

早期卵巢肿瘤年轻患者生育力的保存

许思娟,倪亚莉*

基金项目:甘肃省卫生行业科研计划项目(项目编号:GSWSKY2017-14)

作者单位:730050 甘肃 兰州,甘肃省妇幼保健院生殖医学中心

作者简介:许思娟,毕业于兰州大学,硕士,副主任医师,主要研究方向为生殖医学。倪亚莉,毕业于宁夏医科大学,硕士,主任医师,主要研究方向为生殖医学。

* 通讯作者, E-mail: niyal@126.com

【关键词】早期卵巢肿瘤;生育力保存

【中图分类号】R 715.5

【文献标志码】A

【文章编号】1674-4020(2020)10-040-04

doi:10.3969/j.issn.1674-4020.2020.10.12

近年来恶性肿瘤有年轻化的趋势^[1-2],相当多的妇科肿瘤患者在确诊时已达生育年龄,由于社会或个人因素,许多早期妇科肿瘤女性患者尚未完成生育计划。在所有的卵巢癌(ovarian cancer, OCs)中,12%被诊断为生育能力强的女性。所有的1A和1B期年轻女性OCs患者的总5年生存率为91.2%^[2]。由于存活率的提高,OCs患者的生活质量成为关注的新焦点。对于年轻女性而言,与OCs治疗相关的不孕症将严重影响其生活质量,并会对其造成一定的心理困扰。因此,2018年美国临床肿瘤学会(ASCO)指南^[3]也再次强调:应尽早与意愿妊娠的OCs患者讨论保留其生育能力的选择,并适时将具有潜在生育能力的患者转诊给生殖专家。女性的卵巢储备功能取决于卵巢中剩余的原始卵泡数量和卵母细胞的质量^[4],每个卵巢中存在的原始卵泡池是不可再生的。化疗和放疗对成功治疗卵巢恶性肿瘤至关重要,但治疗会加速卵泡的耗竭导致卵巢功能衰竭而引发不孕,因为含有卵泡的卵巢组织成为去除癌细胞的治疗目标。如何保留必须接受放化疗的年轻女性患者的生育能力,在临床实践中仍然是一个挑战。针对这种现状,一个新兴的医疗领域—肿瘤生育正在兴起。本文就年轻女性OCs放化疗中生育力保护的建议路径、常用的生育力保护技术及其效果进行综述,以为临床诊疗提供一些思路。

1 抗肿瘤治疗对卵巢癌患者生育力的影响

抗肿瘤治疗的生殖毒性与患者年龄、化疗药物种类、药物剂量、放疗及手术部位等多种因素相关^[5]。卵母细胞对手术、放化疗损伤敏感,任何剂量的卵巢辐射

都会增加卵巢早衰(premature ovarian failure, POF)的风险,且其发生率呈剂量依赖性。

1.1 放疗对卵巢癌患者生育力的影响

追踪儿童期肿瘤的成年幸存者,发现当卵巢暴露的辐射剂量<500 cGy时,POF发生风险是正常同胞姐妹的3倍,当辐射剂量≥500 cGy时,发生风险增加至8倍^[6]。大剂量(≥10 Gy)的卵巢照射以及全身照射会导致急性卵巢衰竭,头颅部的放疗会损害下丘脑—垂体—卵巢性腺轴。卵巢或子宫曾暴露于6~10 Gy的辐射,成年后妊娠的概率减少至56%,如果>10 Gy则急剧减少至18%^[7]。患者年龄越小,卵巢对放疗的耐受性越高,导致不孕的盆腔或全腹部放疗剂量在出生时、10岁、20岁、30岁女性中分别为20.3 Gy、18.4 Gy、16.5 Gy和14.3 Gy^[8]。放疗还会损害子宫的内膜、肌层和血管,增加自然流产、胎儿生长受限、妊娠期高血压疾病、早产的发生风险^[9]。Van Dorp等^[10]分析了腹盆腔放疗后成年患者发生POF的辐射量分布:辐射量<20 Gy,相对风险1.02;20~35 Gy,相对风险1.37;>35 Gy,相对风险3.27。不孕症发生率与盆腹腔放射治疗也存在剂量相关性:20~35 Gy导致不孕症的发生率为22%;>35 Gy发生率为32%。

