부고환 및 고환 정자를 이용한 세포질내 정자주입술에 관한 임상 연구

중앙대학교 의과대학 산부인과학교실, 비뇨기과학교실1
이영일 · 이상훈 · 김영선1

Clinical Study on Intracytoplasmic Sperm Injection using Epididymal and Testicular Sperm

Young Il Lee, M.D., Sang Hoon Lee, M.D., Young Sun Kim, M.D.1

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Chung-Ang University,
1Department of Urology, College of Medicine, Chung-Ang University,
Seoul, Korea

Objective : The purpose of this study was to evaluate outcome of intracytoplasmic sperm injection(ICSI) using epididymal and testicular sperm in patients with azoospermia.
Methods : From March, 1993 to May, 1999, a retrospective clinical analysis was done of a total of 140 cycles in 112 patients who underwent ICSI. Subjects were divided into three groups : ejaculated-ICSI group included 42 cycles in 34 patients with ejaculated sperm who underwent ICSI due to severe oligospermia and past history of failed or poor fertilization in the previous in vitro fertilization and embryo tranfer(IVF-ET) cycles, microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection(MESA-ICSI) group included 50 cycles in 42 patients with congenital absence of the vas deferens(CAVD) or unreconstructable obstructive azoospermia and testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection(TESE-ICSI) group included 48 cycles in 36 patients with no spermatozoa which can be retrieved from epididymis or non-obstructive azoospermia.
Results : Normal two-pronuclear fertilization rates were similar in three groups : 64.4% for ejaculated-ICSI group, 59.4% for MESA-ICSI group and 60.4% for TESE-ICSI group. The pregnancy rates were 26.2%, 26.0% and 25.0% respectively. There were no significant differences in the fertilization, cleavage, and clinical pregnancy rates among ICSI cycles using ejaculated, epididymal and testicular sperm.

Conclusion : Epididymal and testicular sperm obtained in azoospermic patients can fertilize oocyte successfully and may lead to be similar fertilization rates and clinical pregnancy rates to ejaculated sperm.

Key words : ICSI(intracytoplasmic sperm injection), MESA(microsurgical epididymal sperm aspiration), TESE(testicular sperm extraction), Azoospermia

선천성 양측성 정관형성 부전증(congenital bilateral absence of vas deferens, CAVD)이나 수술로써 교정이 불가능한 폐쇄성 무정자증 환자에서 1985년 Temple-Smith에 의해 미세수술적 부고환 정자흡입술(microsurgical epididymal sperm aspiration, MESA)로 채취한 정자를 이용하여 체외수정 및 배아이식을 시행하여 처음 임신에 성공한 것이 보고된 이래,1 Silber 등은 1990년에 이 방법에 의한 첫 출생이 보고하였으나,2 부고환에서 채취한 정자로 일반적인 체외수정을 시행할 때는 수정률이 낮고 임신율도 10% 내외로 매우 낮았었다.3,4

세포질내 정자주입술(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)이 처음으로 일반적인 체외수정에서 반복적인 수정의 실패를 보인 부부에게 시행된 후 일반적인 체외수정 방법으로 수정이 거의 불가능한 남성불임 환자에서도 높은 수정률을 얻을 수 있게 되었고 따라서 임신율도 크게 향상되었다.5,6 이에 따라 부고환에서 채취한 정자를 이용한 세포질내 정자주입술을 시행하여 폐쇄성 무정자증 환자의 치료에 많은 진전이 있었다.3,7

미세수술적 부고환 정자흡입술을 시행하여 부고환에서 정자를 채취할 수 없었던 폐쇄성 무정자증 환자에서는 이러한 방법을 이용할 수 없었으나 최근 고환조직 정자채취술(testicular sperm extraction, TESE)을 이용하여 고환조직으로부터 정자를 채취한 후 이를 세포질내 정자주입술로 체외수정을 시도하여 수정 및 임신이 가능하게 되었으며,8 최근의 보고에 의하면 고환조직 정자채취술을 이용하여 추출된 정자의 경우 수와 운동성은 저조하지만 세포질내 정자주입술을 이용하여 수정률과 임신율을 높일 수 있다고 하였다.

이제까지 세포질내 정자주입술을 이용한 미세수술적 부고환 정자흡입술과 고환조직 정자채취술은 주로 고환기능이 정상인 폐쇄성 무정자증 환자에서 시도되어 왔다.

