

韓國在來山羊의 精子發生에 관한 研究

李載洪 · 李芳煥 · 李成鎬*

全南大學 農科大學 獸醫學科 · 公州專門大學*

(1985. 9. 18 接受)

Studies on Spermatogenesis in Korean Native Goat

Jae-hong Lee, Bang-whan Lee and Seong-ho Lee*

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Chonnam National University;

Gong-joo National Junior College*

(Received September 18, 1985)

Abstract: This study was conducted in order to observe the changes in cellular associations of seminiferous tubules from 8 to 20 weeks of age and to obtain the cycle and relative duration of the seminiferous epithelia from 24 to 32 weeks of age.

Twenty-eight Korean native male goats were used in the experiment and divided into 7 groups, consisting of 4 goats each, with four weeks intervals from 8 to 32 weeks of age.

The results were summarized as follows;

1. Gonocytes were seen at 8 weeks of age, however they were not observed as from 12 weeks. Both type A-spermatogonia and type B-spermatogonia occurred from 8 weeks, while primary spermatocytes were found from 12 weeks. Secondary spermatocytes and spermatids appeared from 16 weeks, and increased in numbers sequentially until 32 weeks of age. Spermatozoa were observed at first at 20 weeks of age.

2. Type A-spermatogonia appeared approximately twice as many at stage 2 as compared to stage 1, while the same numbers of cells were seen in both stages 1 and 8, showing the least number among 8 stages of the cycle of the seminiferous epithelia. The type B-spermatogonia were found during the stage 5 to 8, not to be detectable during stage 1 to 4. The number of primary spermatocytes of the leptotene phase increased markedly during stage 1 to 4, and decreased afterwards. The primary spermatocytes of the pachytene phase were shown the least in number at stage 4. The secondary spermatocytes could be seen only at stage 4 and the largest number of spermatids was seen at the stage 4 among 8 stages.

3. The relative frequencies of each stage among stages 1 to 8 of the cycle of the seminiferous epithelia were 27.5, 17.5, 12.8, 5.8, 8.9, 8.3, 12.0 and 7.2% respectively.

4. Some of the nuclei of Sertoli cells transformed from the "parallel" type to the "perpendicular" type. This evolution took place from stage 1 to 6, when the number of "perpendicular" type nuclei reached a peak and the number was decreased in the rest of the stages. Thus, establishment of spermatogenesis in Korean native goats was completed at the age of 20 weeks.

本研究는 1984年度 韓國科學財團 研究費에 의하여 수행되었음.

緒論

各種動物의 精子發生에 관한 研究는 오랜동안 계속되어 왔으나 아직까지도 不分明한 點이 많은데 그理由는 精細管을 構成하고 있는 細胞種의 多樣性과 그의 配列 및 細胞分裂 등이 動物에 따라 特異하고 同種의 動物에서도 年齡과 氣候 등의 條件에 의한 變化에 関한 것으로 알려졌다. 現在 精細管上皮의 精子發生週期를 두가지 樣式으로 大別하고 있는데 하나는 Leblond 및 Clermont,^{13,14)} Clermont 및 Leblond,^{5~10)}와 Oakberg,¹⁰⁾ Berndston, 등⁴⁾에 의하여 各種 哺乳動物의 精子細胞에 대한 形態變化를 14期로 細分하여 한 週期로 하였고, 다른 하나는 Roosen-Runge 및 Giesel,¹⁹⁾와 Swierstra,^{20,21)}와 Amann, 등^{2,8)}이 흰쥐, 토끼, 면양, 돼지 그리고 소를 대상으로 精母細胞의 核分裂과 精子細胞 및 精子의 位置와 形態變化 등에 따라서 8期로 구분하여 한 週期로 하였다. 또한 性成熟을 前後로 한 成長過程에 따른 研究로는 Clermont 및 Perey,⁶⁾의 흰쥐, Curtis 및 Amann¹²⁾의 雉子에 대한 報告가 있었다.

우리 나라에서 飼育되고 있는 固有品種인 山羊에 대하여는 精細管上皮의 精子發生에 대한 깊은 研究가 없었을 뿐 아니라 外國의 報告도 稀少하였다. 本 研究는 山羊의 成長過程에 따른 精細管上皮細胞組成의 變化와 性成熟期에서의 精細管上皮의 精子發生週期 및 그의 出現比와 細胞組成 등을 調査하므로서 繁殖分野研究에 基礎資料를 얻고자 실시하였다.

材料 및 方法

試料 및 標本製作: 本 研究에 쓰인 黑色在來山羊은 晚春에 光州市 近距離의 山間地帶에 位置한 山羊飼育場에서 出生記錄이 正確한 山羊中 臨床의 으로 健康하고 營養이 좋은 것을 無作爲로 指定하였다. 8週齡부터 32週齡까지의 山羊을 適當 4頭씩 合計 28頭를 對象으로 睾丸을 摘出하여 그 重量을 秤量한 다음에 睾丸의 中央部에서 1cm³ 程度로 組織塊를 引出하여 즉시 固定하였다. 이때 睾丸이 過大하거나 矮少한 重量의 异常睾丸은 除外하였다.

固定方法은 睾丸組織을 10% 中性 formalin液과 bouin液에 각각 24時間, carnoy液에 4時間, zenker液에 12時間 固定하였다. 染色方法은 組織을 paraffin包埋 후 5μm으로 薄切하여 formalin液에 固定한 組織은 Mayer's hematoxylin-eosin 染色을 하여 一般 組織觀察에 사용하였고 核의 微細構造觀察을 위해서는 zenker液에 固定한 組織을 Heidenhain's iron hematoxylin 染色을 하였다. 精子細胞의 觀察에는 PAS 染色을 하였으며 이

反應에 '쓰인 schiff's reagent는 McManus法¹⁵⁾에 의하였고 hematoxylin 染色을 병행하였으며 feulgen 染色도 실시하여 鏡檢하였다.

觀察方法: 精細管上皮에 出現된 各種 細胞組成의 分類基準은 Clermont,⁵⁾ Berndston,⁴⁾과 Curtis 및 Amann¹²⁾의 方法을 參考로 하였고 各 週齡別로 圓形 精細管을 指定하여 週齡當 50個以上을 調査하였다. 한편 性成熟期에 該當된 24週齡부터 32週齡사이의 精細管上皮의 精子發生週期는 區分이 明確한 8期로 나누었으며 Roosen-Runge 및 Giesel¹⁹⁾와 Swierstra^{20,21)}의 分類基準을 參考로 하여 各 週齡에서 400個씩 計 1,200個의 圓形精細管을 調査하여 出現比를 算定하였다. 細胞의 計測에는 Olympus製 eyepiece reticle 百等分을 使用하였으며 細胞의 觀察에는 1,500倍로 鏡檢하였다.

