayfeh (eds) Hormonal regulation of spermatogenesis. Plenum Press, New York, pp.293-309
- Setchell BP, Waites GMH, 1975. The blood-testis barrier. In: handbook of physiology, Sec. 7. Vol. 5. D.W. Hamilton and R.O. Greep, eds. American Physiological Society, Washington, D.C., pp.143-172
- Steinberger A, Steinberger E, 1976. Secretion of an FSH inhibiting factor by cultured Sertoli cells. *Endocrinology* 99, 918-921
- Steinert PM, Jones JCR, Goldman RD, 1984. Intermediate filaments. *J. Cell Biol.* 99, 22-27
- Toyoma Y, 1976. Actin-like filaments in the Sertoli cell junctional specializations in the swine and mouse testis. *Anat. Rec.* 186, 477-492
- Tran D, Meusy-Dessolle N, Josso N, 1977. Antimüllerian hormone is a functional marker of fetal Sertoli cells. *Nature* 269, 411-412
- Waites GMH, 1977. Fluid secretion. In: The testis, Vol. IV. A.D. Johnson and W.R. Gomes, eds. Academic press, New York, pp.91-123
- Vogl AW, Soucy LJ, 1985. Arrangement and possible function of actin filament bundles in ectoplasmic specialization of ground squirrel Sertoli cells. *J. Cell Biol.* 100, 814-825
- Vogl AW, Lin YC, Dym M, Fawcett DW, 1983a. Sertoli cells of the golden-mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*): A model system for the study shape change. *Am. J. Anat.* 168, 83-98
- Vogl AW, Linck RW, Dym M, 1983b. Colchicine-induced changes in the cytoskeleton of the golden-mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*) Sertoli cells. *Am. J. Anat.* 168, 99-108
- Vogl AW, Soucy LJ, Lew GJ, 1985. Distribution of actin in isolated seminiferous epithelia and denuded tubule walls of the rat. *Anat. Rec.* 213, 63-71

FIGURE LEGENDS

- Figs. 1, 2.** Electron micrographs of the Sertoli cells in the seminiferous epithelium of the normal mouse. A number of mitochondria (M) are observed in the cytoplasm. The smooth endoplasmic reticulum (sER) and Golgi complexes (G) are well developed. Note tight junction (large arrow) and microfilaments (small arrows). BM, basement membrane; N, nucleus; V, vacuole. Scale bar=1 μ m.
- Figs. 3, 4.** Electron micrographs of Sertoli cells 1-time treated with cyclophosphamide. Pyknotic body (PY) is prominent. Electron lucent vesicles are more greater than normal group. Tight junction (arrow) is diminished than normal group. L, lipid droplet; M, mitochondria; N, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum. Scale bar=1 μ m.
- Figs. 5, 6.** Electron micrographs of the Sertoli cells 2-times treated with cyclophosphamide. Concentric profiles of endoplasmic reticulum (C-ER) and lipid droplets are characteristic of Sertoli cells during 2-times treated with CP (Fig. 5). Electron micrographs are showing delated smooth endoplasmic reticulum (sER) in the upper side of nucleus (N). Scale bar=1 μ m.
- Fig. 7.** Electron micrograph of the Sertoli cell 3-times treated with cyclophosphamide. Electron lucent large vesicles (V) are observed in the central portion of the cytoplasm. The cristae of mitochondria are scarcely observed. Scale bar=1 μ m.