그러나 남성불임 환자의 약 15%를 차지하는 비폐쇄성 무정자증 환자의 경우에도 고환조직 정자채취술을 이용하여 정자를 채취할 수 있으며 채취된 정자의 대부분은 형태나 운동성이 정상적인 정자에 비해 떨어지나 정상적인 수정과 임신이 가능한 것으로 보고되었다.9 비폐쇄성 무정자증 환자에서는 완전히 성숙되지 않은 미성숙 정자 때문에 폐쇄성 무정자증 환자보다 수정율이 낮다는 보고도 있으나,10 최근에는 비폐쇄성 무정자증과 폐쇄성 무정자증 환자에서 유사한 수정율과 임신율을 보이는 것으로 보고되고 있다.3,8,11

이에 본 교실에서는 희소정자증과 이전의 일반적인 체외수정 방법으로 수정에 실패하거나 저조한 환자에서 사정된 정자을 이용한 세포질내 정자주입술을 시행한 후의 임상적인 결과와 무정자증 환자의 부고환 정자 및 고환 정자를 채취하여 세포질내 정자주입술을 시행한 후의 각각의 임상적 결과를 비교 분석하고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 1993년 3월부터 1999년 5월까지 중앙대학교 의과대학 산부인과 불임크리닉에 체외수정시술을 위해 등록된 불임환자 중 체외수정 시술시 세포질내 정자주입술을 시행 받은 환자 112명(140주기)을 대상으로 이를 세 군으로 나누어 희소정자증과 이전의 일반적인 체외수정 방법으로 수정에 실패하거나 저조한 환자의 사정된 정자를 채취하여 세포질내 정자주입술을 시행한 환자 34명(42주기), 선천성 양측성 정관형성 부전증이나 수술로써 교정이 불가능한 폐쇄성 무정자증으로 부고환의 정자를 채취하여 세포질내 정자주입술을 시행한 환자 42명(50주기), 부고환에서 정자를 채취할 수 없거나 조직검사 소견상 maturation arrest, Sertoli cell only syndrome, hypospermatogenesis 등을 보이는 비폐쇄성 무정자증으로 판명되어 고환의 정자를 채취하여 세포질내 정자주입술을 시행한 환자 36명(48주기) 등으로 분류하였다.

2. 남성불임 진단

환자의 병력과 이학적 검사를 일정한 양식에 따라 확인하였으며 정액검사, 호르몬 검사, immunobead test, 고환조직검사 등을 시행하였다. 폐쇄성 무정자증 환자는 선천성 양측성 정관형성 부전증이나 수술로서 교정이 불가능한 정관폐색, 부고환폐색을 보인 경우로 미세수술적 부고환 정자 흡입술을 시행하였으며 부고환에서 정자를 채취할 수 없거나 회수된 정자의 운동성이 없는 경우, 그리고 조직검사상 Sertoli cell only syndrome, maturation arrest, severe hypospermatogenesis 등의 소견을 보인 비폐쇄성 무정자증 환자는 고환조직 정자채취술을 시행하였다.

3. 사정된 정자 처치

정액은 3-5일간의 금욕 후 수음에 의하여 얻어졌으며, 정액검사 전에 37℃에서 30분간 액화시켰다. 정액의 양, 정자의 농도 및 운동성의 평가는 WHO 기준(1992)에 따라 시행되었으며, 정자의 형태를 평가하기 위하여 Kruger에 의하여 고안된 정자의 정밀형태분석(strict morphology criteria)을 이용하였다.17 정자의 회수를 위하여 시험관의 밑부분부터 95%, 70%, 50% percoll이 담겨진 14ml 원추형 시험관의 상단부에 액화된 정액을 올려놓고 400×G로 20분간 원심분리하였다. 상층액을 모두 제거하고 정자괴만을 회수하여 2ml의 수정 배양액을 넣어 잘 섞은 후 다시 300×G로 10분간 원심분리하여 2차 세척을 실시하였다. 상층액을 제거하고 정자괴 위에 새로운 수정 배양액을 조심스럽게 올려놓고 CO2 배양기에서 swim-up 처리하였다.

희소정자증 환자의 경우에는 정액을 percoll에 처리하여 원심분리한 후, 수정배양액으로 2회 반복 세척하여 회수된 정자괴를 소량의 수정배양액으로 희석하여 37℃의 5% CO2를 함유한 배양기에서 세포질내 정자주입술을 시행할 때까지 배양하였다.

4. 미세수술적 부고환 정자흡입술

난자채취 당일에 경막외마취를 한 뒤 음낭절개술을 이용하여 초막을 절개하여 부고환을 노출시켰다. 원위부 부고환으로부터 부고환관을 현미경하에서 절개한 후 얻은 현탁액에서 정자 유무를 현미경하에서 확인한 후 정자가 관찰될 때까지 점점 더 근위부 쪽으로 절개하여 나갔다. 1cc tuberculin 주사기에 0.2-0.3ml의 배양액을 담고 26G 침을 부착해 절개된 곳을 통해 자연스럽게 흘러나오는 부고환액을 흡입하였다. 회수된 정자 부유액은 혈액 및 불순물을

제거하기 위하여 정자의 상태에 따라서 mini-percoll gradient 방법과 swim-up 방법을 이용하여 운동성 정자를 회수하였다. 95%, 70%, 50% percoll을 14ml 원추형 시험관의 바닥에서부터 섞이지 않게 0.3ml씩 층을 형성시키고 정자부유액을 준비된 percoll 층의 상단부에 섞이지 않게 올려놓은 후 이들을 350×G에서 15-20분간 원심분리하였다. 대부분의 운동성 정자는 70% percoll 층에서 발견되었다. 회수된 운동성 정자는 수정배양액으로 희석하여 2회 세척한 후(300×G, 10분) 운동성 정도에 따라 swim-up 방법으로 처리하거나 수정배양액으로 희석하여 세포질내 정자주입술을 시행할 때까지 배양하였다.

