

한우 Sertoli 세포의 주사전자현미경적 연구

이성호¹ · 박영석
공주문화대학 애완동물과

Scanning Electron Microscopic Study of the Sertoli Cell in the Korean Native Bull

Seong-ho Lee¹ and Young-seok Park

Department of companion animal, Kongju national culture college

ABSTRACT : The three-dimensional structure of the Sertoli cell in the Korean native bull was investigated by scanning electron microscopy. Morphologically, four types of Sertoli cell processes were evident: 1) sheet-like processes, 2) sleeve-like processes, 3) bough-like processes and 4) finger-like processes. The sheet-like processes rested upon more than half of the surface of each spermatogonia, spermatocyte and spermatid. Sleeve-like processes, bough-like processes and finger-like processes are observed in the middle and apical portion of seminiferous tubule. All Sertoli cell processes are originated from Sertoli cell column. Just before spermiation, the apical sheet-like processes are shifted from their position at the spermatid head, and bough-like processes covered the disengaged residual body, after which the residual body was no longer evident in the tubule. Though the mechanism for this elimination is not known, the process suggests a reciprocity between the Sertoli and germ cells.

Key words : Bull, Sertoli cell, Process, SEM

서 론

수컷 생식기관인 고환의 곱슬정세관은 정조세포에서 분화되어 정자세포를 형성하는 정자 발생과정과 정자세포의 변태가 이루어지는 정자 형성과정이 끊임없이 이루어지고 있다. 정자발생 및 정자 형성과정에서 Sertoli 세포는 곱슬정세관을 지지하며, 각각의 정세포들이 분화하고 변태과정을 거치는 동안에 영양을 공급하고, 내강으로 정자세포의 이동을 도우며, 정자형성에 필요한 물질과 호르몬등을 분비하고 불필요한 물질들을 처리한다고 알려져 있다.^{1,10,12}

이러한 Sertoli 세포에 대해 Nagano⁸가 투과전자현미경(transmission electron microscope; TEM)을 이용하여 Sertoli 세포와 정자세포 사이의 상관적 구조물인 Sertoli 세포돌기에 대한 미세구조를 최초로 보고한 이래, Sertoli 세포 돌기가 정자세포질에 침입하여 상호물질을 교환하며^{7,16}, tubulobulbar complex가 정자세포를 Sertoli 세포에 고정시키고^{10,11}, Sertoli 세포 돌

기에 의해 형성된 canal complex는 불필요한 정자세포질인 잔류체를 제거한다고 알려져 있다.^{14,15}

또한 Gravis²는 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 Syrian 햄스터의 Sertoli 세포돌기에 대한 3차원적 구조를 보고하였으며, Wong과 Russell¹⁸, Weber *et al.*¹⁷과 Russell *et al.*¹²은 쥐와 원숭이의 Sertoli 세포를 100 nm 두께의 연속절편을 제작하여 TEM으로 관찰하고 이를 토대로 하여 Sertoli 세포를 3차원적으로 재구성하였다. Hamasaki와 Murakami⁴는 SEM을 이용하여 쥐의 Sertoli 세포 돌기를 3종류의 primary 돌기와 basolateral 돌기¹⁴로 구분하고 3차원적인 구조와 연관성에 관해 보고한 바 있으며, Park *et al.*¹⁵은 개의 Sertoli 세포를 1 μm 두께의 연속절편을 제작하고 관찰한 2차원적인 윤곽을 3D 컴퓨터 프로그램을 이용하여 Sertoli 세포를 3차원 영상으로 재구성한 바 있다. 하지만 이러한 연구에도 불구하고 동물종에 따른 Sertoli 세포의 3차원적인 연구는 많지 않은 상태이다.

본 연구는 일련의 정자형성과정에 중요한 역할을 하는 Sertoli 세포 및 돌기와 연관된 각종 정세포에 대한 삼차원적인 연관성에 대한 심도있는 기초자료를

¹Corresponding author.

