

综述

母胎界面自然杀伤细胞的研究进展

单亚莉^{1,2}, 倪鑫^{1,2,3,*}

中南大学湘雅医院¹妇产科; ²分子代谢组学研究中心; ³老年病临床研究中心, 长沙 410008

摘要: 自然杀伤(natural killer, NK)细胞是母胎界面丰度最高的免疫细胞, 在妊娠早期的子宫蜕膜中大量积聚。研究表明母胎界面NK细胞具有独特表型和功能, 在妊娠期免疫耐受调节、子宫内膜蜕膜化、滋养细胞侵袭、子宫螺旋动脉重塑、胎盘形成和胎儿生长、发育等多方面都发挥关键作用, 但是其在妊娠中的功能及其作用机制还有待深入研究。本综述总结了近年来母胎界面NK细胞的功能以及它们在妊娠相关疾病中作用的研究进展, 旨在对母胎界面NK细胞功能有更全面的了解, 并为妊娠相关疾病的诊治提供新的思路。

关键词: 妊娠; 母胎界面; 子宫自然杀伤细胞; 蜕膜自然杀伤细胞

中图分类号: R339.2

Research advances of natural killer cells at the maternal-fetal interface

SHAN Ya-Li^{1,2}, NI Xin^{1,2,3,*}

¹Department of Obstetrics and Gynecology; ²Molecular Metabolomics Research Center; ³Clinical Research Center for Geriatrics, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China

Abstract: Natural killer (NK) cells are the main immune cells at the maternal-fetal interface and accumulate in the uterine decidua in early pregnancy. Many studies have shown that NK cells at the maternal-fetal interface have unique phenotypes and play critical roles in various processes, including immune tolerance during pregnancy, decidualization, invasion of trophoblasts, remodeling of the uterine spiral artery, formation of the placenta and growth of embryo. However, specific functions of NK cells and their mechanism remain to be fully elucidated. This review summarizes the research progress of NK cells at the maternal-fetal interface and their roles in the pregnancy-related disorders in recent years. The aims of this review are to gain deep insight of the function of NK cells at the maternal-fetal interface and provide new ideas for intervention of pregnancy-related diseases.

Key words: pregnancy; maternal-fetal interface; uterine natural killer cells; decidual natural killer cells

自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞是一种细胞毒性先天淋巴样细胞, 通过分泌细胞因子和杀伤靶细胞, 在天然免疫应答过程中发挥重要作用^[1]。妊娠是一个由胎儿细胞构成的同种异体移植物植入母体但机体免疫平衡的过程。在正常妊娠过程中, 胎儿并未被视为外来异种被母体免疫系统排斥, 这意味着异基因胚胎在子宫内的存活依赖于母胎界面

(maternal-fetal interface) 免疫耐受。换言之, 一次成功的妊娠需要维持母体免疫激活和胚胎抗原耐受之间的平衡^[2]。

母胎界面即妊娠过程中子宫内膜和胚外组织部分, 是两个同种异质实体进行交流的共同界面, 其特殊的免疫微环境既保证异种胚胎免受母体免疫系统攻击, 又保证母体保持一定免疫力, 从而免受病

Received 2020-04-20 Accepted 2020-11-04

Research from the corresponding author's laboratory was supported by the National Key Research and Development Project, China (No. 2018YFC1002802, 2017YFC1001404) and Huxiang Talent Project of Hunan Provincial Science and Technology Department, China (No. 2018RS3030).

*Corresponding author. E-mail: xinni2018@csu.edu.cn

原体侵害^[3]。母胎界面免疫微环境主要由NK细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞等构成^[2]。其中NK细胞在胎盘类哺乳动物正常妊娠早期母胎界面大量积聚,数量占子宫淋巴细胞70%,是妊娠早期主要白细胞群,被认为在妊娠过程中的滋养细胞侵袭、子宫螺旋动脉重塑和胎盘形成等方面发挥关键作用^[4]。而NK细胞失衡可导致多种不良妊娠结局,如复发性流产、先兆子痫、宫内生长受限、早产和感染等^[5–7]。母胎界面NK细胞的具体功能和作用机制尚未彻底阐明,本综述总结了近年母胎界面NK细胞功能以及其在妊娠相关疾病中作用的研究进展,旨在对母胎界面NK细胞的功能有更全面的了解,并为妊娠相关疾病发病机制研究和诊治提供新的思路。

1 母胎界面NK细胞

1.1 母胎界面NK细胞来源

NK细胞是先天淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)家族成员之一,相较于其他ILCs的特别之处在于其潜在的细胞杀伤能力^[1]。关于NK细胞表型和功能的研究数据大部分来自脾脏或血液中循环的NK细胞,其称为常规NK(conventional NK, cNK)细胞或外周血NK(peripheral blood NK, pNK)细胞,在全身各处均有分布,数量占淋巴细胞2%~3%^[8]。此外,皮肤、肝脏和子宫等组织中还有组织常驻NK(tissue-resident NK, trNK)细胞^[9]。妊娠的建立、维持和分娩是一个炎症过程,因而妊娠母胎界面免疫细胞受到高度关注。妊娠期间大量NK细胞出现在母胎界面,这些NK细胞在基因表达、表型和功能等多个方面都与cNK、pNK和trNK细胞不同^[10],它们是蜕膜化子宫内膜中短暂存在的NK细胞,称为子宫自然杀伤(uterine NK, uNK)细胞或蜕膜自然杀伤(decidual NK, dNK)细胞,二者含义相同,名称可以互换^[11, 12]。

在妊娠早期,uNK细胞数量占子宫白细胞70%以上,uNK细胞来源一直受到研究学者高度关注,目前主要有以下两种观点。其一,uNK细胞由子宫trNK细胞在子宫局部产生,在富含各类激素、细胞因子、趋化因子的环境中增殖而产生的一类NK细胞群。Sojka等^[13]研究结果给这一观点提供了实验支持,他们采用一种新颖、具有免疫能力的NK细胞特异性报告基因小鼠(*Ncr1*^{iCre} × *Rosa*^{mT/mG} 基因小鼠)来追踪妊娠期间uNK细胞的积累来源,确定了

在蜕膜和子宫肌层中积累的cNK和trNK细胞中,仅trNK细胞出现增殖,且无任何证据显示cNK细胞发生迁移;同时,诱导共生结果显示,积累的uNK细胞是增殖的trNK细胞。这些结果表明,在子宫内膜蜕膜化过程中,增殖的trNK细胞是uNK细胞的来源。其二,uNK细胞源自外周NK细胞前体,这些细胞通过趋化迁移至子宫和蜕膜,在母胎界面局部微环境中分化并获得uNK细胞表型和功能^[14, 15]。Chiossone等^[14]研究显示,成熟的NK细胞并没有迁移到蜕膜和子宫中,而在蜕膜和子宫中招募的NK前体细胞向uNK细胞分化。Cerdeira等^[15]证实pNK细胞可向uNK样表型转化,其中母胎界面微环境是诱导或维持uNK细胞表型的必要条件。

综上所述,uNK细胞来源尚未完全阐明。uNK细胞可能是一群部分外周NK来源、部分子宫trNK来源的异质群体。但不论其源自外周pNK细胞的新募再分化还是子宫trNK的增殖,这些uNK细胞都具有独特表型和功能,可维持健康的妊娠。

1.2 母胎界面NK细胞表型

在人类中,NK细胞典型表型为CD3⁺CD56⁺,根据CD56表达水平,pNK细胞可分CD56^{dim}和CD56^{bright}表型。CD56^{dim}NK细胞数量约占pNK细胞的90%,这些细胞富含颗粒酶、颗粒溶素和穿孔素,具有高细胞毒性;相反,只有约10% pNK细胞是CD56^{bright}NK细胞,被认为是有益的细胞因子生产者,细胞毒性较弱^[14]。正常妊娠期间,大部分uNK细胞具有较弱细胞毒性,表现为CD56^{bright}NK细胞表型,它们最先被募集到母胎界面^[16]。Lu等^[17]研究显示,滋养层细胞表达的CXCL12介导子宫内CD56^{bright}NK细胞的富集,并且增强这群NK细胞对蜕膜基质细胞(decidual stromal cell, DSC)的黏附力。uNK细胞在成功妊娠中发挥关键作用,而多项研究表明母胎界面局部微环境塑造了这些uNK细胞,使其参与母胎界面免疫耐受、蜕膜化、子宫螺旋动脉重塑、促进胎儿生长和妊娠记忆等亚群表型和子效应功能^[18–21]。

