

## 비둘기, 꿩 및 닭의 곱슬정세관에 관한 형태계측학적 연구

김인식 · 김지현 · 이영훈 · 정옥봉 · 양홍현

전북대학교 수의과대학 해부학교실

## Morphometric Study of Seminiferous Tubules in Pigeon, Pheasant, and Chicken

I. S. Kim, J. H. Kim, Y. H. Lee, O. B. Chung and H. H. Yang

Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine,

Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

**ABSTRACT :** The testis is an extremely heterogeneous organ, containing numerous compartments and cell types. Morphometric studies were performed on 3 avian species (pigeon, pheasant and chicken) to determine volume density absolute volume, numerical density, total number of seminiferous tubule components, and sperm production, especially those related to the Sertoli cell, and to make comparisons among the species. Volume density of seminiferous tubule components per testis was determined by point counting method. Testis volume and sperm production were measured by routine techniques. Numerical density (the number of cells per unit volume of testis) of seminiferous tubule components per testis was determined by morphometry (Floderus method). The volume density of seminiferous tubules per testis was 91.58, 92.18 and 94.21% in pigeon, pheasant, and chicken, respectively. The volume density of spermatogonium, spermatocyte, spermatid, spermatozoon, and Sertoli cell did not produce significant changes in the three species. The absolute volume of spermatogonium, spermatocyte, spermatid, and Sertoli cell showed significant changes in the three species ( $P<0.05$ ). The average volume of Sertoli cell ranged from 758.34(pheasant) to 1,242.9  $\mu\text{m}^3$ (chicken) and was not significantly different in the three species( $P>0.05$ ). The number of Sertoli cells per testis showed significant differences in the three species :  $34.52 \times 10^6$ ,  $186.82 \times 10^6$ ,  $810.62 \times 10^6$  in pigeon, pheasant, and chicken, respectively( $P<0.05$ ). The sperm production was significantly different in the three species :  $3,018 \times 10^6$ ,  $993.9 \times 10^6$ , and  $8.9 \times 10^6$  in chicken, pheasant, and pigeon, respectively( $P<0.05$ ). These results suggest that number of Sertoli cells may be more important than Sertoli cell size in explaining the difference in sperm production among the three species.

(Key words : pigeon, pheasant, chicken, seminiferous tubules, Sertoli cells, sperm production)

## 서 론

정소(testis)는 주로 정자세포형성 (spermatogenesis)과 정자형성 (spermiogenesis)에 관여하는 곱슬정세관 (seminiferous tubules)과 곱슬정세관 사이에서 내분비기능을 담당하는 간질세포가 포함된 간질조직(interstitial tissue)으로 구성되어 있다. 곱슬정세관은 대부분 생식세포와 Sertoli 세포로 구성되어 있고 Sertoli 세포는 다수의 돌기를 가진 원주형의 형태로 돌기는 정세관의 기저부로부터 관강을 향하여 방사상으로 배열되고 발생중인 생식세포를 완전하게 또는 부분적으로 감싸고 있어 정자형성 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Fawcett, 1975; Weber 등, 1993).

Russel 등 (1990)은 곱슬정세관 구성물의 정량적인 변화와 구조적인 특징을 이해하기 위하여 광학현미경 관찰은 적

절하지 않으며 곱슬정세관 구성물의 구조적인 특징 및 그 기능과 관련된 정량적인 변화를 이해하기 위하여 형태계측학적인 연구를 수행하는 것이 중요하다고 자작한 바 있다. 최근에 이르러 정소의 형태계측학적인 연구는 여러 종의 실험동물에서 다양한 방법으로 수행되고 있다. Wing과 Christensen (1982)은 흰쥐의 정자발생 과정 각 주기별로 광학현미경 하에서 정소의 형태계측학적인 연구를 보고하였다. 이후 Johnson과 Thompson (1983), Johnson 등 (1984), Hochereau-de Reviers와 Lincoln (1978), Hochereau-de Reviers 등 (1985)과 Sinha-Hikim (1986)은 각각 말, 사슴, 양과 햄스터의 정소에 관한 형태계측학적인 연구를 실시하였다.

Kerr (1988)는 흰쥐의 정자발생과정에서 Sertoli 세포의 형태학적인 관찰과 형태계측학적인 연구를 실시하여 Sertoli 세포의 평균용적이 정자발생단계에 따라 다르게 나타나고 Sertoli 세포의 용적의 변화는 Sertoli 세포의 분비기능, 탐식

기능 및 흡수기능과 관련성이 있을 것으로 보고한 바 있다. Berndtson과 Jones (1989)는 말의 정소에 관한 형태계측학적 연구에서 Sertoli 세포 수가 많을수록 다양한 형태로 발달하는 생식세포 수가 증가하게 되고 정자생성이 많아지므로 Sertoli 세포 수와 생식세포 수와는 밀접한 관련성이 있다고 보고하였다. 이와 같이 포유류에서는 정소의 형태계측학적 연구 및 중간의 비교연구가 여러 종에서 다양하게 수행되어 왔으나 조류에서의 연구는 보고된 바 없다.

그러므로 본 연구는 비둘기, 한국산 꿩 및 닭에서 곱슬정세관 구성분 중 Sertoli 세포와 생식세포에 관한 형태계측학적 연구가 조류 정소의 형태와 정소 구성물의 기능을 이해하는데 도움이 되고 조류의 번식과 관련된 연구에 기초자료가 되리라 사료되어 본 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

전주 근교 조류사육장에서 비둘기 5수 (*Columba livia*, 평균체중 : 316g, 평균정소무게 : 0.38g), 한국산 꿩 4수 (*Phasianus colchicus*, 평균체중 : 1,069g, 평균정소무게 : 3.16g), 닭 4수 (*Gallus domesticus*, 평균체중 : 2563g, 평균정소무게 : 17.42g)를 6월에 구입하여 실험에 사용하였다.

