

DOI:10.3969/j.issn.1004-3845.2021.09.002

· 专家共识 ·

生育力保存中国专家共识

中华医学会生殖医学分会

【摘要】 生育力保存在我国处于起步阶段,缺乏相应的规范及共识指导专科医生及基层医生开展相应的诊疗活动。生殖科、妇产科、男科及肿瘤专科的 32 位临床专家,参考新近的国际指南及文献,共同编写了中国生育力保存专家共识。对生育力保存的指征、方法以及临床诊疗策略提出了专家建议,以此来规范和发展我国生育力保存临床诊疗工作。

【关键词】 生育力保存; 共识; 卵母细胞冷冻; 卵巢组织冷冻; 胚胎冷冻

【中图分类号】 R71;R698;R730.5 **【文献标识码】** A

Chinese expert consensus on fertility preservation

Chinese Society of Reproductive Medicine

【Abstract】 Fertility preservation is still at initial stage in China, and there is no standard operating procedure and consensus to guide specialists and community physicians to carry out medical activities. Thirty-two clinical experts in reproduction, obstetrics and gynecology, andrology and oncology referred to the latest international guidelines and literatures, and jointly compiled an expert consensus on the preservation of fertility in China, to put forward expert recommendations on indications, methods, and clinical diagnosis and treatment strategies for fertility preservation, in order to standardize and develop clinical diagnosis and treatment of fertility preservation in China.

【Key words】 Fertility preservation; Consensus; Oocyte cryopreservation; Ovarian tissue cryopreservation; Embryo Cryopreservation

(*J Reprod Med* 2021,30(09):1129-1134)

随着社会文明、医学技术的进步和生育观念的改变,国际医学与生物学领域对生育力保存的研究愈加重视。人类对生育力保存的理解逐渐加深,形成一个多学科交叉领域,需要内科、外科、妇产科、放疗、生殖内分泌、护理、遗传、心理、法律以及伦理等多领域合作,共同全面评估治疗方案、不孕风险及生育力保存方案。

在我国,肿瘤及非肿瘤患者生育力保存的需求仍未得到广泛关注。卵巢组织冷冻保存仅在个别机构实验性地开展,并且无统一的标准化流程和评价体系。自 2006 年美国临床肿瘤学学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)与美国生殖医学学会(American Society of Reproductive Medicine, ASRM)联合发表肿瘤患者生育力保存指南以来,英国、澳大利亚、日本等国先后发布生育力保存指南,旨在通过对癌症患者治疗前采取冷冻保存精子、卵母细胞、胚胎和卵巢组织等措施,为肿瘤等疾病康

复者的生育需求和生殖健康提供保障和希望。因此建立和规范生育力保存和操作流程,达成生育力保存专家共识,对于提高我国人口出生率、提升人口整体健康水平具有重要的战略意义。

生育力保存的指征

一、女性生育力保存的主要适应证

1. 恶性肿瘤患者^[1]:育龄期及育龄前期女性发病率较高的恶性肿瘤包括乳腺癌、宫颈癌、肾癌、骨肉瘤及白血病等;
2. 严重的自身免疫性疾病:例如严重的系统性红斑狼疮、克罗恩病^[2-3];
3. 造血干细胞移植相关疾病:例如重度的 β 地

【收稿日期】 2021-06-11; **【修回日期】** 2021-06-22

【通讯作者】 梁晓燕,中山大学附属第六医院生殖医学中心。
(Email:lxzy@263.com)

中海贫血、重型再生障碍性贫血等^[4-5]；

4. 早发性卵巢功能不全 (prematue ovarian insufficiency, POI) 倾向性疾病: 例如嵌合型特纳综合征^[6]、手术后复发的双侧卵巢子宫内异位囊肿等。

