

## 폐쇄성 정로장애로 인한 무정자증 환자에서 미세수술적 부고환 정자흡입술과 세포질내 정자주입술을 이용한 수정을 및 임신율 증진에 관한 연구

제일병원 산부인과 불임클리닉, 비뇨기과\*, 체외수정연구실\*\*

손일표 · 홍재엽\* · 이유식\* · 전진현\*\* · 박용석\*\* · 이호준\*\* · 강인수 · 전종영

### Efficacy of Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration(MESA) and Intracytoplasmic Sperm Injection(ICSI) in Obstructive Azoospermia

I.P. Son, J.Y. Hong\*, Y.S. Lee\*, J.H. Jun\*\*, Y.S. Park\*\*, H.J. Lee\*\*,  
I.S. Kang and J.Y. Jun

*Department of Obstetrics and Gynecology, Department of Urology\*, Infertility Research Laboratory\*\*, Cheil General Hospital, Seoul, Korea*

#### = Abstract =

We studied the role of assisted fertilization(subzonal insemination, intracytoplasmic sperm injection) in enhancing fertilization and pregnancy rate in obstructive azoospermia.

MESA was performed in the patients with congenital absence of the vas deferens and unreconstructable obstructive azoospermia. Sperm were aspirated microsurgically from various sites along the epididymal stump. Sperm were then washed on a mini-Percoll gradient or swim-up method and treated by 2-deoxyadenosine and pentoxifylline.

Conventional IVF(group I, 14 cycles), SUZI(group II, 13 cycles) and ICSI(group III, 28 cycles) were carried out in 55 treatment cycles.

The clinical results are as follows:

1. Fertilization rates for group I, II and III were 16.1%, 31.4% and 48.6%, retrospectively ( $p < 0.05$ ).
2. Clinical pregnancy rates for group I, II and III were 7.1%, 7.7%, and 32.1%, retrospectively.
3. In 5 of MESA-ICSI cycles, epididymal sperm from alloplastic spermatocele were used and 2 clinical pregnancies(40%) were obtained.

According to our results the combined MESA-ICSI procedure is highly efficient in improving fertilization and pregnancy rate in congenital absence of the vas deferens and unreconstructable obstructive azoospermia.

#### 서 론

폐쇄성 정로장애로 인한 무정자증은 남성불임의 주요 원인이며 그 빈도는 남성불임환자의 6-14%를 차지한다고 보고되어 있다(Dubin & Amlar, 1971). 폐쇄성 무정자증을 원인별

로 분류하면 선천성 정관 형성 부전증, 염증성 부고환 폐쇄, 염증성 정관 폐쇄, 인위적인 정관 절제 등이 있으며, 치료 방법으로는 정관 고환분합술, 인공 정액류, 정관 복원술, 미세수술적 부고환 정자흡입술 등이 보고되고 있다.

1985년에 Temple-Smith 등이 정관 복원 실패

자에서 미세수술적 부고환 정자흡입술(microsurgical epididymal sperm aspiration, MESA)로서 채취한 정자로 체외수정 및 배아이식을 하여 처음 임신에 성공하였음을 보고하였고(Temple-Smith et al., 1985), Silber 등이 1988년 이래로 선천성 정관 형성 부전증이나 교정이 불가능한 폐쇄성 부정자증 환자에서 이 방법을 시행하고 있으나 수정율이 낮고 임신율도 10% 내외로 매우 낮았다(Silber et al., 1988; Silber et al., 1990). 그러나 최근 수년간 미세 수정술 특히 세포질내 정자주입법(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)이 개발되어 하나의 난자를 수정시키는데 오직 하나의 정자만이 필요하게 되어 부고환에서 채취한 정자로 수정을 및 임신율을 향상시키는데 크게 기여할 수 있게 되었다(Palermo et al., 1993; Steirteghem et al., 1993).

저자들은 선천성 정관 형성 부전증과 교정이 불가능한 폐쇄성 부정자증 환자를 대상으로 미세수술적 부고환 정자흡입술과 세포질내 정자주입법을 시행하여 좋은 결과를 얻었기에 이를 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

## 대상 및 방법

1993년 1월부터 1994년 10월까지 불임을 호소하여 제일병원을 내원한 선천성 정관 형성 부전증 환자와 교정이 불가능한 폐쇄성 부정자증 환자를 대상으로 총 55주기의 미세수술적 부고환 정자흡입술을 시행하였다. 1993년 1월부터 12월까지 일반적인 체외수정(conventional IVF)을 시행한 14주기를 제 1군, 1994년 1월부터 4월까지 투명대하 정자주입술(subzonal insemination, SUZI)을 시행한 13주기를 제 2군, 그리고 1994년 5월부터 10월까지 세포질내 정자주입술(ICSI)을 시행한 28주기를 제 3군으로 분류하여 비교하였다(표 1).

