

## 폐색성 무정자증환자의 치료로써 미세적 부고환 정자흡입술 (MESA) 및 정자직접주입법(ICSI)의 효과

차병원 비뇨기과, 산부인과, 여성의학연구소\*\*

김현주·김영찬·엄기봉\*\*·오종훈\*\*·이우식\*·한세열\*·최동희\*·윤태기\*·차광열\*

### The Effect of Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration (MESA) and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) as a Treatment for Obstructive Azoospermia

H.J. Kim, Y.C. Kim, K.B. Oum\*\*, J.H. Oh\*\*, W.S. Lee\*, S.Y. Han\*, D.H. Choi\*, T.K. Yoon\* and K.Y. Cha\*

Department of Urology, Department of Obstetrics and Gynecology\*, Infertility Medical Center\*\*,  
CHA General Hospital, Seoul, Korea

#### = Abstract =

To present and assess the efficacy of combination of microsurgical epididymal sperm aspiration(MESA) and intracytoplasmic sperm injection(ICSI) for the treatment of infertility due to unreconstructable obstructive azoospermia or congenital bilateral agenesis of vas deferens (CBAVD), MESA was performed in the 45 husbands ( 16 CBAVD, 29 unreconstructable genital tract obstruction), followed by ICSI of oocytes recovered from the wives hyperstimulated by GnRH agonist in combination with hMG and FSH. Cleaving embryos were transferred to the uterine cavity or fallopian tube(ZIFT) 18 or 24 hours after ICSI procedure.

In 45 cycles of MESA, 492 oocyte complexes were recovered. ICSI was carried out on 355 metaphase II oocytes and 226 oocytes (63.7%) showed normal two pronucleus fertilization. After 198 embryos were transferred in 43 cycles, an average of 5 per cycle, 20 patients presented a positive HCG and intrauterine pregnancy was confirmed by US.

So, the clinical ongoing pregnancy rate per transfer was 46.5%.

Until now, 8 patients have given birth to 9 babies, 5 male and 4 female, including 1 twin. The babies were all healthy except 1 twin female baby. There was 1 miscarriage at 7 weeks and chromosomal study of abortus revealed as 45X, monosomy.

These results suggested that it was possible to achieve high normal fertilization and pregnancy rate by ICSI using epididymal sperm.

#### 서 론

불임의 원인이 선천성 정관무형성증이거나 수술적 교정이 불가능한 폐색성 무정자인 경우, 정자를 얻는 방법으로 미세수술적 부고환 정자흡입술(microsurgical epididymal sperm aspiration;

MESA)이 도입되어(Temple-Smithe et al., 1985) 인공수정이나 체외수정과 병용함으로써 제한적이거나 불임부부에게 치료의 가능성을 열어 주었다. 그러나 부고환에서 얻은 정자들은 부고환을 거치면서 충분한 성숙과정을 거치지 못하여 정자의 수정능력이 저하되어 있어 이들을 가지고 인공수정을 시행하였을 경우 수정율은 20%이내,

임신율은 0.4%로 저조하였으며(Mathieu et al., 1992; Ord et al., 1992), 체외수정과 병용한 경우는 1984년에 임신례가 보고되었고(Pryor et al., 1984), 생아 출생은 1990년에 보고된 바 있으나(Silber et al., 1990), 전반적으로 임신율이 낮아 여러차례의 시도가 필요하여 불임부부에게는 정신적으로나, 사회경제적 부담이 크기 때문에 보다 바람직한 방법의 필요성이 대두되었다. 이러한 상황에서 과거 동물실험을 통하여 가능성을 타진하여왔던 정자직접주입법 (intracytoplasmic sperm injection; ICSI)이 발전을 거듭하여 수정율과 임신율이 괄목할 만 하게 높게 유지되면서 심한 감정자중이거나 무력정자증, 기형정자증 환자에서 새로운 치료법으로 대두되게 되었다(Palermo et al., 1992, 1993; Steirteghem et al., 1993 a,b).

