



马翔, 医学博士, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 南京医科大学第一附属医院产前诊断中心科主任、生殖医学科副主任。从事妇产科学临床、教学和科研工作10余年。曾赴美国Duke大学妇产科研修。主攻生殖内分泌、女性不孕不育的诊治和辅助生殖技术。现学术任职: 第二届国家辅助生殖技术管理库专家, 中国妇幼保健协会生育专业委员会常务委员, 妇幼健康发展研究会生殖内分泌分会常务委员, 中国优生优育协会助孕与优生专业委员会常务委员, 江苏省妇幼保健协会生殖医学分会副主任委员, 江苏省发育生物学学会生殖专业委员会副主任委员、常务委员, 江苏省生育力保存与保护中心常务副主任。

卵巢组织冻存与移植生育力保存的应用现状与研究进展

赵飞燕^{1,2} 蒋春艳^{1,2} 马翔^{1,2*}

¹南京医科大学生殖医学与子代健康全国重点实验室, 南京 211166;

²南京医科大学第一附属医院生殖医学中心, 南京 210029)

摘要 年龄增长、疾病以及抗肿瘤治疗等均可能会造成女性生育力的下降甚至丧失。随着诊疗技术的发展, 癌症死亡率逐渐下降, 因此患者的生育力保存需求较前增加。胚胎冻存、卵母细胞冻存和卵巢组织冻存是目前常用的女性生育力保存方式。卵巢组织冻存与移植至今仅有20余年历史, 现已成为临床上具备医学指征的生育力保存方式, 有助于重建患者的内分泌和生育功能, 已有超200多例患者通过此技术成功完成生育。为提高冻存卵巢组织再移植的安全性, 现有研究将卵母细胞体外成熟技术、人工卵巢技术与之相结合, 避免携癌风险高的冻存卵巢组织移植后的癌症复发风险。较多的研究均已证实了卵巢组织冻存与移植技术的有效性和安全性。尽管卵巢组织冻存与移植技术得到了快速发展, 但是该技术仍面临如何通过减少卵泡储备损失进而延长卵巢组织移植后有效性等挑战, 尚需要更多的基础和临床研究促进卵巢组织冻存和移植技术的进步与发展。

关键词 卵巢组织冻存; 卵巢组织移植; 卵母细胞体外成熟; 卵泡储备损失

Status of Ovarian Tissue Cryopreservation and Transplantation

ZHAO Feiyan^{1,2}, JIANG Chunyan^{1,2}, MA Xiang^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Reproductive Medicine and Offspring Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China;

²Center for Clinical Reproductive Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

收稿日期: 2023-12-26

接受日期: 2024-03-11

江苏省科技厅项目(批准号: BE2021743)和国家重点研发子课题(批准号: 2021YFC2700402)资助的课题

*通信作者。Tel: 025-68302608, E-mail: sxmaxiang@126.com

Received: December 26, 2023

Accepted: March 11, 2024

This work was supported by the Jiangsu Provincial Science and Technology Department Project (Grant No. BE2021743), and the National Key Research and Development Project of China (Grant No. 2021YFC2700402)

*Corresponding author. Tel: +86-25-68302608, E-mail: sxmaxiang@126.com

Abstract Advanced age, disease and anti-cancer treatment may lead to the decline or even loss of female fertility. With the decline of cancer mortality rate, patients' fertility preservation needs are higher. At present, the commonly used fertility preservation methods include embryo, oocyte, ovarian tissue cryopreservation and so on. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation, which has a short history of 20 years, is a fertility preservation method for patients with medical indications clinically. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation can rebuild the endocrine function and fertility of patients to a certain extent. More than 200 infants have been born through this technology. To enhance the safety of this technology, current research combines oocyte *in vitro* maturation and artificial ovaries transplantation to avoid the risk of cancer recurrence after transplantation of cryopreserved ovarian tissue with a high risk of carrying cancer. Now, many studies have confirmed the effectiveness and security of ovarian tissue cryopreservation and transplantation. Despite the rapid development of ovarian tissue cryopreservation and transplantation technology, it still faces challenges, such as how to prolong the function of the ovarian tissue after transplantation, etc. More basic and clinical researches are needed to promote the development of ovarian tissue cryopreservation and ovarian tissue transplantation technology.