細胞數의 正確을 期하기 위하여 細胞數의 續正은 Abercrombie¹⁾의 公式에 準하였으며 本 實驗에서는 $P=C \times \frac{T}{L+T}$ 的 公式을 適用하였다. 이때 P: 細胞核의 番의 平均數 C: 細胞核의 觀察數 L: 核의 크기 T: 標本切片의 두께를 表示하였다.

結果

本 實驗에 使用한 睾丸의 重量은 12週齡에서 16週齡

Table 1. Average Number of Germ and Sertoli Cells of Seminiferous Epithelia in Weeks of Age in the Goat

Type of Cells	Weeks			
	8	12	16	20
Cell number	18.2	22.9	89.9	129.4
Sertoli cell	14.4	14.1	18.5	14.3
Gonocyte	0.6	—	—	—
Spermatogonia				
Type Ap	2.3	2.2	2.0	3.8
Type Ad	0.4	0.5	0.4	0.5
Intermediate	—	—	—	0.25
Type B	0.5	0.4	0.3	0.3
Spermatocytes				
Leptotene	—	5.3	19.4	16.8
Pachytene	—	0.4	17.6	19.3
Secondary	—	—	4.5	5.0
Sperrnatids				
Goigi phase	—	—	13.4	39.3
Cap phase	—	—	3.9	7.5
Acrosome phase	—	—	9.9	20.0
Spermatozoa	—	—	—	2.3

사이에 가장 큰 急成長을 보였고 그 후 28週齡에서 32週齡까지에 다음 가는 成長을 보였다. 한편 精細管의 發育에서는 管經이 8週齡과 16週齡사이에서 越等히 增大하였으며 24週齡 이후 32週齡까지에는 緩慢하게 發育되었다(Fig. 1). 그리고 精細管의 成長期인 8週齡에서 20週齡까지에 出現된 管上皮내의 總細胞數와 各種 細胞數의 平均數는 Table 1에 表示된 바와 같다.

8週齡 : 精細管의 基底膜에 頂하여 sertoli 細胞와 精祖細胞가 混在하여 보통 一列로 配列되어 있었다. 精祖細胞는 세가지型이 出現되었으며 그 중 Ap型精祖細胞가 가장 많고, Ad型精祖細胞와 B型精祖細胞는 적게 觀察되었다. Ap型精祖細胞는 核이 보통 球形 혹은 卵圓形이며 크기는 8 μm 程度이고 黑은 核속에 1개의 核小體와 微細한 染色質의 顆粒을 가졌다(Fig. 2). 이에 비하여 Ad型精祖細胞는 같은 核形이었으나 染色質顆粒이 더 多く 核내에 分布하여 더 濃染되었다. 核의 크기는 Ap型과 비슷하였다(Fig. 2). B型精祖細胞는 核내에 크고 작은 染色質顆粒이 흩어져 보이며 마치 雜추리의 알껍질과 비슷한 모양을 가졌으며 크기는 7 μm 정도였다(Fig. 2). 8週齡에서 gonocyte가 腔內 中央에 가까이 少數 出現되었으며 核의 크기는 보통 8 μm 이었으나 細胞分裂중에는 10~13 μm 정도의 큰 球形核이 觀察되었다(Fig. 2). 8週齡中 일부 精細管에서 第1精母細胞가 少數 出現되었으나 大部分의 精細管에서는 觀察할 수 없었다. 管內 細胞數는 平均 18.2個이었다.

12週齡(Fig. 3) : 細胞의 配列은 精細管의 基底膜에 Sertoli 細胞와 各種 精祖細胞가 出現되었으며 그 數는 8週齡보다 若干 增加되었다. 第1精母細胞의 細系期 leptotene phase가 처음 出現되었고 核의 크기는 5 μm 정도였으며 肥系期 pachytene phase도 觀察되었으나 細系期보다 內腔側에 位置하였고 7 μm 정도 크기의 核을 가졌다. 8週齡에서 觀察되었던 gonocyte는 이미 消失되었고 精細管내에는 작은 管腔을 가진 것도 있었다. 管內 細胞數는 平均 22.9個이었다.

16週齡(Fig. 4) : 管內에는 少數의 第2精母細胞와 多量인 各樣의 精子細胞가 出現되었다. 精祖細胞와 Sertoli 細胞는 管의 基底膜에 頂하여 位置하였고 그 內側에 第1精母細胞의 細系期의 核이 多數 觀察되었으며 核의 크기는 6 μm 정도이었다. 細系期의 核의 內腔側에 肥系期의 核이 비슷한 數로 配列되었고 核의 크기는 9 μm 정도였으며 그 부근에 少數의 第2精母細胞도 出現되었다.

核의 크기는 5 μm 정도였으며 球形이고 核膜은 뚜렷하며 어두운 染色質이 흩어져 있었고 그 속에 보통 1個의 核小體를 가졌다. 第1精母細胞의 內腔側에 出現

된 精子細胞는 골지期 golgi phase가 가장 많았고 다음에 尖端體形成期 acrosomal phase였고 이어서 精子帽形成期 cap phase이었다. 골지期 및 精子帽形成期의 核의 크기는 5 μm 정도였으며 尖端體形成期에서는 3~5 μm 정도의 橢圓形核을 나타내고 있었다. 16週齡의 精細管에 있어서 精子發生週期 spermatogenic cycle의 8期중 I, II期가 優勢하였고 III期는 稀少하였다.

20週齡(Fig. 5) : 精祖細胞의 數는 Ap型, Ad型, B型 In型 精祖細胞의 順으로 出現되었으나 Ap型이 越等하였다. 第1精母細胞에서 細系期와 肥系期의 核數는 비슷하였고 精子細胞는 더욱 多量으로 觀察되었다. 그 중 골지期가 越等히 많았고 다음에 尖端體形成期였으며 이어서 精子帽形成期였고 마지막이 成熟期로서 平均 2,3個에 不過하였다. 精子發生週期의 各期에 該當된 것이 모두 觀察되었으며 各期중에서 I, III, IV, II, VII, V, VII, VI期의 順으로 出現된 傾向을 보여주었으나 性成熟期의 精子發生週期에서 보였던 出現率의 樣相과는 差異가 있었다. 精細管내의 細胞數는 平均 129.4個이었다.

