大韓不妊學會雜誌: 第25卷 第2號 1998
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 25, No. 2, 1998, 8

동결-융해 후 회수된 고환 정자와 세정관내 정자의 수정 능력과 효율성에 관한 연구

삼성제일병원 불임연구실[1], 산부인과[2], 비뇨기과[3], 성균관대학교 의과대학[4]

박용석[1] · 전진현[1] · 이호준[1] · 강인수[2,4] · 김종현[3,4] · 이유식[3,4] · 서주태[3,4]

Efficacy and Fertilizing Ability of Frozen-thawed Testicular Spermatozoa and Spermatozoa Extracted from the Seminiferous Tubule with Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)

Yong-Seog Park[1], Jin Hyun Jun[1], Ho-Joon Lee[1], Inn Soo Kang[2,4], Jong Hyun Kim[3,4], You Sik Lee[3,4] and Ju Tae Seo[3,4]

Infertility Research Laboratory[1], Department of Obstetrics and Gynecology[2], Department of Urology[3], Samsung Cheil Hospital & Women's Healthcare Center, College of Medicine, Sungkyunkwan University[4], Seoul, Korea

= Abstract =

The combination of testicular sperm extraction (TESE) with ICSI can achieve normal fertilization and pregnancy rate and is effective method in obstructive and non-obstructive azoospermic patients. But, when pregnancy was not occurred, repeated testicular biopsies are not evitable. Therefore, in this study, we observed the survival rate of testicular spermatozoa and spermatozoa extracted from the seminiferous tubules after cryopreserved-thawed used for next IVF cycle with ICSI. In a total of 23 cases, obstructive azoospermia was 17 cases and non-obstructive azoospermia was 6 cases. In obstructive azoospermia, after thawing, motile spermatozoa was observed in 13 cases (76.5%). The fertilization rate with 2PN was 67.6% and 5 pregnancies (29.4%) were achieved. In non-obstructive azoospermia, motile spermatozoa was observed in 2 case (33.3%) after thawing. The fertilization rates with 2PN was 53.7% and 3 pregnancies (50.0%) were achieved. A comparison of the results of motile spermatozoa after thawed testicular spermatozoa and spermatozoa extracted from the thawed seminiferous tubule section were 3 cases (60.0%) and 12 cases (66.6%), respectively. The fertilization and pregnancy rates of thawed testicular spermatozoa and spermatozoa extracted from the thawed seminiferous tubule section were 69.4% and 20.0%, 62.5% and 38.8%, respectively. Conclusively, thawed testicular spermatozoa and spermatozoa extracted from the thawed seminiferous tubule section can achieve normal fertilization and pregnancy and cryopreservation of testicular spermatozoa and seminiferous tubule may avoid repetition of testicular biopsies in azoospermic patients in whom the only source of spermatozoa is the testis.

Key Words: Cryopreservation, Testicular spermatozoa, Seminiferous tubule, TESE, ICSI

서 론

부고환에서 정자를 채취할 수 없거나 부고환에서 정자는 채취되었으나 활동성이 없어 체외수정에 부적합한 것으로 판단된 폐쇄성 무정자증 환자와 조직검사 소견상 정자성숙부전으로 인한 비폐쇄성 무정자증 환자에서 고환조직 정자채취술 (testicular sperm extraction; TESE, 이하 TESE)과 세포질내 정자주입술 (intracytoplasmic sperm injection; ICSI, 이하 ICSI)은 무정자증으로 인한 남성불임 환자에서 수정률과 임신율을 높일 수 있는 유용한 방법으로 알려져 있다 (Schoysman *et al.,* 1993; Devroey *et al.*, 1994, 1995; Bourne *et al.,* 1995; Craft & Tsirigotis, 1995; Nagy & Liu, 1995; Silber *et al.,* 1995a, b, 1996; 전진현 등, 1995; 박용석 등, 1997). 그러나 TESE-ICSI를 시행하여도 임신에 도달하지 못했을 경우 다음 IVF 주기에 다시 고환조직을 절개해야 하는 문제가 있다. 반복적인 고환조직의 절개는 고환조직의 손상에 따른 정자세포 (spermatogenic cell)의 회수 및 이용 가능성을 낮춘다. 따라서 이런 문제를 해결하기 위하여, 세정관 혹은 고환 정자를 동결 보존하는 방법을 이용할 수 있다. 고환 정자 동결의 중요성이 높아지는 이유는 임신에 실패하였을 경우, 반복적, 다중적 TESE없이 고환 정자를 이용할 수 있고, 고환조직의 손상을 줄일 수 있으므로 신체적, 경제적 부담을 줄일 수 있다. 최근 고환 정자의 동결-융해 후 수정과 임신이 보고되었으며 (Gil-Salom *et al.*, 1996; Romero *et al.,* 1996), Allan 과 Cotman (1997)은 세정관을 동결-융해 후 정자를 이용하여 3례의 임신을 보고하였다. 따라서 세정관과 고환 정자의 상태가 양호한 경우 세정관을 몇 부분으로 나누어 보존함으로써 임신에 도달하지 못했을 경우 이를 반복 융해하여 사용할 수 있다 (Oates *et al.*, 1997). 그러나 추출된 고환 정자의 동결과 세정관의 동결-융해 후 더 나은 생존력과 정자의 운동성 증진에 대하여는 아직 밝혀지지 않았다.