### 2. 조직표본제작 (Tissue preparation)

각 실험동물은 ketamine (3ml/kg 체중)으로 마취 후 체중을 측정하고 전신관류고정 (whole-body perfusion fixation) 하였다. 관류고정 도중 혈액이 응고되는 것을 방지하기 위해 개복하여 좌심실에 heparin (Sigma 15,000 unit) 0.5ml/kg을 직접 투여하였다. 대동맥을 절개하여 cutdown tube를 삽입하고 방혈을 시킨 후 0.75% 생리식염수를 사용하여 전신의 혈관을 1~2분 동안 세척한 후 2.5% glutaraldehyde로 대체하여 약 40분 동안 전신관류 고정하였다. 정소의 용적을 측정하기 위하여 오른쪽 정소을 적출한 후 chemical balance를 이용하여 무게를 측정하고 sucrose를 사용하여 부양법 (floatation method)으로 비중 (specific gravity)을 측정한 후 무게를 측정하였다 (Mori & Christensen). 정소을 1~2mm로 세절하여 2.5% glutaraldehyde에 2시간 동안 고정한 후 1% osmium tetroxide로 후고정 하였다. 알코올로 탈수하고 Epon-812에 포매하여 각 개체당 블록 10개씩을 제작하여 초박절편기 (Ultramicrotome, Leica ultracuts, Austria)를 이용하여  $1\text{ }\mu\text{m}$  두께의 후박절편 (semithin section)을 제작한 후 1% methylene blue-azure II로 염색하였다.

### 3. 광학현미경적 관찰

광학현미경 (Leica, DMRBE, Germany)을 이용하여 관찰하고, 곱슬정세관의 일부를 택하여 사진 촬영하였다. 광학현미경적 구조는 곱슬정세관내 정조세포 (spermatogonium), 정모세포 (spermatocyte), 정자세포 (spermatid), 정자 (spermatozoon), Sertoli 세포와 곱슬정세관의 관강을 관찰하였다. 세포핵의 크기는 영상분석기 (Image Analyzer System, Leica Q500MC, Germarny)를 이용하여 측정하였다.

### 4. 형태계측(Morphometry)

#### 1) 곱슬정세관 구성물의 용적치밀도 (Volume density: volume per unit volume, Vv))

곱슬정세관 구성물의 용적치밀도는 Point counting 법 (Weibel, 1969)을 적용하여 측정하였다. 121 point ocular grid를 장착한 광학현미경을 이용하여 각 구성분 (정조세포, 정모세포, 정자세포, Sertoli 세포 및 관강)의 수를 네 모서리와 중앙부위에서 측정하였으며 각 개체당 최소 50 부위에서 최대 100 부위를 중복되지 않게 측정하였다. 이것을 전체 point (121×5)로 나누면 곱슬정세관 구성물의 용적치밀도 (Vv%)를 구할 수 있다.

$$\text{Vv\% of a component} =$$

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

#### 2) 곱슬정세관 구성분의 절대용적 (Absolute volume)

이미 얻어진 용적치밀도(volume density)와 정소용적 (testis volume)을 적용해서 절대용적 (absolute volume)을 구하였다. 정소의 용적은 정소의 무게와 비중으로부터 구하였다 (Mori와 Christensen, 1980).

$$\text{Absolute volume of testicular component} =$$

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

#### 3) 정소 단위용적당 세포 수 (Numerical density : Nv)

정소 단위용적당 세포 수는 Floderus 법 (Floderus, 1944)을 적용하여 조직 표본에서 5군데를 중복되지 않도록 세었다.

$$Nv = Na/(T + D - 2h)$$

$Na$  : 단위면적당 각 세포핵의 수 (단위면적 =  $48520.8 \mu\text{m}^2$ ),  $D$  : 평균 핵의 직경

$T$  : 조직절편의 평균두께,  $h$  : 가장 작은 높이의 핵 (보통 핵 직경의 10% 정도) (Mori와 Christensen, 1980 ; Ewing 등, 1983)

정소 당 각 세포의 총 숫자 (total number)는 단위용적 당 세포 수에 각 정소의 용적을 곱하여 구하였다.

#### 4) 곱슬정세관내 각 세포들의 평균용적(Average volume)

곱슬정세관내 각 세포의 평균용적 (average volume)은 각 세포의 용적치밀도 (volume density)를 단위용적당 세포 수 (numerical density)로 나누어 구하였다 (Mori와 Christensen, 1980).

#### 5) 정자생성(Sperm production)

Cooke 등 (1991)의 방법을 적용하여 정소을 적출하고 무게를 측정한 후 백막 (tunica albuginea)을 제거하고 0.05% (vol/vol) Triton X-100과 0.25 M-thimerosal (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)이 혼합된 50ml 생리식염수에서 semimicro Waring Blender를 이용하여 2분간 균질화시켰다. 정자생성은 이 용액 0.2ml를 4% trypan blue가 혼합된 0.8ml 생리식염수에 희석하여 측정하였다. 정소조직당 평균 정자 생성을 측정하기 위해 이 용액  $10 \mu\text{l}$ 를 혈구계 (hemocytometer)로 광학현미경 하에서 평균 5회 측정하였다. 이러한 방법으로 얻어진 수치는 정소조직 당 총 정자 수를 얻기 위해 적용하였다.

#### 6) 통계처리

본 실험에서 얻어진 자료에 대한 통계학적 유의성은 SAS package의 Gerneral Linear Model (GLM) Procedure (SAS Ver. 6.12, SAS Institute, 1996)를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였으며  $P < 0.05$  이하의 유의성만을 통계학적 차이로 인정하였다.

## 결 과

### 1. 일반형태관찰 (Morphology)

비둘기의 곱슬정세관은 불규칙한 원형으로 꿩과 닭에 비하여 직경이 작은 것을 관찰할 수 있었다. 정세관의 기저부에 가까이 작은 원형의 정조세포 (spermatogonium)가 존재하며, 이 정조세포들 사이에 Sertoli 세포가 일정한 간격을

두고 기저부에 근접하여 나타나 있는 것을 관찰할 수 있었다. 정조세포는 미성숙 정자형성세포로서 염색상이 짙은 동근 핵을 가지고 있음을 관찰할 수 있었고 이 정조세포는 유사분열을 하여 정모세포 (spermatocyte)로 되고 감수분열을 거쳐 정자세포 (spermatid)로 성숙되어 간다. 정조세포에 비하여 큰 핵과 뚜렷한 염색체의 변화상을 나타내는 정모세포를 관찰할 수 있었고, Sertoli 세포의 핵이 기저부에 근접하여 나타나고 관강을 향하여 약간 상향된 것을 고배율의 사진에서 관찰할 수 있었다 (Figs. 1 a과 b).