精細管 週期의 8期別 細胞組成

第1期(Fig. 6) : 精細管의 管腔에서 精子가 消失될 때부터 精子細胞의 長軸成長이 시작할때까지이며 Sertoli 細胞, Ap, Ad, In 精祖細胞가 管의 基底膜을 围복한다. 未熟한 第1精母細胞인 前細系期와 細系期가 基底膜가까이 位置하고 成熟한 第1精母細胞인 肥系期가 成熟한 第1精母細胞와 精子細胞사이에 觀察되었다. 精子細胞는 核의 圓形이고 核膜은 뚜렷하여 核의 약 1/3이 어둡게 染色되는 尖端體 acrosome을 가졌다.

第2期(Fig. 7) : 精子細胞의 核이 長軸成長을 끝마치는 단계이며 第2期의 처음에는 核이 卵圓形이었으나 마지막에는 完全히 伸長되었다. 第1精母細胞의 2世代가 나타났으며 核膜은 半程度만 觀察되었다. 基底膜을 Ap, Ad精祖細胞와 Sertoli 細胞가 덮고 있었으며 Ap型精祖細胞의 數는 第1期보다 2倍가까이 增加되었다.

第3期(Fig. 8) : 精子細胞의 長軸成長末期부터 第1精母細胞의 1次成熟分裂初期까지이며 Sertoli 細胞, A p, Ad, In細胞精祖細胞가 基底膜을 덮고 있었다. 2世代의 第1精母細胞가 出現하여 肥系期의 核은 第2期보다 一간 커졌다. 精子細胞는 길쭉한 形態를 갖추었다.

第4期(Fig. 9) : 第1成熟分裂의 시작부터 第2成熟分裂의 末期까지이며 sertoli 細胞와 Ap, Ad, In精祖細胞가 基底膜을 围복한다. 이 時期의 初期에는 2世代의 精子細胞가 出現되었으며 成熟한 第1精母細胞인 肥系期 diplotene와 移動期 diakinesis에 들어가 核이 크게 觀察되었고 다른 期에 비해 成熟한 第1精母細胞

의 수가 감소되었다. 第2精母細胞가 第4期에서만 出現되었으며 이 細胞의 核은 보통 5~6 μm 의 크기로서 球形이며 明確한 核膜을 가졌고 核質은 어둡게 觀察되었다. 第2精母細胞는 2次成熟分裂을 하여 새로운 精子細胞가 되었으며 뚜렷한 核膜을 가진 球形의 核을 가졌다. 精子는 Sertoli細胞에 結束되기 시작하였다.

한편 In型精母細胞가 第1, 2, 3期에 비해 增加되는 時期였다.

第5期(Fig. 10) : 第2成熟分裂의 끝에서 精子細胞의 核이 면지모양으로 보일 때 까지이며 Sertoli細胞,

Ad, Ap, In精母細胞와 B型精母細胞가 基底膜을 覆하고 있었다. B型精母細胞는 第5期에 出現되었으며 球形의 核을 가졌고 뚜렷한 核膜에 많은 染色核仁[karyosome]이 부착되어 있었다. 第1精母細胞는 肥系期에 해당되었으며 染色體는 網狀 혹은 花다발모양으로 觀察되었다. 精子細胞는 몇개의 染色核仁이 核膜에 부착되었고 精子는 Sertoli細胞에 다발처럼 結束되어 있었다.

第6期(Fig. 11) : 精子細胞의 核이 면지모양을 나타낼 때부터 大部分의 精子가 Sertoli細胞를 떠나서 腔内

Table 2. Corrected Number of Germ Cell Nuclei in 5 μm Cross-Sections of Seminiferous Tubules at the Eight Stages of the Cycle of the Seminiferous Epithelia in the Goat (Mean \pm Standard Error)

Type of Cells	Stage							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Spermatogonia								
Type Ap	1.16 \pm 0.08	2.21 \pm 0.17	1.50 \pm 0.13	1.70 \pm 0.14	1.79 \pm 0.16	1.46 \pm 0.08	1.61 \pm 0.21	1.88 \pm 0.18
Type Ad	0.79 \pm 0.05	1.18 \pm 0.09	0.63 \pm 0.13	0.80 \pm 0.10	0.98 \pm 0.11	0.78 \pm 0.14	1.06 \pm 0.23	0.07 \pm 0.05
Intermediates	0.64 \pm 0.21	0.38 \pm 1.47	0.25 \pm 0.11	0.52 \pm 0.15	0.55 \pm 0.09	0.56 \pm 0.16	0.47 \pm 0.12	0.39 \pm 0.12
Type B	—	—	—	—	0.48 \pm 0.05	1.02 \pm 0.16	1.65 \pm 0.20	1.11 \pm 0.19
Spermatocytes								
Young primaries	11.46 \pm 1.76	15.64 \pm 1.56	12.70 \pm 1.58	12.72 \pm 0.75	5.26 \pm 1.28	7.99 \pm 1.29	7.41 \pm 0.96	9.21 \pm 1.01
Old primaries	15.20 \pm 2.08	13.24 \pm 0.79	11.28 \pm 1.00	2.22 \pm 0.43	10.56 \pm 1.98	12.42 \pm 1.87	9.81 \pm 1.60	13.15 \pm 1.61
Secondary	—	—	—	3.20 \pm 0.41	—	—	—	—
Spermatids	50.57 \pm 5.21	41.03 \pm 4.11	43.29 \pm 5.32	60.57 \pm 6.56	48.70 \pm 5.81	48.00 \pm 2.62	42.71 \pm 2.22	52.39 \pm 4.68

Table 3. Average Nuclear Diameter in Microns of Germ Cells at the Eight Stages of the Cycle of the Seminiferous Epithelia in the Goat

Type of Cells	Stage							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Spermatogonia								
Type Ap	9.2	8.6	9.3	8.9	8.9	8.7	8.7	8.6
Type Ad	8.9	8.2	7.7	7.5	8.3	9.2	8.2	8.5
Intermediate	6.7	6.7	7.0	7.4	6.9	7.5	6.7	6.5
Type B	—	—	—	—	7.6	8.3	7.4	7.6
Spermatocytes								
Young primaries	5.6	5.9	6.3	6.2	6.6	6.2	6.1	5.8
Old primaries	9.0	9.5	9.5	9.2	8.3	8.2	8.3	8.8
Secondary	—	—	—	5.3	—	—	—	—
Spermatids	5.7	5.7	5.5	5.6	5.8	5.7	5.9	5.9

Table 4. Relative Frequencies of the Each Stage Among Eight Stages of the Cycle of the Seminiferous Epithelia in the Goat

Stage	Percent frequency			
	24 weeks	28 weeks	32 weeks	Average
I	31.25	27.00	24.25	27.5
II	20.00	17.25	15.25	17.5
III	15.50	11.00	11.75	12.8
IV	5.25	5.75	6.50	5.8
V	6.25	9.00	11.50	8.9
VI	5.00	9.75	10.00	8.3
VII	11.00	13.50	11.75	12.0
VIII	5.75	6.75	9.00	7.2

로 나갈때까지이며 基底膜에 配列된 精祖細胞는 第5期와 근사하였다. 精子細胞의 核에 부착된 染色核仁은 다소 減少되었다.

