

罹患癌症的婦女生育能力的保存 --- 卵巢組織冷凍，胚胎

冷凍，卵子冷凍以及捐贈

成大醫院婦產部生殖內分泌科試管嬰兒室 吳孟興

■ 摘要

目前生育年齡的癌症患者隨著藥物的進步，可以藉由治療增加存活的機會，但是不免要付出一些代價，罹患癌症的婦女可能因為抗癌藥物對生殖腺的毒性導致永久失去生育能力，此次 Owen K. Davis 的演講包含討論放射線治療及化學治療對於卵巢功能的影響，以及如何降低這些影響。臨床上，可以在病患接受癌症治療前，利用冷凍胚胎或冷凍卵子的方法，增加術後病人的懷孕機率，但由於從卵巢刺激到取卵，約需要二至六週的時間，因此只適用於不需要立即接受化療的病人，例如乳癌患者。然而在這類病人中，若伴隨著雌激素表現量高，則需要調整刺激方式，以減少卵巢過度刺激的不良反應。近幾年的研究指出，對於需要立即接受治療或尚未進入青春期的癌症病患，可以利用冷凍卵巢組織的方式，保存患者的生育能力。而對於那些因為接受治療而導致卵巢功能喪失的病人，接受卵子捐贈也是目前高成功率的選擇之一。

■ 治療的傷害機轉以及範圍(Extent and mechanism of damage)

每年約有八萬個癌症婦女可能因為接受化療或放射線治療而失去生育能力，尤其是生育年齡約有 3 萬個乳癌患者，其他如血液癌症以及兒童癌症等，都可能受到影響，放射線治療時當骨盆腔內的放射線含量大於 20Gy 就會造成 40 歲以下婦女卵巢功能喪失，40 歲以上的婦女是當骨盆腔內放射線含量到達 6Gy 以上便會造成卵巢功能喪失的現象，放射線治療後會減少子宮 40% 的體積，治療前利用卵巢固定手術將卵巢上移至放射線治療照射範圍之外，可以保存 60-100% 的生育功能。化學療法對女性生育能力的傷害，取決於化療藥物種類、體內化療藥物的累積量以及患者的年齡。根據 Sonmezer M and Oktay K(2004) 統計 Cyclophosphamide, Chlorambucil, Melphalan, Busulfan, Nitrogen Mustard, Procarbazine 等 alkylating 烷化劑化療藥物對於生殖腺的傷害較大；Cisplatin, Adriamycin 等含鉑的化療藥物屬於 intermediate risk；抗代謝、抗生素 Methotrexate, 5-Fluorouracil, Vincristine, Bleomycin, Actinomycin D 等治療方式則是屬於 low risk。Sanders JE 等人(1996)指出當罹患癌症的婦女接受高劑量 Cyclophosphamide 後不管是否合併全身放射治療大於 85% 的患者會造

成卵巢功能喪失，若是能夠恢復正常卵巢功能，約 30%可以懷孕成功，但是這些接受骨髓移植的癌症婦女若是合併全身放射治療則比單獨化學治療的患者容易流產。

■ 抑制卵巢功能是否可以保護(Does ovarian suppression protect?)

當癌症病人以冷凍精子經由試管嬰兒的方式成功地延續下一代之後，如何為罹患癌症的婦女保有生育能力，也熱烈的被討論研究著。目前被研究的方法包括：在化療前使用GnRH agonist抑制卵巢功能、胚胎冷凍、卵子冷凍及卵巢冷凍等。在卵子發育過程中，primordial follicle之前的階段是不受到GnRH的調控，刺激或抑制卵巢的功能並不影響primordial follicle的保存量。1996年Blumenfeld Z等人使用GnRH agonist合併化學治療 93.7%恢復排卵以及月經，而沒有使用GnRH agonist的病患只有 39%恢復，Castelo-Branco C等人(2007)研究指出，使用GnRH agonist合併Tibolone藥物也可以增加治療後病患恢復月經的比率(90% v.s. 23%)。但也有研究對此影響持不同意見，Waxman JH等人(1987)研究認為合併GnRH agonist治療與控制組相比並不能降低其傷害性。最近 Hancke K等人(2007)動物研究則指出注射Sphingosine 1-phosphate也可以保護化學治療過程中卵巢的細胞傷害，增加懷孕機會。

■ 乳癌病患的胚胎冷凍(Embryo cryopreservation in breast cancer)

