

综述

胎盘屏障建立与维持的机制

郑婉珊^{1,2}, 胡晓倩³, 王雁玲⁴, 曹彬^{1,*}

¹厦门大学医学院, 厦门 361102; ²广州医科大学第三医院妇产科研究所, 广州 510150; ³厦门大学公共卫生学院, 厦门 361102; ⁴中国科学院动物研究所干细胞与生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101

摘要: 胎盘是妊娠期维持胎儿正常生长发育和母亲健康的临时性器官, 直接介导了母胎之间的对话。胎盘防御屏障功能的建立与维持是正常妊娠维持的重要基础, 一方面, 胎盘发挥了抑制母体对胎儿免疫排斥的作用, 同时, 胎盘需要抵抗致病微生物的感染。本文从胎盘发育的角度出发, 从细胞学、免疫学等多重领域探讨了胎盘防御屏障建立及功能维持的细胞和分子机制, 重点介绍了胎盘合体滋养层细胞抗感染的作用方式, 包括细胞自噬、外泌体途径、细胞连接及细胞骨架等; 同时介绍了胎盘屏障功能异常与子宫内感染尤其是TORCH致病微生物感染的致病关联。

关键词: 胎盘屏障; 滋养层细胞; 子宫内感染; TORCH

中图分类号: Q492.6

Mechanisms for establishment of the placental defensive barrier

ZHENG Wan-Shan^{1,2}, HU Xiao-Qian³, WANG Yan-Ling⁴, CAO Bin^{1,*}

¹School of Medicine, Xiamen University, Xiamen 361102, China; ²Guangzhou Institute of Obstetrics & Gynaecology, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, China; ³School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China; ⁴State Key Laboratory of Stem Cell and Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Placenta serves as a temporary fetal organ, which mediates maternal-fetal crosstalk and intrauterine fetal growth. Placental defensive barrier is a fundamental physiological function, which balances maternal immune tolerance to the fetus and resistance to pathogens. This review summarizes the latest research progress on the mechanisms of placental barrier formation from the view of placental development. Recent discoveries have shed light on the cellular and molecular properties of placental defensive mechanisms in syncytiotrophoblast, including autophagy, exosome mediated anti-pathogenic pathways, cell-cell junctions and cytoskeleton networks. We also present an overview of placental barrier dysfunction and its implications in intrauterine TORCH infections.

Key words: placental barrier; trophoblast; intrauterine infection; TORCH

胎盘为妊娠期维持胎儿正常生长发育的临时性器官, 直接介导了母胎之间的对话。胎儿营养物质的获取及废物排出是通过胎盘来介导完成的, 主要通过简单扩散、主动运输和受体介导内吞作用等方式实现^[1]。作为连接胎儿与母体的器官, 胎盘发挥内分泌功能来调节胎儿与母体的内分泌平衡。胎盘

可产生多种激素类物质, 包括性激素、二十烷酸类、糖蛋白和多肽激素, 其中大部分来自于合体滋养层细胞^[2], 少部分也由绒毛外滋养层细胞分泌。以上激素的分泌及功能正常发挥对妊娠的建立和维持至关重要。胎盘可通过自分泌和旁分泌的作用途径, 精确调节胚胎植入、蜕膜及胎盘发育、妊娠免疫耐

Received 2019-07-15 Accepted 2019-09-22

Research from the corresponding author's laboratory was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 2018YFC1004404, 2018YFC1004100).

*Corresponding author. Tel: +86-592-2880503; E-mail: caobin19@xmu.edu.cn

受的建立和胎儿发育等生理过程^[3-5]。此外, 胎盘是重要的妊娠期免疫保护屏障: 一方面保护胎儿免受母体免疫系统的攻击, 另一方面胎盘具有独特的结构及细胞特征, 分泌一系列细胞因子、抗菌肽和干扰素 (interferon, IFN) 等来阻断及抑制致病病原体的入侵。本文重点从胎盘发育角度综述胎盘防御性屏障功能建立的机制, 并介绍胎盘屏障功能障碍与子宫内感染尤其是 TORCH 致病微生物感染的关联。

1 胎盘屏障的结构和细胞学基础

1.1 胎盘结构概述

胎盘主要由囊胚外围的滋养外胚层细胞发育而来。伴随胚胎植入的进行, 滋养外胚层细胞逐步分化发育为具有特化功能的多种滋养层细胞亚型。在人类妊娠 18~20 天, 作为胎盘组织结构单元的绒毛

开始生长, 形成的绒毛树结构主要包括有漂浮绒毛和锚定绒毛^[6]。漂浮绒毛由两层滋养层细胞组成: 内层为单核的细胞滋养层 (cytotrophoblasts, CTBs), 外层为由 CTB 细胞融合而形成的多核合体滋养层细胞 (syncytiotrophoblasts, STBs) (图 1)。而在形成 STBs 同时, 具有增殖能力的 CTBs 开始向母体蜕膜方向生长, 形成细胞滋养层细胞柱 (column cytotrophoblast cells, CCCs), 锚定在母体蜕膜中^[7]。CTBs 在 CCCs 的末端开始分化为绒毛外滋养层细胞 (extravillous trophoblasts, EVT), 入侵母体蜕膜并对母体蜕膜及螺旋动脉进行改建。综上所述, 人类胎盘具有两个完整的母胎直接作用的解剖学界面: 首先, STBs 浸润在富含母体血的绒毛间隙中^[8-10], 便于物质交换, 同时也构成了抗微生物感染的重要结构基础; 此外, 在母体蜕膜区域, EVT 锚定在子