2 NK细胞在母胎界面的功能

2.1 参与母胎免疫耐受性

妊娠时滋养层细胞相当于半同种异体,NK细胞能靶向杀死异物,怀孕期间uNK细胞广泛募集至胚胎滋养层细胞周围^[13],理论上会造成破坏性后果,然而在正常妊娠中,胚胎滋养层细胞未被视为

异物而被母体免疫系统清除。uNK 细胞在母胎界面免疫耐受性的获得和维持中的作用一直是妊娠研究热点。

许多研究都支持多种通路介导调控 uNK 细胞分泌细胞因子，从而调节细胞毒活性，维持免疫耐受，Qi 等^[22]在妊娠小鼠流产模型上研究肿瘤样坏死因子的凋亡弱诱导剂 (TWEAK) 及其受体成纤维细胞生长因子诱导性分子 (Fn14) 对 uNK 细胞毒性的作用，结果显示 uNK 细胞中 TWEAK 的下调和 Fn14 受体的上调可改变 uNK 细胞的细胞毒性，从而破坏蜕膜稳态，最终导致胎儿被排斥，提示在 uNK 细胞中 TWEAK-Fn14 轴参与维持成功妊娠所必需的免疫耐受。Huang 等^[23]对比复发性流产患者和正常孕妇，发现复发性流产患者 uNK 细胞 miR-30e 下调，穿孔素 1 (perforin-1, PRF1) 表达上调，而 miR-30e 负调控 PRF1 靶基因的表达，此外他们还发现当 miR-30e 上调时，uNK 细胞中白介素 4 (interleukin 4, IL-4) 和 IL-10 表达上调，干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ) 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)

表达下调，表现出低细胞毒性，而 miR-30e 抑制剂转染可以逆转这种趋势，这提示 miR-30e 通过靶向 PRF1 表达来调控 uNK 细胞毒活性，影响母胎界面的免疫耐受。

母胎界面充满各种免疫细胞、基质细胞和滋养细胞，NK 细胞与其他细胞的交互作用也可能影响 uNK 细胞毒活性，介导免疫耐受的建立。Fu 等^[24]研究显示，原代滋养细胞和 DSC 产生的胶原蛋白调节 uNK 细胞功能，是参与维持妊娠免疫耐受的因素之一 (图 1)。Wang 等^[25]研究显示，妊娠滋养细胞分泌的 CXCL16 诱导蜕膜中巨噬细胞向 M2 型极化，M2 型巨噬细胞 IL-15 生成减少，这降低了 NK 细胞毒活性，从而促进胚胎发育所需的免疫耐受微环境的形成 (图 1)。

此外，一些具有免疫调节功能的重要分子也在这一过程中发挥重要作用，Tilburgs 等在小鼠^[26]和人^[27]中均发现人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA)-G⁺ 侵袭性绒毛外滋养细胞 (extravillous trophoblasts, EVT) 限制 NK 细胞毒性；另一方

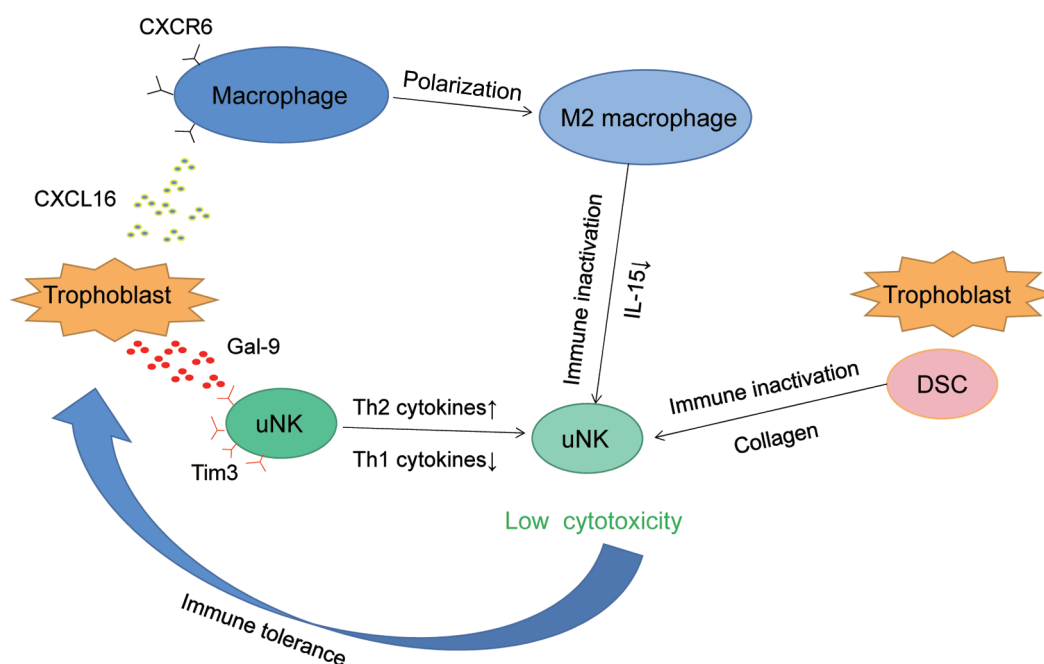


图 1. 子宫自然杀伤(uNK)细胞和其他细胞的交互介导母胎界面免疫耐受

Fig. 1. Crosstalk between uterine NK (uNK) cells and other cells mediates maternal-fetal interface immune tolerance. Trophoblasts and decidual stromal cells (DSC) produce collagen to participate in the regulation of uNK cytotoxic activity. Trophoblasts secrete CXCL16 to induce the polarization of macrophages in decidua to M2 type, and M2 type macrophages secrete less IL-15, which helps to reduce toxic activity of uNK cells. Trophoblasts mediate uNK cells to produce Th2-type cytokines through the T cell immunoglobulin and mucin domain-3 (Tim-3)/Gal-9 signaling pathway, while Th1-type cytokines production is decreased, thereby suppressing the toxicity of uNK cells to trophoblast cells to maintain local tolerance.

面, uNK 细胞中的 HLA-G 循环可同时提供 NK 耐受性和抗病毒免疫性。另一种重要的免疫新分子为 T 细胞免疫球蛋白及粘蛋白结构域分子 3 (T cell immunoglobulin and mucin domain-3, Tim-3), Li 等^[28]发现超过 60% 的 uNK 细胞表达 Tim-3, 与 Tim-3⁻ uNK 细胞相比, Tim-3⁺ uNK 细胞生成的 Th2 型细胞因子 (如 IL-4) 水平较高, 而 Th1 型细胞因子 (如 TNF- α 和穿孔素) 水平较低, 表现出 Th2 表型、低细胞毒性和免疫耐受的特征。而 75% 的滋养层细胞为分泌 Tim-3 配体的 Gal-9⁺ 细胞。将 pNK 细胞与 Gal-9⁺ 滋养细胞共培养, pNK 细胞转化为更具免疫耐受的 uNK 细胞表型^[28]。这与 Tripathi 等^[29]研究结果相一致, Tripathi 等^[29]研究显示, Tim-3 阻滞的小鼠 uNK 细胞上受体谱的表达发生改变, uNK 细胞产生细胞因子减少, 导致母胎界面免疫力和耐受性之间失衡, 引发流产。Sun 等^[30]进一步研究显示, Tim-3 是通过 Gal-9 破坏 NK 细胞的脱粒过程来部分抑制其对滋养细胞的细胞毒作用 (图 1)。

2.2 参与子宫内膜蜕膜化

妊娠期蜕膜化是指子宫内膜基质细胞 (间质成纤维细胞) 转化为专门的分泌性蜕膜细胞, 该细胞为胚胎植入和胎盘发育提供营养和免疫耐受的基质^[31]。蜕膜化是妊娠成功的一个关键点, 蜕膜化不足会导致多种妊娠并发症和生殖疾病, 而蜕膜化受多种细胞因子和生长因子的协调调节^[32]。Moffett 等^[1]认为具有相似表型特征但细胞毒性较弱的免疫细胞于早孕期在子宫内膜中聚集。研究显示, uNK 细胞会在蜕膜化的子宫中积聚^[13], 而 uNK 细胞缺陷小鼠植入位点子宫腔关闭延迟^[33]。Zhang 等^[34]研究显示, 在激素刺激下, 子宫内膜基质细胞先分化为 DSC, 从而导致子宫内膜基质细胞分泌 IL-25, 其与 uNK 细胞分泌的 IL-25 协同作用, 进一步促进 DSC 增殖和子宫内膜基质细胞的蜕膜化, 为胚胎的成功植入做准备。Yang 等^[35]研究显示, 早期妊娠 DSC 与 NK 细胞高表达 IL-24, IL-24 下调 NK 细胞 CD16 表达水平, 降低颗粒酶 B、穿孔素和 IFN- γ 分泌水平, 并且上调 NK 细胞抑制性受体 (如 KIR2DL1 和 KIR3DL1) 和血管生成因子的表达, 这促使 uNK 细胞向低细胞毒性、高免疫耐受和分泌血管生成因子的表型分化, 而这种分化又正向进一步促进子宫内膜的蜕膜化过程, 帮助胚胎植入和正常妊娠建立、维持。以上研究结果表明, 孕早期 DSC 和 uNK 细胞之间相互作用, 可分泌多种细胞因子, 从而促进

