

人类辅助生殖技术及子代健康状况评估的进展

刘晓奇, 姜泓

延安大学附属医院, 陕西 延安

收稿日期: 2022年8月7日; 录用日期: 2022年8月29日; 发布日期: 2022年9月8日

摘要

近些年来, 不孕不育症的发病率呈逐年递增趋势可能与晚婚晚育、性传播疾病等各种因素影响有关, 加之国家三胎政策的开放, 越来越多的高龄夫妇有了生育需求, 因此人类辅助生殖技术(artificial reproductive technology, ART)已成为目前治疗不孕不育症重要的医学手段。随着越来越多通过ART受孕后出生的新生儿, 人们对其健康问题的关注也逐渐增加。本综述就人类辅助生殖技术现状进行相关介绍, 同时对辅助生殖技术助孕后子代健康状况进行概述。

关键词

人类辅助生殖技术, 子代, 健康状况, 综述

Progress in Human Assisted Reproductive Technology and Evaluation of Health Status of Offspring

Xiaoqi Liu, Hong Jiang

Affiliated Hospital of Yan'an University, Yan'an Shaanxi

Received: Aug. 7th, 2022; accepted: Aug. 29th, 2022; published: Sep. 8th, 2022

Abstract

In recent years, the increasing incidence of infertility has been increasing year by year. It may be related to various factors such as late marriage and sexual communication diseases. In addition, with the opening of the national three-child policy, more and more elderly couples have fertility demand. Therefore, ARTIFICIAL Reproductive Technology (ART) has become an important medical method for the treatment of infertility. As more and more newborns are born through ART after pregnancy, people's attention to their health issues has gradually increased. In this review, we will

introduce the status quo of human-assisted reproductive technology, and at the same time summarize the health status of the auxiliary reproductive technology for pregnancy.

Keywords

Human Auxiliary Reproductive Technology, Offspring, Health Status, Overview

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

不孕不育症的定义是指夫妻一年以上未采取任何避孕措施, 性生活正常而没有成功妊娠[1]。这种不孕不育症的现象也是比较普遍的。有研究得出, 全球范围的不孕不育症患病率约为 8%~12% [2], 我国不孕不育症发病率约为 10%~12% [3], 且全世界范围内不孕不育症患病率正呈逐年上升趋势。根据统计, 我们可以看到, 目前我国女性不孕不育症患者数量已经超过 5000 万, 占育龄女性的 15% [4], 对患者和社会都造成了一定的影响。人类 ART 包括人工授精(artificial insemination, AI)和体外受精 - 胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)及其衍生技术[5], 如卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)等。ART 目前已是治疗不孕不育症重要的医学手段, 它是指对配子、合子及胚胎通过运用医学技术和方法进行人工操作, 使不孕不育的夫妇达到妊娠的目的, 其在近几十年间飞速发展, 并在人类生命科学领域不断获得突破性进展。随着人类 ART 的逐渐成熟, 妊娠率和子代的出生率较前不断增高[6] [7] [8], 伴随而来的便是对 ART 助孕后母亲及子代安全性问题的广泛关注和担忧。从理论层面上讲, 人类 ART 受孕子代与自然受孕(Natural conceived, NC)子代相比较, 前者潜在风险更大。然而, 部分研究表明, ART 子代和自然妊娠子代的健康状况相似, 辅助生殖技术是相对安全的[9]。也有部分研究表明, ART 使多胎妊娠的发生率及相应的围产期并发症明显增加, 子代更容易发生早产、低出生体重、足月小样儿等[10] [11]。因此, 本综述就人类辅助生殖技术现状进行相关介绍, 同时对辅助生殖技术助孕后子代健康状况进行概述。

