

## 고환정자추출술(TESE) 및 난자세포질내 정자주입술(ICSI)을 이용한 폐쇄성 무정자증의 치료

아주대학교 비뇨기과학교실, 산부인과학교실\*

안현수 · 정도영 · 김세중 · 김영수 · 황경주\* · 권혁찬\* · 홍순정\*

=Abstract=

### Intracytoplasmic Sperm Injection with Testicular Sperm Extraction in Obstructive Azoospermia

Hyun Soo Ahn, Do Young Chung, Se Joong Kim, Young Soo Kim,  
Kyung Joo Hwang\*, Hyuck Chan Kwon\* and Soon Jung Hong\*

*From the Departments of Urology and Obstetrics and Gynecology\*,  
Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea*

Clinical interest in the fertilizing capacity of epididymal and testicular sperm originally developed from cases of obstructive azoospermia that could not be corrected surgically. We studied whether testicular sperm extraction (TESE) in obstructive azoospermia could yield spermatozoa that would result in successful fertilization and pregnancy using intracytoplasmic sperm injection (ICSI). From September 1995 until July 1996, 8 couples (12 cycles) suffering from azoospermia underwent TESE and ICSI. The mean age of husbands was 37 years (range 26 to 57 years). A total of 142 metaphase-II oocytes were microinjected. Normal fertilization occurred in 87 oocytes (61.3%). Eleven cycles underwent embryo transfer, with a total 75 embryos (86.2%) transferred. Six cycles conceived with clinical pregnancy rate of 50.0% per cycles. So far, four healthy babies (two twin) have been born. When epididymal spermatozoa cannot be retrieved, a testicular sperm extraction can be performed and the few barely motile spermatozoa thus obtained can be used for ICSI.

**Key Words:** Testicular sperm extraction, Intracytoplasmic sperm injection.

### 서 론

부고환이나 고환의 정자가 수정 및 임신을 시킬 수 있는가에 대한 관심은 수술적으로 교정될 수 없는 폐쇄성 무정자증 환자의 치료로서 시작되었다. 정관형성부전과 같은 선천성 정관 이상이나 수술적 교정이 불가능한 폐쇄성 정로 장애로 인한 무정자증 환자에서 미세수술적 부고환 정자흡입술(microsurgical epididymal sperm aspiration, MESA)로 채취한 정자로 일반적인 체외

수정(conventional in-vitro fertilization)을 시행한 경우에는 수정률이 낮고 임신률도 10%내외로 매우 낮았다<sup>1,2)</sup>. 최근 난자세포질내 정자주입술(intracytoplasmic sperm injection)이 개발되어, 미세수술적 부고환 정자흡입술에 의한 정자를 이용한 환자의 수정률 및 임신율이 높아졌다<sup>3,4)</sup>. 그러나 부고환 형성부전, 부고환의 전체폐쇄 등으로 부고환에서의 정자 채취가 불가능할 때, 이용 가능한 정자는 고환 내의 정자 뿐이다. 고환정자추출술(testicular sperm extraction, TESE)을 이용하여 고환 조직으로부터 얻은 정자를 난자세포질

내 정자주입술을 시도하면 수정 및 임신, 출산에 성공할 수 있다고 보고되고 있다<sup>5,6)</sup>. 이 연구는 폐쇄성 무정자증 환자에서 고환정자추출술 및 난자세포질내 정자주입술의 효과를 확인하고 실용가능성을 검증하기 위하여 시도되었다.

## 대상 및 방법

1995년 9월부터 1996년 7월까지 양측 부고환 형성부전, 부고환 전체폐쇄 등의 폐쇄성 무정자증 환자 5쌍의 부부에서 8주기, 정관절제술 시행 후 환자 중 본인이 원하였던 3쌍의 부부에서 4주기 등 총 8쌍의 부부에서 시행한 고환정자추출술 및 난자세포질내 정자주입술 12주기를 대상으로 하였다(Table 1).