꿩의 곱슬정세관은 타원형 또는 불규칙한 원형을 나타내며 정조세포가 기저부에 근접하여 있으며 정조세포 사이에 Sertoli 세포가 곱슬정세관 기저부를 따라 일정한 간격으로 배열된 것을 관찰할 수 있었다. 외형이 불규칙하고 염색상이 짙은 Sertoli 세포의 핵과 망상구조가 되어 관강 면에 뻗어있는 Sertoli 세포의 세포질 돌기들 사이에 발달중인 정자세포 (spermatid)를 관찰할 수 있었다 (Figs. 1 c와 d).

닭의 곱슬정세관은 타원형 또는 불규칙한 원형을 나타내며 비둘기와 꿩의 곱슬정세관과 마찬가지로 정조세포가 기저부 가까이에 근접하여 있으며 이 정조세포들 사이에 Sertoli 세포가 일정한 간격으로 배열된 것을 관찰할 수 있었다. 정조세포에 비해 그 크기가 더 큰 핵과 뚜렷한 염색체의 변화상을 나타내는 정모세포를 관찰할 수 있었다. Sertoli 세포의 핵은 비둘기와 꿩에 비하여 더 크며 관강을 향하여 뻗어 있는 세포질 돌기들 사이에 발달중인 정자세포와 꿩과 닭에 비하여 더 많은 정자세포를 관찰할 수 있었다 (Figs. 1 e와 f).

## 2. 형태계측

### 1) 용적치밀도

비둘기, 꿩 및 닭의 정소조직의 곱슬정세관내 구성물의 용적치밀도 (volume density)는 Table 1과 같다. 비둘기, 한국산 꿩 및 닭의 곱슬정세관의 용적치밀도는 각각 91.58%, 92.99% 및 94.61%로 정소조직 중 곱슬정세관이 차지하는 비율이 닭에서 가장 높음을 관찰할 수 있었다 ( $P > 0.05$ ). 모든 실험동물의 곱슬정세관내 차지하는 구성물 중에서는 정모세포가 가장 높게 차지하고 있으며 정자세포, Sertoli 세포, 정조세포 그리고 정자순으로 관찰되었다. 정조세포의 용적치밀도는 비둘기에서 7.96%로 가장 높고 닭에서 7.37%로 가장 낮게 관찰되었으며, 정모세포의 용적치밀도는 비둘기에서 43.78%로 가장 높고 닭에서 34.99%로 가장 낮게 관찰되었다. 정자세포의 용적치밀도는 닭에서 19.91%로 가장 높