2. 人类辅助生殖技术的发展现状

2.1. 人工受精技术

人工授精是指将人工方式优化处理后的精液, 通过非性交方式注入女性生殖道内, 使女性妊娠的一种方法, 其包括夫精人工授精(artificial insemination by husband semen, AIH)和供精人工授精(artificial insemination by donor semen, AID)。目前, 宫腔内人工授精(intrauterine insemination, IUI)是一种较常用的技术, 不仅操作简单、治疗周期短、成本低、母亲无需忍受手术痛苦, 精子与卵子的结合以及胚胎的发育都是在母亲体内完成, 还能提高怀孕率, 从而成为治疗男性不育症及不明原因不孕的首选方法[12] [13] [14]。

2.2. 体外受精 - 胚胎移植及其相应衍生技术

2.2.1. 体外受精 - 胚胎移植技术

体外受精 - 胚胎移植(*in vitro* fertilization and embryo transfer, IVF-ET)也称“第一代试管婴儿”技术, 它是指将不孕不育夫妇的卵子和精子取出体外, 将二者置于培养皿中混合受精, 待其受精卵发育成卵裂

球期或囊胚期阶段的胚胎后, 再将胚胎移植回母体子宫使之着床的过程, 此技术过程可总结为控制性超排卵 - 取卵 - 体外受精 - 形成胚胎 - 胚胎移植 - 确定妊娠。这项技术主要适合女性免疫因素、宫颈因素及输卵管不通等因素导致的不孕。IVF-ET 虽现已作为目前辅助生殖领域中治疗不孕不育的重要手段, 但它的成功妊娠率只有 40%~50%, 治疗周期较长, 并且很容易引发一系列的并发症, 如卵巢过度刺激综合征(ovarian hyperstimulation syndrome, OHSS)等[15]。OHSS 有效的预防方法是采用拮抗剂方案并使用 GnRH-a 或者双板机诱发排卵。卡麦角林、二甲双胍、阿司匹林、全胚冷冻等都可作为 OHSS 的预防措施。避免出现严重的 OHSS 可提高辅助生殖技术的安全性[16]。IVF-ET 治疗不孕不育症的过程相对复杂, 需要花费患者的时间、金钱和精力较多, 若其一旦失败, 将会给患者的身体和心理造成一定的打击。因此, 一方面我们需要进一步提高 IVF-ET 成功妊娠率, 另一方面我们需要保证 IVF-ET 患者的妊娠质量, 以上这两方面是目前该领域需要重点解决的问题。

2.2.2. 卵母细胞浆内单精子注射技术

卵母细胞浆内单精子注射技术(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)又称“第二代试管婴儿”技术, 它是指在应用显微操作技术下, 将经过制动处理后的单个精子注射进卵母细胞获得受精, 并体外培养和胚胎移植的技术。ICSI 与 IVF-ET 的主要区别是, 前者是直接将精子注入到卵母细胞浆内以达到妊娠目的, 它主要针对男性因素引起的不育, 即当男性有严重的少、弱、畸精子症的时候, 或精液中没有精子, 但睾丸或附睾活检的时候, 能够找到精子的这一类男性不育患者。ICSI 是治疗男性不育史上的一块里程碑, 也是针对受精障碍最有效的治疗手段, 但该技术存在一个最大的问题, 就是将没有经过自然选择的精子与卵子结合, 可能把有缺陷的基因直接遗传给下一代。

2.2.3. 胚胎植入前遗传学检测

胚胎植入前遗传学检测(preimplantation genetic testing, PGT)又称“第三代试管婴儿”技术, 它是在 IVF/ICSI 技术的基础上, 将植入前胚胎进行染色体数目和结构异常的检测, 分析胚胎是否有异常的遗传物质, 从而选择正常胚胎移植入母体子宫内, 避免子代发生相关遗传疾病。其适应证除了传统不孕不育夫妇外还包括部分遗传病高风险夫妇。目前, 该技术主要包括染色体结构重排胚胎筛选(PGT-structural rearrangements, PGT-SR)、单基因遗传病胚胎筛选(PGT-for monogenic disorder, PGT-M)和非整倍体胚胎筛选(PGT-aneuploidy screening, PGT-A), 其适应症主要应用于除了传统不孕不育夫妇外还包括患有染色体疾病、单基因遗传病的夫妇等[17] [18]。因此, PGT 基本解决了 ICSI 遗留的问题。

