

卵巢刺激和卵母细胞体外成熟在女性肿瘤患者生育力保存中的应用

郭映纯, 李婷婷, 朱婉珊, 方丛
(中山大学附属第六医院生殖医学研究中心, 广东广州 510655)

摘要:【目的】初步探讨在女性肿瘤患者生育力保存中,不同促排卵方案以及卵母细胞体外成熟技术的临床效果。【方法】分析中山大学附属第六医院生殖医学研究中心27例女性肿瘤患者冷冻卵子或胚胎的临床资料。【结果】纳入的女性肿瘤患者平均年龄为27.1岁,从就诊日开始算起,平均用6.8 d获卵,促性腺激素平均总用量为910 U。其中乳腺癌患者促排卵期间的最高雌激素水平约为360 pg/mL。促排卵周期卵子成熟率约为82.6%,而紧急取卵后行卵母细胞体外成熟的成熟率为38.1%。【结论】年轻女性肿瘤患者的卵巢反应性普遍较好,不同获卵方案均能达到可观的效果,卵子及胚胎质量无明显下降;联合应用来曲唑可较好地控制患者促排卵期间体内的雌激素水平;紧急取卵后行卵母细胞体外成熟的成熟率较低。在临床应用上,我们应根据患者的原发肿瘤疾病特点、就诊时机个性化选择获卵方案。

关键词: 肿瘤患者;生育力保存;卵巢刺激;卵母细胞体外成熟

中图分类号:R711.6 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2019)01-0070-06

Ovarian Stimulation and In Vitro Maturation for Fertility Preservation in Female Cancer Patients

GUO Ying-chun, LI Ting-ting, ZHU Wan-shan, FANG Cong

(Reproductive Medicine Research Center, The Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China)

Corresponding to: FANG Cong; E-mail: fangcongd@163.com

Abstract: 【Objective】 To determine the effect of ovarian stimulation or in vitro maturation for fertility preservation in female cancer patients. 【Methods】 A retrospective study was conducted in 27 females who underwent fertility preservation procedures in our center. 【Results】 Female patients were included in this study with an average age of 27.1. Patients spent on average for 6.8 d to retrieve oocytes since their attendance day. Total amount of Gn was on average 910 U per patient and for patients with breast cancer, the average estrogen level on trigger day reached 360 pg/mL. The maturation rate of oocytes from ovarian stimulation cycles was 82.6%, which of that in emergency in-vitro maturation cycles was 38.1%. 【Conclusion】 The development capability of oocytes from cancer patients are comparable with those of other infertility patients. Peak estradiol levels were controlled by the administration of letrozole. In vitro maturation of oocytes performed at random time of the menstrual cycle may result in a lower maturation rate, which is associated with the time limit of the follow-up cancer treatment. In conclusion, clinicians should consider a more holistic approach for female cancer patients, which focuses not only on the characteristic of the primary cancer but also on the phase of the menstrual cycle at their attendance day.

Key words: cancer patients; fertility preservation; ovarian stimulation; in vitro maturation

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2019, 40(1): 70-75]

收稿日期:2018-06-16

基金项目:国家自然科学基金(Z0110002);国家重点研发计划资助项目(2017YFC1001603)

作者简介:郭映纯,硕士研究生,研究方向:生殖医学,E-mail:guoyichun@mail2.sysu.edu.cn;方丛,通信作者,主任医师,博士生导师,研究方向:生殖医学,E-mail:fangcongd@163.com