이에 본 연구에서는 폐쇄성 혹은 비폐쇄성 무정자증 환자에서 고환조직 정자채취술 (TESE)을 실시하여 세정관 혹은 추출된 고환 정자를 동결-융해 후 생존력을 관찰하였고, ICSI를 시행하여 수정률과 임신율을 조사하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 삼성제일병원 불임크리닉을 내원한 남성 불임환자에서 고환조직 정자채취술 (TESE) 실시 후 동결-융해 후 회수된 고환 정자를 이용한 23례의 세포질내 정자주입술 (ICSI)을 대상으로 하였다. TESE 실시 후 정자 혹은 세정관을 동결 보존한 환자는 폐쇄성 무정자증 환자 19명, 비폐쇄성 무정자증 환자 4명이었으며, 이들에게서 추출된 고환 정자를 동결한 예는 5례, 세정관을 동결한 예는 18례였다.

2. 고환조직 정자채취술 (TESE)

국소마취하에 음낭 및 초막 (tunica vaginalis)을 약 3 cm 절개한 후 백막 (tunica albuginea)을 0.5 cm 정도 절개하여 세정관 (seminiferous tubule)을 추출하였다. 비폐쇄성 무정자증 환자의 경우는 백막을 한 곳만을 절개하거나, 여러 곳을 절개하여 세정관을 회수하는 다중적 고환조직 정자채취술 (multiple TESE)을 시행하였다. 추출된 세정관을 0.4% BSA가 첨가된 Ham's F-10-HEPES 배양액이 담긴 Petri dish로 옮겨 해부현미경하에서 조심스럽게 세정관을 미세겸자로 짜내어 (squeezing) 추출물을 얻은 후 200배 현미경하에서 정자의 존재 여부를 확인하였다. 정자가 확인된 경우 다음 IVF 주기에 사용하기 위하여 세정관을 몇 부분으로 나누거나, 추출된 정자의 일부를 회수하여 동결보존하였다.

3. 고환 정자 및 세정관의 동결

추출된 정자 혹은 TESE 후 나머지 세정관은 0.4% BSA가 첨가된 Ham's F-10-HEPES 배양액과 0.4% BSA가 첨가된 human semen preservation medium (HSPM)을 1:1로 섞어 2 ml 동결용 ampule에 넣었다. Ampule은 자동동결기 (Kryo-10, Planar Biomed, UK)에 옮긴 후 -0.5℃/min의 속도로 4℃까지 하강시키고 4℃에서 -90℃까지 -10℃/min의 속도로 하강시킨 후 액체질소통에 보관하였다.

4. 고환 정자 및 세정관의 융해 및 처리

융해는 정자 혹은 세정관이 들어간 ampule을 액체 질소통에서 꺼내어 실온에서 10분간 정치

시킨 후 37℃ 항온수조에서 다시 10분간 정치시켜 실시하였다. 융해가 끝난 후 동해방지제를 제거하기 위하여 배양액으로 몇 차례 세척하고 회수된 세정관은 다시 정자 추출과정을 시행하고, 융해 후 회수된 정자는 ICSI를 위해 처리를 하였다.

