

非閉塞性無精子症に対する 精巣内精子採取法 (TESE) の臨床成績 —顕微鏡下精巣内精子採取法 (Microdissection TESE) の経験—

倉敷中央病院泌尿器科 (部長 : 荒井陽一)

大久保和俊^{*1}, 小倉 啓司^{*2}, 市岡健太郎, 寺田 直樹
松田 陽介^{*3}, 吉村 耕治, 荒井 陽一^{*4}

倉敷中央病院産婦人科

本田 徹郎, 梅岡弘一郎, 中堀 隆, 高橋 晃

小野レディースクリニック

馬 岡 陽

TESTICULAR SPERM EXTRACTION FOR NON-OBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA: RESULTS WITH CONVENTIONAL AND MICROSURGICAL TECHNIQUES

Kazutoshi OKUBO, Keiji OGURA, Kentaro ICHIOKA, Naoki TERADA,
Yosuke MATSUTA, Koji YOSHIMURA and Yoichi ARAI
From the Department of Urology, Kurashiki Central Hospital

Tetsuro HONDA, Kouichiro UMEOKA, Takashi NAKAHORI and Akira TAKAHASHI
From the Department of Obstetrics and Gynecology, Kurashiki Central Hospital

You UMAOKA
From Ono Ladies' Clinic

Testicular sperm extraction (TESE) was performed on patients with non-obstructive azoospermia using the conventional or microdissection technique. First, conventional TESE was attempted on all patients. If the sperm was retrieved successfully, the TESE procedure was terminated. Microdissection TESE was indicated only for patients for whom the conventional sperm retrieval was unsuccessful.

Sperm was successfully retrieved with conventional TESE from four (24%) of 17 patients with non-obstructive azoospermia. The remaining 13 patients underwent microdissection TESE and sperm was successfully retrieved from four of them. Application of the microdissection technique resulted in an improvement in sperm retrieval rates from 24% with conventional TESE to 48% when combined with the microdissection technique. None of the patients showed any acute or chronic complications after TESE. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was performed on five of the eight patients with successful sperm retrieval and the partner of four of these patients became pregnant and progressed to delivery. These results indicate the usefulness of microdissection for improving the sperm retrieval rate in men with non-obstructive azoospermia.

(Acta Urol. Jpn. 48 : 275-280, 2002)

Key words: Microdissection, Testicular sperm extraction, Non-obstructive azoospermia

緒 言

補助生殖技術 (ART) の発達, とくに卵細胞質内精子注入法 (ICSI) の開発以降非閉塞性無精子症に対する精巣内精子採取法 (TESE) の有用性はほぼ確立されつつある。同時に手術手技の選択と精子回収率, 精子回収の可否の予測^{1,2)}, 精巣への侵襲^{3,4)} など新たな

^{*1} 現 : 京都大学大学院医学研究科泌尿器病態学講座

^{*2} 現 : 浜松労災病院泌尿器科部長

^{*3} 現 : 福井医科大学泌尿器科

^{*4} 現 : 東北大学大学院医学系研究科医科学専攻泌尿生殖器講座泌尿器科学

問題点も浮上してきている。

近年、非閉塞性無精子症に対する TESE の新しい術式として、Microdissection TESE (以下 MD-TESE) が注目されている^{5,6)} 同法は、太い精細管は造精機能が保たれているという考えに基づき、精細管を手術用顕微鏡で観察しながら太い精細管を選んで TESE に供するというもので、従来の TESE よりも高い精子回収率が報告されている。われわれは1999年からこの手技を用いた TESE を行い報告してきた⁷⁾ 本稿では開放切除による組織採取 (以下 conventional TESE, c-TESE) と手術用顕微鏡を用いて行う Microdissection TESE (以下 MD-TESE) の2種類の方法を用いた TESE の臨床成績を検討し報告する。

対 象 と 方 法

1. 対象患者

1999年5月より2001年2月までに当院で非閉塞性無精子症と診断し、挙児を希望して TESE を行った17例を対象とした。年齢は 31.0 ± 6.0 歳、FSH は 27.1 ± 18.3 mIU/ml (ともに mean $\pm$ SD)。背景疾患とし