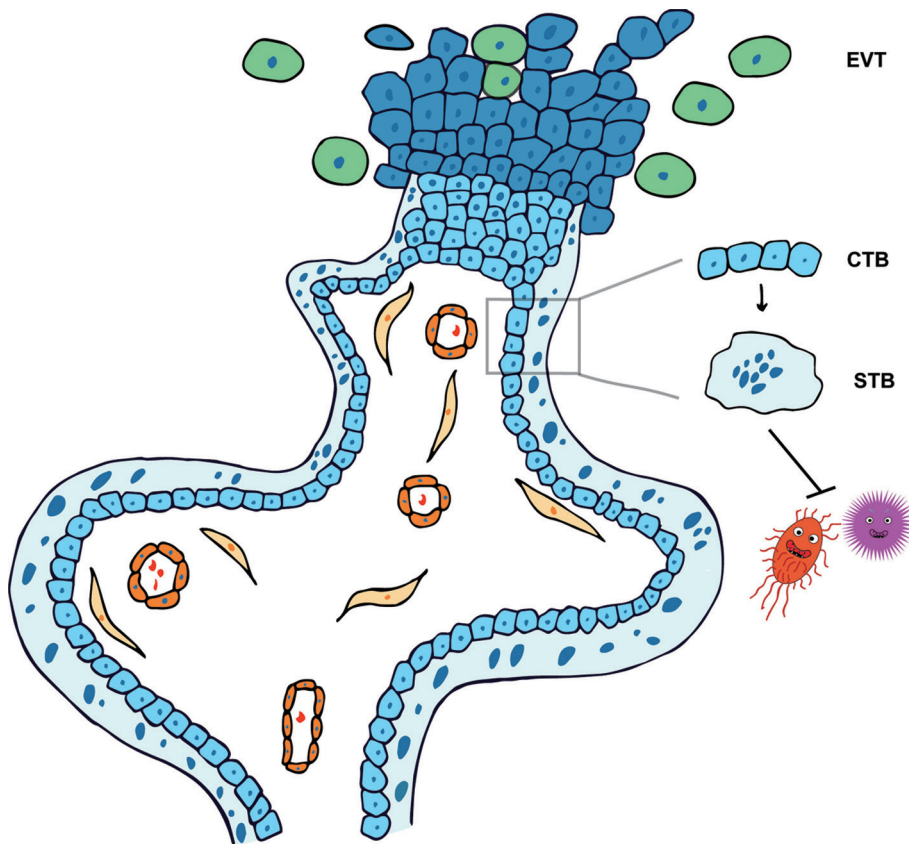


图 1. 胎盘滋养层细胞与防御屏障

Fig. 1. Trophoblast and placental barrier. Placenta floating villi is composed of two layers: the inside layer of cytotrophoblasts (CTBs) and the syncytiotrophoblasts (STBs) layer which outlines the villous surface of the placentas. STB is formed by extensive cell-cell fusion of CTBs. Alternatively, CTBs can also invade into maternal decidua and differentiate to extravillous trophoblasts (EVTs), which remodels the maternal decidua and spiral arteries. Both STBs and EVTAs constitute direct maternal-fetal interfaces. Compared with STBs, EVTAs and CTBs are more susceptible to microbial infections. In summary, STBs formed by syncytialization of CTBs facilitate the placental barrier function, which confers the protective function of placenta from pathogen insults.

宫蜕膜，直接与母体蜕膜细胞及其他免疫细胞接触并相互作用。小鼠常被用作研究人类胎盘发育及妊娠疾病的动物模型。尽管存在众多差异，小鼠和人类的胎盘还是有很多结构及功能相似之处。小鼠胎盘组织分为两个主要区域，即连接层（主要包括海绵体滋养细胞及糖原滋养层细胞）和迷路层。在人和小鼠中，母体血液从位于蜕膜的大直径螺旋动脉进入胎盘，然后通过由胎儿滋养细胞形成的密网状通道渗出，该通道为母胎交换的场所，在人类中被称为绒毛树，而在小鼠中被称为迷路层^[11, 12]。与人类不同，小鼠母体血液空间和胎儿的毛细血管呈迷宫状排列。迷路层的母胎界面包含三层滋养层细胞：一层单核滋养细胞层以及两层合体滋养层细胞^[6]。以上胎盘结构的形成构成了胎盘屏障功能的结构及细胞学基础。

在妊娠这一特殊生理状态下，母胎界面整体上处于免疫抑制状态。然而，胎盘同时具备强大的防御屏障，可有效限制致病微生物的母胎传播。广义的胎盘防御屏障主要由子宫内层、滋养层细胞以及内皮细胞构成。胎盘对物质的进出有严格的选择性，只有特定物质可以直接通过胎盘进入胎儿^[10]。一般

情况下，致病微生物是不能通过胎盘进入到胎儿血液循环系统的，胎盘是防止致病微生物母胎垂直感染的一道重要防线。但是某些特定的细菌、病毒及寄生虫可以通过破坏胎盘的正常结构或者其他途径进入胎儿血液循环系统，进而感染胎儿。因此，胎盘屏障的结构或者功能受损会导致 TORCH 病原微生物感染^[8]。TORCH 是垂直传播病原微生物的总称，包括刚地弓形虫 (toxoplasmosis)、其他 (others：李斯特氏菌、梅毒螺旋体、细小病毒 B19、水痘-带状疱疹病毒等)、风疹病毒 (rubella virus)、巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV)、疱疹病毒 (herpes virus, HSV)，以及最新发现的 ZIKA 病毒^[13, 14]。TORCH 感染不但会引发流产、死胎、宫内发育迟缓等不良妊娠结局，更会造成胎儿神经系统等不可逆的出生缺陷。下文将从细胞生物学及免疫学等多个专业领域探讨胎盘防御屏障形成的机制 (图 2)。

1.2 合体滋养层屏障

在胎盘血窦中，直接浸润在母体血液中的合体滋养层细胞构成了保护胎儿的第一道防线^[15]。合体滋养层细胞覆盖在胎儿绒毛树结构的表面，逐步形成总表面积高达 12~14 m² 的连续界面^[16]。胎盘发

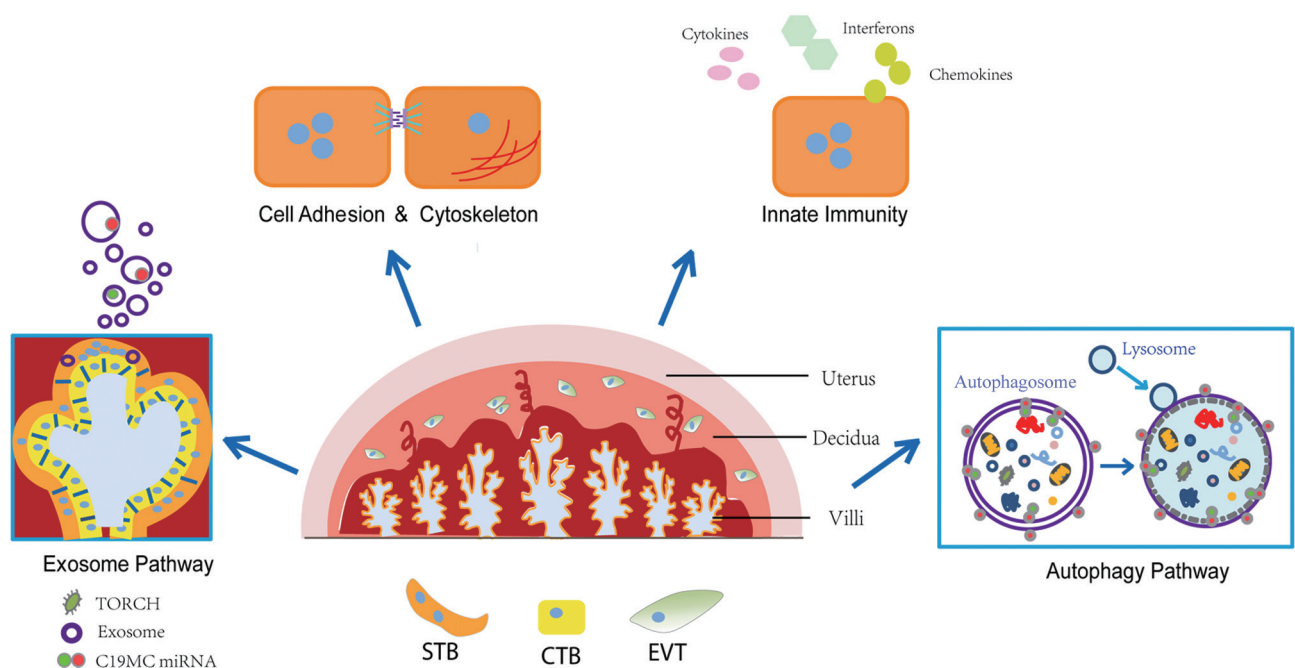


图 2. 胎盘屏障建立与维持的细胞分子机制

Fig. 2. Cellular and molecular mechanisms contributing to placental barrier function. Diverse molecular and cellular machineries empower the placenta with strong resistance to microbial infections, including anti-infection cytokines and chemokines secreted by trophoblasts, unique cytoskeleton networks and cell junctional features, profoundly augmented autophagic activity in trophoblasts and excessive exosomes released by placenta which is beneficial for promoting anti-microbial effects in other cell types. STB, syncytiotrophoblast; CTB, cytotrophoblast; EVT, extravillous trophoblast.

