

ICI 182,780이 마우스의 정소망에 미치는 영향

김 명 훈

(광주보건대학 물리치료과)

Effects of the ICI 182,780 on Change of the Rete Testis in the Mouse

Kim Myung-Hoon, P.T., Ph.D.

(Dept. of Physical therapy, Kwangju Health College)

ABSTRACT

Estrogens are critical to the functioning and maintenance of a diverse array of tissues and physiological systems in mammals. The actions of estrogen on such classical targets as the reproductive tract, gonads, mammary tissue, and hypothalamic/ pituitary axis have been well characterized.

A role in nonreproductive tissues, such as maintenance of bone mineral density and cardiovascular health in woman, as has been described.

There were no significant differences in the average of body weights, testis weights, among the experimental groups. The lumen of rete testis began to dilate from the day 8 and continued to the 59 post-treatment. The average diameter of dilate of rete testis in ICI 182,780 treated group increased 2.3-fold compared to the control group. Epithelial

본 논문은 2004년도 광주보건대학 학술연구조성비 보조에 의한 것임.

cell height in the rate testis of the treated mice decreased all the time periods, compared to the control.

Key Words : Rete Testis, Estrogen

1. 서론

수컷 생식기관은 정자형성과 테스토스테론(testosterone) 분비를 담당하고 있는 정소를 비롯하여 부정소, 정관, 정낭, 사정관, 전립선 등으로 구성되어 있다. 정소는 정낭에 싸여 항문 바로 밑에 위치하고 있으며, 타원형으로 좌우 한 쌍이 길고 불룩하게 튀어나와 음낭에 싸여있고 크기는 지름 약 5 cm, 가로 약 3 cm, 두께 약 2 cm, 무게 8.5 g 정도로 정자의 생산과 내·외분비 응성 호르몬을 분비하는 기능이 있다.

정소상체는 정소에 밀착하여 길게 뻗어 있으며 두부(caput), 체부(carpus), 미부(cauda)로 구성되어 있다. 두부에서 정자의 농축이 일어나며, 정소상체를 이동하는데 정자는 9~12일 정도 걸리며, 정자의 형성과 성숙과정을 거치는 데는 35~45일이 소요된다. 그러므로 정액을 자주 채취하게 되면 미성숙 정자가 배출하게 되어 수태율을 감소시킨다.

정소는 세정관을 무수히 포함하는 수백개의 작은 소엽으로 되어 있는데 세정관은 성세포 상피, 세르톨리세포, 기저막으로 구성되어 있다. 성세포 상피에서는 FSH와 테스토스테론의 자극으로 정자가 발생하고, 세

르톨리세포는 성세포에 영양물질을 공급하고 노폐물을 제거하며, 기저막은 면역적 방어수단으로 기능을 한다. 세정관들이 모여서 정소망(rete testis)과 연결되고 다음에 수출소관에 연결된다. 종에 따라 정소망에서 2~33개의 굴곡된 수출소관을 형성하여 부정소와 연결된다(Ilio and Hess, 1994). 소, 염소, 개 등의 정소망은 정소 속에 존재하며(Hees et al., 1987; Orsi et al., 1983), 사람, 흰쥐, 마우스, 새 등의 정소망은 정소의 가장자리에서 수출소관과 연결된다(Budras and Sauer, 1975; Cooper and Jackson, 1972).

에스트로젠은 여러 장기에서 그 기능이나 세포의 성장 및 분화에 관여하는 중요한 호르몬으로 유선, 자궁, 난소, 고환, 전립선과 같은 생식기관과 생식기관이 아닌 폐와 뇌 같은 부위에도 존재한다(Couse et al., 1997; Roselli et al., 1997). 특히 여러 종의 정자속에서 고농도로 발견되며(Carreau and Levallet, 1997; Claus et al., 1992), 뼈의 유지와 심맥 관계에 있어서도 생리적으로 중요한 역할을 하고, 안면홍조, 발한, 위축성장염 등을 감소시키며, 골다공증, 심혈관계 질환의 발생을 예방하는 효과가 있다(Grey et al., 1996; Hulley et al., 1998).