5. 고환조직 정자채취술 및 정자확인

국부마취 하에서 약 1cm 정도로 음낭 및 초막의 일부를 절개한 후 백막을 0.5cm 정도 절개하여 약간의 고환조직을 추출하였다. 채취된 고환조직을 0.5% BSA가 첨가된 Dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS)으로 세척하여 혈액과 불순물을 제거한 후 Universal IVF Medium(Medi-Cult, Denmark)이 담겨진 petri dish로 옮겨 저배율의해부현미경하(12 20배)에서 각각의 세정관을 분리하였다. 분리된 세정관을 조심스럽게 미세겸자로 짜내어 추출물을 얻은 후 도립현미경 200배와 400배율 하에서 정자의 존재 유무를 확인하였다. 만일 정자가 발견되지 않은 경우에는 다른 부위의 백막을 절개하거나, 다른 쪽 고환에서 같은 방법으로 시도하였다. 그후 충분히 피펫팅하여 충분히 분산시킨 후 부유액만을 모아 300×G에서 10분간 원심분리하여 상층액을 제거한 후 모여진 정자괴에 0.3-0.5ml의 배양액을 첨가하여 섞은 후 CO2 배양기에서 세포질내 정자주입술을 시행할 때까지 배양하였다.

6. 과배란유도 및 난자 준비

난자 채취를 위한 과배란 유도는 hMG(Merional, IBSA, Switzerland)와 GnRH agonist인 leuprolide acetate(Lucrin, Abbott Laboratories, France)를 병용하였으며 월경 시작 8일째부터 매일 오전 8시에 질식 초음파로 성장하는 난포의 최대 직경을 측정하였다. 하나의 우성난포의 직경이 18mm이상이거나, 직경 16mm이상인 난포가 2개 이상 관찰되면 hCG(Choriomon, IBSA, Switzerland) 10,000IU를 근육 주사하였다. 또한 월경 시작 2일째 혈청 E2, LH, FSH 농도와 hCG 투여 당일에 혈청 E2, LH, FSH 농도를 측정하였다. hCG투여 36시간 후에 국소마취 하에서 질식초음파를 이용하여 난자채취를 시행하였다. 환자는 demerol, valium으로 정맥마취를 하였고, lidocaine으로 자궁경부의 국소마취를 시행하였다. 난자를 포함하고 있는 난포액을 2ml의 Dulbelcco's phosphate buffered saline(D-PBS)을 넣어둔 난포액 수집통에 차례로 흡인하였다.

난포액과 D-PBS용액이 들어있는 혼합액을 즉시 배양실로 옮겨서 배양접시에 옮긴 후 해부현미경으로 난자의 존재여부를 확인하였고, 난자의 존재가 확인되면 역반사 현미경으로 난자의 형태를 관찰하였다. 채취된 난자-난구 복합체를 3-4시간 배양한 후에 80IU/ml의 hyaluronidase(Sigma Chemical Co., USA)에 30초 정도 노출시키고 가늘게 뽑은 pasteur pipette을 이용하여 흡입과 방출을 반복하여 난구세포를 완전히 제거한 후 3-4회 세척하였다. 세척된 난자는 새로운 Universal IVF Medium에 옮겨서 세포질내 정자주입술을 시행하기 전까지 37℃의 CO2 배양기 내에서 배양하였다.

세포질내 정자주입술 시행 직전에 난자의 성숙도를 현미경하에서 판정하여 제1극체가 방출된 제2감수분열 중기의 난자만을 세포질내 정자주입술에 사용하였다.

7. 세포질내 정자주입술

세포질내 정자주입술은 도립현미경(Nikon, Diaphot 300)에 부착된 1쌍의 미세조작기(Research Instruments, UK)를 이용하여 수행하였으며, 난자 고정피펫과 정자 주입피펫(Humagen fertility diagnostics, Ins., USA)은 내경이 각각 20-25㎛와 5-6㎛인 것을 사용하였다.

먼저 oil이 덮여진 petri dish(Falcon 1006, USA) 내의 배양액 drop(5㎕)에서 운동성이 있는 정자를 선택하여 10% polyvinylpyrrolidone(PVP) drop에 넣어 운동성을 감소시킨 후 정자 주입피펫으로 정자의 중편부에 물리적인 힘을 가하여 운동성을 없애고 정자의 꼬리부터 정자 주입피펫 내로 흡입하였다. 준비된 난자는 제1극체가 12시 또는 6시 방향으로 오도록 난자 고정피펫으로 고정시킨 후 3시 방향에서 정자를 난자 세포질내로 주입하였다. 정자주입시 난자의 세포질을 정자 주입피펫 안으로 적당량 흡입하여 난자의 세포질내로 정자가 주입된 것을 확인하였다. 정자가 주입된 난자는 3-4번 세척한 후 새로운 Universal IVF Medium에서 배양하였다.

