

Techniques of Sperm Retrieval for ICSI

김 종 현

미즈메디병원 비뇨기과

Introduction

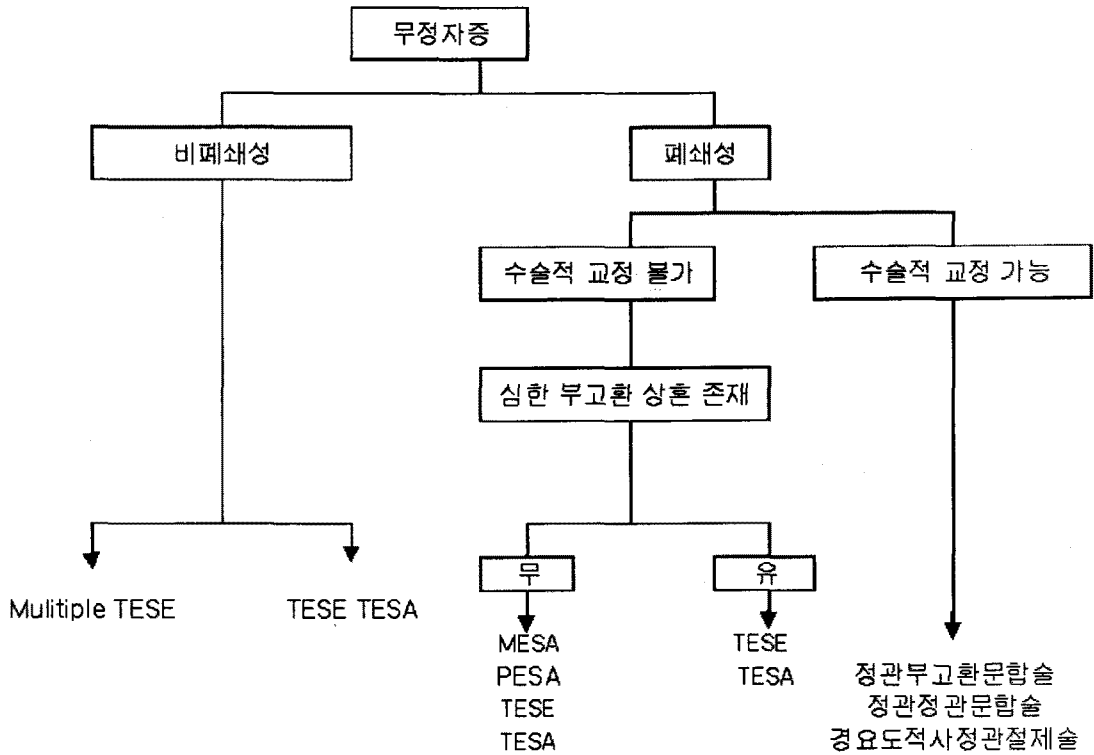
정액검사에서 정자가 발견되지 않는 무정자증은 정자의 이동통로가 없거나 막혀서 온 폐쇄성 무정자증과 고환자체의 기능이상에 의한 비폐쇄성 무정자증으로 나눌 수 있다. 폐쇄성 무정자증의 경우 정관정관 문합수술이나 정관부고환 문합수술과 같은 수술적인 방법으로 근본적인 교정이 가능하지만 폐쇄된 부위가 여러 곳이거나 부고환관 입구부터 막힌 경우, 선천적으로 정관이 없는 정관 무형성증 (congenital bilateral absence of vas deferens) 등의 경우는 수술적 교정이 불가능하다. 이러한 경우는 어쩔 수 없이 부고환이나 고환에서 정자를 얻어서 난자세포질내 정자주입술 (ICSI)를 해야 하는데 정자를 얻는 방법으로 MESA (Microsurgical epididymal sperm aspiration), PESA (Percutaneous epididymal sperm aspiration), TESA (Testicular sperm aspiration), TESE (Testicular sperm extraction) 등이 시행된다. 폐쇄성의 경우 위의 여러 방법을 통하여 부고환이나 고환에서 충분한 정자를 얻을 수 있어 보조생식술 하는데 문제가 없지만 비폐쇄성의 경우는 위의 일반적인 방법으로 정자를 얻기가 쉽지 않다는 문제점이 있다.