二、男性生育力保存的主要适应证

1. 肿瘤相关适应证^[7]: (1) 所有影响精子质量的肿瘤患者; (2) 需要接受手术或放化疗, 可能暂时或永久伤害生育能力的肿瘤患者。

2. 非肿瘤性疾病适应证^[1,8]: (1) 自身免疫性疾病: 疾病自身影响精子质量或需要使用烷化剂治疗者; (2) 接受造血干细胞移植的患者^[9]; (3) 影响生育力的男性遗传性疾病如克氏综合征; (4) 睾丸损伤影响生育力者; (5) 从事高危行业, 如长期接触射线、高温或有毒有害物质等的人群。

化疗药物对卵巢功能的损伤

一、机制

化疗药物对卵巢功能损伤的机制尚不明确, 损伤程度一般取决于化疗药物类型及对应的靶细胞种类。化疗药物可直接作用于生长卵泡的颗粒细胞, 由 Fas 抗原特异性死亡诱导剂 FasL 跨膜蛋白介导颗粒细胞凋亡^[10]; 可通过神经酰胺、Bax 和 Caspases 介导, 诱导卵母细胞染色体断裂以及细胞质分裂成凋亡小体^[11], 导致卵母细胞凋亡; 可以通过 PI3K/Pten/AKT 信号通路上调介导触发休眠的原始卵泡激活和生长, 导致卵巢储备减少及大卵泡发生凋亡; 可通过损伤卵巢基质细胞、导致间质纤维化, 间接影响原始卵泡的储备^[12]。

二、化疗药物对卵巢功能损伤的危险程度分级

按作用方式, 可分为 7 大类化疗药物: 烷化剂、铂衍生物、蒽环类、抗生素、植物生物碱、抗代谢药、紫杉醇类^[13]。其对卵巢功能损伤的风险见表 1。紫杉烷药物家族 (如紫杉醇) 对卵巢的危险程度目前仍有争议。

表 1 化疗药物损伤卵巢功能风险分级

风险分级	药物类型及代表药物
低	蒽环类抗生素: 柔红霉素、博来霉素 长春花碱类: 长春新碱、长春花碱 抗代谢类: 甲氨蝶呤、氟尿嘧啶、脱氧氟尿嘧啶
中	铂类: 顺铂、卡铂、洛铂 蒽环素类抗生素: 阿霉素
高	烷化剂: 环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX)、白消安、美法仑、氮苯丁酯

放疗对卵巢功能的损伤

一、机制

卵母细胞和卵巢基质对放疗非常敏感, 且卵母细胞对放射的敏感性随卵母细胞的发育阶段和种类的不同而不同。卵泡早期发育阶段对辐射具有高度敏感性, 而较大卵泡的敏感性则较低。放疗可使原始卵母细胞中 p63 激活, 诱导原始卵泡的卵母细胞凋亡, 导致原始细胞池耗竭^[14]。同时, 放疗还可诱导和加速卵泡闭锁、诱导颗粒细胞凋亡、破坏卵母细胞染色体、导致卵泡凋亡, 进而损害卵巢功能^[15]。卵巢若长期暴露于辐射, 可导致卵巢的血管损伤和卵巢皮质纤维化增加^[16]。

二、放疗对卵巢功能的影响危险因素

放疗对卵巢功能的影响取决于多个因素, 如患者的年龄、照射野、治疗类型、剂量和持续时间。卵巢对放疗非常敏感, 尤其是在青春期前。全身照射, 颅脑、骨髓照射对任何年龄的女性来说都是高危因素。放疗剂量对青春期前、后女性卵巢功能的危险程度分级见表 2。

表 2 放疗剂量对青春期前、后女性卵巢功能的危险程度分级^[17]

危险程度分级	放疗剂量 (戈瑞)	
	青春期前	青春后期
高危因素	>15	>10
中危因素	10~15	5~10

生育力保存方法

一、胚胎冷冻和卵母细胞冷冻

1. 胚胎冷冻: 胚胎冷冻是一种成熟的生育力保存技术, 冷冻胚胎移植后的着床率和临床妊娠率不低於同等质量新鲜胚胎移植, 是已婚育龄女性进行生育力保存的有效方法。

胚胎冷冻适应证: 已婚女性, 年龄 < 40 岁 (对于卵巢储备功能正常、有强烈生育意愿的患者限制在 < 42 岁), 各种需要放化疗治疗的恶性肿瘤或其它疾病、POI、重度和复发的卵巢子宫内异位囊肿等, 距离盆腔放疗或化疗前 2 周以上。

