

综 述

肿瘤患者卵巢储备功能受损机制及保护并促进生育力的研究进展

李 星综述, 苏亦平审校

【摘要】 由于青少年和年轻女性肿瘤患者的长期生存率提高,人们越来越关注肿瘤治疗后对卵巢功能及生育的影响。女性肿瘤患者可能就其生育状况寻求建议和治疗,包括如何保护卵巢储备功能及预防卵巢早衰,这可能对其今后的生存质量和心理健康产生深远影响。文章就化疗对卵巢储备功能的损伤机制及现阶段保护卵巢功能的策略和研究进展进行综述。

【关键词】 肿瘤;化疗;卵巢储备功能;卵巢组织冻存;促性腺激素释放激素激动剂;干细胞

【中图分类号】 R737.31 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2020)01-0060-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.01.014

Research progress on ovarian reserve impairment and the preservation and promotion of fertility in tumor patients

LI Xing reviewing, SU Yi-ping checking

(Department of Gynecology, Obstetrics and Gynecology Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210004, Jiangsu, China)

【Abstract】 As the long-term survival rate of adolescent and young female cancer patients increases, more and more attention is given to ovarian function and fertility after tumor treatment. Female cancer patients may seek advice and treatment on their fertility status, including ways to protect ovarian reserve function and prevent premature ovarian failure, which may have a profound impact on their quality of life and mental health in the future. This article reviews the damage mechanism of chemotherapy on ovarian reserve function and the strategies and research progress of protecting ovarian function at present.

【Key words】 tumor; chemotherapy; ovarian reserve function; ovarian tissue cryopreservation; gonadotropin-releasing hormone agonist; stem cells

0 引 言

2018 年全球新增癌症患者 1810 万例,其中女性癌症患者 860 万例,发病率亚洲占 47.5%,死亡率超 50%,15 至 44 岁女性患者超过 127 万,而乳腺癌发病率最高 24.2%,宫颈癌发病率 6.6%,卵巢癌发病率 3.4%^[1]。在过去的二十年里,癌症治疗技术的进步

使年轻癌症患者的存活率显著提高。然而,目前的癌症治疗技术,尤其是化疗和盆腔放疗,对生殖功能有不利影响。Selter 等^[2]对美国 2009–2016 年间接受手术和化疗的 18 781 例女性癌症患者进行了是否接受生育保存及咨询服务的统计,结果显示 31.7% 的人接受了保留生育能力的测评,保育率从 2009 年的 1.0% 上升到 2016 年的 5.5%。可见虽然目前接受保育措施的人较少,但在逐年增加,表明生殖服务正开始成为育龄妇女肿瘤治疗的一个更重要的方面。美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)建议肿瘤专家在诊断后不久即需要与年轻女性患者讨论治疗后不孕的风险

基金项目:国家自然科学基金(81871138)

作者单位:210004 南京,南京医科大学附属妇产医院(南京市妇幼保健院)妇科(李 星、苏亦平)

通信作者:苏亦平, E-mail: suyiping_js@hotmail.com

与保留生育功能的选择方法^[3]。年轻癌症患者的卵巢功能受损可导致为卵巢早衰,引起绝经期症状,如潮热出汗、情绪不稳、泌尿生殖器萎缩、失眠、阴道干涩、骨质疏松等。卵巢储备功能受损导致生殖功能下降和不孕,使患者身心健康受损发生家庭社会矛盾冲突。因此,肿瘤患者生育能力的保护及恢复一直受到业界广泛关注,全世界正在努力建立肿瘤患者的生育力保护方案。

1 化疗药物对卵巢功能的损伤机制

卵巢储备功能是指卵巢原始卵泡被激活后生长、发育、产生成熟的可受精卵母细胞的能力,代表女性生育水平。临床上常用卵泡刺激素、雌二醇、抗苗勒管激素、卵巢体积及窦卵泡计数等来评估卵巢储备功能。放化疗是造成肿瘤患者卵巢储备功能受损的最主要原因,而化疗药物引起卵巢损伤的相关机制至今尚未被充分揭示。细胞毒性化疗药物按作用方式主要分为七大类:烷化剂、铂类衍生物、蒽环类抗生素、植物生物碱、抗代谢物、紫杉烷类和生物制剂。烷化剂的活性代谢产物与 DNA 交联,抑制 DNA 的合成和功能。铂衍生物共价结合 DNA 形成链内和链间交联,导致 DNA 在复制过程中断裂。蒽环类抗生素干扰 DNA 转录,抑制拓扑异构酶 II 及产生氧自由基导致 DNA 断裂。抗代谢物直接抑制 DNA、RNA 的合成。生物碱和紫杉烷类在有丝分裂中抑制微管蛋白聚合并破坏微管蛋白组装,干扰细胞有丝分裂。最终结果表现为原始卵泡被诱导激活、成熟卵母细胞凋亡以及对支持细胞(卵泡膜细胞和颗粒细胞)的损伤。

