

Globozoospermia를 가진 불임환자에서 미세정자주입술을 이용한 체외수정시술 후 임신과 분만 1례 보고

차의과대학교 분당차여성병원

김은경 · 김은하 · 김은아 · 권 황 · 홍재엽 · 최동희*

Successful Clinical Pregnancy and Livebirth was Achieved after Intracytoplasmic Sperm Injection in a Globozoospermic Patient: A Case Report

Eun Kyung Kim, Eun Ha Kim, Eun Ah Kim, Hwang Kwon, Jae Yup Hong, Dong Hee Choi*

CHA Bundang Medical Center, CHA University

Objective: Globozoospermia is observed in <0.1% of male infertile patients. The aim of this study is to report the successful clinical outcome in man with globozoospermia.

Design: A case report.

Method: A 36-year-old man and 32-year-old partner visited our fertility center with 6 years infertility duration. The semen analysis revealed globozoospermia combined with oligozoospermia which was stained with Diff-Quick method. ICSI (Intracytoplasmic sperm injection) was performed on 12 matured oocytes.

Result: 5 injected oocytes were fertilized normally. 5 embryos were transferred on day 3 after oocyte retrieval. The patient became pregnant and delivered a healthy boy at 39 weeks of gestation.

Conclusion: In case of globozoospermia, it has a low fertilization rate even though ICSI method is used. The favorable technique is still needed to increase the fertilization rate. [Korean. J. Reprod. Med. 2010; 37(1): 83-88.]

Key Words: Globozoospermia, ICSI (Intracytoplasmic sperm injection)

Globozoospermia란 정자의 acrosome (첨체부위)이 없이 100% round-head spermatozoa만 있는 정자의 형태학적인 이상증상을 말하며,¹ 발병율은 남성의 0.1% 이하로 극히 드문 증상이다. 1965년 독일의 Meyhöfer가 광학현미경 분석 후 처음으로 round-headed spermatozoa를 언급한 이래 Schirren 등이 전자현미경을 이용 acrosome (첨체부위)이 없이 둥근 핵만 있다는 것을 정리 보고했다.^{2,3} 그 이후 30년 동안 형태학적, 병인학적인 부분에 대한 사례 보

고 정도만 있으며, 아직까지 원인은 명확히 증명되지 못하고 있는 실정이다. Kullander 등이 형제들에게 발생한 case report를 보고하면서 유전적 요인이 원인으로 작용하지 않다고 주장하였으나 유전학적인 측면으로 형제간 검사 결과 유전적인 부분이 명확치 않다고 보고한 바 있다.⁴ Stanislavov 등의 보고에 의하면 유전적 측면에 있어서 발생원인은 아직 규명되어 있지 않지만, 성염색체 관련 연관성이 있을 것으로 추정하고 있다.⁶ 마우스 실험에서 globozoospermia인 마우스에서 관련 유전자 일부가 동정되기도 했다.⁷ 형태적인 면에 있어서는 globozoospermia의 형성 시기는 spermiogenesis 단계

주관책임자: 최동희, 우) 463-712 경기도 성남시 분당구 야탑동 351, 차의과대학교 분당차여성병원 시험관아기센터
Tel: (031) 780-5200, Fax: (031) 780-5881
e-mail: artchoi83@medimail.co.kr

중 spermatid 분화가 일어날 때 acrosome 형성과 sperm head elongation이 일어날 때 만들어지는 것으로 보여진다. 이 환자들을 위한 치료 방법으로는 현재까지는 미세정자주입술 (ICSI; Intra Cytoplasmic Sperm Injection) 방법이 수정율은 낮으나 유일한 치료 방법으로 이용되고 있는 실정이다.

본 저자들은 남편이 globozoospermia를 가진 불임 부부에서 시험관아기시술 시 미세정자주입술 (ICSI; Intra Cytoplasmic Sperm Injection)을 통해 임신과 분만 1례를 경험하였기에, 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