禁忌证: 全身疾病无法耐受经阴道穿刺取卵、肿瘤原发病无法推迟治疗时间、妇科恶性肿瘤经专科评估冷冻胚胎相关操作可能影响肿瘤预后、已接受

放化疗后的患者经专科评估冷冻胚胎无法达到生育力保存效果。

2. 卵母细胞冷冻:卵母细胞冷冻保存和胚胎冷冻保存一样,都是生育力保存的一线治疗方案,主要针对无配偶的未婚女性的生育力保存。

卵母细胞冷冻适应证:已婚/未婚女性育龄女性,年龄 <40 岁(对于卵巢储备功能正常、有强烈生育意愿的患者限制在 <42 岁),距离盆腔放疗或化疗前 2 周以上。

禁忌证:全身疾病无法耐受经阴道穿刺取卵、肿瘤原发病无法推迟治疗时间、妇科恶性肿瘤经专科评估冷冻卵母细胞相关操作可能影响肿瘤预后、已接受放化疗后的患者经专科评估冷冻卵母细胞无法达到生育力保存效果。

3. 卵巢刺激:目前,控制性卵巢刺激方案可以在月经周期的任何时候开始。对于不同的生育力保存适应证患者应当选择合适的个体化控制性卵巢刺激方案,目的是获得尽可能多的卵母细胞数量并能在卵巢刺激后尽早开始相应疾病的治疗。尤其是恶性肿瘤患者,尽早开始相应的手术及辅助放、化疗可能会改善其治疗结局。目前控制性卵巢刺激方案有:

● 随机启动的卵巢刺激方案:当患者就诊时处于卵泡早期,则可立即开始进行常规控制性促排卵,推荐使用拮抗剂或微刺激方案;当患者处于卵泡晚期,即主导卵泡 ≥ 14 mm,可酌情予促排卵药物,使主导卵泡尽快成熟,之后进行黄体期促排卵;当患者处于黄体早期,即孕激素(progesterone, P) >3 ng/ml (9.51 nmol/L),卵巢刺激可以立即进行,无需使用促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)拮抗剂;当患者处于黄体中期,可予 GnRH 拮抗剂以诱导黄体萎缩,使月经尽快来潮。

● 双重刺激促排卵方案:双重刺激促排卵方案的第一次卵巢刺激可以应用传统的拮抗剂方案。在随机启动的促排卵方案中,如果卵泡大小明显不均,有较多的小卵泡发育,且患者肿瘤治疗时间允许的话,可以进行双重刺激促排卵方案。此时第一次卵巢刺激的扳机应使用 GnRH 激动剂。在第一次卵巢刺激后取卵,要避免穿刺小卵泡(直径 ≤ 10 mm),穿刺之后次日可进行第二次卵巢刺激。这种卵巢双重刺激促排卵方案所需时间约为 20~30 d。

● 微刺激方案:对雌激素依赖性的恶性肿瘤如乳腺癌,为了减少卵巢刺激过程中雌激素水平的增加,建议添加芳香化酶抑制剂,例如来曲唑(从刺激

的第一天起,每天口服 2.5~5 mg),可联合低剂量卵泡刺激素(FSH),在促排中酌情使用 GnRH 拮抗剂,可以获得一定数量的成熟卵母细胞,同时又使雌激素控制在较低的水平。有证据表明来曲唑与 FSH 联合应用或者单独使用时,不引起雌激素水平明显波动,并且来曲唑的加入不会降低成熟卵母细胞的数量和受精能力。现有的研究显示在应用来曲唑微刺激后出生畸形率没有增加。