2.2.4. 卵浆置换技术/线粒体置换技术

卵浆置换技术(Germinal Vesicle Transfer, GVT)又称“第四代试管婴儿”技术, 也称为线粒体置换术(mitochondrial replacement therapy, MRT), 它是指将母亲含有问题的线粒体 DNA 的卵母细胞进行置换, 重新组合成一个没有问题的卵细胞, 随后与精子在体外受精, 再将受精卵移植入母亲子宫内以达到受孕目的, 从而阻断线粒体病传递给子代[19]。所以, GVT 是一种阻断线粒体病向子代遗传的有效治疗手段[20]。另外, 该技术主要目的是阻断线粒体基因病给子代的遗传和改善条件不好或年龄较大妇女的卵母细胞质量。但该技术目前仍无法广泛应用于临床, 主要存在的两大争议是操作的安全性及伦理学问题[21] [22]。

2.2.5. 冻融胚胎移植

胚胎移植可分为新鲜胚胎移植和冻融胚胎移植(freeze-thaw embryo transfer, FET)两种方式。冻融胚胎移植是指将一个取卵周期当中的优质胚胎进行冷冻保存, 当患者当周期没能成功妊娠或者再次想要孩子的时候再进行解冻移植的方法[23]。该移植方式也是试管婴儿的一部分, 随着胚胎冷冻技术的日益成熟, 其

也成为 IVF-ET 的重要补充和延续。但该技术在临床上存在争议的, 主要争议在于它的有效性和安全性。

2.2.6. 细胞疗法

细胞疗法是指利用一种未完全分化、尚未成熟的具有再生各种组织器官的潜在功能的干细胞及其衍生物替代或修复受损器官或组织的治疗方法。目前细胞疗法的研究在人类辅助生殖领域已覆盖子宫内膜异位症、RSA、RIF 以及早发性卵巢功能不全(premature ovarian insufficiency, POI)等疾病, 包括外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)疗法、淋巴细胞疗法、富含血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP) 疗法以及不同类型的干细胞治疗[24]。人类 PBMC 疗法是通过诱导 IL-1 α 、IL-1 β 和 TNF- α 等多种细胞因子的产生, 对子宫内膜和子宫内膜容受性有积极作用。在 IVF-ET 治疗反复失败时, 应用自体 PBMC 治疗可显著提高临床妊娠率、着床率和活产率, 可能是趋化因子在胚胎植入时发挥关键作用[25] [26]。淋巴细胞疗法主要应用于免疫相关的不孕症, 通过分泌细胞因子改善炎症应激所造成的不良刺激。PRP 疗法相对于其他细胞疗法更安全, 血小板可分泌细胞因子、趋化因子和生长因子; 多种分泌蛋白对人体细胞具有旁分泌作用; 通过刺激细胞迁移、增殖和血管生成, 诱导组织再生[27]。血小板在组织重塑过程中可调节新血管形成和黄体化[28]。干细胞疗法被认为是不孕症相关疾病的有效治疗方式, 主要包括间充质干细胞、胚胎干细胞、人羊膜上皮细胞和蜕膜基质细胞等, 可用于治疗 POI、Asherman 综合征、薄型子宫内膜等疾病。

3. 人类辅助生殖技术子代健康状况评估的进展

近年来针对人类 ART 子代的健康状况评估, 主要是从早产、低出生体重儿、小于胎龄儿、出生缺陷、基因印记疾病这些方面进行评估。相关的研究主要有以下这些:

3.1. 早产和低出生体重儿

早产是指胎龄小于 37 周发生的分娩[29], 其中小于 28 周出生为极早早产。低出生体重儿指出生体重小于 2500 g 的新生儿, 其中出生体重小于 1500 g 的新生儿为极低出生体重儿。早产是双胎妊娠常见的并发症, 也是影响围产儿预后的主要因素。有研究得出, ART 受孕单胎女性和自然受孕单胎女性相比, 前者发生早产的风险显著高于后者[30] [31], 其中 ART 受孕单胎的子代中早产占 10.95%, 极早早产占 2.4% [32]。也有研究得出, ART 多胎妊娠的子代中早产占 51.5%, 极早早产占 12.1% [33], 致使 ART 多胎妊娠的子代后期生存面临较大的挑战。通过上述研究得知, ART 受孕单胎子代早产的发生率明显低于多胎 ART 子代, 也从侧面表明 ART 多胎妊娠早产的风险由多胎妊娠本身所致的可能性大。另一方面, 以汝首杭为首的一项研究表明, ART 单胎孕产妇暴露组低出生体重儿的风险高于自然受孕单胎对照组, 其风险是自然妊娠孕产妇的 1.440 倍(RR = 1.440, 95% CI: 1.216~2.936) [34]。中国的一项回顾性多中心横断面研究结果显示, 低出生体重儿在 ART 受孕双胎组更常见, 差异有统计学意义[35]。以 Dhalwani 等人为首的研究[36], 通过分析美国 3 个州市 10 年数据得出 ART 受孕与自然受孕组相比, 前者低出生体重儿的发生率增加 0.38 倍。研究的同时, 文章作者排除母体混杂因素后分析, 得出经 ART 受孕较自然受孕新生儿低出生体重的发生率增加 0.33 倍, 说明辅助生殖技术可影响低出生体重儿的发病率。

3.2. 小于胎龄儿(Small Gestation Age, SGA)

SGA 指出生体重小于同胎龄平均体重的第 10 百分位。有研究表明, 经 ART 受孕的子代中, 单胎 SGA 的发生率为 7.1%, 多胎 SGA 的发生率为 16.2% [32] [33]。有一项队列研究结果显示, 与自然受孕的子代相比, 经 IVF/ICSI 受孕单胎子代发生 SGA 风险为 1.22 (95% CI: 1.11~1.33) [37], 与既往一项 Meta 分析结果相似[31], 而经 IVF/ICSI 受孕双胎子代发生 SGA 风险无差异(OR = 0.85, 95% CI: 0.69~1.04) [37]。

3.3. 出生缺陷

出生缺陷是指由于各种不良因素的作用, 使得正常胚胎在发育的过程中出现紊乱, 从而引起发育异常造成先天性的形态结构畸形或生理功能障碍。该缺陷不但可发生在活产子代中, 还可发生在流产、死胎子代中。有些研究得出, 经 ART 受孕子代发生出生缺陷的风险是升高的。目前有研究发现 ART 与心血管缺陷、肌肉骨骼缺陷、泌尿生殖器缺陷、中枢神经系统缺陷、口面部缺陷这五种特殊类型的出生缺陷成正相关。Henningsen 等人[38]研究北欧四个国家 20 年间经 ART 受孕(6128 例单胎妊娠、28,920 例双胎妊娠)活产儿出生缺陷的发生趋势时发现, 在单胎妊娠亚组中, 经 ART 妊娠较自然妊娠出生的活产儿童重大出生缺陷的发生风险增加 0.14 倍, 其中出生缺陷增加的主要类型为: 心脏、颜面部、消化、泌尿生殖、肌肉骨骼系统。在双胎妊娠亚组中, 两者出生缺陷发生率无差异。黄巧姚等人[39]进行 Meta 分析结果显示经 ART 妊娠后新生儿出生缺陷发生风险增加, 增加的主要缺陷类型为: 泌尿生殖系统畸形、染色体畸形、消化系统畸形。可是, 也有研究得出了不同结果。我国一个大样本(15,405 例 ART 儿童)多中心的研究得出, 出生缺陷总的发生率经 ART 受孕子代(1.23%)与自然受孕子代没有差异(1.35%), 仅发现 ICSI 子代出生缺陷的发生率(1.58%)比 IVF (1.11%)有上升的趋势[40]。各种不良因素都可以导致 ART 子代有出生缺陷, 很难归因于 ART 过程的影响, 主要原因是接受 ART 治疗的患者来自不同的地域, 拥有不同的遗传背景, 且接受 ART 治疗的患者大多都有不孕不育病史, 也接受过不同针对不孕症的治疗, 这些因素均有可能与新生儿的发育异常有一定相关性。由于因素的复杂性我们很难评估 ART 过程是否会对子代出生缺陷发生风险有影响, 但 ART 的一些程序可能是导致子代发育异常的潜在风险。