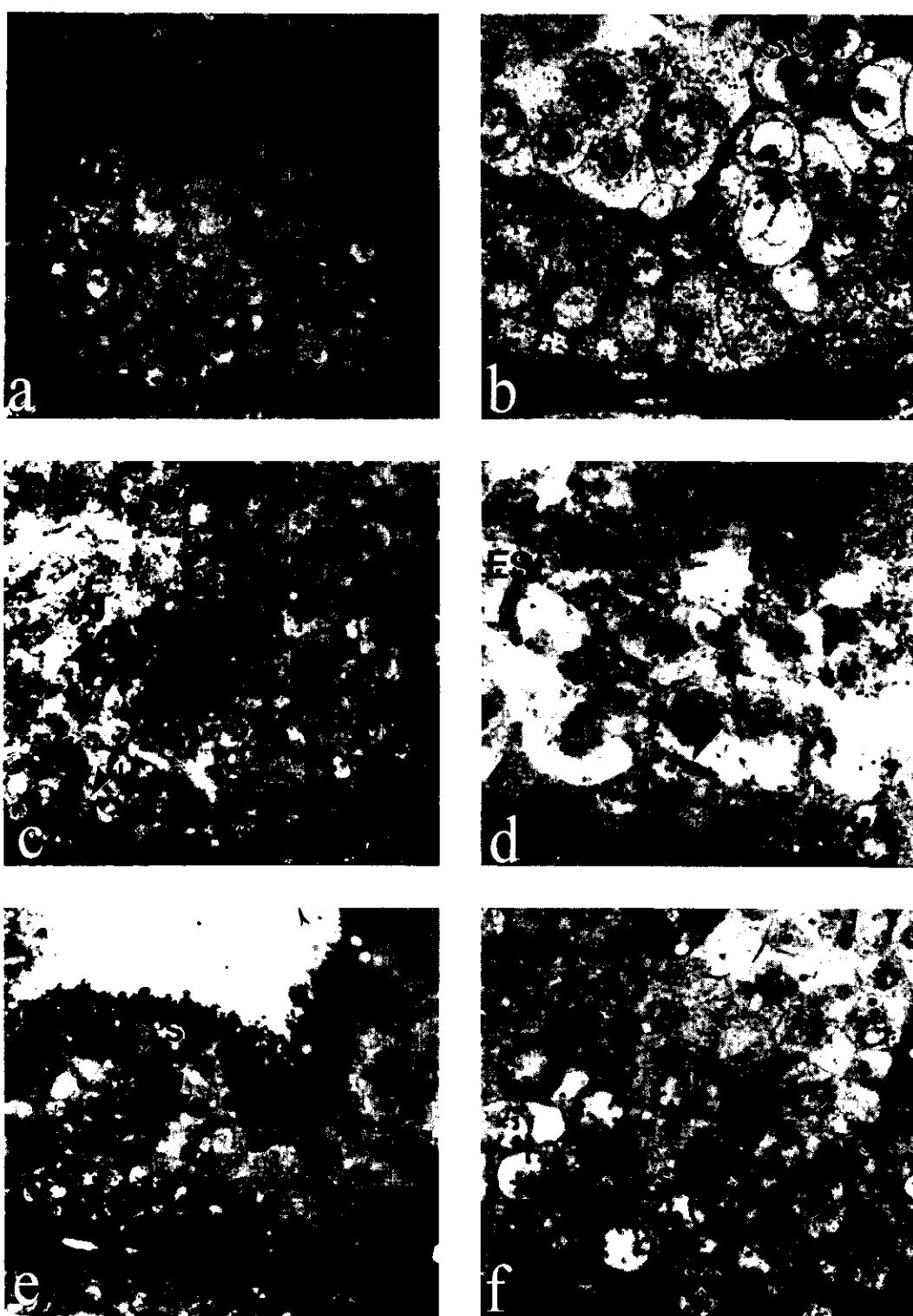


Fig. 1. Photomicrographs of seminiferous tubule sections in the pigeon, pheasant and chicken. The tissue samples were obtained from pigeon (a and b), pheasant (c and d) and chicken (e and f), respectively. All sections were stained with methylene blue-Azur II, and the images were recorded under either  $400\times$  (a, c and e) or  $1,000\times$  magnifications (b, d and f). Nuclei of Sertoli cells (arrows in a, b, c and f), spermatogonia (SG in f), spermatocytes (SC in a, b and f), spermatids (ST in e and f) and an elongated spermatid (ESt in d) can be recognized.

Table 1. Volume densities of seminiferous tubule components of the pigeon, pheasant, and chicken<sup>1</sup>

| Testicular component | Volume density of seminiferous tubule components(Vv%) |  |                                       |
|----------------------|---|--|---------------------------------------|
|                      | <i>Columba livia</i><br>(Pigeon)                      | <i>Phasianus colchicus</i><br>(Pheasant) | <i>Gallus domesticus</i><br>(Chicken) |
| Seminiferous tubules | 91.58 ± 2.89 <sup>a</sup>                             | 92.99 ± 0.96 <sup>a</sup>                | 94.61 ± 0.47 <sup>a</sup>             |
| Spermatogonia        | 7.96 ± 0.56 <sup>a</sup>                              | 7.37 ± 0.41 <sup>a</sup>                 | 7.84 ± 0.46 <sup>a</sup>              |
| Spermatocyte         | 43.78 ± 2.39 <sup>a</sup>                             | 38.39 ± 1.92 <sup>b</sup>                | 34.99 ± 2.21 <sup>b</sup>             |
| Spermatid            | 13.63 ± 2.34 <sup>c</sup>                             | 16.37 ± 1.89 <sup>b</sup>                | 19.91 ± 1.85 <sup>a</sup>             |
| Spermatozoa          | 0.01 ± 0.01b  | 1.49 ± 0.86 <sup>a</sup>                 | 1.66 ± 0.72 <sup>a</sup>              |
| Sertoli cell         | 8.69 ± 1.19 <sup>a</sup>                              | 6.59 ± 1.68 <sup>b</sup>                 | 5.79 ± 1.04 <sup>b</sup>              |
| Luminal area         | 18.64 ± 2.93 <sup>a</sup>                             | 21.93 ± 4.03 <sup>a</sup>                | 24.03 ± 4.34 <sup>a</sup>             |

<sup>1</sup> Values are the mean±SEM. In each row, values with different superscripts (a, b, c) are significantly different ( $p < 0.05$ ).

고 비둘기에서 13.63%로 가장 낮게 관찰되었다. Sertoli 세포의 용적치밀도는 8.69%로 비둘기에서 가장 높고, 꿩에서 6.59%, 그리고 닭에서 5.79%로 가장 낮게 관찰되었다 ( $P > 0.05$ ).

## 2) 절대용적

비둘기, 한국산 꿩 및 닭의 곱슬정세관내 구성물의 절대용적은 Table 2와 같다. 곱슬정세관내 구성물의 절대용적은 정모세포가 가장 크게 관찰되었고 관강, 정자세포, Sertoli 세포 그리고 정조세포 순으로 관찰되었다. 정조세포의 절대용적은 닭에서  $1,380.4 \text{ cm}^3$ 로 가장 크고 비둘기에서  $22.75 \text{ cm}^3$ 로 가장 작게 관찰되었으며, 정모세포의 절대용적은 닭에서  $6,265.3 \text{ cm}^3$ 로 가장 크고 비둘기에서  $161.52 \text{ cm}^3$ 로 가장 작게 관찰되었다. 정자세포의 절대용적은 닭에서  $3,530.63 \text{ cm}^3$ 로 가장 크고 비둘기에서  $62.08 \text{ cm}^3$ 로 가장 작게 관찰되었다. Sertoli 세포의 절대용적은 닭에서  $1,031.4 \text{ cm}^3$ 으로 가장 크고, 꿩에서  $259.18 \text{ cm}^3$ , 그리고 비둘기에서  $35.68 \text{ cm}^3$ 로 가장 작게 관찰되었다.

## 3) 전체 세포 수

비둘기, 꿩 및 닭에서 곱슬정세관내의 전체 세포 수는 Table 3과 같다. 곱슬정세관내 구성물 중에서 정자세포의 수가 가장 많았고 정모세포, Sertoli 세포 그리고 정조세포 순으로 관찰되었다. 정소내 정조세포의 전체 세포 수는 닭에서  $1,420.27 \times 10^6$ 로 가장 많고 비둘기에서  $22.19 \times 10^6$ 로 가장 적었으며 ( $P < 0.05$ ), 정모세포의 전체 세포 수는 닭에서  $23,237.28 \times 10^6$ 로 가장 많고 비둘기에서  $206.35 \times 10^6$ 로 가장 적게 관찰되었다 ( $P < 0.05$ ). 정자세포의 전체 세포 수는 닭에서  $32,305.77 \times 10^6$ 로 가장 많고 비둘기에서  $259.82 \times 10^6$ 로 가장 적게 관찰되었다 ( $P < 0.05$ ). Sertoli 세포의 전체 세포 수는 닭에서  $810.62 \times 10^6$ 로 가장 많고, 꿩에서  $186.82 \times 10^6$ , 그리고 비둘기에서  $34.52 \times 10^6$ 로 가장 적게 관찰되었다 ( $P < 0.05$ ).