2 保护策略

2.1 药物 促性腺激素释放激素激动剂(gonadotropin-releasing hormone agonist, GnRH-a)较自然的 GnRH 分子拥有更高的受体亲和力和更低的酶降解能力,从而竞争性抑制 GnRH 的生物活性。多项临床试验和荟萃分析表明,绝经前期妇女在接受化疗期间使用 GnRH-a 进行卵巢功能抑制,与未接受化疗的患者相比,发生卵巢衰竭的可能性更小,月经恢复的几率也更高^[4,5]。然而,多项其他研究未能证实这些发现,如 2011 年的一项前瞻性随机试验中将 60 例年龄<46 岁且激素不敏感乳腺癌患者随机分配为接受蒽环类/环磷酰胺(有或无紫杉烷)新辅助化疗,有或无戈舍瑞林组。结果显示与仅接受化疗的患者比较,接受戈舍瑞林同时接受现代新辅助化疗

的绝经前乳腺癌患者在化疗结束后 6 个月闭经率并未明显下降^[6]。GnRH-a 理论上可能影响化疗对雌激素敏感性肿瘤的疗效,然而,这种对化疗的负面影响尚未得到证实。化疗期间使用卵巢抑制来保护卵巢功能的原理也尚不清楚,化疗前应用 GnRH 对于卵巢功能的保护效果至今仍有争议。因此,ASCO 最新更新的指南建议,GnRH 激动剂只在无法应用已证实具有生育能力保护的方法的年轻乳腺癌患者中使用^[7]。

免疫调节剂 AS101 抑制 PI3K/PTEN/Akt 信号通路,雷帕霉素抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路^[8],均可减少原始卵泡的活化,从而降低环磷酰胺对卵巢储备功能的损害^[9]。神经酰胺-1-磷酸抑制卵泡发育和凋亡减少环磷酰胺诱导的卵巢损伤^[10]。抑制糖原合成酶激酶-3 调节氧化应激减少多柔比星诱导的促性腺毒性^[11]。褪黑素抑制 PTEN/AKT/FOXO3a 信号通路中的磷酸化反应减少顺铂诱导的卵泡丢失^[12]。鞘氨醇-1-磷酸通过鞘磷脂途径抑制细胞凋亡减少卵泡丢失^[13]。这些抑制活化和凋亡的药物是否会对化疗效果造成干扰,以及这些幸存下来的卵泡携带的基因是否正常有待进一步研究。

此外,有研究表明褪黑素能减少射线对大鼠卵巢功能的损伤,其机制可能与褪黑素抑制射线诱导的 Caspase3 激活有关^[14]。

2.2 干细胞移植 干细胞一直是一个研究热点,包括胚胎干细胞和成体干细胞。成体干细胞是一种存在于已分化组织中的未分化细胞,广泛存在于脑、骨髓、外周血、皮肤、肝及生殖腺等。其中原始生殖细胞(primordial germ cells,PGCs)、卵原干细胞(oogonial stem cells,OSCs)、微小胚胎样干细胞(very small embryonic-like stem cells,VSELs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells,IPSCs)在卵巢功能和生殖能力方面的研究较有代表性。

PGCs 在发育过程中随性腺移行,被认为也迁移到所有发育器官,并在各成年器官中存活,作为组织干细胞的后备池。诸多研究表明提供合适的生长因子混合物时,体外分离的雌性和雄性性腺 PGCs 均能进入第一次减数分裂前期,将减数分裂前期的雌性 PGCs 与卵巢体细胞聚集重建卵巢,移植到同基因宿主的肾包膜或卵巢皮质中,能够形成前腔和前腔滤泡,发育成减数分裂能力强甚至可受精的卵母细胞^[15]。受孕后 2 个月人 PGCs 分化为卵母细胞,受孕后 6 个月开始形成原始卵泡,因此成人卵巢中无 PGCs。目前,从胚胎或脐带中提取含有

