

· 中国国家出生队列 ·

# 中国国家出生队列孤独症谱系障碍 亚队列建设概况

杜江波<sup>1</sup> 丁叶<sup>2</sup> 黄磊<sup>2</sup> 蒋杨倩<sup>1</sup> 孟庆霞<sup>3</sup> 宋词<sup>1</sup> 吕红<sup>1</sup> 刘晓宇<sup>1</sup> 徐菠<sup>1</sup>  
林苑<sup>2,4</sup> 马红霞<sup>1,4</sup> 靳光付<sup>1,4</sup> 李红<sup>3</sup> 凌秀凤<sup>5</sup> 柯晓燕<sup>6</sup> 沈洪兵<sup>1,4</sup> 胡志斌<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学公共卫生学院流行病学系 211166; <sup>2</sup>南京医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学系 211166; <sup>3</sup>南京医科大学附属苏州医院生殖与遗传中心, 苏州 215002; <sup>4</sup>南京医科大学生殖医学国家重点实验室全球健康研究中心 211166; <sup>5</sup>南京医科大学附属妇产医院生殖医学中心 210011; <sup>6</sup>南京医科大学附属南京脑科医院儿童心理卫生研究中心 210029

通信作者: 胡志斌, Email: zhibin\_hu@njmu.edu.cn

**【摘要】** 孤独症谱系障碍作为儿童神经发育障碍的代表性疾病, 发病率呈现不断上升的趋势, 给家庭和社会带来巨大压力和经济负担, 探讨其病因及发病机制意义重大。本研究依托中国国家出生队列开展孤独症谱系障碍亚队列建设, 并利用该出生队列采用的辅助生殖和自然妊娠同期纳入并随访的平行设计, 评价辅助生殖技术对于子代神经行为发育的影响, 并结合队列采集的多种母体孕期和子代生命早期临床及行为相关信息, 综合探究孤独症谱系障碍的发病危险因素。本文将从研究目标、内容、初步进展、优势与不足及进一步展望对该亚队列进行简要介绍, 重点展现本研究的总体设计和现阶段进展。

**【关键词】** 孤独症; 队列研究; 辅助生殖; 自然妊娠

**基金项目:** 国家重点研发计划(2018YFC1004200, 2016YFC1000200)

## The Autism Spectrum Disorder Cohort—the sub-cohort of China National Birth Cohort

Du Jiangbo<sup>1</sup>, Ding Ye<sup>2</sup>, Huang Lei<sup>2</sup>, Jiang Yangqian<sup>1</sup>, Meng Qingxia<sup>3</sup>, Song Ci<sup>1</sup>, Lyu Hong<sup>1</sup>, Liu Xiaoyu<sup>1</sup>, Xu Bo<sup>1</sup>, Lin Yuan<sup>2,4</sup>, Ma Hongxia<sup>1,4</sup>, Jin Guangfu<sup>1,4</sup>, Li Hong<sup>3</sup>, Ling Xiufeng<sup>5</sup>, Ke Xiaoyan<sup>6</sup>, Shen Hongbing<sup>1,4</sup>, Hu Zhibin<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Department of Epidemiology, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; <sup>2</sup>Department of Maternal, Child and Adolescent Health, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; <sup>3</sup>Reproductive and Genetic Center, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou 215002, China; <sup>4</sup>State Key Laboratory of Reproductive Medicine, Center for Global Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China; <sup>5</sup>Reproductive Medical Center, Nanjing Medical University Affiliated Maternity and Child Health Hospital, Nanjing 210011, China; <sup>6</sup>Child Mental Health Research Center, Brain Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Corresponding author: Hu Zhibin, Email: zhibin\_hu@njmu.edu.cn

**【Abstract】** Autism spectrum disorder (ASD), a representative disease of children's neurodevelopmental disorders, brings huge pressure and financial burden to families and society. It is of great significance to explore its etiology and pathogenesis. Therefore, we established an ASD Cohort based on the existing China National Birth Cohort (CNBC), which applied parallel design to

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201211-01405

收稿日期 2020-12-11 本文编辑 李银鸽

引用本文: 杜江波, 丁叶, 黄磊, 等. 中国国家出生队列孤独症谱系障碍亚队列建设概况[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(4): 591-596. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20201211-01405.



recruit and follow up families who achieved pregnancy after receiving assisted reproductive technologies (ART) and families with spontaneous conception. The main aims of this study are to compare the incidence of ASD among children born after ART with those born under spontaneous pregnancy, and to evaluate the impact of ART on the neurobehavioral development of offspring. Additionally, with a variety of clinical and behavioral related information collected during pregnancy and at early life of offspring, we are able to investigate the risk factors associated with ASD comprehensively. This article briefly introduces the objectives, contents, preliminary progress, strength and limitations, as well as further prospects of the ASD cohort study, mainly focusing on the overall design and current progress.