Table 1. Patients

Patient	Age	Pathology	Cycle
KI	36	Epididymal hypoplasia, bilateral	1
BJ	36	Epididymal hypoplasia, bilateral	2
KY	32	Distal vas obstruction, bilateral	1
YK	26	Ipsilateral aplasia of epididymis & contralateral obstruction of distal vas	2
KM	44	Epididymal Tuberculosis, bilateral	2
KK	57	Post vasectomy state	1
LS	33	Post vasectomy state	1
YS	32	Post vasectomy state	2

### 1. 과배란 유도 및 난자의 준비

난자를 획득하기 위한 과배란 유도는 hMG와 GnRH agonist를 병용하였으며 hCG 주사 후 34-36시간에 질식초음파를 이용하여 난자를 채취하였다. 미세 수정을 위한 난자는 0.1% hyaluronidase를 처리하여 난구세포를 분리하였으며, 성숙 정도를 현미경 하에서 판정하여, 배란 직전의 성숙 난자는 2-8시간, 미성숙난자는 22-36시간 추가 배양을 실시한 후에 제 1극체가 방출된 제 2감수분열 중기의 난자만을 미세수정에 사용하였다.

### 2. 고환생검

고환조직은 난자 채취 당일에 추출하여, 동일한 날에 미세수정을 시행하였다. 12주기중 5주기에서는 척수마취하에 음낭을 절개하여 정관 및 부고환의 상태를 확인한 후 고환생검을 실시하였고, 7주기에서는 외래에서 국소마취하에 보편적인 고환생검 방법으로 시행하였다.

### 3. 정자의 채취와 준비

추출된 고환조직을 0.4% bovine serum albumin (BSA)이 첨가된 Ham's F-10 배양액이 담겨진 페트리 디쉬에 옮겨 배양액으로 1, 2회 세척한 후 저배율(x12)의 해부현미경 하에서 조심스럽게 정세관을 미세겸자(microforcep)로 짜내거나(squeezing) 혹은 가위질(scissoring)하여 추출물을 얻은 후 100 및 400배율 현미경 하에서 정자의 존재 여부를 확인하였다(Fig. 1). 그 후 피펫팅하여 충분히 분산시킨 후 1500rpm에서 5분간 원심

TESE

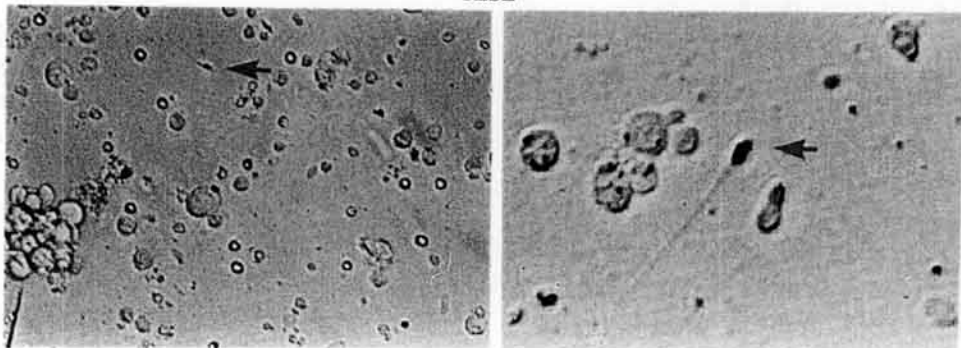


Fig. 1. Sperm enriched extraction after squeezing and scissoring of seminiferous tubule. Arrow show spermatozoa.

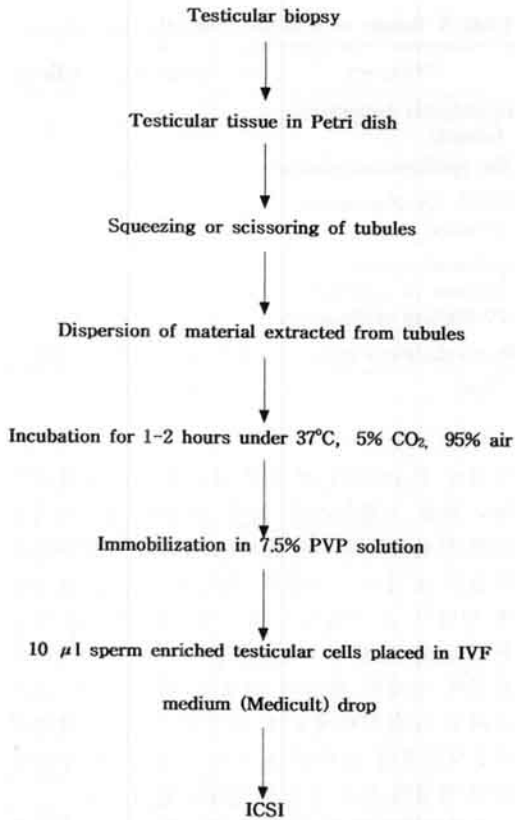


Fig. 2. Method of sperm preparation.