全国肿瘤登记中心发布的数据显示^[1-3],2013年中国女性恶性肿瘤的发病率约246/10万,宫颈癌、子宫内膜癌、卵巢癌的发病率持续位列前十。其中育龄女性(15~49岁)的发病率逐年上升。随着恶性肿瘤早期诊出率的提高、肿瘤治疗技术的发展以及可生育年龄的不断增长,越来越多的癌症患者在治愈后有生育力保存的需求。然而对于这部分患者来说,现代的抗癌治疗在明显降低肿瘤死亡率的同时,也带来了生育力下降等副作用。美国肿瘤临床学会发表的生育力保存指南建议,医生应尽早为肿瘤患者提供生育力保存的咨询渠道,与患者讨论关于疾病本身或治疗对育龄患者生育力的影响,告知患者生育力保存的措施。而其中,胚胎或卵子冷冻应作为女性生育力保存的常规措施^[4]。卵子冷冻或胚胎冷冻技术要求首先获得成熟的卵子,根据患者的婚姻状况及患者的意愿选择冷冻卵子或胚胎。目前常见的获卵方案有两大类,一类为应用促排卵药物进行促排;另一类为直接紧急取患者的未成熟卵子进行卵母细胞体外成熟操作。但目前尚存在促排卵药物可能刺激肿瘤细胞生长或推迟肿瘤治疗时机的顾虑,此外,不同促排卵方案或直接取卵后行卵母细胞体外成熟的临床效果尚不明确。本文旨在通过统计分析本中心已进行的为女性肿瘤患者冷冻卵子或胚胎的病例,初步探讨不同获卵方式的特点以及临床效果,为后续个性化制定女性肿瘤患者生育力保存方案提供实践经验。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究回顾性分析2014年7月至2018年5月期间在中山大学附属第六医院生殖医学中心因生育力保存需求行胚胎或卵子冷冻的患者资料。经伦理委员会审批,根据患者具体情况制定获卵方案,并签署相关知情同意书。排除标准为:存在取卵手术禁忌证,不能耐受相关手术。进一步根据获卵方式不同将患者资料分为微刺激/拮抗剂组、黄体期促排卵组、黄体酮方案组以及紧急取卵组。

1.2 促排卵方案

根据患者自身情况、就诊日所处月经周期及可供促排卵时间个体化制定促排卵方案。原则上应尽量减少药物剂量,缩短治疗时间。其中乳腺

癌患者可自促排卵日开始,每日口服来曲唑(艾瑞,江西恒瑞医药)5 mg至取卵后10 d。

对于距离后续肿瘤治疗时间约2周,预测促排卵反应良好的患者,可供选择的方案如下。于卵泡期就诊患者,可选择微刺激或拮抗剂方案,即在月经第2日至第3日开始使用促性腺激素(Gonal-F, Serono, 瑞士)启动。或者选择黄体酮方案进行促排,即于月经周期第2日至第5日起每日口服安宫黄体酮(浙江仙琚制药,中国浙江)10 mg或黄体酮软胶囊(Utrogestan[®], 安琪坦, Besins-Iscovesco 公司, 法国)0.2 g至诱发排卵日。同时肌肉注射促性腺激素,5至8天后复诊,再根据卵巢反应情况调整剂量直至诱发排卵日。对于黄体期就诊患者,则采用黄体期促排卵方案(Luteal phase stimulation, LPS),即在排卵后开始使用促性腺激素启动。以上方案于出现3个17 mm以上优势卵泡或主导卵泡直径>18 mm以上时使用重组人绒毛膜促性腺激素 α (艾泽, Merck Serono)250 μ g诱发排卵。在扳机后36~38 h行超声引导下取卵,再根据患者婚姻状况及个人需求选择冷冻卵子或行受精后冷冻胚胎。行冷冻卵子患者,于取卵后2至3小时拆除颗粒细胞观察卵子情况,采用玻璃化冷冻方式冷冻MII期成熟卵子。行冷冻胚胎患者,于诱发排卵后39~40 h行常规体外受精(in vitro fertilization, IVF),若有活力的精子密度小于 1×10^6 /mL,则行卵胞质内单精子显微注射(Intracytoplasmic sperm injection, ICSI),后置于培养箱(体积分数为5%的CO₂, 37℃恒温)中培养16~18 h,观察受精情况。观察到受精正常的胚胎放入G1培养液(Vitrolife, Sweden)中培养,培养至第3天或第5~6天,采用玻璃化冷冻方式冷冻分别进行卵裂期和囊胚期胚胎冷冻。

1.3 卵母细胞体外成熟

对于不适合应用促排卵药物,或肿瘤治疗时间紧迫的患者,可选择直接行取卵手术,部分患者于卵巢获取手术后同时体外取卵,以上方式可在患者月经周期任意时间施行,且所需时间短,但所获得卵为未成熟卵,卵泡直径不定,需行卵母细胞体外成熟操作。即用吸针将卵泡中的卵丘细胞-卵母细胞复合物释放出来,置于含卵母细胞体外成熟液的培养皿内进行序贯培养,至30 h观察卵母细胞的成熟情况,将成熟卵母细胞行ICSI或冷冻保存。未成熟的卵母细胞在原培养基中继续培