에스트로젠은 여성호르몬으로 간주되어 왔지만 많은 연구에서 수컷의 정액에서도

발견되어지는데, 흰쥐의 정소망의 경우 암컷의 혈청 estradiol보다도 높은 250 pg/ml의 높은 농도로 존재함이 보고된 바 있다 (Smith et al., 1975). 수컷에서의 에스트로젠은 P450 aromatase라는 효소에 의해 테스토스테론으로부터 에스트로젠으로 전환되어 생식기관에 작용하게 되는데 사람(Inkster et al., 1995), 흰쥐(Janulis et al., 1998), 돼지(Conley et al., 1996), 양(Bilinska et al., 1997)은 간질세포에서, 마우스(Nitta et al., 1993)에서는 간질세포의 세정관에서도 발견되어 이들 동물의 수컷 생식기관에서 에스트로젠이 작용하고 있음을 알 수 있다. 최근 연구에 의하면 정세포와 정자 내에도 다량의 P450 aromatase가 존재함이 보고되고 있는데, 정세포와 정자내에서의 이 효소의 비율은 정소내의 전체 aromatase 중 62%를 차지한다고 한다(Carreau et al., 1999).

에스트로젠에 대한 세포반응은 에스트로젠 수용체(estrogen receptor)를 통해서 일어나는데 수출소관과 부정소에서 에스트로젠 수용체들은 암컷의 자궁조직보다 더 많이 나타나고 있다고 한다(Fisher et al., 1997; Hess et al., 1997). 이와 같은 보고들은 에스트로젠이 수컷 생식기관인 수출소관에서 중요한 작용을 하고 있음을 보여주는 것이다.

유방암 치료제로 개발된 ICI 182,780은 에스트로젠 수용체에서 에스트로젠의 결합을 방해한다. 즉 에스트로젠이 수용체와 결합하여 유방암 세포를 증식시키는데 에스트로젠과 분자구조가 유사한 항에스트로젠이 에스트로젠 수용체에 경쟁적으로 결합하고 이로 인해 에스트로젠이 기능을 나타내지

못하게 하여 이로 인해 암세포의 증식이 억제된다.

그러나 이러한 ICI 182,780의 오랜 복용은 동물에 영향을 미치리라 본다. 이러한 영향을 알아보기 위해 ICI 182,780을 마우스에 한 마리당 주 1회 0.1 ml를 투여하여 정소망의 직경과 정소망의 높이와 형태를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

생후 30일된 성체 수컷 C57BL/10 계통 마우스를 42마리 사용하였으며, 실험 기간 동안 사료와 물은 무제한으로 공급하였다. 마우스를 무작위로 대조군과 처리군으로 나누고 59일 동안 주 1회씩 대조군의 마우스에는 castor oil 0.1 ml를 피하 주사하였고, 처리군의 마우스에는 ICI 182,780을 0.1 ml (ICI농도는 5 mg에 해당함) 투여했다.

대조군과 처리군의 마우스는 처리 후 8, 10, 12, 14, 16, 25, 59일자에 마우스 한 마리당 heparin 0.1 ml(100 unit)를 먼저 주입하고 다음에 ketamine(마우스 체중 10 g에 대하여 ketamine 1 mg의 농도)과 xylazine(마우스 체중 10 g에 대하여 0.1 mg 농도)을 혼합 주입하여 마취시키고, 0.1M cacodylate buffer(pH 7.4)에 용해한 4% glutaraldehyde를 마우스의 좌심실에 관류용 바늘을 찔러 넣어 peristaltic pump로 20분간 관류시켰다. 각 희생 날짜마다 각 군당 3마리의 마우스를 배정하였다.