第7期(Fig. 12) : 精子가 腔内로 移動하는 初期부터 末期까지이며 Sertoli細胞와 精母細胞가 基底膜에 따라 配列되었다. B型精祖細胞는 核膜이 뚜렷하고 核質이 먼지모양으로 짙게 染色되었으며 核小體를 중심으로 細系 filament가 放射狀으로 連結된 것도 있었다.

第8期(Fig. 13) : 精子가 内腔을 피복할때부터 内腔에서 사라질때까지이며 Ap型精祖細胞가 大部分이며 Ad型精祖細胞는 8期중에서 가장 적게 觀察되었다. 未熟한 第1精母細胞는 前細系期 pre-leptotene에 있었으며 成熟한 第1精母細胞는 肥系期를 나타내고 있었다. 少數의 精子가 内腔의 一部만 피복하고 있었다.

以上 觀察한 性成熟期인 24週齡부터 32週齡까지의 精細管上皮를 대상으로하여 그 精子發生週期를 8期로 나누어 出現된 精細胞數를 Abercrombie公式¹⁾을 適用해서 算出한 正確한 數는 Table 2에서 보는 바와 같다. 이때 公式에 쓰인 核의 크기의 平均値는 Table 3에 表示되었다.

Ap型精祖細胞는 第2期에서 가장 많이 出現되었으며 第1期에 비해 2倍가까운 增加를 보였다. 이어서 제8期, 5期, 4期의 順으로 8期중에서 多數 나타났었다. Ad精祖細胞는 各期중에서 第2期에서 最高로, 第8期에서 最小로 出現되었다. In精祖細胞는 第1期에서 最高이고 第3期에서 最小로 觀察되었다. B型精祖細胞는 第1期에서 第4期 사이에는 出現되지 않았고 나머지의 各期에서 第7期가 最高이고 第5期에서 最小로 나타났다. 第1精母細胞의 細系期는 第1期에서

第4期사이에 多數 觀察되었고 第5期에서 第8期사이에는 少數 出現되었다.

第1精母細胞의 肥系期는 第4期에서 越等하게 減少되었으며 第2精母細胞는 第4期에서만 出現되었다.

精細管上皮 週期의 8期別 出現比 24, 28, 32週齡의 精細管上皮의 週期를 8期로 나누어 각 週齡當 圓形精細管 400個都合 1,200個를 調査한 結果는 Table 4에서 보는 바와 같다. 세가지 週齡을 통하여 第1, 2期가 각각 平均 27.5, 17.5%로서 가장 높았고 다음에 第3期와 第7期에서 각각 平均 12.8, 12.0%이며, 第4期에서 平均 5.8%로서 가장 낮은 比率을 보여주었다.

精細管上皮의 Sertoli細胞: 各 週齡을 通해서 Sertoli細胞는 精細管의 基底膜에 따라서 精祖細胞와 同一한 列을 지어 몇개씩 变갈아 位置하고 있었다. 核은 보통 三角形에 가까운 不正形이며 核膜은 다소 주름잡힌 線을 이루고 있으며 核內에 微細한 染色質이 흩어져있어 밝게 보이고 흔히 1個의 分明하지 않은 核小體를 가지고 있었다. 週齡別로 精細管에 出現된 Sertoli細胞의 平均數는 8週齡에서 20週齡사이에는 16週齡이 가장 많았고(Table 1), 나머지 週齡에서는 比等하였다. 24, 28, 32週齡에서는 각각 平均 11.7, 10.0, 9.4個로서 週齡增加에 따라서 Sertoli細胞가 減少되는 傾向을 보여주었다.

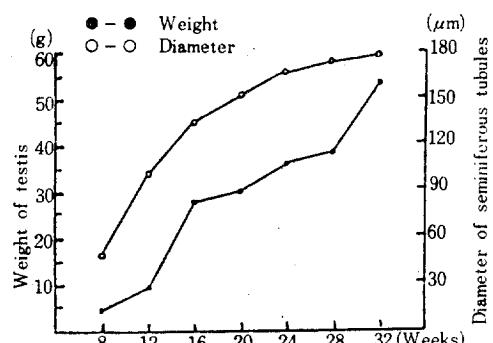


Fig. 1. Relationship between weight of testis and diameter of seminiferous tubules at different ages (weeks) of goats.

成熟期(24, 28, 32週齡)에서 精細管上皮의 8期別로 Sertoli細胞의 形態變化가 觀察되었다(Fig. 14). 이 細胞의 核은 가로 놓인 水平型 parallel type, 세로 세워진 垂直型 perpendicular type(빗나가 세워진 核도 포함)의 두가지 型으로 區別되는데 各期에 나타난 水平型對 垂直型의 比率(%)은 第1, 2, 3, 4期에서 각각 72:

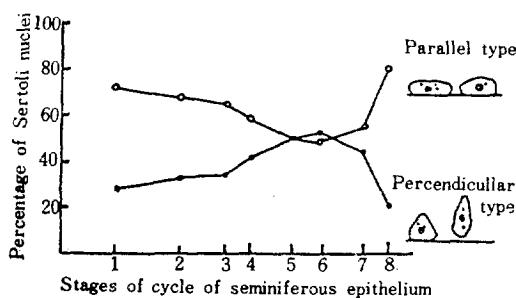


Fig. 14. Composition rate as per cent between the "parallel" and the "perpendicular" types of Sertoli nuclei in eight stages of the cycle of the seminiferous epithelium (The space given to each stage on the abscissa is proportional to its relative duration).

28, 68 : 32, 66 : 34, 59 : 41로서 垂直型의 核이 점차增加하였으며 第5, 6期에서는 각각 50 : 50, 48 : 52로서 同數 또는 垂直型이 많았고, 第7, 8期에서는 각각 55 : 45, 80 : 20으로서 다시 8期중 前半期에서 보는 水平型의 核의 優勢를 보여주고 있었다. 垂直型의 核을 가진 Sertoli 細胞중에는 細胞質內에 線條樣의 物質이 精子쪽으로 향한 構造物도 觀察되었다.