て染色体異常を3例含む (Table 1)。症例10は、染色体検査では45,XO/46,X,r(Y) (p11q11) のモザイクであったが、身体所見からは完全男性型の表現型を示していた。症例13および症例14はともに脊髄損傷後の射精障害であるが、精巣上体精子回収術 (MESA) で精子を得ることができなかったため TESE を行っている。症例16は右精巣腫瘍 (T2N0M0) で受診したが、このとき新婚で挙児希望があったため精液検査を行ったところ無精子症であった。右精巣摘除と同時に施行した左精巣生検で carcinoma in situ を認めた。左精巣への放射線治療を行う前に十分なインフォームドコンセントのもとに TESE を行った。

2. 非閉塞性無精子症の診断

非閉塞性無精子症の診断は、遠心を含めた複数回の精液検査で完全な無精子症であり、かつ、閉塞性無精子症の背景となりうる疾患 (先天性精管欠損、精巣上体炎、そけいヘルニア根治術や精管結紮術などの既往のあるもの) をもつ症例を除外することにより行った⁸⁾ また MESA で精子がえられた症例も検討から除外した。TESE に先立っての診断的精巣生検は原則として行っていない。

Table 1. Patient characteristics and outcome of TESE-ICSI

Pts.	Age	Background	FSH (mIU/ml)	Testicular volume (ml)	TESE technique	Enlarged tubules	JSC	TESE findings	Fertilization rate (%)	Clinical pre- gnancy
1	44	Hx of varicocele	28.7	10	Microdissection	Yes	3.5	Normal sperm	60	No
2	44	Klinefelter syndrome	67.9	5	Microdissection	No	0	No sperm	—	—
3	34		29.5	8	Microdissection	No	3.0	Sperm with no tail	33	No
4	33	Hx of bilateral orchiopexy	27.3	10	Microdissection	Yes	5.2	Normal sperm	90	Yes
5	28		30.8	8	Microdissection	No	2.0	Sperm with no tail	53	No
6	37		57.3	6	Microdissection	Yes	3.6	Normal sperm	82	Yes
7	35	Klinefelter syndrome	27.1	4	Microdissection	Yes	2.0	No sperm	—	—
8	32		18.9	12	Microdissection	No	2.5	Sperm with no tail	57	No
9	30		16.7	14	Microdissection	No	2.0	Sperm with no tail	26	No
10	31	Sex chromosome abnormality*	5.9	16	Microdissection	Yes	3.5	No sperm	—	—
11	39		31.4	6	Microdissection	Yes	5.0	No sperm	—	—
12	28	Hx of EGGCT	17.3	12	Microdissection	Yes	2.0	No sperm	—	—
13	26	Anejaculation due to spinal cord injury	3.3	20	Microdissection	Yes	3.5	Normal sperm	(Waiting for ICSI)	—
14	27	Anejaculation due to spinal cord injury	5.1	14	Conventional	—	7.7	Normal sperm	67	Yes
15	28		31.5	10	Conventional	—	3.0	Normal sperm	50	Yes
16	31	Bilateral simultaneous testicular cancer	2.4	N/A	Conventional	—	N/A	Normal sperm	(Waiting for ICSI)	—
17	23	Hx of varicocele	3.9	24	Conventional	—	8.4	Normal sperm	(Waiting for ICSI)	—

JSC: Johnsen score count, Hx: history, EGGCT: extragonadal germ cell tumor, N/A: not available, * 45, XO/46, X, r(Y) (p11q11)

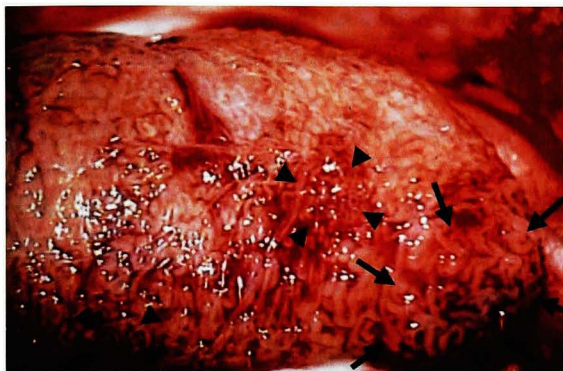


Fig. 1. Intraoperative view of testicular parenchyma during attempted microdissection testicular sperm extraction. Arrows indicate enlarged tubules containing normal sperm. Arrowheads indicate thin tubules without sperm production.