조직 처리과정에서 정소망을 적출하여 차

후 조직표본으로 이용할 때까지 4℃의 동일한 관류 용액에 보관하였으며, 현미경 관찰을 위해서는 조직을 cacodylate buffer(pH 7.4)로 세척하고 ethanol에 탈수시켜 glycolm-ethacrylate로 포매하였다(Fig. 2). 조직을 2.5 μ m 두께로 잘라서 35℃에서 건조시키고, PAS 반응 및 Mayer의 hematoxylin으로 이중 염색하고 permount로 봉입하였다.

조직절편은 현미경에 부착된 Spot-2 디지털 카메라로 촬영하여 Photoshop 소프트웨어 5.5 버전에 저장하여 날짜별로 3개의 대조군과 ICI 처리군 절편을 촬영해 저장한 영상을 Scion Image Software로 분석하였다. 정소망의 관장 직경은 3회 측정하고, 세포의 높이는 마우스마다 정소망 부위의 30개 상피세포에서 기저부(base)부터 정점(apex)까지 측정하였다. 대조군과 처리군은 Student's t-test로 분석하였으며, $p < 0.05$ 일 때 유의성 있는 것으로 간주하였고, 분석한 자료는 평균 \pm SEM으로 나타내었다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중과 정소 무게

대조군과 처리군의 평균 체중에는 유의성

있는 차이는 없었지만(Fig. 1), 처리 후 14일째를 제외하고 처리군에서 대조군보다 약간의 체중 증가를 보였으며, 10일째와 59일째에는 유의한 차이를 보였다. 정소 무게도 대조군보다 처리군에서 약간의 무게의 증가를 보였으며 처리 후 59일째에 처리군 마우스가 대조군에 비교하여 유의하게 증가하였다(Fig. 2). 본 실험에서와 같이 대조군과 처리군의 전체 체중과 정소 평균 무게에는 유의성이 없었지만 처리 후 경과 기간이 긴 59일째에는 ICI 처리군에서 체중과 정소 무게가 증가되는 경향을 나타내었다. 이는 Hess 등(1997a)의 aERKO 마우스 실험에서 생후 32~82일째까지 정소의 무게가 일시적으로 증가하다가 그 이후부터 185일째까지 꾸준한 감소를 보여주는 실험과 비슷한 결과를 보여주는 것으로 ICI 처리군 마우스의 체중 증가가 정소 무게 증가 때문으로 보인다. Simorangkir 등(1995)은 오른쪽 정소를 거세한 반쪽 정소 흰쥐(hemicastration rats)의 경우 체중과 정소의 무게가 증가된다는 점을 발표하였고, 여포자극호르몬에 마우스를 노출시키면 체중, 정소의 무게, 세정관의 직경이 확대된다는 보고도 있다(Meachem et al., 1996). 이러한 호르몬 작용의 차단, 제거 혹은 노출 등은 체중과 정소의 무게 변화에 영향을 주는 것으로 사료된다.

Body weight

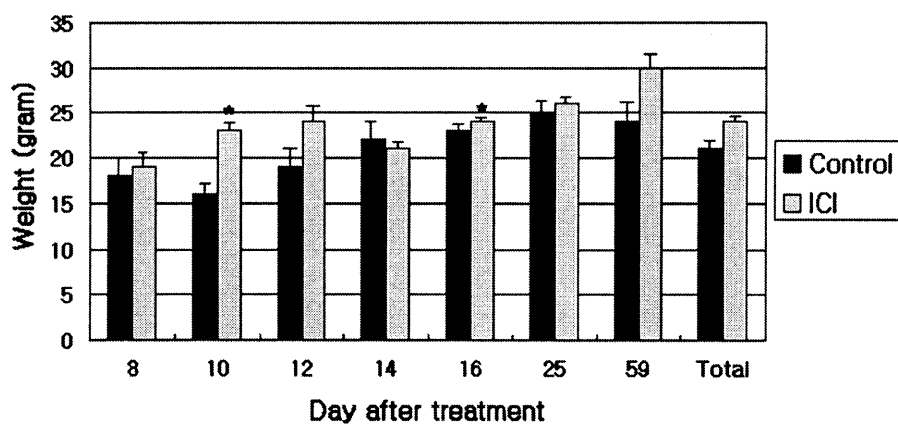


Fig. 1. Body weight from control and ICI-treated groups on each day after treatment.