1.2 化疗对卵巢癌患者生育力的影响

癌症患者需要接受化学药物治疗,毒副作用之一是损伤卵巢功能,其程度取决于患者年龄、化疗药物毒性和用药量。高龄患者较年轻患者更易出现永久性卵巢功能衰竭和绝经,21~25岁患者POF风险增加约27倍,儿童患者化疗后POF发生率高达60%^[11]。烷化剂是常用化疗药物中对性腺毒性最大的一类,包括环磷酰胺

胺、白消安、甲基苄胍、氮芥等,通过与 DNA 发生交叉联结,破坏 DNA 结构产生细胞毒性。烷化剂属于细胞周期非特异性药物,对生长中和静止期的卵泡均有毒性作用,大剂量的烷化剂(总环磷酰胺 $\geq 4\,000\text{ mg/m}^2$)导致女性发生不孕的概率超过 80 %^[12]。Levine 等^[13]对 2 930 例儿童肿瘤幸存者生育力进行分析,发现在儿童期甲基苄胍暴露剂量 $\geq 4\,000\text{ mg/m}^2$ 的成年幸存者发生 POF 的风险是同胞姐妹的 8.96 倍,而且随着烷化剂累计剂量的增加,成年后怀孕的概率下降。紫杉醇、顺铂和蒽环类药物(阿霉素、柔红霉素)等药物为中等性腺毒性,抗代谢药物(甲氨蝶呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶)和长春碱类对性腺毒性极低^[14]。

1.3 手术对卵巢癌患者生育力的影响

OCs 患者接受肿瘤组织剔除术后,残留卵巢组织也可能出现卵巢功能下降或衰竭。

2 年轻卵巢癌患者的生育力保护现状

2.1 年轻卵巢癌患者生育力保存的一般策略

生育力保存技术的选择要依据患者的年龄、卵巢的储备状态、婚姻状态、是否有生育需求、抗癌治疗的紧迫性及肿瘤生长是否雌激素依赖性,以及是否已接受了化疗而定。对有生育需求的年轻 OCs 患者,如条件允许,首先妊娠,后治疗;其次选择自然周期/超促排卵情况下取卵,体外冻存卵母细胞,不成熟卵母细胞体外成熟培养;再次考虑冻存卵巢组织行自体或异体移植,或直接采取卵体外成熟培养技术获得成熟卵母细胞,适时进行体外受精-胚胎移植技术。药物保护主要是采用促性腺激素类似物的抗癌治疗中的干预。

2.2 卵巢癌患者生育力保存方法

在临床实践中要根据每个患者的年龄、病情和个人意愿,综合衡量利弊后做出最优选择。OCs 患者保存生育力有以下几种方法:

2.2.1 卵巢组织冷冻保存 对于青春期前患者,卵巢组织冷冻保存(ovarian tissue cryopreservation, OTC)是保存生育力的主要方法。OTC 不需要 2~3 周的卵巢刺激,也适用于 OCs 治疗无法推迟和不能耐受控制性促排卵(controlled ovulation stimulation, COS)的患者^[15]。OTC 要通过手术切取部分卵巢组织或者单侧卵巢,然后切割卵巢组织皮片冷冻保存。重新移植回去的卵巢组织能维持生殖内分泌功能 4~5 年,最长可达 7 年,患者可以通过自然怀孕或辅助生殖技术获得妊娠。自 2000 年世界第 1 例冷冻卵巢组织成功移植至今,已有超过 130 名婴儿诞生^[16]。根据最近的数据统计,OTC 移植后的活产率可达到 37.7 %^[17]。虽然目前报道的活产基本来源于成年女性的冷冻卵巢组织,但对一些尚未进入青春期的患者再移植儿童和青少年期冷冻的卵巢组织后,可以引发第二性征发育及月经来潮^[18]。