본 논문은 수정능력이 저하되어 있는 부고환의 정자들을 가지고 수정단계의 여러과정을 극복할 수 있는 ICSI를 시도함으로써 그에 따른 수정율과 임신율을 알아 보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상환자

불임으로 본원을 찾아 진단과정을 거쳐 무정자증으로 진단된 45명을 대상으로 하였으며, 원인별로는 선천성 정관무형성증환자 16명, 교정 불가능한 폐색성무정자증환자 29명이었다.

### 2. 정자 채취

정자직접주입을 위한 정자는 하반신 마취하에서 현미경으로 부고환관의 폐색부위를 관찰한 후, 양극 응고겸자를 이용하여 철저하게 지혈하면서 폐색부위상부의 부고환을 박리하여 정자의 유무를 관찰하였다. 운동성있는 정자가 출현하였을 경우 1cc tuberculin syringe에 0.2-0.3ml의 배양액을 담고 24G angio needle를 부착해서 자연스럽게 흘러나오는 정자를 흡입하였으며, 정자의 상태를 검사하여 정자가 ICSI에 적합할 경우 정자냉동을 염두에 두고 충분한 양의 정자를 얻고자 하였다. 부고환을 박리하는 위치는 재차 흡입을 고려하여 부고환의 체부나 미부에서 시작하여 충분한 정자를 얻을 때 까지 점차 부고환두부로 옮겼다.

### 3. 과배란 유도 및 난자채취

난자회수를 위한 과배란 유도는 GnRHα/FSH/hMG를 병용하여 사용하였으며, 황체기보조로 난자채취당일 25mg의 progesterone을 투여하였다. hCG투여후 36시간째에 질식 초음파를 이용하여 난자를 채취하였다.

### 4. ICSI를 위한 정자준비

채취된 정자는 swim-up법이나 two layer Percoll gradient법(50%,80%)으로 처리하였으며, 심한 운동성저하 정자의 경우는 pentoxifylline (3.6mM)을 첨가하여 운동성의 증가를 기대하였다. 극심한 희소정자증의 경우는 정자처리없이 원정액을 그대로 사용하였다.

### 5. ICSI 과정

정자직접주입에 사용된 피펫의 준비는 고정피펫은 외경 80μm, 내경 15μm가 되도록 미세연마기로 갈아 얻었고, 정자주입피펫은 외경 7μm, 내경 5μm가 되도록 준비하였다. ICSI과정은 Nikon diaphot 300 도립현미경이 부착된 NT-88 미세조작기를 사용하였고, 37℃ 5%CO<sub>2</sub> 상태에서 시행하였다. 우선 운동성이 있는 정자의 미부를 주입피펫으로 자극하여 운동성을 저하시킨후 정자의 꼬리부터 주입피펫내로 흡입하였다. 난자는 고정피펫으로 음압을 가하여 고정시키고, 극체가 12시 혹은 6시 방향에 오도록 한후 3시 방향에서 정자를 난자 세포질내로 깊숙히 주입하였다. 정자가 주입된 난자는 10% FCS(fetal cord serum)을 포함한 TCM-199용액에서 배양하였다.

### 6. 수정의 평가

ICSI를 시행하고 16-18시간이 경과후 도립현미경으로 200배 시야에서 난자를 관찰하여 전핵과 극체의 존재를 확인하였다. 분명한 두개의 전핵과 핵소체가 있을때 수정된 것으로 여겼으며, 수정란은 20% FCS를 포함한 TCM-199배양액으로 장기배양접시에서 수정란 이식까지 배양하였다.