Testis weight

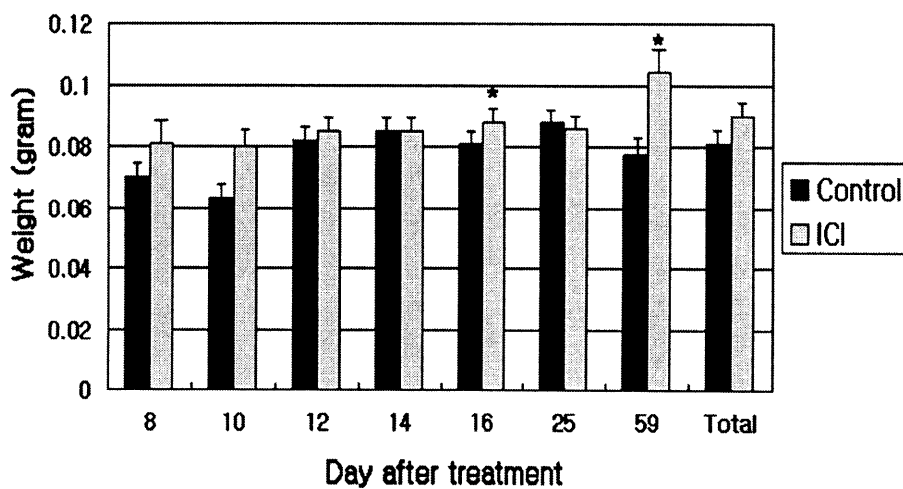


Fig. 2. Testis weight from control and ICI-treated groups on each day after treatment.

2. 정소망 직경

마우스의 정소망 직경은 대조군에서는 실험기간 동안 변화가 일어나지 않았으나 ICI 처리군에서는 많은 변화가 일어났다. 처리군의 정소망 평균 직경은 $164.9 \pm 32.3 \mu\text{m}$ 로 $71.3 \pm 16.7 \mu\text{m}$ 인 대조군에 비하여 2.3배로 팽창되었으며, 특히 처리 후 10일째, 14일째, 59일째에는 처리군의 정소망의 직경이 각각 $167.8 \pm 78.3 \mu\text{m}$, $208.4 \pm 28.1 \mu\text{m}$, $337.1 \pm 31.2 \mu\text{m}$

로 대조군의 $41.3 \pm 5.7 \mu\text{m}$, $72.2 \pm 9.6 \mu\text{m}$, $98.6 \pm 15.8 \mu\text{m}$ 에 비해 407%, 288%, 344%까지 팽창되었다(Fig. 3-4). Lee 등(2000)의 연구에서 생후 35일 된 aERKO의 정소망 직경의 내장이 팽창되었는데 정도의 차이는 있으나 결국 에스트로겐의 정소망에 대한 작용을 확인케 해 주는 것으로 아마도 수출소관에서의 관광 분비물이나 정소에서 과도한 분비물의 제거가 일어나지 않기 때문에 나타나는 결과가 아닌가 생각된다.

