

母-胎界面免疫耐受微环境的分子信息传导机制

李大金

〔作者简介〕 李大金,教授,研究员,博士生导师。上海复旦大学妇产科研究所所长,上海申医生殖医学研究所所长。长期从事免疫性不孕、习惯性流产等生殖健康临床医疗及研究工作。2006 年入选上海市医学领军人才,2007 年上海市劳动模范,2008 年卫生部突出贡献中青年专家。先后 8 次获得国家自然科学基金资助。近年来发表 SCI 学术论文 50 余篇。获卫生部、教育部、上海市及国家中医药管理局等科技进步奖 13 项。主编学术专著《临床免疫学》、《生殖免疫学》,现任中国中西医结合学会理事兼妇产科专业分会主任委员,中国免疫学会理事,中华生殖医学会委员。

成功妊娠意味着母体免疫系统对胚胎抗原的免疫耐受;作为同种移植物的胎儿能够在母体内存活,直至分娩而未被母体排斥,是免疫学原理的唯一例外。母-胎界面是这一免疫耐受过程的核心部位,在母胎免疫调节中的作用已受到生殖免疫学乃至免疫学领域的广泛重视。母-胎界面 Th2 型免疫优势,及调节性 T 细胞扩增是母-胎免疫耐受及成功妊娠的标志。母-胎免疫耐受的建立和维持需由多种细胞和细胞因子介质的参与和协同作用。这种耐受机制的失调可导致母体对胚胎的免疫排斥,主要表现为反复自然流产和子痫前期等妊娠并发症。寻求安全有效的临床防治策略是根本性解决自然流产对人类生殖健康威胁的重要课题。虽然目前配偶淋巴细胞免疫治疗在反复自然流产的临床防治中起到积极作用,但其疗效机制尚不确切。因此,揭示母-胎免疫耐受调节的确切机制,以获得免疫耐受生理机制的研究突破,不仅对于重新框架和制定人类以及动物反复自然流产等妊娠疾患的防治策略具有重要意义,而且对于旨在诱导宿主对移植物产生免疫耐受的移植免疫学研究,以及旨在突破肿瘤微环境的免疫耐受,有效产生抗肿瘤免疫效应的肿瘤免疫学研究,均将产生深远的影响。

一、母-胎界面免疫微环境协同刺激信号降调节

母-胎界面的细胞组成相当复杂,根据其来源大致可分为 3 类:第一类是胚胎来源的绒毛滋养细胞及侵入蜕膜的绒毛外滋养细胞;第二类为骨髓源性蜕膜免疫活性细胞(DIC),主要包括自然杀伤细胞、T 淋巴细胞、巨噬细胞等;第三类为子宫内膜源性细胞,以

蜕膜基质细胞(DSC)及腺上皮细胞为代表。后两类细胞又可统一概括为母体来源的细胞。母体来源的细胞、胚胎来源的滋养细胞以及这些细胞产生的各种细胞因子、生长因子、激素等共同构成了母-胎界面特殊的免疫微环境,共同参与维持正常妊娠。

协同刺激信号 CD80/CD86-CD28/血细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4)在 T 细胞活化、增殖及辅助性 T 细胞(Th)的分化中起重要调节作用。干预协同刺激信号是目前诱导抗原特异性免疫耐受和调控 Th 细胞分化的重要手段。在抗原致敏期干预协同刺激信号可成功诱导抗原特异性免疫耐受^[1]。

笔者的研究表明,CD86、CD28 及 CTLA-4 在正常人妊娠早期蜕膜组成性表达;CD80 在两组中不表达或低表达。自然流产患者蜕膜 CD86 转录水平明显高于正常妊娠早期蜕膜;而 CTLA-4 转录水平则低于正常妊娠早期蜕膜^[2]。正常妊娠蜕膜局部富含 CD4⁺CD25⁺Treg,其组成性高表达 CTLA-4^[3]。Treg 经由 CTLA-4-CD80/CD86 介导其免疫抑制性调节作用,在诱导外周免疫耐受中具有重要地位。由此可见,CD86/CD80 及 CTLA-4/CD28 在人妊娠早期蜕膜细胞的组成性表达,尤其是 CTLA-4 的高表达,在维持正常妊娠母-胎界面免疫耐受微环境中发挥重要作用;蜕膜 CD86 过表达及 CTLA-4 低表达密切相关可能导致人类早期妊娠失败。