PGCs 的组织进行体内移植,或将 PGCs 体外培育后移植回青春前期患者的性腺中,是比较有希望产生成熟卵子的方法^[16]。胚胎干细胞的分离提取需要破坏人类胚胎,因而受到伦理限制。脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, HuMSCs)因其来源于分娩后的脐带而避免了这一局限,并且具有原材料数量多,洁净度高,体外易分离培养,免疫原性低,利于异体移植,高分化潜能等优点。因此, HuMSCs 在临床上具有更广泛的应用前景。

因为新生儿卵巢中估计的卵母细胞数量远多于成人排卵卵母细胞和闭锁卵泡的数量之和,有人猜测卵巢中存在增殖性生殖细胞,在过去的二十年中, OSCs 在成人卵巢中的存在一直是一个有争议的话题。越来越多的研究发现了在 小鼠、大鼠、牛、和成人的卵巢中 OSCs 的存在^[17],但诱导分化 OSCs 的机制尚不明确,也无证据表明生理条件下 OSCs 对原始卵泡池有贡献。

因为分子量小,长期处于静止状态,不易被观察者发现等原因, VSELs 自提出后其存在至今仍有争议。 VSELs 被认为是最原始的干细胞,普遍存在于成人所有器官中,因其在表观遗传学和发育上更成熟, VSELs 易分化为三个胚层,并在体外自发产生精子和卵母细胞。在培养中不易分裂,也不会产生畸胎瘤或在发育中的胚胎内整合。这种相对静止的特性使其能够在各种毒性损伤中存活。肿瘤治疗后存活的 VSELs 可靶向诱导非功能性性腺的内源性再生,并且无相关的伦理或免疫排斥问题^[18]。

IPSCs 是一类由 *Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc* 和 *Klf4* 这四种转录因子基因诱导体细胞发生转化产生的,其在形态、基因和蛋白表达、表观遗传修饰状态、细胞倍增能力、畸胎瘤生成能力及分化能力等方面都与胚胎干细胞相似,但无伦理及免疫排斥问题。因易诱发线粒体基因突变而致癌等基因问题饱受争议,其在再生医学及生殖医学领域仍有发展潜能^[19]。

2.3 手术 对于一些良性肿瘤患者,尤其是卵巢肿瘤,手术对卵巢功能的影响是最主要的,囊肿剥除术中直接丢失了部分正常卵泡及支持细胞,手术中热损伤、血供减少、术后炎症反应以及腹腔镜手术中的 CO₂ 高暴露^[20]等均会造成卵巢储备功能受损。但有文章表明全子宫切除术及双侧输卵管切除术并不会造成卵巢功能下降^[21]。育龄期盆腔恶性肿瘤患者在接受盆腔照射前进行卵巢移位术是目前临床上常用的减少放疗对生育功能损害的手段^[22]。

常移位于圆韧带基底部、结肠旁沟外侧及肾下极水平,成功率与患者年龄、血管蒂长度位置、放疗范围时间等有关,术后严重并发症是血供受损及输卵管梗死。术后有可能出现卵巢囊肿,这是卵巢功能受损的标志^[23]。然而,在大多数情况下,这些囊肿是不需要治疗的。大量回顾性研究比较了腹腔镜下卵巢囊肿剥除术中的三种常用止血方法:双极电凝,超声刀及缝扎止血在卵巢储备功能方面的影响,发现缝扎止血影响较小,超声刀或双极电凝止血术影响较大,应谨慎使用止血电凝^[24-25]。CO₂ 激光消融法与传统腹腔镜卵巢囊肿剥除术相比对卵巢周围组织损伤最小^[26],但消融法具有较高的复发率,相关临床研究较少。此外,腹腔镜下卵巢囊肿剥除术中应用垂体后叶素能缩短手术时间,减少术中出血量,有利于保护卵巢功能^[27]。