### 1. 남성불임 진단

먼저 일정한 양식에 따라 환자의 병력을 자세히 물었으며, 이후 비뇨생식기 뿐만 아니라 전신에 대하여 철저한 이학 검사를 시행하였다. 정액검사, GnRH 검사를 포함한 호르몬 검사, 항정자항체 검출을 위한 immunobead test, 고환조직검사, 그리고 정관조형술을 시행하였다. 기저 호르몬치 검사는 LH, FSH, testosterone, prolactin을 측정하였으며 FSH가

Table 1. Clinical Details of Patients

	Congenital absence of the vas deferens	Unreconstructable obstructive azoospermia	Total
Group I	5	9	14
Group II	6	7	13
Group III	11	17	28
Total	22	33	55

정상보다 높을 때에는 Sertoli cell 장애가 있는 것으로 판단하였다.

### 2. 과배란 유도 및 난자의 준비

난자를 획득하기 위한 과배란 유도는 FSH/hMG와 GnRH를 병용하였으며 hCG 주사후 34시간에 질식 초음파를 이용하여 난자를 채취하였다.

미세수정을 위한 난자는 0.1% hyaluronidase를 처리하여 난구세포를 분리하였으며 성숙정도를 현미경하에서 판정하여 제 1극체가 방출된 제 2감수분열 중기의 난자만을 미세수정에 사용하였다.

### 3. 부고환으로부터의 정자흡입

음낭절개술을 이용하여 초막을 연후 부고환을 노출시켰다. 원위부 부고환부터 고환관을 현미경하에서 절개한 후 얻은 액체에서 정자유무를 10×40배 현미경하에서 확인한 후 정자가 관찰될 때까지 점점 더 근위부 쪽으로 절개하여 나갔다. 정자는 #24 medicut 및 #26 guage needle을 사용하여 부고환관으로 부터 흡입하였다. 만일 정자의 운동성이 없거나 미약할 때는 0.5cm 근위부 쪽에서 부고환을 절개하여 다시 정자를 검사하였다. 대부분의 경우에 있어서 정자는 두부 부고환 부위에서 얻을 수 있었으며, 두부 부고환까지 막힌 경우에는 수출관(Vasa efferentia)에서 정자를 흡입하였다(그림 1).

### 4. 정자의 준비

일반적인 체외수정 방법을 이용한 제 1군의 정자는 Percoll gradient를 이용하여 정자를 회수한 후, 일정시간 후에 insemination하였다.

미세수정을 위한 정자는 정자의 상태에 따라 mini-Percoll gradient 방법과 swim-up 방법을 이용하여 정자를 회수하였다. 회수한 정