为阐述协同刺激信号在母-胎免疫耐受建立和维持中的免疫调控作用,我们于自然流产模型小鼠的着床期以 CD80/CD86 单克隆抗体干预协同刺激信号,进一步分析了母-胎界面局部 Th1 型及 Th2 型细胞因子表达格局,及外周调节性 T 细胞水平及功能。

结果发现,于着床期干预协同刺激信号后,自然流产模型(CBA × DBA/2)胚胎吸收率显著下降至接近正常妊娠模型水平。母体T细胞对父系抗原的应答能力及白细胞介素2(IL-2)的产生显著下调,孕鼠体内免疫细胞表面CD80,CD86和CD28的表达显著下降;而CTLA-4的表达显著升高。脾脏内CD4⁺CTLA-4⁺以及CD4⁺IL-10⁺T细胞比例显著增加。而CTLA-4和IL-10是T细胞介导耐受的重要的分子与细胞因子介质^[4]。于孕早期阻断CD86协同刺激信号后,母-胎界面IL-4和-10,转化生长因子-β₂(TGF-β₂)表达均显著增加;而γ干扰素(IFN-γ)和肿瘤坏死因子α(TNF-α)表达显著下降。孕鼠脾脏CD4⁺CD25⁺T细胞亚群得到显著扩增;而且CD4⁺CD25⁺调节性T细胞对同种反应性T细胞具有免疫抑制效应明显增强^[5]。因此,孕早期母-胎界面微环境协同刺激信号降调节有助于诱导母体对胚胎的免疫耐受,并最终改善自然流产模型孕鼠的妊娠预后。

二、母-胎界面IDO来源并诱导母-胎免疫耐受

母胎界面是一种特殊的免疫微环境,来自胚胎的滋养细胞及来自母体的蜕膜免疫细胞是其重要的功能细胞。早期研究发现,母胎界面高丰度表达吡哆胺双加氧酶(IDO)。IDO通过耗竭免疫微环境色氨酸,使T细胞饥饿,导致免疫耐受^[1]。在上述母-胎界面功能细胞中,胚胎来源的滋养细胞及母体来源的单核-吞噬细胞均可表达IDO^[6,7]。滋养细胞表达的IDO可直接导致T细胞向Th2型分化;IDO抑制剂通过抑制滋养细胞IDO活性介导T细胞呈现Th1型免疫优势^[7]。新近研究发现,蜕膜NK细胞可通过分泌IFN-γ(诱导CD14⁺单核-吞噬细胞表达IDO,进而导致调节性T细胞分化与扩增及免疫抑制。蜕膜NK细胞能够抵御IDO代谢产物犬尿素介导的抑制作用;而外周NK细胞则不能抵御这种抑制作用。进一步研究还发现,外周来源的NK细胞及CD14⁺细胞共培养则不能诱导调节性T细胞^[8]。因此,母-胎界面胚胎来源的及母体来源的IDO,通过诱导调节性T细胞及Th2型免疫优势,参与建立母-胎界面免疫耐受微环境,使生理性妊娠得以维持。

三、母-胎界面表达的细胞因子介导母-胎免疫耐受

蜕膜免疫细胞在母胎界面免疫耐受微环境中发挥重要的作用;dNK是蜕膜主要免疫细胞(70%);T

细胞占10%~15%;单核-吞噬细胞占15%;他们的来源是生殖免疫学领域重要的热点科学问题。虽然来自胚胎的滋养细胞不是经典的免疫细胞,但作为上游功能细胞在母胎界面免疫耐受微环境中发挥着极其重要的免疫调节作用。

