

HLA - G 与母胎免疫耐受

李静博 周美英 许惠惠 颜卫华

摘 要 HLA - G 属于非经典的 HLA - G I 类抗原,其分子组织分布范围窄,生理状态下主要分布在母胎界面的绒毛外细胞滋养层上,在母胎免疫耐受方面发挥重要作用。本文对与生殖有关的 HLA - G 表达,妊娠及妊娠并发症中 HLA - G 在母胎界面的免疫耐受调节研究进展做如下综述。

关键词 HLA - G 母胎免疫耐受

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.01.004

正常妊娠过程中,具有父源性 HLA 抗原的胎儿作为“半同种移植体”不被母体免疫系统排斥,并正常发育至分娩。母胎界面滋养层细胞具有独特的 HLA 抗原表达格局,其不表达经典 HLA - A、B 分子及 HLA II 类分子,仅表达非经典的 HLA I 类分子(HLA - E、HLA - F、G)及经典的 HLA - C 分子^[1]。

一、HLA - G 概述

人类白细胞抗原 G(human leukocyte antigen - G, HLA - G)是机体内重要的免疫耐受分子,其初始转录物 mRNA 经选择性剪接后,编码产生 7 种异构体,包括 4 种膜结合型 HLA - G1 ~ G4 和 3 种可溶型 HLA - G5 ~ G7 抗原。此外,其中 HLA - G1 经金属基质蛋白酶作用生成可溶型 HLA - G1(sHLA - G)^[2]。HLA - G 的表达主要在妊娠期,由于其与很多的妊娠并发症有关,在妊娠方面广泛研究,尤其是子痫前期和反复性流产^[3-5]。Barrientos 等^[6]提出瘦素(leptin)可以通过 MEK/Erk and PI₃K 信号途径促进胎盘滋养层细胞表达 HLA - G,从而参与到母胎界面的免疫调节中。Moodley 等^[7]发现 HLA - G 在 HIV - 1 感染的母亲及新生儿体内表达量显著升高,由此得出 HLA - G 是母胎屏障 HIV - 1 传递的危险因素。

HLA - G 分子的免疫调节功能分为两个方面,即直接与各种免疫细胞上的细胞受体结合以及间接通过 HLA - G 依赖调节性细胞的产生,如抑制性 T 细胞(suppressor T cell)和耐受性树突状细胞(tolerogenic dendritic cell)等调节机体的免疫状态,并且它还可

能参与调节血管生成和细胞迁移。目前已发现多种 HLA - G 细胞受体,包括抑制性受体 ILT - 2、ILT - 4,非抑制性受体 CD8、KIR2DL4、CD160^[8]。在妊娠子宫中,母体蜕膜细胞表达的 CD8、ILT - 2、ILT - 4、KIR2DL4 受体可以与滋养层细胞 HLA - G 的特异性配体相互作用。

二、HLA - G 在母胎界面的表达

母胎界面主要由胎儿来源的绒毛外细胞滋养细胞、母体来源蜕膜基质细胞、蜕膜腺上皮细胞以及免疫细胞所组成^[9]。在正常生理情况下,HLA - G 分子的表达主要分布于母胎界面的绒毛外细胞滋养层上,绒毛外滋养细胞(extra villous trophoblast, EVT)能侵袭至蜕膜并与母体蜕膜内的各类细胞接触。EVT 在母胎界面保持耐受性的状态,它主要表达转化生长因子 β (TGF - β)、白细胞介素 10(IL - 10)、IDO(indoleamine 2,3 - dioxygenase)、PD - L1(programmed cell death 1 ligand 1)和 HLA - G^[10]。值得关注的是,HLA - G 异构体分子在绒毛到蜕膜的表达有明显不同。对 HLA - G 表达的研究结果显示:①胎盘上有极少数的 HLA - G3、HLA - G4、HLA - G7 的 mRNA 的表达;②HLA - G1、HLA - G5、HLA - G2/G6 只存在于蜕膜 EVT 和细胞滋养细胞柱;③HLA - G5 在滋养层细胞的亚群中都有表达^[11]。

在整个妊娠过程中均可检测出 sHLA - G 的存在,其含量明显高于非妊娠妇女,但其与早产、羊水偏少、产前子痫等病理性妊娠的关系尚无明确结论^[12]。相反,sHLA - G 在胚胎的早期发育和种植等方面发挥重要作用,研究发现 sHLA - G 是一种评价胚胎质量较为理想的生物学标志物^[12,13]。Loustau 等^[14]提出在传统的形态学标准上添加 sHLA - G 的判断方法可作为临床上选择胚胎的有力工具。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31370920,81372247);浙江省公益技术应用研究计划项目(2016C33231)

