

蜕膜巨噬细胞在母-胎界面的作用研究

徐春芳¹, 李彦虹¹, 李大金^{1, 2}, 杜美蓉^{1, 2}

(1. 国家人口和计划生育委员会计划生育药具重点实验室, 复旦大学附属妇产科医院, 上海 200032; 2. 上海市女性内分泌相关疾病重点实验室, 上海 200011)

摘要: 妊娠早期, 大量的免疫细胞在子宫局部聚集, 母体对带有父系抗原的胎儿并不排斥, 而是通过精细的“母-胎免疫对话”形成独特的母-胎免疫微环境。蜕膜巨噬细胞(decidual macrophage, DM)作为母-胎界面第二大类白细胞, 在妊娠早期发挥抗炎和吞噬作用, 并通过调节蜕膜局部免疫微环境、重塑蜕膜血管, 参与胚胎植入和维持妊娠等过程。若DM表型和功能发生异常, 将会导致早期妊娠失败或妊娠中、晚期并发症, 其确切机制尚未阐明。文章着重论述妊娠早期DM的特点及其在正常妊娠建立和维持以及病理妊娠中的作用。

关键词: 蜕膜巨噬细胞; 免疫耐受; 母-胎界面; 妊娠

中图分类号: R392.12

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)06-0514-04

从免疫学角度来看, 正常妊娠类似于成功的同种异体移植。携带父系抗原的胚胎在母体内生长、发育直至分娩, 主要依赖母体对胚胎抗原的耐受。母-胎免疫耐受不仅发生在外周, 还发生在母-胎界面。母-胎界面是妊娠期母体子宫与胚胎之间形成的分界面, 其组成成分相当复杂, 主要有胎儿来源的侵入蜕膜的绒毛外细胞滋养细胞(extravillous trophoblast cell, EVT), 母体来源的蜕膜免疫细胞(decidual immune cell, DIC)、蜕膜基质细胞(decidual stromal cell, DSC)等。DIC是母-胎免疫调节的重要“执行者”, 主要有蜕膜自然杀伤细胞(decidual natural killer cell, dNK)、蜕膜巨噬细胞(decidual macrophage, DM)、T细胞以及少量的DC和B细胞。作为免疫细胞的第二大群体, DM的数量较恒定, 在正常妊娠的建立和维持中发挥重要的作用^[1]。

1 DM的表型及功能

作为先天性免疫系统单核吞噬细胞的一个亚群, DM具有高度的可塑性和异质性^[2]。按诱导因素、表型及功能的不同, DM可分为类似于Th1/Th2分类的M1/M2细胞。M1细胞高表达CD80、CD86、MHC II, 产生促炎性因子如IL-12、IL-23、

一氧化氮(nitric oxide, NO)等, 具有较强的抗原提呈能力, 促进Th1型免疫反应。M2细胞高表达CD206、CD163、CD209等, 产生抑炎性因子如IL-10、吲哚胺2, 3-双加氧酶(indoleamine 2, 3-dioxygenase, IDO)等, 具有较强的免疫抑制能力, 促进Th2型免疫反应来发挥免疫调节功能^[3]。从本质上来讲, M1/M2细胞主要来源于精氨酸的2种酶代谢途径: 诱导性一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)代谢途径和精氨酸酶代谢途径。M1细胞是iNOS代谢途径的产物, 而M2细胞是精氨酸酶代谢途径的产物, 代谢途径的启动主要取决于DM所处的局部微环境^[2]。当局部微环境发生改变, M1细胞和M2细胞可相互转换, 即巨噬细胞表型转换或巨噬细胞重编程。

1.1 细胞因子与DM极化 IFN- γ 作为促炎性细胞因子具有广泛的生物学功能, 妊娠期子宫蜕膜免疫细胞、基质细胞与滋养层细胞均可合成IFN- γ , 但超生理剂量的IFN- γ 会打破Th1/Th2平衡, 使Th1占优势, 导致流产, 故IFN- γ 又被称为流产诱导因子。因此, 生理剂量的IFN- γ 对维持母-胎免疫耐受具有重要意义。Sayama等^[4]发现, 妊娠早期DM可通过协同刺激信号B7-H1/PD-1抑制T细胞合成IFN- γ 来维持正常妊娠早期母-胎界面Th2占优势的免疫微环境。Vacca等^[5]研究表明, DM与蜕膜NK细胞相互作用, 产生IFN- γ , 上调DM表面IDO的表达, 而IDO是降解色氨酸犬尿氨酸通路代谢的限速酶, 当体内色氨酸缺乏时, T