在证实了滋养细胞分泌趋化因子CXCL12,而蜕膜数目最多的免疫细胞CD56^{bright}CD16⁻NK细胞高表达其受体CXCR4后,我们探讨了CXCL12对该细胞的趋化试验以分析蜕膜NK细胞募集机制。实验显示rhCXCL12对蜕膜CD56^{bright}CD16⁻NK细胞具有显著趋化作用。在一定范围内随着rhCXCL12浓度的增加其趋化能力增强;当rhCXCL12的浓度为10μg/L时,其趋化效应最强;当浓度进一步增加为100μg/L时,其趋化效应则略有下降。早孕期滋养细胞培养上清液亦显示出对蜕膜CD56^{bright}CD16⁻NK细胞明显的趋化作用。经CXCR4中和抗体处理蜕膜NK细胞后,rhCXCL12和滋养细胞培养上清液的蜕膜NK细胞趋化作用明显降低。因此,我们研究证实了rhCXCL12通过与CXCR4的相互作用引导CD56^{bright}CD16⁻NK细胞对蜕膜的迁移^[9]。

既然滋养细胞同样分泌趋化因子CXCL16,而其受体CXCR6在人蜕膜和外周血的淋巴细胞不同程度地表达,CXCL16和CXCR6间的对话可能是某些淋巴细胞被募集到子宫蜕膜的原因。我们分离了人外周血单个核细胞和蜕膜免疫活性细胞群,观察CXCL16和滋养细胞培养上清对其趋化效应。结果显示,CXCL16可以选择性地趋化外周血和蜕膜单核细胞及T细胞;对CD56^{bright}CD16⁻NK细胞也有一定的趋化效应;但对CD56^{bright}CD16⁺NK和NKT细胞没有明显的趋化作用。当rhCXCL16的处理浓度为100ng/ml时,趋化效应最为明显,CXCL16的中和性抗体可以抑制其趋化效应。值得注意的是,在CXCL16的作用下,被趋化的外周血淋巴细胞的构成比例与蜕膜免疫细胞组成类似^[10]。因此,滋养细胞分泌的趋化因子参与蜕膜3种免疫活性细胞的募集及组成。

胸腺基质促淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)是由上皮细胞分泌的细胞因子,参与中枢及外周免疫耐受,及可能参与Th2型免疫病理损伤^[11]。我们新近研究发现,母-胎界面胎儿来源的滋养细胞如何训导母体来源的蜕膜免疫细胞并促进Th2型优势的形成与发展,诱导母胎免疫耐受的机制。滋养细胞通过分泌TSLP训导dDCs,并使dDCs

分泌高水平 IL-10 与 CCL17; TSLP-dDCs 则诱导 dCD4⁺ T 细胞呈现 Th2 型偏移, 从而形成有利于正常妊娠的母-胎界面免疫耐受微环境^[12]。

四、母-胎界面表达的 HLA-G 在母-胎免疫效应中的调节作用

胎盘滋养细胞表达 HLA-G 早在 20 年前被研究证实; 然而, 迄今为止对 HLA-G 在母胎界面的生物学功能仍未达成广泛共识。早期研究证实, 滋养细胞特别是绒毛外细胞滋养细胞表达通过表达 HLA-G, 作用于蜕膜 NK 细胞 KIR 受体, 启动 NK 细胞内抑制性信号通路, 从而抑制 NK 细胞的杀伤能力^[13]。实际上 HLA-G 对相应受体结构的调节过程及其复杂, 对靶细胞的调节作用远远超过免疫抑制剂; 由受体不同结构通过不同的信号通路产生出功能调节的多样性^[14]。最近研究发现, 滋养细胞表达的二聚体 HLA-G 分别作用于母-胎界面 CD14⁺ 巨噬细胞代表的 LILRB1, 及 NK 细胞代表的 KIR2DL4, 升调节这些细胞分泌 IL-6、IL-8 和 TNF- α 等细胞因子, 使母-胎界面呈现 Th2 型免疫优势及促血管形成的细胞因子格局^[15]。显然, 胚胎来源的滋养细胞表达的 HLA-G 在母-胎免疫耐受微环境中发挥着多重免疫调节作用。