2.4 卵巢组织冻存 胚胎冻存是临床发展较成熟的一种有效保育手段,广泛应用于体外受精治疗^[28],可提供给已婚女性及愿意接受供精的育龄女性。在一项临床研究中有 33 例乳腺癌患者接受了胚胎冻存并移植,平均移植时间 5.25 年,移植存活率 45%^[29]。有研究显示移植前应用阿托西班可提高冻存胚胎移植的成功率^[30],应用 GnRH 拮抗剂或激动剂可提高卵母细胞数量与累计活产率^[31]。成熟卵母细胞冻存是应用更为广泛的一种保育手段,可提供给未婚育龄女性及拒绝行胚胎冻存的患者。近年来,玻璃化冷冻方法通过使用高初始浓度的冷冻保护剂和超快速冷却以尽量减少结晶,逐渐替代了慢冷冻方法,与慢冷冻技术相比,玻璃化冷冻技术使解冻后的卵母细胞存活率和妊娠率更高^[32]。多项回顾性队列研究发现玻璃化冷冻的卵母细胞与新鲜卵母细胞在植入成功率、持续妊娠率及活产率方面无明显差异^[33-34],且与贮藏时间无关(5 年以下)^[35],主要取决于患者年龄及卵子质量^[36]。胚胎冻存和成熟卵母细胞冻存都需要卵巢刺激后再进行卵子质量检测,而控制卵巢过度刺激的恢复过程约需 2~3 周,对于有些癌症来说可能会耽误病情。因此临床医师需要在排除卵巢组织有无癌症细胞转移的情况下,根据患者的年龄、卵巢储备、卵泡刺激素水平、抗苗勒氏管激素水平等选择合适的刺激方案和促性腺激素剂量。

卵巢组织冻存是通过手术获得卵巢皮质组织冻存,然后将解冻后组织移植回盆腔(原位或异位)的一种保育手段,为青春前期需接受癌症放疗患者提供了途径。爱丁堡标准(Edinburgh criteria)建议

卵巢组织冻存的患者年龄不超过 35 岁,若患者卵巢储备功能良好,不超过 38 岁。原位移植是恢复生育功能及内分泌功能的首选方法^[37],移植部位大多在盆腔腹膜上,卵巢内部或者卵巢表面。待移植卵巢组织一般占整个卵巢组织的 15%~25%。Demeestere 等^[38]在 2015 年报告了第 1 例青春期前接受化疗患者卵巢组织冻存移植后的活产。关于卵巢组织移植的时间限制,国际上无统一指南,一般建议结束放化疗治疗 3 个月以上,并且无放化疗合并症(如腹水,恶病质等)。卵巢功能恢复多在移植后 3.5~6.5 个月。内分泌恢复率甚至高于排卵功能恢复率^[39],一般高于 60%^[40],约 2/3 的卵巢组织在移植 1 年后仍有功能^[40]。然而,进一步研究发现卵巢组织移植有造成肿瘤复发转移及移植组织恶变的风险,尤其是血液系统肿瘤及卵巢癌等^[41]。移植妊娠成功后立即再次取出冻存可降低复发风险^[42]。卵母细胞体外成熟也可降低肿瘤复发风险,并且未成熟卵母细胞不需要通过卵巢刺激就可获得,从而避免卵巢过度刺激综合征等并发症的出现,可与卵巢组织联合冻存。相关活产报道较少,成熟率较低^[43]。这一技术目前仍处于实验阶段,经济效益与安全性尚未得到证实。人工卵巢提供了规避癌症复发风险的另一解决方案。人工卵巢即从卵巢组织中分离卵泡及基质细胞,将之移植到人工纤维支架中,一项测试最适纤维蛋白基质浓度的实验发现,F50/T50 组合在超微结构和刚性方面最类似于人卵巢皮质^[44],迄今为止仍处于动物实验阶段^[45]。

3 结 语

针对肿瘤治疗对年轻女性卵巢的损伤机制,现阶段最常用且安全有效的做法是卵巢移位及卵巢组织冻存,研究方向最多的是干细胞移植、抑制细胞信号通路等药物试验、原始卵泡体外培养及人工卵巢等。保护女性肿瘤患者的卵巢功能任重道远,需要多学科广泛合作,多途径共同进行。

[参考文献]