子宫内膜的蜕膜化过程。

2.3 调节子宫螺旋动脉重塑

妊娠期间子宫螺旋动脉重塑, 即子宫螺旋小动脉被转化为高血容量、低阻力的大血管, 满足母体-胎儿之间的营养输送和代谢排出^[36]。原本子宫螺旋动脉是由血管壁上的内皮细胞 (endothelial cell, EC) 和控制血管舒缩的血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 组成, 子宫螺旋动脉重塑过程的关键是滋养层细胞迁移到子宫螺旋动脉, 并侵入子宫螺旋动脉取代 EC 和 VSMC^[37]。多项研究表明, EVT 和局部子宫蜕膜免疫细胞 (主要是 uNK 细胞) 参与子宫螺旋动脉重塑过程的调节^[38] (图 2)。Robson 等^[39]研究显示, 子宫螺旋动脉重塑与 VSMCs 的去分化有关, 后者可由 uNK 细胞和 EVT 在体外诱导。另外, 在妊娠期间, uNK 细胞广泛募集在 EVT 周围和螺旋动脉中^[40], 而 EVT 对于母体是同种异体, 也需要 uNK 细胞对它们耐受, 然后 uNK 和 EVT 之间相互作用, 调节子宫螺旋动脉重塑。那么 uNK 和 EVT 之间相互作用的具体机制是怎样呢? Gong 等^[41]认为 uNK 细胞通过旁分泌作用指导 uNK 细胞维持低细胞毒性、EVT 迁移和血管生成。研究显示, EVT 表达经典的 MHC I 类 HLA-C 分子和非经典的 MHC I 类分子 HLA-E、HLA-F 和 HLA-G; uNK 细胞表达多种抑制受体 (如 Ly49、KIR 和 CD94/NKG2 异二聚体) 和激活受体 (如 NKp30、NKp44 和 NKp46)^[42]。uNK 细胞表达的 KIR 受体与 EVT 表达的 HLA-C 相配; HLA-E 是 uNK 受体 CD94/NKG2A (NK 细胞抑制受体) 和 CD94/NKG2C (NK 细胞激活受体) 的配体; HLA-G 分子由 EVT 特异性表达, 与子宫蜕膜中 KIR2DL4⁺ NK 细胞之间存在相关性, 参与 NK 细胞毒性调控^[43–45]。MHC I 类分子与 uNK 细胞表面激活受体和抑制受体相互作用, 调节 NK 细胞毒性, 从而诱导免疫耐受^[46,47], 此外, 这种 uNK-EVT 的串扰还能通过调节细胞因子的分泌参与子宫螺旋动脉重塑过程^[48] (图 2)。多项研究结果显示, uNK-EVT 串扰诱导 uNK 细胞或 / 和 EVT 细胞分泌多种细胞因子 [如 IFN- γ 、TNF- α 、集落刺激因子 (colony stimulating factor, CSF)、胎盘生长因子 (placenta growth factor, PLGF)、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 和白细胞介素]、趋化因子配体 [如 CXC 基序配体 (CXCL) 和 CC 基序配体 (CCL)] 和血管生成因子 [如促血管生成素、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor,

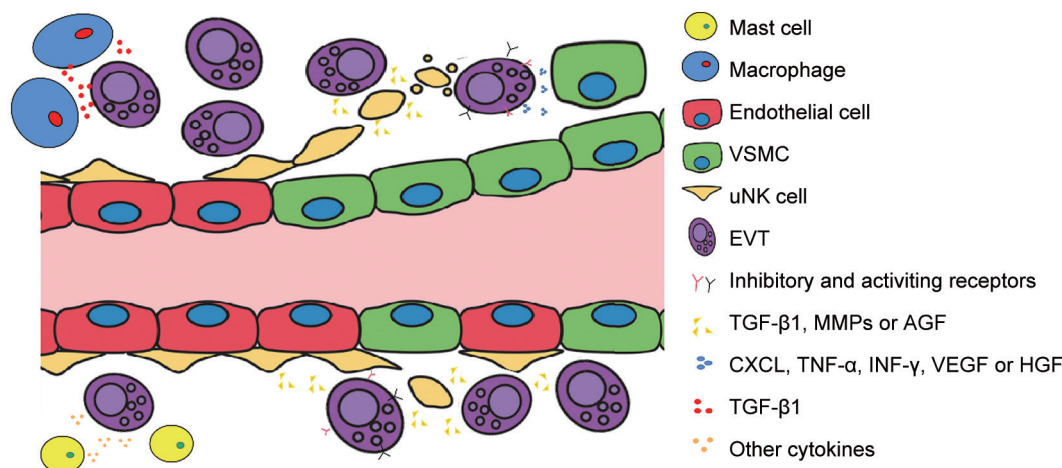


图 2. 子宫自然杀伤(uNK)细胞和其他细胞的交互介导母胎界面子宫螺旋动脉重塑

Fig. 2. Crosstalk between uterine NK (uNK) cells and other cells mediates remodeling of the maternal-fetal spiral artery. The transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and angiogenesis growth factor (AGF) secreted by uNK cells are involved in regulation of the migration, dedifferentiation and apoptosis of maternal spiral artery vascular smooth muscle cells (VSMCs), and then the matrix metalloproteinases (MMPs) secreted by uNK cells and aggressive extravillous trophoblasts (EVTs) degrade endothelial cells in the spiral artery wall and extracellular matrix (ECM) around these blood vessels. Once a gap is formed after degradation, through the combination of chemokines receptors and ligands (CXCL16/CXCR6, CXCL8/CCL14/CXCL6, CXCL12/CXCR4), EVTs and uNK cells are recruited around the spiral artery, and then various cytokines secreted by uNK cells promote the regulation of the invasion/migration function of EVTs, from the gap into the arterial surface. TNF- α , tumor necrosis factor α ; INF- γ , interferon γ ; VEGF, vascular endothelial growth factor; HGF, hepatocyte growth factor.

VEGF) 以及基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP)]^[49-52]。

研究表明, EC 和 VSMC 被侵袭性 EVT 所取代过程中, VSMC 层变得不稳定, 这导致 VSMC 去分化并且从血管中被清除迁移出来^[39] (图 2), uNK 细胞分泌的细胞因子参与调节母体螺旋动脉 VSMC 的功能, 诱导该过程的实现。长链非编码 RNA MEG3 是一种调节肿瘤细胞凋亡和迁移的分子, Liu 等^[53] 研究显示, 用 uNK 细胞的上清液或重组人转化生长因子 β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 处理 VSMC 可促进其 MEG3 和 MMP2 表达以及妊娠期子宫螺旋动脉 VSMC 凋亡和迁移, 并抑制 VSMC 增殖; 而在 MEG3 沉默情况下, TGF- β 1 对 VSMC 增殖、凋亡和迁移均无明显影响, 提示 uNK 细胞通过分泌 TGF- β 1 调节 MEG3 介导的 VSMC 凋亡和迁移。Robson 等^[54] 用 VEGF、uNK 细胞、EVT 或 uNK 细胞/EVT 共培养的条件培养基 (conditioned medium, CM) 培养来自足月胎盘的绒毛膜板动脉和来自非妊娠子宫肌层的螺旋动脉, 发现在这两种血管模型中, uNK 细胞 CM 诱导 VSMC 破裂并破坏细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 而且 uNK 细胞分泌的

细胞因子破坏 VSMC 组织完整性并引发 ECM 重塑; 最近他们又测试了不同细胞类型和血管生成因子对 VSMC 的影响, 发现 uNK 细胞分泌的 VEGF 介导子宫螺旋动脉 VSMC 去分化^[39]。