作者单位:317000 临海,温州医科大学附属台州医院中心实验室

通讯作者:颜卫华,电子信箱:yanwh@enzemed.com

三、HLA - G 与母胎免疫耐受

受精卵植入后,妊娠子宫的细胞组成发生了很大的变化,妊娠初期和中期 $CD56^+CD16^{-/dim}$ 子宫 NK 细胞 (uterus natural killer cell, uNK) 占白细胞总数的 20% ~ 40%, 随着妊娠周期延长而逐渐减少直至检测不到。相反,巨噬细胞在整个妊娠过程中均维持在 10% ~ 20% 的水平。此外,尚有少量 $CD4^+CD25^+$ Treg 细胞、树突状细胞和淋巴细胞。HLA - G 介导的白细胞和滋养层细胞的相互作用及其上述受体对理解母胎界面的免疫调节有很大的帮助。一系列研究显示 HLA - G 在怀孕及妊娠期间的免疫调节中处于核心的位置^[13,15-18]。

1. NK 细胞与 HLA - G: 在妊娠期的第 1、2、3 个月, $NK^{CD56^+CD16^{-/dim}}$ 细胞被大量招募来参与子宫螺旋动脉的重构,增加胎儿的供血^[18]。健康妊娠子宫中, EVT 表面不仅表达 HLA - G 还表达 HLA - E, HLA - E 属非经典的 HLA I 类分子, HLA - E 分子与 HLA - G 前导序列九聚体肽段 (VMAPRTLFL) 具有高亲和性并优先结合,促进并稳定 HLA - E 在 EVT 表面的稳定性^[16,19]。大多数的 uNK 表面表达高水平的 $CD94/NKG2A$ 抑制性受体,研究表明 HLA - G 分子可上调通过与 NK 细胞表面 $CD94/NKG2A$ 类受体结合,可抑制 NK 细胞的杀伤活性^[20]。Tilburgs 等^[15]提出了与子宫 NK 细胞和 EVT 相关的 HLA - G 循环, HLA - G 循环是指子宫 NK 细胞通过胞啃获取 HLA - G、内化、降解或缺失、重新胞啃获取 HLA - G 等方式短暂获取 EVT 局部功能性片段的过程。他们认为子宫 NK 细胞通过胞啃 (trogonocytosis) 获取 EVT 表面的 HLA - G 及随后的 HLA - G 循环可能对解释母体免疫中多重复杂的机制有帮助,但是胞内 HLA - G 信号转导的结果及影响需要进一步的探索。

2. T 细胞与 HLA - G: Contini 等^[21]发现了 sHLA - G5 通过与 $CD8$ 分子的特异性结合和 Fas/FasL 途径的活化诱导 $CD8^+$ T 细胞的凋亡,说明了妊娠前 3 个月 $CD8^+$ T 细胞数量减少是由 sHLA - G5 诱导凋亡形成的。Morales 等证明 sHLA - G5 和 sHLA - G6 都可以减少 $CD8$ 的表达。胸腺基质淋巴细胞生成素 (TSLP) 是由胸腺小体的上皮细胞合成的,能够诱导树突状细胞刺激调节性 T 细胞的分化。在怀孕期间滋养层细胞可以合成 TSLP,滋养层细胞与树突状细胞在子宫螺旋动脉附近紧密接触, TSLP 能够刺激 $CD11^+$ DCs 分泌 IL - 10 和 TGF - β 并且可诱导未成熟 T 细胞分化为 $CD4^+CD25^+$ FoxP3⁺ 调节

性 T 细胞。调节性 T 细胞进一步诱导滋养层细胞表达 HLA - G, 后者进一步减弱 NK 细胞的细胞毒性作用^[10]。除了 $CD4^+CD25^+$ FoxP3⁺ 调节性 T 细胞, Giada 等还关注了 $CD4^+HLA - G^+/CD8^+HLA - G^+$ 调节性 T 细胞, 他们发现妊娠女性外周血 $CD4^+HLA - G^+$ T 细胞含量相对于正常人显著增高, 妊娠女性蜕膜 $CD4^+HLA - G^+$ T 细胞含量相对于外周血显著增高。 $CD4^+HLA - G^+/CD8^+HLA - G^+$ 调节性 T 细胞是免疫抑制细胞但不表达 FoxP3, 有证据显示它们来源于胸腺, 然而也有证据显示这些活化的 T 细胞通过胞啃机制从 HLA - G⁺ APC 细胞表面获取 HLA - G。胞啃即免疫活性细胞通过细胞 - 细胞间接触而快速获取靶细胞表面的胞膜片段和相关分子的现象。