5. 과배란 유도 및 난자 준비

난자 채취를 위한 과배란 유도는 FSH/hMG와 GnRH agonist를 병용하였으며, hCG 주사 후 34시간에 질식 초음파를 이용하여 난자를 채취하였다. 채취한 난자-난구 복합체는 성숙도를 판정하고, 3~5시간 동안 배양한 후에 0.1% hyaluronidase를 처리하여 난구세포를 제거하였다. ICSI를 시행하기 직전에 난자의 성숙 정도를 현미경하에서 판정하여 제1극체가 방출된 제2감수분열 중기의 난자만을 ICSI에 사용하였다.

6. 세포질내 정자주입술 (ICSI)

세포질내 정자주입술을 위해 회수된 정자는 도립현미경 (Nikon, Diaphot 300)에 장착된 1쌍의 미세조작기 (Narishige, NT-88)를 이용하여 ICSI를 수행하였으며, holding pipette과 injection pipette은 내경이 각각 15~20 μm와 4~5 μm인 것을 사용하였다. 고환 정자는 일차적으로 배양액 drop에서 운동성 정자를 회수하고, 이들을 10% polyvinyl-pyrrolidone (PVP) drop으로 옮겨 운동성을 감소시키고, injection pipette으로 운동성 정자에 물리적 힘을 가하여 비운동화시킨 후 난자에 주입하였다. 준비된 난자는 제1극체가 12시 또는 6시 방향에 위치하도록 holding pipette으로 고정한 후 injection pipette을 사용하여 정자를 3시 방향에서 9시 방향쪽으로 주입하였다. 정자주입시 난자의 세포질을 injection pipette으로 적당량 흡입하여 난자의 세포질내에 정자가 주입된 것을 확인하였다. 수정 여부는 ICSI 시행 후 16~20시간에 전핵 형성 여부로 확인하였다.

7. 배아 이식 및 임신 확인

난자 채취 후 72시간 동안 배양하여 정상적으로 발생된 4-8 세포기 배아를 확인하고, acid Tyrode's solution을 사용하여 zona drilling 방법으로 assisted hatching (AHA)을 시행하였다 (Cohen *et al.*, 1992; 이호준 등, 1995). AHA 시행 3~5시간 후에 배아를 자궁내에 이식하였으며, 임신여부는 배아 이식 13일 후에 혈청내 β-hCG 양으로 판정하였고, 임신낭 (gestational sac)이 확인된 경우를 임상적 임신 (clinical pregnancy)로 정의하였다.

8. 분석 및 통계 방법

결과에 대한 통계적 분석은 x^2-test를 이용하였고, p 값이 0.05 이하인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

총 23례에서 동결-융해 후 ICSI를 시행하였다. 그 중 17례가 폐쇄성 무정자증이었으며 6례가 비폐쇄성 무정자증이었다. 비폐쇄성 무정자증 환자는 모두 희소정자형성증 (hypospermatogenesis)이었다. 융해 후 정자의 움직임이 관찰된 경우는 총 15례 (65.2%)로, 이를 분류하여 보면 폐쇄성 무정자증 13례 (76.5%)와 비폐쇄성 무정자증 2례 (33.3%)로 폐쇄성 무정자증의 동결-융해 후 생존력이 높았다. 회수된 238개의 난자중 196개 (82.4%)의 난자에 ICSI를 시행하여 2개의 전핵이 확인된 수정된 난자는 125개 (63.8%)였다. 폐쇄성 무정자증과 비폐쇄성 무정자증의 수정률은 각각 67.6%와 53.7%로 두 군에 있어서 수정률에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 수정란 이식은 23례 전주기에서 시행하여 총 10례에서 임신이 확인되었으며 (43.5%), 폐쇄성 무정자증 7례 (41.2%)와 비폐쇄성 무정자증 3례 (50%)로 임신율에서는 비폐쇄성 무정자군에서 약간 높았으며, 임상적 임신은 총 8례 (34.8%) 중 폐쇄성 무정자증 5례 (29.4%)와 비폐쇄성 무정자증 3례 (50.0%)로 확인되었다 (표 1).

