

거세백서예의 신생백서 고환 동종이식

연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실
이화여자대학교 의과대학 비뇨기과학교실*

박 동 수 · 장 석 훈* · 홍 성 준

= Abstract =

Testis Transplantation from Neonate Rats to Castrated Rats

Dong Soo Park, M.D., Seok Heun Jang, M.D.* and Sung Jun Hong, M.D.

Department of Urology, College of Medicine,
Yonsei University and Ewha Womans University*, Seoul, Korea

We present a model of *in vivo* testis transplantation in order to study the extent of physiological production of testosterone when Leydig cells are transplanted to the objects with deficiency of testosterone due to secondary or primary gonadal dysfunction. Twenty two rats of 5~6 weeks were first castrated. After ten days, testes of neonate rats or of full-term fetal rats were transplanted into the bilateral subrenal capsule of the castrated rats under the operating microscopy. Fifteen rats that survived were divided into three groups: 2-week, 4-week, and 6-week groups (5 rats each) according to the time elapsed after transplantation before they were sacrificed. As the transplantation period went by, there was a significant increase in serum testosterone level and the size of seminal vesicle became larger.

There was a significant difference in the seminiferous tubules of 2-, 4-, and 6-week groups and corresponding normal group: a lot more of early stage spermatocyte were found in the normal 2-week group than the 2-week group of transplanted rats. Also, the spermatid that were found in normal 4- and 6- week control groups were not present in the corresponding testes transplanted groups.

In order to differentiate two developmental phase of Leydig cell and to understand the functional differences, a further study of ultrastructural analysis of Leydig cell and interactions of different cells in the tissues of testis would be necessary.

Key Words: Testis, Transplantation

서 론

테스토스테론은 고환, 특히 Leydig 세포에서 분비되는 중요한 남성 호르몬으로서 테스토스테론 합성물질을 개발하여 남성에서 원발성 또는 이차적 성선기능저하증의 치료에 임상적으로 사용되고 있다. 그러나

합성 테스토스테론을 성장기에 사용할 때에는 성장 장애의 부작용을 초래하며 성인에서는 심혈관 질환을 유발할 수 있으므로 더욱 생리적인 호르몬 대체 방법이 필요하다 하겠다. 또한 고환 내에서 Leydig 세포와의 상호작용을 하는 여러가지의 세포 및 조직들의 측분비(paracrine) 효과를 고려할 때 고환 자체의 이식이 필요할 것으로 생각된다.

재료 및 방법

생후 5~6주, 체중 150~200g의 수컷 Sprague-Dawley계 백서 22마리를 케타민으로 마취하고 음낭 절개를 통해 양측 고환을 적출하고 10일을 경과시켰다. 이 시기에 맞추어 생후 1일 이내의 수컷 신생 백서 14마리와 1마리의 만삭 백서에서 얻은 8마리의 수컷 태에서 수술현미경을 사용하여 고환을 취하고, 고환 적출술 후 10일을 경과시켰던 백서를 에테르와 케타민으로 마취한 후 Chevron 절개하고 양측 신피막하에 1개씩의 고환을 이식하였다.

고환이식 상태의 백서를 2주, 4주, 6주 및 10주 백서와 생후 5~6주에 고환적출술을 시행하고 2주가 경과한 백서들을 각각 4마리씩 정하였다.

혈청내 테스토스테론은 DPC(Diagnostic Products Corporation; Los Angeles, CA, USA)의 COAT-A-Count[®] Kit을 이용하여 측정하였다. 4개의 plain(uncoated) polypropylene tube(2개의 total ¹²⁵I count용 tube와 2개의 비특이 결합 검출용 tube)와 테스토스테론의 결합 농도가 다양한(0, 0.2, 1, 4, 8, 16 ng/ml; 0: maximum binding) 6개의 control (coated) tube를 준비하고 control tube에는 해당되는 시약, 측정할 tube에는 혈청을 50 μl 넣은 후 [¹²⁵I] 1.0ml를 모든 tube에 첨가 후 vortex mix했다. 이후 37°C에서 3시간 반응시킨 후 내용물을 완전히 버린 후 Canberra사 감마 계수기(PACKARD[®] COBRA[™]II)로 1분간 계수하여 테스토스테론을 측정하였다.