养至42 h,成熟的卵母细胞行ICSI或冷冻保存。

1.4 统计学分析

采用SPSS 20.0 软件分析,计量资料以平均值±标准差表示,计数资料以百分比(n/N)表示。对计量资料进行单因素方差分析,对于不满足方差分析基本条件的,采用Kruskal-Wallis 检验分析;对计数资料进行卡方检验,对于不满足卡方检验条件者,进行连续性校正或采用Fisher确切概率法。以上均行双侧检验, $P<0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

本研究共纳入27例生育力保存患者冷冻卵子或胚胎的数据,表1列举了患者的原发疾病及治疗情况。根据促排卵方案的不同,再将患者分为微刺激/拮抗剂组(10例)、黄体期促排卵组(6例)、黄体酮方案组(3例)以及紧急取卵组(8例)。

从表2中我们可以看到,接受生育力保存的患者预期的卵巢储备大多较好,可适用于各种促排卵方案。

从促排卵的实际情况来看(表3),紧急取卵患者所用时间最短,为2.6 d。而应用促排卵药物的周期,时间也都控制在2周内,为大部分肿瘤患者可提供的时间限度。数据显示,黄体期促排方案使用时间较长,原因可能在于其中1例患者在卵泡期就诊,但已有的卵泡数过少,选择了在已有卵泡排出后行黄体期促排,而对于黄体期就诊的患者,应用黄体期促排所用时间则明显减少,仍是可取的。本研究所用的Gn总用量平均约为910 U,乳腺癌患者在hCG日的雌激素水平平均为

表1 生育力保存患者原发疾病

Table 1 Primary disease of fertility preservation patients

Primary disease	Prior treatment	<i>n</i>
Breast cancer	Breast conserving surgery & chemotherapy	2
	Breast conserving surgery	12
	Before treatment	3
Lymphoma	Before treatment	4
Intestinal cancer	Surgery	1
	Before treatment	1
Ovarian tumor	Before treatment	1
Nasopharyngeal carcinoma	Before treatment	1
Autoimmune encephalitis	Chemotherapy	1
Crohn disease	Chemotherapy	1

360 pg/mL,比非肿瘤患者低。

由表4可见,各获卵方式均获得明显成效。促排卵周期的卵子成熟率较高,可供冷冻或受精的卵子数目也相应较多。对于有条件行卵子受精及胚胎冷冻的患者,各组的胚胎质量也与非肿瘤患者无明显差异。但因样本量较小,仍无法得出有统计学意义的结论。由于肿瘤治疗及观察时间的限制,目前尚无胚胎移植及妊娠病例。

3 讨论

3.1 肿瘤患者应用促排卵药物的安全性问题

在条件许可的情况下,获取更多的卵子将为

表2 生育力保存患者基本情况

Table 2 Patient demographics of fertility preservation patients

	All	Mini/antagonist	LPS	Progesterone	Urgency ovulation	F/χ^2	P
<i>n</i>	27	10	6	3	8	-	-
Age at consultation /years	27.1 ± 5.3	28.5 ± 5.0	28.5 ± 2.1	32.0 ± 4.2	23.4 ± 5.8	2.742 ¹⁾	0.070
BMI/ (kg/m ²)	19.4 ± 2.1	20.2 ± 0.9	20.5 ± 3.0	20.3 ± 1.7	18.2 ± 2.2	3.153	0.369
AMH/ (ng/mL)	3.3 ± 2.4	3.5 ± 3.0	4.3 ± 3.1	2.8 ± 0.1	2.3 ± 1.3	2.139	0.544
bFSH/ (U/L)	5.8 ± 1.9	6.1 ± 8.0	5.1 ± 0.2	6.6 ± 0.6	5.2 ± 4.3	7.695	0.053
Antral follicle count	12.9 ± 5.3	11.9 ± 5.4	14.7 ± 5.8	7.7 ± 3.8	15.6 ± 3.1	2.119 ¹⁾	0.131

LPS: luteal phase stimulation; BMI: body mass index; AMH: antimullerian hormone; FSH: follicle-stimulating hormone; 1) F -test was used.