8. 수정의 평가 및 배아이식

세포질내 정자주입술을 시행하고 16-20시간이 경과한 후 도립현미경으로 200배의 시야에서 관찰하여 두 개의 전핵이 뚜렷이 관찰되었을 때 수정된 것으로 여겼으며. 수정란은 48시간동안 추가 배양하여 발달상태가 양호한 배아만을 골라 자궁내에 이식하였다.

9. 분석 및 통계방법

결과에 대한 통계적 분석은 one way ANOVA test와 student t-test를 이용하였으며, p 값이 0.05 이하인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과

1. 대상 환자의 임상적 특성의 비교

대상 환자의 연령은 세 군간에 유의한 차이를 보이지 않았으며(34.8세±4.8 vs 34.8세±2.5 vs 33.9세±3.8) 월경 주기 제2일에 측정한 기저 혈중 E2 농도(24.46±3.48pg/ml vs 29.45±8.54pg/ml vs 26.65±6.98pg/ml), LH 농도(12.45±6.89mIU/ml vs 13.56±6.36mIU/ml vs 11.65±5.49mIU/ml), FSH 농도(9.13±4.72mIU/ml vs 10.37±6.43mIU/ml vs 9.45±6.34mIU/ml)는 역시 세 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다. (Table 1.)

Variables	Ejaculated	Epididymal	Testicular
No. of patients	34	42	36
No. of cycles	42	50	48
Age of patients(yrs)	34.8±4.8	34.8±2.5	33.9±3.8
Basal serum E2(pg/ml)	24.46±3.48	29.45±8.54	26.65±6.98

Basal serum LH(mIU/ml)	12.45±6.89	13.56±6.36	11.65±5.49
Basal serum FSH(mIU/ml)	9.13±4.72	10.37±6.43	9.45±6.34
Duration of infertility(yrs)	4.8±0.6	5.3±1.6	5.3±1.2

Table 1. Comparison of clinical characteristics and basal serum hormone levels in each groups
Mean±S.D.

2. 각군의 정액 검사소견의 비교

정액검사 소견상 MESA-ICSI군에서는 정자의 수, 운동성, 형태가 감소되어 있어 ejaculated-ICSI군과 유의한 차이를 보였으며($p<0.05$) TESE-ICSI군은 소수의 정자만 채취되어 비교대상에서 제외되었다. (Table 2.)

Variables	Ejaculated(n=42)	Epididymal(n=50)	Testicular(n=48)
Concentration(×106/ml)	14.78±3.65	12.68±4.67*	a few sperm
Total motility(%)	35.51±13.54	14.35±3.63**	
Vitality	47.47±19.58	33.34±17.34***	

Table 2. Comparison of sperm parameters in each groups
Mean±S.D., * : $p<0.05$, ** : $p<0.01$, *** : $p<0.001$
n=cycles

3. 각군의 임상적 결과의 비교

ejaculated-ICSI군은 42주기에서 채취한 392개의 난자 중 345개의 성숙난자에서 세포질내 정자주입술을 시행하였으며 2개의 전핵이 보이는 정상적인 수정란은 222개로 수정률은 64.4%이었으며 난할율은 72.6%이었다. 202개의 배아가 이식되어 주기당 평균 4.8±1.9개의 배아가 이식되었다. 11명에서 임상적 임신이 되어 주기당 임상적 임신율은 26.2%이었고 9명에서 분만(21.4%)을 하였다.

MESA-ICSI군은 50주기에서 채취한 533개의 난자 중 459개의 성숙난자에서 세포질내 정자주입술을 시행하였으며 2개의 전핵이 보이는 정상적인 수정란은 273개로 수정률은 59.4%이었으며 난할율은 69.5%이었다. 230개의 배아가 이식되어 주기당 평균 4.6±2.0개의 배아가 이식되었다. 13명에서 임상적 임신이 되어 주기당 임상적 임신율은 26.0%이었고 9명에서 분만(16%)을 하였다.

TESE-ICSI군은 48주기에서 채취한 487개의 난자 중 444개의 성숙난자에서 세포질내 정자주입술을 시행하였으며 2개의 전핵이 보이는 정상적인 수정란은 268개로 수정률은 60.4%이었으며 난할율은 68.4%이었다. 206개의 배아가 이식되어 주기당 평균 4.3±1.7개의 배아가 이식되었다. 12명에서 임상적 임신이 되어 주기당 임상적 임신율은 25.0%이었고 8명에서 분만을(16.6%) 하였다.

세 군간의 획득한 난자의 수, 수정률, 난할율, 임상적 임신율은 유의한 차이를 보이지 않았다. 유산율은 MESA-ICSI군은 30.8%, TESE-ICSI군은 33.3%로 ejaculated-ICSI군의 18.2%와 차이를 보였으나 통계적인 유의성은 없었다. (Table 3.)