在子宫螺旋动脉重塑过程中, 动脉壁内 EC 和血管周围 ECM 发生降解。uNK 细胞分泌的 MMP 和 uNK 细胞刺激 EVT 分泌的 MMP 能使 EC 和 VSMC 产生的 ECM 成分降解^[54, 55] (图 2)。一旦围绕子宫动脉的 ECM 层被降解和吞噬形成间隙, 侵袭性 EVT 即从间隙进入动脉表面 (图 2)。侵袭性 EVT 迁移至子宫螺旋动脉并使之重塑的进程取决于它们迁移/侵入蜕膜基质的能力, 研究表明 uNK 细胞参与调节 EVT 的侵袭性, 多项研究表明 EVT 在妊娠早期通过趋化因子 CXCL16/CXCR6、CXCL8/CCL14/CXCL6、CXCL12/CXCR4 相互作用将 uNK 细胞募集到子宫蜕膜^[56-59], 这些化学吸引剂诱导 uNK 细胞和 EVT 共定位于子宫螺旋动脉周围, 并促进二者相互作用, uNK 细胞分泌的各种细胞因子又促进 uNK 细胞对 EVT 功能的调控^[60]。Renaud 等^[61] 在 *IL-15*^{-/-} 大鼠模型和 Blois 等^[62] 在 *IL-10*^{-/-} 小鼠模型上的研究均证明 NK 细胞缺乏可引起胎盘

重大结构变化: Renaud 等^[63]研究显示, NK 细胞抑制 EVT 的侵袭并延迟 EVT 定向的子宫螺旋动脉重塑; 而 Blois 等^[62]研究表明 uNK 细胞是 IL-10 的关键来源, *IL-10*^{-/-} 小鼠妊娠失败可以通过 *IL-10*^{+/+} 小鼠而不是 *IL-10*^{-/-} 小鼠的 NK 细胞过继转移来解救, 此外, 表达 IL-10 的 NK 细胞可显著增强妊娠小鼠的血管生成反应和胎盘发育, 提示 NK 细胞分泌的 IL-10 是血管重塑的关键。De Oliveira 等^[55] 研究显示, uNK 细胞上清液促进 EVT 侵袭的作用部分由 IL-8 介导, 而 IL-8 中和抗体可部分减弱这种由 uNK 细胞刺激的侵袭。Liu 等^[63] 研究显示, 子痫前期患者胎盘中 ULBP1 (一种 uNK 细胞上自然杀伤组 NKG2D 受体的配体) 表达上调, 从而刺激 uNK 分泌 TNF- α 、INF- γ 、TGF- β 、IL-6 和 IL-8, 灌洗 ULBP1 细胞培养上清可抑制人绒毛滋养层细胞系 (HTR-8/SVneo) 的侵袭。与他们的研究相一致, Verma 等^[64] 研究也显示, 妊娠期间子宫 NK 细胞分泌的 INF- γ 剂量依赖性地抑制 HTR-8/SVneo 的侵袭, 充当 EVT 侵袭的负调节剂。Ma 等^[65] 将人 uNK 细胞、脐静脉 EC 和 EVT 三者共培养, 发现 uNK 可促进 EVT 侵袭和血管形成, 进一步的抗体阻断实验表明 uNK 细胞通过产生 IL-8 和肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 促进 EVT 侵袭, 并通过 VEGF-C 和 HGF 诱导 EVT 向内皮表型分化。以上研究结果表明, uNK 细胞分泌正性或负性因子调节 EVT 侵袭性, 参与 EVT 侵袭和血管生成, 从而影响胎盘形成。此外, Lash 等^[66] 研究显示, uNK 对 EVT 侵入的调节还和胎龄相关, 妊娠 8 至 10 周的 uNK 细胞上清液对胎盘绒毛外植体的 EVT 侵袭无作用, 而妊娠 12 至 14 周的 uNK 细胞上清液能刺激 EVT 侵袭。

uNK 细胞还具有通过调节母胎界面的氧气浓度来间接调节 EVT 侵入能力。Wallace 等^[67] 在 3%、10% 和 21% 三个不同氧气浓度下培养早孕样本中分离的 uNK 细胞, 结果显示 uNK 细胞表型和分泌因子受氧气浓度调节, 但氧气浓度差异不会引起 uNK 细胞 CM 对 EVT 运动性或趋化性的作用差异, 而是诱导 EVT 侵袭性改变和血管样分化。在 10% 氧气浓度下培养的 uNK 细胞 CM 会增加 EVT 样细胞系 SGHPL-4 细胞的侵袭能力和形成内皮样“管”网络的能力。这些结果提示, 与正常氧分压条件相比, 低氧条件下更有利于 EVT 侵入。Chakraborty 等^[68] 研究显示, NK 细胞耗竭导致 VEGF 表达显著下调并

延缓子宫螺旋动脉发育, 而低氧诱导因子将滋养细胞谱系的分化重新定向到侵入性表型, 提示 NK 细胞通过调节低氧诱导因子依赖的滋养细胞谱系分化表型决定来指导血管内 EVT 侵袭和子宫螺旋动脉重塑。

此外, uNK 细胞与其他免疫细胞的交互作用共同介导早期血管重塑 (图 2), Meyer 等^[69] 研究显示, uNKs 和子宫肥大细胞 (uterine mast cells, uMCs) 均缺乏的小鼠子宫螺旋动脉重塑明显受损, 胎儿发育迟缓, 而其中一种细胞缺乏只会导致较小损伤, 提示 uNKs 和 uMCs 在母体子宫螺旋动脉重塑中的作用相互补偿。Spaans 等^[70] 研究显示, ATP 诱导子痫前期大鼠中激活的 TRAP⁺ 巨噬细胞增加, 并且与 uNK 细胞数量一致, 孕大鼠胎盘中胚层三角形中滋养细胞侵袭和子宫螺旋动脉重塑减少; Co 等^[71] 研究显示, 子宫蜕膜中巨噬细胞通过 TGF- β 依赖的机制抑制 uNK 细胞杀伤 EVT, 提示 NK 细胞与巨噬细胞串扰参与血管重塑过程。

2.4 促进胎儿生长

关于 uNK 细胞和胎儿生长、发育的联系, 在 *IL-15*^{-/-} 大鼠^[61]、*IL-10*^{-/-} 小鼠^[62] 和白细胞介素 3 调节型转录因子 (interleukin 3 regulated transcription factor, NFIL3) 敲除 (*NFIL3*^{-/-}) 小鼠^[72] 上的研究表明 uNK 细胞与子宫螺旋动脉重塑不全、胎盘发育受损和胎儿生长受限相关, 提示 uNK 细胞可促进胎儿生长发育。最近有多项研究探讨了 uNK 细胞促进胎儿生长发育功能的机制。Fu 等^[73] 研究显示, 在人类和小鼠中存在一种表型为 CD49a⁺Eomes⁺ uNK 细胞亚群, 通过产生生长促进因子 (growth-promoting factor, GPF) 促进胎盘发育; Zhou 等^[18] 研究显示, CD49a⁺-PBX homebox 1 (PBX1)⁺ uNK 细胞亚群通过上调 PBX1 的表达驱动多效性蛋白和骨糖蛋白转录, 继而分泌 GPF, 促进胎儿的发育, 进一步验证了这种促进胎儿生长发育功能的 uNK 细胞亚群的存在。

2.5 其他功能

从妊娠开始至分娩, uNK 细胞参与妊娠期间多个关键环节, 甚至在再次妊娠中, 特定 uNK 细胞亚群有妊娠记忆功能, 并能预防胎盘疾病。Gamliel 等^[19] 研究显示, 经产妇的 uNKs 高表达 NKG2C 和 LILRB1 受体, 因此定义这群 NK 细胞为妊娠训练蜕膜 NK 细胞 (pregnancy trained decidual NK cells, PTdNKs), PTdNKs 激活导致其 IFN- γ 和 VEGF- α 分泌水平相较初次妊娠有显著增加, 可增强其在随后妊娠中的

功能, 这可能是一些胎盘发育不良疾病在初产妇中发病率高于经产妇的原因。

Vento-Tormo 等^[20]发现 uNK 细胞参与能量代谢过程, 他们对人妊娠早期蜕膜进行单细胞 RNA-seq, 鉴定了三个 uNK 细胞亚群 uNK1、uNK2 和 uNK3, 其中 uNK1 高表达参与糖酵解的酶, 糖酵解代谢活跃, 此外他们发现 uNK1 细胞亚群高表达 LILRB1 受体, 认为第一次怀孕胎盘疾病发生率高与 uNK1 细胞亚群比例较低相关, 这与 Gamliel 等^[19]研究结果是一致的。

综上所述, uNK 细胞功能已不限于免疫耐受调节、滋养细胞侵袭和血管重塑, 多种 uNK 细胞的亚群表型和子效应功能正陆续被发现。

3 母胎界面NK细胞与妊娠相关疾病

uNK 细胞数量、激活状态和表型的改变都可能会引起妊娠并发症, 例如免疫不育、流产、早产、宫内生长受限和子痫前期等, 但导致这些并发症的 uNK 细胞具体动态变化和机制尚未明确。许多研究就 NK 细胞异常与妊娠并发症之间关系进行了探讨。