## 결 과

부고환정자흡입술을 시행한 불임부부의 평균 나이는 남자 35세, 여자 31세 이었으며, 채취된

**Table 1. Clinical Results of ICSI using MESA sperm**

Type of sperm	No. of Cycles	No. of Oocytes(%)						No. of ET(%)	No. of Preg.(%)
		Retrieval	ICSI	2PN	1PN	3PN	Damaged		
Fresh	37	404	290	186 (64.1)	4	1	12 (4.1)	36	16 (44.4)
Frozen	8	88	65	40 (61.5)	—	—	7 (10.8)	7	4 (57.1)
Total	45	492	355	226 (63.7)	4	1	19 (5.4)	43	20 (46.5)

**Table 2. Analysis of clinical results of MESA-ICSI cycles according to Etiology**

Etiology	No. of Cycles	No. of Oocytes(%)						No. of ET(%)	No. of Preg.(%)**
		Retrieval	ICSI	2PN*	1PN	3PN	Damaged		
CBAVD	14	178	130 (73.0)	97 (74.6)	2	—	5	14	8 (57.1)
Obstruction	23	226	160 (70.8)	69 (55.6)	2	1	7	22	8 (36.4)

CBAVD; congenital bilateral agenesis of vas deferens, \*p<10<sup>-6</sup>, \*\*p=0.2277

정자의 수는 0.01x10<sup>6</sup>/ml 에서 120x10<sup>6</sup>/ml 까지 광범위하였고 평균 6%의 운동성있는 정자를 얻었다.

과배란을 유도하여 45회에 걸쳐 채취한 492개의 난자중 355개의 metaphase II난자에 ICSI를 시행하여 63.7%인 226개의 난자에서 수정(2PN)되었으며 5.4%인 19개의 난자에서 손상을 입었다. 43명에게 총 198개, 평균 5개의 배아를 이식하여 46.5%인 20명에서 임신에 성공하였다. 이중 8명에서는 냉동시켰던 정자를 이용하였으며, 이 경우 61.5%의 수정율(40/65)과 7명에서 배아를 이식하여 4명에서 임신이 확인되었다(Table. 1). 지금까지 임신되었던 경우 중 8명이 출산하여 한 경우의 쌍둥이 출산을 포함하여 5명의 남아와 4명의 여아가 태어났다. 출생아들은 모두 건강하였으나 쌍둥이 중 여아가 저체중으로 사망하였다. 임신된 경우 중 유산은 현재까지 한 경우로 낙태아에 대한 염색체검사 결과 45X monosomy로 판명되었다.

부고환에서 얻은 신선한 정자로 ICSI한 결과를 원인별로 분석하였을때 14례의 선천성 정관 무형성증의 경우 74.6%(97/130)의 수정율과 57.1%(8/14)의 임신율을 얻었으며, 교정이 불가능한 23례의 폐색성 무정자증의 경우 55.6%(69/160)의 수정율과 36.4%(8/22)의 임신율을 얻었다. 두 그룹간의 임신율은 유의한 차이가 없었으나 수정율

에서는 유의한 차이가 나타났다(p<10<sup>-6</sup>) (Table. 2).

## 고 찰

최근 수년전까지 수술적으로 교정이 불가능한 폐색성 무정자증이나 선천성 정관 무형성증의 경우는 가장 치료가 어려운 불임의 원인중 하나였다. 그러나 부고환정자흡입술(MESA)의 도입으로 새로운 치료의 가능성을 열었으나 부고환에서 얻은 정자의 경우 정자의 미성숙과 정자 채취과정에서의 적혈구, 퇴화과정의 정자, 혹은 부고환관내의 Macrophage등 혼탁의 문제로 일반적 IVF-ET시 수정율과 임신율의 저하로 실망스러웠다(Maruyama et al., 1985). 최근까지 여러기관의 결과들을 분석한 결과 대체적인 임신율은 10%내외로 이러한 결과는 미세조작을 통하지 않는 체외수정의 경우 최소한의 운동성있는 정자가 요구되기 때문이다(Fisch et al., 1990).