收稿日期: 2018-06-25

作者简介: 徐春芳(1993-), 女, 硕士, 主要从事妇产科生殖免疫学研究

通信作者: 杜美蓉(E-mail: mrdu@fudan.edu.cn)

细胞活化被阻断, T 细胞增殖减少, 从而诱导母-胎界面 T 细胞免疫耐受。Sakaguchi 等^[6]研究证明, DM 与 dNK 细胞可通过 DC 特异性细胞间黏附分子 (intercellular adhesion molecule 3, ICAM3) 捕获非整合素 (specific intercellular grabbing integrin, SIGN) 产生 IFN- γ , 从而上调 DM 表面 IDO 的表达。此外, 母-胎界面来源的粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子与巨噬细胞集落刺激因子在诱导子宫局部 M1 细胞与 M2 细胞的平衡与免疫耐受以及正常妊娠的维持方面亦至关重要^[7]。

1.2 妊娠相关激素与 DM 极化 妊娠相关激素, 如雌激素、孕激素、人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, HCG), 为胎儿的发育提供合适的环境和充足的营养。有研究显示, 性激素受体可在多种免疫细胞中表达, 调控细胞的分化和功能^[8]。Pepe 等^[9]报道, 在炎性微环境下雌二醇 (estradiol, E2) 诱导 DM 向 M2 细胞极化, 有助于改善妊娠结局。但 E2 对 DM 的调节具有双向性, 低浓度的 E2 促进促炎性细胞因子如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的产生, 诱导 M1 细胞极化, 高浓度的 E2 使这些细胞因子的分泌减少, 表明 E2 在某种程度上可调节 DM 的极化^[10]。孕激素有多种功能, 如促进子宫内膜蜕膜化、胚胎植入、抑制平滑肌收缩。另外, 孕激素还具有抗炎作用, Furcron 等^[11]研究证明, 孕激素结合 DM 表面的孕激素受体后, 可抑制促炎性因子 NO 的产生和 TNF- α 的表达, 该研究同时证明一定剂量的孕激素通过抗炎作用可预防早产。然而, 妊娠期间孕激素是否通过将 DM 极化为 M2 细胞来发挥抗炎作用尚不清楚。HCG 作为一种异二聚体糖蛋白, 可促进血管生成和滋养细胞侵袭来协助胎盘发育, 从而调控母-胎之间的“对话”。Furcron 等^[12]研究表明, 在妊娠过程中 HCG 可与 DM 表面 HCG 受体结合, 通过抑制 IFN- γ 、IL-6 产生及促进 DM 的吞噬, 诱导 M1 细胞向 M2 细胞转化来维持母-胎免疫耐受。

2 DM 在正常妊娠建立和维持中的作用

正常妊娠不仅需要母体对胎儿免疫耐受, 还要依赖发育及功能正常的胎盘和蜕膜。因此, 母-胎间必然存在着复杂的“交互对话”, 来维持胎儿在子宫内生长发育直到分娩。正常妊娠状态下, DM 占据蜕膜淋巴细胞总数的 10%~20%, 是最主要的 APC^[13]。DM 主要通过诱导耐受、重塑螺旋动脉、

促进胚胎着床等特定功能维持正常妊娠。

2.1 耐受诱导与抗原提呈 Co 等^[14]研究表明, 在体外 NK 细胞可杀伤胚胎的绒毛外滋养细胞 (extravillous cytotrophoblast, CTB), 而在妊娠期间未出现该现象, 研究结果显示, 母-胎界面上 DM 可分泌 TGF- β , 强烈抑制 NK 细胞杀伤 CTB, 从而维持母-胎免疫耐受。Wang 等^[15]研究发现在妊娠早中期 DM 及其分泌的细胞因子可诱导母-胎界面 T 细胞分泌 IL-10, 并分化成对胚胎耐受的 CD4⁺Foxp3⁺T 细胞。根据 CD11c 表达水平不同, Jiang 等^[16]将 CD14⁺DM 分为 CD11c^{lo}细胞和 CD11c^{hi}细胞, 与传统 M1/M2 分类不同, 这 2 类细胞都可以分泌抗炎及促炎细胞因子。与 CD11c^{hi}细胞不同的是, CCR2-CD11c^{lo}细胞高度表达 CD209 和 MHC II, 因此, CD11c^{lo}抗原提呈及诱导免疫耐受的作用更为显著。