분리시킨 후, 상층액은 제거하고 0.5ml 상용화된 IVF 배양액(Medi-Cult's IVF medium, Medi-cult, Denmark)을 첨가하여 정자 주입 전까지 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% 공기가 함유된 배양기에서 1, 2시간 배양하였다. 정자 주입을 위하여 정자를 7.5% PVP(Polyvinyl pyrrolidone) 용액에서 부동화시키고, 0.4% BSA가 첨가된 상용화된 IVF 배양액에서 피펫으로 정자를 흡입하여 난자 세포질내 정자 주입을 실시하였다(Fig. 2).

#### 4. 미세수정 과정

미세수정은 독립현미경(Diaphot TMD, Nikon, Japan)에 장착된 1쌍의 미세조작기(MM-188, Narishige, Japan)을 사용하였다. 미세수정에 사용된 holding pipette은 외경 100-200 μm, 내경 15-20 μm 이었으며, 난자세포질내 정자주입술을 위한 injection pipette은 외경 6-8 μm, 내경 4-5 μm 인 Intracytoplasmic micropipette(Humagen Fertility Diagnostics INC.)을 사용하였다. 1개의 난자당 1개

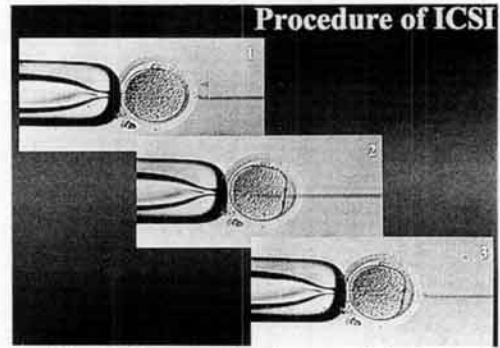


Fig. 3. Intracytoplasmic sperm injection.

의 정자를 주입하였으며, 미세수정 후 성장 배양액으로 옮겨 배아이식시까지 배양하였다(Fig. 3).

#### 5. 수정, 배아이식 및 임신 확인

수정 여부는 난자세포질내 정자주입술 시행 16-20시간 후에 2개의 뚜렷한 전핵과 제 2 극체로 확인하였다. 난자채취 후 48시간 동안 배양하여 세포분열을 관찰하고 정상적으로 발생된 4-6 세포기 배아에서 이식을 시행하였다. 이식은 복부 초음파 감시 하에서 시행하였고, 배아이식 후에 최소한 6시간 안정시킨 후 귀가시켰다. 임신 반응 검사는 배아이식후 약 10-12일 후에 혈중 β-hCG로 확인하였으며, 임신이 확인되면 초음파 검사상 태낭 및 심장박동이 확인된 경우를 임상적 임신으로 판정하였다.

## 결 과

대상 환자는 26세부터 57세까지로 평균 나이는 37세였다. 이중 부고환형성부전 등의 폐쇄성 무정자증 환자가 5례에서 8주기, 정관절제술 시행 후 본인이 원하였던 경우가 3례에서 4주기로 총 8례 12주기였다. 고환정자추출술 및 난자세포질내 정자주입술과 비교하기 위하여 1994년 11월에서 1996년 7월까지 본원에서 사정 정자를 이용한 난자세포질내 정자주입술을 시행한 32쌍의 부부 71주기와 비교하였다. 수정률은 고환생검정자에서 61.3%, 사정정자에서 71.0%였으며, 주기당 임신율은 고환생검정자에서 50.0%, 사정정자에서 35.2%였다(Table 2). 고환정자추출술을 시행한 8례, 12주기에서 병변별로 보면 양측 부고환 발육부전 2주기에서 임신되어 1주기에서 쌍생아를 출산하였으며, 양측 원위부 정관폐쇄

**Table 2. Results of fertilization and pregnancy**

Source of Sperm	No. of cycles	Mature oocyte	Fertil oocyte(%)	No. of embryo	PR (%)
Testicular biopsy (TESE)	12	142	87(61.3)	75	6(50.0)
Ejaculatory sperm	71	827	587(71.0)	479	25(35.2)

1주기, 편측 부고환 무형성 및 반대측 원위부 정관폐쇄 1주기에서 임신을 하였고, 정관절제술 후 시행한 경우 2주기에서 임신되어 1주기에서 쌍생아를 출산하여, 총 6주기에서 임신을 하여 2쌍의 쌍생아를 출산하였고, 3례에서 현재 정상적으로 임신이 진행 중이며, 1례에서는 유산이 되었다(Table 3).