3.4. 基因印记疾病

基因组印记又称遗传印记, 是通过生化途径, 在一个基因或一组基因域上标记其双亲来源信息的遗传学过程。这类基因是否表达取决于他们所在染色体的来源(父系或母系)和其来源的染色体上该基因是否发生沉默。有些印记基因只从母源染色体上表达, 有些则只从父源染色体上表达。从目前已有的研究来看, 加速胚胎发育的主要是来自父亲, 而限制胚胎发育速度的主要来自母亲。众多研究结果说明, 些许印记基因对胚胎和胎儿的生长发育起着重要调节作用, 对行为活动在一定程度上也有很大影响。ART 存在非正常干预的过程, 如超促排卵过程、体外培养等, 可能使印记基因发生突变, 进一步影响到子代的健康。除此之外, 尚不能排除子代遗传到了父母不孕不育因素, 从而进一步导致印迹异常。异常的印迹可能引起非常罕见的胎儿异常, 如贝克威思-威德曼综合征以及安格曼综合征等。

4. 小结

综上, 经 ART 受孕子代与自然受孕子代在健康方面是存在差异的, 相比较后者更为安全。由于辅助生殖技术仅有短短 30 余年的发展史, 当前大部分研究集中于经 ART 受孕子代出生早期的随访, 尚无权威证据说明其远期影响。未来我们应在严格掌握医学指征的前提下, 不但要继续完善子代随访的网络和登记体系, 降低失访率, 提高准确率; 还要去开展大规模高水平的队列研究, 进行长期细致的随访, 更深入地去探讨 ART 的安全性问题。

参考文献

- [1] 谢幸, 苟文丽. 妇产科学[M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 369.
- [2] Vander Borcht, M. and Wyns, C. (2018) Fertility and Infertility: Definition and Epidemiology. *Clinical Biochemistry*, 62, 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>
- [3] 刘淑文, 张淑霞, 刘玉双, 等. 不孕症的病因病机分析[J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2019, 6(12): 70.
- [4] Fu, B., Qin, N., Cheng, L., et al. (2015) Development and Validation of an Infertility Stigma Scale for Chinese Women.