얻기 위해 한우를 대상으로 실시하였다.

재료 및 방법

외견상 건강하고 성성숙한 1년 6개월에서 2년생 한우 4마리의 고환을 도축장에서 적출하여 실험에 사용하였다. 적출된 고환은 2×3×5 mm로 세절한 후 3% glutaraldehyde(0.1 M phosphate buffer, pH 7.2)로 24시간 동안 침지 고정하였으며, 고정된 시료는 8% saccharose가 첨가된 0.1 M phosphate buffer(PB)로 세척하였다. 세척한 고환 시료는 8 N hydrochloric acid 용액으로 60°C에서 20분에서 40분 동안 처리하여 불필요한 조직세포를 분쇄하여 제거하였다⁵. 불필요한 조직세포가 제거된 시료는 같은 PB로 세척한 후 초음파세척기를 이용하여 10분 동안 물리적인 세척을 실시하였다. 세척된 조직은 1% osmium tetroxide로 2시간 동안 후고정하였다. 고정된 시료는 알콜로 탈수하고 isoamyl acetate로 20분씩 3회에 걸쳐 치환한 후 hexamethyldisilazane(HMDS, Lancaster Synthesis)으로 30분씩 두 번 처리하여 건조시켰다. 건조된 시료는 gold로 코팅한 후 주사전자현미경(Jeol, JSM-5310LV, Japan)으로 15 kV 전압하에서 관찰하였다.

결 과

한우의 정세관은 원형에 가까운 형태이며 기저막을 중심으로 기저부위, 중간부위 및 첨단부위로 분류되었다. 기저부위의 기저층에는 Sertoli 세포와 정조세포가 부착되어 있었으며, 기저부위 상부는 정모세포들이 부착되어 있었다. 중간부위는 기저부에서 내강으로 이동하는 일부 정모세포와 원형 정자세포 및 장축성장한 정자세포들이 Sertoli 세포 column 및 돌기와 연관되어 있었다. 첨단부위는 성숙한 정자세포가 내강으로 완전히 빠져나가 원형정자세포군만으로 구성되거나, 장축성장한 정자세포와 잔류체가 산재되어 있었다(Fig 1).

Sertoli 세포는 기저층에 부착되어 내강으로 뻗어 있는 원통모양을 하고 있었으며 부위에 따라서 Sertoli 세포 column으로부터 돌출된 여러 형태의 돌기들이 각종 정세포와 연관성을 맺고 있었다.

정세관 기저부위에는 주로 타원형의 정조세포와 둥근모양의 일부 정모세포들이 Sertoli 세포질에 묻혀있는 형태를 관찰할 수 있었다. 본 실험에서 사용된 8 N hydrochloric acid 용액으로 60°C에서 수침분 동안 처리한 후, 초음파 세척기를 이용하여 10여분 동안 물

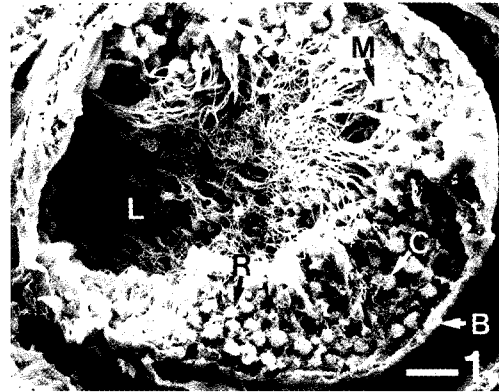


Fig 1. The hole configuration of the convoluted seminiferous tubule in the Korean native bull. Spermatocyte (C) and round spermatid (R) are attached to the middle portion. The maturation spermatids (M) are located in the apical portion. B: basal lamina, L: lumen. Bar is 20 μ m.



Fig 2. Some spermatocytes are more easily exfoliated (arrow head) from the basal upper portion of Sertoli cell column than the apical portion by the maceration. SH: sheet-like process, BL: bough-like process. Bar is 5 μ m.