**【Key words】** Autism spectrum disorder; Cohort study; Assisted reproductive technology; Spontaneous pregnancy

**Fund programs:** National Key Research and Development Program of China (2018YFC1004200, 2016YFC1000200)

孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD), 是一类儿童神经发育障碍性疾病, 一般在 3 岁以内起病, 主要临床表现为不同程度的社会和 (或) 交流障碍、狭隘兴趣及重复刻板行为等<sup>[1]</sup>。自 1943 年首次被报道以来<sup>[2]</sup>, 其发病率呈现逐年上升趋势。WHO 2012 年发布的数据显示 ASD 的全球患病率约为 1%<sup>[3]</sup>, 美国 CDC 2020 年最新报道数据显示, 美国 ASD 发病率已经达到 1.85%<sup>[4]</sup>。我国少有大规模流行病学调查数据, 据 Wang 等<sup>[5]</sup>2018 年发表的汇总 44 项研究的 Meta 分析显示, 我国 ASD 患病率约为 0.39%, 低于世界平均水平<sup>[5]</sup>。然而, ASD 严重危害儿童身心健康, 是我国 0~6 岁儿童致残的首要原因<sup>[6]</sup>; 并且 ASD 会伴随患儿终生, 给家庭和社会带来沉重的精神压力和经济负担。

迄今为止, ASD 病因尚不明确。遗传学研究显示染色体变异 (如儿童 16p11.2 缺失和重复<sup>[7]</sup>、母亲 15q11-q13 重复<sup>[8]</sup>) 以及单基因变异 (如儿童 SHANK3<sup>[9]</sup>、CHD8<sup>[10]</sup> 等基因上的突变) 可能与 ASD 发病风险相关, 但目前鉴定到的遗传因素仅能解释 10%~30% 的孤独症病因<sup>[11]</sup>。随着环境因素的作用在各类疾病中的凸显, 人们发现环境因素如孕期宫内感染、孕期并发症、化学物质接触等均与子代 ASD 的发病风险存在关联<sup>[12-15]</sup>。近些年的研究普遍支持 ASD 是由环境、生物和遗传因素等共同作用引起的这一观点。除常见因素外, 辅助生殖技术 (assisted reproductive technology, ART) 的广泛应用对子代健康的影响也逐渐进入大众视野, 但是 ART 的应用是否会增加子代 ASD 风险并无定论。我国台湾出生队列<sup>[16]</sup> 和美国马萨诸塞州<sup>[17]</sup> 的研究结果显示 ART 技术的使用与子代 ASD 发病风险之间并无统计学关联, 而 Bay 等<sup>[18]</sup> 的研究结果显示虽然卵

浆内单精子注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) 或传统体外受精 (in vitro fertilization, IVF) 治疗后的子代精神类疾病发生风险并不高于自然妊娠人群, 但是经历促排卵/宫腔内人工授精出生的子代其 ASD 等疾病的发病风险略微升高。另外, 美国加利福尼亚州对比 ICSI 和 IVF 的研究结果显示<sup>[19]</sup>, 应用 ICSI 的子代 5 年内发生 ASD 的风险显著高于传统 IVF 人群。除观察性研究外, Meta 分析及系统综述对于 ART 应用是否增加 ASD 风险研究结论也存在争议。Liu 等<sup>[20]</sup> 的结果显示无论是否进行亚组分析, ART 的使用均与较高的 ASD 风险相关; Djuwantono 等<sup>[21]</sup> 则报道应用 ART 不会增加 ASD 风险, 但与 IVF 相比, ICSI 的应用会显著增加 ASD 的患病风险。