生的一个关键细胞生物学过程是由 CTB 融合形成巨大的多核滋养细胞, 伴随细胞形态的变化, STB 细胞功能逐渐建立并完善, 发挥母胎屏障的重要功能^[17, 18]。在人和小鼠胎盘中, 绒毛膜特异性转录因子 1 (glial cells missing transcription factor 1, GCM1) 是调节滋养层细胞合体化过程重要的转录因子^[19]。在小鼠中, *Gcm1* 基因纯合缺失可显著抑制合体滋养细胞的分化过程, 并导致胚胎致死表型; *Gcm1*^{+/-} 杂合胎盘合体滋养细胞分化发育异常, 并伴有 *Gcm1* 调控的 *SynB* 基因表达减少等表型。在人类滋养层细胞合体化过程中, GCM1 是 CTB 分化为 STB 的必要条件。cAMP 可以促进并加强 GCM1 与人绒毛膜促性腺激素 β (human chorionic gonadotropin subunit β , hCG β) 启动子上的结合结构域的结合, 从而激活其表达; 同时, hCG-cAMP-PKA 通路可以使 GCM1 磷酸化, 磷酸化的 GCM1 可以招募 CBP 来调节自身的稳定性, 并促进 GCM1 的靶基因 *syncytin-1* 表达, 促进 CTB 融合。GCM1 和 hCG 之间存在着正反馈环路, 可促进胎盘 hCG β 表达和合体滋养层细胞的分化^[20, 21]。

本研究组对体外培养的胎盘绒毛及蜕膜外植体感染大肠杆菌以及李斯特氏菌, 发现绒毛组织 STB 细胞内两种细菌的数量显著低于 EVT 中的数量, 提示 STB 作为抗菌屏障对于绒毛组织的保护功能^[22]。妊娠中期及足月胎盘分离到的 STB 能抵抗弓形虫和 ZIKA 病毒感染^[23, 24]。研究表明在胎盘绒毛组织中检测到的细胞内寄生虫数量非常少, 绝大多数寄生虫存在于细胞外, STBs 可以有效抑制刚地弓形虫附着于其细胞表面^[24]。此外, STB 对于克氏锥虫感染的敏感性显著低于 CTB^[25]。细胞滋养细胞向合胞滋养细胞的分化导致经胞吞进入的寄生虫数量显著减少^[26]。在较高寄生虫接种量的感染实验中, 胎盘外植体出现了 STB 的部分脱落, 且在培养上清和绒毛组织中活的锥形虫的数目增加, 说明了 STB 层出现断裂或者不连续时, 即胎盘物理屏障的破坏加速了克氏锥虫的感染; 与完整绒毛组织相比, 被剥离合体滋养层细胞的绒毛组织中寄生虫感染更为严重^[16]。综上可见, STB 的形成与完整性对于胎盘屏障功能的正常发挥至关重要。

除了抑制致病微生物附着及细胞内复制机制之外, 合体滋养细胞可在感染后促进免疫相关的转录因子 (例如干扰素调控因子 4)、趋化因子 (CCL22, CCL17, CCL20, CCL1 等) 以及趋化因子受体 (CCR7

等) 表达增加^[15, 24], 同时可促进组织一氧化氮和 IFN 的合成及分泌。STB 除了通过以上机制之外, 还可以通过凋亡机制来实现抗感染作用, 避免过度炎症反应的发生。Carrillo 等以 BeWo 细胞合体化为研究模型, 发现克氏锥虫诱导 Caspase-8 的活性增加, 抑制 Caspase-8 的活性会导致滋养细胞的感染增加, 同时抑制寄生虫所诱导的细胞分化和细胞凋亡, 但不影响细胞增殖, 这说明滋养层细胞是通过诱导 Caspase-8 (凋亡信号蛋白) 来实现抗感染作用的^[27]。除此之外, STB 的多种细胞学特征在抑制胎盘病原体感染中起到重要的作用, 包括致密的肌动蛋白细胞骨架结构、活跃的内吞作用和细胞自噬、分泌包含 C19MC miRNA 的具有抗感染功能的外泌体, 以及活跃的 IFN 及免疫因子的分泌功能。这些细胞学特征的具体作用机制将在下文展开阐述。

1.3 细胞连接

细胞连接对于胎盘屏障的功能发挥着举足轻重的作用。合体滋养层细胞为一个高度极化的单层细胞。单层极化上皮细胞间连接复合物结构包括紧密连接、胞质紧密黏连 (zonula occludens, ZO)、黏附连接和桥粒^[28]。ZO-1 和紧密连接中的闭合蛋白在妊娠早期胎盘中均有表达, 在妊娠晚期的胎盘中表达明显增加。在合体滋养层的母体血界面的质膜上存在大小不一的斑状闭塞体^[29]。在正常胎盘中 ZO-1 和闭合蛋白主要在 STB 的顶面 (apical surface)、STB 与 CTB 之间以及 CTB 相邻细胞之间表达^[30]。在发生绒毛膜羊膜炎的胎盘中, 闭合蛋白明显下调, 从而导致胎盘组织滋养细胞和内皮细胞紧密连接的解体, 病原体可通过细胞之间的途径促进胎盘内感染^[31]。血管内皮 (vessel endothelium, VE)-cadherin 是 cadherin 家族成员之一, 被认为是梭形杆菌表达具核梭杆菌黏附素 (*fusobacterium nucleatum* adhesin, FadA) 的内皮受体, 是梭形杆菌与细胞结合所必需的。FadA 与内皮细胞上的 VE-cadherin 共定位, 导致 VE-cadherin 从细胞-细胞连接处移位。这一变化可导致细菌通过松散的连接穿过内皮细胞层, 内皮细胞通透性进而增加^[32]。与此类似的是, 李斯特氏菌感染 EVT 是依赖于细菌表达的内化蛋白 A (internalin A, InlA) 与 E-cadherin 结合, 并通过细胞间的扩散途径感染到同样表达 E-cadherin 的亚合胞体滋养层细胞来感染胎儿组织^[33]。另外, 弓形虫在迁移过程中, 最初集中于细胞间的连接, 可能通过细胞旁途径跨生物屏障进行迁移。有趣的是, 在寄