리적인 조직의 분쇄(maceration)에 의해 기저부위 상부에 존재하는 일부 정모세포들이 다른 정세포보다도 쉽게 탈락 된 것이 관찰되었다(Fig 2).

정조세포가 탈락된 부위에서 관찰된 Sertoli 세포 돌기는 Sertoli 세포 column에서 돌출되었으며, 형태는

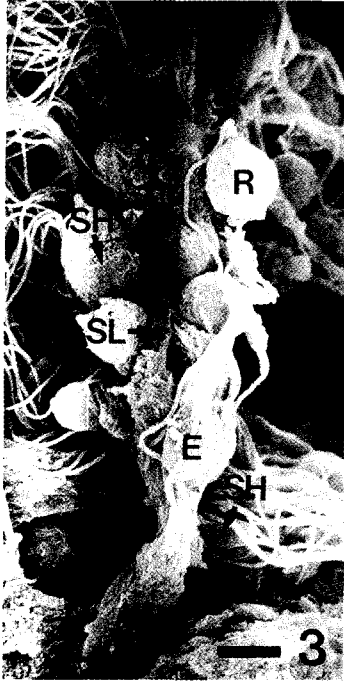


Fig 3. Round spermatid (R) and elongated spermatid (E) embedded in the middle portion. Sheet-like process (SH) and sleeve-like process (SL) are wrapped around the surface of spermata. Bar is 5 μ m.

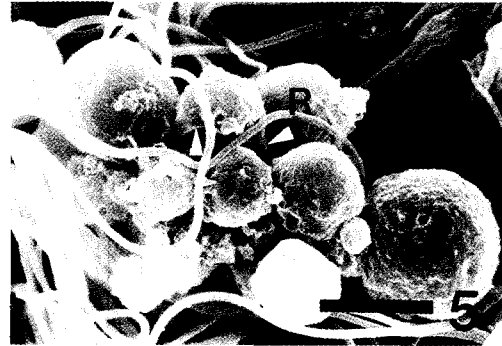


Fig 5. The border (arrowhead) of sheet-like process which is wrapped around the surface of round spermatid (R) is simple. Bar is 5 μ m.

포 및 장축성장 중인 정자세포의 두부가 Sertoli 세포 column과 여기에서 돌출된 여러형태의 돌기들에 둘러싸여 있었다(Fig 3).

정모세포와 원형정자세포 및 장축성장중인 정자세포와 연관된 돌기들은 돌기의 형태에 따라 소매모양 돌기(sleeve-like process)와 가지모양돌기(bough-like process)로 구분하였다(Fig 2-5). 소매모양돌기는 마치 팔뚝을 감싸는 옷 소매처럼 얇은 판상으로 Sertoli 세포 column에서 단일하게 형성되었으며, 가지모양돌기는 Sertoli 세포 column에서 한가닥 또는 그 이상으로 돌출된 약간 두꺼운 돌기가 Sertoli 세포 중심부에서 떨어질수록 분리되고 가지가 쳐져서 마치 늘린 나무 가지 모양이었다.

침단부위에서는 장축성장을 끝낸 성숙한 정자세포가 내강면에 배열된 정세관이나 성숙정자가 이출된 직후 새로 형성된 원형정자만이 배열된 정세관 및 원형정자와 장축성장하는 정자세포가 혼재되어 있는 정세관이 관찰되었다. 장축성장을 끝낸 성숙한 정자세포의 두부는 Sertoli 세포 column에서 분지한 종이모양돌기에 의해 둘러싸여져 있었다. 이 종이모양돌기들은 정자이출이 가까워질수록 정자세포 두부를 둘러싸는 비율이 낮아져서, 처음에는 정자세포 두부의 1/2 정도를 감싸고 있다가 이출직전에는 두부의 1/4 정도만 감싸고 있었다(Fig 6-8). 또한 정자이출시 불필요한 정자세포질은 잔류체를 형성하였으며, 이 잔류체는 정자세포의 목부분에서 잔류체경(stalk)으로 연결되어 있었다. 이 시기에서 대부분의 정자세포 잔류체는 Sertoli 세포질내에 묻혀있었으며, 일부 내강으로 돌출된 잔류체 부위는 나무뿌리의 넝쿨처럼 형성한 수많은 가지모양돌기에 의해 둘러싸여 있었다(Fig 8).