최근 생식보조술의 발달은 심한 남성요인의 경우에도 미세조작을 통해 난자세포질내로 정자를 직접주입함으로써 일반적 체외수정과 유사한 수정율과 임신율의 기대를 가능하게 하였다(Van Steirteghem et al., 1993b). 이는 미세조작술의 또다른 방법들인 투명대절개법(PZD)이나 위관강내 정자주입법(SUZI)에 비해 정자의 수, 운

동성, 형태등에 의한 제약이 적기때문인것으로 해석되고 있다(Palermo et al., 1993; Fishel et al., 1994). 실제로 위관강내 정자주입법의 경우 최소한의 운동성이 있는 정자가 3-5마리까지 요구되기때문에 정자의 상태에 영향을 받을 수 밖에 없고 polyspermy의 가능성이 높다. 이에 비해 ICSI의 경우 운동성이 있는 한마리의 정자를 오히려 운동성을 떨어뜨려 주입함으로써 수정이 가능하다. 특히 ICSI는 수정의 여러 단계를 통과함으로써 수정능력이 떨어지는 정자에서 유용하다.

ICSI는 이미 80년대부터 동물실험을 거쳐 토끼와 소에서 출산의 경험이 있으며(Iritani, 1991), 임상적으로는 Markert이 난자세포질내 정자직접 주입으로 정상적 수정을 일으킬 수 있다고 보고(Markert, 1983) 한바 있으나 ICSI로 염색체의 aneuploid가 4배정도 증가할 수 있다는 보고(Martin et al., 1988)로 인해 주춤하였다. 최근들어 ICSI에 의한 팔목할 만한 수정율과 임신율이 보고(Palermo et al., 1992, 1993; Van Steirteghem et al., 1993 a, b)되어 수차례 체외수정에 실패한 경우나 심한 남성요인의 불임환자들에게 치료의 새장을 열어 주었다. 본 병원에서도 수차례에 걸쳐 체외수정에 실패하였던 환자들이나 심한 남성요인의 불임환자에게 ICSI를 시행하여 60-70%의 수정율과 30-40%의 임신율을 보고한 바 있다(엄기봉 등, 1994).

따라서 이러한 ICSI의 임상결과들은 선천성 정관무형성증환자들과 수술적 교정이 불가능한 폐색성 무정자증환자들의 경우 미세수술적 부고환정자흡입술로 정자를 얻을 수 있음에도 불구하고 정자의 상태가 불량함으로써 기존의 체외수정으로는 얻기어려웠던 수정율과 임신율을 ICSI와 병용함으로써 얻을 수 있는 토대를 마련하였다.

본 연구에서 MESA 와 ICSI를 병용하여 수정율과 임신율에 대한 결과를 보면 수정율 64.7%, 임신율 46.5%로 여타 보고들과 유사한 결과를 얻었음을 알 수가 있다. 특히 선천성 정관 무형성증의 경우 75%의 수정율과 14명의 환자중 8명에서 임신이 되어 다른 보고들보다 월등한 결과를 얻을 수 있었다.

정자의 성숙과정에서 정상적인 부고환의 역할에 대해서는 이론의 여지가 없으나 폐색등 병적인 상태에서는 부고환의 역할 변화에 대한 결과들이 보고되고 있다. 정상적인 경우 부고환 두부

