

综述

母-胎界面T细胞功能研究进展

黄茜茜^{1, #}, 刘璐^{1, 3, #}, 王莉^{1, 3, 4, *}, 杜美蓉^{1, 2, 3, *}

¹复旦大学附属妇产科医院研究所, 上海 200011; ²国家人口和计划生育委员会计划生育药具重点实验室, 上海 200032;
³上海市女性内分泌相关疾病重点实验室, 上海 200011; ⁴复旦大学附属妇产科医院中西医结合科, 上海 200011

摘要: 母-胎界面免疫耐受是成功妊娠建立和维持的基础, T细胞是子宫蜕膜免疫细胞的重要组成细胞, 既要介导抗感染免疫, 保护胚胎免遭外来病原体攻击, 同时又要参与母体接受同种异体胚胎的复杂免疫调节过程, 在调控胚胎植入和维持妊娠过程中发挥重要作用, 其功能失调可能会导致早期妊娠失败或中晚期妊娠并发症。本文就近年来关于妊娠期母-胎界面T细胞亚群的组成、表型特征及其功能进行介绍, 并进一步阐述蜕膜CD4⁺与CD8⁺T细胞在母-胎免疫调节中的作用, 以及异常调控致早期妊娠失败的分子机制, 有助于深入理解母-胎免疫耐受机制, 为妊娠相关疾病的防治提供新的线索。

关键词: T细胞; 母-胎界面; 母-胎免疫耐受; 妊娠相关疾病

中图分类号: R392.1; R711.6

Research advances in the function of T cells at the maternal-fetal interface

HUANG Xi-Xi^{1, #}, LIU Lu^{1, 3, #}, WANG Li^{1, 3, 4, *}, DU Mei-Rong^{1, 2, 3, *}

¹Institute of Obstetrics and Gynecology, Hospital of Obstetrics and Gynecology, Fudan University, Shanghai 200011, China; ²Key Laboratory of Reproduction Regulation of the National Population and Family Planning Commission (NPFPC), Shanghai 200032, China; ³Key Laboratory of Female Reproductive Endocrine Related Diseases, Shanghai 200011, China; ⁴Department of Integrated Traditional and Western Medicine, Hospital of Obstetrics and Gynecology, Fudan University, Shanghai 200011, China

Abstract: Immune tolerance at maternal-fetal interface is the basis for establishment and maintenance of successful pregnancy. T cells are pivotal compositions of uterine decidual immune cells, which are required to mediate anti-infection immunity and protect embryos from external antigens attack. T cells also participate in the complex immune regulation process of maternal acceptance of semi-allogeneic embryos, and play an important role in regulating embryo implantation and maintaining pregnancy. Its dysfunction may lead to early pregnancy failures or mid-late pregnancy complications. This review summarizes the compositions, phenotypic characteristics and functions of decidual T cells at the maternal-fetal interface in recent years, and further describes the regulation of decidual CD4⁺ and CD8⁺ T cells in maternal-fetal immune tolerance as well as the molecular mechanisms of abnormal regulation leading to early pregnancy failures. Through the in-depth understanding the mechanism of maternal-fetal immune regulation, it supplies a novel concept on maternal-fetal immune tolerance and new clues for the immunotherapy of pregnancy-related diseases.

Key words: T cells; maternal-fetal interface; maternal-fetal tolerance; pregnancy complications

T细胞在适应性免疫应答中发挥着核心作用, 它们控制和协调免疫反应, 具有杀伤肿瘤细胞和抗病原体感染等免疫防御和监视功能, 也是介导对异体移植免疫排斥反应的主要功能细胞。另外, 正

常的免疫系统功能依赖于T细胞对自身抗原的免疫耐受, 能够区分自身抗原和外源肽对T细胞发挥功能至关重要。母-胎免疫是违背经典免疫学原理的唯一悖论, 成功的妊娠依赖于母体对胎儿这种同种

Received 2019-07-04 Accepted 2019-09-25

[#]These authors contributed equally to this review.

^{*}Corresponding authors. DU Mei-Rong: E-mail: mrdu@fudan.edu.cn; WANG Li: E-mail: wanglisa1101@163.com

半异体移植物保持持续稳定的免疫耐受^[1]。事实上, 胎儿与母体组织并不直接接触, 而是通过两个母-胎界面进行对话, 其一是在子宫局部, 通过胎盘绒毛外滋养细胞 (extravillous trophoblasts, EVT) 直接与母体蜕膜免疫细胞和蜕膜基质细胞 (decidual stromal cells, DSCs) 相互作用; 其二是妊娠过程中胎盘合体滋养层细胞或碎片进入母体循环, 给母体免疫系统提供了丰富的胚胎和胎盘抗原, 进而诱导胚胎抗原特异性 T 细胞的产生^[2]。但是胚胎抗原引起的 T 细胞免疫反应不同于移植物造成的免疫应答, 而是以一种天然的耐受型免疫为主。研究表明妊娠期间母体免疫系统并未受到抑制^[1], 母体对胎儿提供免疫保护的同时也具备抵抗外来细菌或病原体感染的能^[3-5]。本文主要从蜕膜 T 细胞的组成与特征, T 细胞亚群在母-胎免疫中的调节作用及其异常调控致早期妊娠失败的分子机制进行综述。

1 母-胎界面T细胞的组成与表型特征

母-胎界面上存在两种 T 细胞, 分别表达 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) $\alpha\beta$ 和 $\gamma\delta$, 一般认为主要是 TCR $\alpha\beta$ T 细胞在胚胎抗原识别中起了关键作用, 并影响着妊娠结局。正常妊娠早期, 蜕膜 $\alpha\beta$ T 细胞占蜕膜淋巴细胞的 10%~20%^[6], 相较于外周血, 蜕膜中的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞比例出现倒置, 以 CD8⁺ T 细胞为主 (45%~75%)^[6, 7]。随着妊娠的进展, 母-胎界面 T 细胞逐渐增多, 至妊娠晚期, T 细胞成为优势淋巴细胞群体, 约占蜕膜淋巴细胞的 60%^[4]。母-胎界面 T 细胞以 CD45RO⁺ 效应 T 细胞为主, 其中蜕膜 CD8⁺ T 细胞表现出高度分化的效应记忆表型 (effector-memory, EM)(CD45RO⁺CD28⁻), 极少数为初始 T 细胞^[4]。此外, 蜕膜 CD8⁺ T 细胞不仅增殖能力提高, 同时还表达多种活化分子如 CD69、HLA-DR、CD38、CD25、CD122 等^[3], 上调共抑制分子 PD-1、Tim-3、CTLA-4 的表达, 这些共抑制分子在不明原因复发性流产 (unexplained recurrent spontaneous abortion, URSA) 患者及自然流产模型小鼠蜕膜 CD4⁺ T 细胞与 CD8⁺ T 细胞中的表达均显著降低^[8-11]。趋化因子及其受体的相互作用是效应 T 细胞能够归巢到外周组织的重要因素, T 细胞活化后会上调趋化因子受体 3 (CXCR3) 的表达, 有研究表明 17% 的蜕膜 CD4⁺ T 细胞表达 CXCR3^[4]。在小鼠模型中, DSCs 中 CXCR3 的配体 CXCL9、CXCL10 和 CXCL11 在表观遗传水平被选择性地沉