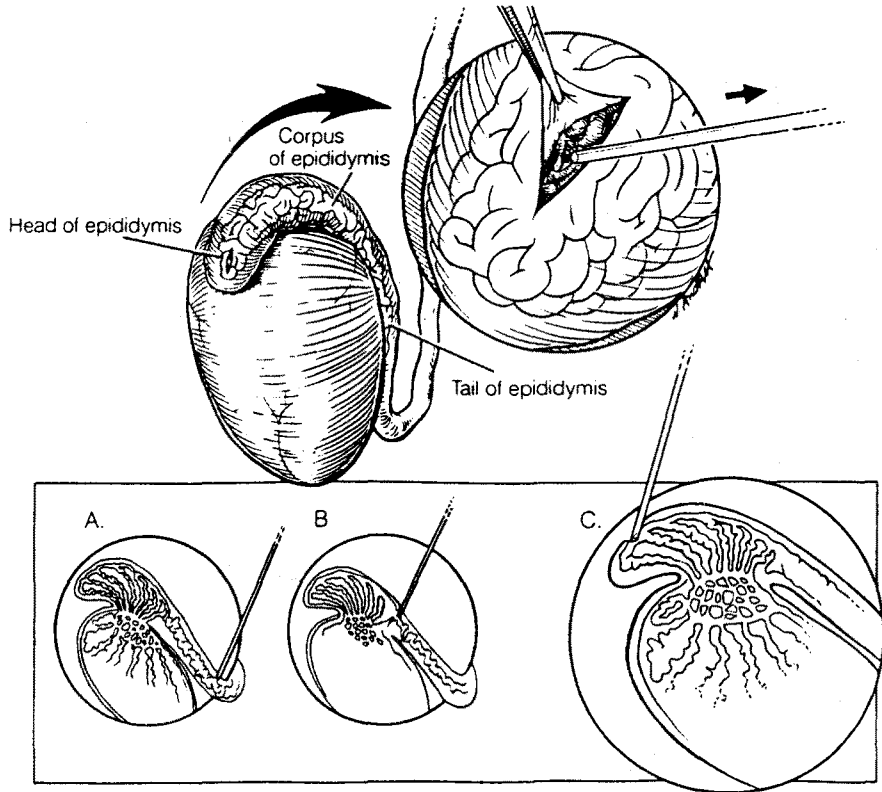


Fig. 1. Technique for epididymal sperm aspiration.

자는 3mM pentoxifylline 과 3mM 2-deoxy-adenosine을 30분간 처리하고 50% follicular fluid로 3-5시간 처리한 후 미세수정을 시행하였다.

### 5. 미세수정 과정

미세수정은 독립현미경(Diaphot TMD, Nikon, Japan)에 장착된 1쌍의 미세조작기(NT-88, Narishige, Japan)를 사용하였다. 미세수정에 사용된 holding pipette은 외경 100-200  $\mu\text{m}$ , 내경 15-20  $\mu\text{m}$ 였으며, SUZI를 위한 injection pipette은 외경 9-11  $\mu\text{m}$ , 내경 7-9  $\mu\text{m}$ 인 것을 사용하였으며, microgrinder를 이용하여 tip의 각도가 35-40° 정도 되도록 하여 사용하였다. ICSI를 위한 injection pipette은 외경 6-8  $\mu\text{m}$ , 내경 4-5  $\mu\text{m}$ 인 것을 사용하였으며, ICSI시에 투명대와 난자 세포막 등을 관통하기 용이하도록 microforge를 이용하여 pipette에 spike를 만들어 사용하였다. SUZI의 경우 난자당 주입한 정자의 수는 3-10개였고 ICSI는 난자당 1개의 정자를 주입하였다. 이러한 미세수정 후

성장 배양액으로 옮겨 배아 이식시까지 배양하였다.

### 6. 수정 및 배아이식

수정여부는 미세수정 후 16-20시간 이내에 확인하였으며 24시간 이상 배양하여 세포분열을 관찰한 후 정상으로 발생한 배아를 자궁내에 이식하였다. 임신여부는 이식 12일후 혈청내  $\beta\text{hCG}$ 의 양이 10mIU/ml 이상인 경우를 임신으로 판정하였고 태아 심박동이 보이는 경우를 clinical pregnancy로 정의하였다.

### 7. 분석 및 통계 방법

결과에 대한 통계적 분석은  $\chi^2$ -test를 이용하였고, p값이 0.05 이하인 경우를 통계적 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결 과

부고환에서 채취한 정자의 수, 운동성 및 항진성은 3군에서 유의한 차이는 없었으며 전

**Table 2.** Average aspirated epididymal sperm parameter in each group

	No. of cycles	Count ( $\times 10^6$ /ml)	Motility	Progression(0-4)
Group I	14	12.4 $\pm$ 15.2	17.5 $\pm$ 20.2	1.0 $\pm$ 0.4
Group II	13	27.0 $\pm$ 28.4	16.7 $\pm$ 18.9	1.4 $\pm$ 0.3
Group III	28	15.6 $\pm$ 27.3	14.2 $\pm$ 20.3	1.0 $\pm$ 0.6

Values are mean  $\pm$  SD.

**Table 3.** Summary of the fertilization results in each group

	No. of cycles	No. of mature eggs	No. of embryos	Fertilization rate (%)		
				2PN	$\geq$ 3PN	total
Group I	14	144	23	13.9	2.2	16.1
Group II	13	137	43	23.4*	8.0	31.4*
Group III	28	282	137	47.5*	1.0	48.6*

\*p < 0.05.

**Table 4.** Summary of the pregnancy results in each group

	No. of cycles	No. of T cycles (%)	Pregnancy/cycle (%)	Clinical pregnancy/cycle (%)
Group I	14	7(50.0)	1/14( 7.1)	1/14( 7.1)
Group II	13	12(92.2)	1/13( 7.7)	1/13( 7.7)
Group III	28	28(100)	13/28(46.4)*	9/28(32.1)

\*p < 0.05.