결 과

22마리의 거세상태의 백서 중 3마리는 고환 이식술을 시행하기 위한 마취과정 중 사망하였고 그 후 19마리에 이식한 결과 4마리는 이식 후 경과기간 중 사망하였다. 2주군 5마리중 4마리, 4주군 5마리 모두, 6주군 5마리중 4마리 즉, 총 13마리에서 이식이 성공하였다. 2주군 중 1마리는 일측 신에만 착상이 이루어졌고 6주군 중 1마리는 양측 신 모두에서 착상이 이루어지지 않았다.

2, 4, 6주 이식군, 거세 후 2주 대조군 및 정상 성

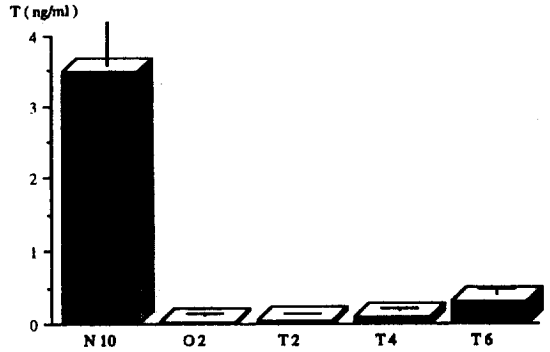


Fig. 1. 정상 성숙 백서군(약 10주경; N10), 거세 후 2주 대조군(O2), 2, 4, 6주 이식군의 혈청 테스토스테론 측정치(T)는 서로 의의 있는 차이를 보였다($p=0.001$, Kruskal-Wallis test).

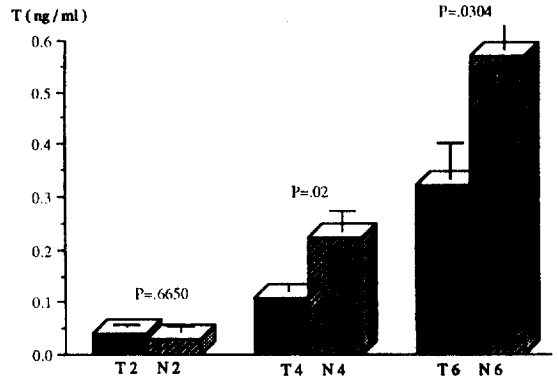


Fig. 2. 이식 후 2주군(T2)과 정상 2주 대조군(N2)의 혈청 테스토스테론은 차이가 없었으며($p=0.6650$), 이식 후 4주군(T4)과 이식 후 6주군(T6)은 정상 4주(N4) 및 6주(N6)대조군의 테스토스테론 수준에는 이르지 못하여 차이가 있었으나(각각 $p=0.02$, $p=0.0304$)(Mann-Whitney test) 상승이 뚜렷하였다.

숙 백서군(약 10주경)의 혈청 테스토스테론 측정치는 서로 의의 있는 차이를 보였다($p=0.001$, Kruskal-Wallis test) (Fig. 1). 또한 이식 후 2주군과 정상 2주 대조군의 혈청 테스토스테론은 차이가 없었으며($p=0.6650$, Mann-Whitney test) (Fig. 2), 이식 후 4주군과 이식 후 6주군은 정상 4주 및 6주 대조군의 테스토스테론 수준에는 이르지 못하여 차이가 있었으나(각각 $p=0.02$, $p=0.0304$, Mann-Whitney test)

Fig. 3. 신피막하에 이식한 고환들은 착상이 잘 되었으며 신생혈관들이 잘 관찰되었으며 그 크기도 시간이 경과함에 따라 커져 있었다(A; 이식후 2주, B; 이식후 4주, C; 이식 후 6주). D는 신과 이식 고환의 경계부위를 보여주고 있다.(×63)

(Fig. 2) 상승이 뚜렷하였으며 정낭의 크기도 증가하였다.

신피막하에 이식한 고환들은 잘 착상이 되었으며 신생혈관들이 잘 관찰되었으며 그 크기도 시간이 경과함에 따라 많이 커져 있었다(Fig. 3).