Variables	Ejaculated(n=42)	Epididymal(n=50)	Testicular(n=48)
No. of oocytes retrieved/cycle	9.34±7.34	10.67±5.77	10.14±5.72
No. of mature oocytes/cycle	8.23±4.64	9.18±4.71	9.24±7.34
2PN fertilization rate(%)	64.4±34.2	59.4±34.7	60.4±37.8
D2 cleavage rate(%)	72.6±29.4	69.5±24.3	68.4±19.4
No. of ET/cycle	4.8±1.9	4.6±2.0	4.3±1.7

No. of clinical pregnancies/cycle(%)	11/42(26.2)	13/50(26.0)	12/48(25.0)
No. of miscarried(%)	2/11(18.2)	4/13(30.8)	4/12(33.3)
No. of deliveries/cycle(%)	9/42(21.4)	9/50(16.0)	8/48(16.6)

Table 3. Comparison of outcome of ICSI using ejaculated, epididymal and testicular sperm

Mean±S.D.
n=cycles

고찰

Temple-Smith가 1985년에 미세수술적 부고환 정자흡입술에 의해 얻어진 정자를 가지고 체외수정을 시도하여 최초의 임신을 보고한 이후,1 선천성 정관 결손증 환자의 부고환 두부에서 흡입된 정자를 이용한 체외수정에 의한 임신을 최초로 보고하였다.2 부고환에서 채취한 정자는 환자에 따라 정자의 수가 다양하고 운동성과 형태가 불량하기 때문에 통상의 사정된 정자로 체외수정을 시행할 때보다 성적이 불량하고,3 고식적인 체외수정에 의한 수정율은 낮았으나 보조 수정술을 위한 미세조작술의 도입으로 수정율을 유의하게 향상시키고 있다.13 더욱이 최근에는 SUZI(subzonal insertion of sperm)와 세포질내 정자주입술로 수정율의 유의한 향상을 보여주었으나 미세조작술의 결과는 연구기관마다 차이가 있다.14

한편 1988년 Lanzendorf 등에 의해 인간 불임치료의 보조생식술(Assisted reproductive technology, ART)에 도입된 세포질내 정자주입술은 1992년 Palermo 등에 의해 처음으로 임신 성공이 보고되었고,15,16 세포질내 정자주입술에 의한 수정은 정자의 수나 운동성 부족, 그리고 형태적 기형에 관계없이 정상적인 수정이 가능한 것으로 보고되고 있어,6,17 세포질내 정자주입술에 의한 보조수정술(assisted fertilization)에 복합하여 정자 채취를 위한 최근의 기술의 사용으로 무정자증 남성 치료의 새로운 장을 열어 주었다.

세포질내 정자주입술 방법은 성숙과정에 있는 부고환내 정자나 고환에서 채취된 정자로도 정상적인 수정이 가능하므로 선천적 또는 후천적인 요인에 의해 정관이 없거나 막혀있는 폐쇄성 무정자증 환자에서도 임신을 가능하게 한다.3,18 한편 남성불임환자의 약 15%를 차지하는 비폐쇄성 무정자증 환자는 여러 원인에 의해 고환내에서 정원세포(spermatogonia)로부터의 감수분열이나 정자로의 분화 과정이 정지되어 정자를 형성하지 못하는 것으로,19 이제까지 특별한 치료법이 없이 기증받은 정자를 이용한 비배우자 인공수정(artificial insemination with donor, AID)을 하거나 양자를 얻는 것이 치료의 전부였으나 이러한 환자의 고환에서도 국부적으로 정자가 형성되기 때문에 다중 고환조직 정자채취술(multiple testicular sperm extraction, multiple-TESE) 방법으로 약 50%에서 정자를 채취할 수 있었고 이를 이용하여 정상적인 수정과 임신을 얻을 수 있는 것으로 보고되었다.20

중증의 희소무력기형 정자증(oligoasthenoteratozoospermia, OAT)으로 고생하는 부부에게 세포질내 정자주입술은 높은 수정율과 임신율을 나타내는 치료 방법으로 인정되고 있으며,6,16 어떤 형태의 불치의 폐쇄증 뿐만 아니라 선천성 양측성 정관형성 부전증 같은 폐쇄성 무정자증을 가진 부부에게서 미세수술적 부고환 정자흡입술과 세포질내 정자주입술은 일반적인 체외수정이나 사정된 정자를 이용한 세포질내 정자주입술과 비슷한 정상적인 수정율과 높은 임신율을 나타내는 것으로 보고되고 있다.3,7

부고환 전체의 폐쇄, 부고환 형성부전 또는 부고환이 절제된 상태로 인해 부고환에서 미세수술적 부고환 정자흡입 방법으로 정자 채취가 불가능한 경우 고환은 정자세포의 유일한 장소로서 고환조직 정자채취술이나 고환 정자흡입술(testicular sperm aspiration)로 정자세포를 얻을 수 있으며 고환조직 정자채취술에 의해 추출된 정자에서

세포질내 정자주입술을 이용해 성공적인 수정과 임신을 보고하였다.9

더욱이 부고환의 완전 결손의 경우에 있어서도 고환조직 정자채취술과 세포질내 정자주입술은 생명력 있는 배아의 발달과 생명력이 있는 임신의 성립을 허용하고 있으며,8,9,21 부고환내 정자의 성숙과정은 수정 이후의 배아 발생에는 영향을 주지 않는 것으로 알려지고 있다.