生虫的跨细胞屏障的转运过程中，宿主细胞物理屏障的完整性并没有发生改变。在弓形虫感染过程中，细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1) 在细胞屏障中上调，抑制 ICAM-1 可抑制寄生虫跨细胞屏障的转运，且人类 ICAM-1 可以与寄生虫表面的黏附素 MIC2 结合，提示弓形虫利用宿主细胞的自然转运途径，跨越细胞屏障并传播到深层组织^[34]。通过胎盘细胞连接跨越胎盘屏障可能是弓形虫完成母胎垂直传播的重要途径。

1.4 细胞骨架

肌动蛋白细胞骨架在致病微生物侵入哺乳动物细胞过程中起着重要调节作用。肌动蛋白表达水平在感染了锥鞭体的母体胎盘是显著下调的；相反，肌动蛋白在正常胎盘 STBs 整个刷状缘中分布较密集，但与锥鞭体共培养之后显著消失，提示寄生虫感染可以破坏肌动蛋白细胞骨架^[35]。小鼠合体滋养层细胞的原子力显微镜图像显示，这些细胞具有比单核滋养层细胞更大的弹性模量^[36]。细胞松弛素 D 可破坏致密的肌动蛋白结构，导致其弹性模量显著降低。细胞松弛素 D 处理合体滋养层细胞后，显著降低了人合胞体的弹性模量，增加了合体滋养层细胞对细菌入侵的敏感性，使其更容易受细菌感染。肌动蛋白的重新排列和微丝的破坏可能是病原体侵入胎盘细胞机制的早期步骤，溶酶体借助微丝来接近入侵位点附近的质膜，并形成寄生性空泡^[36-39]。此外，细胞骨架可以通过介导细胞内吞作用进而参与病毒的内化^[44]，内吞作用可以通过网格蛋白介导的内吞作用 (clathrin-mediated endocytosis, CME) 或独立于网格蛋白的内吞作用 (clathrin-independent endocytosis, CIE) 摄取细胞外的大分子量物质分子和病毒等。几乎所有的 CIE 通路似乎都是由肌动蛋白细胞骨架重组触发并且依赖细胞骨架^[40]。例如：人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 在子宫内的传播首先涉及到 HIV 1 型感染细胞与滋养层之间的相互作用，导致感染性 HIV 通过胞吞和融合进行感染传播；与感染 HIV 的外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) 接触可导致感染性病毒在滋养细胞上的胞吞，并导致感染了 HIV 的 PBMCs 与滋养细胞融合，触发感染^[25]。5% 顶面的游离乙型肝炎病毒可在 30 min 内被滋养细胞转位，而病毒转运主要发生在依赖微管的胞内囊泡中^[26]。丙型肝炎病毒 (HCV) 与滋养细胞表面 HCV 受体结合，进而通过内吞作用内化 HCV

进入人滋养层细胞^[41]。

2 胎盘屏障建立和维持的分子机制

2.1 细胞自噬

自噬是一种保守的细胞内降解途径，可将衰老细胞器、外源致病微生物及错误折叠蛋白等细胞质内待降解组分包裹入双层膜结构的自噬小体，并进一步与溶酶体发生融合，进而将上述组分降解。自噬作为一种重要的细胞先天免疫机制，最直接的作用方式是通过捕获细胞内病原体进入自噬小体，并介导其细胞内的迅速降解^[42-45]。另一方面，自噬作为免疫系统的一个重要组成部分，参与病毒的感知和抗病毒防御功能的实现^[46]。自噬可将病毒感染信号致病相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 传递给 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR)，TLR 激活后可进一步诱导自噬，形成正反馈环。这种正反馈回路对于细胞感知外界微生物侵袭发挥重要作用。此外，病毒粒子和病毒蛋白的自噬溶酶体降解还可影响 MHC-I 和 MHC-II 分子抗原表达，从而触发适应性免疫反应^[42, 46]。胎盘中自噬通路在多种滋养层细胞类型中广泛存在，本研究组前期研究结果表明自噬通路对于胎盘的抗细菌屏障功能非常关键。合体滋养层细胞中自噬活性高于细胞滋养层细胞，而体内和体外实验证据表明滋养层细胞中自噬通路的激活可有效降低胎盘细菌感染的风险。与之相对应的，早产胎盘尤其是具有感染指征的感染性早产胎盘中自噬通路活性显著低于正常足月胎盘，提示自噬通路的功能不足可能参与了感染性早产的发病^[44]。

根据病毒和宿主细胞的不同，自噬介导的抗感染反应及效果可能有巨大的不同，有时甚至大相径庭。例如，自噬调节剂通过溶酶体小泡调控自噬体的形成或膜融合，从而抑制病毒核衣壳的释放或病毒向胎儿的转移^[47]。然而，自噬小体可能成为小核糖核酸病毒的保守复制平台^[48]。本研究组的研究揭示了自噬通路在 ZIKA 病毒跨胎盘传播过程中的作用：ZIKA 病毒感染的人滋养细胞以及小鼠胎盘中自噬活性标志物 LC3-II 与对照组相比显著增高，提示 ZIKA 病毒感染诱导滋养细胞的自噬活性。当利用遗传学手段敲除自噬基因 *Atg16L1* 或者利用抑制剂阻断自噬通路活性时，ZIKA 病毒跨胎盘的垂直传播被显著抑制，ZIKA 病毒感染造成的不良母胎妊娠结局被很大程度改善^[49]。以上结果表明细胞自

噬促进 ZIKA 病毒在母胎界面的感染。综上可见, 在研究自噬通路在胎盘屏障以及致病微生物母胎传播过程中的作用及机制时, 要综合考虑宿主细胞及病毒类型, 从而做出具体分析。

2.2 外泌体途径

胎盘分泌的外泌体是介导母胎对话的重要细胞学途径, 也参与了宿主与致病微生物在母胎界面的相互作用。人原代培养滋养层细胞 (primary human trophoblast, PHT) 不但自身对病毒感染具有高度的抵抗力, 也可通过分泌外泌体赋予其他非胎盘细胞类型抗病毒能力。无论是 PHT 条件培养基还是从 PHT 细胞培养物中分离出来的外泌体, 都显著提高非胎盘细胞抗病毒反应能力; 反之, 来自其他细胞来源的外泌体 (如原代小鼠树突状细胞) 对病毒感染没有任何影响^[50]。miRNA 可通过人类胎盘合体滋养细胞分泌的外泌体释放到母体循环中, 并靶向母体组织发挥作用^[51, 52]。定位于人 19 号染色体的 C19MC 是人类及非人灵长类胎盘特异性表达的 miRNA 簇, 在人滋养细胞中丰度很高。C19MC miRNA 是包裹在人原代胎盘滋养细胞外泌体中特有的组分, 通过外泌体作用于胎盘/母体靶细胞, 进而调节非胎盘免疫细胞对病毒感染的免疫能力^[52]。研究表明, 胎盘/滋养层细胞来源的外泌体将 C19MC miRNA 传递给母体、胎儿或胎盘细胞, 改变基因的表达, 最终促进非滋养层细胞的自噬活性。PHT 条件培养基可诱导上调一些关键自噬前体的转录本 (例如 ATG4C、UVRAG 和 LC3A), 而不影响其他先天免疫途径的活性。细胞暴露于条件 PHT 培养基后, 细胞内疱疹性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV) 颗粒靶向定位到 LC3 阳性的自噬小体上。吞囊泡中的病毒颗粒被引导进入 C19MC miRNA 诱导的自噬体内, 而后包裹病毒的自噬体与溶酶体融合, 最后自噬溶酶体中的病毒被降解^[53–55]。胎盘的外泌体抗病毒途径在很多条件下独立于其他抗病毒信号通路。C19MC miRNA 或含有 C19MC miRNA 的外泌体不影响 III 型和 I 型 IFN 信号转导通路, 而且对受体细胞凋亡信号通路也无影响; 滋养层细胞暴露于重组 IFN- λ 1 对 miRNA 表达无影响^[56]。以上结果进一步表明了以上通路不存在协同作用