默, 因而限制了胚胎抗原特异性的 T 细胞在母-胎界面的富集, 但依然是募集 T 细胞到达人体母-胎界面的主要因素^[2, 7, 12]。

CD4⁺ T 细胞亚群包括辅助 T 细胞 (help T cells, Th) 和调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg), 其中 Th 细胞又可分为 Th1、Th2 和 Th17^[13-15], 它们通过分泌不同的细胞因子调节机体免疫, 在母-胎免疫耐受中发挥着各自不同的作用。自然流产患者蜕膜局部与外周 Th1、Th2、Th17 及 Treg 细胞亚群平衡失调, 表现为 Th1、Th17 比例增高, 耐受性 Th2、Treg 比例下降与功能缺陷^[16]。研究表明 Th1 细胞占早期妊娠蜕膜 CD4⁺ T 细胞的 5%~30%, 而 Th2 和 Th17 细胞分别仅占约 5% 和约 2%^[7, 14, 17]。Treg 细胞可分为自然调节性 T 细胞 (natural regulatory T cells, nTreg) 和诱导性调节性 T 细胞 (induced regulatory T cells, iTreg), 正常妊娠母-胎界面 Treg 细胞显著高于外周血及自然流产患者蜕膜局部^[18, 19]。有报道认为: 蜕膜 Treg 细胞是从外周血中通过趋化因子 CCL19、CXCL12 及趋化因子受体 CCR5、CCR7 和 CXCR4 的作用选择性募集至母-胎界面^[20-23]。亦有研究显示蜕膜 Treg 细胞是由其中 CD4⁺CD45RA⁺ 初始 T 细胞分化而来^[24]。Tilburgs 等通过表型和功能分析将蜕膜 CD4⁺ Treg 细胞进一步划分为 CD25^{hi}-FOXP3⁺、PD-1^{hi}IL-10⁺ 和 TIGIT⁺FOXP3^{dim} 三种表型, 它们均具有调节和抑制 T 细胞反应的能力^[25]。

2 母-胎界面T细胞的功能

2.1 Th1/Th2细胞

Th1/Th2 细胞介导的免疫平衡是维持母-胎免疫耐受的主要机制之一。Th1 细胞能特异性表达转录因子 T-bet 与信号转导和转录激活因子 4 (signal transducer and activator of transcription 4, STAT4), 分泌白细胞介素 2 (interleukin 2, IL-2)、 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 和 β (TNF- β) 等促炎性细胞因子, 杀伤胞内病原体或肿瘤细胞。Th2 细胞表达转录因子 GATA-3 和 STAT6, 分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 等细胞因子, 并辅助 B 细胞产生抗体, 抵抗寄生虫感染或黏膜感染。在正常妊娠情况下, Th1/Th2 平衡偏向 Th2^[8, 26]。小鼠妊娠模型母-胎界面呈现典型的 Th2 型免疫优势, 一旦这种 Th2 型免疫优势被打破, 自然流产的发生率显著增加^[27]。生理浓度的

TNF- α 和 IFN- γ 等 Th1 型细胞因子对妊娠产生积极影响，在胚胎种植前后能够参与子宫血管重建过程^[28]。过度表达的 Th1 型细胞因子会增加蜕膜局部炎症反应，抑制滋养层细胞入侵并促进其凋亡，活化自然杀伤细胞 (natural killer cells, NK)，增强蜕膜巨噬细胞的活性，从而抑制胚胎植入，并影响胚胎生长^[29]。Th2 型细胞因子能够抑制炎症，减少组织损伤，刺激滋养层细胞的生长和侵袭，增加子宫容受性^[29]。

Th1 型与 Th2 型细胞因子在子宫局部特定微环境作用下共同构成了蜕膜局部细胞因子网络，形成独特的 Th2 型优势，维持母-胎免疫耐受状态。其中早孕期胚胎滋养细胞在母-胎界面 Th2 型优势形成中发挥重要作用，滋养细胞分泌胸腺基质促淋巴细胞生成素 (thymic stromal lymphopoietin, TSLP)，诱导蜕膜 CD1a⁺ 树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 产生高水平 IL-10 和 Th2 型细胞趋化因子 (CCL17)，募集和诱导蜕膜 Th2 型细胞优势分化，并进一步抑制促炎细胞因子 TNF- α 的分泌^[30, 31]。另外，研究显示母-胎界面趋化 Th1 型细胞的趋化因子 (如 CXCL9、CXCL10、CXCL11 和 CCL5) 在表观遗传水平上被选择性地沉默，从而影响 Th1 型 T 细胞在蜕膜组织的富集^[7, 26]。免疫检查点在天然免疫和特异性免疫中发挥着负向调节作用，早孕期表达多种共抑制分子 Tim-3、PD-1 或 CTLA-4 的蜕膜 CD4⁺ T 细胞具有更高的增殖能力，并产生高水平 Th2 型细胞因子，有利于母-胎耐受形成^[8, 10]。体外或体内阻断共抑制信号后，CD4⁺ T 细胞功能紊乱，分泌 Th1 型细胞因子明显增多，母-胎界面耐受状态被打破，小鼠胚胎丢失增加；临床亦观察到自然流产患者蜕膜局部表达共抑制分子的 CD4⁺ T 细胞不仅数量下降，其产生抗炎性细胞因子能力显著降低^[8, 10]。蜕膜 CD4⁺ T 细胞主要通过与其滋养细胞上 HLA-C 分子以细胞直接接触的方式被选择性扩增^[10]。DSCs 能通过分泌 CCL2 增加蜕膜淋巴细胞转录 GATA-3，促进 IL-4 和 IL-10 等 Th2 型细胞因子的产生，同时减少 T-bet 的转录，抑制 Th1 型细胞因子的分泌^[17]。妊娠早期，巨噬细胞低表达共刺激分子 CD80/CD86，转录因子干扰素调节因子 5 (interferon regulatory factor 5, IRF-5) 等抑制 Th1 活化，表现出免疫抑制作用^[32]。 $\gamma\delta$ T 细胞也参与母-胎界面局部促炎/抗炎平衡。研究显示，蜕膜 $\gamma\delta$ T 细胞高表达 TGF- β 和 IL-10 等免疫抑制细胞因子，调节母-胎免疫处