对于亟需保留生育力的女性患者,临床医生应当充分评估其生育力保存的可行性和安全性,在最大限度保存生育力的同时,尽量避免并发症的发生。总的来说,临床保存生育力的治疗原则应当是遵循规范化的同时给予个体化的治疗方案,选择合适的治疗方式。尤其是对恶性肿瘤需要保存生育力的患者,应当充分评估生育力保存指征,谨慎选择对肿瘤影响最小的最优的卵巢刺激方案,并进行长期的随访。

二、未成熟卵母细胞体外成熟(*in vitro* maturation, IVM)

对于不宜进行控制性卵巢刺激患者,如有侵袭性或激素敏感性癌症、多囊卵巢综合征的女性,可以直接从卵巢中获取未成熟卵母细胞,在体外培养至成熟卵母细胞阶段。随着未成熟卵母细胞体外成熟体系的改进,未成熟卵母细胞在体外培养成熟后可以作为女性生育力体外储备的方法之一。

未成熟卵母细胞的获取有 3 种方式:

1. 未经促排卵药物刺激,直接穿刺卵巢中自然发育的窦卵泡,获取不成熟卵母细胞进行体外成熟培养;

2. 用促性腺激素进行短暂的(3~5 d)卵巢刺激,待卵巢中卵泡直径达到 5 mm 左右便于穿刺取卵时,用 HCG“扳机”或不用 HCG“扳机”直接穿刺卵泡取卵,获取的不成熟卵母细胞在体外培养成熟;

3. 与卵巢组织冷冻相结合,手术获取的卵巢组织,体外穿刺小窦卵泡获取不成熟卵,分别行卵母细胞 IVM 和卵巢组织冷冻。对体外培养成熟的卵母细胞进行玻璃化冷冻保存,未成熟的卵母细胞也可以先冻存,待使用时进行成熟培养。未成熟卵母细胞无论是体外成熟后冷冻保存还是直接冷冻保存,解冻后成熟培养,其受精后形成的胚胎正常发育率和囊胚形成率均低于体内成熟的卵母细胞。

三、卵巢组织冷冻及移植

卵巢组织冻存(ovarian tissue cryopreservation, OTC)是一种运用低温生物学原理冷冻保存卵巢组织的生育力保存方法。卵巢组织的冷冻及移植是癌

症患者接受治疗后恢复生育能力与内分泌功能切实有效的方法。卵巢组织冷冻目前有慢速冷冻和玻璃化冷冻两种保存方式,何种方法更具优势仍有争议。根据目前的文献报道,解冻的卵巢组织移植的妊娠率在 25%~30% 不等^[1,18]。卵巢组织冷冻不再是一种试验性方法,而是一项合法有效的技术手段。卵巢组织移植部位可在卵巢原位,也可在异位^[19]。原位移植通常可选择在输卵管伞端附近的腹膜、或者卵巢原位。原位移植的优势是患者有自然妊娠的几率,也可通过后穹窿穿刺获取卵母细胞完成辅助助孕操作^[20]。何种部位移植的妊娠率最高,目前数据资料不足。异位移植可移植于皮下,主要是为恢复生殖内分泌激素和月经,如仍有生育需求的患者不建议进行异位卵巢组织移植。

1. 卵巢组织冷冻与移植的安全性:对于进行卵巢自体移植的患者,移植冻存卵巢组织的安全性至关重要。目前最大问题仍然是再植入卵巢组织是否会重新引入恶性或癌前病变细胞。任何类型的肿瘤都不能排除卵巢转移的风险。因此,在判定患者是否适合进行卵巢组织冻存时,患者的肿瘤类型、治疗方法及预后均需纳入考虑。迄今为止,已发现白血病、神经母细胞瘤、伯基特淋巴瘤和恶性卵巢肿瘤的卵巢转移风险增加^[21]。因此,全身性或播散性恶性肿瘤患者,由于卵巢组织保存的有效性及其安全性尚未明确,需要非常谨慎地选择是否进行卵巢组织冻存及冻存的时机。在获取卵巢组织之前必须告知患者,移植卵巢组织后可能会面临恶性肿瘤细胞转移和复发的风险^[21]。事实上,目前国际国内尚无精确的检测方法及疾病特有的分子标志物以确定卵巢转移情况,评估这项操作过程中肿瘤复发风险的技术还有待进一步完善。目前,对于卵巢组织移植前判断肿瘤再植可能的方法主要有:病理检查、肿瘤特异性分子标志物、联合免疫缺陷模型鼠卵巢组织移植成瘤实验。