본 강의에서는 난자세포질내 정자주입술을 해야만 하는 무정자증 환자에서 어떠한 방법들이 어떠한 경우에 적용되는지 알아보고, 정자를 얻기 어려운 비폐쇄성 환자에서 정자를 보다 효율적으로 찾기 위한 최근 경향과 방법들에 대해 말하고자 한다.

1. 폐쇄성 무정자증 환자에서 정자추출법

무정자증 환자에서 정자를 얻는 부위는 폐색의 유무와 위치에 따라 결정된다 (Figure 1).

폐쇄성의 경우 드물게 정자를 정관이나 정낭에서도 얻을 수 있지만 부고환관에서 막혀 있는 경우가 많아 대부분 부고환이나 고환에서 정자를 얻게 된다. 부고환에서 정자를 얻는 MESA (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration), PESA (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration)와 고환에서 정자를 얻는 TESA (Testicular Sperm Aspiration), TESE (Testicular Sperm Extraction)의 모든 방법이 적용될 수 있다. 과거에는 채취한 정자를 곧바로 사용할 수 있고 사용하고 남은 정자의 냉동보관을 위해서 부고환에서 정자를 얻는 방법이 우선적으로 사용되었지만 현재는 고환조직에서 정자를 추출하는 방법이 보편화되었고 고환조직 자체로도 냉동보관이 가능하여 모든 방법이 일차적으로 적용될 수 있다. 하지만 심한 부고환의 상흔으로 인하여 부고환관 전체가 막혀 있거나 부고환이 선천적으로 발달되어 있지 못한 경우, 부고환에서 얻은 정자가 ICSI하는데 적합하지 못한 경우는 고환에서 정자를 얻어야 한다.



MESA : Microsurgical epididymal sperm aspiration
 PESA : Percutaneous epididymal sperm aspiration
 TESE : Testicular sperm extraction
 TESA : Testicular sperm aspiration

Figure 1. Algorithm for Sperm Procurement

1) 미세 수술적 부고환 정자흡입술 (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration, MESA)

국소 또는 전신마취 하에 음낭절개를 한 후 고환과 부고환을 노출시키고 수술 현미경을 이용하여 미세 수술기구를 이용하여 부고환의 장막에 구멍을 내어 부고환관을 열어 부고환 미부에서 두부쪽으로 올라가면서 24G medicut needle 1 ml 주사기로 흡입하여 정자의 유무를 관찰하고 정자가 없거나 운동성이 없을 경우 근위부로 올라가서 시행한다. 가능한 한 부고환관의 손상을 줄이기 위하여 미부에서 두부로 시행하는 것이 원칙이나 폐쇄된 부고환관에서 보다 나은 양질의 정자는 두부에서 관찰된다.

부고환 부위의 폐쇄로 정관부고환 문합수술시 실패할 경우를 대비하여 냉동보관을 했다가 나중에 ICSI를 시행할 때 사용하기도 한다. 그러나 수술적 교정의 가능성에 대한 정확한 평가 없이 MESA나 PESA를 시행하는 것은 부고환관이 단일관이므로 이 시술 자체가 인위적으로 영구적인 폐쇄를 만들어 재건의 기회를 불가능하게 할 수 있으므로 정확한 진단 후 시술하는 것이 바람직하다. 이러한 MESA의 적응증은 선천성 양측 정관 무형성증, 이전에 재건수술이 실패한 경우, 수술적 교정이 불가능한 폐

쇄성 무정자증에 시행되고 있다.