2.3 先天免疫防御机制

在致病微生物感染过程中, 胎盘具有多种先天免疫防御机制, 可以快速检测入侵微生物的存在, 并迅速启动防御机制来抵御入侵, 最大程度抑制宫

内感染及母胎传播^[42]。其中一种主要的防御机制是通过结合胞质或细胞膜上的致病微生物识别受体 (pathogen recognition receptors, PRRs) 来激活保守的 PAMPs, 随后通过细胞内信号转导刺激先天性免疫反应, 包括激活炎症因子合成的关键性转录因子等^[42, 57]。除此之外, 胎盘还可以通过 TLRs 感知致病微生物的存在。TLRs 激活炎症反应中的多个通路及步骤, 帮助消灭入侵的病原体和协调系统性防御机制的发生。TLR1~10 在胎盘中具有特异表达模式, 例如, TLR2 和 TLR4 在妊娠早期仅在 CTB 和 EVT 中表达, 而在 STB 没有表达^[58]。TLR 可以通过启动先天性免疫应答来阻止病原体的感染^[59]。Rodrigues-Duarte 等研究显示, TLR4 在体外实验中促进滋养细胞吸收感染了疟原虫的红细胞, 并激活胎盘内的先天免疫反应, 为胎儿生存提供了强有力的保护^[60]; 抑制感染后的各种细胞因子与趋化因子的分泌可以抑制胎盘先天免疫反应的活化, 并促进李斯特氏菌的感染^[61]。

IFN 是介导胎盘对抗致病微生物感染的重要分子。感染 HIV-1 和疟疾的滋养细胞分泌 IFN- β 和 IFN- γ 的量明显增高^[62–65], 提示 IFN 可能参与了胎盘防御屏障功能的发挥。本研究组的研究结果显示, 缺乏 IFN- α 受体的孕鼠更容易感染 ZIKA 病毒, 并通过垂直传播途径感染胎鼠, 造成小头症及其他神经系统发育异常^[66, 67]。IFN- λ 特异性地抑制母胎界面上多种细胞对于 ZIKA 病毒感染的易感性。ZIKA 病毒感染 24 h 用 IFN- λ 1 处理后, ZIKA 病毒拷贝数显著降低, 预防性用药可以进一步抑制病毒感染, 同时使用 IFN- λ 1 和 IFN- α 2 可以完全清除细胞培养液上清中的 ZIKA 病毒^[67, 68]。原代滋养细胞分泌的 IFN- λ 1 还可以保护非滋养层细胞免受 ZIKA 病毒的感染^[23]。IFN 主要通过促进 IFN 刺激基因 (interferon-stimulated genes, ISGs) 的表达发挥抗病毒的作用。有趣的是, 垂直传播的致病微生物 (例如 ZIKA 病毒) 感染可通过下调 ISG 的表达, 避免滋养层细胞抗病毒先天免疫反应, 从而允许病毒不受抑制地复制^[69], 这可能是促使 ZIKA 病毒完成母胎传播、导致不良妊娠结局的作用机制。

病原体感染了胎盘之后, 滋养细胞会应激性地分泌一些列促炎因子 (包括 IL-6、IL-8、IL-12、IL-1 β 、IL-10、TNF γ 、TNF- α 、MIP-1 α 和 MIP-1 β 等), 帮助清除致病微生物^[64, 70–75], 而过度激活的促炎因子可能会继发性地导致不良妊娠结局, 如人 CMV

(hCMV) 可以在早孕及足月胎盘滋养层细胞中发生复制^[76], 在感染后 48 h, IL-6 mRNA 表达水平上调, 同时可以在感染 hCMV 细胞的上清液检测到高水平的 IL-6, 但在缺乏有效的负反馈调节机制的情况下, 胎盘产生的过多细胞因子及过度激活的促炎症反应可导致不良的妊娠结局^[75, 77-79]。Tabata 等研究显示, hCMV 病毒复制和旁分泌因子诱发血管重构和滋养细胞诱导的淋巴管生成的异常, 是导致妊娠合并先天性 CMV 感染时出血、缺氧和水肿的病因^[80]。野生型鼠伤寒会导致流产等不良后果, 这与大量增加的炎症因子/趋化因子密切相关^[81, 82]。

3 小结与展望

胎盘防御屏障功能的建立与维持是正常妊娠维持的重要基础。胎盘要在母体免疫抑制的条件下, 通过形态学、细胞学及免疫学等复杂的机制保护自身及胎儿免受致病微生物的感染。在异常条件下, 致病微生物尤其是可以跨越胎盘屏障垂直传播的 TORCH 感染可以直接或间接通过垂直传播导致多种不良的母胎结局。随着研究的深入, 人们发现越来越多的致病微生物可导致妊娠期感染, 近年来发现的可导致胎儿小头症的妊娠期 ZIKA 病毒即为最典型的例证。研究胎盘防御屏障需同时考虑到宿主及病原两方面因素。胎盘是所有人体脏器中最缺乏深入研究的器官, 而胎盘屏障的研究工作有赖于对胎盘发育及功能调控机制深入理解, 包括滋养层细胞谱系分化、滋养层细胞介导的母胎对话、母胎界面局部免疫微环境建立等诸多方面的内容。研究胎盘防御屏障机制需要重点探讨病原致病因素与母胎界面多种细胞类型(滋养层细胞、蜕膜细胞及免疫细胞等)是如何进行相互作用进而影响母胎结局的。目前学术界仅认识了胎盘防御屏障的“冰山一角”, 更多深层次的机制有待深入研究。