- Journal of Psychosomatic Research*, **79**, 69-75. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2014.11.014>
- [5] 付景丽, 丁秋霞, 黄燕. 人类辅助生殖技术的研究进展[J]. 局解手术学杂志, 2019, 28(5): 418-421.
- [6] Bai, F., Wang, D.Y., Fan, Y.J., *et al.* (2020) Assisted-Reproduction Technology Service Availability Efficacy and Safety in Mainland China: 2016. *Human Reproduction (Oxford, England)*, **35**, 446-452. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez245>
- [7] 杨静薇, 邓成艳, 黄学锋, 刘平, 周灿权, 冯云, 郝桂敏, 卢文红, 全松, 沈浣, 师娟子, 滕晓明, 王晓红, 王秀霞, 伍琼芳, 曾勇, 张松英, 钟影, 孙莹璞, 孙海翔, 黄国宁. 中华医学会生殖医学分会年度报告: 2017 年辅助生殖技术数据分析[J]. 生殖医学杂志, 2020, 29(2): 143-148. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1004-3845.2020.02.001>
- [8] 曾珣, 秦朗. 生殖医学孕产妇的全程一体化管理[J]. 中国计划生育和妇产科, 2022, 14(2): 10-14. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-4020.2022.02.02>
- [9] 张迎春. 人类辅助生殖技术子代安全性问题[J]. 山东大学学报(医学版), 2019, 57(10): 52-59.
- [10] Xu, X.K., Wang, Y.A., Li, Z., *et al.* (2014) Risk Factors Associated with Preterm Birth among Singletons Following Assisted Reproductive Technology in Australia 2007-2009—A Population-Based Retrospective Study. *BMC Pregnancy Childbirth*, **7**, Article No. 406. <https://doi.org/10.1186/s12884-014-0406-y>
- [11] Tepper, N.K., Farr, S.L., Cohen, B.B., *et al.* (2012) Singleton Preterm Birth: Risk Factors and Association with Assisted Reproductive Technology. *Maternal and Child Health Journal*, **16**, 807-813.
- [12] ESHRE Capri Workshop Group (2009) Intrauterine Insemination. *Human Reproduction Update*, **15**, 265-277. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp003>
- [13] Merviel, P., Heraud, M.H., Grenier, N., *et al.* (2010) Predictive Factors for Pregnancy after Intrauterine Insemination (IUI): An Analysis of 1038 Cycles and a Review of the Literature. *Fertility and Sterility*, **93**, 79-88. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.09.058>
- [14] 李楠, 杜伯涛, 李洋. 小剂量阿司匹林在不孕症及辅助生殖技术中的应用[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(4): 959-962.
- [15] 王安然, 吴洪波, 李柳铭, 等. 子宫内膜浅表机械刺激 IVF-ET 者子宫内膜血流动力学及妊娠结局的影响[J]. 广西医科大学学报, 2013, 30(2): 240-242.
- [16] 冯跃兰, 王树玉, 马延敏. 卵巢过度刺激综合征的预防进展[J]. 中国临床医生杂志, 2019, 47(10): 1162-1164. <https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-8552.2019.10.011>
- [17] Greco, E., Litwicka, K., Minasi, M.G., *et al.* (2020) Preimplantation Genetic Testing: Where We Are Today. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 4381. <https://doi.org/10.3390/ijms21124381>
- [18] Kuliev, A. and Rechitsky, S. (2017) Preimplantation Genetic Testing: Current Challenges and Future Prospects. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, **17**, 1071-1088. <https://doi.org/10.1080/14737159.2017.1394186>
- [19] Sharma, H., Singh, D., Mahant, A., *et al.* (2020) Development of Mitochondrial Replacement Therapy: A Review. *Heliyon*, **6**, e04643. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04643>
- [20] Zou, W., Slone, J., Cao, Y., *et al.* (2020) Mitochondria and Their Role in Human Reproduction. *DNA and Cell Biology*, **39**, 1370-1378. <https://doi.org/10.1089/dna.2019.4807>
- [21] 张迪, 刘欢. 线粒体置换技术的伦理学反思[J]. 中国医学伦理学, 2018, 31(7): 873-878.
- [22] 应瑛, 刘见桥. 以辅助生殖技术为基础的临床新技术的发展[J]. 实用妇产科杂志, 2020, 36(4): 251-253.
- [23] 石玉华, 王秋敏, 戚丹. 辅助生殖技术前沿研究热点及进展[J]. 山东大学学报(医学版), 2021, 59(9): 97-102.
- [24] Pourakbari, R., Ahmadi, H., Yousefi, M., *et al.* (2020) Cell Therapy in Female Infertility-Related Diseases: Emphasis on Recur-Rent Miscarriage and Repeated Implantation Failure. *Life Sciences*, **258**, Article ID: 118181. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118181>
- [25] Yoshioka, S., Fujiwara, H., Nakayama, T., *et al.* (2006) Intrauterine Administration of Autologous Peripheral Blood Mononuclear Cells Promotes Implantation Rates in Patients with Repeated Failure of IVF-Embryo Transfer. *Human Reproduction*, **21**, 3290-3294. <https://doi.org/10.1093/humrep/del312>
- [26] Li, S., Wang, J., Cheng, Y., *et al.* (2017) Intrauterine Administration of hCG-Activated Autologous Human Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) Promotes Live Birth Rates in Frozen/Thawed Embryo Transfer Cycles of Patients with Repeated Implantation Failure. *Journal of Reproductive Immunology*, **119**, 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2016.11.006>
- [27] Raghupathy, R., Makhseed, M., Azizieh, F., Omu, A., Gupta, M. and Farhat, R. (2000) Cytokine Production by Maternal Lymphocytes during Normal Human Pregnancy and in Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion. *Human Reproduction*, **15**, 713-718. <https://doi.org/10.1093/humrep/15.3.713>
- [28] Fujiwara, H. (2006) Immune Cells Contribute to Systemic Cross-Talk between the Embryo and Mother during Early