2) 경피적 부고환 정자흡입술 (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration, PESA)

PESA는 21~23G 바늘을 이용하여 경피적으로 부고환에서 정자를 흡입하는 방법이다. 엄지와 검지로 부고환의 일정부위를 움직이지 않도록 잡아 고정시킨 후 음압을 가해 충분한 양의 정자를 얻는다. 국소마취 하에 피부절개를 하지 않아도 되고 현미경과 미세 수술기구가 필요하지 않다는 장점이 있다.

3) 고환조직 정자흡입술 (Testicular Sperm Aspiration, TESA)

국소마취 하에 고환을 고정하고 10~20 ml의 주사기를 Franzen syringe holder에 고정한 후에 21~23G 바늘을 부착하고 음압을 주면서 수차례 흡입한다. PESA와 같이 국소마취 하에 피부절개를 하지 않아도 되며 현미경이나 미세 수술기구가 필요하지 않다는 장점이 있다.

4) 고환조직 정자채취술 (Testicular Sperm Extraction, TESE)

폐쇄성 무정자증의 경우 부고환에서 정자를 얻고자 할 때 부고환의 심한 반흔으로 정자를 얻을 수 없거나 얻은 부고환 정자가 운동성이 없어서 ICSI를 하는데 적합하지 못한 경우 고환에서 정자를 얻어야 한다. TESE는 국소마취나 전신마취 하에 음낭절개를 한 후 고환백막을 노출하고 절개를 하여 고환조직을 떼어내어 기계적 방법과 효소처리를 통하여 정자를 추출한다. 폐쇄성 무정자증 환자에서는 1~2군데의 조직채취로 충분한 정자를 얻을 수 있으며 ICSI하고 남은 조직은 냉동보관하였다가 다음 주기에 사용하기도 한다.

하지만 비폐쇄성 무정자증 환자에서는 일반적인 TESE나 TESA의 방법으로는 충분한 고환조직을 얻을 수 없어 정자추출의 가능성이 낮다. 그러므로 여러 군데의 고환에서 조직을 떼어내어 정자를 찾아보는 Multiple TESE를 시행하게 된다.

2. 비폐쇄성 무정자증 환자에서 정자추출술

비폐쇄성 무정자증은 고환에서 정자형성과정이 문제가 되어 나타나기 때문에 성공적인 정자추출을 위해서는 보다 많은 시간과 노력이 필요하며 세심한 술기를 요한다. 앞서 말한 것처럼 비폐쇄성 무정자증 환자에서는 여러 군데에서 조직을 채취하는 Multiple TESE를 시행하는데 기존의 Multiple TESE 방법의 문제점으로 무작위로 여러 군데에서 고환조직을 채취하게 되면 고환을 싸고 있는 백막의 혈관손상을 초래하며 다량의 조직 손실로 인하여 고환기능이 감소하게 될 뿐 아니라 정자형성과정이 있는 세정관의 정확한 부위를 알지 못하고 떼어내기 때문에 성공적인 정자추출을 하는데 있어 실패할 가능성이 높다는데 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 최근에는 수술현미경을 이용한 microdissection TESE와 Fine needle aspiration mapping을 이용한 TESE가 정자추출의 가능성을 높이고 수술로 인한 합병증을 낮추고자 개발되었다.

1) 비폐쇄성 무정자증의 정의와 분류

모든 불임환자의 1~5%를 차지하는데 임상적으로 정액검사에서 무정자증이면서 고환크기의 위축, FSH 호르몬의 증가를 보이면 의심해 볼 수 있지만 최종적으로는 고환조직검사에서 세정관내에서 정자

형성과정 없이거나 비정상적일 경우 확진을 하게 된다.