Keywords ovarian tissue cryopreservation; ovarian tissue transplantation; oocyte *in vitro* maturation; follicle reserve loss

目前我国乃至全球均面临人口出生率下降的严峻现状, 高龄、肿瘤和部分非肿瘤性疾病自身以及抗肿瘤治疗, 均会造成女性生育力下降甚至丧失。随着对癌症的预防及诊疗等技术的不断发展, 恶性肿瘤发生具有年轻化趋势, 育龄期以前恶性肿瘤患者的5年和长期生存率均大大提高^[1], 因此恶性肿瘤患者治愈后可能存在的生殖内分泌以及生育需求不容忽视。美国肿瘤医学会和生殖医学会均认为年轻恶性肿瘤患者在抗肿瘤治疗前应该进行生育力保存咨询, 并且该过程应当是年轻患者进行抗肿瘤治疗过程中不可缺少的部分^[2]。2006年美国临床肿瘤学会发布了第一份生育力保存指南^[3], 之后生育力保存开始在全球范围内实施, 我国也陆续发布了《生育力保存中国专家共识》、《中国男性生育力保存专家共识》、《卵巢组织冻存与移植中国专家共识》等专家共识, 然而目前我国生育力保存相关工作尚处于起步阶段, 胚胎冻存、卵母细胞冻存和卵巢组织冻存 (ovarian tissue cryopreservation, OTC) 等是目前常用的生育力保存方式, 青春期或育龄期女性主要采用胚胎和卵母细胞冻存方式, 而卵巢组织冻存主要适用于青春期前的儿童, 抗肿瘤治疗前时间紧迫无法行诱导排卵的育龄期女性, 重度、复发性卵巢子宫内膜异位囊肿或卵巢扭转等存在生育力损害的患者, 以及卵巢功能不全家族史或特纳综合征的患者等^[4]。

1 卵巢组织冻存与移植的历史与现状

卵巢组织冻存与卵巢组织移植 (ovarian tissue transplantation, OTT) 技术是指手术取出部分卵巢组织进行冻存保存, 待患者痊愈且经过多学科医生评估排除妊娠禁忌并和患者充分沟通后, 将冻存卵巢组织复苏并排除恶性细胞污染后重新移植回患者体内, 以帮助患者恢复的生殖内分泌和生育功能, 提高恶性肿瘤患者治愈后的生活质量^[5], 最近美国生殖医学协会将卵巢组织冻存保存由实验性技术改为有医学指征的生育力保存技术^[6]。卵巢组织冻存与移植技术发展距今仅20余年。1996年HOVATTA团队^[7]以及2000年KUTLUK团队^[8]分别报道了首例人卵巢组织成功冻存和自体冻融卵巢组织移植后恢复卵巢内分泌功能的病例。2004年DONNEZ团队^[9]和2021年首都医科大学附属妇产医院阮祥燕教授团队^[10]分别报道了世界和中国首例自体卵巢组织冻存、移植后妊娠并顺利分娩的案例, 之后我国陆续有卵巢组织移植成功的案例报道。

腹腔镜下取出卵巢组织后, 立即放入无菌转移液, 使用专用低温转运箱 (保持4°C~8°C), 快速转运至卵巢组织冻存实验室, 转运时间不宜超过24小时^[5]。OTC常用的冻存技术有三种, 包括玻璃化冻存、慢速冻存和超快速冻存。慢速程序化冻存方案相对成熟, 采用低浓度冻存保护剂, 但冻存过程中细胞内容易产生冰晶, 对细胞造成一定程度上的