于 Th2 型优势，同时蜕膜 $\gamma\delta$ T 细胞来源的 IL-10 能增强滋养细胞的增殖和侵袭，抑制细胞凋亡^[33]。Th1 向 Th2 型细胞因子的转变可受免疫调节蛋白——黄体酮诱导的免疫阻断因子 (progesterone induced blocking factor, PIBF) 和半乳糖凝集素-1 (galectin-1) 控制^[34, 35]。PIBF 主要由 $\gamma\delta$ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞分泌，与 CD4⁺ T 细胞上的孕酮受体结合后，激活 JAK/STAT 途径，诱导 Th2 型细胞因子的产生^[36]。

2.2 Th17/Treg细胞

随着研究的深入，Th1/Th2 平衡不足以解释妊娠免疫耐受，Th17/Treg 是除 Th1/Th2 外相对独立的另一组细胞因子网络。Th17 和 iTreg 均由初始 CD4⁺ T 细胞以 TGF- β 浓度依赖性的方式分化而来，高浓度 TGF- β 驱动初始 CD4⁺ T 细胞分化为 iTreg，低浓度则向 Th17 分化^[37]。Th17 细胞具有可塑性，在一定条件下能转化为 Th1 或 Treg 细胞^[38, 39]。

Treg 细胞的存在与扩增是母-胎免疫耐受的重要机制，nTreg 细胞通过细胞间的直接接触抑制 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的活化和增殖；iTreg 细胞分泌细胞因子 IL-10 和 TGF- β 发挥免疫调节作用^[7, 40, 41]。妊娠期间，母-胎界面蜕膜 Treg 细胞数量增加，Treg 细胞数量不足或功能障碍是引起生殖障碍的共同特征之一，Treg 细胞的缺乏可导致小鼠胚胎植入失败^[7, 37, 42]。在小鼠妊娠模型中，妊娠期小鼠子宫内 Treg 细胞数量较发情期小鼠增多^[7]。Treg 细胞以胚胎抗原特异性的方式诱导母-胎免疫耐受，防止妊娠失败。在正常妊娠小鼠模型中，胚胎抗原特异性 Treg 细胞会在产后持续存在，并在再次妊娠时迅速扩增，相较于 Treg 细胞清除的小鼠，这种特异性的扩增显著降低了孕鼠的胚胎吸收率^[43]。母-胎界面存在三种 Treg 亚群：CD25^{Hi}FOXP3⁺、PD-1^{Hi}-IL-10⁺ 和 TIGIT⁺FOXP3^{dim}，尽管不同表型的 Treg 细胞均能抑制 CD4⁺ 效应 T 细胞的增殖，但 PD-1^{Hi}-IL-10⁺ Treg 和 TIGIT⁺FOXP3^{dim}Treg 不能降低 CD8⁺ 效应 T 细胞的增殖，仅 CD25^{Hi}FOXP3⁺Treg 细胞能抑制 CD8⁺ 效应 T 细胞的增殖；除了抑制效应 T 细胞增殖外，CD25^{Hi} 和 PD-1^{Hi} Treg 细胞也能调控效应 T 细胞细胞因子的产生^[25]。但在病毒感染时，CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Treg 细胞无法在促炎条件下有效抑制同种异体淋巴细胞反应，相反，CD4⁺CD25⁻FOXP3⁺ Treg 细胞可能会阻止胎盘组织中病毒的清除^[5, 37, 40]。本研究组前期研究显示，早孕期 EVT 通过 TSLP 诱导蜕膜 DCs 分泌 TGF- β 1，促进 CD4⁺

CD25⁻ T 细胞向 CD4⁺CD25^{Hi}FOXP3⁺Treg 细胞分化, 形成母-胎界面 Treg 细胞扩增格局^[24, 44], URSA 患者母-胎界面 TSLP 的表达和 Treg 细胞数量均显著减少^[24]。此外, EVT 在入侵子宫时增加了 HLA-G 的表达, HLA-G⁺ EVT 进一步促进了 CD4⁺CD25^{Hi}-FOXP3⁺CD45RA⁺ 静息 Treg 细胞的增加, 蜕膜巨噬细胞也能直接促进 FOXP3 的表达^[45]。滋养细胞诱导产生的 Treg 细胞可反作用于滋养细胞, 上调 HLA-G 的表达并促进其侵袭能力, 另外, 经 Treg 细胞训导的滋养细胞也能更强地抑制 NK 细胞杀伤活性, 并诱导其产生 Th2 型细胞因子^[24]。外周血 Tim-3⁺ NK 细胞能分泌 TGF-β1 从而促进 iTreg 细胞增殖^[46]。绒毛膜外滋养细胞、NK 细胞、单核细胞和巨噬细胞可分泌吲哚胺-2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO), IDO 能促进犬尿氨酸的合成, 间接激活芳香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, AhR), 诱导 FOXP3⁺ Treg 细胞的分化^[47–49]。

Th17 细胞表达趋化因子受体 CCR6 和转录因子 RORγt, 特异性分泌 IL-17, 通常被认为是介导炎症性疾病及自身免疫性疾病的主要因素, 其功能受 FOXP3⁺ Treg 细胞限制^[7, 38]。Th17 细胞可在母-胎免疫应答中发挥积极作用, 生理浓度的 IL-17 与 Treg 细胞协同促进滋养细胞的侵袭, 同时抑制滋养细胞的凋亡^[48, 50]。早孕 DSCs 与滋养细胞共同维持子宫局部 Th17 的稳态。滋养细胞系 HTR8/SVneo 能促进 Th17 细胞发生增殖, 上调凋亡标志物的表达, 但并未影响细胞分化^[44]。DSCs 通过 CCR2-CCL2 轴驱使外周 Th17 向母-胎界面募集, 同时滋养细胞通过分泌调节分子下调 DSCs 上趋化因子的表达^[50]。蜕膜 CD56^{bright}CD27⁺ NK 细胞在母胎界面通过 IFN-γ 依赖性途径抑制 Th17 的活化^[48]。在发生持续炎症情况下, NK 细胞可充当前哨细胞, 降低自身免疫 T 细胞的活化 (包括 Th17 细胞)^[48]。