확진을 위한 고환조직검사의 결과에 따라 세정관내에서 정자형성과정에서 많이 감소되어 적은 수의 성숙정자가 관찰되는 Hypospermatogenesis, 정자형성과정에서 중간에 중단되어 성숙정자가 보이지 않는 Maturation arrest, 정자형성과정에서 전혀 보이지 않는 Germ cell aplasia (Sertoli cell only syndrome)로 크게 나눌 수 있으며 때로는 위의 소견이 혼재되어 나타나기도 한다. 일반적으로 hypospermatogenesis에서 정자 추출의 가능성이 가장 높으며 Germ cell aplasia로 갈수록 낮아진다.

2) 비폐쇄성 무정자증 환자 치료시 고려할 점

과거에는 정자은행의 비배우자 정자를 이용하거나 입양이 고려되었으나 1992년 Palermo 등에 의해 난자세포질내 정자주입술이 개발된 이후 고환내 정자도 보조생식술에 이용될 수 있게 되었고, 1995년 Devroy 등이 최초로 비폐쇄성 무정자증 환자에서도 이러한 방법을 사용하여 임신을 보고한 이래로 비폐쇄성 무정자증 환자에서도 고환정자를 이용한 보조생식술이 널리 사용되고 있다. 하지만 약 절반의 환자들에서는 결국 고환내에서 정자를 찾을 수 없으며, 과연 어떠한 환자에서 정자를 얻을 수 있는지에 대한 확실한 예측인자가 없다는 문제점이 있다. 또한 이들 환자들에서는 여러 군데에서 보다 많은 조직이 필요하므로 정자추출을 위한 조직채취 수술시에 폐쇄성일 때보다 고환기능에 나쁜 영향을 줄 수 있다.

그러므로 비폐쇄성 무정자증 환자에서 고환기능을 보존하면서 정자를 얻기 위한 확률을 높이는 방법이 필요하게 되었고 시험관 아기시술 당일에 정자를 못 찾아 취소하는 경우가 생기는 경우 발생할 수 있는 경제적, 정신적, 육체적 충격을 피할 수 있는 방법 또한 고려되어야 한다.

3) 비폐쇄성 무정자증 환자에서 정자를 찾는 방법

여러 가지 방법들이 사용되었으며 가능하면 수술을 간소화하여 합병증을 낮추고 정자의 발견을 높이는 방향으로 변화되어 왔다. 최근에는 수술현미경을 이용한 Microdissection TESE와 시험관아기시술 전에 미리 Fine needle aspiration (FNA)을 이용하여 mapping을 하고 나중에 TESE를 하는 Map-Directed TESE가 개발되었다.

(1) Mutibiopsy TESE (conventional multiple TESE)

비폐쇄성 무정자증 환자에서 정자를 얻는데 있어 가장 먼저 시행되어져 왔던 방법으로 1996년 Tournaye 등에 의해 최초로 시도되었다. 이 방법은 난자채취일 당일 날 여러 군데에서 고환조직을 떼어내는 것으로 전통적인 방법으로 사용되어져 왔다.

(2) Simultaneous Diagnostic Biopsy and TESE with Cryopreservation

1997년 Oates 등에 의해 제시된 방법으로 난자채취일이 아니고 그 전에 진단을 위한 고환조직 생검시에 동시에 TESE를 시행하여 정자를 찾아 동결보관해 놓는 방법이다. 정자를 채취하지 못한 경우는 시험관아기시술을 하지 않으며 정자를 확보한 경우에만 시험관아기시술을 하게 된다. 난자채취일 당일에 정자를 못 찾아 시험관아기시술이 취소되는 것을 막을 수 있다는 장점이 있으나 정자의 숫자가 적은 경우 동결로 인한 정자의 손상으로 시험관아기시술의 성공률 감소를 초래할 가능성이 있다.