损伤; 玻璃化冻存法采用高浓度冻存保护剂, 快速降温最大限度减少细胞内外冰晶的形成, 减少细胞损伤; 超快速冻存是介于玻璃化冻存和慢速冻存之间的一种中途冻存技术, 它比慢速冻存更快, 且所需的冻存剂浓度比玻璃化更低, 目前关于超快速冻存的报道较少^[11]。尽管玻璃化冻存已是胚胎和卵母细胞冻存的标准方法, 但目前应用卵巢组织玻璃化冻存技术出生的婴儿仍较少, 所以该技术应用于卵巢组织冻存的安全性及有效性尚缺乏临床证据支持。

卵巢组织移植的部位可分为卵巢原位移植和异位移植。原位移植主要采用腹腔镜手术将卵巢皮质组织通过非血管吻合的方式移植于盆腔内卵巢或卵巢对应的特定腹膜袋部位^[12], 该方法为患者提供了自然妊娠的可能性, 目前卵巢移植后活产大部分为原位移植病例报道。当盆腔接受放射治疗后, 盆腔血供较差不适宜卵巢组织移植时, 可选择异位移植在血管较丰富的部位, 如上臂、大腿或腹部的皮下组织、肌肉和网膜等, 但异位移植的局部环境如温度及压力的不适宜, 可能会对移植后卵巢组织存活率以及卵母细胞质量造成一定程度的影响。OTC与OTT技术发展至今造福了许多生育力保存患者。

2 卵巢组织冻存与移植的有效性

据报道, 约95%患者卵巢组织冻存再移植后内分泌功能恢复至正常, 妊娠率可高达50%, 活产率约40%^[13], 全球已有200多例婴儿通过此技术诞生。在2021年另一项包含了欧洲五大中心的285名妇女冻存卵巢组织移植结局的研究发现, OTT后88.7%(不同中心: 77.6%~97.2%)患者恢复内分泌功能, 移植后至首次月经来潮的平均间隔时间为(4.5±2.2)个月, 约26%的患者成功妊娠并分娩^[12]。2022年一项荟萃分析表明, OTT后患者平均临床妊娠率和活产率分别为37%和28%; 雌激素水平均值较移植前升高, 卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)水平均值较移植前下降, 卵巢内分泌功能得到一定程度的恢复, 且卵巢内分泌功能可持续中位时间为2.5年, 最高可持续7.7年^[14]。2023年关于不同生育力保存方式的荟萃分析表明, 通过胚胎和卵母细胞冻存方式生育力保存患者的活产率分别是41%和32%, 而接受卵巢组织冻存与移植的患者中, 通过体外受精-胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)技术妊娠的活产率和自然妊娠活产率分别

为21%和33%^[15]。可见卵巢组织冻存与移植为患者的生殖内分泌及生育功能重建提供了良好的临床结局, 且约2/3患者夫妇通过自然妊娠获得妊娠。

尽管目前已有许多研究证明了冻存卵巢组织再移植后妊娠率和活产率均较高, 但其回输率仍较低。根据荷兰莱顿大学医院的数据统计, 院内OTC患者的自体卵巢组织回输移植率仅为8.7%^[16]。因此开展卵巢组织冻存与移植行生育力保存任重道远, 建议增加多学科沟通与合作、加强宣教提高患者对冻存卵巢组织自体移植的认知, 帮助患者做出更好的选择^[17]。

3 卵巢组织冻存与移植的安全性

卵巢组织移植导致恶性肿瘤(如血液系统恶性肿瘤)复发是临床顾虑之一, 因此为避免恶性细胞被引入体内的风险, 目前的创新技术包括卵母细胞体外成熟(*in vitro* maturation, IVM)和人工卵巢^[18-19]。通过借助组织工程, 可以创造出包含卵泡、卵泡生长和发育所必需的细胞外基质和血管化等周围组织的人工卵巢^[20-22]。一项系统综述研究表明: 根据已报道的人类和实验动物研究, 人工卵巢可产生雌激素和孕激素, 并支持各种卵泡的生长, 且目前尚未见严重并发症报道^[23]。但也有研究表明: 人工卵巢不能重建卵巢内分泌功能, 但会产生生长较慢的卵泡和卵母细胞^[24]。卵母细胞IVM是通过收集卵泡内的未成熟卵母细胞或原始卵泡进行IVM, 以产生具备生育能力的MII卵母细胞或形成胚胎后冻存, 然而目前尚没有癌症患者中卵母细胞IVM后活产的报道^[25]。