32세 부인 이**, 36세 남편 김** 부부는 타병원에서 체외수정술 (IVF; In Vitro Fertilization) 3회 시도 후 임신에 실패하여 2006년 8월 본 원을 처음 방문하였다. 불임기간은 6년이었고, 초음파 검사와 동시에 남편 정액 검사를 실시하였으며, 부인의 경우 생리주기는 30일 주기로 특별한 불임의 원인 소견을 보이지 않았다. 본 원 검사 시 남편의 경우 2006년 9월 첫 번째 정액 검사에서 총 6×10^6 마리의 정자가 나왔고, 5% 정도만이 활동성을 보이고, 정자생사감별염색에서 10%의 생존율을 보였으며, 정자의 형태를 확인하기 위한 Strict morphology (정자특수염색방법) 결과는 0%로 정상외의 형태를 보이는 정자가 없었다. 형태학적 염색 검사에서 대부분의 정자는 coiled tail이 동반된 형태의 round head (둥근정자두부) 67%, acrosome (첨체부위)이 없는 amorphous head (이형성두부정자) 26%, pin head 7%의 형태를 보였다. 2차 검사에서는 총 1.17×10^6 마리의 정자가 나왔으며, 이 중 30%가 활동성을 보였으며, 염색을 통한 형태 검사에서 Strict morphology 결과는 0%로, 이 중 79%가 round head (둥근정자두부), 14%가 acrosome (첨체부위)이 없는 amorphous head (이형성두부정자)를 보였다 (Figure 1). Strict morphology 검사는 Diff Quick (Sysmex, Japan) 염색 방법을 이용하였다. 이 후 남편의 말초혈액 내 염

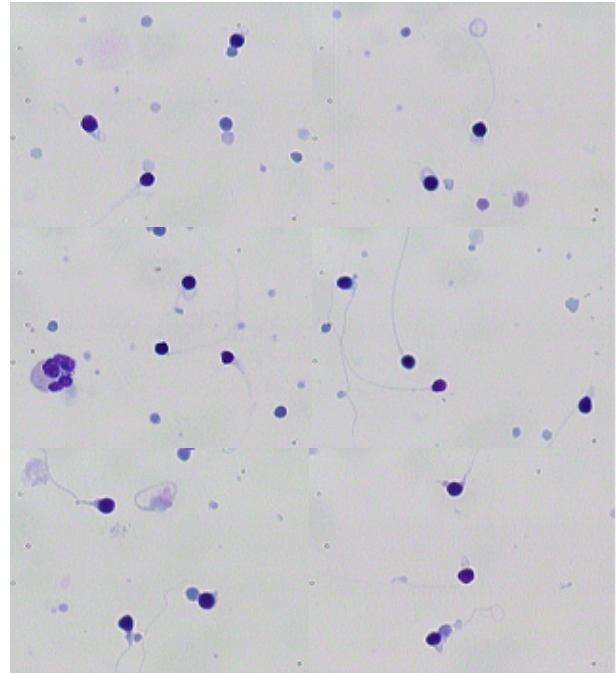


Figure 1. Analysis of sperm morphology using Diff-Quick staining.

Eun Kyung Kim. Successful Clinical Pregnancy and Livebirth was Achieved after Intracytoplasmic Sperm Injection in a Globozoospermic Patient: A Case Report. Korean J Reprod Med 2010.

색체 검사를 실시하였으며, 46XY의 정상 핵형을 보였다 (Figure 2). 남편의 직업은 회사원이었고, 가족력을 살펴보면 2남 3녀 중 2남으로 남편을 제외하고는 모두 가임을 하였다. 이 결과를 바탕으로 IVF-ET 실시를하기로 하였다. 과 배란 유도는 21일간 전 처치와 생리 3일째부터 150 IU rFSH (Gonal-F; Serono)와 150 IU hMG (IVF-M; LG생명과학)을 각각 10일간 투여했으며, Gonadotropin 투여 9일째부터 4일간 GnRH antagonist (Cetrotide; Serono)를 gonadotropin과 같이 조기배란 억제제를 위해 투여 후 hCG (IVF-C; LG 생명과학)을 10,000 IU 투여했다. 질식초음파를 통해 최종 회수된 난자는 성숙난자 10개, 중간성숙난자 1개 그리고 미성숙난자 3개 모두 14개의 난자를 채취했다. 정액처리방법은 수음법을 이용 사출된 정액을 액화상태가 지난 후 Ham's F-10에 5% SSS (Synthetic serum substitute; Irvine, USA)가 첨가된 배양액을 이용 $120 \times g$ 에서

GENETIC RESEARCH LABORATORY
CHA GENERAL HOSPITAL

Patient name: Lee [REDACTED]hus
Referral reason:
Specimen type: P.B.
Age/Sex: 37/M
Received date: 2007. 1. 19
Hospital No.: [REDACTED]
Physician: Choi D.H.
Result: 46,XY