## 고 안

부고환이나 고환의 정자가 수정 및 임신될 수 있는가에 대한 관심은 수술적으로 치료될 수 없는 폐쇄성 무정자증 환자 때문에 시작되었다. 미세수술적 부고환 정자흡입술(microsurgical epididymal sperm aspiration, MESA)로 정자를 얻을 수 있었으나 일반적인 체외수정(conventional in vitro fertilization)을 시행하여서는 수정률과 임신율이 매우 낮았다.

그러나 미세조작술, 특히 난자세포질내 정자주입술(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)이 개발되어, 높은 수정률 및 임신율을 보이고 있다<sup>3,4)</sup>. ICSI는 1개의 난자당 1개의 정자만을 필요로 하는 장점이 있고 정자지수(sperm parameter)와 수정 및 임신율과는 상관관계가 없다고 보고되고 있다<sup>7,8)</sup>. 현재까지 ICSI로 인한 태아에 대한 영향은 정상임신에 발생하는 경우와 비슷한 빈도로 보고되고 있으며<sup>2,9)</sup>, 유산율도 전통적인 체외수정 시의 임신과 비슷한 것으로 알려져 있다<sup>7)</sup>.

폐쇄가 없는 정상적인 경우 정자가 부고환을 거치면서 부고환 요소에 의해 수정 능력을 얻게 되는데 부고환을 거치지 않은 고환내 정자로 수정시키면 다배수체의 빈도가 증가하고 수정이 지연되므로 동물실험에서 고환조직 또는 두부 및 체부 부고환으로부터 추출한 정자를 이용한 수정률은 11%미만으로 미부 부고환에서 추출한

**Table 3. Results of ICSI with Testicular Spermatozoa**

Pathology	No.	Cycle	Preg.	Delivery
Epididymal hypoplasia, bilateral	2	3	2	1
Tbc. epididymitis, bilateral	1	2	0	
Distal vas obstruction, bilateral	1	1	0	
Ipsilateral aplasia of epididymis & contralateral obstruction of distal vas	1	2	1	
Post-vasectomy state	3	4	2	1
Total	8	12	6	2

정자의 73.1%보다 현격히 감소한다고 하였다<sup>10)</sup>. Jow 등은 고환부전은 없이 폐쇄성 정로장애로 인한 무정자증 환자들에서는 고환과 부고환에서 추출한 정자의 수정률은 차이가 없다고 보고한 바 있다<sup>11)</sup>. 그 이유로서는 고환으로 역류된 부고환 요소와 정자가 직접 접촉되거나, 부고환내의 환경에 접촉된 정자가 역행성 이동을 한 경우, 그리고 고환상피세포가 만성적 부고환 폐쇄에 적응되므로써 고환내 정자의 운동성 및 수정능력이 향상된 경우 등으로 설명하였다.

고환정자추출술 및 난자세포질내 정자주입술(testicular sperm extraction-intracytoplasmic sperm injection, TESE-ICSI)을 이용한 임신은 Silber 등이 12쌍의 폐쇄성 무정자증 부부에서 TESE-ICSI를 시행하여 46%의 수정률과 43%의 임신율을 발표하였고, Devroey 등이 57%의 수정률 및 42%의 임신율을, 이등이 70%의 수정률과 40%의 임신율을 발표하여 저자들의 수정률 61.3%, 임신율 50.0%와 유사한 결과를 나타내고 있다<sup>6,12,13)</sup>. 본원에서 시행된 사정된 정자를 이용한 ICSI 71주기에서 수정률 71.0%, 임신율 35.2%와 비교하여도 유사한 결과를 나타내었다.