3.1 NK细胞与子痫前期

在一次成功的妊娠中, 侵袭性 EVT 侵袭并替代血管 EC 完成子宫螺旋动脉重塑是至关重要的过程, 而在不同的妊娠并发症例如子痫前期、宫内生长受限、复发性流产都表现出 EVT 侵袭失败^[21]。而 uNK 细胞和侵袭性 EVT 是调节螺旋动脉重塑的决定性细胞^[38], 所以 uNK-EVT 串扰改变的后果可能对 uNK 细胞的活化状态、EVT 侵入以及最终的子宫螺旋动脉重塑都产生重大影响^[47]。相较于正常孕妇, 患有子痫前期的孕妇 uNK 细胞通过减少其 HLA 结合型表面受体的表达, 使 uNK 细胞上可溶性白细胞介素-2 受体 (soluble interleukin-2 receptor, sIL-2R) 的表达显著提高, 此外 uNK 细胞分泌 PLGF、内皮抑素和血管生成素的水平显著提高, 而促凋亡因子和促侵袭因子分泌较少, 继而 SGHPL-4 细胞的侵袭和趋化能力显著降低, 且未能诱导 VSMC 和 EC 凋亡 (子宫螺旋动脉重塑的重要过程)^[74-77]。此外, 有许多研究利用转基因鼠进行验证, 如 Winship 等^[78]研究显示, 先兆子痫小鼠调节 uNK 细胞募集和分化的基因被下调, uNK 细胞减少, 提示滋养层侵袭受损、子宫螺旋动脉重塑失败与 uNK 细胞减少相关; Golic 等^[79]研究显示, 先兆子痫大鼠妊娠期中胚层三角形中 uNK 细胞数量减少, 滋养层受

到的侵袭减少。因此, 无论是在人还是鼠上的研究都提示, 子痫前期 uNK 细胞数量减少, 子痫前期 uNK 细胞的功能可能发生改变, 从而影响 EVT 侵袭和血管重塑。最近的研究表明, 其他 uNK 细胞表型及其分泌的细胞因子也参与这个病理过程, Zhang 等^[80]研究显示, 子痫前期 uNK 细胞中 IFN- γ 、IL-8 和 CD107a 表达下调, 特定 uNK 亚型中 uNK 激活受体 (NKp30 和 NKG2D) 的表达与 IFN- γ 的表达呈正相关, 而 TGF- β 1 可下调离体 uNK 细胞激活标志 (IFN- γ , IL-8, CD107a) 和血管生成标志 (VEGF) 的共表达, 提示蜕膜中 TGF- β 1 水平升高会抑制 uNK 特定亚群的激活, 从而诱导子痫前期相关的子宫胎盘病理变化, 导致子痫前期; Du 等^[81]的研究也进一步证实 IFN- γ 参与杀死早孕滋养细胞, 并抑制它们的侵袭和迁移能力, 并且子痫前期 uNK 细胞的数量、穿孔素和颗粒酶 B 的产生均明显高于正常妊娠。可能还有更多 NK 细胞表型及其分泌的细胞因子参与子痫前期的发病, 有待进一步的研究。

3.2 NK细胞与流产

多项研究显示, 不明原因的自发性流产蜕膜组织中 CD56⁺ NK 细胞比例显著升高^[82-84], Pang 等^[52]研究也显示, 暴露于 LPS 的小鼠 CD56⁺ uNK 细胞比例显著增加, 提示 CD56⁺ uNK 细胞参与自发性流产发病机制, 并且这些 uNK 细胞的数量增加可能会改变 uNK 和 EVT 之间的平衡以及相互作用, 这与流产和异常的子宫螺旋动脉重塑相关。在复发性流产患者中 uNK 细胞具有较高毒性^[17], Yougbaré 等^[85]和 El-Azzamy 等^[86]研究显示, 这些较高毒性的 uNK 细胞通过分泌穿孔素导致滋养细胞凋亡, 从而引发子宫螺旋动脉重塑失败; Nakashima 等^[87]研究显示, 颗粒溶素阳性的 uNK 细胞会攻击 EVT, 产生的颗粒溶素在 EVT 的核中累积, 导致 EVT 凋亡。流产也依赖于 uNK 细胞表达的 KIR2DS1 受体与 EVT 表达的 HLA-C2 配体结合^[88]。此外, 多个研究组分析了 uNK 细胞相关的标志性细胞因子的表达和血管生成因子谱的差异以及对滋养细胞功能的影响, 发现流产患者 uNK 细胞 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-17A 表达上调, IL-4、IL-5 和 IL-10 表达下调, 提示 uNK 细胞毒活性异常可能影响母胎界面免疫耐受性和 EVT 侵袭/迁移能力, 引起子宫螺旋血管重塑失败, 导致流产^[22, 23, 89-91]。

3.3 NK细胞与宫内生长受限

与子痫前期一样, 宫内生长受限患者 uNK 细

胞比例降低, 同样 uNK-EVT 串扰改变可导致 EVT 侵入以及子宫螺旋动脉重塑轻度失败, 从而引起宫内生长受限^[92, 93]。此外, Meyer 等^[94]研究显示, 宫内生长受限子宫螺旋动脉重塑失败的病理过程与 VSMC 凋亡减少相关, 而参与介导 VSMC 凋亡的 uNK 细胞源性 α -糜蛋白酶肥大细胞蛋白酶 5 基因 (*Mcpt5*) 缺失会导致子宫螺旋动脉重塑受损和胎儿生长受限。Chang 等^[95]研究显示, 色氨酸分解代谢的一种限速酶——吲哚胺-2,3-双加氧酶 (indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) 异常表达和功能障碍与包括胎儿生长受限等在内的多种病理性妊娠有关。Yang 等^[96]等研究显示, 滋养细胞中 IDO 表达上调可以抑制 NK 细胞的毒性。上述研究结果表明, uNK 细胞参与宫内生长受限的发病, 但具体机制还有待深入研究。

4 展望

综上所述, NK 细胞在妊娠期母胎界面丰度很高, 而且它们的表型多种多样, 可能每一种表型都对应一种功能, 也可能不同表型 NK 细胞对应相同或相似功能, 多种表型 NK 细胞之间有协同作用。这些 NK 细胞在妊娠早期就开始发挥作用, 例如胚胎植入时期抵抗来自母体免疫排斥, 并且将会在随后的每一个重要妊娠过程中发挥重要作用, 例如子宫蜕膜化、子宫螺旋动脉重塑、胎盘血管网形成、胎儿生长、发育, 直至妊娠中期 NK 细胞数量才开始下降, 而且这些 NK 细胞发挥作用大部分是通过和其他细胞的相互作用, 介导分泌各种因子来诱导 NK 细胞聚集、毒活性、表型和功能作用, 这些细胞之间的相互作用环节如果出现误差, 则会引起多种妊娠相关疾病。因此, 我们仍需阐明 NK 细胞在妊娠各个时期母胎界面的精细丰度值和它们所分泌的各种细胞因子的类别及含量, 期望能够形成一套类似临床上血常规检测体系, 以此来监测妊娠状态, 预测妊娠相关疾病的发生。未来我们需要对 NK 细胞的表型及其对应的功能进行全面且深入地发掘、并深入研究 NK 细胞与其他细胞之间相互作用的信号通路, 进而为预防和治疗这些妊娠相关疾病提供新的策略。