既往关于 ASD 的病因学研究多采用病例对照或横断面研究设计, 病因推断能力有限, 而利用前瞻性队列研究可以在先因后果的时间顺序上观察暴露因素的致病作用。近年来, 国内外已先后开展多项大型出生队列研究, 但是专注于某一类疾病尤其是发病率较低的疾病 (如子代 ASD) 的专病队列却很少, 同时在 ART 人群和自然妊娠人群中建设前瞻性 ASD 亚队列并平行随访的研究尚未见报道。本研究计划依托中国国家出生队列 (China National Birth Cohort, CNBC) 同步纳入并平行随访 ART 家庭和自然妊娠家庭的设计建立 ASD 亚队列, 一方面对 ART 子代和自然妊娠子代 ASD 发病率进行比较, 并分析不孕不育因素及 ART 和用药方案等对 ASD 发病率的影响, 另一方面系统探讨与 ASD 发病风险相关的其他行为及临床因素。

## 一、研究内容

1. 研究对象: 满 24 月龄的南京医科大学附属南京妇产医院 (后称南京医院) 和附属苏州医院 (后称苏州医院) 招募并随访的 CNBC 队列成员 (ART

和自然妊娠)活产家庭,并且完成改良版婴幼儿孤独症筛查量表(Modified Checklist for Autism in Toddlers, M-CHAT)<sup>[22]</sup>。本项目通过江苏省南京市南京医科大学伦理委员会审批,研究对象均已签署知情同意书。

根据既往文献报道,ART与自然妊娠人群中ASD发病风险比RR值约为1.5<sup>[23]</sup>,自然妊娠人群发病率假定为2%(各个研究报道的自闭症发病率存在差异,国内报道发病率为0.70%~2.62%不等<sup>[24-25]</sup>), $\alpha=0.05$ , $\beta=0.20$ ,经PASS 15.0软件计算后本队列需纳入8 080人(ART和自然妊娠每组4 040人)以保证较高的统计检验把握度。

此外,M-CHAT作为ASD筛查应用最广泛的工具之一,其灵敏度和特异度分别为98%和99%<sup>[26-27]</sup>。M-CHAT阳性即可认定为ASD可疑,因而M-CHAT筛查阳性也是我们此次研究的重要结局之一。按照文献报道数据,ART和自然妊娠人群24个月M-CHAT阳性率OR值约为2.0<sup>[28]</sup>,本研究现阶段中M-CHAT阳性率约为1.5%, $\alpha=0.05$ , $\beta=0.20$ ,当队列纳入3 226人(ART和自然妊娠每组1 613人)时,可在分析ART是否增加M-CHAT筛查阳性风险的研究中保证较高的统计检验把握度。

2. 流行病学调查:如图1A所示,随访时间点主要包括:孕前期(仅针对ART人群,药物促排卵前)、孕早期(孕8~14周)、孕中期(孕22~26周)、孕晚期(孕30~34周)、分娩期、子代42 d、子代6月龄、子代12月龄、子代24月龄以及子代36月龄。各随访时间点收集的内容主要包括问卷信息、临床检验检查信息和生物样本。整个随访过程按照实施方案和侧重点不同可分为两部分,第一部分为CNBC随访,主要侧重孕期及生命早期暴露因素收集,涵盖时间点至子代36月龄,此阶段由队列工作人员通过面访或电话随访完成;第二部分为ASD筛查及确诊,主要时间节点为子代24~36月龄。

根据CNBC主队列以及亚队列的随访安排,对队列成员收集如下信息:基线人口学信息;疾病史及家族史;生活方式(吸烟、饮酒等)、心理状态评估(焦虑、压力、抑郁及睡眠状况);孕期饮食及膳食补充剂、孕期并发症、产检信息;子代生长发育及饮食情况,疾病及睡眠情况,12月龄/36月龄神经行为发育评测(Gesell量表和Bayley量表)等。ART人群还将收集其辅助生殖治疗相关信息。

### 3. ASD初筛及确诊:

(1) ASD初筛:亚队列纳入的家庭,在子代

24月龄时由队列专职人员对其家长通过电话随访的方式进行ASD初筛。ASD初筛采用M-CHAT量表,该量表由于较好的灵敏度和特异度而被广泛应用<sup>[26-27]</sup>。

(2) ASD确诊:对于M-CHAT筛查阳性(筛查阳性标准为23项中 $\geq 3$ 项阳性或6项核心项目中 $\geq 2$ 项阳性)的儿童,邀约至南京医科大学附属南京脑科医院儿童心理卫生研究中心(后称脑科医院)就诊(图1B)。脑科医院采用标准流程对儿童进行检查和评估,根据孤独症诊断访谈修订版(Autism Diagnostic Interview-Revised, ADI-R)<sup>[29]</sup>、孤独症诊断观察量表(Autism Diagnostic Observation Schedule, ADOS)<sup>[30]</sup>,以及依据美国精神医学会精神疾病诊断与统计手册(第五版)(Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-fifth edition, DSM-5)诊断标准明确诊断。对于M-CHAT阳性但是无法及时前往脑科医院就诊的家庭,在儿童30月龄时通过电话邀约该家庭就诊,并在儿童36月龄到医院进行面访和体格检查时再次安排就诊。