考 察

黑色在來山羊의 精細管上皮에 出現된 精細胞系를 觀察함에 있어 평이상 8週齡에서 20週齡까지를 性成熟過程중 成長期로 하고, 24週齡부터 32週齡까지는 成熟期로 하여 그結果를 다음에 檢討하였다.

成長期 精細管의 組織學的 觀察: 8週齡에서 少數의 特徵적인 gonocyte가 細胞列에서 管의 中央部에 位置하고 있었다. 오래전 부터 많은 學者들에 의해出生後精細管의 成長過程에서胚細胞 germ cell의 起源에 관하여 論難되어 왔으며 주로 齒齒類를 對象으로 하였다. 動物種에 따라서는 A型精祖細胞와 Sertoli細胞가 混同되는 所見도 있었으나 本實驗에서 觀察된 Sertoli細胞는 卵圓形의 精祖細胞의 核사이에 떨기모양의 核型을 나타내고 있어 조금 쉽게 識別할 수 있었다. 또한 管上皮細胞의 大部分을 占有하고 있었다. Clermont와 Perey,⁶⁾는 未成熟한 쥐의 精細管을 日齡別로 研究한結果出生후 4日에 gonocyte가 增加하기 시작하고 A型精祖細胞로 分化하는 母細胞라 하였다. Curtis와 Amann¹²⁾은 흘스티인소의 精細管의 成長過程에서 gonocyte가 12週齡부터 16週齡사이에 많이 出現되고 20週齡이후 急激히 減少, 消失되었다고 報告하였다.

本實驗에서 12週齡이후 gonocyte가 이미 消失되었음은 山羊에서는 精子의 出現이 20週齡이었고 소에서는 32週齡이었던 精子發生의 時期의 差異에 起因된 現象으로 生覺된다.

12週齡의 精細管에서는 精祖細胞에서 새로 第1精母細胞의 細系期와 厚系期가 出現되었다. 이 週齡에서 細系期의 核이 가장 많이 觀察되었다. 그 후 16週齡에서는 多量의 第1精母細胞와 精子細胞가 새로 出現되기 시작하였으며 따라서 第2精母細胞도 나타났으나 少量이었다.

8週齡에서 16週齡사이에 出現된 各種 精細胞數가 各週齡사이에 큰 變動이 없는 結果는 다른 動物의 急增되는 傾向과 差異 있는 點이었다. 20週齡에서는 中間型(In)精祖細胞가 처음 觀察되었으며 Ap型精祖細胞가 이전의 週齡에 비해 2倍가까운 增加를 보였다. 또한 第1, 第2精母細胞의 數는 16週齡과 比等하였으나 精子細胞는 2倍以上으로 增加되었으며 처음으로 精子가 少數 出現되었다. 따라서 在來山羊의 性成熟에 到達한 時期는 生發 20週齡에서 認定되었다.

精細管上皮를 構成하고 있는 各種 精細胞의 出現比는 動物에 따라서 많은 差異가 있을 뿐 아니라 年齡에 따라서도 크게 左右될 것으로 推測된다. Clermont 및 Perey⁶⁾에 의한 未成熟 흐쥐를 材料로 한 精子發生研究에 있어서出生후 15日齡이 된 쥐에서 이미 어미에서 觀察된 것과 비슷한 精細管上皮의 週期變化가 立證되었다. 이 때 나타난 A型精祖細胞와 In型精祖細胞의 出現比는 1 : 4.9였고 또한 A型精祖細胞와 B型精祖細胞의 出現比는 1 : 11.6으로 나타났다. 本實驗에서는 A型精祖細胞가 In, B型精祖細胞에 비하여 훨씬 많은 出現數를 나타냈음은 動物種의 差에 따른 것으로 思料되었다. Curtis 및 Amann¹²⁾은 흘스티인소에서 成長別精細管의 精細胞에 대한 상세한 報告를 하였다. 이 研究에서 A型精祖細胞는 In型, B型精祖細胞 보다 多量으로 出現되었으며 그 이전의 週齡에서도 같은 様相을 보여 주었다. 이는 本實驗에서 使用한 山羊과는 같은 反芻類에 속하는 近緣性과 觀察方法의 類似한 點에서同一한 傾向을 보여준 것으로 生覺된다. 다만 第1精母細胞에서 나타난 細系期와 肥系期의 出現比에 있어서 本實驗에서는 두 世代간에 비슷한 數值를 나타냈으나 흘스티인소에서는 肥系期에 있어서 細系期보다 2倍 이상으로 出現되었다. 이와 같은 差異는 山羊에서 成長期의 精細管上皮와 對照된 結果였으며 成熟期에 해당된 週齡에서는 精細管 週期에서 第5期부터 第8期사이는 肌소의 實驗과 類似한 様相을 보여 주고 있었다. 또한 精子細胞의 끌지期에 있어서 肌소에서는

28週齡과 32週齡사이에서 10倍로 增殖되었으나 本 實驗에서 16週齡과 20週齡사이에 3倍의 增殖을 볼 수 있었음은 動物種에 따른 差異된 點이었다. 本 實驗에서 出現된 精細管의 管腔은 12週齡에서 一部의 管에서 나타나기 시작하여 16週齡에서는 完成을 보았다. 이에 비하여 훌스타인소에서는 24週齡에서 28週齡사이에 形成되었음은 精子通路로서의 管腔이 腔內 分泌物과 더 불어 그 機能的 對應에 符合된 適切한 時期였음을 알 수 있었다.

精細管週期의 8期別 細胞組成 : 24週齡부터 32週齡까지의 性 成熟期에 해당된 山羊의 精細管上皮의 週期를 觀察하기 쉬운 8期로 나누어 各種 細胞數를 調査하였다 바 A型精祖細胞는 第2期에서 第1期보다 2倍가까이 出現되었고 第1期와 第8期는 同數로서 最小의 出現率을 나타냈다. 나머지 期는 第2期에 未達된 出現數를 갖았으며 그 數值에 각各 差異가 있었다. In型精祖細胞는 8期를 통해 出現되었고 第1期에서 第3期까지 減滅되었으나 다시 第4期에서 第6期까지 減增되고 그 후에는 또다시 減少되었다. B型精祖細胞는 第5期에서 第7期까지 減增되었으나 第8期에서 다시 減少되었고 第1期에서 第4期까지는 出現되지 않았다. 第1精母細胞의 細系期는 第1期에서 第4期까지에는 多數 出現되었으나 第5期에서 第8期까지에는 半減되는 傾向을 보여주고 있어 高度의 有意味差를 가졌다 ($p < 0.05$). 肥系期에서는 第4期에서 심하게 減少되어 다른 期와의 사이에 有意味差가 나타났으며 ($p < 0.05$), 第2精母細胞는 第4期에서만 出現되었다. 精子細胞는 第4期에서 가장 많았고 다른 期와의 사이에 有意味差가 認定되었다 ($p < 0.05$). 各期사이의 總細胞數는 有意味差가 없었으나 ($p > 0.05$) 各種 細胞사이에는 高度의 有意味差가 있었다 ($p < 0.05$).