- Pregnancy in Cooperation with the Endocrine System. *Reproductive Medicine and Biology*, **5**, 19-29. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0578.2006.00119.x>
- [29] Frey, H.A. and Klebanoff, M.A. (2016) The Epidemiology, Etiology, and Costs of Preterm Birth. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, **21**, 68-73. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2015.12.011>
- [30] Pandey, S., Shetty, A., Hamilton, M., *et al.* (2012) Obstetric and Perinatal Outcomes in Singleton Pregnancies Resulting from IVF/ICSI: A Systematic Review and Meta Analysis. *Human Reproduction Update*, **18**, 485-503. <https://doi.org/10.1093/humupd/dms018>
- [31] Qin, J., Liu, X., Sheng, X., *et al.* (2016) Assisted Reproductive Technology and the Risk of Pregnancy-Related Complications and Adverse Pregnancy Outcomes in Singleton Pregnancies: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *Fertility and Sterility*, **105**, 73-85.e6. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.09.007>
- [32] Qin, J., Sheng, X.Q., Wu, D., *et al.* (2017) Worldwide Prevalence of Adverse Pregnancy Outcomes among Singleton Pregnancies after *in Vitro* Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **295**, 285-301. <https://doi.org/10.1007/s00404-016-4250-3>
- [33] Qin, J.B., Sheng, X.Q., Wang, H., *et al.* (2017) Worldwide Prevalence of Adverse Pregnancy Outcomes Associated with *in Vitro* Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection among Multiple Births: A Systematic Review and Meta-Analysis Based on Cohort Studies. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **295**, 577-597. <https://doi.org/10.1007/s00404-017-4291-2>
- [34] 汝首杭, 杨贵芳, 冯永亮, 鄂惟为, 李淑珍. 辅助生殖技术对新生儿不良出生结局影响的回顾性队列研究[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(5): 1039-1042. <https://doi.org/10.19829/j.zgfybj.issn.1001-4411.2021.05.022>
- [35] Jiang, F. and Gao, J.S. (2021) Obstetric Outcomes for Twins from Different Conception Methods—A Multicenter Cross-Sectional Study from China. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, **100**, 1061-1067. <https://doi.org/10.1111/aogs.14116>
- [36] Dhalwani, N.N.P.D., Boulet, S.L.D.P., Kissin, D.M.M.D., *et al.* (2016) Assisted Reproductive Technology and Perinatal Outcomes: Conventional versus Discordant-Sibling Design. *Fertility and Sterility*, **106**, 710-716. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.04.038>
- [37] Marino, J.L., Moore, V.M., Willson, K.J., *et al.* (2014) Perinatal Outcomes by Mode of Assisted Conception and Sub-Fertility in an Australian Data Linkage Cohort. *PLOS ONE*, **9**, e80398. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080398>
- [38] Wen, S.W., Leader, A., White, R.R., *et al.* (2010) A Comprehensive Assessment of Outcomes in Pregnancies Conceived by *in Vitro* Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **150**, 160-165. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2010.02.028>
- [39] 黄巧瑶, 吴小环, 汪晨曦, 等. 辅助生殖技术助孕后子代出生缺陷风险: 基于队列研究的Meta分析[J]. 中国计划生育和妇产科, 2020, 12(5): 69-76.
- [40] Yan, J., Huang, G., Sun, Y., *et al.* (2011) Birth Defects after Assisted Reproductive Technologies in China: Analysis of 15405 Offspring in Seven Centers (2004 to 2008). *Fertility and Sterility*, **95**, 458-460. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.08.024>