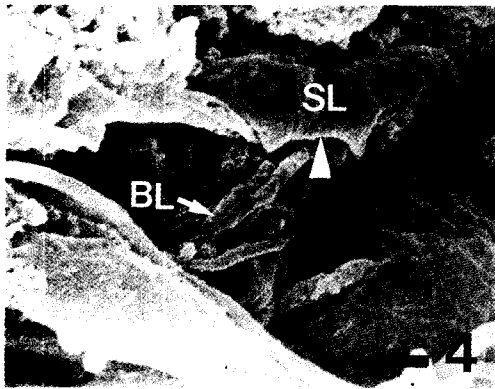


Fig 4. In the middle portion of the Sertoli cell. There are flat and ramified bough-like process (BL) which are projected from the Sertoli cell column. The border (arrowhead) of a sleeve-like process (SL) is simple. R: round spermatid. Bar is 1 μ m.

다른 돌기에 비해 얇으며 넓은 종이모양 돌기(sheet-like process)로 구분되었다.

정세관 중간부위에는 일부 정모세포와 원형 정자세

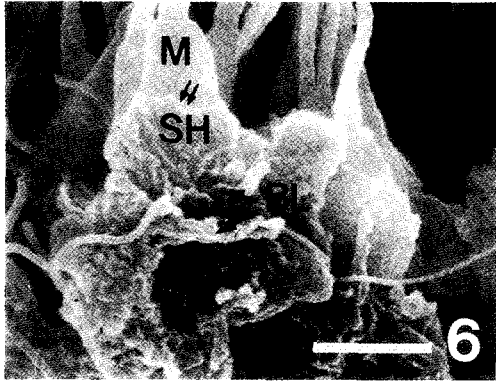


Fig 6. Sheet-like process (SH) with a simple border (twin arrow) is surrounded half of the spermatid head. A bough-like process (BL) is project from sheet-like process as well as the Sertoli cell column. Bar is 5 μ m.

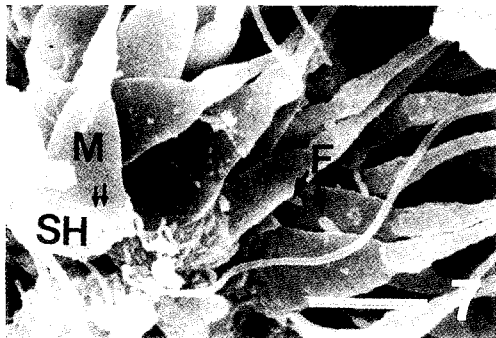


Fig 7. Sheet-like process (SH) is wrapped around quarter of the spermatid head (M). F: finger-like process, twin arrow: the simple border of sheet-like process. Bar is 5 μ m.

장축성장한 정자세포 두부의 표면은 매끈하였으며, 일부 정자세포 두부에 납작하고 다른 돌기에 비해 길이가 짧은 손가락모양돌기(flat finger-like process)들이 부착된 것을 관찰할 수 있었다(Fig 7).

성숙한 정자세포 두부를 감싸고 있는 종이모양돌기의 가장자리는 단순하였으며, Sertoli 세포 column 부위쪽으로 내려올수록 많은 수의 납작한 손가락모양돌기들과 넝쿨을 형성한 수많은 가지모양돌기들이 관찰되었다.