의 정자보다는 부고환 미부의 정자의 수정능력이 더 높은 것을 알 수 있으나 (Bedford, 1973), 정로가 폐색된 경우 이때에도 정자의 생성은 지속되고 주로 부고환 미부에서 정자의 재흡수가 일어나 (Jarow et al., 1985; Silber et al., 1990) 오히려 퇴화과정의 정자나 대식세포가 적은 근위부고환에 있는 정자가 더 좋은 것을 알 수가 있다. Temple-Smith의 경우 근위부고환에서 운동성있는 정자를 얻어 임신례를 보고한 바 있으며 (Temple-Smith et al., 1985), Silber의 경우도 선천성 정관무형성증환자에서 IVF-ET를 위한 MESA시 부고환두부로 갈수록 운동성있는 정자를 얻을 수 있었다고 보고하였다(Silber et al., 1988). 본 연구에서도 부고환정자흡입술을 시행할 때 부고환 체부에서 운동성 있는 정자를 얻지 못하였을 경우 오히려 부고환 두부나 수출관(efferent duct)에서 운동성있는 정자를 얻는 경우가 많았다. 심지어는 고환내부에서 운동성있는 정자를 얻을 수 있었다는 보고(Jow et al., 1993)도 있어 고환조직에서 얻은 정자로 ICSI를 시행할 수 있는 발판을 마련하였다. 이러한 변화에 대한 가설로는 정자가 오랫동안 세정관과 접촉한 결과이거나 정자에 운동성을 부여하는 부고환인자의 역류, 혹은 부고환에서 운동성을 획득한 정자가 고환쪽으로의 역행, 또는 병적상태에 대한 고환조직의 적응등을 들 수 있다.

반면, 임신율이 30-40%내외인 것을 감안할 때 여러차례의 MESA가능성이 있으므로, ICSI에 지장이 없는 한 원위부고환에서 시작하여 근위부로 MESA의 위치를 옮겨야 하겠고, 시술시 가능한 많은 양의 정자를 얻어 냉동보관함으로써 차후 사용을 피하여야 하겠다.

ICSI로 인한 난자의 손상은 SUZI의 경우 7.1%, ICSI의 경우 13.5%로 보고한 바 있으나(Van Steirteghem et al., 1993a), 본 연구에서는 10%이내로 경험있는 체외수정팀의 경우 난자손상은 문제가 되지 않을 것으로 사료된다. ICSI후 기형아 출생에 대한 우려가 있으나 48례의 임신에서 58회에 걸친 태아 염색체검사서 이상이 없었다는 보고(Palermo, 1993; Van Steirteghem, 1993a)가 있으며, 본원에서도 정자직접주입법으로 71명의 아기가 태어났으나 특별한 유전적 질환은 보고되지 않았다.

## 결 론

정로폐색으로 인한 무정자증의 경우 일차적으로 부고환정관문합술을 통한 수술적교정을 시도하나, 선천성 정관 무형성증이거나 수술적교정이 실패 혹은 불가능한 경우, 이들의 치료로써 미세적 부고환 정자흡입술 및 정자 직접 주입법을 시도할 수 있다.

저자들은 불임을 주소로 내원하여 무정자증으로 진단된 45명의 환자들(선천성 정관무형성증 환자 16명, 폐색성 무정자증 환자 29명)을 대상으로 미세적 부고환 정자흡입술 및 정자 직접 주입법을 시도하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

GnRH agonist/ hMG/ FSH 방법으로 과배란을 유도하여 45회에 걸쳐 채취한 492개의 난자중 355개의 난자에 ICSI를 시행하여 63.7%인 226개에서 수정(2PN)되었으며, 43명에게 배아를 이식하여 46.5%인 20명에서 임신에 성공하였다. 이 중 8명은 MESA시 얻은 냉동정자를 사용하여 ICSI를 시행하였고 7명에게 배아를 이식하여 4명에서 임신에 성공하였다. 원인별로는 선천성 정관무형성증의 경우 75%의 수정율과 57.1%의 임신율을 보인 반면, 수술적교정이 불가능한 폐색성 무정자증의 경우 수정율과 임신율이 55.6%와 36.4%로 나타났다. 현재까지 1쌍의 쌍둥이를 포함하여 9명의 아기(남아 5, 여아 4)가 태어났으며, 쌍둥이 중 여아가 저체중아로 사망한 것을 제외하고는 모두 건강한 것으로 나타났다.

이상의 결과는 폐색성 무정자증의 경우, 특히 선천성 정관 무형성증인 경우 미세적 부고환 정자흡입술 및 정자 직접 주입법이 효과적인 치료법이 될 수 있을 것으로 판단된다.