Table 1. Reported sperm retrieval success with microdissection in NOA patients

Study	No of patients	Micro TESE Success	Conventional TESE Success
Schlegel et al 1999	27	63%	45%
Amer et al 2000	100	45%	30%
Okada et al 2002	98	45%	17%
Okubo et al 2002	17	48%	24%
Kim et al 2002	61	26%	24%

(3) Microdissection TESE

이 방법은 1999년 Schlegel 등이 개발한 방법으로 여러 군데에서 조직을 얻는 것은 multibiopsy TESE와 같으나 수술현미경을 사용하여 정자형성이 일어나는 부위의 세정관을 구별하여 선택적으로 조직을 얻을 수 있으며, 다량의 조직 손실과 혈관손상 등의 합병증을 방지할 수 있다는 장점이 있다.

비폐쇄성 무정자증 환자의 고환을 절개한 후 수술 현미경을 이용하여 세정관의 상태를 전체적으로 살펴보고 정자형성이 일어나는 부위만을 선택적으로 채취하게 되는데, 정자형성부위는 16배 확대시야에서 보다 뿌옇고 확장되어 있어 구별이 가능하다. 또 고환을 절개할 때는 4배 확대시야에서 고환을 싸고 있는 백막의 혈관을 피해서 절개가 가능하므로 혈관손상을 피할 수 있다.

Table 1은 비폐쇄성 무정자증 환자에서 microdissection TESE의 정자추출율을 기존의 방법과 비교한 결과이다. 일반적으로 이 방법을 통하여 기존의 방법에 비하여 약 50% 정도 성공률을 높일 수 있었다. 결론적으로 microdissection TESE는 비폐쇄성 무정자증 환자에서 정자의 추출율을 보다 높일 수 있으며, 고환조직의 다량손실과 혈관손상을 피할 수 있어 고환기능을 보존하는데 유용한 방법이다.

(4) Map-Directed TESE

Turek 등에 의해 1997년 처음 시행되었으며, 시험관아기기술에 앞서 어떠한 환자에서 고환에 정자가 있는지를 미리 알아보고 적합한 환자를 선택하기 위해 사용되는 방법이다.

부분 마취 하에 양쪽 고환에서 약 10군데씩을 mapping하고 23 gauge fine needle을 이용하여 각각의 부위를 aspiration한 후 조직을 슬라이드에 smear하고 95% 에칠 알콜로 고정 후 PAP 염색하여 정자의 유무와 어느 부위에서 나왔는지 알아본다 (Figure 2). 정자가 발견되면 시험관아기기술을 하게 되며 난자채취일에 정자가 나왔던 부위를 중심으로 TESE를 하게 된다.

이 방법을 통하여 FNA map을 한 후에 TESE를 했을 때 비폐쇄성 무정자증 환자의 93~95%에서 충분한 정자를 찾을 수 있었으며, 일반적으로 2군데의 적은 고환조직만으로도 가능하였다고 한다. 결론적으로 Map-directed TESE는 비폐쇄성 무정자증 환자에서 미리 시험관아기기술 전에 적절한 환자를 선택하고 보다 적은 조직만으로도 충분한 정자를 얻는데 유용하게 사용될 수 있겠다.

4) Timing of Sperm Retrieval

가능하면 시험관아기기술 당일에 맞춰 정자를 얻는 것이 가장 좋겠지만 비폐쇄성 무정자증 환자의 경우 약 50%에서는 결국 정자를 얻지 못한다. 특히 조직검사상 정자형성과정이 관찰되지 않는 Germ