고환 적출술만을 시행한 대조군에 비해서 이식군에서, 또한 이식기간이 경과할수록, 특히 4주부터는 정낭의 크기가 현저히 증가하였으며 대조군의 내강쪽의

표면상피가 위축되어 있는데 비하여 이식 4주군 부터는 원주상피가 잘 유지되어 있고 정낭분비물이 관찰되어서 이식 고환이 기능하고 있음을 시사하였다(Fig. 4).

각 시기에 따른 정상 대조군과 이식군 고환의 조직 소견을 비교해 본 결과 정상 2주 대조군에서는 세정관 내에 초기단계의 정모세포가 풍부하였으나 이식 2주군에서는 숫자가 적었으며 세정관의 직경은 이식군이 정

Fig. 4. 고환 직출술만을 시행한 대조군에 비하여 이식군에서 이식기간이 경과할수록, 특히 4주 부터는 정낭의 크기가 현저히 증가하였으며(A), 대조군의 내강쪽의 표면상피가 위축되어 있는데 비하여(B) 이식 4주군 부터는 원주상피가 잘 유지되어 있고 정낭분비물이 관찰되었다(C, D).($\times 100$)

상군보다 컸다. 또한 정상 4주 및 6주 내조군에서 볼 수 있었던 정자세포는 4주와 6주 이식군에서는 관찰할 수 없었다(Fig. 5).

한편, 정상군과 이식군에서의 Leydig 세포의 차이를 관찰한 결과 정상군에서의 발달상태에 비하여 이식군에서는 매우 증식한 소견을 관찰할 수 있었다. 특히 이식군에서는 2주, 4주, 6주군 모두에서 fetal Leydig 세포와 adult Leydig 세포가 동시에 존재하는 소견을 보였다. 즉, 풍부한 지질을 함유한 세포질과

매우 얇은 변연을 나타내는 이질염색질을 보이는 핵을 갖는 fetal Leydig 세포와 지질이 희박한 세포질과 좀 더 분명한 변연을 나타내는 이질염색질을 갖는 핵의 소견을 나타내는 adult Leydig 세포들이 혼재되어 있는 양상이었다(Fig. 5).

고 안

문헌상 사람에서 고환을 이식하여 면역학적 거부반

Fig. 5. 이식 2주군에서는 세정관 내에 초기단계의 정모세포의 숫자가 적었으며 세정관의 직경은 컸다(A). 또한 정상 4주 및 6주 대조군(B, D)에서 볼 수 있었던 정자세포는 4주와 6주 이식군(C, E)에서는 관찰할 수 없었다.

이식 후 2주, 4주, 6주군(A, C, E) 모두에서 fetal Leydig 세포와 adult Leydig 세포가 동시에 존재하는 양상을 보였다. (×250)

응이 없이 자가이식을 성공한 것이나" 일관성 쌍생아에서 이식을 시행한 것을 제외하고는 사람에서 동종이식이 성공된 예는 보고된 바 없으며, 오늘날 이식 면역학의 발달과 면역억제제의 개발 및 술기의 발달로 각종의 이식이 보편화 됨에 따라 고환의 동종이식도 이론적으로 가능하다고 생각된다.

고환의 기능장애나 기능저하에 의한 테스토스테론 생산의 장애가 초래된 경우에 남성화를 달성 또는 유지하기 위하여 합성 테스토스테론의 장기간의 투여가 필요하게 된다. 그러나 테스토스테론을 외부에서 투여하는 것은 비생리적인 측면이 있어서 성장장애, 심혈관계 부작용을 유발하게 된다. 이에 본 연구에서는 보다 더 생리적인 테스토스테론의 대체를 위한 방법의 하나로써 고환의 이식을 시행하였다. 과거 Leydig 세포를 고환에서 분리하여 이식하였던 연구들이 있었으나^{2,3,8,9)} 본 연구에서는 고환조직 내에 존재하는 Leydig 세포 이외의 다른 세포들 또는 조직 세포들의 측분비 효과를 고려하여 고환이식을 시행하였다.