## 인 용 문 헌

Bedford JM, Calvin H, Cooper GW: The maturation of spermatozoa in the human epididymis. *J Reprod Fertil* 1973, Suppl 18, 199.

Fisch B, Kaplan-Kraicer R, Amit S, Zukerman Z, Ovadia J, Tadir Y: The relationship between sperm parameters and fertilizing capacity in vitro: a predictive role for swim-up migration. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1990, 7, 38-44.

Fishel S, Timson J, Lisi F, Jacobson M, Rinaldi L, Gobetz L: Micro-assisted fertilization in patients who have failed subzonal insemination. *Hum Reprod* 1994, 9, 501-505.

Iritani A: Micromanipulation for in vitro assisted fertilization. *Mol Reprod Dev* 1991, 28, 199-207.

Jarow JP, Budin RE, Dym M, Zirkin BR, Noren S, Marshall FF: Quantitative pathologic changes in the human testis after vasectomy: a controlled study. *N Engl J Med* 1985, 313, 1252-1256.

Jow WW, Steckel J, Schlegel PN, Magid JS, Goldstein M: Motile sperm in human testis biopsy specimens. *J Androl* 1993, 14, 194-198.

Markert CL: Fertilization eggs by sperm injection. *J Exp Zool* 1983, 228, 195-201.

Martin RH, Ko E, Rademaker A: Human sperm chromosome compliments after micro-injection of hamster eggs. *J Reprod Fertil* 1988, 84, 179-186.

Maruyama DK, Hale RW, Rogers BJ: Effects of white blood cells on the in vitro penetration of zona-free hamster eggs by human spermatozoa. *J Androl* 1985, 6, 127-135.

Ord T, Balmaceda JP, Marello EM, Silber SJ, Patrizio P, Asch RH: The role of the laboratory in the handling of epididymal sperm for assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1992, 57, 1103-1106.

Palermo G, Camus M, Joris H, Devroey P, Derde MP, Van Steirteghem V: Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1993, 59, 826-835.

Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem A: Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992, 340, 17-18.

Pryor J, Parsons J, Goewamy R, Matson P, Vaid P, Wilson L, Whitehead M: In vitro fertilization for men with obstructive azoospermia. *Lancet* 1984, 2, 762.

Silver SJ, Balmaceda J, Borrero C, Ord T, Asch R: Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: a new

- treatment for congenital absence of the vas deferens. *Fertil Steril* 1988, 50, 525-528.
- Silver SJ, Ord T, Balamaceda J, Patrizio P, Asch R: Congenital absence of the vas deferens: the fertilizing capacity of human epididymal sperm. *N Engl J Med* 1990, 323, 1788-1792.
- Silver SJ, Patrizio P, Asch R: Quantitative evaluation of spermatogenesis by testicular histology in men with congenital absence of the vas deferens undergoing epididymal sperm aspiration. *Hum Reprod* 1990, 5, 89-93.
- Temple-Smith PD, Southwick GJ, Yates CA., Trounson AO, de Kretser DM: Human pregnancy by in vitro fertilization (IVF) using sperm aspirated from the epididymis. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1985, 2, 119-122.
- 엄기봉, 오종훈, 이경아, 김현주, 성혜리, 이우식, 고정재, 차광열: 여러가지 정자처리법에 의한 정자직접주입법(ICSI)의 수정 및 임신에 관한 연구. 대한불임학회 1994 추계학술대회 초록.
- Van Steirteghem A, Liu J, Joris H, Nagy Z, Janssenswillen C, Tournaye H, Derde MP, Van Assche E, Devroey P: Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than by subzonal insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. *Hum Reprod* 1993a, 8, 1055-1060.
- Van Steirteghem A, Nagy Z, Joris H, Liu J, Staessen C, Smits J, Wisanto A, Devroey P: High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1993b, 8, 1061-1066.