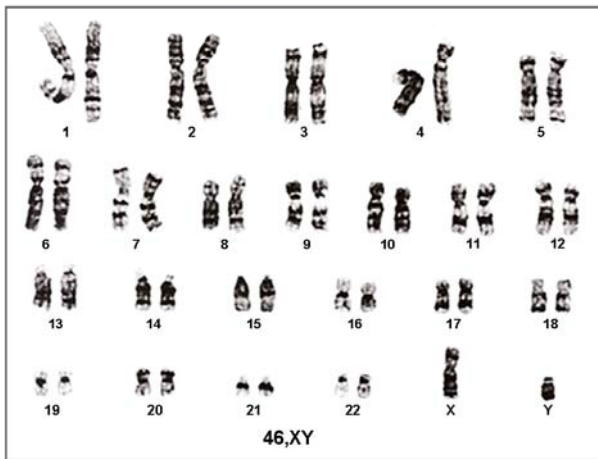
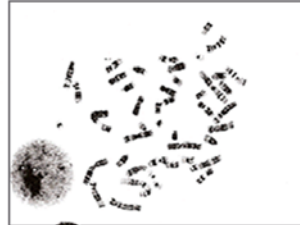


Figure 2. Analysis of peripheral blood chromosome.

Eun Kyung Kim. Successful Clinical Pregnancy and Livebirth was Achieved after Intracytoplasmic Sperm Injection in a Globozoospermic Patient: A Case Report. Korean J Reprod Med 2010.

각각 10분, 5분씩 원심분리 후 pellet 처리를 하였으며, 미세정자주입술을 실시하기 2시간 전에 미세정자주입술용 배양용기에 준비 후 35°C/5% CO₂ 배양기에 배양했다. 난자는 40 IU/ml의 hyaluronidase (Sigma: USA)를 이용 난구세포를 제거하였으며, 난구세포 제거 미세정자주입방법을 이용 11개의 성숙난자에서 미세조작기 (NT-88; Narishige, Japan)가 부착된 도립현미경 (TE 3000; Nikon, Japan)을 이용 ICSI를 시행했으며, 미성숙난자 중 채취 30시간 후 성숙된 난자 1개에 ICSI를 시행했다. 수정확인 전까지 10% SPS (Serum Protein Substitute; SAGE; USA)가 첨가된 Fertilization (SAGE: USA) 배양액에서 배양을 실시했으며, ICSI 18~20시간 후 수정확인에 들어갔다. ICSI를 시행한 12개의 난자 중 5개에서 정상적으로 두 개의 전핵이 확인되었으며, 수정

이 확인된 수정란은 20% SPS가 첨가된 Cleavage (SAGE: USA) 배양액에서 이식을 실시하기 까지 배양하였다. 5개의 수정란 모두 정상적으로 분할을 하였으며, 이식은 난자채취 3일 후 반복적으로 임신에 실패 회수가 3회임을 고려 수정된 배아 5개를 모두 배아 이식용 catheter (Cook co.; Australia)를 이용하여 수정란의 상태를 grading 후 복부초음파를 이용 이식을 실시했다. 이식한 배아의 질은 1개의 6-cell Grade-3, 1개의 6-cell Grade-4, 1개 8-cell Grade-1, 2개의 8-cell Grade-3 이었다. 이식 전 효소 (Acid Tyrode's solution; Irvine; USA)를 이용하여 보조부화시술을 시행했다. 황체기 유지를 위해 Progesterone (Progesterone; Watson; USA)을 투여했으며, 이식 13일 후 혈액 검사 결과 802 mIU/ml이 나왔으며, 초음파를 통해 본 결과 임신낭 (sac) 1개가 관찰되었다. 이 후 Triple, 정밀초음파에서 정상이었고 임신 38주 6일 만에 제왕절개를 통해 3030 g의 건강한 아들을 출산했다.