参考文献

- 1 Ander SE, Diamond MS, Coyne CB. Immune responses at the maternal-fetal interface. *Sci Immunol* 2019; 4(31): pii: eaat6114.
- 2 Bischof P, Irminger-Finger I. The human cytotrophoblastic cell, a mononuclear chameleon. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37(1): 1-16.
- 3 Fowden AL, Forhead AJ, Sferruzzi-Perri AN, Burton GJ, Vaughan OR. Review: Endocrine regulation of placental phenotype. *Placenta* 2015; 36 Suppl 1: S50-S59.
- 4 Burton GJ, Fowden AL. Review: The placenta and developmental programming: balancing fetal nutrient demands with maternal resource allocation. *Placenta* 2012; 33 Suppl: S23-S27.
- 5 Costa MA. The endocrine function of human placenta: an overview. *Reprod Biomed Online* 2016; 32(1): 14-43.
- 6 Dilworth MR, Sibley CP. Review: Transport across the placenta of mice and women. *Placenta* 2013; 34 Suppl: S34-S39.
- 7 Heerema-McKenney A. Defense and infection of the human placenta. *APMIS* 2018; 126(7): 570-588.
- 8 Arora N, Sadovsky Y, Dermody TS, Coyne CB. Microbial vertical transmission during human pregnancy. *Cell Host Microbe* 2017; 21(5): 561-567.
- 9 Hamilton WJ, Boyd JD. Development of the human placenta in the first three months of gestation. *J Anat* 1960; 94: 297-328.
- 10 Brett KE, Ferraro ZM, Yockell-Lelievre J, Gruslin A, Adamo KB. Maternal-fetal nutrient transport in pregnancy pathologies: the role of the placenta. *Int J Mol Sci* 2014; 15(9): 16153-16185.
- 11 Rossant J, Cross JC. Placental development: lessons from mouse mutants. *Nat Rev Genet* 2001; 2(7): 538-548.
- 12 Cox B, Kotlyar M, Evangelou AI, Ignatchenko V, Ignatchenko A, Whiteley K, Jurisica I, Adamson SL, Rossant J, Kislinger T. Comparative systems biology of human and mouse as a tool to guide the modeling of human placental pathology. *Mol Syst Biol* 2009; 5: 279.
- 13 Coyne CB, Lazear HM. Zika virus - reigniting the TORCH. *Nat Rev Microbiol* 2016; 14(11): 707-715.
- 14 Silasi M, Cardenas I, Kwon JY, Racicot K, Aldo P, Mor G. Viral infections during pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2015; 73(3): 199-213.
- 15 Diaz-Lujan C, Triquell MF, Schijman A, Paglini P, Fretes RE. Differential susceptibility of isolated human trophoblasts to infection by *Trypanosoma cruzi*. *Placenta* 2012; 33(4): 264-270.
- 16 Diaz-Lujan C, Triquell MF, Castillo C, Hardisson D, Kemmerling U, Fretes RE. Role of placental barrier integrity in infection by *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop* 2016; 164: 360-368.
- 17 Li Y, Moretto-Zita M, Soncin F, Wakeland A, Wolfe L, Leon-Garcia S, Pandian R, Pizzo D, Cui L, Nazor K, Loring JF, Crum CP, Laurent LC, Parast MM. BMP4-directed trophoblast differentiation of human embryonic stem cells is mediated through a $\Delta Np63+$ cytotrophoblast stem cell state. *Development* 2013; 140(19): 3965-3976.
- 18 Horii M, Li Y, Wakeland AK, Pizzo DP, Nelson KK, Sabatini K, Laurent LC, Liu Y, Parast MM. Human pluripotent stem

- cells as a model of trophoblast differentiation in both normal development and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(27): E3882–E3891.
- 19 McCaig D, Lyall F. Hypoxia upregulates GCM1 in human placenta explants. *Hypertens Pregnancy* 2009; 28(4): 457–472.
- 20 Cheong ML, Wang LJ, Chuang PY, Chang CW, Lee YS, Lo HF, Tsai MS, Chen H. A positive feedback loop between glial cells missing 1 and human chorionic gonadotropin (hCG) regulates placental hCG β expression and cell differentiation. *Mol Cell Biol* 2016; 36(1): 197–209.
- 21 Baczyk D, Drewlo S, Proctor L, Dunk C, Lye S, Kingdom J. Glial cell missing-1 transcription factor is required for the differentiation of the human trophoblast. *Cell Death Differ* 2009; 16(5): 719–727.
- 22 Cao B, Mysorekar IU. Intracellular bacteria in placental basal plate localize to extravillous trophoblasts. *Placenta* 2014; 35(2): 139–142.
- 23 Bayer A, Lennemann NJ, Ouyang Y, Bramley JC, Morosky S, Marques EJ, Cherry S, Sadovsky Y, Coyne CB. Type III interferons produced by human placental trophoblasts confer protection against Zika virus infection. *Cell Host Microbe* 2016; 19(5): 705–712.
- 24 Ander SE, Rudzki EN, Arora N, Sadovsky Y, Coyne CB, Boyle JP. Human placental syncytiotrophoblasts restrict *Toxoplasma gondii* attachment and replication and respond to infection by producing immunomodulatory chemokines. *MBIO* 2018; 9(1). pii: e01678-17.
- 25 Triquell MF, Diaz-Lujan C, Romanini MC, Ramirez JC, Paglini-Oliva P, Schijman AG, Fretes RE. Nitric oxide synthase and oxidative-nitrosative stress play a key role in placental infection by *Trypanosoma cruzi*. *Am J Reprod Immunol* 2018; 80(1): e12852.
- 26 Bhat P, Anderson DA. Hepatitis B virus translocates across a trophoblastic barrier. *J Virol* 2007; 81(13): 7200–7207.
- 27 Carrillo I, Droguett D, Castillo C, Liempi A, Muñoz L, Maya JD, Galanti N, Kemmerling U. Caspase-8 activity is part of the BeWo trophoblast cell defense mechanisms against *Trypanosoma cruzi* infection. *Exp Parasitol* 2016; 168: 9–15.
- 28 Obert G, Peiffer I, Servin AL. Rotavirus-induced structural and functional alterations in tight junctions of polarized intestinal Caco-2 cell monolayers. *J Virol* 2000; 74(10): 4645–4651.
- 29 Reale E, Wang T, Zaccheo D, Maganza C, Pescetto G. Junctions on the maternal blood surface of the human placental syncytium. *Placenta* 1980; 1(3): 245–258.
- 30 Marzioni D, Banita M, Felici A, Paradinas FJ, Newlands E, De Nictolis M, Mühlhauser J, Castellucci M. Expression of ZO-1 and occludin in normal human placenta and in hydatidiform moles. *Mol Hum Reprod* 2001; 7(3): 279–285.
- 31 Tossetta G, Paolinelli F, Avellini C, Salvolini E, Ciarmela P, Lorenzi T, Emanuelli M, Toti P, Giuliani R, Gesuita R, Crescimanno C, Voltolini C, Di Primio R, Petraglia F, Castellucci M, Marzioni D. IL-1 β and TGF- β weaken the placental barrier through destruction of tight junctions: An *in vivo* and *in vitro* study. *Placenta* 2014; 35(7): 509–516.
- 32 Fardini Y, Wang X, Temoin S, Nithianantham S, Lee D, Shoham M, Han YW. Fusobacterium nucleatum adhesin FadA binds vascular endothelial cadherin and alters endothelial integrity. *Mol Microbiol* 2011; 82(6): 1468–1480.
- 33 Robbins JR, Skrzypczynska KM, Zeldovich VB, Kapidzic M, Bakardjiev AI. Placental syncytiotrophoblast constitutes a major barrier to vertical transmission of *Listeria monocytogenes*. *PLoS Pathog* 2010; 6(1): e1000732.
- 34 Barragan A, Brossier F, Sibley LD. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* involves an interaction of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) with the parasite adhesin MIC2. *Cell Microbiol* 2005; 7(4): 561–568.
- 35 Sartori MJ, Mezzano L, Lin S, Munoz S, de Fabro SP. Role of placental alkaline phosphatase in the internalization of trypanotigotes of *Trypanosoma cruzi* into HEP2 cells. *Trop Med Int Health* 2003; 8(9): 832–839.
- 36 Zeldovich VB, Clausen CH, Bradford E, Fletcher DA, Maltepe E, Robbins JR, Bakardjiev AI. Placental syncytium forms a biophysical barrier against pathogen invasion. *PLoS Pathog* 2013; 9(12): e1003821.
- 37 Sartori MJ, Pons P, Mezzano L, Lin S, de Fabro SP. *Trypanosoma cruzi* infection induces microfilament depletion in human placenta syncytiotrophoblast. *Placenta* 2003; 24(7): 767–771.
- 38 Rodriguez A, Rioult MG, Ora A, Andrews NW. A trypanosome-soluble factor induces IP3 formation, intracellular Ca²⁺ mobilization and microfilament rearrangement in host cells. *J Cell Biol* 1995; 129(5): 1263–1273.
- 39 Tardieux I, Webster P, Ravesloot J, Boron W, Lunn JA, Heuser JE, Andrews NW. Lysosome recruitment and fusion are early events required for trypanosome invasion of mammalian cells. *Cell* 1992; 71(7): 1117–1130.
- 40 Chen H, Gao Z, He C, Xiang R, van Kuppevelt TH, Belting M, Zhang S. GRP75 upregulates clathrin-independent endocytosis through actin cytoskeleton reorganization mediated by the concurrent activation of Cdc42 and RhoA. *Exp Cell Res* 2016; 343(2): 223–236.
- 41 Giugliano S, Petroff MG, Warren BD, Jasti S, Linscheid C, Ward A, Kramer A, Dobrinskikh E, Sheiko MA, Gale MJ, Golden-Mason L, Winn VD, Rosen HR. Hepatitis C virus sensing by human trophoblasts induces innate immune responses and recruitment of maternal NK cells: Potential