3. TESE の手技と術式の選択

TESE を行うにあたり, 精巣の開放切除による組織採取 (以下 conventional TESE, c-TESE) と手術用顕微鏡を用いて行う Microdissection TESE (以下 MD-TESE) の2種類の方法を用いた。MD-TESE を行うのは c-TESE で精子を認めない症例のみとした。すなわち, まず, 全例に c-TESE を行いその場で圧搾し検鏡, 精子の有無を検索する。そして精子を認めた場合は c-TESE のみで終了, 精子を認めない場合はその場でただちに MD-TESE に移行する, とした。

c-TESE は通常の精巣生検とほぼ同じ手技で行っている⁹⁾。また陰嚢皮膚に2ないし3 cm の小切開を加え, 精巣白膜を露出させる。精巣白膜を一カ所切開し約5 mm 角大の精巣実質を切除した。

MD-TESE は1999年の Schlegel の報告に準じて行った⁶⁾。まず c-TESE の陰嚢皮膚切開創を延長し精巣を脱転させる。さらに c-TESE の白膜切開線を延長し, 顕微鏡下で筋巣実質を観察する (Fig. 1)。顕微鏡の倍率は6倍から25倍で行った。より太くて白い精細管を探して TESE に供した。同時に TESE に供した組織のすぐ近傍の組織を組織学的検査に提出した。麻酔は2例を除いて局所麻酔 (陰嚢皮膚と精索への浸潤麻酔) で行った。小さい精巣では長軸方向に切開した。大きい精巣では赤道方向に, 必要に応じて複数の切開線をおいた。ともに白膜下にすくめてみえる血管をできるだけ損傷しないように切開線をデザインした。

得られた精巣組織は, ただちに少量の培養液を加え挫滅し, 検鏡にて精子の有無を検索した。精子が存在した場合には, ICSI を行うのに十分な数の精子を得た時点で終了とした。精子が存在しない場合は別の部位を TESE に供した。太い精細管が見つからずこれ以上続けても精子を得ることができないと判断した時

点で終了とした。精子が得られ ART を行う場合には全例 ICSI を行った。同時に妻の採卵を行っている場合はただちに精子を ICSI に供した。妻の採卵を行っていない場合は, 得られた精子は凍結し, のちの妻の採卵日に融解して ICSI に供した。

4. 解析

正常精子回収の可否を予測する因子として, Johnsen score count (以下 JSC)¹⁰⁾, 男性の年齢, 精巣容積, FSH 値, テストステロン値について解析を行った。正常精子が回収できた群と正常精子が回収できなかった群との間でこれらの臨床パラメータに差があるかどうかを Student's t-test を用いて検定した。統計解析ソフトは Stat-View 5.0 を用いた。

結 果

17例中4例 (24%) は c-TESE で精子が得られ, MD-TESE を必要としなかった。これら4例のうち2例で ICSI を行い, 妊娠から正常分娩にいたっている。なお症例17は閉塞性無精子症を示唆する身体所見や既往歴がなかったため TESE を行った。しかし c-TESE にて精子が得られ, 同時に行った組織学的検査でも造精機能は保たれていたため, c-TESE で得られた精子を凍結し, 後日精路再建術を行い経過観察中である。

13例 (76%) は c-TESE で精子が得られず MD-TESE に移行, このうち4例において精子が得られた。すなわち MD-TESE の導入により精子回収率は4例 (24%) から8例 (48%) に改善したことになる。残りの9例は MD-TESE でも精子が得られなかったが, そのうちの4例において尾部欠損精子と考えられる細胞 (以下尾部欠損精子) が得られた。なお尾部欠損精子かどうかはその大きさや形態から判断している。これらの尾部欠損精子のみが得られた4例, および精子が得られた4例の計8例のうち, 7例に ICSI を行った。卵あたりの受精率は尾部欠損精子で26%から57%, 一方精子が得られた症例では50%から90%であり, 尾部欠損精子で低い傾向にあった。正常精子が得られた2例で妊娠から正常分娩にいたっている (Table 1)。尾部欠損精子しかえられなかった4例では妊娠は得られなかった。また3例の染色体異常では精子も尾部欠損精子も得られなかった。

MD-TESE に移行した14例中9例において太い精細管の同定が可能であった。そのうち5例 (56%) で正常精子が得られた。一方 MD-TESE に移行した14例中5例で太い精細管の同定が不可能であった。この5例のうち4例でかろうじて尾部欠損精子を得ることができたものの, 精子をえることはできなかった。また3例の染色体異常では精子は得られなかった。