## 4) 평균용적

비둘기, 꿩 및 닭의 평균용적은 Table 4와 같다. 정조세포의 평균용적은 비둘기에서  $1,673.95 \mu\text{m}^3$ 로 가장 크고 닭에서  $891.02 \mu\text{m}^3$ 로 가장 작게 관찰되었다. 정모세포의 평균용적은 비둘기에서  $759.95 \mu\text{m}^3$ 로 가장 크고 꿩에서  $687.15 \mu\text{m}^3$

Table 2. Absolute volumes of seminiferous tubule components in the pigeon, pheasant, and chicken<sup>1</sup>

| Testicular component | Absolute volume of seminiferous tubule components(cm <sup>3</sup> ) |  |                                       |
|----------------------|---|--|---------------------------------------|
|                      | <i>Columba livia</i><br>(Pigeon)                                    | <i>Phasianus colchicus</i><br>(Pheasant) | <i>Gallus domesticus</i><br>(Chicken) |
| Spermatogonia        | 22.75 ± 8.77 <sup>c</sup>   | 160.22 ± 37.01 <sup>b</sup>              | 1,380.40 ± 128.22 <sup>a</sup>        |
| Spermatocyte         | 161.52 ± 58.31 <sup>c</sup>   | 827.83 ± 180.20 <sup>b</sup>             | 6,265.31 ± 918.93 <sup>a</sup>        |
| Spermatid            | 62.08 ± 29.40 <sup>c</sup>  | 308.12 ± 70.60 <sup>b</sup>              | 3,530.63 ± 664.15 <sup>a</sup>        |
| Sertoli cell         | 35.68 ± 13.75 <sup>c</sup>  | 259.18 ± 99.03 <sup>b</sup>              | 1,031.42 ± 216.15 <sup>a</sup>        |
| Luminal area         | 62.20 ± 22.52 <sup>c</sup>  | 481.00 ± 163.55 <sup>b</sup>             | 4,484.05 ± 830.97 <sup>a</sup>        |

<sup>1</sup> Values are the mean±SEM. In each row, values with different superscripts (a, b, c) are significantly different ( $p < 0.05$ ).

Table 3. Total numbers of seminiferous tubule components of the pigeon, pheasant, and chicken<sup>1</sup>

| Testicular component | Total number of cells per testis( $\times 10^6$ ) |  |                                       |
|----------------------|---|--|---------------------------------------|
|                      | <i>Columba livia</i><br>(Pigeon)                  | <i>Phasianus colchicus</i><br>(Pheasant) | <i>Gallus domesticus</i><br>(Chicken) |
| Spermatogonia        | 22.19 $\pm$ 0.73 <sup>c</sup>                     | 138.77 $\pm$ 28.69 <sup>b</sup>          | 1,420.27 $\pm$ 244.04 <sup>a</sup>    |
| Spermatocyte         | 206.35 $\pm$ 51.06 <sup>c</sup>                   | 1,257.64 $\pm$ 296.96 <sup>b</sup>       | 23,237.28 $\pm$ 1,400.40 <sup>a</sup> |
| Spermatid            | 259.82 $\pm$ 55.73 <sup>c</sup>                   | 2,176.51 $\pm$ 523.75 <sup>b</sup>       | 32,305.77 $\pm$ 6,313.20 <sup>a</sup> |
| Sertoli cell         | 34.52 $\pm$ 10.87 <sup>c</sup>                    | 186.82 $\pm$ 39.51 <sup>b</sup>          | 810.62 $\pm$ 36.35 <sup>a</sup>       |

<sup>1</sup> Values are the mean  $\pm$  SEM. In each row, values with different superscripts(a, b, c) are significantly different ( $p < 0.05$ ).

Table 4. Average volumes of seminiferous tubule components of the pigeon, pheasant, and chicken<sup>1</sup>

| Testicular component | Average volume of seminiferous tubule components( $\mu m^3$ ) |  |                                       |
|----------------------|---|--|---------------------------------------|
|                      | <i>Columba livia</i><br>(Pigeon)                              | <i>Phasianus colchicus</i><br>(Pheasant) | <i>Gallus domesticus</i><br>(Chicken) |
| Spermatogonia        | 1,673.95 $\pm$ 524.71 <sup>a</sup>                            | 1,215.79 $\pm$ 152.77 <sup>b</sup>       | 891.02 $\pm$ 161.68 <sup>c</sup>      |
| Spermatocyte         | 759.95 $\pm$ 87.71 <sup>a</sup>                               | 687.15 $\pm$ 47.51 <sup>a</sup>          | 707.98 $\pm$ 40.22 <sup>a</sup>       |
| Spermatid            | 247.18 $\pm$ 12.28 <sup>a</sup>                               | 161.99 $\pm$ 12.61 <sup>a</sup>          | 117.21 $\pm$ 13.96 <sup>a</sup>       |
| Sertoli cell         | 856.57 $\pm$ 48.68 <sup>b</sup>                               | 758.34 $\pm$ 122.77 <sup>b</sup>         | 1,242.9 $\pm$ 110.75 <sup>a</sup>     |

<sup>1</sup> Values are the mean  $\pm$  SEM. In each row, values with different superscripts (a, b, c) are significantly different ( $p < 0.05$ ).

Table 5. Sperm production in the pigeon, pheasant, and chicken<sup>1</sup>

|                                    | <i>Columba livia</i><br>(Pigeon) | <i>Phasianus colchicus</i><br>(Pheasant) | <i>Gallus domesticus</i><br>(Chicken) |
|------------------------------------|----------------------------------|--|---------------------------------------|
| Sperm production ( $\times 10^6$ ) | 8.9 $\pm$ 1.42 <sup>c</sup>      | 993.9 $\pm$ 43.1 <sup>b</sup>            | 3,018 $\pm$ 112.5 <sup>a</sup>        |

<sup>1</sup> Values are the mean  $\pm$  SEM. In each row, values with different superscripts(a, b, c) are significantly different ( $p < 0.05$ ).

로 가장 작게 관찰되었으며, 정자세포의 평균용적은  $247.18 \mu m^3$ 로 비둘기에서 가장 크고  $117.21 \mu m^3$ 로 닭에서 가장 작게 나타났다. Sertoli 세포의 평균용적은 닭에서  $1,242.9 \mu m^3$ 으로 가장 크고, 비둘기에서  $856.57 \mu m^3$ , 그리고 꿩에서  $758.34 \mu m^3$ 로 가장 작게 관찰되었다.