고 찰

일반적으로 사정 사출된 남성의 정액에서 acrosin 과 acrosome이 없는 둥근정자두부를 가지고 있는 정자가 나오는 비율은 0.1~0.8%를 차지하고 있다고 한다.⁸ 이 정자의 형태는 1965년 Meyhöfer가 둥근 모양의 머리를 한 정자 모양을 광학현미경에서 묘사를 통해 처음 보고된 이래, Schirren 등이 전자현미경 사진을 통해 정자두부가 둥근 것은 첨체가 없는 round nucleus 때문인 것을 발견하였다.^{4,9-12} 이들 중 Wolff 등에 의해 처음으로 'globozoospermia'라는 용어를 사용해서 globozoospermia 정자의 형태적 특성을 보고한 바 있는데, 대부분의 정자의 염색질은 둥근 모양을 보이며 post-acrosomal sheath가 없고, 핵막이 분리되어 있고, microtubule과 mitochondria의 배열구조의 이상을 보이며, coiled tail의 형태를 가지고 있다고 했다. 본 증례환자의 경우 globozoosperm과 첨체가 없는 부정형 형태의 정자가 90% 이상 그리고 pin head 형태의 정자가 대부

분인 경우였으며, 꼬리의 형태는 coiled 형태가 대부분으로 앞서 보고한 문헌들과 유사한 형태를 보였다. Kalahanis 등은 특히 가임된 남성에게 비해 비가임 남성의 정자에서 둥근정자두부형태가 유의성 있게 많음을 보고한 바 있다.¹³ Aitken 등의 보고에 의하면 컴퓨터 정자분석기를 통해 분석한 결과 둥근머리모양의 정자의 운동성은 정상적인 모양의 정자와 차이가 없음을 보고했으며,¹⁴ 사출정액의 양 또한 정상인과 차이가 없었다. 하지만 정자의 농도는 정상 환자의 농도보다 적은 결과를 보였다. 본 연구의 경우 정자의 운동성은 score 2(2/3)로 보통보다 약간 떨어지는 결과를 보였으며, 정액의 양은 정상이었으나 정자의 농도는 1 ml 당 3십만 마리로 희소정자를 보였다. 이러한 환자들의 말초혈액 염색체 검사를 실시한 결과를 살펴보면, 2001년 Kim 등은 16명의 환자 중 15명은 정상이었으나 1명의 환자에서 mosaic trisomy 21를 관찰했다고 보고했으며, Zeyneloglu 등은 Y-chromosome microdeletion을 보고한 바 있다.¹⁵ 하지만 보고의 빈도는 일반 불임남성의 염색체 이상 발생 빈도와 크게 다르지 않은 것으로 보아 염색체가 결과에 영향을 미친다고 볼 수 없다고 본다. 본 환자의 경우에 있어서도 말초혈액 염색체 검사에서 정상 핵형을 보였다. 비뇨기과적 병력이나 이학적 소견에 관한 문헌을 살펴보면, 31 case를 분석한 결과 22 case의 경우 정상이었으며, 4명이 정계정맥류를 치료한 경험이 있었고, 2명이 고환절제술, 2명이 부고환염을 앓았으나 나머지 기타의 경우를 가지고 있었다.^{4,9,16,17} 문헌 보고를 종합하면 globozoospermia는 가임력만 감소되어 있을 뿐 특별한 이학적 특성을 가지고 있지 않다고 한다. 본 원 환자의 경우 또한 과거에 특별한 병력이 없는 것으로 관찰되었다. Hamberger 등은 이러한 환자들의 가임력을 갖기 위해 난각을 통과 직접 세포질 내로 첨체부위가 없는 정자를 주입시켜 수정을 시키는 미세정자주입술방법을 해법으로 내놓았으며, Lundin 등은 첨체가 없는 정자 즉 globozoosperm을 이용 미세정자주입술을 실시 처음으로 출산에 성공했으며, 그 이후 출산에 관