TESE 실시 후 추출된 정자와 세정관을 분리하여 동결-융해하였다 (표 2). 추출된 정자를 동결한 경우가 5례, 세정관을 동결한 경우가 18례였다. 융해 후 운동성 정자가 확인된 예는 추출 정자 3례 (60%)와 세정관 12례 (66.6%)로 두 군에서 차이가 없었다. 융해 후 수정률은 추출 정자 69.4%와 세정관 62.5%를 나타내 추출 정자 융해군에서 수정률이 약간 높은 것으로 관찰되었으나 통계적으로는 차이가 보이지 않았으며, 또한 임신율에 있어서도 추출 정자 융해군이 60.0% (3례)와 세정관 융해군이 (38.8%) 7례를 나타냈으며 임상적 임신율은 추출 정자 융해군이 20.0% (1례)

Table 1. Results of TESE with ICSI after frozen-thawed testicular spermatozoa and spermatozoa extracted from the seminiferous tubule in obstructive and non-obstructive azoospermia

	Total	Obstructive azoospermia (n=9)	Non-obstructive azoospermia (n=4)
No. Cycles	23	17	6
Motile sperm*	15 (65.2)	13 (76.5)	2 (33.3)
No. Oocytes	238	172	66
No. ICSI	196 (82.4)	142 (82.6)	54 (81.8)
No. 2PN	125 (63.8)	96 (67.6)	29 (53.7)
Transferred embryos	71	51	20
No. ET	23	17	6
Pregnancy	10 (43.5)	7 (41.2)	3 (50.0)
Clinical Preg.	8 (34.8)	5 (29.4)	3 (50.0)

*Motile sperm; motile spermatozoa present after thawing
The values in parentheses are percentages

Table 2. Survival and pregnancy rate of frozen-thawed testicular spermatozoa and spermatozoa extracted from the seminiferous tubule

	Sperm[1] (n=5)	S.T.[2] (n=9)
No. Cycles	5	18
Motile sperm*	3 (60.0)	12 (66.6)
No. Oocytes	41	197
No. ICSI	36 (87.8)	160 (81.2)
No. 2PN	25 (69.4)	100 (62.5)
Transferred embryos	13 (52.0)	58 (58)
No. ET	5	18
Pregnancy	3 (60.0)	7 (38.8)
Clinical Preg.	1 (20.0)	7 (38.8)

*Motile sperm; motile spermatozoa present after thawing
S.T.[1]; seminiferous tubule
The values in parentheses are percentages

와 세정관 융해군이 (38.8%) 7례를 나타내었다 (표 2).

고 찰

고환조직 정자채취술과 세포질내 정자주입술 (TESE-ICSI)은 무정자증으로 인한 남성불임 환자에서 수정률과 임신율을 높일 수 있는 유용한 방법으로 도입된 이래 (Schoysman *et al.*, 1993; Devroey *et al.*, 1994, 1995; Bourne *et al.*, 1995; Craft & Tsirigotis, 1995; Nagy & Liu, 1995; Silber *et al.*, 1995a, b, 1996; 전진현 등, 1995; 박용석 등, 1997) 보다 효율적인 고환조직내 정자의 회수 및 이용 방법으로 needle aspiration biopsy 방법인 testicular sperm aspiration (TESA)이 보고되어 고환조직 회수방법에 대체할 수 있는 방법으로 시도되었지만 (Craft *et al.*, 1995) 정자형성의 전과정을 파악하기에는 부적합하므로 (Mallidis & Baker, 1994; Gottschalk-Sabag & Weiss, 1995; Kessaris & Wasserman, 1995), 정상적인 정자형성과정을 가진 환자에서는 needle biopsy를 적용해도 무난하나 정자형성과정에 이상이 있는 비폐쇄성 무정자증 환자의 경우에는 고환조직 회수방법이 고환 정자와 성숙 단계의 정자세포 (spermatogenic cell)를 획득하는데 더 적절한 방법이라 하겠다. 폐쇄성 무정자증 환자의 경우 TESE 직후 또는 정자 회수 후 3~5시간 체외 배양 후 고환 정자의 움직임을 관찰할 수 있었으며, 비폐쇄성 무정자증 환자의 경우 고환 조직의 일부에서만 정자가 생성되거나 성숙 단계가 정지하는 경우가 있으므로 수정을 위한 충분히 성숙된 정자를 고환으로부터 얻는데는 문제가 있으나 일부에서 정상적인 정자의 움직임을 관찰할 수 있다. 그러나, TESE-ICSI를 시행하여도 임신에 도달하지 못했을 경우 다음 IVF 주기에 다시 고환조직을 절개해야 하는 문제가 있으며 반복적인 고환조직의 절개는 고환조직의 손상에 따른 정자세포의 회수 및 이용 가능성을 낮춘다. 따라서 고환조직 상태 (세정관과 정자형성단계)가 양호하다면 ICSI에 사용할 적정량의 정자를 회수한 후 나머지 세정관 혹은