### 5) 정자생성

비둘기, 꿩 및 닭의 정자생성은 Table 5와 같다. 3종의 실험동물 중 정소내 정자생성은  $3,018 \times 10^6$ 로 닭에서 가장 높고, 꿩에서  $993.9 \times 10^6$ , 그리고 비둘기에서  $8.9 \times 10^6$ 로 가장 낮게 생성되었다 ( $P < 0.05$ ).

## 고 칠

정소 곱슬정세관 구성물의 형태계측학적인 연구는 최근

에 이르러 여러 종의 포유류에서 다각적으로 수행되고 있으나 조류 정소에 관한 형태계측학적 연구는 거의 보고된 바 없으므로 이 연구는 성숙한 비둘기, 한국산 꿩 및 닭의 곱슬정세관 구성물의 형태계측학적인 자료를 얻기 위하여 수행되었다. Kerr (1988)는 흰쥐의 정자발생과정 동안 정소의 형태계측학적 연구에서 곱슬정세관의 용적치밀도는  $90.17 \pm 2.19\%$ 이고, Sinha-Hikim (1986)은 성숙한 햄스터의 정소에 관한 형태계측학적 연구에서 곱슬정세관의 용적치밀도는  $92.55\%$ 라고 보고하였으며 Russel 등 (1990)은 12종의 포유류에서 연구한 결과 기니픽에서  $92.7\%$ , 사람에서  $42\%$ 를 나타내어 곱슬정세관의 용적치밀도는 종에 따라서 많은 차이가 있음을 보고하였다. 이 연구에서 실험동물로 사용한 3종의 조류에서는  $94.61\%$  (닭)~ $91.58\%$  (비둘기)로 흰쥐, 햄스터 및 기니픽과 유사한 결과를 나타내었으나 Russel 등 (1990)의 보고에서와는 다르게 같은 종인 비둘기, 꿩 및 닭

에서 차이를 보이지 않았는데 이러한 상이한 결과는 더 많은 조류를 실험동물로 하여 연구를 수행하면 확인이 가능하리라 생각된다. Rossen-Runge (1955)는 흰쥐의 정자발생과 정동안 파라핀 조직표본을 이용한 정소의 형태계측학적 연구에서 Sertoli 세포의 용적치밀도가 7.9%에서 10%까지 나타났고, Kerr (1988a)는 9.9%에서 28.6%까지 나타났다고 보고하였다. Kerr (1988a)는 Rossen-Runge (1955)의 연구에서 Sertoli 세포의 용적치밀도는 곱슬정세관 상피의 퍼센트로써 표현되었기 때문에 그 수치는 9.9%에서 13.6%를 의미하며 용적치밀도가 Kerr (1988)의 연구에서 보다 낮게 나타남은 파라핀 조직표본에서는 Sertoli 세포 주위의 관강부위를 관찰할 수 없기 때문이라고 보고한 바 있다. Cavicchia와 Dym (1977)은 원숭이의 Sertoli 세포의 용적치밀도 측정에 관한 연구에서 정자발생 초기단계에는 24%, 정자발생후기단계에는 32%로 나타났다고 보고하였다. 이 연구에서 Sertoli 세포의 용적치밀도는 비둘기, 한국산 꿩 및 닭에서 각각  $8.69 \pm 1.19\%$ ,  $6.59 \pm 1.68\%$  및  $5.79 \pm 1.04\%$ 로 비둘기에서 가장 높고 닭에서 가장 낮게 관찰되었으며, 3종의 실험동물에서 유의성이 없음을 알 수 있었다. 또한 정조세포, 정모세포 및 정자세포의 용적치밀도도 3종의 실험동물에서 유의성이 없음을 알 수 있었다. 3종의 조류의 용적치밀도가 포유동물류에 비하여 약간 낮게 나타남은 종간의 차이일 것으로 생각된다. Russel 등 (1990)은 12종의 포유류에서 Sertoli 세포와 관련된 형태계측학적 연구에서 Sertoli 세포의 크기는 Sertoli 세포의 용적치밀도 및 정자생성과는 관련성이 없음을 보고하였다. 이 연구에서 Table 1과 Table 5를 비교하여 볼 때 Sertoli 세포의 용적치밀도가 닭에서 가장 적은 반면 가장 많은 정자를 생성하였고, 비둘기에서 Sertoli 세포의 용적치밀도가 가장 높은 반면 가장 적은 정자를 생성하였다. 그러므로 조류에서도 포유류와 마찬가지로 Sertoli 세포의 용적치밀도와 정자생성과는 거의 관련성이 없고 Sertoli 세포의 크기가 클수록 정소조직 g당 정자생성이 낮음을 알 수 있었다. 또한 비둘기에서 Sertoli 세포의 용적치밀도가 닭에 비하여 큰 것은 정자발생과정 동안 정자형성세포에 중요한 영향을 미치기 위해서는 Sertoli 세포 수가 적은 대신 그 용적이 커졌을 것으로 생각된다.

Rossen-Runge (1955)는 흰쥐의 곱슬정세관내 Sertoli 세포의 평균용적이  $2,000 \sim 3,200 \mu\text{m}^3$ 이고, Wong과 Russel (1983)은  $6,012 \mu\text{m}^3$ 라고 보고하였으며, Kerr (1988)는 Sertoli 세포의 평균용적이 정자형성단계별로  $5,300 \sim 8,000 \mu\text{m}^3$ 로 다양하게 나타났다고 보고하였다. 또한 Russel 등 (1990)은 흰쥐 곱슬정세관내 Sertoli 세포의 평균용적이 정자형성 초기단계