4. 生物样本的采集和存储:主要收集包括外周血、尿液、粪便等生物样本信息(图1)。①外周血:男方纳入期外周血;女方纳入期、全孕期(孕早、中、晚)外周血及分娩期产前血;子代脐带血及12/36月龄指尖血;②尿液:男女双方纳入期以及女方孕早期、孕中期尿液;③ASD确诊儿童:尿液以及粪便。对于上述收集的生物样本将严格按照标准化操作流程进行处理冻存(图2)。

### 二、现阶段进展

ASD亚队列于2019年1月正式在南京医院和苏州医院启动。截至2020年9月底,3 125个家庭子代满24月龄,其中2 242个家庭完成M-CHAT随访,应答率为71.74%,其中ART家庭72.80%(688/945),自然妊娠家庭71.31%(1 554/2 180)。应答(纳入)家庭与未应答(非纳入)家庭在父母双方年龄、BMI以及孕期吸烟/饮酒方面的差异无统计学意义。但纳入家庭中父母双方文化程度较高,多为经产妇,同时分娩孕周也较大。见表1。

纳入亚队列的家庭中,ART家庭父母双方年龄及母亲BMI显著高于自然妊娠人群,文化程度低于自然妊娠家庭。与自然妊娠孕妇相比,ART孕妇孕期饮酒人数比例较小,多为初产妇,分娩方式以剖宫产为主,且子代出生时孕周较小。见表2。