通常建议患者在化疗开始前进行OTC, 但考虑到安全性问题, 在急性白血病患者化疗开始前行OTC是不可行的, 为降低白血病患者卵巢组织冻存、复苏与移植携癌风险, 应在患者完全缓解时进行卵巢组织取材^[26]。2019年POIROT等^[27]研究表明, 血液系统恶性疾病患者在化疗前后进行OTC及OTT, 生育结局未见显著差异。2023年MURAT等^[28]对行OTC与OTT的4例急性髓系和2例急性淋巴细胞白血病患者病历资料进行研究, 所有患者均接受了同种异体造血干细胞移植前的大剂量多药化疗, OTC前平均抗苗勒管激素(anti-Müllerian hormone, AMH)水平为(1.9±1.7) ng/mL。冻存卵巢组织移植前均进行了白血病相关组织学、免疫组化和分子标志物评估, 筛选均阴性的卵巢组织条带进行移植, 术后所有

患者均无复发,其中1例患者在剖宫产同时移除移植植物,且移除的卵巢组织白血病免疫化学标志物均呈阴性。因此,同种异体造血干细胞移植前接受预处理化疗的年轻白血病患者仍可进行卵巢组织冻存生育力保存。欧洲人类生殖和胚胎学会指南也提出,已接受过低性腺毒性治疗或既往接受肿瘤化疗不应被认为是卵巢组织冻存的限制因素^[29]。

既往研究表明,高科技的不孕治疗技术有可能增加妊娠和围产期不良并发症发生风险^[30],OTC后是否会造成表观遗传学改变,目前研究较少且存在争议^[31]。2017年的一项研究表明,与常规自然妊娠出生的子代相比,自体冻存卵巢组织移植后出生的子代缺陷率并无显著差异^[32]。由于OTC及OTT技术仅有20余年历史,关于卵巢组织冻存的妊娠期、围产期、其子代安全性的研究较少,因此有待开展对通过该技术出生婴儿的长期队列研究,进一步证明OTC及OTT技术的安全性。

4 卵巢组织冻存与移植面临的挑战

绝大多数原始卵泡会在OTC与OTT过程中丢失,卵巢组织移植后原始卵泡存活的数量决定了移植后的临床疗效,如何最大限度地减少卵泡储备损耗是研究的重点。冻融卵巢组织移植后的卵泡储备情况受多种因素影响,如卵巢组织冻存时患者的年龄、卵巢组织冻存方法、卵巢组织冻存前抗肿瘤治疗情况、卵巢组织移植部位以及移植物体积等^[33]。OTT过程中组织缺血损伤、缺血再灌注损伤以及原始卵泡激活,均会导致卵泡储备损失^[34]。

已有众多研究通过降低OTT后原始卵泡激活水平,改善患者的内分泌及生育功能重建。生长因子,包括碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、促红细胞生成素(effects of erythropoietin, EPO)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等^[35-37]可促进卵巢移植后血供重建,减少组织缺血损伤、缺血再灌注损伤和卵泡储备损失。除此之外,在移植前卵巢组织培养过程中,适当添加如FSH、黄体生成素(luteinizing hormone, LH)、AMH等激素也可通过抑制原始卵泡过度激活,促进卵巢组织的血运重建,从而促进卵巢组织中卵泡的存活^[38-40]。不少研究表明抗凋亡药物如1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1 phosphate, S1P)、Caspase抑制剂Z-VAD-FMK等可以通过减少