2. 卵巢组织冷冻与移植的筛选标准及适应证:目前,国际上尚无统一的卵巢组织冻存筛选标准,常用的有爱丁堡筛选标准^[22]和欧洲生育力 FertiPROTEKT 保护网络实用指南^[23]。目前较为统一的观点认为:患者卵巢储备、先前有无接受过低剂量化疗或非性腺毒性治疗或放疗、原发疾病预后、抗肿瘤治疗后 POI 发生风险是否高(>50%)是重要的筛选指标^[22,24]。专家组借鉴国际共识指南经验,结合国内具体情况,提出卵巢组织冻存的筛选标准和主要适应证如下:

筛选标准^[25]: (1) 年龄 ≤ 35 岁,且卵巢储备功

能较好,可以根据卵巢储备情况和个人意愿适当放宽年龄限制;(2) 肿瘤患者必须排除卵巢恶性肿瘤或卵巢转移^[26],转移风险高者需谨慎考虑;(3) 原发疾病预后较好;(4) 由原发病及其治疗导致的 POI 发生风险高(>50%)^[22,24,27];(5) 能够耐受腹腔镜或开腹卵巢组织活检手术;(6) 距放、化疗开始时间至少 3 天;(7) 患者本人或其监护人知情同意。

主要适应证:卵巢组织冻存适用于肿瘤、非肿瘤性疾病患者的生育力与卵巢内分泌功能的保护,最佳适应证是青春期前患者、放化疗无法延迟的患者以及患有激素敏感性肿瘤的患者^[27-28]:(1) 恶性疾病(需化疗、放疗或骨髓移植),但需要术前谨慎评估恶性肿瘤细胞卵巢转移风险;(2) 非恶性疾病:需放疗、化疗或骨髓移植的自身免疫性疾病,如系统性红斑狼疮等;血液系统性疾病,如再生障碍性贫血、地中海贫血等;卵巢疾病:交界性卵巢肿瘤;重度和复发性子宫内膜异位症;POI 高危人群:家族史或基因检测显示有 POI 高风险者;尚存卵巢功能的 Turner 综合征。

3. 卵巢组织移植的时机与指征:冻存卵巢组织的移植时机目前尚无统一标准,移植时间根据患者的原发疾病预后情况、与患者及肿瘤专科医生充分沟通后进行个体化处理。一般移植时机为原发疾病缓解,患者出现潮热、出汗等卵巢功能衰退的绝经相关症状,血 FSH ≥ 25 U/L, 抗苗勒管激素(AMH) < 1.1 ng/ml, 距放、化疗结束至少 3~6 个月^[24]。

四、男性生育力保存方法

男性生育力保存采用何种方法取决于患者性成熟和睾丸发育程度。男性成人首选精子冷冻保存。有遗精史和睾丸体积已大于 10~12 ml 的青春期少年可能已有精子发生过程,也应首先考虑精子冷冻保存^[29]。可采用手淫取精获取精液精子,手淫取精失败可行阴茎振动刺激或电刺激射精等辅助方法获取精液精子。对不能获得精液精子的患者,可通过外科附睾或睾丸取精术获得附睾或睾丸精子行冷冻保存。对于青春期前儿童或未开始精子发生过程的青春期少年,可以冷冻保存通过手术获取的未成熟睾丸组织。目前,精子冷冻是一项成熟的男性生育力保存技术,但未成熟睾丸组织冷冻保存仍是一项实验性技术,其生育力保存的临床价值未获证实^[1]。