完成M-CHAT问卷的2 242个家庭中,单胎家庭2 074个,双胎家庭168个。累计完成M-CHAT

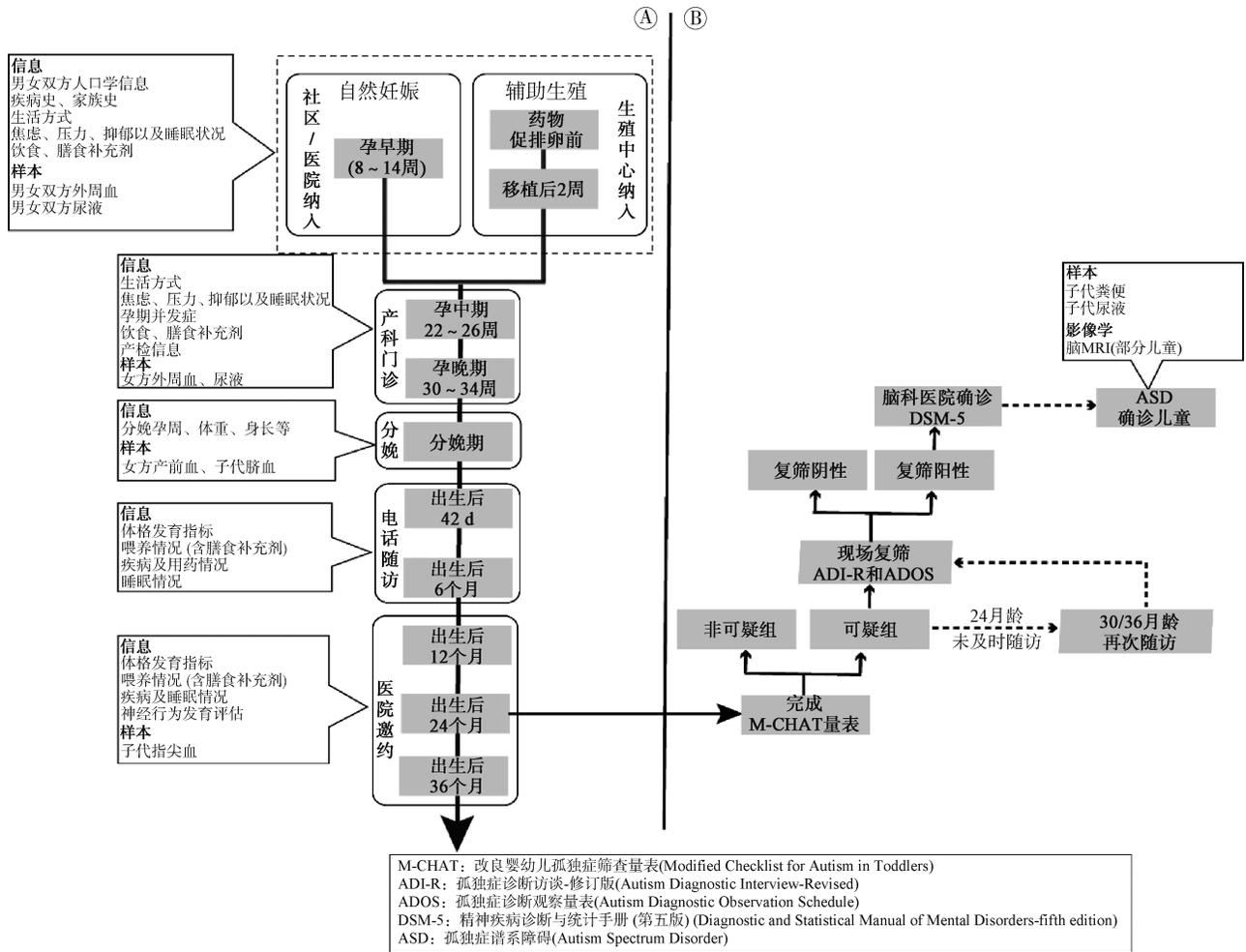


图1 孤独症亚队列随访流程图

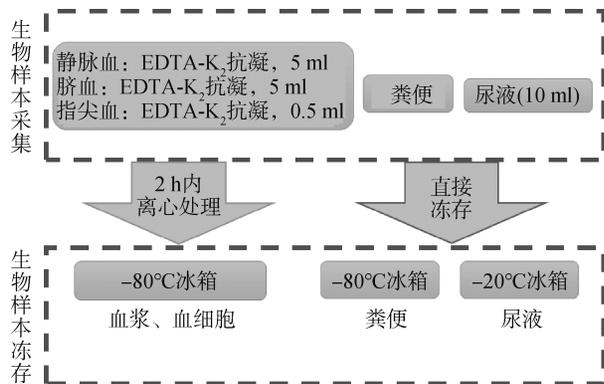


图2 样本采集及处理流程

问卷2 410份,其中ART家庭完成问卷841份,自然妊娠家庭完成1 569份。根据M-CHAT阳性判断标准(23项中≥3项阳性或6项核心项目中≥2项阳性,即可判定为ASD可疑儿童),现阶段共筛查发现38例M-CHAT阳性儿童(阳性率1.58%)。现有38例M-CHAT阳性儿童中,其中11名已在医院接受进一步诊断,共有9名(81.81%)被诊断为ASD,另2名M-CHAT筛查阳性者排除ASD诊断。对于

未能及时到医院进一步诊断的儿童,本队列将在其3岁时再次邀约到队列研究中心进行面访及进一步临床检查和诊断。鉴于目前开展亚队列时间较短,完成问卷的家庭数目和M-CHAT阳性儿童数目均较少,尚不足以比较ART和自然妊娠家庭子代M-CHAT阳性率的差异。

### 三、亚队列可行性分析及展望

本亚队列的建设依托CNBC为主体,在主队列的2家研究中心——南京医院和苏州医院开展。除主队列常规随访外,增加儿童24月龄孤独症问卷筛查,完成筛查的儿童纳入本亚队列研究并进行随访。CNBC主队列经过多年建设和运行,已形成了严谨的随访流程及质控方案,且队列成员依从性较高,孕期及产后各次随访均保持高应答率,为本亚队列研究的可行性提供了保障。亚队列目前的纳入和建设情况显示,辅助生殖和自然妊娠出生的儿童M-CHAT完成率均超过70%。根据主队列进程及亚队列纳入速度估算,1~2年内可达到