정자를 몇 부분으로 나누어 동결하면 임신에 실패하였을 경우 다음 주기에 다시 TESE를 시행하지 않고 융해 후 ICSI를 이용하여 수정과 임신에 도달할 수 있으므로 효율적인 방법이라 하겠다. 고환 정자의 동결-융해 후 효율이 저하되는 요인으로 첫째, 다른 부위 (부고환, 사출)의 정자에 비해 낮은 농도와 약한 운동성때문이며 (Silber *et al.*, 1995) 둘째, 세정관내에는 정자와 spermatid 외에 성숙 단계의 정자세포 (spermatogenic cell), Sertoli cell, red blood cell, white blood cell, interstitial cell 등이 존재하기 때문이다 (Verheyen *et al.*, 1997). 그리고 Fischer 등 (1996)은 신선 정자의 수와 운동성, 동해방지제의 종류, 동결 및 융해 방법 그리고 희석 및 세척 과정 등이 융해 후의 상태에 영향을 미치는 요인을 보고하였다. 동해방지제로 glycerol을 이용하여 완만동결법과 급속융해법을 시도한 결과 정상 남성의 사출 정자에서 그 결과가 양호한 것으로 보고되었다 (Verheyen *et al.*, 1993). Allan& Cotman (1997)은 testicular sperm aspiration (TESA) 방법으로 세정관을 회수하여 활력 정자의 존재를 확인한 후 세정관의 일부를 동결 보존 후 사용하였는데 이 방법의 장점은 첫째, infection이나 testicular atrophy 같은 complication없이 필요한 만큼의 세정관을 얻을 수 있으며, 둘째, 미성숙 정자가 존재할 경우에도 유용한 방법으로 46%의 수정률을 보고하였다. Salzbrunn 등 (1996)도 가임 남성에서 세정관을 동결한 후 만족할만한 정자의 생존율을 보고하였고 본 연구에서는 62.5%의 수정률을 나타내었다. 본 연구에서 폐쇄성 무정자증 환자와 비폐쇄성 무정자증 환자에서 TESE 시행 후 나머지 고환 정자와 세정관을 동결-융해 후 활력 정자의 회수율을 비교한 결과 폐쇄성 무정자증 환자에서 76.5%의 회수율을 나타낸 반면 비폐쇄성 무정자증 환자에서는 33.3%의 낮은 회수율을 보였는데 이는 폐쇄성 무정자증 환자의 고환내 정자 생성능력이 정상으로 활력 정자의 존재빈도가 비폐쇄성 무정자증보다 높기 때문이며, 비폐쇄성 무정자증 환자의 경우 극히 적은 수의 정자가 존재하는 희소정자형성증 (hypospermatogenesis) 환자에서 ICSI에 이용할 수 있는 적절한 수의 정자가 극히 제한적으로 회수된 후 동결하였기 때문인 것으로 사료된다. 비폐쇄성 무정자증 환자의 정자 혹은 세정관을 동결 보존한 예는 4례였고 폐쇄성 무정자증 환자의 동결예보다 적었으며 그 중 정자를 동결한 경우가 1례, 세정관을 동결한 경우가 3례였다. 또한 TESE 후 정자보다 세정관을 동결한 예가 많았는데 이는 융해 후 정자를 회수하는 것이 세정관 동결군에서 용이하기 때문으로 Allan 과 Cotman (1997)의 보고와도 일치한다. TESE 정자의 움직임이 관찰되지 않거나 세정관 상태가 좋지 않은 경우 수정률이 저하되거나 동결-융해 후 결과가 좋지 않지만 본 연구에서는 TESE 직후 정자의 움직임이 관찰되지 않은 경우에도 1례에서 임신이 이루어졌으며 융해 후 정자 움직임이 없는 경우에도 4례가 임신되었으며 그 중 2례에서 임상적 임신이 진행중이다. 이는 극히 적은 수의 정자만으로도 ICSI가 가능하기 때문에 고환 정자의 동결-융해 후 ICSI와 병행은 정상적인 수정률을 얻을 수 있으며, 동결-융해 후 비록 움직임이 관찰되지 않더라도 정상 형태의 성숙 정자가 존재하면 정상적인 수정과 임신이 가능함을 알 수 있다. 그리고 융해 직후 정자의 움직임이 관찰되지 않았으나 3~5시간 체외 배양 후 움직임이나 운동성을 나타내는 경우도 있으므로 TESE 시행 여부는 융해 후 3시간 정도 경과 후 결정하는 것이 바람직하다 하겠다.