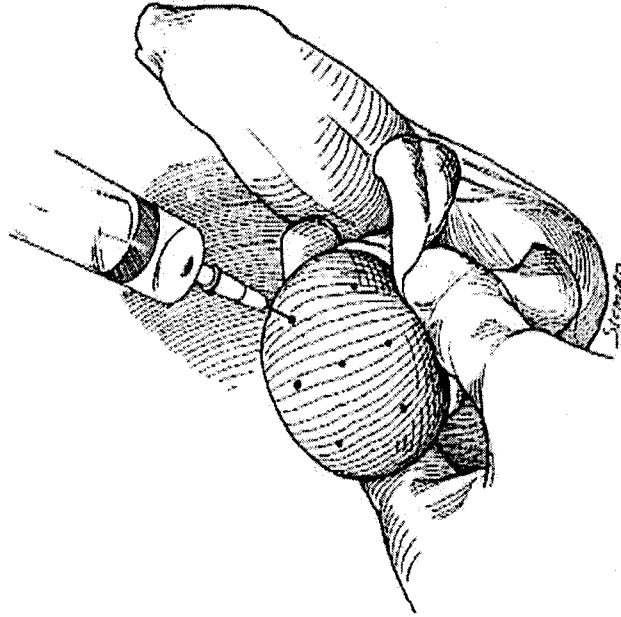


Figure 2. Fine needle aspiration technique with mapping

cell aplasia 환자에서는 더욱 어렵다는 문제점이 있으며, 이로 인하여 난자채취일 당일에 시험관아기시술이 취소되는 문제점이 발생할 수 있다. 그러므로 시험관아기시술 전에 정자를 미리 확보하고 동결보존한 후 난자채취일에 녹여서 사용하는 방법이 선호되기도 하는데 이 방법은 정자를 못 얻어 시험관아기시술을 취소하는 것을 방지할 수 있다는 장점이 있지만 최상의 정자를 사용하지 못한다는 문제점이 있을 수 있다.

동결보존을 하게 되면 정자는 저온에 의하여 영향을 받게 되어 운동성과 생존성이 감소되는데 특히 다수의 정자를 확보하기 어려운 비폐쇄성 무정자증 환자에서는 그 영향이 크다고 하겠다. 1999년 Turek 등의 연구에 의하면 비폐쇄성 무정자증 환자에서 냉동보관된 정자를 해동하였을 때 운동성 0.2%, 생존성 50% 미만으로 나타나 신선정자의 운동성 5%, 생존성 86%에 비하여 매우 낮게 나타났다고 한다. 본원의 연구에서도 냉동보관되었던 정자의 임신율이 17%로 신선정자의 42.8%에 비하여 유의하게 낮았다.

난자채취 당일에 TESE를 하고자 한다면 정자를 찾지 못할 경우를 대비하여 비배우자 정자의 사용 여부를 미리 합의하여 준비하는 것이 필요하며, FNA mapping을 통하여 정자를 얻을 수 있는 후보자를 미리 선정하는 것도 도움이 된다.

Conclusions

ICSI라는 강력한 ART 도구가 개발되어 부고환이나 고환의 정자로도 수정과 임신이 가능하게 되어 남성불임치료에 있어서 많은 변화를 가져왔다. MESA와 TESE의 도입으로 이전에 치료가 불가능했던

불임부부들에게 희망과 해결책이 되었지만 미세 수술적 교정이 가능한 폐쇄성무정자증 환자에서는 이에 앞서 수술적 치료가 고려되어야 한다.

고환기능 문제로 인한 비폐쇄성 무정자증 환자의 경우 정자를 얻기가 쉽지 않기 때문에 기존의 일반적인 TESE나 TESA의 방법보다는 수술현미경을 이용한 microdissection TESE와 Fine needle aspiration mapping을 이용한 TESE를 시행하여 정자추출의 가능성을 높이고 수술로 인한 합병증을 낮추어야 한다. 정자채취일 선정은 정자추출의 가능성과 비배우자 정자의 사용여부 등을 환자부부와 충분히 상의 후 결정하여야 한다.