**表 1** 亚队列纳入与非纳入人群基线信息

特征	总人群 (n=3 125)	纳入人群 (n=2 242)	非纳入人群 (n=883)	P 值 <sup>a</sup>
母亲年龄(岁)	30.19±3.98	30.22±3.98	30.12±4.00	0.51
父亲年龄(岁)	31.76±5.01	31.78±5.05	31.71±4.90	0.71
母亲 BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.55±2.96	21.58±3.01	21.47±2.82	0.38
父亲 BMI(kg/m <sup>2</sup> )	24.40±3.16	24.38±3.18	24.46±3.08	0.60
母亲文化程度(%)				0.02
高中及以下	515(17.1)	349(16.1)	166(19.8)	
高中以上	2 494(82.9)	1 821(83.9)	673(80.2)	
父亲文化程度(%)				0.03
高中及以下	490(16.3)	335(15.4)	155(18.7)	
高中以上	2 521(83.7)	1 847(84.6)	674(81.3)	
孕期吸烟(%)				0.62
否	3 097(99.7)	2 230(99.7)	867(99.5)	
是	10(0.3)	6(0.3)	4(0.5)	
孕期饮酒(%)				0.81
否	3 034(98.3)	2 193(98.3)	841(98.1)	
是	53(1.7)	37(1.7)	16(1.9)	
产次(%)				0.02
0	2 284(73.5)	1 616(72.2)	668(76.4)	
≥1	824(26.5)	622(27.8)	206(23.6)	
分娩方式(%)				<0.01
剖宫产	1 585(51.3)	1 107(49.6)	478(55.8)	
阴道产	1 505(48.7)	1 126(50.4)	379(44.2)	
分娩孕周(周)	38.63±1.78	38.69±1.75	38.47±1.87	<0.01

注:所有数据均以实际具有信息人数为准,因而存在部分缺失;连续性变量表示为 $\bar{x}\pm s$ ,分类变量表示为频数(%);\*P 值为纳入与非纳入人群的对比

**表 2** 亚队列 ART 与自然妊娠家庭基线信息

特征	总人群 (n=2 242)	ART (n=688)	自然妊娠 (n=1 554)	P 值 <sup>a</sup>
母亲年龄(岁)	30.22±3.98	30.75±3.97	29.98±3.96	<0.01
父亲年龄(岁)	31.78±5.05	32.41±5.09	31.48±5.00	<0.01
母亲 BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.58±3.01	22.22±3.05	21.28±2.94	<0.01
父亲 BMI(kg/m <sup>2</sup> )	24.38±3.18	24.44±3.28	24.34±3.12	0.51
母亲文化程度(%)				<0.01
高中及以下	349(16.1)	202(29.4)	147(9.9)	
高中以上	1 821(83.9)	485(70.6)	1 336(90.1)	
父亲文化程度(%)				<0.01
高中及以下	335(15.4)	180(26.2)	155(10.4)	
高中以上	1 847(84.6)	507(73.8)	1 340(89.6)	
孕期吸烟(%)				0.19
否	2 230(99.7)	685(100.0)	1 545(99.6)	
是	6(0.3)	0(0.0)	6(0.4)	
孕期饮酒(%)				0.04
否	2 193(98.3)	674(99.3)	1 519(97.9)	
是	37(1.7)	5(0.7)	32(2.1)	
产次(%)				<0.01
0	1 616(72.2)	599(87.2)	1 017(65.6)	
≥1	622(27.8)	88(12.8)	534(34.4)	
分娩方式(%)				<0.01
剖宫产	1 107(49.6)	514(74.8)	593(38.4)	
阴道产	1 126(50.4)	173(25.2)	953(61.6)	
分娩孕周(周)	38.69±1.75	37.92±2.03	39.01±1.51	<0.01

注:所有数据均以实际具有信息人数为准,因而存在部分缺失;连续性变量表示为 $\bar{x}\pm s$ ,分类变量表示为频数(%);\*P 值为 ART 与自然人群的对比

M-CHAT 研究所需样本量,4~5 年内达到 ASD 研究所需样本量。

本研究预期目标主要可分为以下几部分:

1. 同期招募并随访 ART 与自然妊娠家庭及其子代,早期筛查并诊断 ASD 患儿,获取中国人群中 ART 子代和自然妊娠子代 ASD 发病率,评价两者是否存在系统性差异;

2. 分析不孕不育因素及辅助生殖技术和用药方案等对 ASD 发病率的影响;系统探讨与 ASD 发病风险相关的生殖及临床因素;

3. 收集孕期及子代暴露等因素并采集各类生物样本(血液、尿液等),开展 ASD 多组学研究,揭示潜在病因机制;

4. 开展多学科交流合作,为基础医学、临床医学等领域的研究提供人群队列支持。

#### 四、研究优势与潜在不足

本研究主要优势在于基于 ART 和自然妊娠家庭同期招募并平行随访的前瞻性出生队列研究,既

可以比较 ART 和自然妊娠子代 ASD 发病率,评价 ART 对子代神经行为发育的影响;也可以系统探讨孕期以及生命早期各种暴露对 ASD 发病的影响。同时,从医院电子病历中获得的各种临床检查、检测及诊断治疗信息,以及多时点收集的各类生物学标本(血液、尿液等),可以支撑下一步 ASD 病因学研究,为 ASD 发病机制的探索奠定基础。