반적으로 정상적인 정자에 비해 운동성과 항진성이 현저히 감소되어 있었다(표 2).

획득한 성숙난자의 수는 3군간에 유의한 차이가 없었으며 수정율은 group I 이 16.1%, group II가 31.4%, group III가 48.6%로서 ICSI를 시행한 군에서 수정율이 높았다. 2개의 전핵을 보이는 정상적인 수정란의 비율은 각각 13.9%, 23.4%, 47.5%로서 역시 ICSI군에서 더 높게 나타났다(표 3).

제 1군은 14주기 중 7주기에서 수정이 되지 않아서 7주기(50%)에서 자궁내 배아이식을 하였고 제 2군은 13주기 중 1주기에서 수정이 되지 않아 12주기(92.2%)에서 이식을 하였으며 제 3군에서는 28주기(100%) 모두에서 수정이 되어 배아이식을 하였다. 임신은 제 1군에서 1예, 제 2군에서 1예, 그리고 제 3군에서 13예에서 확인되어 주기당 임신율은 각각 7.1%, 7.7%, 46.4%이었고(p < 0.05), 제 3군에서 4예가 chemical pregnancy에 그쳐 주기당 clinical pregnancy rate는 제 1군이 7.1%, 제 2군이 7.7%, 그리고 제 3군이 32.1%로서 ICSI를 시행한 군에서 임신율이 현저하게 높았다(표 4).

ICSI를 시행한 제 3군의 28주기 중 5주기에서는 부고환에서 정자를 채취한 후 부착한 인공정액류(alloplastic spermatocele)에서 정자를 채취하여 ICSI를 시행하였는데, 3주기에서 임신이 되었고 이중 1예는 chemical pregnancy였으며 40%(2/5)의 clinical pregnancy의 결과를 얻었다.

## 고 찰

최근까지 선천성 정관 형성 부전증이나 수술로서 교정이 불가능한 폐쇄성 무정자증은 남성불임 치료 중 가장 어려운 분야의 하나였다. 1985년에 Temple-Smith 등이 정관복원 실패자에서 미세수술적 부고환 정자 흡입술로 채취한 정자를 이용하여 체외수정에 성공하여 처음으로 임신을 보고한 이래 Silber등은 1988년에 선천성 정관 형성 부전증 환자 18명을 대상으로 미세수술적 부고환 정자 흡입술과 체외수정을 시도하여 3예를 임신하였고 2예에서 분만까지 성공하였음을 보고하였으나, 1993년까지 총 167주기에서 시행한 보고에 의하면 오직 15.7%의 수정율을 기록하였고 임신

율도 11%로서 매우 낮아서 미세수정의 역할이 필요함을 강조하였다(Silber, et al., 1993). 즉, 부고환에서 채취한 정자는 환자에 따라 정자의 수가 다양하며 운동성과 정상적인 형태의 정자도 각각 15%와 25% 내외로 극히 불량하기 때문에 일반적인 체외수정으로는 수정율이 낮았으며 임신율도 10% 내외로 저조하였다(Ord et al., 1992). 따라서 수정을 및 임신율을 향상시키기 위하여 미세수정술이 필요하게 되었으며 1990년 Olar 등은 부고환에서 채취한 정자로 처음 SUZI를 시도하여 수정에 성공하였다고 보고하였으나 임신에는 실패하였다(Olar et al., 1990). 1992년 Palermo 등이 ICSI 방법으로 처음 임신에 성공하였음을 보고한 이래로 남성불임 환자에서 ICSI가 효과적으로 이용되어 왔으며 1994년 Tournaye 등은 14주기의 미세수술적 부고환 정자 흡입술에서 ICSI를 시행하여 58%의 수정율과 35.7%의 임신율을 보고하여 ICSI의 효용성을 강조하였다(Tournaye et al., 1994). 또한 ICSI의 장점은 하나의 난자를 수정시키는데 단 하나의 정자만을 필요하므로 부고환에서 채취한 정자를 ICSI로 수정시키고 남은 잉여 정자를 동결보관하여 다음 주기에 다시 이용할 수 있다는 것으로서 앞으로 이 분야에 많은 발전이 있을 것으로 사료된다.