冻融过程中卵巢组织DNA损伤、避免缺血再灌注损伤、促进移植组织中的新血管生成等方式提高卵巢组织移植后存活率,但目前仍处于临床前研究阶段,需要更多的研究支持^[41-42]。研究表明,间充质干细胞可以通过分泌生长因子以及分化为内皮细胞,促进移植卵巢组织的血管生成和卵泡存活^[43],为间充质干细胞应用于OTT提供理论依据,但目前尚无充足研究证明其安全性和有效性。抗坏血酸、褪黑素、维生素C、维生素E等抗氧化因子可中和缺血性应激产生的过量氧自由基,可减轻血管内皮损伤,有利于移植卵巢组织存活,但目前争议较大,临床应用有限^[44]。随着材料工程学的发展,通过将生物材料和细胞、生长因子等相结合,可进一步促进OTC与OTT的发展,氧化石墨烯/聚乳酸纳米纤维支架作为一种新型纳米材料,与正常卵巢皮质共移植到POI小鼠原位卵巢组织中,可促进移植体与原位卵巢组织的融合,改善卵巢功能和提高卵泡数量^[45-46]。

5 总结与展望

随着OTC与OTT技术的不断发展,其已成为临床常用的生育力保存方法之一。目前已有较多的研究证实了卵巢组织冻存与移植技术的有效性和安全性,但是冻存卵巢组织的回输率仍较低,因此需要进一步加强多学科之间的沟通与交流。许多新兴的技术仍处于临床前研究阶段,卵巢组织冻存与移植技术的发展仍存在众多挑战,我们期待更多卵巢组织冻存与移植技术有效性和安全性的研究,促进该技术在生育力保存领域的快速发展。

参考文献 (References)

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, WAGLE N S, et al. Cancer statistics, 2023 [J] CA Cancer J Clin, 2023, 73(1): 17-48.
- [2] REBAR R W, KEATOR C S. Expanding our knowledge of premature ovarian insufficiency [J]. Fertil Steril, 2021, 115(2): 328-9.
- [3] LEE S J, SCHOVER L R, PARTRIDGE A H, et al. American society of clinical oncology recommendations on fertility preservation in cancer patients [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(18): 2917-31.
- [4] DONNEZ J, DOLMANS M M. Fertility preservation in men and women: where are we in 2021? Are we rising to the challenge [J]? Fertil Steril, 2021, 115(5): 1089-90.
- [5] 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(INTERNATIONAL SOCIETY OF GYNECOLOGY, CHINESE SOCIETY OF GYNECOLOGY AND CONSENSUS EXPERTS. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: the first chi-

