

滋养层细胞表面主要组织相容性复合体 抗原的研究进展*

刘喆 彭景榘** 祝诚

(中国科学院动物研究所, 计划生育生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080)

摘要 胎盘滋养层是直接与母体接触的与母体基因型不同的胎儿组织, 滋养层细胞是否表达主要组织相容性复合体 (MHC) 抗原以及表达何种 MHC 抗原对于妊娠成功与否至关重要. 非经典 MHC I 类抗原发现较晚, 其中 HLA-G 在滋养层细胞表达, 可以保护带有父方同种异体抗原的胎儿免受母体免疫系统的杀伤. 经典 MHC I 类抗原有多种亚型, 不同亚型在滋养层细胞的表达有所不同. MHC II 类抗原在妊娠维持过程中表达极弱, 新近的研究资料表明, 滋养层细胞 CIIITA 在 MHC II 类基因表达调控中起主要作用.

关键词 主要组织相容性复合体 (MHC), 非经典 MHC I 类抗原, 经典 MHC I 类抗原, MHC II 类抗原, 滋养层细胞

学科分类号 Q26

主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 是编码细胞表面糖蛋白的一类多基因家族, 它的两种基因产物——I 型和 II 型 MHC 分子提呈外来抗原给 T 淋巴细胞, 进而激活相应的细胞免疫和 T 细胞依赖性体液免疫, 在移植排斥反应中起着引发受体产生免疫应答的作用.

胎儿具有与母体不同的遗传背景, 但在正常妊娠中, 母体不对胎儿发生免疫排斥反应, 目前一致认为, 妊娠中母胎界面存在特殊的免疫调控机制, 使得母体对胎儿产生免疫耐受, 直接暴露于母体血窦的胎盘滋养层细胞表面 MHC 抗原在局部免疫调控机制中起着极为重要的作用. 本文着重介绍近年来国内外有关胎盘滋养层细胞表面 MHC 抗原及其与母胎界面免疫调控的研究进展.

1 非经典 MHC I 类抗原

MHC I 类抗原有经典和非经典两种类型, 在人类: 人类白细胞抗原 (HLA) - I 类基因家族包括 HLA-A、B、C、E、F、G、H、J 基因位点, 其中 HLA-E、F、G 等位点所编码的分子属于非经典 HLA-I 类分子, 与经典 I 类分子相比, 前者具有多态性程度低以及组织特异性表达等特点.

HLA-E 在静息 T 淋巴细胞中表达较多. 该基因较 HLA-A、B、C 基因出现为早, 在猴和人中相似性较高, 是滋养层细胞系——JAR 细胞表达的唯一 HLA-I 类分子, 据此, 学者认为 HLA-E 属于进化中较为古老的基因, 对于细胞的生存必不可少, 属于管家基因^[1].

HLA-G 特异性表达于滋养层细胞, 关于它的作用下文将详细介绍.

2 经典 MHC I 类抗原在滋养层细胞的表达

目前人们对母胎界面胎盘滋养层细胞表面经典 MHC I 类抗原进行了大量研究, 认为在不同滋养层细胞亚型中, MHC I 类分子的 mRNA 及蛋白抗原含量有所不同; 而对于某一特定的滋养层细胞, MHC I 类分子的 mRNA 及蛋白抗原含量随妊娠时期的变化而改变. 在人类, 妊娠前三个月, 滋养层细胞中经典 HLA-I 类抗原表达高于足月滋养层细胞. 利用免疫组织化学方法、原位杂交方法、RNA 印迹分析以及 RT-PCR 技术发现: 在足月合体滋养层细胞中, 经典 HLA-I 类抗原表达极其微弱; 妊娠前三个月绒毛滋养层细胞中检测到 HLA-C 的转录, 足月绒毛滋养层细胞中 HLA-C 转录子被 HLA-A 和 B 转录子代替^[2], 此外, 在绒毛滋养层细胞中经典 HLA-I 类抗原 β 链未折叠成三级结构, 而是以展开状态存在于内质网中, 分析原因有可能是翻译后的修饰缺陷, 干扰素 γ (IFN γ) 处理后, HLA-I 类抗原 β 链脱离内质网, 以成熟形式出现于细胞表面^[3]. 在羊膜上皮细胞中能检测到所有经典 HLA-I 类抗原存在^[4], 绒毛外滋养层细胞则检测不到经典 HLA-I 类抗原.