- implications for limiting vertical transmission. *J Immunol* 2015; 195(8): 3737–3747.
- 42 Gratton R, Agrelli A, Tricarico PM, Brandao L, Crovella S. Autophagy in Zika virus infection: A possible therapeutic target to counteract viral replication. *Int J Mol Sci* 2019; 20(5). pii: E1048.
- 43 Echavarría-Consuegra L, Smit JM, Reggiori F. Role of autophagy during the replication and pathogenesis of common mosquito-borne flaviviruses. *Open Biol* 2019; 9(3): 190009.
- 44 Cao B, Macones C, Mysorekar IU. ATG16L1 governs placental infection risk and preterm birth in mice and women. *JCI Insight* 2016; 1(21): e86654.
- 45 Cao B, Diamond MS, Mysorekar IU. Maternal-fetal transmission of Zika virus: Routes and signals for infection. *J Interferon Cytokine Res* 2017; 37(7): 287–294.
- 46 Chiramel AI, Brady NR, Bartenschlager R. Divergent roles of autophagy in virus infection. *Cells* 2013; 2(1): 83–104.
- 47 Zhang ZW, Li ZL, Yuan S. The role of secretory autophagy in Zika virus transfer through the placental barrier. *Front Cell Infect Microbiol* 2016; 6: 206.
- 48 Jordan TX, Randall G. Manipulation or capitulation: virus interactions with autophagy. *Microbes Infect* 2012; 14(2): 126–139.
- 49 Cao B, Parnell LA, Diamond MS, Mysorekar IU. Inhibition of autophagy limits vertical transmission of Zika virus in pregnant mice. *J Exp Med* 2017; 214(8): 2303–2313.
- 50 Ouyang Y, Mouillet JF, Coyne CB, Sadovsky Y. Review: placenta-specific microRNAs in exosomes - good things come in nano-packages. *Placenta* 2014; 35 Suppl: S69–S73.
- 51 Luo SS, Ishibashi O, Ishikawa G, Ishikawa T, Katayama A, Mishima T, Takizawa T, Shigihara T, Goto T, Izumi A, Ohkuchi A, Matsubara S, Takeshita T, Takizawa T. Human villous trophoblasts express and secrete placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes. *Biol Reprod* 2009; 81(4): 717–729.
- 52 Donker RB, Mouillet JF, Chu T, Hubel CA, Stolz DB, Morelli AE, Sadovsky Y. The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes. *Mol Hum Reprod* 2012; 18(8): 417–424.
- 53 Bayer A, Delorme-Axford E, Sleighter C, Frey TK, Trobaugh DW, Klimstra WB, Emert-Sedlak LA, Smithgall TE, Kinchington PR, Vadia S, Seveau S, Boyle JP, Coyne CB, Sadovsky Y. Human trophoblasts confer resistance to viruses implicated in perinatal infection. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212(1): 71.e1–71.e8.
- 54 Delorme-Axford E, Bayer A, Sadovsky Y, Coyne CB. Autophagy as a mechanism of antiviral defense at the maternal-fetal interface. *Autophagy* 2013; 9(12): 2173–2174.
- 55 Sadovsky Y, Mouillet JF, Ouyang Y, Bayer A, Coyne CB. The function of trophomiRs and other microRNAs in the human placenta. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5(8): a23036.
- 56 Bayer A, Lennemann NJ, Ouyang Y, Sadovsky E, Sheridan MA, Roberts RM, Coyne CB, Sadovsky Y. Chromosome 19 microRNAs exert antiviral activity independent from type III interferon signaling. *Placenta* 2018; 61: 33–38.
- 57 Medzhitov R, Janeway CJ. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 1997; 91(3): 295–298.
- 58 Wujcicka W, Wilczynski J, Nowakowska D. Do the placental barrier, parasite genotype and Toll-like receptor polymorphisms contribute to the course of primary infection with various *Toxoplasma gondii* genotypes in pregnant women? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33(5): 703–709.
- 59 Castillo C, Munoz L, Carrillo I, Liempi A, Medina L, Galanti N, Maya JD, Kemmerling U. Toll-like receptor-2 mediates local innate immune response against *Trypanosoma cruzi* in *ex vivo* infected human placental chorionic villi explants. *Placenta* 2017; 60: 40–46.
- 60 Rodrigues-Duarte L, Pandya Y, Neres R, Penha-Gonçalves C, Adams JH. Fetal and maternal innate immunity receptors have opposing effects on the severity of experimental malaria in pregnancy: beneficial roles for fetus-derived Toll-like receptor 4 and type I interferon receptor 1. *Infect Immun* 2018; 86(5): e708–e717.
- 61 van der Zee M, Dik WA, Kap YS, Dillon MJ, Benner R, Leenen PJ, Khan NA, Drevets DA. Synthetic human chorionic gonadotropin-related oligopeptides impair early innate immune responses to *Listeria monocytogenes* in mice. *J Infect Dis* 2010; 201(7): 1072–1080.
- 62 Lee BN, Hammill H, Popek EJ, Cron S, Kozinetz C, Paul M, Shearer WT, Reuben JM. Production of interferons and β -chemokines by placental trophoblasts of HIV-1-infected women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2001; 9(2): 95–104.
- 63 Suguitan AJ, Leke RG, Fouda G, Zhou A, Thuita L, Metenou S, Fogako J, Megnekou R, Taylor DW. Changes in the levels of chemokines and cytokines in the placentas of women with *Plasmodium falciparum malaria*. *J Infect Dis* 2003; 188(7): 1074–1082.
- 64 Hirsch AJ, Roberts V, Grigsby PL, Haese N, Schabel MC, Wang X, Lo JO, Liu Z, Kroenke CD, Smith JL, Kelleher M, Broeckel R, Kreklywich CN, Parkins CJ, Denton M, Smith P, DeFilippis V, Messer W, Nelson JA, Hennebold JD, Grafe M, Colgin L, Lewis A, Ducore R, Swanson T, Legasse AW, Axthelm MK, MacAllister R, Moses AV, Morgan TK, Frias AE, Streblov DN. Zika virus infection in pregnant rhesus macaques causes placental dysfunction and immunopathology. *Nat Commun* 2018; 9(1): 263.