2.2.2 卵子冷冻 青春期前和不能耐受 COS 的患

者,可从卵巢中穿刺抽取未成熟卵,经过体外培养成熟后冷冻保存。Abir 等^[19]从 42 例 2~18 岁行 OTC 的肿瘤患者的卵巢中穿刺抽取未成熟卵,同时过滤进行卵巢切片的液体,最终 28 例成功保存冻卵。通过这种方法获得冷冻卵子的数目与年龄呈正相关,年龄越大获得冻卵数目越多。

2.2.3 卵巢移位 卵巢移位是指通过手术将卵巢暂时移至放疗区域之外,可以一定程度保护盆腔放疗患者卵巢免遭损害,待放疗结束后适当时机可选择将卵巢移回盆腔或进行体外受精。根据不同的研究结果,卵巢移位对保存生育力的成功率为 50 %~95 %不等,与放疗剂量、放疗面积和次数、是否联合化疗以及患者年龄相关^[20]。该方法只适用于盆腔放疗的患者,而且手术有导致肿瘤转移的风险,因此最好在放疗前行手术,并充分告知患者风险^[21]。对携带肿瘤易感基因的肿瘤患者,可通过植入前遗传学诊断(preimplantation genetic diagnosis, PGD)选择不携带相关易感基因的胚胎。PGD 已被应用于数十种遗传性癌症易感疾病,如低外显率迟发性疾病,如与 BRCA 1/2 相关的遗传性乳腺癌卵巢癌综合征(hereditary breast ovarian cancer, HBOC)^[22]。欧洲人类生殖及胚胎学会和英国人类受精和胚胎学管理局认为 PGD 可应用于 HBOC 一类迟发性疾病^[23]。但因遗传性易感癌症的外显率、发病年龄和现有预防治疗措施各不相同,是否应该执行 PGD 目前尚存在诸多争议。对这部分肿瘤患者进行生育力保存时,应同时接受遗传咨询,充分告知患者病情、PGD 技术的利弊以及后代的患病风险。

2.2.4 药物卵巢抑制 促性腺激素释放激素激动剂(gonadotrophin releasing hormone agonist, GnRH-a)与 GnRH-a 受体有高度亲和力,持续使用或使用长效制剂,能下调垂体表面受体,内源性促性腺激素分泌被抑制,从而达到药物性垂体-卵巢抑制。处于静止期的细胞对化疗药物敏感性降低,如果卵巢被抑制,理论上可以降低化疗药物的毒性作用。目前关于 GnRH-a 对生育力保护的效果存在较多争议,Blumenfeld 等^[24]回顾性对比分析了在化疗中使用和未使用 GnRH-a 的肿瘤患者化疗结束 2 年后的卵巢功能和妊娠情况,两组 POF 的发生率分别为 13 % 和 51 %,自发妊娠率分别为 65.6 % 和 37.9 %,差异有统计学意义。Chen 等^[25]对多个随机对照试验分析认为, GnRH-a 在化疗中可以保护卵巢功能,但对于生育力的保护尚缺乏足够证据。ASCO 最新指南指出,不推荐其作为肿瘤患者保护生育力的常规方法,只有当其它方法都不可行时再考虑使用^[17]。

2.2.5 医疗咨询 34 %~72 % 的肿瘤患者想了解保存生殖能力的治疗措施,需要相关指导,却找不到获取此方面知识的途径^[26]。大多数癌症患者的主治医师对患者治愈后的生育力改变未予重视。患者开始治疗后,药物毒性一旦损伤卵巢,将不可避免地影响生育力。