참 고 문 헌

- 서주태. 정자추출법 In: 박광성, 문두건, 서주태 등, editors. 남성과학. 제1판, 서울: 군자출판사, 2004: 137-46.
- 서주태, 박용석, 김종현, 이유식, 전진현, 이호준 등. 비폐쇄성 무정자증의 치료. 대한불임학회지 1997; 24: 95-9.
- 전진현, 서주태, 임천규, 송상진, 박용석, 김정옥 등. 고환조직 정자채취술 (TESE)과 세포질내 정자 주입술(ICSI)을 이용한 체외수정 및 배아이식술에서 성공적인 임신에 영향을 주는 요인. 대한비뇨학회지 2000; 41: 275-80.
- Altay B, Helkimgil M, Cikili N, Turan B, Soydan S. Histological mapping of open testicular biopsies in patients with unobstructive azoospermia. Br J Urol Int 2001; 87: 834-7.
- Amer M, Ateyah A, Hany R, Zohdy W. Prospective comparative study between microsurgical and conventional testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia: follow-up by serial ultrasound examinations. Hum Reprod 2000; 15: 653-6.
- Devroey P, Liu J, Nagy Z, et al. Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. Hum Reprod 1995; 10: 1457-60.
- Kahraman S, Ozgur S, Altas C, et al. Fertility with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermic men. Hum Reprod 1996; 11: 756-60.
- Kim E, Gilbaugh JH, Patel VR, et al. Testis biopsies frequently demonstrate sperm in men with azoospermia and significantly elevated follicle-stimulating hormone levels. J Urol 1997; 157: 144-6.
- Meng MV, Cha I, Ljung B-M, Turek PJ. The relationship between classic histologic pattern and sperm findings on fine needle aspiration map in infertile men. Hum Reprod 2000; 15: 1973-7.
- Mulhall JP, Burgess CM, Cunningham D, et al. Presence of mature sperm in testicular parenchyma of men with nonobstructive azoospermia: prevalence and predictive factors. Urology 1997; 49: 91-6.
- Oates RD, Mulhall J, Burgess C, Cunningham D, Carson R. Fertilization and pregnancy using intentionally cryopreserved testicular tissue as the sperm source for intracytoplasmic sperm injection in 10 men with non-obstructive azoospermia. Hum Reprod 1997; 12: 734-9.
- Okada H, Dobashi M, Yamazaki T, Hara I, et al. Conventional versus microdissection testicular sperm extraction for nonobstructive azoospermia. J Urol 2002; 168: 1063-7.
- Okubo K, Ogura K, Ichioka K, et al. Testicular sperm extraction for non-obstructive azoospermia: results with

- conventional and microsurgical techniques. *Hinyokika Kyo* 2002; 48: 275-80.
- Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. Pregnancy after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340: 17-8.
- Toumaye H, Clasen K, Aytoz A, Nagy Z, et al. Fine needle aspiration versus open biopsy for testicular sperm recovery: a controlled study in azoospermic patients with normal spermatogenesis. 1998; 13: 901-4.
- Toumaye H, Liu J, Nagy PJ, et al. Correlation between testicular histology and outcome after intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1996; 11: 127-32.
- Toumaye H, Verhey G, Nagy P, et al. Are there predictive factors for successful testicular sperm recovery in azoospermia patients? *Hum Reprod* 1997; 12: 80-6.
- Turek PJ, Bachtell N, Conaghan J. The relative viability of human sperm from the testis, epididymis and vas deferens before and after cryopreservation. *Hum Reprod* 1999; 14: 3048-51.
- Turek PJ, Cha I, Ljung B-M, Conaghan J. Diagnostic findings from testis fine needle aspiration mapping in obstructed and non-obstructed azoospermic men. *J Urol* 2000; 163: 1709-16.
- Turek PJ, Cha I, Ljung BM. Systematic fine-needle aspiration of the testis: correlation to biopsy and results of organ "mapping" for sperm in azoospermic men. *Urology* 1997; 49: 743-8.
- Turek PJ, Given C, Schriock ED, et al. Testis sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection guided by prior fine needle aspiration mapping in nonobstructive azoospermia. *Fertil Steril* 1999; 71: 552-8.
- Schill T, Bals-Pratsch M, Kupker W, Sandmann JJ, et al. Clinical and endocrine follow-up of patients after testicular sperm extraction. *Fertil Steril* 2003; 79: 281-6.
- Schlegel PN. Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod* 1999; 14: 131-5.