에는  $5,288 \mu\text{m}^3$ , 정자형성 후기단계에는  $4,127 \mu\text{m}^3$ 로 나타났다고 보고하였고, Sinha-Hikim(1986)은 햄스터를 대상으로 한 연구에서 햄스터의 Sertoli 세포의 평균용적이  $4,233 \mu\text{m}^3$ 라고 보고하였다. Russel 등 (1990)은 토끼, 기니픽, 생쥐 및 개의 Sertoli 세포의 평균용적이  $4,575 \mu\text{m}^3$ ,  $3,259 \mu\text{m}^3$ ,  $3,297 \mu\text{m}^3$  및  $5,012 \mu\text{m}^3$ 로 나타났다고 보고하였다. 이 연구에서 3종의 실험동물인 비둘기, 꿩 및 닭의 평균용적은 각각  $856.57 \pm 48.68 \mu\text{m}^3$ ,  $758.34 \pm 122.77 \mu\text{m}^3$  및  $1,242.9 \pm 110.75 \mu\text{m}^3$ 이었고 3종의 실험동물에서 유의성이 없음을 알 수 있었으며 조류의 Sertoli 세포의 평균용적이 포유류와 현저한 차이가 있음을 알 수 있었다. 그러나 Sertoli 세포의 평균용적이 차이를 나타내는 것이 단지 종에 따른 차이인지 혹은 Sertoli 세포와 곱슬정세관의 서로 직접 또는 간접적인 기능에 의한 차이인지는 해결해야 할 과제이며 전자현미경을 이용하여 포유류와 조류에서 Sertoli 세포의 미세구조 차이를 형태계측학적인 기법으로 연구하여 보면 흥미로운 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. Russel 등 (1990)에 의하면 12종의 포유류 정소에 관한 형태계측학적 연구에서 Sertoli 세포의 평균용적은 정자생성 및 곱슬정세관내 상피세포의 용적치밀도와 관련성이 없다고 보고된 바 있다. 이 연구에서도 Table 1과 Table 5를 비교하여 볼 때 3종의 실험동물에서 각 동물의 Sertoli 세포의 평균용적은 정자생성과는 관련성이 거의 없음을 확인할 수 있었다.

Berndtson과 Jones (1989)는 성숙한 말에서 Sertoli 세포 수와 다양한 생식세포 수와는 중요한 관련성이 있다고 보고한 바 있다. Berndtson 등 (1987)은 수소의 정소의 크기와 정자발생과 Sertoli 세포 수와의 관계에 관한 연구에서 더 많은 Sertoli 세포를 가진 정소이 적은 수의 Sertoli 세포를 가진 정소보다 더 무거우며 더 많은 정차를 생성한다고 보고하였다. Johnson 등 (1994)은 성숙한 말의 Sertoli 세포 수와 정자생성 및 정소의 크기와의 관계에 관한 연구에서 Sertoli 세포 수가 정소의 크기와 1일 정자생성을 결정하는 중요한 요인이라고 보고하였다. Berndtson 등 (1987)은 성숙한 Holstein 종 젖소의 Sertoli 세포 수와 정자생성과의 정량적인 연구에서 Sertoli 세포 수가 정자생성능력을 결정하는 중요한 요인이라고 보고하였는데 이 연구에서도 Sertoli 세포 수가 가장 많은 닭에서 정소의 무게가 가장 무거웠고 정자생성이 가장 많았으며 Sertoli 세포 수가 가장 적은 비둘기에서 정소이 가장 가벼웠고 정자생성이 가장 적게 나타나 상기의 보고와 일치하였다. 따라서 포유류와 마찬가지로 조류의 경우도 Sertoli 세포가 정소의 무게를 결정짓는데 중요한 요소임과 동시에 정자생성에 있어서 중요한 기능을 담당하고 있음을

알 수 있었다. 이 연구에서 정자생성은 Amann과 Almquis (1961), Robb과 Amann 등 (1978), Amann과 Lambiase (1969), Verma 등 (1966)이 실시한 방법과 유사한 방법인 semimicro Waring Blender를 이용하여 정소실질조직을 균질화시켜 측정하였다. Clermont와 Mesier (1959)는 정소실질조직을 균질화시킬 경우 정자형성 17~19단계의 긴 축으로 길게된 정자세포를 제외한 모든 생식세포와 Sertoli 세포는 관찰되지 않는다고 보고하였는데 조류를 사용한 이 실험에서도 위에서 언급된 정자세포만을 관찰할 수 있었고 닭의 경우는 Verma 등 (1996)의 연구에서와 비슷한 수치를 나타내었다.

이 연구결과 Sertoli 세포의 밀도와 평균용적은 정자생성과는 관련성이 거의 없고 포유류에서처럼 조류에서도 Sertoli 세포 수가 정자생성에 중요한 역할을 하는 것을 보여주었다. 또한 3종의 조류 이외 다른 조류에서도 마찬가지로 Sertoli 세포 수가 정자생성에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. Johnson (1991)은 계절변식을 하는 말에서 계절변식과 나이와 관련된 Sertoli 세포의 형태계측학적인 연구를 시도하여 계절에 따른 Sertoli 세포 수의 변화상을 관찰하였는데 포유류에서의 연구처럼 계절변식조류에서도 변식기와 비변식의 Sertoli 세포와 정자생성에 관한 연구를 다각적으로 수행한다면 Sertoli 세포와 생식세포 및 정자생성과 관련된 기능을 더욱 명확하게 하는데 도움을 줄 것으로 사료된다. 또한 이 연구는 조류의 Sertoli세포와 생식세포의 형태계측학적 자료를 얻기 위한 기본적인 자료를 제공하고 앞으로 정자형성 능력과 관련된 기능적 연구를 위한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

## 적 요

Sertoli 세포와 곱슬정세관 구조물의 용적치밀도, 절대용적, 정소 단위용적당 세포 수, 전체세포 수 및 정자생성과의 연관성을 알아보기 위하여 3종의 조류 (비둘기, 꿩 및 닭)를 대상으로 형태계측학적인 방법을 적용하여 비교연구를 수행하였다. 정소조직당 곱슬정세관의 구성물이 차지하는 용적치밀도 측정은 point counting법을 적용하였고 정소의 용적과 정자생성은 일반적인 방법으로 측정하였다. 곱슬정세관 구성물의 정소 단위용적당 세포 수는 Floderus법을 적용하여 측정하였다. 정소조직 당 곱슬정세관의 구조물이 차지하는 용적치밀도는 비둘기, 꿩 및 닭에서 각각 91.58%, 92.18% 및 94.21%로 관찰되었고, 3종의 실험동물의 정조세포, 정모세포, 정자세포 및 Sertoli 세포의 용적치밀도는 유의성이 없음을 알 수 있었다 ( $P>0.05$ ). 또한 3종의 실험동물의 정조세