본 연구에서도 미세수술적 부고환 정자흡입술에 의한 정자는 통상의 사정된 정자와 비교하여 정자의 수, 운동성 및 형태가 유의하게 떨어져 있었으나 임상적 결과에서는 유의한 차이를 보이지 않았고 고환조직 정자채취술에 의한 정자도 소수의 정자만을 얻을 수 있었으나 사정된 정자에 의한 임상적 결과와는 유의한 차이를 보이지 않아 다른 보고와 유사하였다.

비록 정자형성이 정상이더라도 이전의 수술이나 감염후 폐쇄로 인한 심한 상처로 인해 부고환내에 정자를 함유하고 있지 않은 경우가 많으며 부고환으로부터 정자 채취의 실패율은 3%에서 55% 사이로 다양하다.22 경피적 부고환 정자흡입술(percutaneous epididymal **sperm aspiration,** PESA)을 사용하여 부고환에서 정자를 획득하는데 있어 실패율은 20%이기 때문에,23 이런 경우와 부고환액에서 운동성이 있는 정자를 발견 못하는 경우에는 고환조직 정자채취술을 통해 정자를 채취해야 한다. 더욱이 미세수술적 부고환 정자흡입술은 확실한 수술 술기를 요하고 상대적으로 비용이 비싸고 전신마취를 요하며 다소의 외상과 술후 이환이 관여된다.24 고환조직 정자채취술의 장점은 외래에서 행할 수 있는 시술로서 단순하고 술후 동통이 적고 이환이 적으며 국소마취가 가능하고 확실한 수술 술기를 요하지 않으며 비용이 저렴하다. 반면 고환조직 정자채취술의 유일한 단점은 채취된 정자의 수와 운동성이 낮아서 정자를 냉동보관하는데 어려움이 있으나 최근 보고에 의하면 이를 성공적으로 시행할 수 있다고 하였다.25,26

여러 보고자들에 의해 미세수술적 부고환 정자흡입술이나 고환조직 정자채취술에 의한 정자를 사용한 세포질내 정자주입술을 시행시 유사하거나 동일한 수정율, 착상율, 임신율을 보여주고 있으며,9,27 고환, 부고환(신선 또는 냉동-해동) 또는 사정액의 정자들간에도 유의한 차이가 없는 수정률, 난할율, 착상율, 임상적 임신율을 보여주고 있으며,24 **Palermo**에 의하면 두 시술시 사정된 정자보다는 수정률이 유의하게 낮았으나 정자막(sperm membrane)에 좀더 적극적인 투과과정(permeabilization) 후에 수정률과 임신률을 높일 수 있다고 하였다.28

본 연구에서도 사정된 정자, 부고환 및 고환의 정자를 사용하여 세포질내 정자주입술을 시행시 수정률, 난할율, 임상적 임신율에서 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 이는 희소정자증이나 사정된 정액에서 정자를 발견할 수 없는 폐쇄성 무정자증이나 비폐쇄성 무정자증 환자에게서 미세수술적 부고환 정자흡입술이나 고환조직 정자채취술을 이용하여 정자를 채취후 세포질내 정자주입술을 시행시 정상적으로 높은 수정율과 임신율을 얻을 수 있다는 사실을 보여주는 것으로 이전에 불치의 남성불임으로 알려진 환자에게 시도할 만한 방법으로 제시할 수 있겠다.

비폐쇄성 무정자증 환자의 고환조직 생검소견에는 Sertoli **c**ell **o**nly **s**yndrome**,** maturation arrest**,** severe hypospermatogenesis가 있는데 Sertoli **c**ell **o**nly **s**yndrome은 완전한 무정자증으로 고환조직에서 세정관을 이루는 정상 Sertoli **c**ell만 있고 germ cell은 완전히 없는 경우이나 상당수에서 정자형성과정의 발달정지를 보인 세정관이 관찰되고 정소의 매우 적은 부위에서 정자 생산이 되는 것으로 보고되었고,9,18 활력 정자와 발달 단계의 정자세포의 회수율은 각각 10.7%와 50%라고 하였다.29 **maturation arrest**는 정상 크기의 고환과 초기 정자형성과정을 보이지만 감수분열이나 pachytene spermatocyte에서 haploid 정세포 발달 단계까지의 세포분열 정지를 나타낼 때로 정의하였고,30 **maturation arrest** 현상은 pachytene spermatocyte 단계의 첫 번째 감수분열 종료 직전에 나타난다고 하였다.20 hypospermatogenesis는 정상적인 정자형성과정을 보이지만 정자의 수가 감소한 경우로 심한 경우 일부는 Sertoli **c**ell **o**nly **s**yndrome과 비슷하여 Sertoli **c**ell **o**nly **s**yndrome은 결국 hypospermatogenesis의 말기라고 하였다.31

비폐쇄성 무정자증 환자에서는 완전히 성숙되지 않은 미성숙 정자 때문에 수정율이 낮다고 하지만,10 최근 비폐쇄성 무정자증과 폐쇄성 무정자증 환자에서 높은 수정율과 임신율을 보이며 두 군간에 유의한 차이가 없고 비폐쇄성 무정자증 환자에서의 수정율의 차이는 혈중 FSH 농도, 고환 크기뿐만 아니라 고환 조직소견의 정도와 관련이 있을 것이라 하였고 냉동 정자와 신선 정자에서 수정율과 임신율의 유의한 차이를 보이지 않아 비폐쇄성 무정자증뿐만 아니라 폐쇄성 무정자증에서도 정자의 동결보존의 중요성을 입증하였다.11