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Selter J, Huang Y, Grossman Becht LC, *et al.* Use of Fertility Preservation Services in Female Reproductive-Aged Cancer Patients [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2019, 221(4): 328.e1-328.e16.
- [3] Oktay K, Hrvy BE, Partridge AH, *et al.* Fertility Preservation in Patients With Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(19): 1994-2001.
- [4] Moore HC, Unger JM, Philips KA, *et al.* Goserelin for ovarian protection during breast-cancer adjuvant chemotherapy [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(10): 923-932.
- [5] Senra JC, Roque M, Talim MCT, *et al.* Gonadotropin-releasing hormone agonists for ovarian protection during cancer chemotherapy: systematic review and meta-analysis [J]. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2018, 51(1): 77-86.
- [6] Gerber B, Von Minckwitz G, Stehle H, *et al.* Effect of luteinizing hormone-releasing hormone agonist on ovarian function after modern adjuvant breast cancer chemotherapy: the GBG 37 ZORO study [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(17): 2334-2341.
- [7] Oktay K, Harvey BE, Loren AW. Fertility Preservation in Patients With Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline Update Summary [J]. *J Oncol Pract*, 2018, 14(6): 381-385.
- [8] Zhou L, Xie Y, Li S, *et al.* Rapamycin Prevents cyclophosphamide-induced Over-activation of Primordial Follicle pool through PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in vivo [J]. *J Ovarian Res*, 2017, 10(1): 56-63.
- [9] Kalich-Philosoph L, Roness H, Carmely A, *et al.* Cyclophosphamide triggers follicle activation and "burnout"; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility [J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(185): 162-185.
- [10] Pascual N, Scotti L, Di Pietro M, *et al.* Ceramide-1-phosphate has protective properties against cyclophosphamide-induced ovarian damage in a mice model of premature ovarian failure [J]. *Hum Reprod*, 2018, 33(5): 844-859.
- [11] Niringiyumukiza JD, Cai H, Chen L, *et al.* Protective properties of glycogen synthase kinase-3 inhibition against doxorubicin-induced oxidative damage to mouse ovarian reserve [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 116(108963).
- [12] Jang H, Lee OH, Lee Y, *et al.* Melatonin prevents cisplatin-induced primordial follicle loss via suppression of PTEN/AKT/FOXO3a pathway activation in the mouse ovary [J]. *J Pineal Res*, 2016, 60(3): 336-347.
- [13] Meng Y, Xu Z, Wu F, *et al.* Sphingosine-1-phosphate suppresses cyclophosphamide induced follicle apoptosis in human fetal ovarian xenografts in nude mice [J]. *Fertil Steril*, 2014, 102(3): 871-877.
- [14] 张 良, 范 楷, 靖 俊, 等. 褪黑素对放疗后大鼠卵巢功能保护作用的探讨[J]. *医学研究生学报*, 2014, 27(6): 592-595.
- [15] Saitou JM, Yamaji M. Primordial germ cells in mice [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012, 4(11).
- [16] Ge W, Chen C, De Felici M, *et al.* In vitro differentiation of germ cells from stem cells: a comparison between primordial germ cells and in vitro derived primordial germ cell-like cells [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6:e1906.
- [17] Silvestris E, D'oranzo S, Cafforio P, *et al.* In Vitro Generation of Oocytes from Ovarian Stem Cells (OSCs): In Search of Major Evidence [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): pii: E6225.
- [18] Bhartiya D, Shaikh A, Anand S, *et al.* Endogenous, very small