2.2 螺旋动脉重塑 妊娠期间为了满足胎儿正常发育的需求, 子宫螺旋动脉被重建成高排低阻的血管, 以更好地满足妊娠期胎儿血供。螺旋动脉重建时, 血管平滑肌结构可能出现紊乱、降解、缺失及血管完全去肌化, 直至血管壁被 CTB 取代。Lash 等^[17]研究证明, 在妊娠期, DM 是螺旋动脉重建重要的调节因子, 它能分泌一系列细胞因子 (IL-8、IL-10), 蛋白酶 (基质金属蛋白酶 1、基质金属蛋白酶 2、基质金属蛋白酶 7、基质金属蛋白酶 9 和基质金属蛋白酶 10) 和血管生长因子 [血管生成素、角化细胞生长因子、成纤维细胞生长因子 B、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、血管生成素 1 和血管生成素 2], 有利于螺旋动脉重建。Hazan 等^[18]建立孕早期胎盘-蜕膜共培养 (placental-decidual co-culture, PDC) 模型, 通过图像分析来评估逐渐改造的小动脉周围淋巴细胞分布情况, 发现在入侵的滋养细胞及重建的血管周围有大量的 DM 富集, 证明 DM 在滋养细胞迁徙和螺旋动脉重建过程中发挥重要的作用。Lash 等^[17]研究证明, DM 可上调吞噬信号受体 LRP-1 的表达, 启动蛋白酶和血管因子, 改变血管平滑肌细胞形态, 促进其凋亡, 同时具有吞噬功能的 DM 可渗入螺旋动脉, 清除凋亡碎片, 进一步帮助滋养细胞入侵和螺旋动脉重建。Douglas 等^[19]研究表明, DM 在着床期子宫内膜聚集, 提示其可能参与了胚胎着床。王京等^[20]研究显示, DM 上调 VEGFA, 使子宫内膜血管通透性增加, 血管内血管容

量增多,表明DM通过VEGFA参与子宫内膜微血管重建从而影响子宫内膜容受性及胚胎着床。

3 DM功能异常与病理性妊娠

功能多样性的DM反映出母-胎界面微环境高度可塑性,巨噬细胞表型与功能异常将引起母-胎界面微环境失衡,导致一系列病理性妊娠如复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)、子痫前期(preeclampsia, PE)等。

3.1 DM与RSA RSA是指连续 ≥ 2 次的自然流产,常发生于同一妊娠月份,其病因有染色体异常、子宫解剖结构异常、免疫因素等,其中有50%病因不明,又称不明原因复发性流产(unexplained recurrent spontaneous abortion, URSA),多认为60%以上的URSA与免疫相关^[21]。已有研究证明,RSA与巨噬细胞异常激活有关。如Guenther等^[22]研究发现,在RSA患者中异常激活的DM数量显著增多,并且过表达能诱导使滋养细胞凋亡的FasL。Jin等^[23]研究显示,RSA患者TSP-1⁺DM(thrombospondin 1, TSP-1)产生的抗炎因子IL-10显著下降,阻断TSP-1信号将导致DM分泌IL-10的功能降低,提示TSP-1介导的DM功能异常是导致RSA的重要原因。Wang等^[24]研究发现,RSA患者DM表达协同刺激分子CD80和CD86显著增加,IL-10显著降低;进一步研究发现,Treg通过分泌转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)调节DM表型,在妊娠免疫耐受的维持中发挥重要作用,因此DM的表型可作为评价母-胎免疫耐受状态与妊娠预后预测的重要指标。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)属于核受体家族,可在DM中表达,参与DM向M2细胞极化与正常妊娠维持,Kolben等^[25]发现,RSA患者DM的PPAR γ 表达减少,M1细胞增多,说明PPAR γ 介导的DM促炎与抗炎因子失衡是RSA发生的重要原因。Li等^[26]研究表明,具有免疫调节特性的间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)可诱导免疫性流产模型与炎症诱导的流产模型小鼠的DM由M1细胞向M2细胞转化,进一步研究发现MSC通过直接接触以及分泌可溶性因子与促炎型M1细胞相互作用,诱导M2细胞极化,诱导免疫耐受发挥免疫调节功能,防止妊娠失败,为RSA的治疗提供新思路。