이식 부위로는 신피막하 공간이 이식을 위한 충분한

영양 공급과 적절한 면역학적 상태를 갖추고 있어서 실험적 조직이식 부위의 모델이 된다는 보고^{1,4)}가 있고 신생백서 또는 태서의 조직은 성장능력이 왕성하고 장기의 크기가 작아서 이식술 시행시에 착상이 성공할 가능성이 크다. 또한 사춘기 시기에 들어서면서 중추계의 성숙이 활발해지며 이때의 중추계-고환축을 고려하여 본 연구에서의 이식의 수여개체의 연령을 선택하였다.

Kupio등⁶⁾은 신생백서 고환을 성숙 개체의 신피막하 공간에 이식한 후 2주까지의 성공적인 결과를 보고하였고 adult type의 Leydig 세포가 fetal type의 Leydig 세포에서 발달되는 소견을 관찰하였다고 보고하였다. 반면에 Lording등⁷⁾은 adult Leydig 세포는 결체조직세포에서 유래된다고 하였다. 본 연구에서는 이식고환에서의 간질세포들의 증식이 왕성했으며 더구나 정상 고환조직에서는 존재하지 않아야 할 시기인 4주, 6주에 이식고환에서 fetal type의 Leydig 세포가 존재하는 양상이 관찰되어서 이러한 소견으로서 adult type의 Leydig 세포가 fetal type의 Leydig

세포에서 발달되는 것으로 추측할 수 있겠다.

Fox 등³⁾은 간질세포의 거부반응이 내분비적 “필요”에 의해서 지연되는가는 더욱 조사해 보아야 하겠지만 적어도 7주까지는 거부반응의 증거가 없다고 하였다. 본 연구의 결과 중 이식 후 6주 군에서 양측신 모두에서 이식 고환이 존재하지 않은 예가 있었는데 이것이 거부 반응에 의한 것인지는 확실하지 않으나 가능성은 있다.

결 론

고환 이식 후 2, 4, 6주에서 간질세포들의 증식이 활발하였고 광학현미경으로 정확히 구분하기는 어려우나 정상에서는 시기적으로 존재하지 않아야 할 4, 6주 시기에도 fetal type의 Leydig 세포가 존재하고 특히 fetal type의 Leydig 세포와 adult type의 Leydig 세포가 혼재되어 있는 양상을 보이는 것으로 보아 adult type의 Leydig 세포가 fetal type의 Leydig 세포에서 기원하는 것으로 추측할 수 있다.

또한 향후 고환이식에서의 거부반응에 대한 연구를 추가하고 고환이식 후의 장기간의 추적을 해보면 장기 이식 개념의 생체 모델이 될 것이다.

REFERENCES

- 1) Bogden AE, Maskell PM, LePage DJ, Kelton DE, Cobb WR, Esber HF: *Growth of human tumor xenografts implanted under the renal capsule of normal immunocompetent mice. Exp Cell Biol* 47: 281-293, 1979
- 2) Browning JY, Dagata R, Grotjan Jr E: *Isolation of purified rat Leydig cells using continuous percoll gradients. Endocrinology* 109: 667-669, 1981
- 3) Fox M, Boyle PF, Hammonds JC: *Transplantation of interstitial cells of the testis. Br J Urol* 45: 696-701, 1973
- 4) Kangas L, Perila M: *Clinical praxis and laboratory procedures in subrenal capsule assay (SRCA). Ann Chir Gynaecol* 74(Suppl 199): 7-11, 1985
- 5) Kearns W: *Testicular transplantation. Ann Surg* 114: 886-890, 1941
- 6) Kupio T, Savouras POD, Peliniemi LJ, Hutainiemi IT: *Transplantation of new born rat testis under the kidney capsule of adult host as a model to study the structure and function of Leydig cells. J Androl* 10: 335-345, 1989
- 7) Lording DW, de Kretser DM: *Comparative ultrastructural and histochemical studies of the interstitial cells of the rat testis during fetal and postnatal development. J Reprod Fertil* 29: 261-269, 1972
- 8) Tai J, Hohnson HW, Tze WJ: *Successful transplantation of Leydig cells in castrated inbred rats. Transplantation* 47: 1087-1089, 1989
- 9) Tai J, Tze WJ, Yip S, Hohnson HJ: *Transplantation studies of Leydig cells in castrated inbred rats. Transplantation Proceedings* 24: 2917-2919, 1992