- 65 Rosbottom A, Gibney EH, Guy CS, Kipar A, Smith RF, Kaiser P, Trees AJ, Williams DJ. Upregulation of cytokines is detected in the placentas of cattle infected with *Neospora caninum* and is more marked early in gestation when fetal death is observed. *Infect Immun* 2008; 76(6): 2352–2361.
- 66 Rossi SL, Tesh RB, Azar SR, Muruato AE, Hanley KA, Auguste AJ, Langsjoen RM, Paessler S, Vasilakis N, Weaver SC. Characterization of a novel murine model to study Zika virus. *Am J Trop Med Hyg* 2016; 94(6): 1362–1369.
- 67 Jagger BW, Miner JJ, Cao B, Arora N, Smith AM, Kovacs A, Mysorekar IU, Coyne CB, Diamond MS. Gestational stage and IFN- λ signaling regulate ZIKV infection *in utero*. *Cell Host Microbe* 2017; 22(3): 366–376.
- 68 Chen J, Liang Y, Yi P, Xu L, Hawkins HK, Rossi SL, Soong L, Cai J, Menon R, Sun J. Outcomes of congenital Zika disease depend on timing of infection and maternal-fetal interferon action. *Cell Rep* 2017; 21(6): 1588–1599.
- 69 Van der Hoek KH, Eyre NS, Shue B, Khantisitthiporn O, Glab-Ampi K, Carr JM, Gartner MJ, Jolly LA, Thomas PQ, Adikusuma F, Jankovic-Karasoulos T, Roberts CT, Helbig KJ, Beard MR. Viperin is an important host restriction factor in control of Zika virus infection. *Sci Rep* 2017; 7(1): 4475.
- 70 de la Torre E, Mulla MJ, Yu AG, Lee SJ, Kavathas PB, Abrahams VM. Chlamydia trachomatis infection modulates trophoblast cytokine/chemokine production. *J Immunol* 2009; 182(6): 3735–3745.
- 71 McDonald EA, Kurtis JD, Acosta L, Gundogan F, Sharma S, Pond-Tor S, Wu HW, Friedman JF. Schistosome egg antigens elicit a proinflammatory response by trophoblast cells of the human placenta. *Infect Immun* 2013; 81(3): 704–712.
- 72 Kurtis JD, Higashi A, Wu HW, Gundogan F, McDonald EA, Sharma S, Pond-Tor S, Jarilla B, Sagliba MJ, Gonzal A, Olveda R, Acosta L, Friedman JF. Maternal *Schistosomiasis japonica* is associated with maternal, placental, and fetal inflammation. *Infect Immun* 2011; 79(3): 1254–1261.
- 73 Jovanovic M, Vicovac L. Interleukin-6 stimulates cell migration, invasion and integrin expression in HTR-8/SVneo cell line. *Placenta* 2009; 30(4): 320–328.
- 74 Nguyen T, Robinson N, Allison SE, Coombes BK, Sad S, Krishnan L. IL-10 produced by trophoblast cells inhibits phagosome maturation leading to profound intracellular proliferation of *Salmonella enterica* Typhimurium. *Placenta* 2013; 34(9): 765–774.
- 75 Lucchi NW, Moore JM. LPS induces secretion of chemokines by human syncytiotrophoblast cells in a MAPK-dependent manner. *J Reprod Immunol* 2007; 73(1): 20–27.
- 76 Halwachs-Baumann G, Weihsrauch G, Gruber HJ, Desoye G, Sinzger C. hCMV induced IL-6 release in trophoblast and trophoblast like cells. *J Clin Virol* 2006; 37(2): 91–97.
- 77 Poovassery J, Moore JM. Association of malaria-induced murine pregnancy failure with robust peripheral and placental cytokine responses. *Infect Immun* 2009; 77(11): 4998–5006.
- 78 Bryant AH, Menzies GE, Scott LM, Spencer-Harty S, Davies LB, Smith RA, Jones RH, Thornton CA. Human gestation-associated tissues express functional cytosolic nucleic acid sensing pattern recognition receptors. *Clin Exp Immunol* 2017; 189(1): 36–46.
- 79 Barbosa BF, Silva DA, Costa IN, Mineo JR, Ferro EA. BeWo trophoblast cell susceptibility to *Toxoplasma gondii* is increased by interferon- γ , interleukin-10 and transforming growth factor- β 1. *Clin Exp Immunol* 2008; 151(3): 536–545.
- 80 Tabata T, Pettitt M, Fang-Hoover J, Rivera J, Nozawa N, Shiboski S, Inoue N, Pereira L. Cytomegalovirus impairs cytotrophoblast-induced lymphangiogenesis and vascular remodeling in an *in vivo* human placentation model. *Am J Pathol* 2012; 181(5): 1540–1559.
- 81 Chattopadhyay A, Robinson N, Sandhu JK, Finlay BB, Sad S, Krishnan L. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium-induced placental inflammation and not bacterial burden correlates with pathology and fatal maternal disease. *Infect Immun* 2010; 78(5): 2292–2301.
- 82 Coutinho LB, Gomes AO, Araujo EC, Barenco PV, Santos JL, Caixeta DR, Silva DA, Cunha-Junior JP, Ferro EA, Silva NM. The impaired pregnancy outcome in murine congenital toxoplasmosis is associated with a pro-inflammatory immune response, but not correlated with decidual inducible nitric oxide synthase expression. *Int J Parasitol* 2012; 42(4): 341–352.