表3 不同获卵周期特点

Table 3 Oocytes retrieval cycle characteristics

	All	Mini/antagonist	LPS	Progesterone	Urgency ovulation	F/χ^2	P
<i>n</i>	27	10	6	3	8	-	-
Consult to oocyte retrieval/d	6.8 ± 5.5	8.3 ± 4.80	12.4 ± 6.1	3.5 ± 0.7	2.6 ± 1.4	6.167 ¹⁾	0.004 ²⁾
Total dose of gonadotropins/U	910 ± 574	800 ± 679	1200 ± 400	800 ± 476	-	1.772	0.412
Total days of stimulation	5.7 ± 3.3	4.8 ± 4.2	6.7 ± 2.2	6.7 ± 0.6	-	0.863	0.649
Total dose of LE/mg	30.6 ± 12.9	22.8 ± 9.4	40.8 ± 13.6	33.3 ± 2.9	-	6.846	0.033 ²⁾
Estradiol level on trigger day of breast cancer patients/(pg/mL)	360 ± 243	280 ± 193	480 ± 275	260 ± 213	-	0.387 ¹⁾	0.687

LPS: luteal phase stimulation; LE: letrozole; 1) F -test was used; 2) P values < 0.05

表4 生育力保存卵子及胚胎质量

Table 4 Oocyte yield and embryo development

	All	Mini/antagonist	LPS	Progesterone	Urgency ovulation	F/χ^2	P
<i>n</i>	27	10	6	3	8	-	-
Total number of oocytes retrieved	235	86	66	20	63	-	-
Number of oocytes retrieved	8.7 ± 5.9	8.6 ± 7.5	11.0 ± 3.9	6.7 ± 5.7	7.9 ± 5.6	0.442 ²⁾	0.725
MII rate	82.6% (142/172)	79.1% (68/86)	81.8% (54/66)	100% (20/20)	-	4.977	0.083
MII rate for IVM	41.6% (37/89)	48.0% (12/25)	-	100% (1/1)	38.1% (24/63)	2.144	0.342
Cryopreserved oocytes	125	66	46	0	13	-	-
IVF or ICSI oocytes	41	2	8	20	11	-	-
2PN rate ¹⁾	92.7% (38/41)	100% (2/2)	100% (8/8)	85% (17/20)	100% (11/11)	3.399	0.334
2PN cleavage rate	97.4% (37/38)	100% (2/2)	100% (8/8)	100% (17/17)	100% (11/11)	-	-
Available embryo rate	89.2% (33/37)	100% (2/2)	100% (8/8)	94.1% (16/17)	63.6% (7/11)	7.487	0.058
Blastulation rate	72.2% (13/18)	-	83.3% (5/6)	66.7% (8/12)	-	-	0.615
Good quality blastocysts rate	66.7% (12/18)	-	83.3% (5/6)	58.3% (7/12)	-	-	0.600
Cryopreserved embryos	28	2	7	12	7	-	-

LPS: luteal phase stimulation; IVM: in vitro maturation; IVF: in vitro fertilization; ICSI: intracytoplasmic sperm injection; 1) 2PN rate means number of 2PN embryos/IVF or ICSI oocytes; 2) F -test was used.

肿瘤患者带来更多的希望。然而,激素的应用存在刺激肿瘤细胞生长的风险,特别是发病率居首位的乳腺癌以及生殖系统的肿瘤。早在2002年,一项纳入近16万名女性的Meta分析指出^[5],长期低浓度的雌激素暴露是乳腺癌的危险因素。此外,通过对接受促排卵治疗与自然受孕的孕妇产后30年的随访比较^[6],学者发现前者的子宫相关肿瘤风险升高(RR值为1.47)。但以上风险值的升高并不能排除不孕患者肿瘤背景风险的干扰^[7],即不论是否接受助孕治疗,不孕患者自身的肿瘤发生率,特别是卵巢癌的发生率是比普通人