因此,癌症专家、手术医生有必要了解临床上可行的保存生育力方法,同时生殖专科医生应加强此方面的宣教,促进癌症专家、手术医生和生殖专科医生相互协作,共同制定保存癌症患者生育力的诊疗方案,纳入癌症治疗内容,实现恢复生育力的目标^[27]。

2.2.6 现代生物技术治疗 ① 间充质干细胞移植:通过间充质干细胞移植技术提高烷化剂损伤卵巢的功能^[28];② 成年小鼠及人卵巢分离雌性生殖干细胞系(female germline stem cells, FGSC),通过生殖干细胞移植以使衰竭的卵巢重获功能^[29];③ 通过卵巢组织体外卵泡唤醒后移植,以激活不孕女性卵巢中剩不多的卵泡,使其妊娠生子。这些现代生物技术有望使育龄期放化疗患者重获卵巢功能^[30]。

3 年轻卵巢癌患者生育力保护的挑战与展望

对于只能选择 OTC 的患者,如何更好地保存生育力是现在面临的主要问题。学者们提出将卵巢组织中窦前卵泡分离出来,在体外培养至成熟进行体外受精,也可用从冷冻卵巢组织中分离出来的窦前卵泡和生物材料构建人工卵巢。这样既可避免肿瘤再种植风险,又保存利用了卵巢中大量未成熟卵泡^[31]。利用 3D 培养的卵泡多阶段体外培养体系已经成功建立在多个物种中,小鼠中已可以从原始卵泡体外培养至活产^[32],灵长类动物可以次级卵泡培养至桑葚胚阶段^[33],在人类有报道从原始或次级卵泡培养至成熟卵泡^[34]。人工卵巢指的是用生物材料构建一个可以供卵泡生长的基质环境,将窦前卵泡放置在其中,再移植回体内继续生长^[35]。从人冻融卵巢组织中分离出来的卵泡包裹于纤维蛋白支架中,移植到裸鼠体内 7 d 后约有 20 % 存活^[36]。近期有报道通过 3D 打印技术与小鼠卵泡构建的人工生物卵巢,移植到绝育小鼠体内后,不但发挥了内分泌功能,且有 3 只受体小鼠自然怀孕并产生后代^[37]。人工卵巢技术在小鼠中取得重大成果,但在大型哺乳动物和人中尚处于初步研究阶段。除此之外 Shimamoto 等^[38]利用小鼠的多能干细胞,在体外成功诱导了卵子的发生和发育成熟过程,并最终有活产产生,这将是未来保存生育力的一个重要研究方向。

4 结束语

每位 OCs 患者在治疗前都应进行生育力保存的相关咨询,但因为信息缺乏、医疗资源不足、肿瘤带来的压力和经济伦理等问题,目前在治疗前接受生育力保存咨询的患者只有一小部分,最终进行有效生育力保存的人更是少数。卵子冷冻是进入青春期后、抗肿瘤治疗可以推迟 2~3 周和可以耐受 COS 的患者保存生育力的标准方案。抗肿瘤治疗不能推迟的患者,OTC 是主要方法。应用 GnRH-a 卵巢抑制和卵巢移位对生育力的保存效果存在很大的不确定性,不推荐作为有效方法,当不得不

选用这两种方法时应充分告知患者存在的风险。窦前卵泡分离体外培养和人工卵巢技术是未来保存生育力的发展方向,有很广阔的应用前景,如何提高原始卵泡的成熟率、建立高效完整的培养体系、构建人工卵巢等问题都还需要解决。除此之外,还应提高临床医生和患者及家属关注生育力保存的意识,优化诊疗体系,这对年轻 OCs 肿瘤患者生育力的保存也至关重要。