* 中国科学院院长基金资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 010-62571277, E-mail: pengjp@panda.ioz.ac.cn

收稿日期: 1999-12-23, 接受日期: 2000-02-29

3 HLA-G 保护胎儿不被排斥

非经典 HLA-I 类抗原中, HLA-G 是母胎界面含量最多的 HLA 蛋白, 现已确认, 早孕胎盘合体滋养层细胞、绒毛细胞滋养层细胞、绒毛外细胞滋养层细胞均表达大量 HLA-G 蛋白, 这类蛋白质对于妊娠的维持至关重要, 它可保护带有父方同种异型抗原的胎儿免受母体免疫系统的杀伤, 具体的保护机制并不十分清楚, 根据目前的研究, 有以下几种推测: a. 在早孕子宫蜕膜淋巴细胞中 NK 细胞约占 80%, 这些蜕膜 NK 细胞表面存在一种针对 HLA-I 类抗原的抑制型受体 (killer-cell inhibitory receptors, KIRs), 可以与两个蛋白酪氨酸磷酸酶 PTP1C、PTP1D 结合而传递抑制信号. HLA-G 是 KIRs 的公共配体, 通过与 KIRs 的结合抑制 NK 细胞的活化^[5]. b. HLA-G 抗原结合了影响细胞生长和分化的细胞因子如胰岛素、表皮生长因子等, 从而抑制了 T 细胞的增殖. c. HLA-G 转录子的多样性使得 HLA-G 可以两种形式存在, 一种是膜结合蛋白, 即以膜上抗原形式存在, 另一种则以可溶性蛋白形式分泌到胞外, 而可溶性 HLA-G 分子可以介导对同种异型抗原应答的 CTL 的凋亡, 从而抑制其杀伤活性. d. HLA-G 抗原多态性程度非常低, 亦即胎儿 HLA-G 蛋白与母体 HLA-G 蛋白的差异小, 因此 HLA-G 抗原虽不是自身成分, 但也难被看成严格的非己成分, 从而降低了母体免疫系统对滋养层的识别能力.

4 MHC II 类抗原与母胎免疫

MHC II 类基因特异性表达于活化 T 细胞及抗原提呈细胞表面. $IFN\gamma$ 可以使许多 MHC II 类抗原阴性细胞表达该类抗原. 许多资料报道, 正常妊娠中胎盘滋养层细胞不表达 MHC II 类抗原, $IFN\gamma$ 也不能诱导其表达, 而习惯性流产妇女胎盘滋养层细胞 MHC II 类抗原表达增多^[6]. 提示: 滋养层细胞 MHC II 类抗原的表达对妊娠极为有害, 正常妊娠滋养层细胞中存在某种特殊调控机制抑制了 MHC II 类抗原的表达.

作者曾以兔为实验材料, 利用 RT-PCR 方法研究了妊娠不同时期, 胎盘滋养层 MHC II 类抗原的表达情况. 结果发现: 在妊娠 18 d, 滋养层细胞低水平表达 MHC II 类抗原, 妊娠 26 d 时表达量呈有意义的升高; 此外, 在妊娠不同时期, 孕兔胎盘滋养层细胞对 $IFN\gamma$ 处理的反应不同, 妊娠 18 d,

$IFN\gamma$ 不能诱导其表达 MHC II 类抗原, 妊娠 26 d 时, 大剂量 $IFN\gamma$ (10 万 U) 显著诱导滋养层表达 MHC II 类抗原. 这一结果提示: 妊娠维持过程中, MHC II 类抗原表达受到抑制, 即使 $IFN\gamma$ 也不能诱导其表达, 分娩时滋养层细胞突然大量表达 MHC II 类抗原, 从而激活母体的免疫系统, 在其他机制的协同作用下, 将胎儿娩出体外.

5 MHC II 类抗原表达的调控机制

在妊娠维持期间, 滋养层细胞中 MHC II 类抗原表达受到抑制. 关于滋养层细胞中 MHC II 类抗原表达的调控机制, 研究表明 MHC II 类基因的调节主要在转录水平. DNA 甲基化是基因表达调控的一种重要方式. 5-氮胞苷是常见的一种 DNA 甲基化抑制剂, 它通过抑制 DNA 甲基化酶, 从而导致 DNA 去甲基化. Yuan 等^[7]和 Gustafsson 等^[8]分别利用 5-氮胞苷处理孕鼠, 结果发现处理孕鼠胎盘 I、II 型 MHC 基因去甲基化, 但采用免疫组化、原位杂交等方法未检测到滋养层 MHC II 类抗原表达有所变化, 由此推测, DNA 甲基化并非滋养层细胞中 MHC II 类基因被抑制的原因.

1998 年, Murphy 等利用 RT-PCR 方法发现: 滋养层细胞中 MHC II 类基因的转录与 C II TA (class II MHC gene transactivator) 的转录密切相关, MHC II 类基因转录, 必有 C II TA 转录子存在; 若 C II TA 转录、表达受阻, 则 MHC II 类基因不转录^[9]. 将带有 C II TA 外源基因的质粒转染至滋养层细胞, 会导致滋养层细胞中 MHC II 类基因部分转录. 哺乳动物滋养层细胞 C II TA 不表达也不能被 $IFN\gamma$ 诱导表达, 说明 C II TA 在滋养层细胞的缺失是 MHC II 类基因不表达的原因之一. C II TA cDNA 于 1993 年利用遗传互补法克隆得到. 1997 年检测到它有两个组成型启动子, 一个存在于树突状细胞, 另一个存在于 B 淋巴细胞中. 同年, 在 $IFN\gamma$ 可诱导细胞中鉴定出 2 个 $IFN\gamma$ 诱导型启动子, 这两个启动子含有一个保守的 IFN 反应因子 IRF 结合区段^[10]. C II TA 启动子的多样性提供了 MHC II 类基因表达调控的另一种可能机制. C II TA 并非 DNA 结合蛋白, 有实验证明: C II TA 可与 MHC II 类基因转录激活因子 RFX₅ 相互作用, 通过激活 RFX₅ 进而激活 MHC II 类基因的转录^[11].