1. 精子冷冻保存:精液精子冷冻方法可根据其常规质量指标而定。精液指标正常或轻中度异常的精液精子可以采用常规精子冷冻保存方法^[30]。重度精液指标异常可以采用微量精子冷冻方法^[31]。

外科获取的附睾精子可以行常规精子冷冻或微量精子冷冻方法。外科获取的睾丸组织需要碾磨后确定是否有睾丸精子,最好采用微量精子冷冻方法。可采用慢速程序法或液氮熏蒸法冷冻精液原液或洗涤后精液^[32],也可采用 DMSO/乙二醇(ethylene glycol,EG)行精子玻璃化冷冻保存^[33]。

2. 未成熟睾丸组织冷冻:未成熟睾丸组织可通过睾丸活检或睾丸切除获得。常用的冷冻方法是采用慢速程序冷冻法冷冻睾丸组织切片或制备成的细胞悬液^[34]。未成熟睾丸组织存在精原干细胞,可通过冷冻获得保存。一项研究表明,137 个未成熟睾丸组织冷冻标本复苏后有 132 个仍存在精原细胞,提示了将来采用这些精原细胞恢复生育力的可能性^[34]。

未成熟睾丸组织中的精原干细胞可通过体内或体外成熟的方法生成精子。未成熟睾丸组织冷冻复苏后行自体移植是获得体内精子成熟的途径,但迄今未见临床应用报道。这一方法目前仅在动物上成功恢复了生育力。有研究报道,将恒河猴的未成熟冷冻睾丸组织复苏后移植在去势成年猴后,可生成曲细精管,恢复雄激素分泌和精子发生,其精子行体外受精获得胚胎发育和子代出生^[35]。对由于白血病等血液恶性肿瘤而行未成熟睾丸组织冷冻的患者,其睾丸组织可能有肿瘤浸润,未成熟睾丸组织冷冻复苏后行自体移植可能带来肿瘤复发的风险。未成熟睾丸组织中精原干细胞行体外培养生成成熟精子可能有助于避免这一风险。但精原干细胞体外成熟培养目前也仍仅在动物上获得成功^[36]。在临床应用前仍需明确证实,体外培养成熟的精子具有稳定的遗传和表观遗传。

五、垂体降调节对卵巢功能的保护

患者注射长效促性腺激素释放激素激动剂(GnRH-a)后 2 周左右会出现垂体降调节状态,导致卵巢缺乏促性腺激素刺激,处于静止状态,无卵泡募集、生长与排卵。2018 年美国临床肿瘤学会(ASCO)对生育力保存指南更新建议:垂体降调节不能作为一种确切的生育力保存方法,原因是目前垂体降调节对卵巢的保护作用存在争议^[7]。在不具备辅助生殖技术或卵巢组织冷冻与移植技术的情况下,或者患者拒绝生育力保存的情况下,可考虑使用降调节方法减少放、化疗对卵巢功能的影响。

参与制定本共识的专家 通讯作者:梁晓燕(中山大学附属第六医院);执笔人:李晶洁(中山大学附属第六医院)。

(按照姓氏笔画排列)刁飞扬(江苏省妇幼保健

院)、马飞(中国医学科学院肿瘤医院)、马彩虹(北京大学第三医院)、方丛(中山大学附属第六医院)、邓成艳(中国医学科学院北京协和医院)、叶虹(重庆市妇产科医院)、师娟子(西北妇女儿童医院)、朱依敏(浙江大学医学院附属妇产科医院)、全松(南方医科大学)、刘贵华(中山大学附属第六医院)、孙正怡(中国医学科学院北京协和医院)、孙莹璞(郑州大学附属第一医院)、孙海翔(南京大学医学院附属鼓楼医院)、孙贇(上海交通大学医学院附属仁济医院)、杨菁(湖北省人民医院)、李志铭(中山大学附属肿瘤医院)、李晶洁(中山大学附属第六医院)、沈浣(北京大学人民医院)、张松英(浙江大学医学院附属邵逸夫医院)、张清学(中山大学附属孙逸仙医院)、张翠莲(河南省人民医院)、陈士岭(南方医科大学南方医院)、周建军(南京大学医学院附属鼓楼医院)、姚元庆(中国人民解放军总医院)、黄元华(海南医学院附属医院)、黄国宁(重庆市妇幼保健院)、黄学锋(温州医科大学附属第一医院)、曹云霞(安徽医科大学第一医院)、梁晓燕(中山大学附属第六医院)、曾海涛(中山大学附属第六医院)、靳镭(武汉同济医院)、滕晓明(上海市第一妇婴保健院)。