정자형성에 있어서 혈중 FSH 농도와 고환 용적과의 관계에서 FSH 농도가 높거나 고환 용적이 감소된 경우는 고환조직 생검시 정자를 발견할 수 없다고 알려졌지만 최근 들어 무정자증 환자에서 높은 FSH 농도가 항상 고환 기능 이상을 나타내는 것은 아니며 심한 정자형성과정 결함이 나타난 경우에도 FSH 농도는 정상으로 나타난다고 보고되고 있으며 폐쇄성 무정자증에서는 FSH 농도가 정상이고 비폐쇄성 무정자증에서는 3배이상 높지만 두 군간의 유사한 수정율이 관찰되므로 고환의 정자를 사용하는 환자에게서 FSH 농도는 예측 인자가 아니라고 가정할 수 있다고 하였다.18 무정자증 환자의 48%에서 FSH 농도가 30mIU/ml 이상인 경우에도 성숙 정자를 관찰할 수 있었으며,32 정자형성과정과 혈중 FSH 농도와의 관계에서 상승된 FSH 농도가 germinal epithelium의 손상과 정소 실질의 부분적 손상이나 제거에 대한 보상 작용을 항상 나타내는 것이 아니기 때문에 기능적 정소 이상을 언제나

진단할 수 있는 방법은 아니라고 보고하였다.33,34 한편, FSH 억제는 고환내 모든 정자형성 요소, 고환 크기, inhibin의 Sertoli cell 분비간의 복잡한 상호작용에 의해 조절되기 때문에 중증의 정자형성 결손증의 환자에서 정상적인 혈중 FSH 농도를 보이는 것은 놀라운 일이 아니며 남성요인 불임의 치료 계획의 평가에서 FSH 농도는 예측인자가 아니라고 하였다.18

따라서 과거에 비폐쇄성 무정자증, 높은 혈중 FSH, 그리고 작은 고환 등 이 세 가지가 임신 불능(sterile)이라 하였으나,18 이제는 이런 비폐쇄성 무정자증 환자는 더 이상 임신불능이 아니며 고환의 어느 부위에 정상적인 정자생성을 하는 작은 부위가 있어 여기서 정자를 추출을 한다면 세포질내 정자주입술을 이용하여 임신이 가능하리라 생각된다.9

결론적으로 부고환에서 채취한 정자와 고환조직에서 채취한 정자로 세포질내 정자주입술을 시행할 때 사정된 정자와 마찬가지로 높은 수정률과 임신율을 얻을 수 있으므로 선천성 정관형성 부전증 환자나 수술로 교정이 불가능한 폐쇄성 무정자증 환자에서 일차적으로 미세수술적 부고환 정자흡입술과 세포질내 정자주입술을 이용하여 체외수정 및 배아이식을 시행하며 만약 부고환에서 정자채취를 실패하였거나 정자채취가 불가능하다고 판단될 경우에는 고환조직 정자채취술과 세포질내 정자주입술로 체외수정 및 배아이식을 시행하면 대부분의 선천성 정관형성 부전증 환자와 폐쇄성 무정자증 환자 및 비폐쇄성 무정자증 환자에서도 정상적인 임신이 가능하리라 사료된다.

참고문헌

1. Temple-Smith PD, Southwick GJ, Yates CA, Trounnson AO, de Kretser DM. Human pregnancy by in vitro fertilization(IVF) using sperm aspirated from the epididymis. J In Vitro Fert Embryo Transfer 1985;2:119-222.
2. Silber SJ. Ord T. Balmaceda J, Patrizio P, Asch RH. Congenital absence of the vas deferens : the fertilizating capacity of human epididymal sperm. N Engl J Med 1990;323:1788-92.
3. Silber SJ, Nagy ZP, Liu J, Godoy H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Conventional in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for patients requiring microsurgical sperm aspiration. Hum Reprod 1994;9:1705-9.