MD-TESE を要した症例の平均手術時間は117分。

Table 2. Reports on TESE for non-obstructive azoospermia

Authors	n	Technique of TESE	Rate of sperm retrieval (%)
Friendler et al. (1997)	37	Fine needle aspiration	11
Ezeh et al. (1998)	35	Needle	14
Ezeh et al. (1998)	35	Open (Single)	63
Schlegel et al. (1999)	22	Open (Single)	45
Amer et al. (2000)	100	Open (Single)	39
Chen et al. (1996)	41	Open (Multiple)	17.1
Tournaye (1996)	114	Open (Multiple)	91.9
Friendler et al. (1997)	37	Open (Multiple)	43
Ostad et al. (1998)	81	Open (Multiple)	58
Hauser et al. (1998)	39	Open (Multiple)	50.9
Kitamura et al. (2000)	44	Open (Multiple), Needle	72.7
Schlegel et al. (1999)	27	Microdissection	63
Amer et al. (2000)	100	Microdissection	47
Present study (2001)	17	Open (Single)	24
Present study (2001)	17	Microdissection	48

Needle, Needle biopsy; Open, Open biopsy

全例で合併症はなかった。局所麻酔で行った11例ではすべて外来手術で行うことができた。術後の疼痛は鎮痛剤の経口でコントロールでき、入院に要した症例はなかった。c-TESEのみで精子が得られた症例はすべて30分以内で手術を終えることができた。また術後の疼痛は軽度で合併症もなかった。

正常精子が回収できた群と正常精子が回収できなかった群との間で、JSC、男性の年齢、精巣容積、FSHおよびテストステロン値に差がみられるかどうか Student's t-test を用いて検定した。その結果 JSC が高いほど正常精子を回収できる ($p=0.0130$) 傾向にあった。男性の年齢、精巣容積、FSH、テストステロン値については有意差は認められなかった。

症 例 報 告

33歳、男性。無精子症で当院婦人科より紹介。両側停留精巣で10歳時に精巣固定術を行っている。精巣容積は左 10 ml、右 6 ml、FSH は 27.3 IU/ml と高値であった。非閉塞性無精子症と診断し、TESE を行った。c-TESE で精子が得られず、その場でただちに MD-TESE に移行した。太い精細管の集合した部分が認められ、同部を TESE に供したところ運動精子が得られた。試しに細い精細管を TESE に供するも精子は得られなかった (Fig. 1)。

考 察

TESE は1993年にはじめて閉塞性無精子症において報告された¹¹⁾ さらに1994年には、造精機能そのものに障害のある非閉塞性無精子症に対しても有効であることが示された¹²⁾ 以後多くの報告によりその有用性は確立されつつあるが、同時に手術手技の選択、精子回収率、精巣への侵襲、精子回収の可否の予

測など新たな問題点も浮上してきている。手術手技に関しては多くのものが報告されており^{1,5,6,8,13-17)}、また、その成績も報告により様々である (Table 2)。現在のところ Friendler ら¹³⁾、Ezeh ら¹⁴⁾ の比較検討から Fine needle aspiration (FNA) や Needle biopsy よりも open biopsy が精子回収率において優れているとされている。さらに open biopsy のなかでも single より multiple がよりよい精子回収率であるとされている¹⁵⁾

1999年に Schlegel らによってはじめて報告された Microdissection 法は精子回収率がより高い方法として注目されている⁵⁾ 彼らによると同法は、太くて白い精細管は造精機能が保たれているという考えにもとづいており、手術用顕微鏡を用いて太い精細管をねらって TESE に供するとしている。彼らは27例の Microdissection TESE のうちの17例 (63%) に精子を得ており、これは Microdissection 法の導入以前に行っていた c-TESE 22例での精子回収率 (45%) と比べ有意に改善していたと述べている。

また Amer らは左右精巣が病理組織学的に同じ条件である非閉塞性無精子症患者100例に、片側には c-TESE を、反対側には MD-TESE を行い、その精子回収率における有用性を検討している⁶⁾ それによると、c-TESE を行った側では30%の精子回収率であったのに対し、MD-TESE を行った側では47%と有意に高い精子回収率であった。自験例では非閉塞性無精子症に、まず開放単部位切除による TESE (c-TESE) を行い精子が得られなかった症例にのみ MD-TESE を行うというプロトコルで TESE を行った。これら17例の解析では、MD-TESE を導入したことで精子回収率は24%から48%に改善したことになり、Schlegel ら、Amer らの報告とくらべて遜色のない結果