【参 考 文 献】

- [1] Martinez F, International Society for Fertility Preservation-ESHRE-ASRM Expert Working Group. Update on fertility preservation from the Barcelona International Society for Fertility Preservation-ESHRE-ASRM 2015 expert meeting: indications, results and future perspectives[J]. Hum Reprod, 2017,32:1802-1811.
- [2] Nusbaum JS, Mirza I, Shum J, et al. Sex differences in systemic lupus erythematosus: epidemiology, clinical considerations, and disease pathogenesis[J]. Mayo Clin Proc, 2020,95:384-394.
- [3] van der Woude CJ, Ardizzone S, Bengtson MB, et al. The second European evidenced-based consensus on reproduction and pregnancy in inflammatory bowel disease[J]. J Crohns Colitis, 2015,9:107-124.
- [4] Singer ST, Vichinsky EP, Gildengorin G, et al. Reproductive capacity in iron overloaded women with thalassemia major [J]. Blood, 2011,118:2878-2881.
- [5] Eapen M, Ramsay NKC, Mertens AC, et al. Late outcomes after bone marrow transplant for aplastic anaemia[J]. Br J Haematol, 2010,111:754-760.
- [6] Arian SE, Flyckt RL, Herman R, et al. Fertility preservation in pediatric female cancer patients[J]. Fertil Steril, 2018,109:941.
- [7] Oktay K, Harvey BE, Partridge AH, et al. Fertility preservation in patients with cancer: ASCO clinical practice guideline update[J]. J Clin Oncol, 2018,36:1994-2001.