한 증례 보고가 이어지고 있다. 최근 낮은 수정율을 높이기 위한 방법으로 calcium ionophore를 이용 미세정자주입술 후 난자 activation을 시도하는 방법을 이용하기도 한다.¹⁸⁻²⁰ Nagy 등은 형태학적으로 비정상인 정자로 IVF-ICSI를 하였을 때 수정율은 감소하지만 유산이나 기형의 발생 빈도가 증가하지 않는다고 하였다.²¹ 본 원 환자의 경우 calcium ionophore를 이용하는 난자활성화 방법을 사용하지 않고 42%의 수정율을 보였고, 5개의 수정란 이식 후 임신에 성공, 정상적인 남아를 출산했다. Globozoospermia의 병인에 대해서는 여러 가지 가설이 있으며, Sertoli cell cytoplasm 내에서부터 분리되거나, spermiogenesis 과정 마지막 단계에서 acrosome vesicle이 핵막과 분리되어 떨어져나가는 것으로 말하고 있으며,^{21,11} 원인으로 Golgi체의 hypoplasia,^{11,22,23} basic protein인 calcin의 부족으로 정자 특이적 골격형성의 부전으로 인한 첨체부위 및 핵 모양 형성부전에 영향을 미친다는 보고 등이 있기도 하다.²⁴⁻²⁶ 형태학적인 면에서 염색질의 구조, DNA의 상태 그리고 세포유전학적 결함을 문헌을 통해 살펴보면, globozoospermia에서 염색질의 구조는 성숙의 정도에 있어서 높은 이형성을 보이고 있으나, DNA의 과쇄현상과 정자 염색체의 이상은 다른 종류 불임환자에서와 다르지 않은 것으로 보고하고 있다.²⁷⁻²⁹ 최근 들어 mouse knock out model을 이용한 유전적 관련성을 찾는 연구가 진행되고 있으나,³⁰⁻³² 밝혀진 유전자가 인간에서는 동일한 결과를 보이지 않고 있어 아직까지는 초보적인 단계라 할 수 있겠다. 앞으로 globozoospermia의 유전적 연구가 spermiogenesis와 spermatogenesis 과정을 증명하는데 필수적인 과정이 될 것이며, 그 원인 규명과 더불어 수정율 및 임신율을 높일 수 있는 방법을 찾아야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Castellani L, Chiara F, Cotelli F. Fine structure and cytochemistry of the morphogenesis of the round headed sperm.

- Arch Androl 1978; 1: 291-7.
2. Meyhöfer W. Beitrag zur cytophotometrischen beurteilung pathologisch veränderter samenzellen unter besonderer berücksichtigung der runspermatozen nach.
 3. Feulgen-end Fast greenfärbung. Z Haut-Geschlechtskrankheiten 1965; 39: 174-82.
 4. Schirren CG, Holstein AF, Schirren C. Über die Morphogenese rundkopfiger spermatozoen des menschen. Andrologie 1971; 3: 117-25.
 5. Kullander S, Rausing A. On round-headed acrosomeless spermatozoa. Int J Fertil 1975; 20: 33-40.
 6. Stanislavov R, Ganev V. A clinical-genetic study of male infertility with globozoospermia. Akush Ginekol (Sofia). 1998; 37: 20-2.
 7. Carrel DT, Wolcox AL, Udoff LC, Thorp C, Campbell B. Chromosome 15 aneuploidy in the sperm and conceptus of a sibling with variable familial expression of round-headed sperm syndrome. Fertil Steril 2001; 76: 1258-60.
 8. Holstein AF, Schirren CG, Schirren C, Mauss J. Round headed spermatozoa; a cause a male infertility. Dtsch Med Wochenschr 1973; 98: 61-2.
 9. Pederson H, Rebbe H. Fine structure of round-headed human spermatozoa. J Reprod Fertil 1974; 37: 51-4.
 10. Wolff HH, Schill WB, Moritz P. Round-headed spermatozoa: a rare andrologic finding. Hautarzt 1976; 27: 111-6.
 11. Bacetti B, Renieri T, Rosati F, Selmi MG, Casanova S. Further observations on the morphogenesis of the round headed human spermatozoa. Andrologia 1977; 9: 255-64.
 12. Bacetti B, Renieri T, Soldani P. Scanning electron microscopy and human sperm pathology. Scan Electron Microsc 1981; 4: 151-6.
 13. Kalahanis J, Rousso D, Kourtis A, Mavromatidis G, Makedos G, Panidis D. Round-headed spermatozoa in semen specimens from fertile and subfertile men. J Reprod Med 2002; 47: 498-3.
 14. Aitken RJ, Kerr L, Bolton V, Hargreave T. Analysis of sperm function in globozoospermia: implications for the mechanism of sperm-zona interaction. Fertil Steril 1990; 54: 701-7.
 15. Zeyneloglu HB, Baltaci V, Duran HE, Erdemli E, Batioglu S. Achievement of pregnancy in globozoospermia with Y chromosome microdeletion after ICSI. Hum Reprod 2002; 17: 1833-6.
 16. Anton-Lamprecht I, Kotzur B, Schopf E. Round-headed human spermatozoa. Fertil Steril 1976; 27: 685-93.
 17. Santi de M, Gardi C, Lungarella G. Severe teratospermia in an infertile man with bronchiectasis. Fertil Steril 1985; 44: 849-52.
 18. Hamberger L, Lundin K, Sjogren A, Soderlund B. Indications for inctacytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1998; 13 (suppl 1): 128-33.
 19. Lundin K, Sjogren A, Nilsson L, Hamberger L. Fertilization and pregnancy after intracytoplasmic microinjection of acrosomeless spermatozoa. Fertil Steril 1994; 62: 1266-7.
 20. Nagy ZP, Verheyen G, Tournaye H, Van Steirteghem AC. Special applications of intracytoplasmic sperm injection: The influence of sperm count, motility, morphology, source and sperm antibody on the outcome of ICSI. Hum 20 Reprod 1998; 136(suppl 1): 143-54.
 21. Heindryckx B, Van der Elst J, De Sutter P, Dhont M. Treatment option for sperm- or oocyte-related fertilization failure: assisted oocyte activation following diagnostic heterogous ICSI. Hum Reprod 2005; 20: 2237-41.
 22. Castellani L, Chiara F, Citelli F. Fine structure and cytochemistry of the morphogenesis of round-headed human sperm. Arch Androl 1978; 1: 291-7.
 23. Nistal M, Paniagua R. Morphogenesis of round-headed human spermatozoa lacking acrosomes in a case of severe teratozoospermia. Andrologia 1978; 10: 49-51.
 24. Longo FJ, Krohne G, Franke WW. Basic proteins of the perinuclear theca of mammalian spermatozoa and spermatids: a novel class of cytoskeletal elements. J Cell Biol 1987; 105: 1105-20.
 25. Escalier D, Silvius D, Xu X. Spermatogenesis of mice lacking CK2alpha: failure of germ cell survival and characteristic modifications of the spermatid nucleus. Mol Reprod Dev 2003; 66: 190-201.
 26. Coutot AM. Presence and localization of the 60 KD calcin in human spermatozoa presenting postacrosomal sheath defects: preliminary results. Mol Reprod Dev 1991; 28: 272-9.
 27. Carrel DT, Emery BR, Liu L. Characterization of aneuploidy rates, protamine levels, ultrastructure and functional ability of round-headed sperm from two siblings and implications for intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 1999; 71: 511-6.
 28. Larson KL, Brannian JD, Singh NP, Burbach JA, Jost LK, Hansen KP, Kreger DO, Evenson DP. Chromatin structure in globozoospermia: a case report. J Androl 2001; 22: 424-31.