Hsu 等^[5]描述了发生先兆子痫的女性中免疫调节细胞的作用。在这项研究中检测了以下几种细胞: 未妊娠女性、发生先兆子痫的女性及健康妊娠女性外周血及蜕膜中的 $CD4^+HLA - G^+$ T 细胞。与未妊娠对照组相比, 妊娠组外周血中 $CD4^+HLA - G^+$ T 细胞数量增加。先兆子痫的女性与正常妊娠女性相比, $CD4^+HLA - G^+$ T 细胞的数量显著下降。 $CD4^+HLA - G^+$ T 似乎要比 $CD4^+HLA - G^-$ T 成熟, 因为它们可表达 $CD80$ 和 $CD86$ 。同样, 蜕膜中 $CD4^+HLA - G^+$ T 在蜕膜中同外周血相比数量增加, 但是, 这是在蜕膜 $CD4^+HLA - G^+$ T 本身的扩增还是外周血 $CD4^+HLA - G^+$ T 迁移到蜕膜的还不确定。Hsu 等^[22]研究显示子痫前期的女性相对于正常妊娠女性, 蜕膜中 $CD14^+$ DC - SIGN⁺ APC HLA - G 表达的比例及强度都有明显下降, ILT - 4 的表达也是如此, 由此说明, HLA - G 及 ILT - 4 的下降可能与子痫前期中免疫耐受的损坏有关。

3. 树突状细胞 (DCs) 与 HLA - G: 蜕膜树突状细胞研究的困难不仅因为蜕膜细胞包括树突状细胞的分离需要技术的支持, 并且树突状细胞的表型存在争议, 目前为止并没有适合树突状细胞的特异性抗体。Hsu 等^[22]发现 $CD4^+Helios^-Foxp3^+$ adaptive Treg (iTreg) 细胞的增殖是正常妊娠中母胎免疫中所必需的, 蜕膜 $CD14^+$ DC - SIGN⁺ APC 与 Foxp3⁺ Treg 细胞联系紧密, 然后进一步发现正常妊娠女性的蜕膜中 $CD14^+$ DC - SIGN⁺ APC 相对于 $CD14^+$ DC - SIGN⁻ APC HLA - G 表达的比例及强度有显著增加。所有的 $CD14^+$ 的细胞都表达 ILT - 4, 然而, 蜕膜中 DC - SIGN⁺ APC 相对于 DC - SIGN⁻ APC 表达更高水平的 ILT - 4。Gregori 等新发现了耐受型 DC 细胞亚

群,其在妊娠期间在蜕膜处聚集。这些细胞表达 HLA - G,分泌高浓度的 IL - 10 细胞因子因此被命名为 DC10。DC - 10 可以诱导 I 型调节性 T 细胞分泌 IL - 10 和 TGF - β 。Giada 等采用蜕膜白细胞 (CD45⁺) 上 CD14、CD16、CD83 共表达鉴定为 DC10。他们发现妊娠女性蜕膜 DC10 的比例与外周血相比有明显的增加。与外周血 DC10 相比,蜕膜 DC10 表达同等水平的 HLA - G,但是 ILT4 的水平明显下降,需要进一步的功能试验来确定蜕膜 DC10 的来源及作用。

4. 单核 - 吞噬细胞与 HLA - G:蜕膜单核 - 吞噬细胞可被子宫 NK 细胞分泌的 IFN γ 激活,HLA - G⁺ EVT 通过激活蜕膜单核 - 吞噬细胞表面的抑制性受体 ILT - 2 和 ILT - 4 与其结合,由此减少了蜕膜单核 - 吞噬细胞介导的对 EVT 的细胞溶解或细胞凋亡作用。

综上所述,母亲的血液、卵泡液、生殖道、胎盘的胚胎及滋养层细胞及父亲精液中 HLA - G 的综合表达在妊娠免疫调节中尤为重要。需要更多的研究来阐明这些不同来源的 HLA - G 的精确作用和重要性,以及与正常妊娠、先兆子痫、反复性流产及辅助生殖之间的关系。