综上所述, 母-胎界面免疫耐受微环境在维持生理性妊娠平稳过渡直至分娩过程中发挥核心作用; 母-胎界面多种功能细胞通过表达膜表面分子及分泌可溶性分子, 及它们之间的复杂的交互作用, 为建立及维持这一免疫耐受微环境做贡献。胚胎来源的滋养细胞从来就不是历来顺受; 它们通过表达膜表面分子及可溶性分子, 训导母体来源的蜕膜细胞, 特别是免疫活性细胞, 在母-胎免疫耐受及母-胎免疫调节中, 发挥至关重要的作用。

参考文献

- Greenwald RJ, Freeman GJ, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23:515-548
- Jin LP, Zhang T, Fan DX, *et al.* The co-stimulatory signal upregulation is associated with Th1 bias at the maternal-fetal interface in human miscarriage. *Am J Reprod Immunol*, 2011, in press.
- Jin LP, Chen QY, Zhang T, *et al.* The CD4⁺ CD25^{bright} regulatory T cells and CTLA-4 expression in peripheral and decidual lymphocytes are down-regulated in human miscarriage. *Clin Immunol*, 2009, 133(3):402-410
- Jin LP, Zhou YH, Wang MY, *et al.* Blockade of CD80 and CD86 at the time of implantation inhibits maternal rejection of the allogeneic fetus in abortion-prone matings. *J Reprod Immunol*, 2005, 65(2):133-146
- Zhu XY, Zhou YH, Wang MY, *et al.* Blockade of CD86 signaling facilitates a Th2 bias at the materno-fetal interface and expands peripheral CD4⁺ CD25⁺ regulatory T Cells to rescue the abortion-prone fetuses. *Biol Reprod*, 2005, 72(2):338-345
- Zhu BT. Development of selective immune tolerance towards the allogeneic fetus during pregnancy: Role of tryptophan catabolites (Review). *Int J Mol Med*, 2010, 25(6):831-835
- Li XL, Gui SQ, Wang HY. Effect of Kidney-replenishing herb on the indoleamine 2,3-dioxygenase of human syncytiotrophoblasts cultured in vitro and the balance of helper T-cell cytokines. *Gynecol Endocrinol*, 2007, 23(11):653-661
- Vacca P, Cantoni C, Vitale M, *et al.* Crosstalk between decidual NK and CD14⁺ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(26):11918-11923
- Wu X, Jin LP, Yuan MM, *et al.* Human first-trimester trophoblast cells recruit CD56bright CD16⁺ NK cells into decidua by way of expressing and secreting of CXCL12/SDF-1. *J Immunol*, 2005, 175(1):61-68
- Huang Y, Zhu XY, Du MR, *et al.* Human trophoblasts recruited T lymphocytes and monocytes into decidua by secretion of chemokine CXCL16 and interaction with CXCR6 in the first-trimester pregnancy. *J Immunol*, 2008, 180(4):2367-2375
- Liu YJ, Soumelis V, Watanabe, N, *et al.* TSLP: An epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25:193-220
- Guo P F, Du M R, Wu H X, *et al.* Thymic stromal lymphopoietin from trophoblasts induces dendritic cell-mediated regulatory TH2 bias in the decidua during early gestation in humans. *Blood*, 2010, 116:2061-2069
- Apps R, Gardner L, Moffett A. A critical look at HLA-G. *Trends Immunol*, 2008, 29(7):313-321
- Hunt JS, Langat DL. HLA-G: a human pregnancy-related immunomodulator. *Curr Opin Pharmacol*, 2009, 9:462-469
- Li CL, Houser BL, Nicotra ML, *et al.* HLA-G homodimer-induced cytokine secretion through HLA-G receptors on human decidual macrophages and natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(14):5767-5772

(收稿: 2011-02-23)