3.2 DM与PE 滋养细胞侵袭不足,螺旋动脉重建不良致胎盘浅着床是PE的特征性病理变化。Shapouri-Moghaddam等^[27]研究发现,PE小鼠模型中母-胎界面M1细胞表达相对M2细胞增多。同样,Ahn等^[28]研究显示,与正常妊娠相比,PE患者螺旋动脉旁异常激活的M1细胞数量增多,释放TNF- α 、NO、TGF- β 等,抑制滋养细胞入侵。Tim-3/Gal-9信号通路在移植、自身免疫性疾病和母-胎免疫耐受等方面发挥重要作用。既往研究表明,Tim-3与其配体Gal-9结合,可通过调节CD4⁺T细胞与NK细胞表型,诱导母-胎免疫耐受与妊娠维持^[29-30]。Li等^[31]最新研究发现,Tim-3可通过诱导M2细胞极化,在诱导母-胎界面免疫耐受微环境的同时,促进滋养细胞侵袭和子宫螺旋动脉重建,保证妊娠顺利进行;作为负性调节因子Tim-3在PE小鼠DM中表达量下降,Gal-9/Tim-3信号缺陷使巨噬细胞呈M1细胞极化,母-胎界面的免疫耐受被破坏,滋养细胞侵袭功能不全和螺旋动脉重建障碍最终导致PE;当外源给药Gal-9后,活化Tim-3信号逆转DM向M2细胞极化,诱导母-胎免疫耐受,防止PE的发生。

4 结语

综上所述,DM在螺旋动脉重建、组织修复重建及免疫耐受等方面发挥重要作用。巨噬细胞的最大特点是强大的可塑性,即他们能够结合多种微环境信号从而产生特定的生物学功能。近年来,众多学者研究焦点聚集在巨噬细胞极化方面,在肿瘤、自身免疫性疾病及炎症性疾病中,巨噬细胞极化已经成为新的药物靶点,如何有效的调控母-胎界面DM极化,逆转妊娠的不良结局将是我们研究的重点方向。同时作为兼具吞噬和抗原提呈的DM如何与母-胎界面上的滋养细胞、DSC及其他免疫细胞亚群“交互对话”,都是尚未阐明但又值得思考的科研问题。了解DM参与正常妊娠和病理性妊娠的机制,并提出预测和防治病理性妊娠的新思路,将为更多临床患者带来福音。

参考文献

- [1] Liu S, Diao L, Huang C, *et al.* The role of decidual immune cells on human pregnancy [J]. *J Reprod Immunol*, 2017, 124: 44-53.
- [2] Zhang YH, He M, Wang Y, *et al.* Modulators of the balance between M1 and M2 macrophages during pregnancy [J].