参考文献

- David DR, Shirley AE, Ian LS. The short forms of HLA - G are unlikely to play a role in pregnancy because they are not expressed at the cell surface[J]. J Reprod Immunol, 2000, 47(1): 1 - 16
- Lin A, Yan WH. HLA - G expression in cancers: roles in immune evasion, metastasis and target for therapy[J]. Mol Med, 2015
- Lynge Nilsson L, Djuricic S, Hviid TV. Controlling the immunological crosstalk during conception and pregnancy: HLA - G in reproduction[J]. Front Immunol, 2014, 5: 198
- 刘兴会, 王晓东, 何国琳. 子痫前期发病机制的研究现状及展望[J]. 四川大学学报: 医学版, 2015, 1: 22
- Hsu P, Santner - Nanan B, Joung S, *et al.* Expansion of CD4 + HLA - G + T Cell in human pregnancy is impaired in pre - eclampsia[J]. Am J Reprod Immunol, 2014, 71(3): 217 - 228
- Barrientos G, Toro A, Moschansky P, *et al.* Leptin promotes HLA - G expression on placental trophoblasts via the MEK/Erk and PI3K signaling pathways[J]. Placenta, 2015, 36(4): 419 - 426
- Moodley S, Bobat R. Expression of HLA - G1 at the placental interface of HIV - 1 infected pregnant women and vertical transmission of HIV[J]. Placenta, 2011, 32(10): 778 - 782
- Álvarez G, Vera R, Joel L, *et al.* The immunosuppressive molecule HLA - G and its clinical implications[J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2012, 49(3): 63 - 84

- 李大金. 母 - 胎界面交互对话介导母 - 胎免疫耐受[J]. 生殖医学杂志, 2014, 23(3): 209 - 211
- Du MR, Guo PF, Piao HL, *et al.* Embryonic trophoblasts induce decidual regulatory T cell differentiation and maternal - fetal tolerance through thymic stromal lymphopoietin instructing dendritic cells[J]. J Immunol, 2014, 192(4): 1502 - 1511
- Rizzo R, Vercammen M, van de Velde H, *et al.* The importance of HLA - G expression in embryos, trophoblast cells, and embryonic stem cells[J]. Cell Mol Life Sci, 2011, 68(3): 341 - 352
- Elnaz M, Jafar M, Mojdeh M, *et al.* HLA - G expression pattern: reliable assessment for pregnancy outcome prediction[J]. Adv Pharmacol Bull, 2013, 3(2): 443
- Hviid TV. Human leukocyte antigen - G within the male reproductive system: implications for reproduction[J]. Adv Exp Med Biol, 2015, 868: 171 - 190
- Loustau M, Wiendl H, Ferrone S, *et al.* HLA - G 2012 conference: the 15 - year milestone update[J]. Tissue Antigens, 2013, 81(3): 127 - 136
- Tilburgs T, Evans JH, Crespo AC, *et al.* The HLA - G cycle provides for both NK tolerance and immunity at the maternal - fetal interface[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112(43): 13312 - 13317
- Tilburgs T, Crespo AC, van der Zwan A, *et al.* Human HLA - G + extravillous trophoblasts: immune - activating cells that interact with decidual leukocytes[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(23): 7219 - 7224
- Mercy PD, Elizabeth B, Kathleen C, *et al.* Immune mechanisms at the maternal - fetal interface: perspectives and challenges[J]. Nat Immunol, 2015, 16(4): 328 - 334
- Le Bouteiller P. HLA - G in human early pregnancy: control of uterine immune cell activation and likely vascular remodeling[J]. Biomed J, 2015, 38(1): 32 - 38
- Sullivan LC, Clements CS, Rossjohn J, *et al.* The major histocompatibility complex class Ib molecule HLA - E at the interface between innate and adaptive immunity[J]. Tissue Antigens, 2008, 72(5): 415 - 424
- Male V, Sharkey A, Masters L, *et al.* The effect of pregnancy on the uterine NK cell KIR repertoire[J]. Eur J Immunol, 2011, 41(10): 3017 - 3027
- Contini P, Ghio M, Merlo A, *et al.* Apoptosis of antigen - specific T lymphocytes upon the engagement of CD8 by soluble HLA class I molecules is Fas ligand/Fas mediated: evidence for the involvement of p56lck, calcium calmodulin kinase II, and Calcium - independent protein kinase C signaling pathways and for NF - κ B and NF - AT nuclear translocation[J]. J Immunol, 2005, 175(11): 7244 - 7254
- Hsu P, Nanan RK. Innate and adaptive immune interactions at the fetal - maternal interface in healthy human pregnancy and pre - eclampsia[J]. Front Immunol, 2014, 5: 125

(收稿日期:2016 - 05 - 30)

(修回日期:2016 - 06 - 14)