正常妊娠早期, 母-胎界面以 Treg 细胞占优势, CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞可以通过细胞与细胞之间的直接接触抑制 Th17 过度活化并减少 IL-17 的分泌, Treg 细胞数量过低或 Th17 优势会引起过度炎症反应及效应性 T 细胞活化的失调, 从而引起自然流产和子痫前期^[51, 52]。小鼠流产模型中蜕膜 Th17 细胞和 IL-17 均显著升高, 在交配前过继 Treg 细胞或注射抗 IL-17 抗体, 可阻止流产的发生^[18, 53]。相较于正常妊娠, URSA 患者 Th17 细胞百分比显著增高, CTLA-4⁺Tim-3⁺CD4⁺ T 细胞产生的 IL-17 也显著增

加^[10, 48]。有研究表明, 在体外与 HTR8/SVneo 共培养时, Th17 和 Treg 细胞能下调滋养细胞 Caspase-3 和 MMP-9 分子表达, 上调 Ki67 的表达, 提示 Th17 和 Treg 细胞能协同促进滋养细胞的生长, 但控制滋养细胞的侵袭力, 这可能在预防妊娠晚期滋养细胞过度侵袭中发挥作用^[44]。Th17 和 IL-17 在母-胎界面的确切功能仍然不清楚, Th17/Treg 细胞在妊娠维持和分娩启动转化过程中的作用亦需进一步研究。

2.3 CD8⁺ T 细胞

蜕膜 CD8⁺ T 细胞在促进胚胎植入、滋养层侵袭、维持对胎儿的免疫耐受以及抗感染免疫等方面均发挥重要作用^[4, 54]。正常未孕女性的子宫内膜 CD8⁺ T 细胞的功能与外周血 CD8⁺ T 细胞相似, 具有强大的细胞毒性, 通过释放细胞毒颗粒等发挥免疫保护功能。在妊娠期, 蜕膜 CD8⁺ T 细胞表现为暂时性的功能障碍, 高表达 IFN-γ, 低表达穿孔素和颗粒酶 B^[2, 4, 55]。虽然蜕膜 CD8⁺ T 细胞表现为低细胞毒性, 但其穿孔素和颗粒酶 B mRNA 表达水平显著升高, 说明 CD8⁺ T 细胞的部分功能受到转录后水平调控^[5]。蜕膜 CD8⁺ T 细胞也可类似于 CD4⁺ T 细胞分泌细胞因子, 如 IL-4 等, 参与调节 Th1/Th2 细胞因子平衡^[2, 4, 9]。滋养细胞能以 HLA-C/G 依赖性方式促进蜕膜 CD8⁺ T 细胞上 CTLA-4 和 Tim-3 分子的表达, 共表达 Tim-3、CTLA-4 或 PD-1 的蜕膜 CD8⁺ T 细胞具有高增殖性, 能分泌大量 IL-4 和 IL-10 等 Th2 型细胞因子, 对维持母-胎耐受发挥积极的作用^[9, 11, 55, 56]。另有研究表明, 除了 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞外, 母胎界面还存在一群 CD8⁺ Treg 细胞, 能够有效抑制 B 细胞抗体的产生^[57]。

EVT 细胞在孕早期侵入蜕膜, 蜕膜 CD8⁺ T 细胞可以直接识别 EVT 细胞表达的胚胎衍生抗原^[56]。母-胎界面主要存在着三类抗原诱导胚胎特异性 CD8⁺ T 细胞的产生, 包括胎儿主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC), 次要组织相容性抗原 (minor histocompatibility antigen, mHag) 和胎盘或胚胎特异性的抗原。EVT 上表达的 HLA-C 分子具有多态性, 是诱导 CD8⁺ T 细胞发生抗原特异性活化的主要因素。在对异体移植物的研究中, 单纯 HLA-C 错配即可引起特异性 CD8⁺ T 细胞反应^[58, 59]。相似地, CD8⁺ T 细胞也可直接识别 EVT 上表达的父亲系 HLA-C (图 1)。研究表明, 母体和胎儿的 HLA-C 的差异会使 T 细胞的活化程度上升,