포, 정모세포, 정자세포 및 Sertoli 세포의 절대용적은 유의성이 있음을 관찰할 수 있었다 ( $P<0.05$ ). Sertoli 세포의 평균 용적은 꿩에서  $758.34 \mu\text{m}^3$ 로 가장 낮고 닭에서  $1,242 \mu\text{m}^3$ 로 가장 높게 관찰되었으며 3종의 실험동물에서 유의성이 없음을 알 수 있었다 ( $P>0.05$ ). 정소조직 당 Sertoli 세포 수는 비둘기, 꿩 및 닭에서 각각  $34.52 \times 10^6$ ,  $186.82 \times 10^6$ ,  $810.62 \times 10^6$ 이었다 ( $P<0.05$ ). 정자생성은 비둘기, 꿩 및 닭에서 각각  $8.9 \times 10^6$ ,  $993.9 \times 10^6$  및  $3,018 \times 10^6$ 이었고 3종의 실험동물에서 유의성이 있음을 관찰할 수 있었다 ( $P<0.05$ ). 이들 결과들로 보아 3종의 조류에서 정자생성의 차이는 Sertoli 세포의 크기보다는 Sertoli 세포 수에 의한 것임을 알 수 있었다.

(색인어 : 비둘기, 꿩, 닭, 곱슬정세관, Sertoli세포, 정자생산)

## 인용문헌

- Amann RP, Almquist JO 1961 Reproductive capacity of dairy bulls. I. Technique for direct measurement of gonadal and extragonadal sperm reserves. *J Dairy Sci* 44: 1537-1543.
- Amann RP, Lambiase JT 1969 The male rabbit. III. Determination of daily sperm production by means of testicular homogenates. *J Anim Sci* 28:369-374.
- Berndtson WE, Igboeli G, Parker WG 1987 The number of Sertoli cells in mature Holstein bulls and their relationship to quantitative aspects of spermatogenesis. *Biol Reprod* 37:60-67.
- Berndtson WE, Igboeli G, Pickett BW 1987 Relationship of absolute numbers of Sertoli cells to testicular size and spermatogenesis in young beef bulls. *J Anim Sci* 64:241-246.
- Berndtson WE, Jones LS 1989. Relationship of intratesticular testosterone content of stallions to age, spermatogenesis, Sertoli cell distribution and germ cell-Sertoli cell ratios. *J Reprod Fertil* 85:511-518.
- Cavicchia JC, Dym M 1977 Relative volume of Sertoli cells in monkey seminiferous epithelium: A stereological analysis. *Am J Anat* 150: 501-503.
- Cooke PS, Hess RA, Porcelli J, Meisami E 1991 Increased sperm production in adult rats after transient neonatal hypothyroidism. *Endocrinology* 129:244-248.
- Ewing LL, Zirkin BR 1983 Leydig cell structure and steroidogenic function. *Recent Prog Horm Res* 39:599

-632.

- Fawcett DM 1975 Ultrastructure and function of the Sertoli cell. In : Handbook of Physiology. R. O. Greep, ed. William and Wilkins Baltimore Sect 7 ; 5 : pp 21-55.
- Floderus S 1944 Untersuchungen über den Bau der menschlichen Hypophyse mit besonderer Berücksichtigung der quantitativen mikromorphologischen Verhältnisse. *Acta Pathol Microbiol Scand Suppl* 53:1-276.
- Hochereau-de Revier MT, Perreau C, Lincoln GA 1985 Photoperiodic variations of somatic and germ cell populations in the Soy ram testis. *J Reprod Fertil* 74:329-334.
- Hochereau-de Revier MT, Lincoln GA 1978 Seasonal variation in the histology of the testis of the red deer. *Cervus elaphus*. *J Reprod Fertil* 54:209-213.
- Johnson L, Thompson DL 1983 Age-related and seasonal variation in the Sertoli cell population, daily sperm production and serum concentrations of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in stallions. *Biol Reprod* 29:777-789.
- Johnson L, Zane RS, Petty CS, Neaves WB 1984 Quantification of the human Sertoli cell population : Its distribution, relation to germ cell numbers, and age related decline. *Biol Reprod* 31:785-795.
- Johnson L, Varner DD, Tatum ME, Scrutchfield WL 1991 Season but not age affects Sertoli cell number in adult stallions. *Biol Reprod* 45:404-410.
- Johnson L, Carter GK, Varner DD, Taylor TS, Blanchard TL, Rembert MS 1994 Relationship of daily sperm production with number of Sertoli cells and testicular size in adult horse : role of primitive spermatogonia. *J Reprod Fertil* 100:315-321.
- Kerr JB 1988a A light microscopic and morphometric analysis of the Sertoli cell during the spermatogenic cycle of the rat.

*Anat Embryol* 177:341-348.

- Kerr JB 1988b An ultrastructural and morphometric analysis of the Sertoli cell during the spermatogenic cycle of the rat. *Anat Embryol* 179:191-203.
- Mori H, Christensen AK 1980 Morphometric analysis of Leydig cells in the normal rat testis. *J Cell Biol* 84:340-354.
- Robb GW, Amann RP, Killian GJ 1978 Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *J Reprod Fertil* 54:103-107.
- Roosen-Runge EC 1955 Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. III. Volume changes in the cells of the seminiferous tubules. *Am J Anat* 123:385-398.
- Russel LD, Ren HP, Sinha Hikim I, Schulze W, Sinha Hikim AP 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.
- Sinha Hikim AP, Bartke A, Russel 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 cytology. *Int Rev Cytol* 26:235-301.
- Weber JE, Russel LD, Wong V, Peterson RN 1993 Three-dimensional reconstruction on a rat stage V Sertoli cell. II. Morphometry of Sertoli - Sertoli and Sertoli - germ cell relationships. *Am J Anat* 167:163-179.
- Wing TY, Christensen AK 1982 Morphometric studies on rat seminiferous tubules. *Am J Anat* 165:13-25.
- Wong V, Russel LD 1983 Three-dimensional reconstruction of a rat stage V Sertoli cell. I. Method, basic configuration, and dimensions. *Am J Anat* 167:143-161.