在接受癌症治療之前，先進行試管嬰兒(IVF)的治療並將胚胎冷凍，有助於保存病患的生殖能力。其病患必須符合以下條件：已婚且卵巢功能正常、增加體內雌激素的含量或骨盆的穿刺並不會影響病情、而且癌症治療計劃可以延至取卵後才開始。乳癌是生育年齡婦女最常見的癌症疾病，美國每年約有二十二萬婦女罹患乳癌，其中有四分之一是停經前婦女。乳癌手術合併化學治療為輔助，可以達到更好的治療效果，在手術切除和化療開始之間有六週的間隔，足夠乳癌患者接受IVF的療程。傳統刺激卵泡成熟的方法，會造成體內雌激素的分泌增加，進而刺激惡性細胞的生長；然而自然週期 IVF一個週期僅能得到一個胚胎，對於可能因為接受化療而喪失生育能力的婦人，顯得緩不濟急。所幸一些乳癌的治療藥物本身就會對排卵有刺激作用，例如：Tamoxifen, Aromatase inhibitor等。Tamoxifen是雌激素的拮抗劑，最早在英國被使用在性交後避孕，後來發現此藥有刺激排卵的作用，也被證實對大鼠乳癌有抑制的效果；另外第三代Aromatase inhibitor (Letrozole)也可以治療乳癌，半衰期只有 48 小時，可抑制 90%雌激

素的作用，最近開始用來刺激排卵，使用每錠 5mg 的劑量效果比 2.5mg 好，不影響子宮內膜，較多卵子生成而且懷孕率高 (Al-Fadhli R et al, 2006)。基於以上的原因，Owen K. Davis 等人研究改變乳癌婦女使用的排卵藥、排卵針，是否對卵巢刺激可以得到比較好的效果。Owen K. Davis 等人將 86 位希望藉由 IVF 保存生育能力的乳癌患者分為三組，分別使用不同方式刺激排卵，一組使用 Tamoxifen，一組使用 Tamoxifen 合併 FSH 刺激，另外一組則使用 Letrozole 合併 FSH 刺激，取卵後繼續 Letrozole 使用。結果發現使用 Letrozole 合併 FSH 刺激可以得到較多的卵子、胚胎、和往後的懷孕率及活產率較佳，而血中雌激素濃度較低，似乎也不會影響乳癌復發的機會。而 Tamoxifen 合併 FSH 的刺激效果也比單獨使用 Tamoxifen 好，但還需要更多的研究才能證實。根據 2004 年統計植入冷凍胚胎的活產率，小於 35 歲的婦女活產率是 30.5%，35~37 歲婦女的活產率是 27.7%，38~40 歲婦女活產率是 23.1%，41~42 歲婦女則剩下 18.7%。Oktay K 等人 (2005) 發表類似的研究也有相同的結論，而且 Letrozole 又可以使用於子宮內膜癌的患者。目前 Owen K. Davis 等人則正在進行合併 GnRH antagonist 以及 Letrozole (Aromatase inhibitor) 合併 FSH 刺激取卵的研究。

■ 癌症婦女的卵子冷凍 (Oocyte cryopreservation)

對於單身的癌症婦女而言，與捐贈者精子受精後的胚胎冷凍或卵子、卵巢冷凍都是保存生育能力的選擇。卵子冷凍技術除了癌症婦女保存生育能力外已經廣泛應用，尤其是義大利和德國立法禁止胚胎冷凍，卵子冷凍技術的發展緩慢主要的困難在於卵子的體積較大且細胞膜通透性的變異大，不容易脫水完全，因此在冷凍過程中較容易形成細胞內冰晶，卵子外 zona pellucida 也會因為冷凍過程而變硬，另外卵子冷凍會增加卵子在受精後進行第二次減數分裂時染色體的配對、分離問題，造成胎兒異常。然而進年來 intracytoplasmic sperm injection (ICSI) 以及卵子冷凍技術的改進可以成功的將卵子保存下來，卵子冷凍選擇為進入 Metaphase II 的卵子，其冷凍方式分為慢速冷凍和玻璃化冷凍法兩種。第一起利用冷凍卵子成功懷孕的案例發生在 1986 年，使用顯微注射的技術使卵子受孕成功。慢速冷凍的過程開始以每分鐘下降兩度的速度降溫至 -8°C，維持在 -8°C 10 分鐘，接著以每分鐘下降 0.3°C 的速度降溫至 -30°C，再以每分鐘下降 50°C 的速度降溫到 -150°C，並停留兩個小時後，再放入液態氮桶。玻璃化冷凍是利用高濃度的抗凍劑，讓細胞在冰晶形成前快速冷凍。雖然卵子冷凍技術已經改善，但使用冷凍卵子成功懷孕率仍然大約只有 1~1.5%，因此只有在冷凍胚胎方

式不可行時才建議採用。

■ 卵巢組織冷凍(Ovarian cryopreservation)