群高的。助孕治疗对女性患者肿瘤发生的影响尚不明确。且在实际情况下,助孕治疗一般包括手术治疗、促排卵药物等综合治疗,手术治疗以及后续的成功妊娠都可能干扰促排卵药物对肿瘤发生影响的判断。即使是尽量平衡干扰因素,不同促排卵药物对肿瘤发生的影响也不能一概而论。在一项大样本队列研究中^[8],研究者随访了应用不同促排卵药物患者30年的乳腺癌发生情况,发现促性腺激素的应用与否及累计时间与乳腺癌的发生率没有明显的相关性,而对于应用克罗米芬患者,首次应用时年龄超过35岁(HR值为1.31)、累

计用量超过2 251 mg以及使用周期数超过6个周期(HR值为1.31)可能提高乳腺癌的发生率。在目前的临床应用中,如上所述的累计用量及周期数较为少见。总的来说,应用促排卵药物是否增加不孕患者肿瘤发生的风险尚无明确的结论,而对于已诊断肿瘤的患者,暂无相关的大样本数据及长期随访比较的数据发布。

3.2 肿瘤患者促排卵的特点

本研究27例病例中,24例为患者接受化疗或对卵巢功能有损伤的手术之前,3例为应用免疫抑制剂或化疗药物后。大部分患者卵巢反应性普遍较好,卵子及胚胎质量无明显下降。其中已接受6次化疗治疗的患者出现卵巢功能衰退表现,对促排卵药物的反应性也较差。关于放疗对卵子毒性的研究也表明^[9],2 Gy剂量的放疗可导致约50%的卵泡丢失。目前有生育力需求的女性肿瘤患者大多年纪较轻,肿瘤科医师应尽早为患者提供生育力保存咨询的途径,尽量在施行对卵巢功能有损伤的治疗前让患者对治疗的影响充分了解,自主选择是否进行生育力保存^[10]。

在本研究中,乳腺癌患者促排卵过程中均联合应用来曲唑治疗,可较好地控制患者促排卵期间体内的雌激素水平。另一项相似的研究^[11]纳入215名乳腺癌患者,实验组联合应用促性腺激素及来曲唑促排卵冻存卵子及胚胎,空白组不施行生育力保存,通过比较两组在平均23~33个月的乳腺癌复发率初步探究促排卵药物应用于乳腺癌患者的安全性。结果表明两组间的乳腺癌复发率无统计学差异。在该研究中,乳腺癌患者在促排卵过程中雌激素高峰为(405.94±256.64) pg/mL,与本研究的研究结果相似。结合多项研究的Meta分析也得出相同的结论^[12],该分析还指出,应用促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)扳机可更快地降低雌激素水平,相比较于应用hCG扳机,对患

雌激素敏感肿瘤的患者更有利。也有研究认为^[13],GnRHa扳机可提高肿瘤患者的获卵率。在本研究中,由于样本量较少,尚未对GnRHa及hCG扳机进行比较,待后续更大样本进行系统研究。

为尽量缩短患者接受后续肿瘤治疗的等待时间,对于月经周期黄体期就诊的患者,建议应用黄体期促排卵方案进行促排。自黄体期促排卵方案应用以来,其对各层次卵巢反应的病人均有较好的效果。在本研究中,黄体期促排卵的患者卵子质量及胚胎质量与其他组别无明显差异。类似研究也表明^[14],对于肿瘤患者,在卵泡期及黄体期均能有效地获卵。

对于时间紧迫或不适合接受促排治疗的患者,卵母细胞体外培养成为重要的生育力保存手段,即在排除手术禁忌证后行紧急取卵手术或在卵巢切除术后抽取未成熟卵泡。部分卵巢肿瘤患者已通过上述方法保存生育力并在2014年获得第一例活产^[15]。这种方法对于不适用促排卵药物的青春期前患者尤为重要。由于化疗对青春期前患者卵巢功能的影响小于成人,即使在化疗后行卵巢组织冷冻及卵母细胞体外成熟也是可行的。已有实验室比较化疗前及化疗后青春期前患者的卵泡体外成熟效果^[16],两组取卵后卵泡闭锁率(29.6% vs 37%)及卵母细胞体外成熟率(32% vs 26.4%)无明显差异。虽然紧急取卵的卵母细胞体外成熟率较低,但对于肿瘤患者而言,考虑肿瘤治疗时机及促排卵适应症局限性,这种获卵方式仍是可取的^[17],有待后续进一步改进体外培养系统以提高成熟率,为特殊的患者提供更多的可能。