결론적으로 고환 정자의 동결-융해는 남성 불임 환자의 치료에 효과적인 대체방법이며 성공적인 임신에 도달할 수 있는 유용한 방법이나 융해 후 고환 정자의 생존력과 운동성 획득 및 지속 시간, 고환 정자와 세정관 동결에 적절한 조건과 동결보존액의 개발, 융해 후 발달단계의 정자세포 (spermatogenic cell)의 형태 변화 등에 관한 연구가 더 진행되어야겠다.

결 론

부고환에서 정자를 채취할 수 없거나 부고환에서 정자는 채취되었으나 활동성이 없어 체외수정에 부적합한 것으로 판단된 폐쇄성 무정자증 환자와 조직검사 소견상 정자성숙부전으로 인한 비폐쇄성 무정자증 환자에서 고환조직 정자채취술 (TESE)을 실시하여 세정관 혹은 고환내 정자를 동결-융해 후 생존력을 관찰하였고, ICSI를 시행하여 수정률과 임신율을 조사하였으며 그 결과는 아래와 같다.

1. 총 23례에서 동결-융해 후 고환 정자를 이용하여 ICSI를 시행하였다. 그 중 17례가 폐쇄성 무정자증이었으며 6례가 비폐쇄성 무정자증이었

다. 융해 후 정자의 움직임이 관찰된 경우는 총 15례 (65.2%)로, 폐쇄성 무정자증 13례 (76.5%)와 비폐쇄성 무정자증 2례 (33.3%)로 폐쇄성 무정자증에서 동결-융해 후 생존력이 현저하게 높았다.

2. 회수된 238개의 난자중 196개 (82.4%)의 난자에 ICSI를 시행하여 2개의 전핵이 확인된 수정된 난자는 125개 (63.8%)였다. 폐쇄성 무정자증과 비폐쇄성 무정자증의 수정률은 각각 67.6%와 53.7%로 폐쇄성 무정자증의 수정률이 현저하게 높은 것으로 나타났다. 수정란 이식은 전주기에서 시행하여 총 10례에서 임신이 확인되었으며 (43.5%), 폐쇄성 무정자증 7례 (41.2%)와 비폐쇄성 무정자증 3례 (50.0%)로 임신율에서는 차이가 없었다. 임상적 임신은 총 8례 (34.8%) 중 폐쇄성 무정자증 5례 (29.4%)와 비폐쇄성 무정자증 3례 (50.0%)에서 확인되었다.

3. TESE 실시 후 추출된 정자와 세정관을 분리하여 동결-융해하였다. 추출된 정자를 동결한 경우가 5례, 세정관을 동결한 경우가 18례였다. 융해 후 운동성 정자가 확인된 예는 추출 정자 3례 (60.0%)와 세정관 12례 (66.6%)로 두 군에서 차이가 없었다.

4. 융해 후 고환 정자를 이용한 ICSI에서 수정률은 추출 정자 69.4%와 세정관 62.5%를 나타내 추출 정자 융해군에서 수정률이 높은 것으로 관찰되었으나, 통계적으로 차이를 보이지 않았다. 또한 임신율에 있어서도 추출 정자 융해군이 (60.0%) 3례와 세정관 융해군이 (38.8%) 7례를 나타냈으나 임상적 임신율은 추출 정자 융해군이 (20.0%) 1례와 세정관 융해군이 (38.8%) 7례를 나타내었다

이상의 결과에서 고환 정자의 동결-융해는 TESE-ICSI를 시행 후 세정관 혹은 정자를 몇 부분으로 나누어 동결하여 임신에 실패하였을 경우 다음 주기에 다시 TESE를 시행하지 않고 융해 후 ICSI를 이용, 수정과 임신에 도달할 수 있으므로 효율적인 방법이라 하겠다.

인 용 문 헌

Allan JA, Cotman AS: A new method for freezing testicular biopsy sperm; three pregnancies with sperm extracted from cryopreserved sections of seminiferous tubule. *Fertil Steril* 1997, 68, 741-744.