- nese expert consensus [J]. Chinese Journal for Clinicians, 2018, 46(4): 496-500.
- [6] OKTAY K H, MARIN L, PETRIKOVSKY B, et al. Delaying reproductive aging by ovarian tissue cryopreservation and transplantation: is it prime time [J]? Trends Mol Med, 2021, 27(8): 753-61.
- [7] HOVATTA O, SILYE R, KRAUSZ T, et al. Cryopreservation of human ovarian tissue using dimethylsulphoxide and propanediol-sucrose as cryoprotectants [J]. Hum Reprod, 1996, 11(6): 1268-72.
- [8] KUTLUK O, GUVENÇ K. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue [J]. N Engl J Med, 2000, 342(25): 1919.
- [9] DONNEZ J, DOLMANS M M, DEMYLLE D, et al. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue [J]. Lancet, 2004, 364(9443): 1405-10.
- [10] 阮祥燕, 杜娟, 卢丹, 等. 中国冻存卵巢组织自体移植后首例活产报道[J]. 中国临床医生杂志(RUAN X Y, DU J, LU D, et al. Report on the first live birth after autotransplantation of frozen tissue in China [J]. Chinese Journal for Clinicians), 2021, 49(10): 1258-60.
- [11] BAHROUDI Z, ZARNAGHI M R, IZADPANAH M, et al. Review of ovarian tissue cryopreservation techniques for fertility preservation [J]. J Gynecol Obstet Hum Reprod, 2022, 51(2): 102290.
- [12] DOLMANS M M, VON WOLFF M, POIROT C, et al. Transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a series of 285 women: a review of five leading European centers [J]. Fertil Steril, 2021, 115(5): 1102-15.
- [13] DOLMANS M M, DONNEZ J, CACCIOTTOLA L. Fertility preservation: the challenge of freezing and transplanting ovarian tissue [J]. Trends Mol Med, 2021, 27(8): 777-91.
- [14] COLMORN L B, PEDERSEN A T, LARSEN E C, et al. Reproductive and endocrine outcomes in a cohort of Danish women following auto-transplantation of frozen/thawed ovarian tissue from a single center [J]. Cancers, 2022, 14(23): 5873.
- [15] FRAISON E, HUBERLANT S, LABRUNE E, et al. Live birth rate after female fertility preservation for cancer or haematopoietic stem cell transplantation: a systematic review and meta-analysis of the three main techniques; embryo, oocyte and ovarian tissue cryopreservation [J]. Hum Reprod, 2023, 38(3): 489-502.
- [16] HOEKMAN E J, LOUWE L A, ROOIJERS M, et al. Ovarian tissue cryopreservation: low usage rates and high live-birth rate after transplantation [J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2020, 99(2): 213-21.
- [17] 赵飞燕, 蒋春艳, 马翔. 卵巢组织冻存与移植的发展现状[J]. 实用妇产科杂志 (ZHAO F Y, JIANG C Y, MA X. Current situation of tissue cryopreservation and transplantation [J]. Journal of Practical Obstetrics and Gynecology), 2023, 39(11): 833-7.
- [18] 程姣姣, 阮祥燕, 杜娟, 等. 卵巢组织冻存移植安全性的研究进展[J]. 首都医科大学学报(CHENG J J, RUAN X Y, DU J, et al. Research progresses in the safety of cryopreserved ovarian tissue transplantation [J]. Journal of Capital Medical University), 2021, 42(4): 505-10.
- [19] CANOSA S, REVELLI A, GENNARELLI G, et al. Innovative strategies for fertility preservation in female cancer survivors: new hope from artificial ovary construction and stem cell-derived neo-folliculogenesis [J]. Healthcare, 2023, 11(20): 2748.
- [20] DOLMANS M M, AMORIM C A. FERTILITY PRESERVATION: construction and use of artificial ovaries [J]. Reproduction, 2019, 158(5): F15-25.
- [21] DADASHZADEH A, MOGHASSEMI S, SHAVANDI A, et al. A review on biomaterials for ovarian tissue engineering [J]. Acta Biomater, 2021, 135: 48-63.
- [22] CARIATI F, CARBONE L, IORIO G G, et al. Cryopreservation of ovarian tissue: the biggest challenge of oncofertility [J]. Minerva Obstet Gynecol, 2023, 75(4): 371-8.
- [23] WU T, HUANG K C, YAN J F, et al. Extracellular matrix-derived scaffolds in constructing artificial ovaries for ovarian failure: a systematic methodological review [J]. Hum Reprod Open, 2023, 2023(2): hoad014.
- [24] VARLAS V N, BORS R G, CRETOIU R, et al. Virtual reality in laparoscopic colorectal surgery training [J]. Maedica, 2023, 18(3): 477-82.
- [25] TELFER E E, ANDERSEN C Y. *In vitro* growth and maturation of primordial follicles and immature oocytes [J]. Fertil Steril, 2021, 115(5): 1116-25.
- [26] DOLMANS M M. Safety of ovarian autotransplantation [J]. Blood, 2012, 120(22): 4275-76.
- [27] POIROT C, FORTIN A, DHÉDIN N, et al. Post-transplant outcome of ovarian tissue cryopreserved after chemotherapy in hematologic malignancies [J]. Haematologica, 2019, 104(8): e360-3.
- [28] SÖNMEZER M, ŞÜKÜR Y E, SAÇINTI K G, et al. Safety of ovarian cryopreservation and transplantation in patients with acute leukemia: a case series [J]. Am J Obstet Gynecol, 2024, 230(1): 79,e1-10.
- [29] THE ESHRE GUIDELINE GROUP ON FEMALE FERTILITY PRESERVATION, ANDERSON R A, AMANT F, et al. ESHRE guideline: female fertility preservation [J]. Hum Reprod Open, 2020, 2020(4): hoaa052.
- [30] PALOMBA S. Risk of adverse pregnancy and perinatal outcomes after high technology infertility treatment: a comprehensive systematic review [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2016, 14(1): 76.
- [31] TRAPPHOFF T, DIETERLE S. Cryopreservation of ovarian and testicular tissue and the influence on epigenetic pattern [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(13): 11061.
- [32] JENSEN A K, MACKLON K T, FEDDER J, et al. 86 successful births and 9 ongoing pregnancies worldwide in women transplanted with frozen-thawed ovarian tissue: focus on birth and perinatal outcome in 40 of these children [J]. J Assist Reprod Gene, 2017, 34(3): 325-36.
- [33] RODRIGUEZ-WALLBERG K A, TANBO T, TINKANEN H, et al. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation among alternatives for fertility preservation in the Nordic countries-compilation of 20 years of multicenter experience [J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2016, 95(9): 1015-26.
- [34] HAN C L, ZENG Q, HE L B, et al. Advances in the mechanisms related to follicle loss after frozen-thawed ovarian tissue transplantation [J]. Transpl Immunol, 2023, 81: 101935.
- [35] TANAKA A, NAKAMURA H, TABATA Y, et al. Effect of sustained release of basic fibroblast growth factor using biodegradable gelatin hydrogels on frozen-thawed human ovarian tissue in a xenograft model: Sustained release of bFGF on ovarian graft [J].