参考文献

- Moffett A, Shreeve N. First do no harm: uterine natural killer (NK) cells in assisted reproduction. *Hum Reprod* 2015; 30(7): 1519–1525.
- Munoz-Suano A, Hamilton AB, Betz AG. Gimme shelter: the immune system during pregnancy. *Immunol Rev* 2011; 241(1): 20–38.
- Sojka DK, Yang L, Yokoyama WM. Uterine natural killer cells: To protect and to nurture. *Birth Defects Res* 2018; 110(20): 1531–1538.
- Yang F, Zheng Q, Jin L. Dynamic function and composition changes of immune cells during normal and pathological pregnancy at the maternal-fetal interface. *Front Immunol* 2019; 10: 2317–2331.
- Jabrane-Ferrat N. Features of human decidual NK cells in healthy pregnancy and during viral infection. *Front Immunol* 2019; 10: 1397–1406.
- Faas MM, De Vos P. Innate immune cells in the placental bed in healthy pregnancy and preeclampsia. *Placenta* 2018; 69: 125–133.
- Zhao X, Jiang Y, Wang L, Li Z, Li Q, Feng X. Advances in understanding the immune imbalance between T-lymphocyte subsets and NK cells in recurrent spontaneous abortion. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2018; 78(7): 677–683.
- Filipovic I, Chiossone L, Vacca P, Hamilton RS, Ingegnere T, Doisne JM, Hawkes DA, Mingari MC, Sharkey AM, Moretta L, Colucci F. Molecular definition of group 1 innate lymphoid cells in the mouse uterus. *Nat Commun* 2018; 9(1): 4492–4503.
- Sojka DK, Plougastel-Douglas B, Yang L, Pak-Wittel MA, Artyomov MN, Ivanova Y, Zhong C, Chase JM, Rothman PB, Yu J, Riley JK, Zhu J, Tian Z, Yokoyama WM. Tissue-resident natural killer (NK) cells are cell lineages distinct from thymic and conventional splenic NK cells. *Elife* 2014; 3: e01659.
- Sojka DK, Tian Z, Yokoyama WM. Tissue-resident natural killer cells and their potential diversity. *Semin Immunol* 2014; 26(2): 127–131.
- Huhn O, Ivarsson MA, Gardner L, Hollinshead M, Stinchcombe JC, Chen P, Shreeve N, Chazara O, Farrell LE, Theorell J, Ghadially H, Parham P, Griffiths G, Horowitz A, Moffett A, Sharkey AM, Colucci F. Distinctive phenotypes and functions of innate lymphoid cells in human decidua during early pregnancy. *Nat Commun* 2020; 11(1): 381–389.
- Vacca P, Chiossone L, Mingari MC, Moretta L. Heterogeneity of NK cells and other innate lymphoid cells in human and murine decidua. *Front Immunol* 2019; 10: 170–177.
- Sojka DK, Yang L, Plougastel-Douglas B, Higuchi DA, Croy BA, Yokoyama WM. Cutting edge: Local proliferation of uterine tissue-resident NK cells during decidualization in mice. *J Immunol* 2018; 201(9): 2551–2556.
- Chiossone L, Vacca P, Orecchia P, Croxatto D, Damonte P, Astigiano S, Barbieri O, Bottino C, Moretta L, Mingari MC.

- In vivo* generation of decidual natural killer cells from resident hematopoietic progenitors. *Haematologica* 2014; 99(3): 448–457.
- 15 Cerdeira AS, Rajakumar A, Royle CM, Lo A, Husain Z, Thadhani RI, Sukhatme VP, Karumanchi SA, Kopcow HD. Conversion of peripheral blood NK cells to a decidual NK-like phenotype by a cocktail of defined factors. *J Immunol* 2013; 190(8): 3939–3948.
 - 16 Tao Y, Li YH, Piao HL, Zhou WJ, Zhang D, Fu Q, Wang SC, Li DJ, Du MR. CD56^{bright}CD25⁺ NK cells are preferentially recruited to the maternal/fetal interface in early human pregnancy. *Cell Mol Immunol* 2015; 12(1): 77–86.
 - 17 Lu H, Jin LP, Huang HL, Ha SY, Yang HL, Chang RQ, Li DJ, Li MQ. Trophoblast-derived CXCL12 promotes CD56^{bright}CD82⁺CD29⁺ NK cell enrichment in the decidua. *Am J Reprod Immunol* 2020; 83(2). doi: 10.1111/aji.13203.
 - 18 Zhou Y, Fu B, Xu X, Zhang J, Tong X, Wang Y, Dong Z, Zhang X, Shen N, Zhai Y, Kong X, Sun R, Tian Z, Wei H. PBX1 expression in uterine natural killer cells drives fetal growth. *Sci Transl Med* 2020; 12(537): eaax1798.
 - 19 Gamliel M, Goldman-Wohl D, Isaacson B, Gur C, Stein N, Yamin R, Berger M, Grunewald M, Keshet E, Rais Y, Bornstein C, David E, Jelinski A, Eisenberg I, Greenfield C, Ben-David A, Imbar T, Gilad R, Haimov-Kochman R, Mankuta D, Elami-Suzin M, Amit I, Hanna JH, Yagel S, Mandelboim O. Trained memory of human uterine NK cells enhances their function in subsequent pregnancies. *Immunity* 2018; 48(5): 951–962.
 - 20 Vento-Tormo R, Efremova M, Botting RA, Turco MY, Vento-Tormo M, Meyer KB, Park JE, Stephenson E, Polański K, Goncalves A, Gardner L, Holmqvist S, Henriksson J, Zou A, Sharkey AM, Millar B, Innes B, Wood L, Wilbrey-Clark A, Payne RP, Ivarsson MA, Liso S, Filby A, Rowitch DH, Bulmer JN, Wright GJ, Stubbington MJT, Haniffa M, Moffett A, Teichmann SA. Single-cell reconstruction of the early maternal-fetal interface in humans. *Nature* 2018; 563(7731): 347–353.
 - 21 Bujold E, Roberge S, Nicolaides KH. Low dose aspirin for prevention of adverse outcomes related to abnormal placentation. *Prenat Diagn* 2014; 34(7): 642–648.
 - 22 Qi X, Lei M, Qin L, Xie M, Zhao D, Wang J. Endogenous TWEAK is critical for regulating the function of mouse uterine natural killer cells in an immunological model of pregnancy loss. *Immunology* 2016; 148(1): 70–82.
 - 23 Huang Q, Ding J, Gong M, Wei M, Zhao Q, Yang J. Effect of miR-30e regulating NK cell activities on immune tolerance of maternal-fetal interface by targeting PRF1. *Biomed Pharmacother* 2019; 109: 1478–1487.
 - 24 Fu Q, Sun Y, Tao Y, Piao H, Wang X, Luan X, Du M, Li D. Involvement of the JAK-STAT pathway in collagen regulation of decidual NK cells. *Am J Reprod Immunol* 2017; 78(6). doi: 10.1111/aji.12769.
 - 25 Wang XQ, Zhou WJ, Hou XX, Fu Q, Li DJ. Trophoblast-derived CXCL16 induces M2 macrophage polarization that in turn inactivates NK cells at the maternal-fetal interface. *Cell Mol Immunol* 2018; 15(12): 1038–1046.
 - 26 Tilburgs T, Evans JH, Crespo ÂC, Strominger JL. The HLA-G cycle provides for both NK tolerance and immunity at the maternal-fetal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(43): 13312–13317.
 - 27 Tilburgs T, Crespo ÂC, 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.
 - 28 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.
 - 29 Tripathi S, Chabtni L, Dakle PJ, Smith B, Akiba H, Yagita H, Guleria I. Effect of TIM-3 blockade on the immunophenotype and cytokine profile of murine uterine NK cells. *PLoS One* 2015; 10(4): e0123439.
 - 30 Sun J, Yang M, Ban Y, Gao W, Song B, Wang Y, Zhang Y, Shao Q, Kong B, Qu X. Tim-3 is upregulated in NK cells during early pregnancy and inhibits NK cytotoxicity toward trophoblast in Galectin-9 dependent pathway. *PLoS One* 2016; 11(1): e0147186.
 - 31 Gellersen B, Brosens JJ. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocr Rev* 2014; 35(6): 851–905.
 - 32 Ni N, Li Q. TGFβ superfamily signaling and uterine decidualization. *Reprod Biol Endocrinol* 2017; 15(1): 84–92.
 - 33 Hofmann AP, Gerber SA, Croy BA. Uterine natural killer cells pace early development of mouse decidua basalis. *Mol Hum Reprod* 2014; 20(1): 66–76.
 - 34 Zhang Y, Wang Y, Wang XH, Zhou WJ, Jin LP, Li MQ. Crosstalk between human endometrial stromal cells and decidual NK cells promotes decidualization *in vitro* by upregulating IL-25. *Mol Med Rep* 2018; 17(2): 2869–2878.
 - 35 Yang HL, Zhou WJ, Lu H, Lei ST, Ha SY, Lai ZZ, Zheng ZM, Ruan LY, He YY, Li DJ, Li MQ, Shao J. Decidual stromal cells promote the differentiation of CD56^{bright}CD16⁺ NK cells by secreting IL-24 in early pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2019; 81(6): e13110.
 - 36 Ji L, Brkic J, Liu M, Fu G, Peng C, Wang YL. Placental trophoblast cell differentiation: physiological regulation and