であった。

現在広く行われている Multiple TESE は、大量の精巣組織が摘出される上、術後の血行障害から長期的には男性ホルモン産生能も含めた精巣機能の障害を生じる可能性があり、精巣に対する侵襲が大きいことが問題となっている^{3,4)} MD-TESE は精子回収率が高いだけでなく精巣にあたる侵襲も少ないとされている^{5,6)} Schlegel らによれば、MD-TESE では必要となる精巣組織の切除重量が c-TESE の約70分の1と著明に少なかったため精巣にあたる侵襲も少ないと予想している⁵⁾ また Amer らはカラードップラーエコーを用いてその侵襲の少なさを証明している⁶⁾ 彼らは左右精巣が病理組織学的に同じ条件である非閉塞性無精子症患者100例に、片側には c-TESE を、反対側には MD-TESE を行い、必要な切除重量だけでなくカラードップラーエコーによる術後の精巣内血腫も評価した。その結果 MD-TESE を行った側において少ない切除重量で高い精子回収率を得ることができたとしている。また術後3カ月の時点では MD-TESE を行った側が有為に精巣内血腫が少なく、MD-TESE のほうが精巣実質障害が少なく安全であると結論づけている。われわれの経験でも合併症はなく、また経過観察できた範囲において術前よりも精巣の萎縮が増強した症例、あるいはテストステロン値が低下傾向を示した症例はなかった。以上より、MD-TESE は今後精巣への侵襲を軽減する方法としても注目され用いられるであろう。

前述したように、MD-TESE は「太くて白い精細管は造精機能が保たれている」という考えに基づいた手技であるが、実際に精細管の太さと精子の有無についてどの程度の相関があるかは明確にされていない。Schlegel らの報告では太い精細管は全体の56%に認められたとだけ述べてあるのみである⁵⁾。また Amer らは精子が得られた症例については精細管の太さと精子の有無が検討されているが、精子が得られなかった症例についての検討はなされていない⁶⁾ われわれの経験では、MD-TESE で太い精細管の同定が可能であった8例のうち4例(50%)で正常精子が得られた。一方、太い精細管の同定が不可能であった5例からは正常精子は得られなかった(0%)。このことから太い精細管が同定できる場合は正常精子が得られる可能性が高く、逆に太い精細管が同定できない場合は正常精子が得られる可能性が非常に低いと考えられた。以上より精細管の太さは精子回収の可否を予想するのに大変参考となる所見であると考えられる。今後は症例数を増やして精細管の太さと精子の有無との相関を検討する必要があるだろう。また、精細管が太いかどうかの判断はきわめて主観的なものなので、太さを客観的に判定できるように工夫することも今後の重要な

課題であると思われる。

その他、切除精巣重量が少ないので、圧挫した組織中から精子をさがす労力が軽減されるという指摘もあり、このことも長所のひとつであろう⁵⁾

一方、MD-TESE の短所として、c-TESE に比べて手技そのものに時間がかかることが指摘されている⁶⁾ しかし c-TESE でも、精子が得られない症例においては患者の強い希望や医療側の熱意で長時間にわたって切除と検鏡を繰り返すことも実際によく経験する。むしろ MD-TESE では、小さい精巣であれば短期間の dissection ですべての精細管を一望のもとに観察できるため⁵⁾、太い精細管が同定できない場合や精細管構造そのものが見当たらない場合などは早い段階で手術を切り上げることもできるようになった。すなわち、症例によっては、患者や医療側の十分な納得のもとに短時間で手術を終え侵襲を軽減できる。われわれはこのことも同法のメリットと考えている。

TESE による精子回収の可否の予測は、TESE の適応の決定において非常に重要である。今回のわれわれの検討では正常精子回収の可否を予測しうる因子は術中に採取した組織による JSC のみであった。精巣容積、FSH などの術前から判明している因子では予測不可能であった。文献的には、精子回収の可否を予測しうる因子としては、精巣容積、JSC を含む組織学的検査、FSH^{1,2,8)}、さらに最近では Inhibin B¹⁸⁾ の有用性が報じられている。しかし、術前に TESE の適応を決定できるほどの絶対的指標となるものは報告されていない。JSC を例にとると、JSC が6から7.9まででは精子回収率は90%、3から5.9まででは40%、しかし2.9以下では62%と回収率が上昇するという報告もある²⁾ 以上より現段階ではすべての非閉塞性無精子症に TESE の適応があるといっても過言ではない⁸⁾

最後に TESE によって非閉塞性無精子症でも挙児が得られるようになり、次世代に無精子症の責任遺伝子が伝わる可能性も危惧されている¹⁹⁾ 今後術前後に遺伝相談を含めた十分な説明が必要と思われる。