4. Belker A. The sperm microaspiration retrieval techniques study group. Results in the United States with sperm microaspiration retrieval techniques and assisted reproductive technologies. J Urol 1994;151:1255-9.
5. Palermo G, Koris H, Derde MP, Camus M, Devroey P, Van Steirteghem A. Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 1993;59:826-35.
6. Van steirteghem AC, Liu J, Joris H, Nagy Z, Janssenswillen C, Tournaye H, et al. Higher success rate by intracytoplasmic sperm injection than subzonal insemination. Report of a second series of 300 consecutive treatment cycles. Hum Reprod 1993;8:1055-60.
7. Tournaye H. Devroey P, Liu J. Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection : a new effective approach to infertility as a result of congenital bilateral absence of the vas deferens, Fertil Steril 1994;61:1045.
8. Devroey P, Tournaye H, Liu J, Silber SJ, Nagy Z, Van Steirteghem AC. Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril. 1994;62:639-41.
9. 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 testicle biopsy. Hum Reprod 1995;10:148-52.
10. Kahraman S, Ozgur S, Alatas C, Aksoy S, Tasdemir M, Nuhoglu A, et al. Fertility with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in nonobstructive azoospermic men. Hum Reprod 1996;11:756-60.
11. Madgar I, Hourvitz A, Levron J, Seidman DS, Shulman DS, Raviv GG, et al. Outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic injection of epididyman and testicular sperm extracted from patients with obstructive and nonobstructive azoospermia. Fertil Steril 1998;69:1080-4.
12. Kruger TF, Menkveld R, Stander FSH. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. Fertil Steril 1986;46:1118-21.
13. Nagy Z, Silber S, Liu J, Devroey P, Cecile J, Van Steirteghem A. Using ejaculated, fresh, and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 1995;63:808-15.
14. Madgar I, Seidman DS, Levran D, Yonish M, Augarten A, Yemini Z, et al. Micromanipulation improves in-vitro fertilization results after epididymal or testicular sperm aspiration in patients with congenital absence of the vas deferens. Hum Reprod 1996;11:998-9.
15. Lanzendorf SE, Slusser J, Maloney MK, Hodgen GD, Veeck LL, Rosenwaks Z. A preclinical evaluation of pronuclear formation by microinjection of human spermatozoa into human oocytes. Fertili Steril 1988;49:835-42.
16. Palermo G, Joris H, devroey P. Pregnancies after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into an oocyte. Lancet 1992;304:17-8.
17. Hoshi K, Katayose H, Yanagida K, Sato A, Yazawa H. Intracytoplasmic sperm injection using immobilized or motile human spermatozoon. Fertil Steril 1995;63:1241-5.
18. Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, et al. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in nonobstructive azoospermia. Hum Reprod 1995;10:1457-60.
19. Dubin L, Amelar R. Etiologic factors in 1294 consecutive cases of male infertility. Fertil Steril 1971;22:469-74.
20. Silber SJ, Liu J, Van Steirteghem AC, Tournaye H, Nagy Z, Devroey P. Normal pregnancies resulting from testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection for azoospermia due to maturation arrest. Fertil Steril 1996;66:110-7.
21. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal-Bertin G, Geerts L, et al. Pregnancy after fertilization with human testicular spermatozoa. Lancet 1993;342:1237.
22. Baldou F, Grillo JM, Rossi D, Noizet A, Gamerre M, Erny R, et al. Epididymal sperm aspiration in conjunction with in-vitro fertilization and embryo transfer in cases with obstructive azoospermia. Hum Reprod 1991;6:1284-7.
23. Tsirigotis M, Pelakanos M, Yazdani N, Boulos A, Foster C, Craft IL. Simplified sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection in patients with azoospermia. Br J Urol 1995;76:765-8.
24. Abuzeid MI, Sasy MA, Salem H. Testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection: a simplified method for treatment of obstructive azoospermia. Fertil Steril 1997;68:328-33.
25. Podsiadly BT, Woolcott RH, Stanger JD, Stevenson K. Pregnancy resulting from intracytoplasmic injection of cryopreserved spermatozoa recovered from testicular biopsy. Hum Reprod 1996;11:1306-8
26. Gil-Salom M, Romero H, Minguez Y, Rubio C, de los Santos MJ, Remohi J. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. Hum Reprod 1996;11:1309-13
27. Tucker M, Morton P, Witt M, Wright G. Intracytoplasmic injection of testicular and epididymal spermatozoa for treatment of obstructive azoospermia. Hum Reprod 1994;9:486-8
28. Palermo GD, Schlegel PN, Colombero LT. Aggressive sperm immobilization prior to intracytoplasmic sperm injection with immature spermatozoa improves fertilization and pregnancy rates. Hum Reprod 1996;11:1023-9.
29. Tournaye H, Camus M, Goossens A, Liu J, Nagy P, Silber S, et al. Recent concepts in the management of infertility because of non-obstructive azoospermia. Hum Reprod 1995;10 supp 1:115-9.
30. Nagpal BL, Manjari M, Kapoor K, Dhaliwal US. Testicular biopsies in cases of male infertility : a retrospective study. J Indian Med Assoc 1993; 91:171-4.
31. Wong TW, Straus FH, Jones TM, Warner NE. Pathological aspects of the infertile testes. Urol Clin North Am 1978;5:503.
32. Gilbaugh JH, Patil VR, Turek PJ, Lipshultz LI. Testis biopsy findings in azoospermic patients with markedly elevated serum FSH levels. Presented at the 50th Annual Meeting of the American Fertility Society, San Antonia, 1994 November 5-10; S63.

33. Martin-du-Pan RC, Bischof P. Increased follicle stimulating hormone in infertile men. Is increased plasma FSH always due to damaged germinal epithelium? Hum Reprod 1995;10:1940-50.
34. Lewin A, Weiss DB, Friedler S, Ben-Shachar I, Safran A, Porat-Katz A, et al. Delivery following intracytoplasmic injection of mature sperm cells recovered by testicular fine needle aspiration in a case of hypergonadotropic azoospermia due to maturation arrest. Hum Reprod 1996;11:769-71.