

辅助生育技术为癌症患者保留生育能力带来曙光

乔杰 闫丽盈

随着恶性肿瘤治疗手段的提高,癌症患者存活时间不断延长,提高癌症患者的生活质量越来越受到人们的重视。尤其是对年轻的患者或儿童,保存生育能力对其一生至关重要。

临床医生决定可否保留患者的生育功能,要有两方面评估。首先应全面评价癌症患者的状态,包括癌症分期,组织类型,已采取或将采取的治疗及对评估预后。其次对患者的生育能力和生育储备状况进行评估。针对每个患者制定合适的治疗方案,在治疗癌症的同时尽可能地保存患者的生育能力。

预测卵巢基础储备的指标有血清中基础AMH、FSH、抑制素B、雌激素水平测量,超声下有窦卵泡计数。评价男性生育力的指标有血清FSH、LH、inhibin B、睾酮、性激素结合球蛋白(SHBG),精液常规检查,其中inhibin B是反映睾丸功能最敏感的指标^[1]。

目前,生殖医学的快速发展为保存癌症患者的生育能力提供了更多的选择,使未生育或有生育要求的癌症患者拥有自己的后代成为可能。常采用的保存生育力的技术有胚胎冻存、卵/精子冷冻、卵巢/睾丸组织冻存、精/卵细胞体外成熟培养等。

一、胚胎冷冻

胚胎冷冻保存是将胚胎采用特殊的保护剂和降温措施进行冷冻,使其在 -196°C 的液氮中代谢停止或者减弱到足够小的程度,但又不丧失升温后恢复代谢的能力,是能长期保存胚胎的一种生物技术。1983年Trounson等^[2]首先将胚胎的冷冻-解冻技术用于人类,并成功妊娠。此后该项技术被逐步推广。1995年,我国首例冻融胚胎移植试管婴儿在北京大学第三医院出生。

胚胎冷冻是目前临床上常规使用的保存生育力的方法,解冻移植后妊娠率达40%左右。但胚胎冷冻需要刺激卵巢收集成熟的卵子,受精后再冻存,适用于已婚女性。胚胎冷冻保存不适用于恶性度高

的肿瘤,因这些肿瘤均需立即治疗。有些癌症患者对常规的IVF刺激方案反应不良,从而导致卵子数量或质量的下降。此外,在超促排卵时引起血清中雌激素水平升高,所以对于乳腺癌、子宫内膜癌患者,应避免使用超促排卵方案^[3]。

二、卵母细胞冷冻

卵子冷冻技术一直是生殖医学领域的研究热点和难点之一,它不但可避免胚胎冷冻带来的伦理问题,而且能增加供卵来源,为那些有生殖障碍的妇女提供生殖保险。国际上,1986年第1例慢速程序冷冻人卵复温后体外受精并成功怀孕^[4],1999年第1例玻璃化技术冷冻人卵复苏后成功受孕并产下一健康婴儿^[5]。在我国,2004年慢速程序化冷冻卵子技术培育的试管婴儿问世;2006年用“玻璃化”冷冻成熟卵子获得成功。2006年国际第2例、国内首例“三冻婴儿”(冻精、冻卵、冻胚)诞生,代表我国的配子、胚胎冷冻技术已达到国际水平。目前世界上有近千例出生的孩子来源于冷冻的卵母细胞^[6]。

由于人类卵母细胞较大、脆弱,冷冻与复苏都会对它带来很大的损伤。尽管各国学者对卵子的冻存技术进行了大量的相关研究,其效果仍不理想,仍处于研究阶段,远未达到临床广泛应用的程度。

当前,卵母细胞冻存的临床妊娠率为20%左右,需要2~4周的卵巢刺激来获取卵母细胞,因延迟癌症的治疗,故不适用于已经开始化疗的患者。

三、卵巢冷冻技术

1. 卵巢冷冻是胚胎冷冻及卵子冷冻的人工生殖技术之延续。卵巢皮质包含卵子并且产生激素,5个月的胎儿卵母细胞数达到峰值,约 6.8×10^6 、出生后下降到 2×10^6 ,到青春期后只有300 000个,每名妇女在育龄期有300~500个卵子成熟并排出^[7]。卵子不能自我更新的特性使得卵子更容易受到损伤。放化疗对卵巢的损伤是渐进和不可逆的,可导致闭经或不孕^[8]。由于年轻癌症患者必须接受大量化学药物或放射线治疗,致卵巢功能可能

丧失而失去排卵能力。如果治疗前先将健康的卵巢组织冷冻保存,待其治疗后,再将卵巢组织解冻移植回体内,或直接进行解冻后不成熟卵子体外成熟培养,可使这些患者保留生育能力。

卵巢组织有许多未发育的卵子,较成熟的卵子容易保存,且卵子数量较多,效益较高。目前卵巢冷冻尚还处于研究初级阶段,全世界也仅几例成功的报道。我国已有不少关于人的卵巢冷冻、移植的研究,但还没有获得成功妊娠的报道。主要是因为卵巢移植技术或卵泡的成熟培养技术还不完善。