【参考文献】

- [1] A Guillaume A, Pirrello O. Preservation of fertility in surgery of benign and borderline malignant ovarian tumors [J]. J Visc Surg, 2018, 155(Suppl 1): S 17-S 21.
- [2] Gershenson D M. Management of rare epithelial ovarian cancers [J]. Clinical Advances in Hematology & Oncology: H&O, 2019, 17(8): 444-446.
- [3] Oktay K, Harvey B E, Partridge A H, et al. Fertility preservation in patients with cancer: ASCO clinical practice guideline update [J]. Clinical Oncology, 2018, 36(19): 1994-2001.
- [4] Jayasinghe Y L, Wallace W, Anderson R A. Ovarian function, fertility and reproductive lifespan in cancer patients [J]. Expert Review of Endocrinology & Metabolism, 2018, 13(3): 125-136.
- [5] Monk B J. Optimal treatment for platinum-sensitive recurrent ovarian cancer [J]. Clinical Advances in Hematology & Oncology: H&O, 2017, 15(9): 674-676.
- [6] Van den Berg MH, Overbeek A, Lambalk CB, et al. Long-term effects of childhood cancer treatment on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve [J]. Hum Reprod, 2018, 33(8): 1474-1488.
- [7] Green D M, Kawashima T, Stovall M, et al. Fertility of female survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study [J]. Journal of Clinical Oncology, 2009, 27(16): 2677-2685.
- [8] Wallace W H B, Anderson R A, Irvine D S. Fertility preservation for young patients with cancer: Who is at risk and what can be offered? [J]. Lancet Oncology, 2005, 6(4): 209-218.
- [9] Marci R, Mallozzi M, Di Benedetto L, et al. Radiations and female fertility [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2018, 16(1): 112.
- [10] Van Dorp W, Haupt R, Anderson R A, et al. Reproductive function and outcomes in female survivors of childhood, adolescent, and young adult cancer: a review [J]. Clinical Oncology, 2018, 36(21): 2169-2180.
- [11] Larsen E C, Muller J, Schmiegelow K, et al. Reduced ovarian function in long-term survivors of radiation- and chemotherapy-treated childhood cancer [J]. Clinics in Endocrinology and Metabolism, 2003, 88(11): 5307-5314.
- [12] Green D M, Sklar C A, Boice J J, et al. Ovarian failure and reproductive outcomes after childhood cancer treatment: results from the Childhood Cancer Survivor Study [J]. Clinical Oncology, 2009, 27(14): 2374-2381.
- [13] Levine JM, Whitton JA, Ginsberg JP, et al. Nonsurgical premature menopause and reproductive implications in survivors of childhood cancer: A report from the Childhood Cancer Survivor Study [J]. Cancer, 2018, 124(5): 1044-1052.