卵巢組織冷凍的困難在於包括體積較大，冷凍解凍的過程不易保存完整；植入的位置及持久性；缺血再灌注(ischemia-reperfusion)的過程會使組織細胞受到缺氧的傷害；可能會使癌症細胞轉移等；此外往後卵巢組織的移植是原位(Orthotopic)植入或異位(Heterotopic)植入或甚至異種移植也需要考慮。整個卵巢冷凍的技術在老鼠及羊都有成功的案例，但由於人類的卵巢體積較大，人類的卵巢 4x2x0.8 cm (20-35 gm)相對於羊 2.5x1.5x0.5 (3-8 gm)，目前技術只能冷凍卵巢組織切片。人類整個卵巢冷凍的技術現在有三起成功的案例(Martinez-Madrid B et al, 2007)，病人在卵巢切除後，灌注以及浸泡在 10%DMSO 的冷凍液保護劑中，利用慢速冷凍的技術，冷凍整個卵巢組織。卵巢組織切片慢速冷凍的步驟(Oktaý K et al, 2003)：在 0°C 的溫度下，將卵巢皮層切片浸泡在冷凍保護劑中 30 分鐘，接著以每分鐘 2°C 的速度降溫至 -9°C，維持 -9°C 10 分鐘後接種冰晶，並以每分鐘下降 0.3°C 的速度降溫至 -40°C，每分鐘下降 10°C 的速度降到 -140°C，再移到液態氮中保存。再製備冷凍檢體的時候，要利用光學顯微鏡或molecular marker確定檢體，另外，在冷凍前及冷凍後都要測試檢體特性，以確定冷凍過程不傷害卵巢組織的完整性。對於卵巢移植是否會造成癌症細胞轉移的疑慮，Kim SS等人(2001)研究案例報告，將 18 位患有淋巴瘤的病患卵巢組織切片，利用異種移植到SCID的老鼠身上，老鼠都沒有發生腫瘤。這個研究的控制組實驗，是將 18 位病人的淋巴結切片移植到老鼠身上，結果都產生人類B細胞淋巴瘤。

卵巢組織的解凍植入方法可以分為原位植入或異位植入兩種，原位植入卵巢組織成功的案例自 2000 年起陸續有被報導，若能恢復正常的卵巢功能，則病人可不藉助外力懷孕成功；若無法恢復正常的卵巢功能或採用異位移植的方式，則病人還需要接受試管嬰兒的治療，才能懷孕。全世界第一起卵巢解凍植入後成功懷孕的案例，其病人是在 25 歲因 Hodgkin' s lymphoma 需要接受 MOPP 治療，將卵巢皮層切片冷凍，在 2003 年植入卵巢原本位置，植入後卵巢功能陸續恢復，11 個月後病人由驗血報告證實懷孕，並順利生下小孩。卵巢異位移植適合用於接受骨盆腔放射線治療的病患，其優點是較不侵襲性、可重複施術或移除、容易監測卵子發育、取卵方便等。從 2001 年起至今有三起案例，其結果指出將卵巢皮層組織切片異位移植能成功使病人恢復卵巢排卵及分泌荷爾蒙的功能。一位

36 歲乳癌 stage II 的病人，乳癌細胞對雌激素受體呈陽性反應，六年前接受化療和骨髓移植，化療結束後病患立刻停經，利用病人在接受手術前冷凍的卵巢皮層組織，解凍植入婦人腹部皮膚下，之後成功接受 IVF 治療。

■ 卵子捐贈(Oocyte donation)

對於以上的建議都無法處理的患者若是仍然考慮懷孕，卵子捐贈是適當的方式，捐贈者和受贈者需要同步接受周期治療，捐贈者須接受 superovulation 刺激，第十四天注射破卵針，第十六天取卵；而受贈者須在捐贈者取卵的前一天（第十五天）開始補充黃體素，待胚胎發育到四細胞至八細胞時期植入。根據疾病管制局及協助生殖技術學會 2004 年統計資料顯示，9283 個新鮮胚胎植入受贈者體內，平均每個治療週期植入 2.4 顆胚胎，治療週期有活產的比率為 50.5%。

■ 總結

隨著醫療的進步，癌症治療所引起的卵巢功能喪失對於罹患癌症的婦女來說是個很重要的問題，在治療前先抑制卵巢功能可能並無法完全有效保護卵巢部受到癌症治療的傷害，對於乳癌及子宮內膜癌的病人可採取如胚胎或卵子冷凍的措施以保存患者的生育能力。接受癌症治療的婦女在治療結束後三到六年懷孕率 5~28%，年紀越大懷孕率越低；接受癌症治療前使用 GnRH agonist 保護卵巢，此方法仍然還在試驗階段；冷凍胚胎於治療後植入，每次植入的成功率是 20~30%；冷凍卵子於治療後受精等待發育成胚胎後再植入，每個解凍的卵子成功率約為 3%；冷凍卵巢皮層組織於治療後植入體內，到目前為止已經有成功懷孕的案例被報導；至於癌症治療後接受卵子捐贈，每次植入的成功懷孕率為 40~50%。因此對於罹患癌症的婦女若是能事先加以諮詢，可以根據各人的需求接受不同的處置以保留其生育功能。