5~6 个腹腔镜活检组织可以分离得到 3 500 个始基卵泡,与成熟的卵母细胞相比,这些始基卵泡体积小、相对静止,更能耐受冷冻及解冻复苏的刺激。卵巢组织冷冻不用刺激卵巢,可在月经周期的任何一天开始。在诊断出癌症时将卵巢组织冻存,减少对癌症治疗的干扰。也可将卵母细胞从卵巢中吸出冻存供将来使用。此外,单个卵泡或卵巢皮质组织条块可以冻存起来,以备将来用于卵母细胞体外成熟或组织移植。癌症治疗结束后,卵泡需要在体外成熟或通过自体原位/异位移植,或移植到免疫缺陷小鼠。

2. 卵巢冻存解冻后自体原位移植:从 2004 年报道卵巢组织冷冻、解冻后自体原位移植自然妊娠获得成功以来,已又有 3 个健康后代出生^[9]。

3. 卵巢冷冻解冻后自体异位移植:目前仅有 1 例获得健康后代。2006 年 Oktay^[10] 将解冻后的卵巢组织移植到耻骨弓上区域皮下,获得自然妊娠。他们继续尝试将卵巢皮质组织移到前臂皮下,但没有获得妊娠。

值得注意的是,上述成功的报道都不能排除是癌症患者本身未切除的卵巢恢复排卵得到后代的可能。

4. 卵巢的异体移植:目前只有在同卵双生的姐妹间进行卵巢原位移植的报道,姐妹一方卵巢功能早衰,另外一方生育功能正常,进行卵巢组织移植后,已有两个孩子出生^[11]。

5. 卵泡体外成熟培养技术:从冻存的卵巢组织获得不成熟的卵泡并进行体外成熟培养,再将成熟卵母细胞用于体外受精。尽管该技术仍处于实验阶段,但卵母细胞体外成熟技术为年轻的癌症患者保存生育力提供了机会,尤其适合不能接受卵巢刺激或由于没有配偶或供精而不能创造胚胎的患者。

6. 卵巢异种移植仅为在实验室内研究阶段。将人的卵巢组织移植到带有免疫缺陷基因的啮齿类

动物体内。如裸鼠、SCID 鼠通常被作为首选对象。结果证明,在一定的条件下卵泡可以在异种移植部位存活、发育^[12]。但这种方式有将动物源性病原体传染给人的风险。

卵巢组织移植可能有将癌细胞再次移植到人体内,增加肿瘤复发的风险。因此,卵巢组织移植通常作为癌症患者保存生育力的最后的选择。

四、精液冻存

男性在出生时就有生殖干细胞,但直到青春期才会发育成有受精能力的单倍体成熟的精子。所以,对于青春期后的男性精液冷冻保存是一个最好的选择。

五、睾丸组织冷冻和移植

在精子冻融技术广泛应用于辅助生殖领域的同时,睾丸组织冻融正逐渐显出其优势及必要性。

睾丸组织冷冻复苏并进行移植或体外培养完成精子的形成过程,或进行睾丸精子提取,结合 ICSI 技术,为不育患者提供了新的治疗途径。

临床上尽管放、化疗对癌症治疗比较有利,但却对精子发生产生不可逆的损伤^[13],可能会影响精子的形成过程,大部分癌症患者化疗后 2~3 个月会发展为无精症^[14]。癌症存活患者中大约有 23% 显示为无精症。对于某些无精症患者,虽然精液中没有精子,但睾丸附睾组织中会存在成熟的精子,可以通过冷冻睾丸或附睾组织来保存生育力。

六、生殖干细胞移植

生殖细胞移植技术已经在小鼠甚至灵长类动物取得成功。对于青春前期的患者,在治疗前可以收集生殖细胞包括精原干细胞并冻存,治疗结束后,或到青春期后,将生殖细胞自体移植^[15]。这种方式仍然存在癌细胞污染、癌症复发的危险。在移植前必须从组织中分离生殖细胞,彻底去除癌细胞再移植。目前在人类还没有成功的报道。

七、药物治疗

因为处于分裂相的细胞对放、化疗更敏感,在治疗癌症过程使用促性腺激素释放激素(GnRH)激动剂来降低癌症治疗对卵巢的毒性作用。对于患霍杰金淋巴瘤的妇女,在化疗前使用 GnRH 激动剂 6 个月可以显著降低化疗对卵巢的损伤,可以使 97% 的患者恢复排卵及月经,而未使用 GnRH 激动剂治疗的患者只有 63% 患者恢复排卵^[16]。但是这类药物的卵巢保护作用尚缺乏大样本、前瞻性的研究,其益处还有待进一步研究。