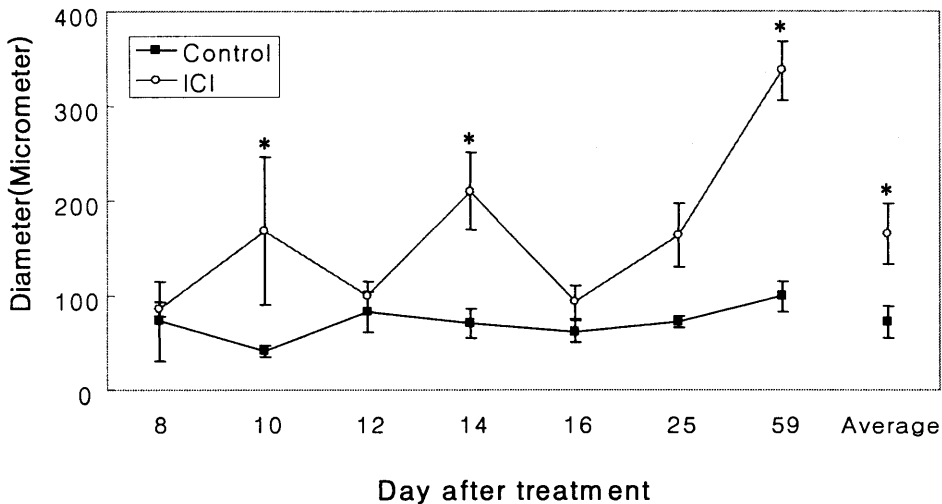


Fig. 3. Luminal diameter of the rete testis from control and ICI-treated groups on each day after treatment. The data are presented as mean \pm SEM. Significant differences(*) between control and treated groups at each time point are noted($p < 0.05$).

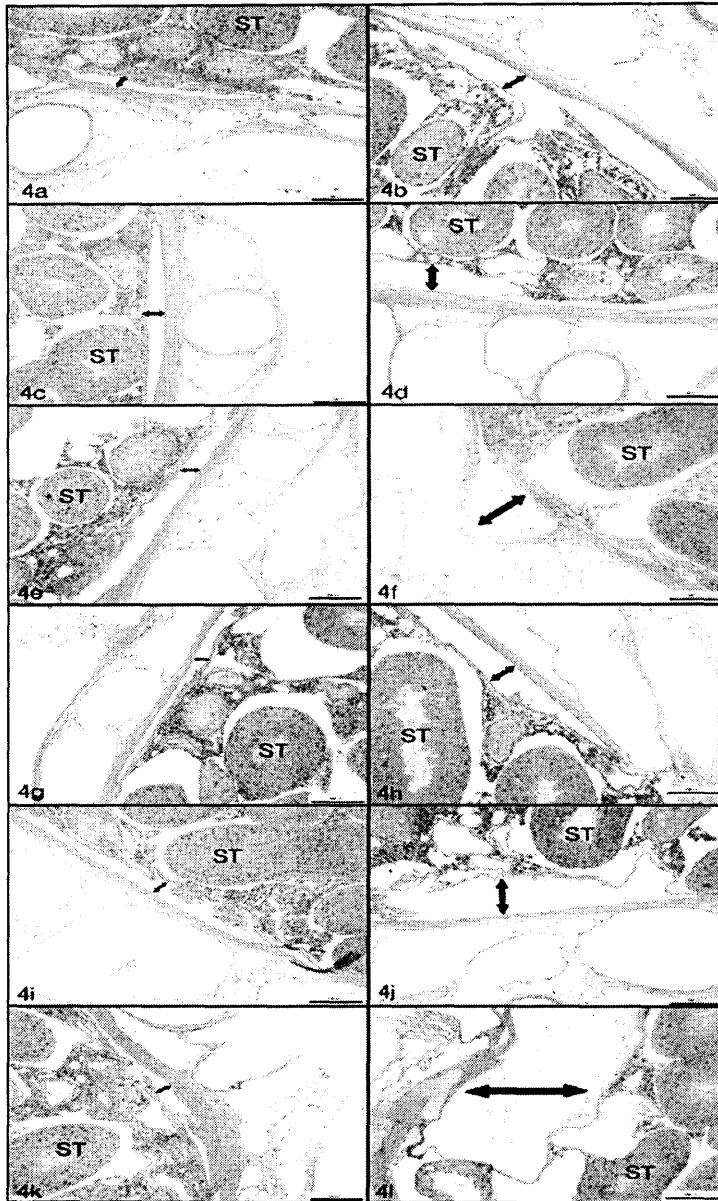


Fig. 4. Sectoins of the rete tests.