- Front Immunol, 2017, 8:120.
- [3] Murray PJ, Allen JE, Biswas SK, *et al.* Macrophage activation and polarization: Nomenclature and experimental guidelines[J]. Immunity, 2014, 41(1): 14-20.
- [4] Sayama S, Nagamatsu T, Schust DJ, *et al.* Human decidual macrophages suppress IFN-gamma production by T cells through costimulatory B7-H1/PD-1 signaling in early pregnancy[J]. J Reprod Immunol, 2013, 100(2): 109-117.
- [5] Vacca P, Cantoni C, Vitale M, *et al.* Crosstalk between decidual NK and CD14⁺ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(26): 11918-11923.
- [6] Sakaguchi S. Regulatory T cells: Key controllers of immunologic self-tolerance[J]. Cell, 2000, 101(5): 455-458.
- [7] Svensson-Arvelund J, Mehta RB, Lindau R, *et al.* The human fetal placenta promotes tolerance against the semiallogeneic fetus by inducing regulatory T cells and homeostatic M2 macrophages [J]. J Immunol, 2015, 194(4): 1534-1544.
- [8] Nair RR, Verma P, Singh K. Immune-endocrine crosstalk during pregnancy[J]. Gen Comp Endocrinol, 2017, 242(242): 18-23.
- [9] Pepe G, Locati M, Della Torre S, *et al.* The estrogen-macrophage interplay in the homeostasis of the female reproductive tract[J]. Hum Reprod Update, 2018, 24(6): 652-672.
- [10] Ngo ST, Steyn FJ, McCombe PA. Gender differences in autoimmune disease[J]. Front Neuroendocrinol, 2014, 35(3): 347-369.
- [11] Furcron AE, Romero R, Plazyo O, *et al.* Vaginal progesterone, but not 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate, has anti-inflammatory effects at the murine maternal-fetal interface [J]. Am J Obstet Gynecol, 2015, 213(6): 1-19.
- [12] Furcron AE, Romero R, Mial TN, *et al.* Human chorionic gonadotropin has anti-inflammatory effects at the maternal-fetal interface and prevents endotoxin-induced preterm birth, but causes dystocia and fetal compromise in mice[J]. Biol Reprod, 2016, 94(6): 136.
- [13] Vince GS, Starkey PM, Jackson MC, *et al.* Flow cytometric characterization of cell-populations in human-pregnancy decidua and isolation of decidual macrophages [J]. J Immunol Methods, 1990, 132(2): 181-189.
- [14] Co EC, Gormley M, Kapidzie M, *et al.* Maternal decidual macrophages inhibit NK cell killing of invasive cytotrophoblasts during human pregnancy[J]. Biol Reprod, 2013, 88(6): 243-268.
- [15] Wang H, He M, Hou Y, *et al.* Role of decidual CD14⁺ macrophages in the homeostasis of maternal-fetal interface and the differentiation capacity of the cells during pregnancy and parturition[J]. Placenta, 2016, 38(1): 76-83.
- [16] Jiang XX, Du MR, Li M, *et al.* Three macrophage subsets are identified in the uterus during early human pregnancy[J]. Cell Mol Immunol, 2018, 15(12): 1027-1037.
- [17] Lash GE, Pitman H, Morgan HL, *et al.* Decidual macrophages; key regulators of vascular remodeling in human pregnancy[J]. JLB, 2016, 100(2): 315-325.
- [18] Hazan A, Smith SD, Jones RL, *et al.* Vascular-leukocyte interactions: Mechanisms of human decidual spiral artery remodeling *in vitro* [J]. Am J Pathol, 2010, 177(2): 1017-1030.
- [19] Douglas NC, Zimmermann RC, Tan QK, *et al.* VEGFR-1 blockade disrupts peri-implantation decidual angiogenesis and macrophage recruitment[J]. Vasc Cell, 2014, 6(1): 16.
- [20] 王京, 谢多, 刘勉, 等. 子宫内膜巨噬细胞通过调控血管内皮生长因子 A 的表达影响胚胎着床[J]. 南方医科大学学报, 2016, 36(7): 909-914
- [21] Muyayalo KP, Li ZH, Mor G, *et al.* Modulatory effect of intravenous immunoglobulin on Th17/Treg cell balance in women with unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. Am J Reprod Immunol, 2018, 80(4): e13018.
- [22] Guenther S, Vrekoussis T, Heublein S, *et al.* Decidual macrophages are significantly increased in spontaneous miscarriages and over-express FasL: A potential role for macrophages in trophoblast apoptosis [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(7): 9069-9080.
- [23] Jin Y, Wang XP, Xiao YS, *et al.* The role of TSP-1 on decidual macrophages involved in the susceptibility to unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. Am J Reprod Immunol, 2009, 61(3): 253-260.
- [24] Wang WJ, Hao CF, Lin QD. Dysregulation of macrophage activation by decidual regulatory T cells in unexplained recurrent miscarriage patients [J]. J Reprod Immunol, 2011, 92(1/2): 97-102.
- [25] Kolben TM, Rogatsch E, Vattai A, *et al.* PPAR γ expression is diminished in macrophages of recurrent miscarriage placentas [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(7): E1872.
- [26] Li YH, Zhang D, Xu L, *et al.* Cell-cell contact with proinflammatory macrophages enhances the immunotherapeutic effect of mesenchymal stem cells in two abortion models [J]. Cell Mol Immunol, 2019, 1(1): 1-13.
- [27] Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, *et al.* Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(9): 6425-6440.
- [28] Ahn H, Park J, Gilman-Sachs A, *et al.* Immunologic characteristics of preeclampsia, a comprehensive review [J]. Am J Reprod Immunol, 2011, 65(4): 377-394.
- [29] Wang SC, Zhu XY, Xu YY, *et al.* 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 [J]. Hum Reprod, 2016, 31(4): 700-711.
- [30] Li YH, Zhang JY, Zhang D, *et al.* Tim-3 signaling in peripheral NK cells promotes maternal-fetal immune tolerance and prevents pregnancy loss [J]. Sci. Signal, 2017, 10(498): 500-520.
- [31] Li ZH, Wang LL, Liu H, *et al.* Galectin-9 alleviates LPS-induced preeclampsia-like impairment in rats via switching decidual macrophage polarization to M2 subtype [J]. Front Immunol, 2019, 9: 3142.