TESE-ICSI의 임신율에 영향을 미치는 요소로서 부인의 나이가 중요한 것으로 보고되고 있는데 Devroey 등에 의하면 40세 이하에서는 임상적 임신으로 판정된 1례 중 3례에서만 유산이 되었으나 40세 이상에서는 임상적 임신 4례 모두에서 유산이 되었음을 보고하였다<sup>12)</sup>. 저자들의 경우에도 40세 이상인 2례에서 모두 임신이 되지 못하였으나, 이는 증례가 작아서 확실한 결론은 내릴 수가 없었다. 폐쇄성 무정자증 환자 뿐 아니라 비폐쇄성 무정자증 환자에서도 TESE-

ICSI가 시도되어 높은 수정률과 임신율이 보고되고 있다<sup>12)</sup>.

TESE-ICSI에 의한 기형아 발생 등의 영향은 아직 보고된 바는 없으나 세계적으로 출산된 경우 적기 때문에, 향후 주기적인 관찰이 있어야 할 것이다.

## 결 론

부고환 형성부전 등의 폐쇄성 무정자증 환자와 정관절제술 후 본인이 원하였던 경우 등 8쌍, 12주기에서 고환정자추출술 및 난자세포질내 정자주입술을 시행하여 61.3%의 수정율과 50.0%의 주기당 임신률을 얻었다. 이는 사정된 정자를 이용한 난자세포질내 정자주입술과 유사한 결과를 보였다. 따라서 폐쇄성 불임 환자에서, 특히 부고환의 형성부전 혹은 전체폐쇄 등으로 인해 다른 방법으로는 수정 및 임신이 불가능할 경우 고환정자추출술 및 난자세포질내 정자주입술이 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

## REFERENCES

- 1) Silber SJ, Balmaceda J, Borreo C, Ord T, Asch R: Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis. *Fertil Steril* 50: 525-528, 1988.
- 2) Silber SJ, Ord T, Balmaceda J, Patrizio P, Asch R: Congenital absence of the vas deferens: The fertilizing capacity of human epididymal sperm. *N Engl J Med* 323: 1788-1792, 1990.
- 3) Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC: Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 59: 826-835, 1993.
- 4) 손일표, 홍재엽, 이유식, 진진현, 박용식, 이호준, 강인수, 전종영: 폐쇄성 정로장애로 인한 무정자증 환자에서 미세수술적 부고환 정자흡입술과 세포질내 정자주입술을 이용한 수정률 및 임신율 증진에 관한 연구. *대한*

한불임학회잡지 21: 267-272, 1994.

- 5) Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal-Bertin G, Geerts L, Van Roosendaal E, Schoysman D: Pregnancy after fertilization with human testicular spermatozoa. *Lancet* 342: 1237, 1993.
- 6) Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P: High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicular biopsy. *Hum Reprod* 10:148-152, 1995.
- 7) Tsirigotis M, Nicholson N, Yang DS, Pelkkanos M, Redgment CJ, Craft IL: Assisted fertilization with intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 62: 781-785, 1994.
- 8) Cohen J, Alikani M, Adler A, Berkeley A, Davis O, Ferrara T: Microsurgical fertilization procedures: Absence of stringent criteria for patient selection. *J Assist Reprod Genet* 9: 197-206, 1992.
- 9) Van Steirteghem AC, Devroey P, Tournaye H, Liu J, Nagy Z, Joris H: Use of assisted fertilization. *Hum Reprod* 8: 1784-1785, 1993.
- 10) Brackett BG, Hall JL, Oh YK: In vitro fertilizing ability of testicular, epididymal, and ejaculatory rabbit spermatozoa. *Fertil Steril* 29: 571-582, 1978.
- 11) Jow WH, Steckel J, Schlegel PN, Magid MS, Goldstein M: Motile sperm in human testis biopsy specimens. *J Androl* 14: 194-198, 1993.
- 12) Devroey P, Nagy P, Tournaye H, Liu J, Silber SJ, Van Steirteghem AC: Outcome of intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa in obstructive and non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 11: 1015-1018, 1996.
- 13) 이유식, 고영수, 서주태, 박용식, 진진현, 이호준, 손일표, 홍재엽: 고환조직에서 추출한 정자로 난자 세포질내 정자주입술을 시행한 후 수정률과 임신율. *대한비뇨학회지* 36: 949-955, 1995.