On day 8 after treatment(4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 10 after treatment(4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 12 after treatment(4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 16 after treatment(4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 25 after treatment(4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 59 after treatment(4a: control, 4b: ICI-treated)

3. 정소망 상피세포 높이

대조군 마우스의 정소망 상피세포는 높이와 형태에 있어서 다양하였다(Fig. 5-6). 백막(tunica albuginea)에 위치한 세포는 관강내면에 위치한 세포보다 더 편평하고 얇았으며(Fig. 6), 세포핵은 두 군 모두 형태가

다양하였다. 처리군 세포 높이의 평균은 대조군의 $5.7 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 보다 22%까지 감소되었다. Lee 등(2000)의 35일자 ICI 처리로 마우스와 aERKO마우스에서도 각각 36%와 47%의 감소를 보여주었는데 aERKO마우스의 형태적 변화가 ICI 처리군 마우스보다 크게 나타났다.

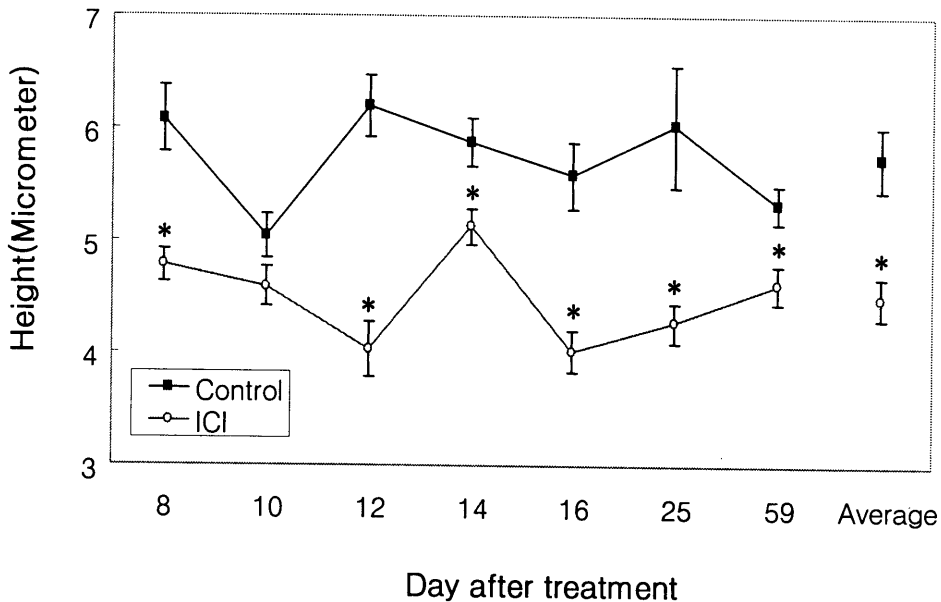


Fig. 5. Epithelial cell height in the rete testis from control and ICI-treated groups on each day after treatment. The data are presented as mean±SEM. Significant differences(*) between control and treated groups at each time point are noted($p < 0.05$).