고 찰

Sertoli 세포는 여러 형태의 수많은 세포돌기기를 가진 나무모양의 불규칙한 원주형태로 정세관의 기저부

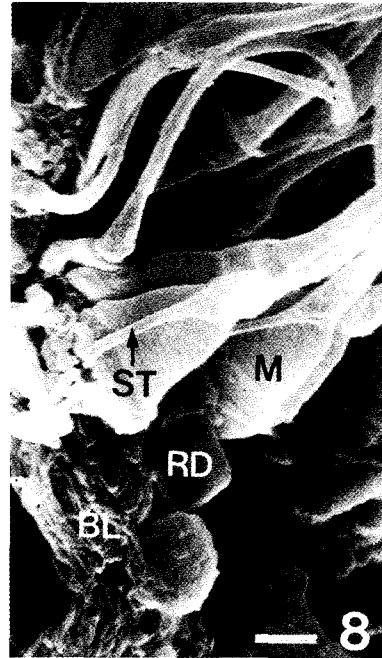


Fig 8. Bough-like processes are entwined and enclosed around the severed residual body (RD). Some residual body stalks (ST) are severed. M: maturation spermatid. Bar is 5 μ m.

위로부터 내강으로 향하며, 정자발생 및 정자형성과정에 있어 정자가 완성되기까지 필요한 영양의 공급, 노폐물의 제거 등 매우 중요한 역할을 하는 세포이나, 3차원적인 형태학적 연구는 별로 알려져 있지 않다. 본 연구는 한국 재래 한우를 대상으로 Sertoli 세포와 각 정세포의 상관관계에 대한 심도 있는 연구를 위해 시도하였다.

이전의 투과전자현미경과 주사전자현미경을 이용한 연구결과에서 Syrian 햄스터², 쥐^{4,18}, Shiba 산양⁵, 원숭이¹² 그리고 개⁹의 Sertoli 세포 돌기 형태는 종에 따라 다르다는 것이 보고되었다. Gravis²³는 햄스터에서 정자형성 과정별로 나타나는 Sertoli 세포 돌기들이 성숙정자세포 꼬리부위와 두부를 소매모양의 Sertoli 세포로 감싸며, 소매형태돌기로 분리되며, 부속돌기는 정자이출 중 Sertoli 세포의 등부분에서 확장되어 정자이출후 회변될 때까지 길어지는 등, 정자형성과정에서 Sertoli 세포와 돌기의 중요성을 강조하였다. Hamasaki와 Murakami⁴는 쥐의 Sertoli 세포 돌기를 기본돌기인 가지모양, 종이모양, 소매모양 그리고 띠모양 돌기의 4개형으로, 침단부위에서는 가지처

진 덩굴의 형태로 분류하였으며, Kurohmaru와 Nishida⁵는 Shiba 산양의 정자세포 표면은 가지쳐진 Sertoli 세포돌기로 싸여 있다고 하였다.

본 연구결과에서 한우 Sertoli 세포 돌기는 Sertoli 세포 column에서 유래된 종이모양돌기, 소매모양돌기, 가지모양돌기 및 손가락모양돌기로 분류할 수 있었다. 비록 본 연구결과에서 돌기의 이름을 기존의 연구자들이 사용한 용어를 사용하였지만, 형태적인 차이는 인정되었다. 본 연구결과에서 성숙한 정자세포 두부를 둘러싸는 가장자리가 평활한 종이모양 돌기였지만 이 돌기면에서 가지모양 돌기가 다시 돌출되었으며, 손가락모양의 돌기를 형성하여 정자세포 두부를 감싸는 형태를 관찰할 수 있었다. 가지모양 돌기와 손가락모양 돌기는 개¹⁵에서 곤봉모양 돌기, Shiba 산양⁵에서 가지쳐진 돌기, 쥐⁹의 흡판 및 곤봉모양 돌기들과 기능면에서 비슷하리라 추측된다. 즉, 이들 돌기는 중간부위 및 첨단부위 등에 위치한 장축성장 및 성숙 정자세포 두부 부분에 분포되어 있어서 각종 정세포와 물질교환에 필요한 통로역할과 물리적으로 정세포들을 정세관 Sertoli 세포 column에 붙잡아 매어두는 역할^{6,7,10,13-16,20}을 수행하리라 사료된다. 정자이출 직전의 정자세포 두부는 매끈한 상태에서 이전 단계에 나타난 손가락모양돌기나 가지모양돌기 들은 관찰되지 않았으며, 정자세포질은 잔류체로 Sertoli 세포질에 남겨지며 잔류체경을 형성하여 정자세포 목부분과 연결되고 있었다. Sertoli 세포질에 묻혀있는 잔류체는 Sertoli 세포의 가지모양돌기 돌이 모여 넝쿨모양을 형성하면서 잔류체를 감싸는 형태가 관찰되어, 개의 Sertoli 세포 곤봉모양 돌기의 기능¹⁵과 같이 잔류체 제거에 관여하는 것으로 생각된다.