Roosen-Runge와 Giesel¹⁹⁾는 흰쥐의 精細管에서 A型精祖細胞의 出現은 第2期에서 第1期보다 倍이상으로 增加되었고 第3期에서 第5期까지 계속 增加되었으나 第7期 이후에는 減少되었다. B型精祖細胞는 第3期까지 出現되지 않았으며 第4期 이후 第8期까지 旺盛한 增加를 보였다고 하였다. 本 實驗과 비교하면 B型精祖細胞에서 8期중 前半期에서 出現되지 않았던 共通點외에는 심한 差異가 있었음은 齒齒類와의 特異性때문인 것으로 料된다. Swierstra와 Foote²⁰⁾는 토끼의 精細管에서 觀察된 A型精祖細胞는 第3期를 頂點으로 하여 第8期까지 減次 減少되었고 第1期와 第2期는 本 實驗과 同一한 比率을 가졌다. B型精祖細胞는 本 實驗과 거의 같은 樣相을 나타냈으나 第1精母細胞의 細系期에서는 第5期부터 第8期에 이르기까지 出現되

지 않았음은 特異하였다. 肥系期는 本 實驗과 같은 樣相이었다. Amann²¹⁾이 調査한 齒齒에서는 A型精祖細胞가 第1, 6, 7, 8期에서 同比率로 出現되었고 第2期에서는 第1期의 倍數로 나타났었다. In型과 B型精祖細胞를 合算한 出現率에 있어서 第2期에서만 出現되지 않았고 나머지 期에서는 A型精祖細胞보다도 많은 出現率을 보여주고 있음은 各 期別로 特定한 細胞에 대하여만 算出한 方法의 差에 依한 本 實驗의 結果와의 相違點이라고 生覺된다.

精細管上皮 週期의 8期 出現比 : 本 實驗에서 24週齡부터 32週齡까지의 精細管上皮 週期에서 보여준 8期의 出現比는 第1期에서 第3期사이에 가장 높았고 제4期에서 5.8%로 最低였고, 第5, 6期에서는多少 增加된 比率을 갖았으나 第7期에서는 다시 더 큰 幅으로 높은 比率을 나타냈으며 第8期에서 第5, 6期의 水準으로 減少된 傾向을 보여주고 있었다.

이리 다른 動物과 비교하면 Amann²¹⁾의 齒齒에 대한 實驗에서 第1期부터 第3期까지에 63%, 第4期에 10%, 第5期에서 第8期까지 26%로 나타났으며, Ortavant¹⁷⁾는 소에서 62%, 12%, 26%의 出現比로서 A-mann²¹⁾의 觀察과 近似하였으나 Cupps 및 Laben¹¹⁾의 소에 대한 調査는 59%, 8%, 31%로 兩者와 相異하였다.

한편 Ortavant¹⁷⁾가 調査한 馬에서는 第1期에서 第3期까지 51%, 第4期에 10%, 第5期에서 第8期사이에 38%로서 本 實驗에서 調査된 57.8%, 5.8%, 36.4%의 比率과는 第5期에서 第8期사이에만 近似하였다. 따라서 反芻動物에서 動物種에 따라서 다르고 소에 있어서도 調査된 結果에 다소 差異가 나타나고 있었다. 다음에 齒齒類와 비교하면 Oakberg¹⁶⁾는 마우스에서 23%, 10%, 67%의 出現比가 나타났고 Roosen-Runge 및 Giesel¹⁹⁾는 흰쥐에서 23%, 5%, 72%의 結果를 얻어 다소 비슷한 樣相을 나타냈다. Swierstra 및 Foote²⁰⁾는 토끼에서 조사한 바 48.4%, 11%, 40.6%로서 齒齒類에서도 쥐와 토끼에서는 상당한 差異가 있었다. Ortavant¹⁷⁾는 돼지에서 30%, 14%, 57%로 나타났으며 Swierstra²¹⁾도 돼지에서 28.7%, 11.6%, 59.7%로 조사되어 그 結果가 近似하였다. 이와 같이 動物種에 따른 研究結果는 動物分類學上의 近緣關係에 따라서 各期의 出現比에 懸隔한 相異點을 보여주고 있으나 本 實驗에서 調査된 山羊은 反芻動物에서 나타난 報告와 가장 가까운 出現比를 가지고 있었다.

精細管上皮의 Sertoli 細胞 : 山羊의 週齡增加에 따른 精細管上皮에 나타난 Sertoli細胞의 出現은 成長期인 8週齡에서 20週齡 사이에 많이 觀察되었고 成熟期인 24

週齡부터 32週齡까지에는漸次減少되었다. Curtis 및 Amann^[12]이 헐스타인소의精細管에서 조사한 바에 의하면 16週齡부터 32週齡까지에 계속增加되었음을報告하였다. 그러나 그 이후의週齡에서는調査되지 않았으며 이實驗에서 젖소의精子의出現期는 32週齡이었다. 따라서本實驗에서는精子의出現이 20週齡이었으므로性成熟期를前發한對照가困難하였다.

Sertoli細胞의核型에 두가지型이觀察되었는데本實驗에서는Sertoli細胞의水平型과垂直型의核의比率이第1, 2, 3, 4期에서垂直型의核이漸차增加하였으며第5, 6期에서는同數에이어垂直型이 많았고第7, 8期에서는다시水平型의優勢를보여주었다. 이와같은現象은Leblond 및 Clermont^[13]가 흰쥐의精細管에서觀察한結果와類似하였으며垂直型의核을갖인Sertoli細胞는주로精子가Sertoli細胞에많이集束되는期에해당되었다.

結論

本研究는韓國在來山羊을對象으로8週齡부터20週齡사이에서는精細管의細胞組成에대한調查, 24週齡부터32週齡사이에서는精細管上皮의週期및出現比를糾明하기위하여實施하였다. 28頭의山羊을8週齡부터32週齡까지4週齡間隔으로4頭씩實驗한結果는 다음과 같다.