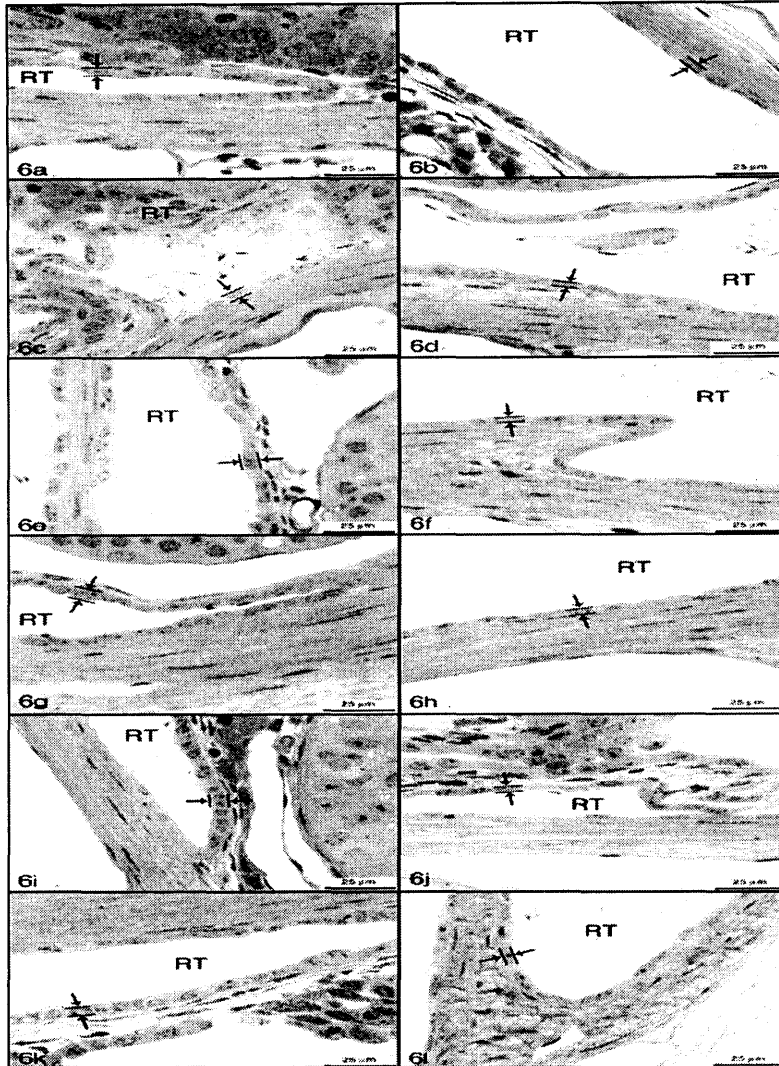


Fig. 6. Epithelial cell in rete tests.

On day 8 after treatment (4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 10 after treatment (4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 12 after treatment (4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 16 after treatment (4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 25 after treatment (4a: control, 4b: ICI-treated)
 On day 59 after treatment (4a: control, 4b: ICI-treated)

IV. 결 론

본 연구는 수컷 생식기관내 에스트로겐 작용을 알아보고자 항에스트로겐 ICI 182,780을 투여하고, 이로 인한 마우스의 체중과 정소의 무게, 정소망의 직경과 정소망의 상피세포의 높이와 형태를 관찰하였다.

본 실험에서 ICI 처리 후 가장 빠른 시기인 8일째에 벌써 마우스 수컷 생식기관의 형태적 변화가 야기되었다.

대조군과 처리군의 평균 체중에는 유의성 있는 차이는 없었지만, 처리 후 14일째를 제외하고 처리군에서 대조군보다 약간의 체중 증가를 보였다. 정소 무게도 대조군보다 처리군에서 약간의 무게의 증가를 보였으며 처리 후 59일째에 처리군 마우스가 대조군에 비교하여 유의하게 증가하였다. 본 실험에서와 같이 대조군과 처리군의 전체 체중과 정소 평균 무게에는 유의성이 없었지만 처리 후 경과 기간이 긴 59일째에는 ICI 처리군에서 체중과 정소 무게가 증가되는 경향을 나타내었다.

정소망의 직경과 상피세포의 높이와 형태에 실험 기간 내내 계속하여 나타났다. 처리군 정소망의 평균적인 관강 직경은 대조군보다 2.3배 확장되었다. 정소망의 상피세포의 높이는 처리군의 마우스에서 대조군과 비교해 볼 때 처리 후 경과 기관 내내 유의할만한 감소를 가져왔다. 이는 에스트로겐 수용체가 수출소관에서 정소액의 재흡수가 항에스트로겐에 의해 차단됨으로 해서 분비물이 정소망으로 역류해서 이의 압력으로 정소망의 내강이 확장된 것으로 사료된다.

동시에 역류된 분비물의 압력에 의해 정소망의 상피세포의 높이가 감소된 것으로 생각된다.

항에스트로겐 ICI 182,780을 수컷마우스에 투여한 본 실험에서 에스트로겐 수용체 알파가 결핍되어 불임을 유발하는 aERKO의 유전자 변형 동물에서 관찰되었던 것과 유사한 생식기관의 형태적 변화가 나타났다.