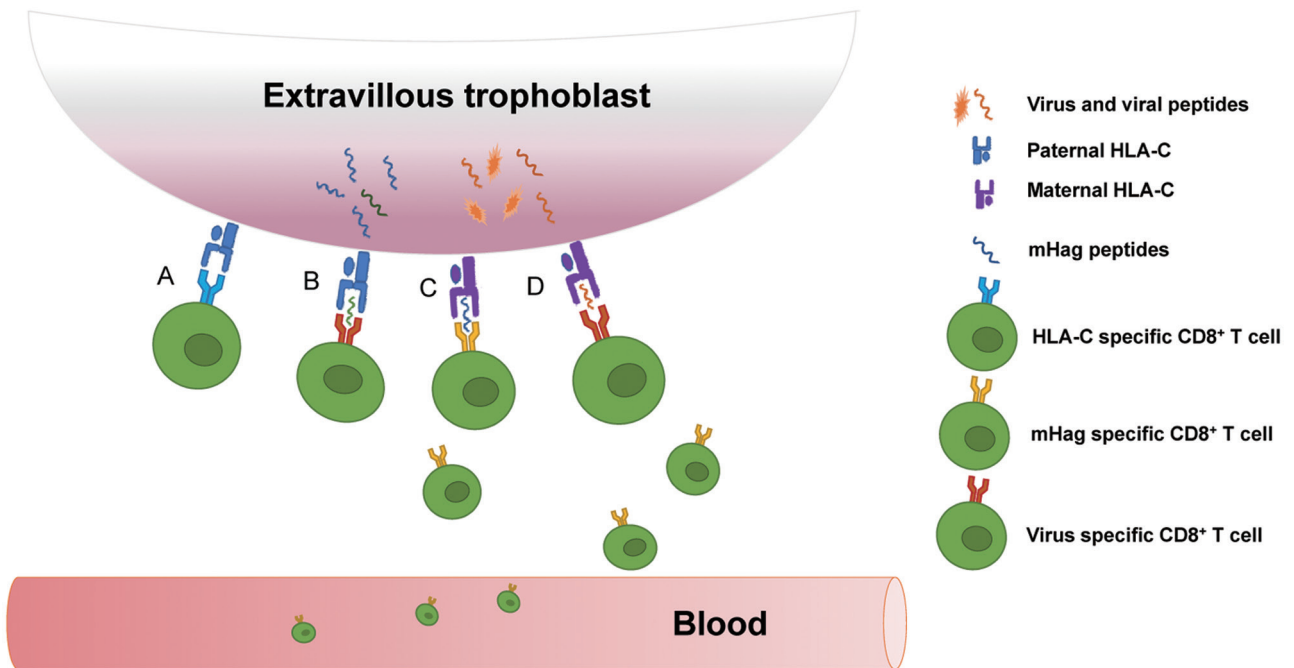


图 1. CD8⁺T细胞抗原特异性识别胚胎滋养细胞的不同模式

Fig. 1. Models of antigen-specific immune-recognition of fetal extravillous trophoblast (EVT) cells by maternal CD8⁺ T cells. A: CD8⁺ T cells can directly bind and respond to paternal HLA-C molecules expressed by EVT cells. B: Pre-existing virus-specific CD8⁺ T cells may cross-react against foreign major histocompatibility complex (MHC) molecules such as paternal HLA-C. C: CD8⁺ T cells may recognize fetal minor histocompatibility antigens (mHag, e.g. HY antigens) presented on maternal HLA-C molecules expressed on fetal EVT cells. D: HLA-C molecules expressed are able to present viral peptides to virus-specific CD8⁺ T cells at maternal-fetal interface.

是导致自发性流产的重要原因^[58]。小鼠妊娠时可从母鼠的血液中分离出胎儿 mHag 抗原特异性 T 细胞^[60]。同样，可在 30%~50% 孕男胎的女性外周血中检测到 Y 染色体特异性 T 细胞，其中大多数是 CCR7⁺CD45RA⁺ 效应细胞和 CCR7⁺CD45RA⁻CD28⁺CD27⁺ 效应记忆 CD8⁺ T 细胞，这些特异性 T 细胞能在母体外周血存在多年，具有强大的细胞毒性潜力，体外培养能产生对父系细胞的杀伤作用^[4]。在蜕膜组织中也能分离出 HY 特异性 CD8⁺ 效应 T 细胞，但是对胚胎细胞无杀伤作用^[2]。用 OVA 肽段特异性 TCR 转基因小鼠模型建立 mHag 特异性同种异体反应，证实了父系 mHag 多肽能激活特异性 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞，与人体内 CD8⁺ T 细胞可以产生针对 HY 抗原的特异性 T 细胞结果一致^[61] (图 1)。

在肿瘤相关研究中发现肿瘤浸润性淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocytes, TILs) 中存在一类旁观者 CD8⁺ T 细胞，其主要识别与癌细胞无关的多种表位，表现出 EB 病毒、人巨细胞病毒和流感病

毒特异性^[62]。研究者在蜕膜局部也发现了一群旁观者 CD8⁺ T 细胞，母体受到病毒或细菌感染后，诱导的特异性 CD8⁺ T 细胞可归巢至蜕膜局部^[4]。在小鼠模型中，淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 (lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV) 感染孕鼠后，能在胎盘中持续感染直到分娩，并且母-胎界面浸润着大量的病毒特异性 CD8⁺ T 细胞，但 LCMV 特异性 CD8⁺ T 细胞无法控制感染^[55]。这些在人或者小鼠母-胎界面发现的旁观者 CD8⁺ T 细胞主要为 HLA-A 和 HLA-B 限制性，而 EVT 缺乏 HLA-A 和 HLA-B 的表达。虽然目前的研究表明旁观者 CD8⁺ T 细胞不会对妊娠产生影响，但是基于交叉反应的高流行性和广泛的多样性，不能排除母-胎界面存在特异性 T 细胞和 HLA-C 发生交叉反应的可能。已经有研究发现母-胎界面病毒特异性的 HLA-A 和 HLA-B 限制性 CD8⁺ T 细胞可在促炎环境下与 HLA-C 发生交叉反应^[63]。此外，也发现存在 HLA-C 限制性 CD8⁺ T 细胞与 EVT 上的 HLA-C 发生交叉

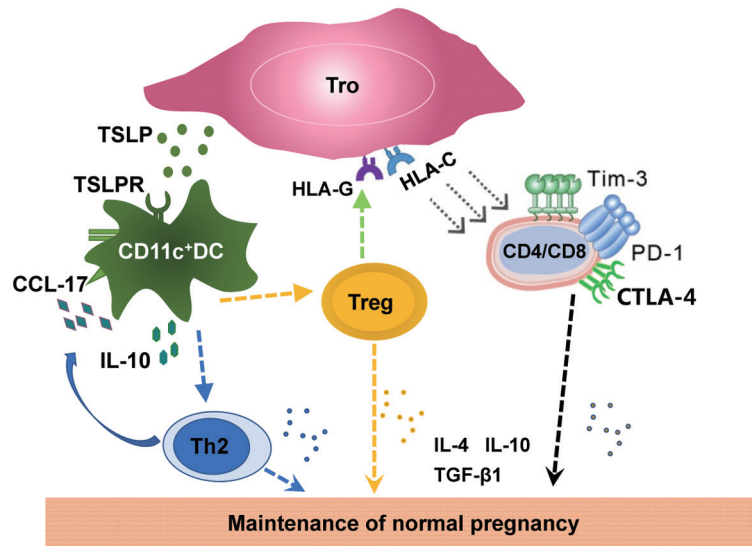


图 2. 妊娠早期胚胎滋养细胞与蜕膜免疫细胞亚群互作诱导T细胞表型分化的模型

Fig. 2. Model for crosstalk between embryo trophoblasts and decidual immune cells inducing differentiation of T cell phenotypes at the maternal-fetal interface in human first-trimester pregnancy. Human trophoblasts secrete thymic stromal lymphopoietin (TSLP) to specifically stimulate dendritic cells (DCs) to highly produce interleukin-10 (IL-10) and Th2-attracting chemokine CCL-17 and induce generation of decidual $CD4^+CD25^+FOXP3^+$ Tregs and Th2 differentiation. Tregs in turn increase invasiveness and HLA-G expression in trophoblasts. Trophoblasts also contribute to augmented expression of PD-1, Tim-3 or CTLA-4 on $CD4^+$ T and $CD8^+$ T cells in an HLA-C dependent way, which presents an effector/memory phenotype with high proliferative ability and predominant production of Th2-type cytokines, contributing to maintenance of normal pregnancy. TSLPR: TSLP receptor; Tro: trophoblast.