本研究主要局限性在于有部分 M-CHAT 筛查阳性的儿童不能及时在专科医院进行就诊。这可能主要是部分儿童在发病早期症状不易被察觉,并且部分家长对邀约进行 ASD 诊断存在排斥和抵触心理。为应对此类情况,我们除在 24 月龄进行常规筛查确诊之外,还开辟了诸如 30 月龄电话邀约就诊、36 月龄面访时邀约就诊、邀请脑科医院医生在南京和苏州医院设点对队列儿童进行诊断等多种筛查确诊途径,以提高 M-CHAT 阳性儿童就诊率和诊断率。除此之外,ASD 实际发病率较低且诊断程序较为复杂,利用队列研究较难在短时间内获得

可观的病例样本量,这也在一定程度上限制了研究进展;但是队列研究由于其前瞻性的设计,可以评估纳入人群 ASD 的发病率,同时可以较好地控制各类混杂因素,并在因果时序上研究 ASD 的发病危险因素,更好地进行病因学探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] 邹小兵,邓红珠.美国精神疾病诊断分类手册第5版"孤独症谱系障碍诊断标准"解读[J].中国实用儿科杂志,2013,28(8):561-563.  
Zou XB, Deng HZ. Introduction of Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-fifth edition, diagnosis of autistic spectrum disorders [J]. Chin J Prac Pediatrics, 2013, 28(8):561-563.
- [2] Kanner L. Autistic disturbances of affective contact[J]. Nerv Child, 1943, 2:217-250.
- [3] Elsabbagh M, Divan G, Koh YJ, et al. Global prevalence of autism and other pervasive developmental disorders[J]. Autism Res, 2012, 5(3):160-179. DOI:10.1002/aur.239.
- [4] Autism Speaks. Autism Statistics and Facts[EB/OL]. [2020-12-01]. <https://www.autismspeaks.org/autism-statistics>.
- [5] Wang F, Lu L, Wang SB, et al. The prevalence of autism spectrum disorders in China: a comprehensive Meta-analysis[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(7):717-725. DOI: 10.7150/ijbs.24063.
- [6] 卫生部,国家统计局.2001年中国0~6岁残疾儿童抽样调查主要结果[J].中国残疾人,2004(4):43.  
Ministry of Health, National Bureau of Statistics. Main results of sample survey of disabled children aged 0-6 years in China in 2001 [J]. Chin Disabled People, 2004(4):43.
- [7] Duyzend MH, Nutter X, Coe BP, et al. Maternal Modifiers and Parent-of-Origin Bias of the Autism-Associated 16p11.2 CNV[J]. Am J Hum Genet, 2016, 98(1):45-57. DOI: 10.1016/j.ajhg.2015.11.017.
- [8] Kalsner L, Chamberlain SJ. Prader-Willi, Angelman, and 15q11-q13 Duplication Syndromes[J]. Pediatr Clin North Am, 2015, 62(3):587-606. DOI:10.1016/j.pcl.2015.03.004.
- [9] Huang CH, Santangelo SL. Autism and serotonin transporter gene polymorphisms:a systematic review and Meta-analysis[J]. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet, 2008, 147B(6):903-913. DOI: 10.1002/ajmg. b.30720.
- [10] Bernier R, Golzio C, Xiong B, et al. Disruptive CHD8 mutations define a subtype of autism early in development[J]. Cell, 2014, 158(2):263-276. DOI: 10.1016/j.cell.2014.06.017.
- [11] Herbert MR, Russo JP, Yang S, et al. Autism and environmental genomics[J]. Neurotoxicology, 2006, 27(5):671-684. DOI:10.1016/j.neuro.2006.03.017.
- [12] Gohary TME, Aziz NAE, Darweesh M, et al. Plasma level of transforming growth factor  $\beta$ 1 in children with autism spectrum disorder[J]. Egyptian Journal of Ear, Nose, Throat and Allied Sciences, 2015, 16(1):69-73. DOI: 10.1016/j.ejenta.2014.12.002.
- [13] Garrecht M, Austin DW. The plausibility of a role for mercury in the etiology of autism:a cellular perspective [J]. Toxicol Environ Chem, 2011, 93(5/6):1251-1273. DOI: 10.1080/02772248.2011.580588.
- [14] Yassa HA. Autism:a form of lead and mercury toxicity[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2014, 38(3):1016-1024. DOI: 10.1016/j.etap.2014.10.005.
- [15] Volk HE, Lurmann F, Penfold B, et al. Traffic-related air pollution, particulate matter, and autism[J]. JAMA Psychiatry, 2013, 70(1):71-77. DOI:10.1001/jamapsychiatry.2013.266.