- J Obstet Gynaecol Res, 2018, 44(10): 1947-55.
- [36] GAO J, HUANG Y, LI M, et al. Effect of local basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor on subcutaneously allotransplanted ovarian tissue in ovariectomized mice [J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0134035.
- [37] KOLUSARI A, OKYAY A G, KOÇKAYA E A. The effect of erythropoietin in preventing ischemia-reperfusion injury in ovarian tissue transplantation [J]. Reprod Sci, 2018, 25(3): 406-13.
- [38] MA W Z, ZHENG X M, HEI C C, et al. Optimal FSH usage in revascularization of allotransplanted ovarian tissue in mice [J]. J Ovarian Res, 2017, 10(1): 5.
- [39] ZHENG X, CHEN J, YANG Y, et al. Exogenous luteinizing hormone promotes ovarian survival and function during cryopreservation and transplantation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526(2): 424-30.
- [40] RODGERS R J, ABBOTT J A, WALTERS K A, et al. Translational physiology of anti-Müllerian hormone: clinical applications in female fertility preservation and cancer treatment [J]. Front Endocrinol, 2021, 12: 689532.
- [41] TSAI Y C, TZENG C R, WANG C W, et al. Antiapoptotic agent sphingosine-1-phosphate protects vitrified murine ovarian grafts [J]. Reprod Sci, 2014, 21(2): 236-43.
- [42] FRANSOLETT M, NOËL L, HENRY L, et al. Evaluation of Z-VAD-FMK as an anti-apoptotic drug to prevent granulosa cell apoptosis and follicular death after human ovarian tissue transplantation [J]. J Assist Reprod Genet, 2019, 36(2): 349-59.
- [43] MANAVELLA D D, CACCIOTTOLA L, PAYEN V L, et al. Adipose tissue-derived stem cells boost vascularization in grafted ovarian tissue by growth factor secretion and differentiation into endothelial cell lineages [J]. MHR Basic Sci Reprod Med, 2019, 25(4): 184-93.
- [44] TAKAE S, SUZUKI N. Current state and future possibilities of ovarian tissue transplantation [J]. Reprod Med Biol, 2019, 18(3): 217-24.
- [45] YAN L, WANG L, WU J, et al. Multi-biofunctional graphene oxide-enhanced poly-L-lactic acid composite nanofiber scaffolds for ovarian function recovery of transplanted-tissue [J]. Npj Regen Med, 2022, 7(1): 52.
- [46] IZADPANAH M, RAHBARGHAZI R, SEGHINSARA A M, et al. Novel approaches used in ovarian tissue transplantation for fertility preservation: focus on tissue engineering approaches and angiogenesis capacity [J]. Reprod Sci, 2023, 30(4): 1082-93.