- pathological relevance to preeclampsia. *Mol Aspects Med* 2013; 34: 981–1023.
- 37 Sato Y. Endovascular trophoblast and spiral artery remodeling. *Mol Cell Endocrinol* 2020; 503: 110699–110715.
 - 38 Smith SD, Dunk CE, Aplin JD, Harris LK, Jones RL. Evidence for immune cell involvement in decidual spiral arteriole remodeling in early human pregnancy. *Am J Pathol* 2009; 174(5): 1959–1971.
 - 39 Robson A, Lash GE, Innes BA, Zhang JY, Robson SC, Bulmer JN. Uterine spiral artery muscle dedifferentiation. *Hum Reprod* 2019; 34(8): 1428–1438.
 - 40 Tessier DR, Raha S, Holloway AC, Yockell-Lelièvre J, Tayade C, Gruslin A. Characterization of immune cells and cytokine localization in the rat utero-placental unit mid- to late gestation. *J Reprod Immunol* 2015; 110: 89–101.
 - 41 Gong X, Liu Y, Chen Z, Xu C, Lu Q, Jin Z. Insights into the paracrine effects of uterine natural killer cells. *Mol Med Rep* 2014; 10(6): 2851–2860.
 - 42 Takahashi H, Yamamoto T, Yamazaki M, Murase T, Matsuno T, Chishima F. Natural cytotoxicity receptors in decidua natural killer cells of term normal pregnancy. *J Pregnancy* 2018; 2018: 4382084–4382092.
 - 43 Johnsen GM, Størvold GL, Drabbels JJM, Haasnoot GW, Eikmans M, Spruyt-Gerritse MJ, Alnæs-Katjavivi P, Scherjon SA, Redman CWG, Claas FHH, Staff AC. The combination of maternal KIR-B and fetal HLA-C2 is associated with decidua basalis acute atherosclerosis in pregnancies with preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2018; 129: 23–29.
 - 44 Sharkey AM, Xiong S, Kennedy PR, Gardner L, Farrell LE, Chazara O, Ivarsson MA, Hiby SE, Colucci F, Moffett A. Tissue-specific education of decidual NK cells. *J Immunol* 2015; 195(7): 3026–3032.
 - 45 Kennedy PR, Chazara O, Gardner L, Ivarsson MA, Farrell LE, Xiong S, Hiby SE, Colucci F, Sharkey AM, Moffett A. Activating KIR2DS4 is expressed by uterine NK cells and contributes to successful pregnancy. *J Immunol* 2016; 197(11): 4292–4300.
 - 46 Xiong S, Sharkey AM, Kennedy PR, Gardner L, Farrell LE, Chazara O, Bauer J, Hiby SE, Colucci F, Moffett A. Maternal uterine NK cell-activating receptor KIR2DS1 enhances placentation. *J Clin Invest* 2013; 123(10): 4264–4272.
 - 47 Kieckbusch J, Gaynor LM, Moffett A, Colucci F. MHC-dependent inhibition of uterine NK cells impedes fetal growth and decidual vascular remodelling. *Nat Commun* 2014; 5: 3359–3369.
 - 48 Zhang J, Dunk CE, Kwan M, Jones RL, Harris LK, Keating S, Lye SJ. Human dNK cell function is differentially regulated by extrinsic cellular engagement and intrinsic activating receptors in first and second trimester pregnancy. *Cell Mol Immunol* 2017; 14(2): 203–213.
 - 49 Choudhury RH, Dunk CE, Lye SJ, Harris LK, Aplin JD, Jones RL. Decidual leucocytes infiltrating human spiral arterioles are rich source of matrix metalloproteinases and degrade extracellular matrix *in vitro* and *in situ*. *Am J Reprod Immunol* 2019; 81(1): e13054.
 - 50 Pawlak JB, Bálint L, Lim L, Ma W, Davis RB, Benyó Z, Soares MJ, Oliver G, Kahn ML, Jakus Z, Caron KM. Lymphatic mimicry in maternal endothelial cells promotes placental spiral artery remodeling. *J Clin Invest* 2019; 129(11): 4912–4921.
 - 51 Eastabrook GD, Hu Y, Tan R, Dutz JP, Maccalman CD, von Dadelszen P. Decidual NK cell-derived conditioned medium (dNK-CM) mediates VEGF-C secretion in extravillous cytotrophoblasts. *Am J Reprod Immunol* 2012; 67(2): 101–111.
 - 52 Pang XL, Yin TL, Yan WJ, Li J, He F, Yang J. Molecular detection of uterine innate lymphoid cells in the immunological mouse model of pregnancy loss. *Int Immunopharmacol* 2019; 68: 1–6.
 - 53 Liu W, Luo M, Zou L, Liu X, Wang R, Tao H, Wu D, Zhang W, Luo Q, Zhao Y. uNK cell-derived TGF- β 1 regulates the long noncoding RNA MEG3 to control vascular smooth muscle cell migration and apoptosis in spiral artery remodeling. *J Cell Biochem* 2019; 120(9): 15997–16007.
 - 54 Robson A, Harris LK, Innes BA, Lash GE, Aljunaidy MM, Aplin JD, Baker PN, Robson SC, Bulmer JN. Uterine natural killer cells initiate spiral artery remodeling in human pregnancy. *FASEB J* 2012; 26(12): 4876–4885.
 - 55 De Oliveira LG, Lash GE, Murray-Dunning C, Bulmer JN, Innes BA, Searle RF, Sass N, Robson SC. Role of interleukin 8 in uterine natural killer cell regulation of extravillous trophoblast cell invasion. *Placenta* 2010; 31(7): 595–601.
 - 56 Choudhury RH, Dunk CE, Lye SJ, Aplin JD, Harris LK, Jones RL. Extravillous trophoblast and endothelial cell crosstalk mediates leukocyte infiltration to the early remodeling decidual spiral arteriole wall. *J Immunol* 2017; 198(10): 4115–4128.
 - 57 Huang Y, Zhu XY, Du MR, Li DJ. 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.
 - 58 Wu X, Jin LP, Yuan MM, Zhu Y, Wang MY, Li DJ. Human first-trimester trophoblast cells recruit CD56^{bright}CD16[−] NK cells into decidua by way of expressing and secreting of CXCL12/stromal cell-derived factor 1. *J Immunol* 2005; 175(1): 61–68.
 - 59 Piao HL, Wang SC, Tao Y, Fu Q, Du MR, Li DJ. CXCL12/