폐쇄성 정로 장애로 인한 무정자증 환자에서 부고환에 인공 정액류(alloplastic spermatocele)를 부착하여 그곳에서 정자를 채취함으로써 임신을 시도하는 방법은 Kelami가 1977년 동물 실험을 통해 발표한 뒤 활발히 진행되었다(Kelami et al., 1977). Belker 등은 91예의 139주기에서 인공 정액류를 시술의 임신율이 0%에서 4% 정도에 불과하다고 보고하였다. 이렇게 임신율이 낮은 원인은 부고환관이나 정관이 다시 막히거나 인공 정액류의 폐쇄, 또는 고환으로부터 불충분한 정자의 이동에 의하여 정자의 채취에 실패하거나 채취할 수 있는 정자의 수가 적으며 또한 그 정자의 운동성이 매우 낮기 때문이라고 하였다(Turner, 1988). 그러나, 최근 미세수정술이 발달하였고 특히 ICSI방법의 수정율 및 임신율이 높으므로 저자들은 부고환 정자 흡입술시 선택된 예에서 부고환에 인공 정액류를 설치하여 다음 주기에 다시 임신을 시도할 때 인공 정액류에서 간단하게 정자를 흡입하여 ICSI를 시행하였다. 5주기의 인공 정액류에서 채취한

정자로 3예에서 임신이 되었으며 clinical pregnancy는 2예(40%)에서 확인되어 인공정액류의 효용성이 높을 것으로 믿어지며 앞으로 더 많은 연구와 경험이 필요할 것으로 사료된다.

## 결론

선천성 정관 형성 부전증 환자 22주기와 수술로 교정이 불가능한 폐쇄성 무정자증 환자 33주기에서 미세수술적 부고환 정자 흡입술과 일반적인 체외수정, SUZI, 및 ICSI를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. ICSI를 시행한 군의 수정율은 48.6%로 일반적인 체외수정(16.1%)이나 SUZI를 시행한 군(31.4%)보다 더 높았으며 2개의 전핵이 보이는 정상적인 수정율도 각각 47.5%, 13.9%, 23.4%로서 더 높았다( $p < 0.05$ ).

2. 일반적인 체외수정군에서는 14주기중 7예(50%)에서 수정되었고 SUZI군은 13주기중 12예(92.2%), 그리고 ICSI군에서는 28주기(100%)에서 전부 수정되어 배아이식을 하였다.

3. Clinical pregnancy rate는 ICSI군이 32.1%로 일반적인 체외수정군(7.1%)이나 SUZI군(7.7%)보다 현저하게 높았다.

4. 인공정액류 시술 환자 5주기중 2예(40%)에서 clinical pregnancy가 확인되었다.

이상의 결과로서 선천성 정관 형성 부전증이나 수술로 교정이 불가능한 폐쇄성 무정자증 환자에서 미세수술적 부고환 정자 흡입술과 ICSI를 시행함으로써 수정율 및 임신율을 높일 수 있으며, 인공정액류 시술 방법도 매우 유용할 것으로 사료된다.

## 인용문헌

- Belker AM, Jiminez-Cruz JF, Kelami A, Wagenknecht LV: Alloplastic spermatocele: poor sperm quality in intraoperative epididymal fluid contraindicates prosthesis implantation. *J Urol* 1986, 136, 408-412.
- Dubin L, Amelar R: Etiologic factors in 1294 consecutive cases of male infertility. *Fertil Steril* 1971, 22, 469-475.
- Kelami A, Rohloff D, Affeld K, Schroter A, Blomh B: Alloplastic spermatocele: insemination from epididymal reservoir. *Urology*

- 1977, 10, 310-313.
- Olar TT, La Nasa J, Dickey RP, Taylor SN, Curole DN: Fertilization of human oocytes by microinjection of human sperm aspirated from the caput epididymides of an individual with obstructive azoospermia. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 1990, 7, 160-164.
- Ord T, Balmaceda JP, 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, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem A: Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1993, 59, 826-835.
- 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* 1990, 323, 1788-1792.
- Silber SJ, Balmaceda J, Borreo 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.
- Temple-Smith PD, Southwick GJ, Yates CW, Trounsen AD, deKretser DM: Human pregnancy by in vitro fertilization (IVF) using sperm aspirated from the epididymis. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 1985, 2, 119-122.
- Tournaye H, Nagy Z, Devroey P, Lissens W, Liu J, Van Steirteghem A: 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, 1045-1051.
- Turner TT: On the development and use of alloplastic spermatozoa. *Fertil Steril* 1988, 49, 387-395.
-