反应。目前尚未观察到针对 HLA-E 和 HLA-G 的同种异体反应^[63]。

3 总结

成功妊娠需多种因素互相协调，其中母-胎免疫在妊娠建立和维持的多个方面，包括胚胎植入、胎盘形成和抗感染等均起到了关键的调节作用。目前研究热点主要集中在蜕膜中的主要淋巴细胞亚群——NK 细胞，最近不少研究将关注点投向母-胎界面中的 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞，这群细胞主要表现为 $CD45RO^+$ 的效应或效应记忆表型，具有独特表型，表达一系列细胞因子和低细胞毒性标记。同时，这群 T 细胞受到母-胎界面特殊微环境的调控，表现出对胚胎抗原的特异性，其抑制性受体表达上调；妊娠期具有调节表型的 T 细胞亚群在局部富集与外周扩增，参与母-胎免疫耐受与正常妊娠的维持(图 2)。母-胎界面 T 细胞亚群数量和功能的失调将导致不良的妊娠结局。

但是目前仍有许多问题亟待解决，如特异性 T 细胞如何在母-胎界面募集，效应 T 细胞在支持成功妊娠的同时如何清除进入外周血的胚胎抗原，以

及导致免疫调节失衡的特异性信号转导途径尚不清楚。在母-胎界面这种独特的微环境中对 T 细胞特异性表型与功能的进一步解析对揭示母-胎免疫耐受机制与人类胎盘生理学以及生殖障碍的发病机制具有重要意义，对临床免疫学的其他领域也具有积极影响。

参考文献

- 1 Trowsdale J, Betz AG. Mother's little helpers: mechanisms of maternal-fetal tolerance. *Nat Immunol* 2006; 7(3): 241–246.
- 2 Powell RM, Lissauer D, Tamblyn J, Beggs A, Cox P, Moss P, Kilby MD. Decidual T cells exhibit a highly differentiated phenotype and demonstrate potential fetal specificity and a strong transcriptional response to IFN. *J Immunol* 2017; 199(10): 3406–3417.
- 3 Zeng W, Liu X, Liu Z, Zheng Y, Yu T, Fu S, Li X, Zhang J, Zhang S, Ma X, Liu XR, Qin X, Khanniche A, Zhang Y, Tian F, Lin Y. Deep surveying of the transcriptional and alternative splicing signatures for decidual $CD8^+$ T cells at the first trimester of human healthy pregnancy. *Front Immunol* 2018; 9: 937.
- 4 Lissauer D, Kilby MD, Moss P. Maternal effector T cells

- within decidua: The adaptive immune response to pregnancy? *Placenta* 2017; 60: 140–144.
- 5 Tilburgs T, Strominger JL. CD8⁺ effector T cells at the fetal-maternal interface, balancing fetal tolerance and antiviral immunity. *Am J Reprod Immunol* 2013; 69(4): 395–407.
 - 6 Zeng W, Liu Z, Liu X, Zhang S, Khanniche A, Zheng Y, Ma X, Yu T, Tian F, Liu XR, Fan J, Lin Y. Distinct transcriptional and alternative splicing signatures of decidual CD4⁺ T cells in early human pregnancy. *Front Immunol* 2017; 8: 682.
 - 7 Nancy P, Erlebacher A. T cell behavior at the maternal-fetal interface. *Int J Dev Biol* 2014; 58(2–4): 189–198.
 - 8 Wang S, Zhu X, Xu Y, Zhang D, Li Y, Tao Y, Piao H, Li D, Du M. Programmed cell death-1 (PD-1) and T-cell immunoglobulin mucin-3 (Tim-3) regulate CD4⁺ T cells to induce Type 2 helper T cell (Th2) bias at the maternal-fetal interface. *Hum Reprod* 2016; 31(4): 700–711.
 - 9 Wang SC, Li YH, Piao HL, Hong XW, Zhang D, Xu YY, Tao Y, Wang Y, Yuan MM, Li DJ, Du MR. PD-1 and Tim-3 pathways are associated with regulatory CD8⁺ T-cell function in decidua and maintenance of normal pregnancy. *Cell Death Dis* 2015; 6: e1738.
 - 10 Wang S, Chen C, Li M, Qian J, Sun F, Li Y, Yu M, Wang M, Zang X, Zhu R, Li D, Du M. Blockade of CTLA-4 and Tim-3 pathways induces fetal loss with altered cytokine profiles by decidual CD4⁺ T cells. *Cell Death Dis* 2019; 10(1): 15.
 - 11 Wang S, Sun F, Li M, Qian J, Chen C, Wang M, Zang X, Li D, Yu M, Du M. The appropriate frequency and function of decidual Tim-3⁺CTLA-4⁺CD8⁺ T cells are important in maintaining normal pregnancy. *Cell Death Dis* 2019; 10(6): 407.
 - 12 Bromley SK, Mempel TR, Luster AD. Orchestrating the orchestrators: chemokines in control of T cell traffic. *Nat Immunol* 2008; 9(9): 970–980.
 - 13 Kieffer TEC, Laskewitz A, Scherjon SA, Faas MM, Prins JR. Memory T cells in pregnancy. *Front Immunol* 2019; 10: 625.
 - 14 Mjosberg J, Berg G, Jenmalm MC, Ernerudh J. FOXP3⁺ regulatory T cells and T helper 1, T helper 2, and T helper 17 cells in human early pregnancy decidua. *Biol Reprod* 2010; 82(4): 698–705.
 - 15 Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63(6): 601–610.
 - 16 Pearson H. Reproductive immunology: Immunity's pregnant pause. *Nature* 2002; 420(6913): 265–266.
 - 17 He YY, He XJ, Guo PF, Du MR, Shao J, Li MQ, Li DJ. The decidual stromal cells-secreted CCL2 induces and maintains decidual leukocytes into Th2 bias in human early pregnancy. *Clin Immunol* 2012; 145(2): 161–173.
 - 18 Wang WJ, Liu FJ, Xin L, Hao CF, Bao HC, Qu QL, Liu XM. Adoptive transfer of pregnancy-induced CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells reverses the increase in abortion rate caused by interleukin 17 in the CBA/JxBALB/c mouse model. *Hum Reprod* 2014; 29(5): 946–952.
 - 19 Quinn KH, Lacoursiere DY, Cui L, Bui J, Parast MM. The unique pathophysiology of early-onset severe preeclampsia: role of decidual T regulatory cells. *J Reprod Immunol* 2011; 91(1–2): 76–82.
 - 20 Guerin LR, Moldenhauer LM, Prins JR, Bromfield JJ, Hayball JD, Robertson SA. Seminal fluid regulates accumulation of FOXP3⁺ regulatory T cells in the preimplantation mouse uterus through expanding the FOXP3⁺ cell pool and CCL19-mediated recruitment. *Biol Reprod* 2011; 85(2): 397–408.
 - 21 Teles A, Schumacher A, Kuhnle MC, Linzke N, Thuere C, Reichardt P, Tadokoro CE, Hammerling GJ, Zenclussen AC. Control of uterine microenvironment by foxp3⁺ cells facilitates embryo implantation. *Front Immunol* 2013; 4: 158.
 - 22 Kallikourdis M, Andersen KG, Welch KA, Betz AG. Alloantigen-enhanced accumulation of CCR5⁺ 'effector' regulatory T cells in the gravid uterus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104(2): 594–599.
 - 23 Lin Y, Xu L, Jin H, Zhong Y, Di J, Lin QD. CXCL12 enhances exogenous CD4⁺CD25⁺ T cell migration and prevents embryo loss in non-obese diabetic mice. *Fertil Steril* 2009; 91(6): 2687–2696.
 - 24 Du MR, Guo PF, Piao HL, Wang SC, Sun C, Jin LP, Tao Y, Li YH, Zhang D, Zhu R, Fu Q, Li DJ. Embryonic trophoblasts induce decidual regulatory T cell differentiation and maternal-fetal tolerance through thymic stromal lymphopoietin instructing dendritic cells. *J Immunol* 2014; 192(4): 1502–1511.
 - 25 Salvany-Celades M, van der Zwan A, Benner M, Setrajic-Dragos V, Bougleux Gomes HA, Iyer V, Norwitz ER, Strominger JL, Tilburgs T. Three types of functional regulatory T cells control T cell responses at the human maternal-fetal interface. *Cell Rep* 2019; 27(9): 2537–2547.e5.
 - 26 Nancy P, Tagliani E, Tay CS, Asp P, Levy DE, Erlebacher A. Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface. *Science* 2012; 336(6086): 1317–1321.
 - 27 Du MR, Dong L, Zhou WH, Yan FT, Li DJ. Cyclosporin a improves pregnancy outcome by promoting functions of trophoblasts and inducing maternal tolerance to the allogeneic fetus in abortion-prone matings in the mouse. *Biol Reprod* 2007; 76(5): 906–914.
 - 28 Ashkar AA, Di Santo JP, Croy BA. Interferon gamma contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual

- integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. *J Exp Med* 2000; 192(2): 259–270.
- 29 Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Update* 2003; 9(4): 347–357.
- 30 Guo PF, Du MR, Wu HX, Lin Y, Jin LP, Li DJ. Thymic stromal lymphopoietin from trophoblasts induces dendritic cell-mediated regulatory TH2 bias in the decidua during early gestation in humans. *Blood* 2010; 116(12): 2061–2069.
- 31 Qian ZD, Huang LL, Zhu XM. An immunohistochemical study of CD83- and CD1a-positive dendritic cells in the decidua of women with recurrent spontaneous abortion. *Eur J Med Res* 2015; 20: 2.
- 32 Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, Alzabin S, Lockstone H, Sahgal N, Hussell T, Feldmann M, Udalova IA. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses. *Nat Immunol* 2011; 12(3): 231–238.
- 33 Zhang Y, Wang Y, Li MQ, Duan J, Fan DX, Jin LP. IL-25 promotes Th2 bias by upregulating IL-4 and IL-10 expression of decidual gammadeltaT cells in early pregnancy. *Exp Ther Med* 2018; 15(2): 1855–1862.
- 34 Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA Jr, Shyamala G, Conneely OM, O'Malley BW. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. *Genes Dev* 1995; 9(18): 2266–2278.
- 35 Blois SM, Joachim R, Kandil J, Margni R, Tometten M, Klapp BF, Arck PC. Depletion of CD8⁺ cells abolishes the pregnancy protective effect of progesterone substitution with dydrogesterone in mice by altering the Th1/Th2 cytokine profile. *J Immunol* 2004; 172(10): 5893–5899.
- 36 Kozma N, Halasz M, Polgar B, Poehlmann TG, Markert UR, Palkovics T, Keszei M, Par G, Kiss K, Szeberenyi J, Grama L, Szekeres-Bartho J. Progesterone-induced blocking factor activates STAT6 via binding to a novel IL-4 receptor. *J Immunol* 2006; 176(2): 819–826.
- 37 Ghaebi M, Nouri M, Ghasemzadeh A, Farzadi L, Jadidi-Niaragh F, Ahmadi M, Yousefi M. Immune regulatory network in successful pregnancy and reproductive failures. *Biomed Pharmacother* 2017; 88: 61–73.
- 38 Gagliani N, Amezcuca Vesely MC, Iseppon A, Brockmann L, Xu H, Palm NW, de Zoete MR, Licona-Limon P, Paiva RS, Ching T, Weaver C, Zi X, Pan X, Fan R, Garmire LX, Cotton MJ, Drier Y, Bernstein B, Geginat J, Stockinger B, Esplugues E, Huber S, Flavell RA. Th17 cells transdifferentiate into regulatory T cells during resolution of inflammation. *Nature* 2015; 523(7559): 221–225.
- 39 Figueiredo AS, Schumacher A. The T helper type 17/regulatory T cell paradigm in pregnancy. *Immunology* 2016; 148(1): 13–21.
- 40 Alijotas-Reig J, Llorba E, Gris JM. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. *Placenta* 2014; 35(4): 241–248.
- 41 Zenclussen AC, Gerlof K, Zenclussen ML, Ritschel S, Zambon Bertoja A, Fest S, Hontsu S, Ueha S, Matsushima K, Leber J, Volk HD. Regulatory T cells induce a privileged tolerant microenvironment at the fetal-maternal interface. *Eur J Immunol* 2006; 36(1): 82–94.
- 42 Feyaerts D, Benner M, van Cranenbroek B, van der Heijden OWH, Joosten I, van der Molen RG. Human uterine lymphocytes acquire a more experienced and tolerogenic phenotype during pregnancy. *Sci Rep* 2017; 7(1): 2884.
- 43 Rowe JH, Ertelt JM, Xin L, Way SS. Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen. *Nature* 2012; 490(7418): 102–106.
- 44 Wang S, Qian J, Sun F, Li M, Ye J, Li M, Du M, Li D. Bidirectional regulation between 1st trimester HTR8/SVneo trophoblast cells and in vitro differentiated Th17/Treg cells suggest a fetal-maternal regulatory loop in human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2019; 81(5): e13106.
- 45 Tilburgs T, Crespo AC, van der Zwan A, Rybalov B, Raj T, Stranger B, Gardner L, Moffett A, Strominger JL. Human HLA-G⁺ extravillous trophoblasts: Immune-activating cells that interact with decidual leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(23): 7219–7224.
- 46 Li YH, Zhou WH, Tao Y, Wang SC, Jiang YL, Zhang D, Piao HL, Fu Q, Li DJ, Du MR. The Galectin-9/Tim-3 pathway is involved in the regulation of NK cell function at the maternal-fetal interface in early pregnancy. *Cell Mol Immunol* 2016; 13(1): 73–81.
- 47 Fang WN, Shi M, Meng CY, Li DD, Peng JP. The balance between conventional DCs and plasmacytoid DCs is pivotal for immunological tolerance during pregnancy in the mouse. *Sci Rep* 2016; 6: 26984.
- 48 Fu B, Tian Z, Wei H. TH17 cells in human recurrent pregnancy loss and pre-eclampsia. *Cell Mol Immunol* 2014; 11(6): 564–570.
- 49 Chang RQ, Li DJ, Li MQ. The role of indoleamine-2,3-dioxygenase in normal and pathological pregnancies. *Am J Reprod Immunol* 2018; 79(4): e12786.
- 50 Wu HX, Jin LP, Xu B, Liang SS, Li DJ. Decidual stromal cells recruit Th17 cells into decidua to promote proliferation and invasion of human trophoblast cells by secreting IL-17. *Cell Mol Immunol* 2014; 11(3): 253–262.
- 51 Wu L, Luo LH, Zhang YX, Li Q, Xu B, Zhou GX, Luan HB, Liu YS. Alteration of Th17 and Treg cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion before and after