또한 기저부위에서 첨단부위까지 뻗어 있는 Sertoli 세포 column에 부착된 각종 정세포들과 Sertoli 세포와의 결합력을 알아보기 위해서 화학적 및 물리적인 조직분쇄를 시도하였다. 이 결과에서 각종 정세포들은 부위와 정세포의 종류에 따라서 Sertoli 세포와의 결합력이 차이를 보여주었다. 즉 기저부위 상부에 분포한 일부 정세포는 다른 부위에 존재하는 정세포 및 정자세포들 보다 Sertoli 세포와의 결합력이 적어 조직분쇄에서 쉽게 탈락되었다. 이는 돌기의 분포에서도 예측될 수 있는 결과였다. 즉 기저부위에는 주로 종이모양돌기 돌이 관찰되었으나, 중간부위 및 첨단부위에서는 가지모양돌기, 소매모양돌기 돌이 각종 정세포를 단단히 감싸고 있었다. 이렇게 기저부위 상부의 결합력이 중간부위 및 첨단부위 보다 약함으로써 기저부위에 위치하는 정세포가 분열하여 생긴 1

차 정세포가 중간부로 쉽게 이동될 수 있으리라 사료된다^{4,9,17,19}.

이상과 같이 4가지로 분류된 한우의 Sertoli 세포돌기는 부위에 따라 존재하는 돌기형태가 다르며, 이 돌기들은 각종 정세포들이 성장함에 따라 돌기 특성에 맞는 기능을 수행함으로써 정자형성과정에 중요한 역할을 담당하리라 생각된다. 즉, Sertoli 세포와 돌기는 정자발생과정과 정자형성과정에서 상호 물질교환을 하는 통로로서 역할을 하며, 성숙중인 정자세포들을 붙잡아 매어두는 물리적인 역할도 함께 수행한다. 하지만, 정자형성과정에서 이들의 돌기들이 어떠한 조건에서 형태가 변화하고, 잔류체를 제거하며, 붙잡아 매어둔 성숙한 정자세포가 내장으로 빠져나갈 수 있도록 정자세포 두부와 돌기의 부착부위를 조절하는지 등은 좀 더 심도있는 연구를 통해 밝혀져야 한다고 사료된다.

결 론

한우의 Sertoli 세포 돌기를 주사전자현미경으로 관찰하였다. 형태학적으로 Sertoli 세포 돌기는 종이모양 돌기, 소매모양돌기, 가지모양돌기 및 손가락모양돌기의 4가지로 구분되었다. 종이모양돌기는 정세포, 정모세포, 정자세포 표면의 1/2 이상을 감싸고 있었다. 소매모양돌기, 가지모양돌기 및 손가락모양돌기는 Sertoli 세포 column에서 돌출되었으며, 정세관의 중간부위와 첨단부위에서 관찰되었다. 정자이출 직전에는 정자세포 두부에 부착된 돌기들은 탈락되었으며, 잔류체는 가지모양돌기들에 의해 덮혀있어 잔류체 제거에 가지모양돌기가 관여하는 것으로 생각된다. 본 연구결과에서 Sertoli 세포돌기들은 각종 정세포들 사이에서 상호의존적 관계를 맺고 있으며, 정자형성과정에서 중요한 역할을 담당하고 있음을 시사한다.