对于男性,可采用激素治疗保护生殖功能。动

物研究表明,在癌症治疗过程中,使用氯米芬可以减轻因肿瘤治疗产生的睾丸毒性^[17]。但利用激素抑制治疗对人的睾丸保护功能不显著,还需要进一步的研究。

八、再生医学

再生医学的发展虽然与保存生育力不太相关,但可以为癌症患者的生育问题提供新的途径。有研究报道小鼠胚胎干细胞可以分化成成熟的精子、类似的卵母细胞,但对于人类,还没有成功的报道^[18]。

九、小结

对于癌症患者,如肿瘤状况允许,在治疗中首先考虑尽量保护性腺,减少放、化疗对性腺组织的损伤,优先考虑保留卵巢、睾丸。

1. 青春后期癌症女性,如果癌症进展情况允许,则可选择先自然妊娠,推迟癌症治疗。其次,选择自然周期/超促排卵情况下取卵,在体外冻存卵母细胞,如有配偶则冻存胚胎对生育能力的保存更为有利。如果获取的是不成熟卵母细胞,也可冻存,将来解冻后再进行体外成熟培养,至成熟后再受精。若这两种情况都不可行,则行卵巢组织冻存,将来解冻后再进行自体或异体移植;或者直接采取卵体外成熟培养技术获得成熟卵母细胞。但是,如果患者的条件不适合妊娠,冻存卵母细胞、胚胎和卵巢的意义不大,在中国大陆,由于中国卫生部颁布的辅助生殖技术管理条例中不允许代孕,这类患者可以选择收养孩子。

2. 青春前期癌症儿童,目前还没有很好的办法保留生育能力。可以选择冻存卵巢皮质组织/睾丸组织的方式保存生育力,但这种方式的成功率还要取决于精/卵体外成熟分化研究的进展或卵巢/睾丸组织移植技术的发展。

相信经过多学科、多领域研究者的共同努力,将会为癌症患者保留生育力提供更多、更有效、更安全以及更经济的治疗方案。

参 考 文 献

[1] Lahlou N, Bouvattier C, Linglart A, et al. The role of gonadal peptides in clinical investigation. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2009, 67: 283-292.

[2] Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*, 1983, 305: 707-709.

[3] Chang HJ, Suh CS. Fertility preservation for women with malignancies: current developments of cryopreservation. *J*

Gynecol Oncol, 2008, 19: 99-107.

[4] Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*, 1986, 1: 884-886.

[5] Kuleshova L, Gianaroli L, Magli C, et al. Birth following vitrification of a small number of human oocytes: case report. *Hum Reprod*, 1999, 14: 3077-3079.

[6] Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online*, 2009, 18: 769-776.

[7] Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1963, 158: 417-433.

[8] Green DM. Fertility and Pregnancy Outcome after Treatment for Cancer in Childhood or Adolescence. *Oncologist*, 1997, 2: 171-179.

[9] Donnez J, Dolmans MM, Demylle D, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*, 2004, 364: 1405-1410.

[10] Oktay K. Spontaneous conceptions and live birth after heterotopic ovarian transplantation: is there a germline stem cell connection? *Hum Reprod*, 2006, 21: 1345-1348.

[11] Silber SJ, DeRosa M, Pineda J, et al. A series of monozygotic twins discordant for ovarian failure: ovary transplantation (cortical versus microvascular) and cryopreservation. *Hum Reprod*, 2008, 23: 1531-1537.

[12] Abir R, Biron-Shental T, Orvieto R, et al. Transplantation of frozen-thawed late-gestational age human fetal ovaries into immunodeficient mice. *Fertil Steril*, 2009, 92: 770-777.

[13] Mitchell RT, Saunders PT, Sharpe RM, et al. Male fertility and strategies for fertility preservation following childhood cancer treatment. *Endocr Dev*, 2009, 15: 101-134.

[14] Schrader M, Straub B, Miller K, et al. The impact of chemotherapy on male fertility: a survey of the biologic basis and clinical aspects. *Reprod Toxicol*, 2001, 15: 611-617.

[15] Schlatt S, Ehmecke J, Jahnukainen K. Testicular stem cells for fertility preservation: preclinical studies on male germ cell transplantation and testicular grafting. *Pediatr Blood Cancer*, 2009, 53: 274-280.

[16] Blumenfeld Z, Avivi I, Eckman A, et al. Gonadotropin-releasing hormone agonist decreases chemotherapy-induced gonadotoxicity and premature ovarian failure in young female patients with Hodgkin lymphoma. *Fertil Steril*, 2008, 89: 166-173.

[17] Weissenberg R, Lahav M, Raanani P, et al. Clomiphene citrate reduces procarbazine-induced sterility in a rat model. *Br J Cancer*, 1995, 71: 48-51.

[18] Hua J, Sidhu K. Recent advances in the derivation of germ cells from the embryonic stem cells. *Stem Cells Dev*, 2008, 17: 399-411.

(收稿日期: 2009-08-14)