Bourne H, Watkins W, Speirs A, Baker HWG: Pregnancies after intracytoplasmic injection of sperm collected by fine needle biopsy of the testis. *Fertil Steril* 1995, 64, 433-436.

Craft I, Tsirigotis M: Simplified recovery, preparation and cryopreservation of testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1995, 10, 1623-1627.

Devroey P, Liu J, Nagy A, Tournaye H, Silber SJ, Van Steirteghem AC: Normal fertilization of human oocytes after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1994, 62, 639-641.

Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, Van Steirteghem A, Silber S: Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 1995, 10, 1457-1460.

Fischer R, Baukloh V, Naether OGJ, Schulze W, Salzbrunn A, Benson DM: Pregnancy after intracytoplasmic sperm injection of spermatozoa extracted from frozen-thawed testicular biopsy. *Hum Reprod* 1996, 11, 2197-2199.

Gil-Salom M, Romero J, Minguez Y, Rubio C, De los Santos MJ, Remohi J, Pellicer A: Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1996, 11, 1309-1313.

Gottschalk-Sabag S, Weiss DB: Is one testicular specimen suffficient for quantitative evaluation of spermatogenesis. *Fertil Steril* 1995, 64, 399-402.

전진현, 김정욱, 박용석, 이호준, 서주태, 이유식, 손일표, 전종영: 고환조직 정자채취술의 정자 상태에 따른 세포질내 정자 주입술의 수정률과 임신율. 대한불임학회잡지 1995, 22, 149-153.

Kessaris DN, Wasserman P: Histopathological and cytopathological correlations of percutaneous testis biopsy and open testis biopsy in infertile men. *J Uro* 1995, 153, 1151-1155.

이호준, 김정욱, 변혜경, 전진현, 손일표, 전종영: 인간의 체외수정배아이식술에서 보조부화술이 임신율에 미치는 영향에 관한 연구. 대한불임학회잡지 1995, 22, 183-189.

Mallidis C, Baker HWG: Fine nedle tissue as-

piration biopsy of the testis. *Fertil Steril* 1994, 61, 367-375.

Nagy Z, Liu J: Using ejaculated, fresh, and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoon gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1995, 63, 808-815.

Oates RD, Mulhall J, Burgess C, Cummingham 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, 734-739.

박용석, 전진현, 변혜경, 김종현, 서주태, 이유식, 손일표, 강인수, 이호준: 고환조직 정자채취술과 세포질내 정자주입술을 이용한 고환조직 정자의 수정률과 임신율. 대한불임학회잡지 1997, 24, 101-109.

Romero J, Remohi J, Minguez Y, Rubio C, Pellier A, Gil-Salom M: Fertilization after intracytoplasmic sperm injection with cryopreserved testicular spermatozoa. *Fertil Steril* 1996, 65, 877-879.

Salzbrunn A, Benson D, Holstein A, Schulze W: A new concept for the extraction of testicular spermatozoa as a tool for assisted fertilization (ICSI). *Hum Reprod* 1996, 11, 752-755.

Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal-Bertin G, Geerts L, Van Roosendaal E, Schoysman D: Pregnancy after fertilization with human testicular spermatozoa. *Lancet* 1993, 342, 1237.

Silber SJ, Nagy Z, Liu J, Godoy H, Devroey P, Van Steirteghem AC: The use of epididymal and testicular spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection; the genetic implication for male infertility. *Hum Reprod* 1995a, 10, 2031-2043.

Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P: High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with sperm obtained from testicle biopsy. *Hum Reprod* 1995b, 10, 148-152.

Silber SJ, Van Steirteghem AC, Nagy Z, Liu J, Tournaye H, Devroey P: Normal pregnancies resulting from testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection for azoospermia due to maturation arrest. *Fertil Steril* 1996, 66, 110-117.

Verheyen G, Pletinex I, Van Steirteghem A: Effect of freezing method, thawing temperature and post-thaw dilution/washing on motility (CASA) and morphology characteristics of high-quality human sperm. *Hum Reprod* 1993, 8, 1678-1684.

Verheyen G, Nagy Z, Joris H, Croo ID, Tournaye H, Van Steirteghem A: Quality of frozen-thawed testicular sperm and its preclinical use for intracytoplasmic sperm injection into in vitro matured germinal vesicle stage oocytes. *Fertil Steril* 1997, 67, 74-80.