- CXCR4 signal involved in the regulation of trophoblasts on peripheral NK cells leading to Th2 bias at the maternal-fetal interface. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19(12): 2153–2161.
- 60 Hanna J, Goldman-Wohl D, Hamani Y, Avraham I, Greenfield C, Natanson-Yaron S, Prus D, Cohen-Daniel L, Arnon TI, Manaster I, Gazit R, Yutkin V, Benharroch D, Porgador A, Keshet E, Yagel S, Mandelboim O. Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat Med* 2006; 12(9): 1065–1074.
 - 61 Renaud SJ, Scott RL, Chakraborty D, Rumi MA, Soares MJ. Natural killer-cell deficiency alters placental development in rats. *Biol Reprod* 2017; 96(1): 145–158.
 - 62 Blois SM, Freitag N, Tirado-González I, Cheng SB, Heimesaat MM, Bereswill S, Rose M, Conrad ML, Barrientos G, Sharma S. NK cell-derived IL-10 is critical for DC-NK cell dialogue at the maternal-fetal interface. *Sci Rep* 2017; 7(1): 2189–2196.
 - 63 Liu J, Song G, Lin X, Pang X, Meng T. Upregulated unique long 16 binding protein 1 detected in preeclamptic placenta affects human extravillous trophoblast cell line (HTR-8/SV-neo) invasion by modulating the function of uterine natural killer cells. *Exp Ther Med* 2017; 13(4): 1447–1455.
 - 64 Verma S, Pal R, Gupta SK. Decrease in invasion of HTR-8/SVneo trophoblastic cells by interferon gamma involves cross-communication of STAT1 and BATF2 that regulates the expression of JUN. *Cell Adh Migr* 2018; 12(5): 432–446.
 - 65 Ma L, Li G, Cao G, Zhu Y, Du MR, Zhao Y, Wang H, Liu Y, Yang Y, Li YX, Li DJ, Yang H, Wang YL. dNK cells facilitate the interaction between trophoblastic and endothelial cells via VEGF-C and HGF. *Immunol Cell Biol* 2017; 95(8): 695–704.
 - 66 Lash GE, Otun HA, Innes BA, Percival K, Searle RF, Robson SC, Bulmer JN. Regulation of extravillous trophoblast invasion by uterine natural killer cells is dependent on gestational age. *Hum Reprod* 2010; 25(5): 1137–1145.
 - 67 Wallace AE, Goulwara SS, Whitley GS, Cartwright JE. Oxygen modulates human decidual natural killer cell surface receptor expression and interactions with trophoblasts. *Biol Reprod* 2014; 91(6): 134–139.
 - 68 Chakraborty D, Rumi MA, Konno T, Soares MJ. Natural killer cells direct hemochorial placentation by regulating hypoxia-inducible factor dependent trophoblast lineage decisions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(39): 16295–16300.
 - 69 Meyer N, Woidacki K, Maurer M, Zenclussen AC. Safeguarding of fetal growth by mast cells and natural killer cells: Deficiency of one is counterbalanced by the other. *Front Immunol* 2017; 8: 711–716.
 - 70 Spaans F, Melgert BN, Chiang C, Borghuis T, Klok PA, de Vos P, van Goor H, Bakker WW, Faas MM. Extracellular ATP decreases trophoblast invasion, spiral artery remodeling and immune cells in the mesometrial triangle in pregnant rats. *Placenta* 2014; 35(8): 587–595.
 - 71 Co EC, Gormley M, Kapidzic M, Rosen DB, Scott MA, Stolp HA, McMaster M, Lanier LL, Bárcena A, Fisher SJ. Maternal decidual macrophages inhibit NK cell killing of invasive cytotrophoblasts during human pregnancy. *Biol Reprod* 2013; 88(6): 155–163.
 - 72 Boulénouar S, Doisne JM, Sferruzzi-Perri A, Gaynor LM, Kieckbusch J, Balmas E, Yung HW, Javadzadeh S, Volmer L, Hawkes DA, Phillips K, Brady HJ, Fowden AL, Burton GJ, Moffett A, Colucci F. The residual innate lymphoid cells in NFIL3-deficient mice support suboptimal maternal adaptations to pregnancy. *Front Immunol* 2016; 7: 43–52.
 - 73 Fu B, Zhou Y, Ni X, Tong X, Xu X, Dong Z, Sun R, Tian Z, Wei H. Natural killer cells promote fetal development through the secretion of growth-promoting factors. *Immunity* 2017; 47(6): 1100–1113.
 - 74 Wallace AE, Whitley GS, Thilaganathan B, Cartwright JE. Decidual natural killer cell receptor expression is altered in pregnancies with impaired vascular remodeling and a higher risk of pre-eclampsia. *J Leukoc Biol* 2015; 97(1): 79–86.
 - 75 Wallace AE, Host AJ, Whitley GS, Cartwright JE. Decidual natural killer cell interactions with trophoblasts are impaired in pregnancies at increased risk of preeclampsia. *Am J Pathol* 2013; 183(6): 1853–1861.
 - 76 Wallace AE, Fraser R, Gurung S, Goulwara SS, Whitley GS, Johnstone AP, Cartwright JE. Increased angiogenic factor secretion by decidual natural killer cells from pregnancies with high uterine artery resistance alters trophoblast function. *Hum Reprod* 2014; 29(4): 652–660.
 - 77 Fraser R, Whitley GS, Johnstone AP, Host AJ, Sebire NJ, Thilaganathan B, Cartwright JE. Impaired decidual natural killer cell regulation of vascular remodelling in early human pregnancies with high uterine artery resistance. *J Pathol* 2012; 228(3): 322–332.
 - 78 Winship AL, Koga K, Menkhorst E, Van Sinderen M, Rainczuk K, Nagai M, Cuman C, Yap J, Zhang JG, Simmons D, Young MJ, Dimitriadis E. Interleukin-11 alters placentation and causes preeclampsia features in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(52): 15928–15933.
 - 79 Golic M, Haase N, Herse F, Wehner A, Vercruysse L, Pijnenborg R, Balogh A, Saether PC, Dissen E, Luft FC, Przybyl L, Park JK, Alnaes-Katjavivi P, Staff AC, Verlohren S, Henrich W, Muller DN, Dechend R. Natural killer cell reduction and uteroplacental vasculopathy. *Hypertension* 2016; 68(4): 1133–1141.

- 964–973.
- 80 Zhang J, Dunk CE, Shynlova O, Caniggia I, Lye SJ. TGF β 1 suppresses the activation of distinct dNK subpopulations in preeclampsia. *EBioMedicine* 2019; 39: 531–539.
 - 81 Du M, Wang W, Huang L, Guan X, Lin W, Yao J, Li L. Natural killer cells in the pathogenesis of preeclampsia: a double-edged sword. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2020; 19: 1–8.
 - 82 Gao Y, Wang PL. Increased CD56⁺ NK cells and enhanced Th1 responses in human unexplained recurrent spontaneous abortion. *Genet Mol Res* 2015; 14(4): 18103–18109.
 - 83 Senthilnayagam B, Karthikeyan S, Sukumaran J, Srivalsan A, Rao R, Subbiah V. Decidual CD56⁺ natural killer cells in spontaneous early pregnancy loss--An immunohistochemical study. *J Clin Diagn Res* 2016; 10(10): EC27–EC29.
 - 84 Toth B, Vomstein K, Togawa R, Böttcher B, Hudalla H, Strowitzki T, Daniel V, Kuon RJ. The impact of previous live births on peripheral and uterine natural killer cells in patients with recurrent miscarriage. *Reprod Biol Endocrinol* 2019; 17(1): 72–77.
 - 85 Yougbaré I, Tai WS, Zdravic D, Oswald BE, Lang S, Zhu G, Leong-Poi H, Qu D, Yu L, Dunk C, Zhang J, Sled JG, Lye SJ, Brkić J, Peng C, Höglund P, Croy BA, Adamson SL, Wen XY, Stewart DJ, Freedman J, Ni H. Activated NK cells cause placental dysfunction and miscarriages in fetal alloimmune thrombocytopenia. *Nat Commun* 2017; 8(1): 224–228.
 - 86 El-Azzamy H, Dambaeva SV, Katukurundage D, Salazar Garcia MD, Skariah A, Hussein Y, Germain A, Fernandez E, Gilman-Sachs A, Beaman KD, Kwak-Kim J. Dysregulated uterine natural killer cells and vascular remodeling in women with recurrent pregnancy losses. *Am J Reprod Immunol* 2018; 80(4): e13024.
 - 87 Nakashima A, Shiozaki A, Myojo S, Ito M, Tatematsu M, Sakai M, Takamori Y, Ogawa K, Nagata K, Saito S. Granulysin produced by uterine natural killer cells induces apoptosis of extravillous trophoblasts in spontaneous abortion. *Am J Pathol* 2008; 173(3): 653–664.
 - 88 Crespo ÂC, Strominger JL, Tilburgs T. Expression of KIR2DS1 by decidual natural killer cells increases their ability to control placental HCMV infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(52): 15072–15077.
 - 89 Chen X, Liu Y, Cheung WC, Zhao Y, Huang J, Chung JPW, Wang CC, Li TC. Increased expression of angiogenic cytokines in CD56⁺ uterine natural killer cells from women with recurrent miscarriage. *Cytokine* 2018; 110: 272–276.
 - 90 Jia N, Li J. Human uterine decidual NK Cells in women with a history of early pregnancy enhance angiogenesis and trophoblast invasion. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 6247526–6247528.
 - 91 Sotnikova N, Voronin D, Antsiferova Y, Bukina E. Interaction of decidual CD56⁺ NK with trophoblast cells during normal pregnancy and recurrent spontaneous abortion at early term of gestation. *Scand J Immunol* 2014; 80(3): 198–208.
 - 92 Williams PJ, Bulmer JN, Searle RF, Innes BA, Robson SC. Altered decidual leucocyte populations in the placental bed in pre-eclampsia and foetal growth restriction: a comparison with late normal pregnancy. *Reproduction* 2009; 138(1): 177–184.
 - 93 Eide IP, Rolfseng T, Isaksen CV, Mecsei R, Roald B, Lydersen S, Salvesen KA, Harsem NK, Austgulen R. Serious foetal growth restriction is associated with reduced proportions of natural killer cells in decidua basalis. *Virchows Arch* 2006; 448(3): 269–276.
 - 94 Meyer N, Woidacki K, Knöfler M, Meinhardt G, Nowak D, Velicky P, Pollheimer J, Zenclussen AC. Chymase-producing cells of the innate immune system are required for decidual vascular remodeling and fetal growth. *Sci Rep* 2017; 7: 45106.
 - 95 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.
 - 96 Yang SL, Niu TT, Li XL, Li DJ, Li MQ, Wang HY. Bu-Shen-Yi-Qi formula impairs cytotoxicity of NK cells by up-regulating IDO expression in trophoblasts. *Gynecol Endocrinol* 2018; 34(8): 675–679.