結 語

非閉塞性無精子症17例に対する、c-TESE と MD-TESE の2種類の方法を用いた TESE の臨床成績を検討した。c-TESE のみで精子が回収できたのは24%であった。MD-TESE の導入により精子回収率は24%から48%に向上したことになり、MD-TESE により効率よく精子回収を行える可能性がある。術前に正常精子回収の可否を術後に予測するのは困難であると思われた。MD-TESE の際に観察される精細管の太さは精子回収の可否を予想するのに参考となる可能性がある。

本研究にあたりご協力いただきました倉敷中央病院臨床検査科 高橋 司, 磯崎八重子両氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Tournaye H, Liu J, Nagy PZ, et al.: Correlation between testicular histology and outcome after intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa. *Hum Reprod* **11**: 127-132, 1996
- 2) Ezeh UI, Moore HD and Cooke ID: Correlation of testicular sperm extraction with morphological biophysical and endocrine profiles in men with azoospermia due to primary gonadal failure. *Hum Reprod* **13**: 3066-3074, 1998
- 3) Ron-El R, Strassburger D, Friedler S, et al.: Extended sperm preparation: an alternative to testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* **12**: 1222-1226, 1997
- 4) Manning M, Junemann K, and Alken P: Decrease in testosterone blood concentrations after testicular sperm extraction for intracytoplasmic sperm injection in azoospermic men. *Lancet* **4**: 37, 1998
- 5) Schlegel PN: Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod* **14**: 131-135, 1999
- 6) Amer M, Ateyah A, Hany R, et al.: Prospective comparative study between microsurgical and conventional testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia: follow-up by serial ultrasound examinations. *Hum Reprod* **15**: 653-656, 2000
- 7) 大久保和俊, 小倉啓司, 市岡健太郎, ほか: 非閉塞性無精子症に対する顕微鏡下精巣内精子採取法 (Microdissection TESE) の経験. *Video Journal of JUA* **6**: 12, 2000
- 8) 北村雅哉, 西村憲二, 三浦秀信, ほか: 非閉塞性無精子症に対する TESE (testicular sperm extraction)-ICSI (intracytoplasmic sperm injection) の予測因子の検討. *日泌尿会誌* **91**: 589-594, 2000
- 9) Goldstein M: Surgical management of male infertility and other scrotal disorders. In: *Campbell's Urology*. Edited by Walsh PC, Retik AB, Vaughan Jr ED, et al.: pp 1332-1336, WB Saunders Company, Philadelphia, 1998
- 10) Johnsen SG: Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* **1**: 2-25, 1970
- 11) Schoysman R, Vanderwalmen P, Nijs M, et al.: Pregnancy after fertilization of human testicular sperm. *Lancet* **342**: 1237, 1993
- 12) Hauser R, Temple-Smith PD, Southwick GJ, et al.: Fertility in cases of hypergonadotrophic azoospermia. *Fertil Steril* **63**: 631-636, 1994
- 13) Friedler S, Raziel A, Strassburger D, et al.: Testicular sperm retrieval by percutaneous fine needle sperm aspiration compared with testicular sperm extraction by open biopsy in men non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* **12**: 1488-1493, 1997
- 14) Ezeh UI, Moore HD and Cooke ID: A prospective study of multiple needle biopsies versus a single open biopsy for testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* **13**: 3075-3080, 1998
- 15) Hauser R, Botchan A, Amit A, et al.: Multiple testicular sampling in non-obstructive azoospermia; is it necessary? *Hum Reprod* **13**: 3081-3085, 1998
- 16) Ostad M, Liotta D, Ye Z, et al.: Testicular sperm extraction for nonobstructive azoospermia: results of multibiopsy approach with optimized tissue dispersion. *Urology* **52**: 692-696, 1998
- 17) Chen CS, Chu SH, Lay YM, et al.: Reconstruction of testicular biopsy and follicle stimulating hormone measurement in the era of intracytoplasmic sperm injection for non-obstructive azoospermia? *Hum Reprod* **11**: 2176-2179, 1996
- 18) Ballesca JL, Balasch J, Calafell JM, et al.: Serum inhibin B determination is predictive of successful testicular sperm extraction in men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* **15**: 1734-1738, 2000
- 19) Kleiman SE, Yegorov L, Gamzu R, et al.: Three-generation evaluation of Y-chromosome micro-deletion. *J Androl* **20**: 394-398, 1999

(Received on November 12, 2001)
(Accepted on December 28, 2001)