29. Machev N, Gosset P, Viville S. Chromosome abnormalities in sperm from infertile men with normal somatic karyotypes: teratozoospermia. *Cytogenet genome Res* 2005; 111: 352-7.
30. Xu X, Toselli PA, Russel LD, Seldin DC. Globozoospermia in mice lacking the casein kinase II alpha catalytic subunit. *Nat Genet* 1999; 23: 118-21.
31. Rocha D, Affara NA. The genetic basis of impaired spermatogenesis and male infertility. *Curr Obst Gyn* 2000; 10: 139-45.
32. Truong BN, Moses EK, AArmes JE, Venter DJ, Baker HW. Searching for candidate genes for male infertility. *Asian J Androl* 2003; 5: 137-47.

= 국문초록 =

목 적: Globozoospermia는 남성불임환자의 0.1%에서 발견되는 극히 드문 정자의 형태학적 이상 증상으로 본원에서 이 증례를 경험하여 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

연구방법: 2회 반복적 임신에 실패한 불임기간은 6년인 32세의 부인, 36세의 남편 부부가 본원에 내원하였으며, 정액 특수염색결과 희소정자증을 동반한 globozoospermia로 판별이 되어 미세정자주입술을 실시하였다.

결 과: 14개의 난자가 회수되었으며 이 중 총 12개를 미세정자주입술을 이용 수정시도를 하였고, 이 중 5개가 수정이 되어 3일 배양 후 이식하였다. 이식 결과 임신이 되었으며, 임신 39주에 건강한 남아를 출산하였다.

결 론: Globozoospermia의 경우 ICSI(미세정자주입술)방법을 실시하더라도 수정율이 낮다. 이에 수정율 및 임신율을 높일 수 있는 방법의 개발이 필요한 것으로 사료된다.

중심단어: Globozoospermia, 미세정자주입술