综上所述,在临床应用中,我们应根据患者的年龄、卵巢储备情况、原发性肿瘤疾病特点、就诊时机等个性化选择获卵方案,并不断优化改善临床及实验室方案,以期为更多肿瘤患者提供妊娠机会。

参考文献

- [1] 陈万青,郑荣寿,曾红梅,等. 2011年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2015, 24(1): 1-10.
Chen WQ, Zheng RT, Zeng HM, et al. Report of

Cancer Incidence and Mortality in China, 2011 [J].
Chin Cancer, 2015, 24(1): 1-10.

- [2] 陈万青,郑荣寿,张思维,等. 2012年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(1): 1-8.
Chen WQ, Zheng RT, Zhang SW, et al. Report of
Cancer Incidence and Mortality in China, 2012 [J].

- Chin Cancer, 2016, 25(1): 1-8.
- [3] 陈万青,郑荣寿,张思维,等. 2013年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2017, 26(1): 1-7.
- Chen WQ, Zheng RT, Zhang SW, et al. Report of Cancer Incidence and Mortality in China, 2013 [J]. Chin Cancer, 2017, 26(1): 1-7.
- [4] Martinez F. Update on fertility preservation from the Barcelona International Society for Fertility Preservation-ESHRE-ASRM 2015 expert meeting: indications, results and future perspectives [J]. Fertil Steril, 2017, 108(3): 407-415.
- [5] Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50 302 women with breast cancer and 96 973 women without the disease [J]. Lancet, 2002, 360(9328): 187-195.
- [6] Calderon-Margalit R, Friedlander Y, Yanetz R, et al. Cancer risk after exposure to treatments for ovulation induction [J]. Am J Epidemiol, 2009, 169(3): 365-375.
- [7] Kallen B, Finnstrom O, Lindam A, et al. Malignancies among women who gave birth after in vitro fertilization [J]. Hum Reprod, 2011, 26(1): 253-258.
- [8] Brinton LA, Scoccia B, Moghissi KS, et al. Long-term relationship of ovulation-stimulating drugs to breast cancer risk [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2014, 23(4): 584-593.
- [9] Wallace WH, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte [J]. Hum Reprod, 2003, 18(1): 117-121.
- [10] Balduzzi A, Dalle JH, Jahnukainen K, et al. Fertility preservation issues in pediatric hematopoietic stem cell transplantation: practical approaches from the consensus of the Pediatric Diseases Working Party of the EBMT and the International BFM Study Group [J]. Bone Marrow Transplant, 2017, 52(10): 1406-1415.
- [11] Azim AA, Costantini-Ferrando M, Oktay K. Safety of fertility preservation by ovarian stimulation with letrozole and gonadotropins in patients with breast cancer: A prospective controlled study [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(16): 2630-2635.
- [12] Rodgers RJ, Reid GD, Koch J, et al. The safety and efficacy of controlled ovarian hyperstimulation for fertility preservation in women with early breast cancer: A systematic review [J]. Hum Reprod, 2017, 32(5): 1033-1045.
- [13] Pereira N, Kelly AG, Stone LD, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist trigger increases the number of oocytes and embryos available for cryopreservation in cancer patients undergoing ovarian stimulation for fertility preservation [J]. Fertil Steril, 2017, 108(3): 532-538.
- [14] von Wolff M, Thaler CJ, Frambach T, et al. Ovarian stimulation to cryopreserve fertilized oocytes in cancer patients can be started in the luteal phase [J]. Fertil Steril, 2009, 92(4): 1360-1365.
- [15] Prasath EB, Chan ML, Wong WH, et al. First pregnancy and live birth resulting from cryopreserved embryos obtained from in vitro matured oocytes after oophorectomy in an ovarian cancer patient [J]. Hum Reprod, 2014, 29(2): 276-278.
- [16] Abir R, 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]. Hum Reprod, 2016, 31(4): 750-762.
- [17] Johnson EK, Finlayson C, Rowell EE, et al. Fertility preservation for pediatric patients: current state and future possibilities [J]. J Urol, 2017, 198(1): 186-194.

(编辑 余菁)