- embryonic-like stem cells; critical review, therapeutic potential and a look ahead [J]. *Hum Reprod Update*, 2016, 23(1): 41-76.
- [19] Aoi T. 10th anniversary of iPS cells: the challenges that lie ahead [J]. *J Biochem*, 2016, 160(3): 121-129.
- [20] 陈琪珍,田淑娜,陈雄.CO₂高暴露对雌性大鼠生殖系统及胚胎发育的影响[J].*东南国防医药*,2019,21(2):130-134.
- [21] 陈翠莹,游可理,陈观娣,等.全子宫及双侧输卵管切除术后卵巢功能的近期影响[J].*医学研究生学报*,2017,30(1): 83-87.
- [22] Moawad NS, Santamaria AE, Rhoton-Vlasak A, *et al*. Laparoscopic Ovarian Transposition Before Pelvic Cancer Treatment: Ovarian Function and Fertility Preservation [J]. *J Minim Invasive Gynecol*, 2017, 24(1): 28-35.
- [23] Del Pup L, Salvagno F, Borini A, *et al*. Ovarian transposition in young women and fertility sparing [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(2): 197-198.
- [24] Zhang CH, Wu L, Li PQ. Clinical study of the impact on ovarian reserve by different hemostasis methods in laparoscopic cystectomy for ovarian endometrioma [J]. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 2016, 55(4): 507-511.
- [25] Asgari Z, Rouholamin S, Hosseini R, *et al*. Comparing ovarian reserve after laparoscopic excision of endometriotic cysts and hemostasis achieved either by bipolar coagulation or suturing: a randomized clinical trial [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2016, 293(5): 1015-1022.
- [26] Candiani M, Ottolina J, Posadzka E, *et al*. Assessment of ovarian reserve after cystectomy versus 'one-step' laser vaporization in the treatment of ovarian endometrioma: a small randomized clinical trial [J]. *Human Reprod*, 2018, 33(12): 2205-2211.
- [27] 戴凤英,曾清芳,洪丽君.腹腔镜下囊肿剥除联合垂体后叶素治疗卵巢子宫内膜异位囊肿的临床分析[J].*东南国防医药*, 2015,17(6):645-647.
- [28] Kim SY, Kim SK, Lee JR, *et al*. Toward precision medicine for preserving fertility in cancer patients: existing and emerging fertility preservation options for women [J]. *J Gynecol Oncol*, 2016, 27(2): e22.
- [29] Oktay K, Turan V, Bedoschi G, *et al*. Fertility Preservation Success Subsequent to Concurrent Aromatase Inhibitor Treatment and Ovarian Stimulation in Women With Breast Cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(22): 2424-2429.
- [30] He Y, Wu H, He X, *et al*. Administration of atosiban in patients with endometriosis undergoing frozen-thawed embryo transfer: a prospective, randomized study [J]. *Fertil Steril*, 2016, 106(2): 416-422.
- [31] Toftager M, Bogstad J, Lossel K, *et al*. Cumulative live birth rates after one ART cycle including all subsequent frozen-thaw cycles in 1050 women; secondary outcome of an RCT comparing GnRH-antagonist and GnRH-agonist protocols [J]. *Hum Reprod*, 2017, 32(3): 556-567.
- [32] 秦文松,刘英,秦辉灵,等.人卵母细胞玻璃化冷冻技术在辅助生殖中的应用[J].*中国性科学*,2015(2):93-95.
- [33] Doyle JO, Richter KS, Lim J, *et al*. Successful elective and medically indicated oocyte vitrification and warming for autologous in vitro fertilization, with predicted birth probabilities for fertility preservation according to number of cryopreserved oocytes and age at retrieval [J]. *Fertil Steril*, 2016, 105(2): 459-466.
- [34] Shi Y, Sun Y, Hao C, *et al*. Transfer of Fresh versus Frozen Embryos in Ovulatory Women [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2): 126-136.
- [35] Cobo A, Garrido N, Pellicer A, *et al*. Six years' experience in ovum donation using vitrified oocytes: report of cumulative outcomes, impact of storage time, and development of a predictive model for oocyte survival rate [J]. *Fertil Steril*, 2015, 104(6): 1426-1434.
- [36] Cobo A, Garcia-Velasco JA, Coello A, *et al*. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation [J]. *Fertil Steril*, 2016, 105(3): 755-764.
- [37] Gellert SE, Pors SE, Kristensen SG, *et al*. Transplantation of frozen-thawed ovarian tissue: an update on worldwide activity published in peer-reviewed papers and on the Danish cohort [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2018, 35(4): 561-570.
- [38] Demeestere I, Simon P, Dedeken L, *et al*. Live birth after autograft of ovarian tissue cryopreserved during childhood [J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(9): 2107-2109.
- [39] Pacheco F, Oktay K. Current Success and Efficiency of Autologous Ovarian Transplantation: A Meta-Analysis [J]. *Reprod Sci*, 2017, 24(8): 1111-1120.
- [40] Van Der Ven H, Liebenthron J, Beckmann M, *et al*. Ninety-five orthotopic transplantations in 74 women of ovarian tissue after cytotoxic treatment in a fertility preservation network: tissue activity, pregnancy and delivery rates [J]. *Hum Reprod*, 2016, 31(9): 2031-2041.
- [41] Dolmans MM, Masciangelo R. Risk of transplanting malignant cells in cryopreserved ovarian tissue [J]. *Minerva Ginecol*, 2018, 70(4): 436-443.
- [42] Kristensen SG, Giorgione V, Humaidan P, *et al*. Fertility preservation and refreezing of transplanted ovarian tissue-a potential new way of managing patients with low risk of malignant cell recurrence [J]. *Fertil Steril*, 2017, 107(5): 1206-1213.
- [43] Creux H, Monnier P, Son WY, *et al*. Thirteen years' experience in fertility preservation for cancer patients after in vitro fertilization and in vitro maturation treatments [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2018, 35(4): 583-592.
- [44] Chiti MC, Dolmans MM, Moetiaux L, *et al*. A novel fibrin-based artificial ovary prototype resembling human ovarian tissue in terms of architecture and rigidity [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2018, 35(1): 41-48.
- [45] Dolmans MM, Amorim CA. Construction and use of artificial ovaries [J]. *Reproduction*, 2019,83(1):612-623.

(收稿日期:2019-09-10; 修回日期:2019-10-29)

(责任编辑:刘玉巧; 英文编辑:吕铿烽)