1. Gonocyte는8週齡에서出現되었고12週齡이후에는觀察되지않았다. A型및B型精母細胞는8週齡이후에나타났으며第1精母細胞는12週齡이후에觀察되었다. 第2精母細胞와精子細胞는16週齡부터出現되었으며32週齡까지계속增加되었다. 精子는20週齡에서처음으로觀察되었다.

2. A型精祖細胞數는週期의第2期에서第1期에비해2倍정도로나타났고第1期와第8期는同數이며最小로出現되었다. B型精祖細胞는第5期부터第8期사이에나타났고第1期와第4期사이에는불수없었다. 第1精母細胞의細系期의數는第1期에서第4期사이에는현저하게增加되었고그이후에는減少되었다. 第1精母細胞의肥系期는第4期에서最小의數로나타났다. 第2精母細胞는第4期에서만出現되고精子細胞는第4期에서 가장多量으로出現되었다.

3. 精細管上皮의週期에서第1期부터第8期까지의出現比는各各27.5, 17.5, 12.8, 5.8, 8.9, 8.3, 12.0%및7.2%였다.

4. Sertoli細胞의核의一部는水平型에서垂直型으로變形되었으며이變形은第1期에서부터垂直型의核이最高에달한第6期까지일어났다. 週期의殘餘期에서는그數가減少되었다.

以上으로韓國在來山羊에서精子發達의確立은20週齡에서完成되었다.

Legends for Figures

Photomicrographs of seminiferous tubules from Korean native goats

Abbreviations in Figures

G ; gonocyte
Ad ; dark type A spermatogonium
Ap ; pale type A spermatogonium
B ; type B spermatogonium
In ; intermediate type spermatogonium
S ; Sertoli cell

L ; leptotene primary spermatocyte
P ; pachytene primary spermatocyte
II ; secondary spermatocyte
Sp ; spermatid
Sz ; spermatozoa

Fig. 2. 8 weeks. A gonocyte is present. Various spermatogonia and Sertoli cells are seen along the basement membrane. Heidenhein's iron hematoxylin. x700.

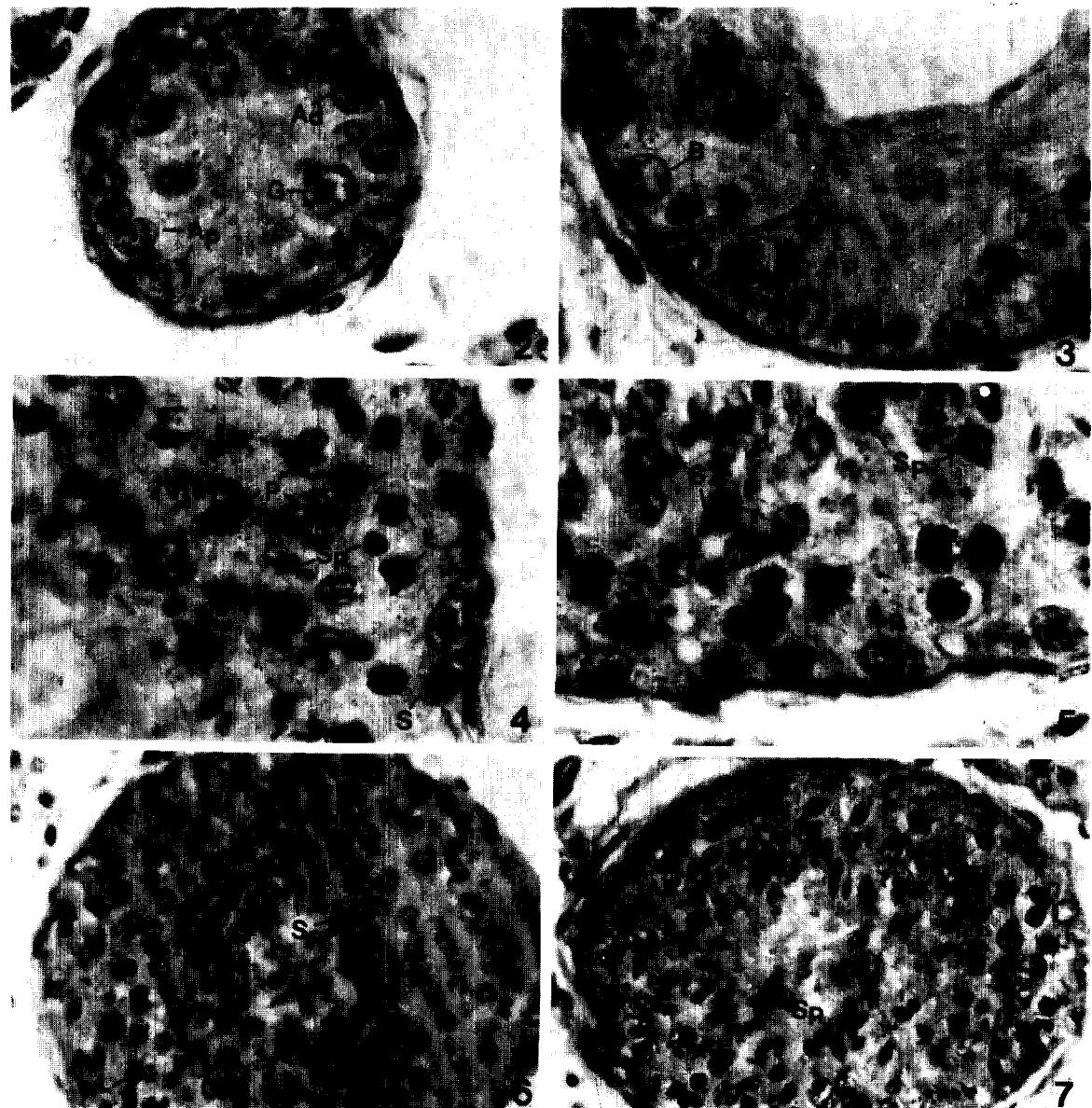
Fig. 3. 12 weeks. Type Ap, Ad, B spermatogonia and Sertoli cells are seen along the basement membrane. Leptotene and pachytene primary spermatocytes are located more centrally. Heidenhein's iron hematoxylin. x700.