- [16] Lung FW, Chiang TL, Lin SJ, et al. Assisted reproductive technology has no association with autism spectrum disorders: The Taiwan Birth Cohort Study[J]. Autism, 2018, 22(3):377-384. DOI:10.1177/1362361317690492.
- [17] Diop H, Cabral H, Gopal D, et al. Early Autism Spectrum Disorders in Children Born to Fertile, Subfertile, and ART-Treated Women[J]. Matern Child Health J, 2019, 23(11):1489-1499. DOI:10.1007/s10995-019-02770-z.
- [18] Bay B, Mortensen EL, Hvidtjorn D, et al. Fertility treatment and risk of childhood and adolescent mental disorders:register based cohort study[J]. BMJ, 2013, 347:f3978. DOI:10.1136/bmj.f3978.
- [19] Kissin DM, Zhang Y, Boulet SL, et al. Association of assisted reproductive technology (ART) treatment and parental infertility diagnosis with autism in ART-conceived children[J]. Hum Reprod, 2015, 30(2):454-465. DOI:10.1093/humrep/deu338.
- [20] Liu L, Gao J, He X, et al. Association between assisted reproductive technology and the risk of autism spectrum disorders in the offspring: a Meta-analysis[J]. Sci Rep, 2017, 7:46207. DOI:10.1038/srep46207.
- [21] Djuwantono T, Aviani JK, Permadi W, et al. Risk of neurodevelopmental disorders in children born from different ART treatments: a systematic review and Meta-analysis[J]. J Neurodev Disord, 2020, 12(1):33. DOI: 10.1186/s11689-020-09347-w.
- [22] Robins DL, Fein D, Barton ML, et al. The Modified Checklist for Autism in Toddlers: an initial study investigating the early detection of autism and pervasive developmental disorders[J]. J Autism Dev Disord, 2001, 31(2):131-144. DOI:10.1023/a:1010738829569.
- [23] Hansen M, Greenop KR, Bourke J, et al. Intellectual Disability in Children Conceived Using Assisted Reproductive Technology[J]. Pediatrics, 2018, 142(6):e20181269. DOI:10.1542/peds.2018-1269.
- [24] Zhang ZC, Han J. The First National Prevalence of Autism Spectrum Disorder in China[J]. Neurosci Bull, 2020, 36(9):959-960. DOI:10.1007/s12264-020-00571-x.
- [25] Yang W, Xia H, Wen G, et al. Epidemiological investigation of suspected autism in children and implications for healthcare system: a mainstream kindergarten-based population study in Longhua District, Shenzhen[J]. BMC Pediatr, 2015, 15:207. DOI:10.1186/s12887-015-0531-4.
- [26] Robins DL. Screening for autism spectrum disorders in primary care settings[J]. Autism, 2008, 12(5):537-556. DOI:10.1177/1362361308094502.
- [27] 邱婷,卫雅蓉,肖婷,等.改良婴幼儿孤独症量表和婴幼儿孤独症量表-23在孤独症谱系障碍早期筛查中的临床适应性比较[J].临床精神医学杂志,2020,30(1):44-46.  
Qiu T, Wei YR, Xiao T, et al. A comparison study on modified checklist for autism in toddlers and checklist for autism in toddlers-23 for early screening of autism spectrum disorder [J]. J Clinical Psychiatry, 2020, 30(1):44-46.
- [28] Robinson SL, Parikh T, Lin T, et al. Infertility treatment and autism risk using the Modified Checklist for Autism in Toddlers (M-CHAT) [M]. Hum Reprod, 2020, 35(3):684-693. DOI:10.1093/humrep/dez298.
- [29] Rutter M, Le Couteur A, Lord C. Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R) [M]. Los Angeles, CA: West. Psychol. Serv, 2003.
- [30] Lord C, Rutter M, DiLavore PC, et al. Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS) [M]. Los Angeles, CA: West. Psychol. Serv, 1999.