참고문헌

- Bilinska B, Lesniak M, Schmalz B : Are ovine Leydig cells able to aromatize androgens? *Reprod Fertil Develop.* 9;1-7, 1997.
- Budras KD, Sauer T : Morphology of the epididymis of the cock(*Gallus domesticus*) and its effect upon the steroid sex hormone synthesis. I. Ontogenesis, morphology and distribution of the epididymis. *Anat Embryol.* 148;175-196, 1975.
- Carreau S, Levallet J : Cytochrome P450 aromatase in male germ cells. *Folia Histochem Cytobiol.* 35;195-202, 1997.
- Carreau S, Genissel C, Bilinska B, et al. : Sources of estrogen in the testis and reproductive tract of the male. *Int J Androl.* 22;211-223, 1999.
- Claus R, Dimmick MA, Gimenez T, et al. : Estrogens and prostaglandin F2 α in the semen and blood plasma of

- stallions. *Theriogenology*. 38;687-693, 1992.
- Conley AJ, Corbin CJ, Hinshewood MM et al : Functional aromatase expression in porcine adrenal gland and testis. *Biol Reprod*. 54;497-505, 1996.
- Cooper ER, Jackson H : The vasa efferentia in the rat and mouse. *J Reprod Fertil*. 28;317-319, 1972.
- Couse JF, Lindzey J, Grandien K et al : Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor-alpha and estrogen receptor-beta messenger ribonucleic acid in the wild-type and ERalpha-knockout mouse. *Endocrinology*. 138;4613-4621, 1997.
- Fisher JS, Millar MR, Majdic G : Immunolocalization of oestrogen receptor-alpha within the testis and excurrent ducts of the rat and marmoset monkey from perinatal life to adulthood. *J Endocrinol*. 153;485-495, 1997.
- Grey AB, Stapleton JP, Evans MC et al : Effect of hormone replacement therapy on bone mineral density in postmenopausal women with mild primary hyperparathyroidism. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med*. 125;360-368, 1996.
- Hees H, Wrobel KH, Kohler T et al : Spatial topography of the excurrent duct system in the bovine testis. *Cell Tissue Res*. 248;143-151, 1987.
- Hess RA, Gist DH, Bunick D et al : Estrogen receptor(α and β) expression in the excurrent ducts of the adult male rat reproductive tract. *J Androl*. 18;602-611, 1997.
- Hulley S, Grady D, Bush T et al : Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *J Am Med Assoc*. 19;608-613, 1998.
- Ilio KY, Hess RA : Structure and function of the ductuli efferentes. *Microsc Rec Tech*. 29;432-467, 1994.
- Janulis L, Bahr JM, Hess RA et al : Rat testicular germ cells and epididymal sperm contain active P450 aromatase. *J Androl*. 19;65-71, 1998.
- Meachem SJ, McLachlan RI, de Kretser DM et al : Neonatal exposure of rats to recombinant follicle stimulating hormone increases adult Sertoli and spermatogenic cell numbers. *Biol Reprod*. 54;36-44, 1996.
- Nitta H, Bunick D, Hess RA et al : Germ cells of the mouse testis express P450 aromatase. *Endocrinology*. 132;1396-1401, 1993.
- Orsi PAM, Dias SM, Seullner G et al : Structure des canaux efferentes du porc domestique. *Anat Anz*. 163;249-254, 1983.

- Roselli CE, Abdelgadir SE, Resko JA : Regulation of aromatase gene expression in the adult rat brain. *Brain Res Bull.* 44;351-357, 1997.
- Simorangkir DR, de Kretser DM, Wreford NG : Increased numbers of Sertoli and germ cells in adult rat testes induced by synergistic action of transient neonatal hypothyroidism and neonatal hemicastration. *J Reprod Fertil.* 104;207-213, 1995.
- Smith MS, Freeman ME, Neill JD : The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat; prolactin, gonadotrophin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology.* 96;219-226, 1975.