- [14] Oktom O, Kim SS, SeleK U, et al. Ovarian and uterine functions in female survivors of childhood cancers [J]. *Oncologist*, 2018, 23 (2): 214-224.
- [15] Wallace W H, Kelsey T W, Anderson R A. Fertility preservation in pre-pubertal girls with cancer: the role of ovarian tissue cryopreservation [J]. *Fertility and Sterility*, 2016, 105 (1): 6-12.
- [16] Donnez J, Dolmans M M. Fertility preservation in women [J]. *New England Journal of Medicine*, 2017, 377(17): 1657-1665.
- [17] Oktay K, Harvey B E, Partridge A H, et al. Fertility preservation in patients with cancer: ASCO clinical practice guideline update [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2018, 36(19): 1994-2001.
- [18] Pan Z, Xie X. BRCA mutations in the manifestation and treatment of ovarian cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(57): 97657-97670.
- [19] AbirR, Ben-Aharon I, Garor R, et al. Cryopreservation of in vitro matured oocytes in addition to ovarian tissue freezing for fertility preservation in paediatric female cancer patients before and after cancer therapy [J]. *Human Reproduction*, 2016, 31 (4): 750-762.
- [20] Hoekman E J, Knoester D, Peters A, et al. Ovarian survival after pelvic radiation; transposition until the age of 35 years [J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2018, 298(5): 1001-1007.
- [21] Loren A W, Mangu P B, Beck L N, et al. Fertility preservation for patients with cancer; American society of clinical oncology clinical practice guideline update [J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2013, 31(19): 2500-2510.
- [22] Rich T A, Liu M, Etzel C J, et al. Comparison of attitudes regarding preimplantation genetic diagnosis among patients with hereditary cancer syndromes [J]. *Familial Cancer*, 2014, 13 (2): 291-299.
- [23] Peccatori F, Mangili G, Bergamini A, et al. Fertility preservation in women harboring deleterious BRCA mutations: ready for prime time? [J]. *Human Reproduction*, 2018, 33(2): 181-187.
- [24] Blumenfeld Z, Zur H, Dann E J. Gonadotropin-releasing hormone agonist cotreatment during chemotherapy may increase pregnancy rate in survivors [J]. *The Oncologist*, 2015, 20(11): 1283-1289.
- [25] Chen H, Xiao L, Li J, et al. Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian failure in premenopausal women [J]. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2019, 3 (3): CD 008018.
- [26] Jukkala A M, Azuero A, Mcnees P, et al. Self-assessed knowledge of treatment and fertility preservation in young women with breast cancer [J]. *Fertility and Sterility*, 2010, 94 (6): 2396-2398.
- [27] Quinn G P, Bowman C M, Reich R R, et al. Impact of a web-based reproductive health training program; ENRICH (Educating Nurses about Reproductive Issues in Cancer Healthcare) [J]. *Psycho-Oncology*, 2019, 28(5): 1096-1101.
- [28] Wang S, Yu L, Sun M, et al. The therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stem cells in mice premature ovarian failure [J]. *Biomed Research International*, 2013, 2013(5976): 690491.
- [29] White Y R, Woods D C, Takai Y, et al. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women [J]. *Nature Medicine*, 2012, 18(3): 413-421.
- [30] AdibS, Valojerdi M R, Alikhani M. Dose optimisation of PTEN inhibitor, bpV(HOpic), and SCF for the in-vitro activation of sheep primordial follicles [J]. *Growth Factors*, 2019, 37 (3/4): 178-189.
- [31] Burns K C, Hoefgen H, Strine A, et al. Fertility preservation options in pediatric and adolescent patients with cancer [J]. *Cancer*, 2018, 124(9): 1867-1876.
- [32] Mochida N, Akatani-Hasegawa A, SAKA K, et al. Live births from isolated primary/early secondary follicles following a multistep culture without organ culture in mice [J]. *Reproduction*, 2013, 146(1): 37-47.
- [33] Xu J, Lawson M S, Yeoman R R, et al. Fibrin promotes development and function of macaque primary follicles during encapsulated three-dimensional culture [J]. *Human Reproduction*, 2013, 28(8): 2187-2200.
- [34] McLaughlin M, Albertini D F, Wallace W, et al. Metaphase II oocytes from human unilaminar follicles grown in a multi-step culture system [J]. *Molecular Human Reproduction*, 2018, 24 (3): 135-142.
- [35] Chiti M C, Donnez J, Amorim C A, et al. From isolation of human ovarian follicles to the artificial ovary: tips and tricks [J]. *Minerva Ginecologica*, 2018, 70(4): 444-455.
- [36] Paulini F, Villela J M, Chiti M C, et al. Survival and growth of human preantral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicle isolation and short-term xenografting [J]. *Reproductive BioMedicine Online*, 2016, 33(3): 425-432.
- [37] Laronda M M, Rutz A L, Xiao S, et al. A bioprosthetic ovary created using 3D printed microporous scaffolds restores ovarian function in sterilized mice [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15261.
- [38] Shimamoto S, Nishimura Y, Nagamatsu G, et al. Hypoxia induces the dormant state in oocytes through expression of Foxo3 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(25): 12321-12326.

(收稿日期:2020-03-29 编辑:舒砚)