1997 年 Murphy^[12]利用凝胶阻滞法从小鼠滋养层细胞 MHC II 类基因启动子中鉴定出一段负调

控序列 (negative regulatory element, NRE), 这一序列位于转录起始点上游 - 839~ - 828 bp, 5'-TTTTCCAAATTT-3', 它可与核中某一 NRE 结合蛋白结合, 抑制滋养层 MHC II 类基因的转录, 而 NRE 结合蛋白的结构、性质等尚未研究清楚。

综上所述, MHC 在滋养层细胞的表达与否对于正常妊娠至关重要, 是母胎之间免疫调控的重要因素; 经典 MHC I 类抗原在滋养层细胞有选择性表达; 非经典 MHC I 类抗原在滋养层细胞表达且其表达可保护胎儿不被母体排斥; MHC II 类抗原在妊娠维持过程中不表达, 若表达会导致流产。

参 考 文 献

- Boucraut J, Guillaudoux T. HLA-E is the only class I gene that escapes CpG methylation and is transcriptionally active in the trophoblast derived human cell line JAR. *Immunogenetics*, 1993, **38** (2): 117~ 130
- Guillaudoux T, Rodriguez A M. Methylation status and transcriptional expression of the MHC class I loci in human trophoblast cells from term placenta. *J Immunol*, 1995, **154** (7): 3283~ 3299
- Rodriguez A M, Mallet V. Interferon γ rescues HLA class I cell surface expression in term villous trophoblast cells by inducing synthesis of TAP proteins. *Hum Immunol*, 1996, **47** (1): 144
- Hammer A, Hutter H. Amnion epithelial cells, in contrast to trophoblast cells, express all classical HLA class I molecules together with HLA-G. *Am J Reprod Immunol*, 1997, **37** (2): 161~ 171
- Colonna M, Samaridis J, Cella M. Human myelomonocytic cells express an inhibitory receptor for classical and nonclassical MHC class I molecules. *J Immunol*, 1998, **160** (1): 3096~ 3100
- Mach B, Steimle V. Regulation of MHC class II genes: Lessons from a disease. *Ann Rev Immunol*, 1996, **14** (3): 301~ 331
- Yuan X-J, Dixon-McCarthy B. Role of methylation in placental major histocompatibility complex antigen expression and fetal loss. *Biol Reprod*, 1994, **51** (5): 831~ 842
- Gustafsson E, Arvola M, Brunsburg U, *et al.* Lack of detectable major histocompatibility complex class II A β -chain messenger ribonucleic acid in placentas of interferon γ and 5-azacytidine-treated mice. *Biol Reprod*, 1997, **57** (4): 715~ 722
- Shawn P, Thomas B. Absence of MHC class II antigen expression in trophoblast cells results from a lack of class II transactivator (C II TA) gene expression. *Mol Reprod Dev*, 1998, **51** (1): 1~ 12
- Muhlenthaler-Mottet A, Otten L A, *et al.* Expression of MHC class II molecules in different cellular and functional compartments is controlled by differential usage of multiple promoters of the transactivator C II TA. *EMBO J*, 1997, **16** (10): 2851~ 2860
- Scholl T, Mahanta S K, Strominger J L. Specific complex formation between the type II bare lymphocyte syndrome-associated transactivators C II TA and RFX5. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94** (12): 6330~ 6334
- Murphy S P. Repression of MHC class II gene transcript in trophoblast cells by novel single-stranded DNA binding proteins. *Mol Reprod Dev*, 1997, **47** (4): 390~ 403

Research Progress on Major Histocompatibility Complex Expressed by Trophoblast*

LIU Zhe, PENG Jing-Pian**, ZHU Cheng

(The State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, The Chinese Academy of Science, Beijing 100080, China)

Abstract The trophoblast is fetal-derived and in direct contact with maternal tissues. The expression of the various types of MHC antigen in trophoblast cells is very important for successful pregnancy. Among nonclassical MHC class I antigens, HLA-G is expressed specifically on cytotrophoblast cells and its expression protects the fetal from maternal immune attack. The expression of the distinct subtypes of classical MHC class I antigen is different in different subtypes of trophoblast cells. The expression of MHC class II antigen is inhibited in trophoblast during pregnancy. It is suggested that C II TA plays an important role in regulation of MHC class II gene expression.

Key words major histocompatibility complex (MHC), nonclassical MHC class I antigen, classical MHC class I antigen, MHC class II antigen, trophoblast cells

* This work was supported by fund of president of Chinese Academy Sciences.

** Corresponding author. Tel: 86-10-62571277, E-mail: pengjp@panda.ioz.ac.cn

Received: December 23, 1999 Accepted: February 29, 2000