- [8] Yang H, Ramstein J, Smith J, et al. Non-oncologic indications for male fertility preservation[J]. *Curr Urol Rep*, 2019, 20:51.
- [9] Loren AW, Senapati S. Fertility preservation in patients with hematologic malignancies and recipients of hematopoietic cell transplants[J]. *Blood*, 2019, 134:746-760.
- [10] Utsunomiya T, Tanaka T, Utsunomiya H, et al. A novel molecular mechanism for anticancer drug-induced ovarian failure; irinotecan HCl, an anticancer topoisomerase I inhibitor, induces specific FasL expression in granulosa cells of large ovarian follicles to enhance follicular apoptosis[J]. *Int J Oncol*, 2008, 32:991-1000.
- [11] Perez GI, Knudson CM, Leykin L, et al. Apoptosis-associated signaling pathways are required for chemotherapy-mediated female germ cell destruction[J]. *Nat Med*, 1997, 3:1228-1232.
- [12] Meirou D, Dor J, Kaufman B, et al. Cortical fibrosis and blood-vessels damage in human ovaries exposed to chemotherapy. Potential mechanisms of ovarian injury[J]. *Hum Reprod*, 2007, 22:1626-1633.
- [13] Roness H, Kalich-Philosoph L, Meirou D. Prevention of chemotherapy-induced ovarian damage: possible roles for hormonal and non-hormonal attenuating agents[J]. *Hum Reprod Update*, 2014, 20:759-774.
- [14] Livera G, Petre-Lazar B, Guerquin MJ, et al. p63 null mutation protects mouse oocytes from radio-induced apoptosis[J]. *Reproduction*, 2008, 135:3-12.
- [15] Kim JK, Lee CJ, Song KW, et al. Gamma-radiation accelerates ovarian follicular atresia in immature mice[J]. *In Vivo*, 1999, 13:21-24.
- [16] Straub JM, New J, Hamilton CD, et al. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2015, 141:1985-1994.
- [17] Cosgrove CM, Salani R. Ovarian effects of radiation and cytotoxic chemotherapy damage[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2019, 55:37-48.
- [18] Donnez J, Dolmans MM. Fertility preservation in women[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377:1657-1665.
- [19] Levi-Setti PE, Patrizio P, Scaravelli G. Evolution of human oocyte cryopreservation; slow freezing versus vitrification[J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2016, 23:445-450.
- [20] Donnez J, Dolmans MM. Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice[J]. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32:1167-1170.
- [21] Dittrich R, Kliesch S, Schüring A, et al. Fertility preservation for patients with malignant disease. Guideline of the DGGG, DGU and DGRM(S2k-Level, AWMF Registry No. 015/082, November 2017)-Recommendations and statements for girls and women[J]. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2018, 78:567-584.
- [22] Wallace WH, Smith AG, Kelsey TW, et al. Fertility preservation for girls and young women with cancer: Population-based validation of criteria for ovarian tissue cryopreservation[J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15:1129-1136.
- [23] Von Wolff M, Montag M, Dittrich R, et al. Fertility preservation in women—a practical guide to preservation techniques and therapeutic strategies in breast cancer, Hodgkin's lymphoma and borderline ovarian tumours by the fertility preservation network FertiPROTEKT[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2011, 284:427-435.
- [24] Wallace WH, Kelsey TW, Anderson RA. Fertility preservation in pre-pubertal girls with cancer; the role of ovarian tissue cryopreservation[J]. *Fertil Steril*, 2016, 105:6-12.
- [25] 国际妇科内分泌学会中国妇科内分泌学会及共识专家. 卵巢组织冻存与移植中国专家共识[J]. *中国临床医生杂志*, 2018, 46:496-500.
- [26] Dolmans MM, Masciangelo R. Risk of transplanting malignant cells in cryopreserved ovarian tissue[J]. *Minerva Ginecol*, 2018, 70:436-443.
- [27] Donnez J, Dolmans MM. Fertility preservation in women[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013, 9:735-749.
- [28] Lambertini M, Del Mastro L, Pescio MC, et al. Cancer and fertility preservation: international recommendations from an expert meeting[J]. *BMC Med*, 2016, 14:1.
- [29] Williams DH. Sperm banking and the cancer patient[J]. *Ther Adv Urol*, 2010, 2:19-34.
- [30] 陈振文. 辅助生殖技术规范培训教材—辅助生殖男性技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2016.
- [31] Abdelhafez F, Bedaiwy M, El-Nashar SA, et al. Techniques for cryopreservation of individual or small numbers of human spermatozoa; a systematic review[J]. *Hum Reprod Update*, 2009, 15:153-164.
- [32] Hammadeh ME, Dehn C, Hippach M, et al. Comparison between computerized slow-stage and static liquid nitrogen vapour freezing methods with respect to the deleterious effect on chromatin and morphology of spermatozoa from fertile and subfertile men[J]. *Int J Androl*, 2010, 24:66-72.
- [33] Da Silva AM, Bezerra LGP, Praxedes ECG, et al. Combination of intracellular cryoprotectants preserves the structure and the cells proliferative capacity potential of adult collared peccary testicular tissue subjected to solid surface vitrification[J]. *Cryobiology*, 2019, 91:53-60.
- [34] Valli-Pulaski H, Peters KA, Gassei K, et al. Testicular tissue cryopreservation: 8 years of experience from a coordinated network of academic Centers[J]. *Hum Reprod*, 2019, 34:966-977.
- [35] Fayomi AP, Peters K, Sukhwani M, et al. Autologous grafting of cryopreserved prepubertal rhesus testis produces sperm and offspring[J]. *Science*, 2019, 363:1314-1319.
- [36] Sato T, Katagiri K, Gohbara A, et al. In vitro production of functional sperm in cultured neonatal mouse testes[J]. *Nature*, 2011, 471:504-507.