- lymphocyte immunization therapy. *Reprod Biol Endocrinol* 2014; 12: 74.
- 52 Wang WJ, Hao CF, Qu QL, Wang X, Qiu LH, Lin QD. The deregulation of regulatory T cells on interleukin-17-producing T helper cells in patients with unexplained early recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2010; 25(10): 2591–2596.
- 53 Xu WM, Xiao ZN, Wang XB, Huang Y. IL-17 induces fetal loss in a CBA/JxBALB/c mouse model, and an anti-IL-17 antibody prevents fetal loss in a CBA/JxDBA/2 mouse model. *Am J Reprod Immunol* 2016; 75(1): 51–58.
- 54 Scaife PJ, Bulmer JN, Robson SC, Innes BA, Searle RF. Effector activity of decidual CD8⁺ T lymphocytes in early human pregnancy. *Biol Reprod* 2006; 75(4): 562–567.
- 55 van der Zwan A, Bi K, Norwitz ER, Crespo AC, Claas FHJ, Strominger JL, Tilburgs T. Mixed signature of activation and dysfunction allows human decidual CD8⁺ T cells to provide both tolerance and immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018; 115(2): 385–390.
- 56 Xu YY, Wang SC, Lin YK, Li DJ, Du MR. Tim-3 and PD-1 regulate CD8⁺ T cell function to maintain early pregnancy in mice. *J Reprod Dev* 2017; 63(3): 289–294.
- 57 Shao L, Jacobs AR, Johnson VV, Mayer L. Activation of CD8⁺ regulatory T cells by human placental trophoblasts. *J Immunol* 2005; 174(12): 7539–7547.
- 58 Meuleman T, Haasnoot GW, van Lith JMM, Verduijn W, Bloemenkamp KWM, Claas FHJ. Paternal HLA-C is a risk factor in unexplained recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 2018; 79(2). doi:10.1111/aji.12797.
- 59 Bettens F, Buhler S, Tiercy JM. Allorecognition of HLA-C Mismatches by CD8⁺ T cells in hematopoietic stem cell transplantation is a complex interplay between mismatched peptide-binding region residues, HLA-C expression, and HLA-DPB1 disparities. *Front Immunol* 2016; 7: 584.
- 60 Madeja Z, Yadi H, Apps R, Boulenouar S, Roper SJ, Gardner L, Moffett A, Colucci F, Hemberger M. Paternal MHC expression on mouse trophoblast affects uterine vascularization and fetal growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(10): 4012–4017.
- 61 Moldenhauer LM, Diener KR, Thring DM, Brown MP, Hayball JD, Robertson SA. Cross-presentation of male seminal fluid antigens elicits T cell activation to initiate the female immune response to pregnancy. *J Immunol* 2009; 182(12): 8080–8093.
- 62 Simoni Y, Becht E, Fehlings M, Loh CY, Koo SL, Teng KWW, Yeong JPS, Nahar R, Zhang T, Kared H, Duan K, Ang N, Poidinger M, Lee YY, Larbi A, Khng AJ, Tan E, Fu C, Mathew R, Teo M, Lim WT, Toh CK, Ong BH, Koh T, Hillmer AM, Takano A, Lim TKH, Tan EH, Zhai W, Tan DSW, Tan IB, Newell EW. Bystander CD8⁺ T cells are abundant and phenotypically distinct in human tumour infiltrates. *Nature* 2018; 557(7706): 575–579.
- 63 van der Zwan A, van der Meer-Prins EMW, van Miert P, van den Heuvel H, Anholts JDH, Roelen DL, Claas FHJ, Heidt S. Cross-reactivity of virus-specific CD8⁺ T cells against allogeneic HLA-C: possible implications for pregnancy outcome. *Front Immunol* 2018; 9: 2880.