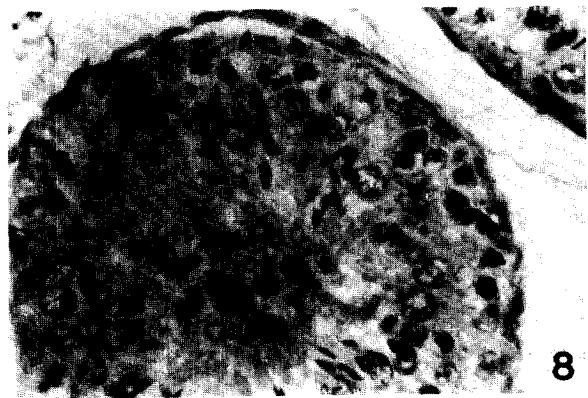
Fig. 4. 16 weeks. Spermatids are shown between leptotene and pachytene spermatocytes. Heidenhein's iron hematoxylin. x700.

Fig. 5. 20 weeks. Tubule containing many spermatids and spermatozoa in its central part. Heidenhein's

iron hematoxylin. x700.

- Fig. 6.** Stage 1. Seminiferous tubule showing various spermatogonia and primary spermatocytes near the basement membrane, spermatids have spherical nuclei. PAS-hematoxylin. x400.
- Fig. 7.** Stage 2. Similar to 1, but spermatids have elongated. PAS-hematoxylin. x400.
- Fig. 8.** Stage 3. Spermatids are grouped into distinct bundles. PAS-hematoxylin. x400.
- Fig. 9.** Stage 4. Secondary spermatocytes are located in the tubule lumen. PAS-hematoxylin. x400.
- Fig. 10.** Stage 5. Spermatid bundles deep in wall of tubule. PAS-hematoxylin. x400.
- Fig. 11.** Stage 6. Spermatozoa have left the Sertoli cells. PAS-hematoxylin. x400.
- Fig. 12.** Stage 7. Spermatozoa line the tubule lumen just prior to release. PAS-hematoxylin. x400.
- Fig. 13.** Stage 8. No spermatozoa present. PAS-hematoxylin. x400.

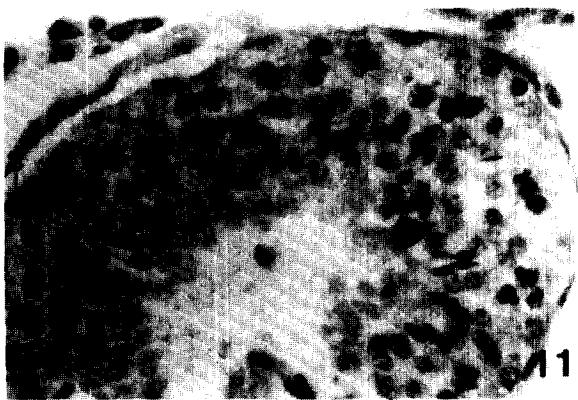




8



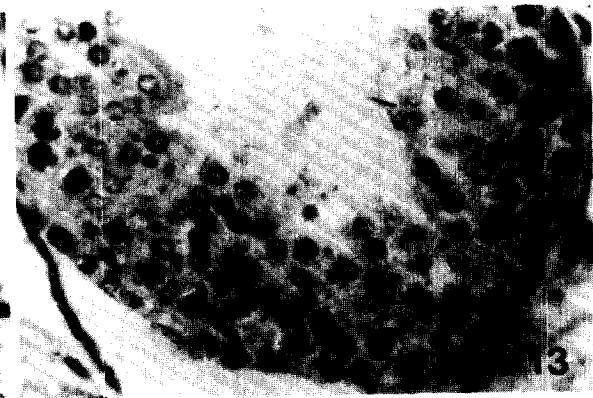
10



11



12



13

参考文献

1. Abercrombie, M.: Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.* (1946) 94:238.
2. Amann, R.P.: Reproductive capacity of dairy bulls. III. The effect of ejaculation frequency, unilateral vasectomy and age on spermatogenesis. *Am. J. Anat.* (1962 a) 110:49.
3. Amann, R.P.: Reproductive capacity of dairy bulls. IV. Spermatogenesis and testicular germ cell degeneration. *Am. J. Anat.* (1962 b) 110:69.
4. Bernsdon, W.E. and Desjardins, C.: The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. *Am. J. Anat.* (1974) 140:167.
5. Clermont, Y. and Leblond, C.P.: Spermiogenesis of man, man, monkey, ram and other mammals as shown by the "periodic acid-schiff" technique. *Am. J. Anat.* (1955) 96:229.
6. Clermont, Y. and Perey, B.: Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am. J. Anat.* (1957) 100:241.
7. Clermont, Y.: Cycle of the seminiferous epithelium of the guinea pig. *Fertil. Steril.* (1960) 11:563.
8. Clermont, Y.: Quantitative analysis of spermatogenesis in the rat: a revised model for the renewal of spermatogonia. *Am. J. Anat.* (1962) 111:111.
9. Clermoet, Y.: The cycle of the seminiferous epithelium in man. *Am. J. Anat.* (1963) 112: 35.
10. Clermont, Y. and Hermo, L.: Spermatogonial stem cells in the albinorat. *Am. J. Anat.* (1975) 142:159.
11. Cupps, S.T. and Laben, R.C.: Spermatogenesis in relation to spermatozoa concentration in bovine semen. *J. Dairy Sci.* (1960) 43:782.
12. Curtis, S.K. and Amann, R.P.: Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J. Anim. Sci.* (1981) 53 : 6, 1645.
13. Leblond, C.P. and Clermont, Y.: Sperminogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the periodic acid-fuchson sulfurous acid technique, *Am. J. Anat.* (1952 a) 90:167.
14. Leblond, C.P. and Clermont, Y.: Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* (1952 b) 55:548.
15. McManus, T.F.A. and Mowry, R.W.: Staining methods, histologic and histochemical, Paul, IB. Hoeber Inc. New York. (1960) p. 156.
16. Oakberg, E.F.: Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium. *Am. J. Anat.* (1956) 99:507.
17. Ortavant, R.: Le cycle spermatogenetique chez belier. D. Sc. Thesis, University of Paris, Paris. (1958)
18. Ortavant, R.: Spermatogenesis and morphology of the spermatozoor. In *Reproduction in Domestic Animals*, ads. H.H. Cole and P.T. Cupps, 1st edition, II. (1959) 1-50, New York Academic Press.
19. Roosen-Runge, E.C. and Giesel, L.O.: Quantitative studies on Spermatogenesis in the albino rat. *Am. J. Anat.* (1950) 87:1.
20. Swierstra, E.C. and Foote, R.H.: Cytology kinetics of spermatogenesis in the rabbit. *J. Reprod. Fertil.* (1963) 5:309.
21. Swierstra, E.E.: Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar, duration of spermatozoon transit through the epididymis. *Anat. Rec.* (1968) 161:171.