참 고 문 헌

1. Fawcett DW. Ultrastructure and function of the Sertoli cell. In DW Hamilton and RO Greep, ed Handbook of physiology, Sect. 7: Endocrinology, Vol. V: Male reproductive system. American Physiological Society, Washington DC 1995; 21-55.
2. Gravis CJ. Scanning electron microscopic study of the Sertoli cell and spermiation in the Syrian hamster. Amer J Anat 1978; 151: 21-38.
3. Hamasaki M. Interrelationships between germ cell differentiation and transformation of basolateral profile of Sertoli cells during rat spermatogonial cycle.

- Arch Histol Jap 1987; 50: 209-221.
4. Hamasaki M, Murakami M. Three-dimensional profiles of Sertoli cell processes and associated appendices as viewed by SEM. J Electron Microsc 1986; 35: 132-143.
 5. Kurohmaru M, T Nishida. Three-dimensional structure of the Sertoli cell in the Shiba goat. Arch Histol Jap 1987; 50: 515-523.
 6. Malone J. A study of Sertoli-spermatid tubulobulbar complexes in selected mammals (abstract). Anat Rec 1979; 193: 610.
 7. Morales C, Clermont Y. Evolution of Sertoli cell processes invading the cytoplasm of rat spermatids. Anat Rec 203: 233-244.
 8. Nagano T. Fine structural relation between the Sertoli cell and the differentiating spermatid in the human testis. Z Zellforsch 1968; 89: 39-43.
 9. Park YS, Abe M, Takehana K et al. Tree-dimensional structure of dog Sertoli cells: A computer-aided reconstruction from serial semi-thin sections. Arch Histol Cytol 1993; 56: 65-73.
 10. Russell LD. Spermatid-Sertoli tubulobulbar complexes as devices for elimination of cytoplasm from the head region of late spermatids of the rat. Anat Rec 1979a; 194: 233-246.
 11. Russell LD. Further observations on tubulobulbar complexes formed by late spermatids and Sertoli cells in the rat testis. Anat Rec 1979b; 194: 213-232.
 12. Russell LD, Gardner RT, Weber JE. Reconstruction of a type-B configuration monkey Sertoli cell: size, shape and configurational and specialized cell-to-cell relationships. Amer J Anat 1986; 220: 51-57.
 13. Russell LD, Y Clermont. Anchoring device between Sertoli cells and late spermatids in rat seminiferous tubules. Anat Rec 1976; 185: 259-278.
 14. Sakai Y, Nakamoto, Yamashina S. Dynamic changes in Sertoli cell processes invading spermatid cytoplasm during mouse spermatogenesis. Anat Rec 1988; 220: 51-57.
 15. Sakai Y, Yamashina S. Mechanism for the removal of residual cytoplasm for spermatids during mouse spermiogenesis. Anat Rec 1989; 223: 43-48.
 16. Vogl AW, Soucy LJ, Foo V. Ultrastructure of Sertoli cell penetrating processes found in germ cells of the Golden-mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*). Am J Anat 172:75-86.
 17. Weber JE, Russell LD, Wong V et al. Tree-dimensional reconstruction of a rat stage V Sertoli cell: II. Morphometry of Sertoli-Sertoli cell and Sertoli-germ cell relationships. Amer J Anat 1983; 167: 163-179.
 18. Wong V, Russell LD. Tree-dimensional reconstruction of a rat stage V Sertoli cell: I. Methods, basic configuration, and dimensions. Amer J Anat 1983; 167: 143-161.
 19. 박영석, 이성호, 권건오. 쥐 Sertoli 세포돌기의 주사전자현미경적 연구. 한국가축번식학회지 1998; 22(3): 245-252.
 20. 박영석, 이재홍. 진도견의 정자형성과 Sertoli 세포 특수 연결부의 미세구조 : II. Sertoli 세포 특수 연결부의 미세구조. 대한수의학회지 1992; 32(3): 295-308.