

小鼠外周血单个核细胞对囊胚的免疫应答反应探究

滕亚迪^{1,2}, 刘子涵^{1,2}, 马梅香^{1,2}, 安礼友^{1,2}

(1.新疆大学生命科学与技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830017)

(2.新疆大学新疆生物资源基因工程重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830017)

[摘要] 精卵结合形成受精卵, 胚胎经过发育形成囊胚, 囊胚孵化后与子宫互动引发着床。已有研究显示胚胎着床是一个炎症过程, 基因上的异质性决定了胚胎会引发子宫的免疫反应。但是, 目前对胚胎的免疫特性的了解还很少。为解析胚胎与免疫细胞可能发生的免疫互作, 本研究以外周血单个核细胞(PBMC)为细胞模型, 评价小鼠囊胚对免疫细胞的免疫学作用。分别将 10、20 枚小鼠囊胚与 PBMC 共培养 24 h, 同时以脂多糖(LPS)处理为对照。研究结果显示, 胚胎可诱导 PBMC 增殖, 并显著降低 T 细胞亚群比例($P<0.05$); LPS 处理 PBMC 引发先天免疫细胞 NK、单核细胞增殖, 胚胎的加入进一步增加了 NK、单核细胞增殖($P<0.05$)。对培养液中的细胞因子检测发现, PBMC 与胚胎共培养后, 促炎分子 IL-6 和抑炎分子 IL-10 均显著增加($P<0.05$); 值得注意的是胚胎能下调 LPS 诱导的 TNF- α 表达($P<0.05$)。结果表明, 囊胚对 PBMC 亚群具有调控作用, 能增强 LPS 引发的先天免疫反应, 可以调控细胞因子 IL-6、TNF- α 和 IL-10 的分泌。研究结果提示小鼠囊胚可能不仅能引起子宫内膜发生炎症反应, 而且能对子宫免疫细胞功能进行动态调节。研究为进一步解析着床过程中的母胎免疫识别提供了数据参考。

[关键词] 囊胚, 单个核细胞, 共培养, 免疫应答, 细胞因子

[中图分类号] Q813.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-1292(2024)02-0059-08

Immunological Behavior of Peripheral Blood Mononuclear Cells on Mouse Blastocyst

Teng Yadi^{1,2}, Liu Zihan^{1,2}, Ma Meixiang^{1,2}, An Liyou^{1,2}

(1.School of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830017, China)

(2.Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, Xinjiang University, Urumqi 830017, China)

Abstract: The egg is fertilized a sperm forming a zygote, and then develops to form a blastocyst with series developmental events. Blastocyst hatches out of ZP and interacts with the uterus initiating implantation. It has been shown that embryo implantation is an inflammatory process. The genetic heterogeneity of the embryo determines that the embryo will trigger an immune response in the uterus. However, the immunological properties of the embryo have yet to be resolved. To investigate the possible immune interaction between embryos and immune cells, we use peripheral blood mononuclear cells(PBMC) to evaluate the immunological effects of mouse blastocysts. 10 and 20 mouse blastocysts are co-cultured with PBMC for 24 hours, and lipopolysaccharide(LPS) treatment is used as a control respectively. Results show that embryos induce PBMC proliferation, in which the proportion of T cells is reduced significantly ($P<0.05$). When treated by LPS, NK cells and monocytes which are innate immune cells, PBMC are induced in proliferation. Treating both LPS and embryos, NK cells and monocytes are further proliferated ($P<0.05$). The cytokines in medium is analyzed by ELISA. Data show that the pro-inflammatory molecule IL-6 and the anti-inflammatory molecule IL-10 are significantly increased after PBMC are cultivated with embryos ($P<0.05$). Interestingly, embryos can down-regulate the expression of LPS-induced TNF- α ($P<0.05$). Results show that blastocysts have a regulatory effect on PBMC subpopulation, enhance LPS-triggered innate immune response, and regulate the secretion of cytokines IL-6, TNF- α and IL-10. Our findings imply that mouse blastocysts do not only cause an inflammatory response in the endometrium, but also have a dynamic regulatory effect on uterine immune cells. This study provides insights for further analysis of uterus-embryo immunological interaction during implantation.

Key words: blastocysts, mononuclear cells, co-culture, immune response, cytokine

收稿日期: 2023-12-19.

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金杰出青年科学基金项目(2022D01E09).

通讯作者: 安礼友, 博士, 副教授, 研究方向: 胚胎发育与生殖免疫. E-mail: anliyou@aliyun.com

当前,辅助生殖技术使得动物的妊娠率及出生率都有了显著提高,但很难实现更高效率的妊娠率,这归因于对胚胎质量、子宫内膜容受性以及胚胎-子宫内膜相互作用等方面的研究还不充分,有待实现技术突破^[1]。着床失败或妊娠丢失是影响繁殖性能的最重要因素之一^[2]。大部分妊娠损失发生在着床前,奶牛有高达50%的妊娠丢失发生在妊娠的前四周^[3],此时发育中的胚胎正在迅速生长,并向母体系统发出互作分子信号^[4],母体免疫系统通过识别这些信号在妊娠早期积极监测胚胎发育,形成免疫耐受环境,允许胎盘侵入子宫内膜基质。但是,妊娠中胚胎-子宫界面中调控因子的时空表达和功能的任何失调,都可能导致着床前或着床后的胚胎发育停止和死亡^[5]。囊胚是胚胎着床前的关键发育阶段,会引起母胎界面的子宫上皮发生识别反应^[6],这个过程涉及许多复杂且精细的调控^[7]。

在正常妊娠中,母体需要在对半同种异体胎儿的耐受性和对微生物感染的保护之间建立微妙的平衡^[8],因此囊胚植入不仅是一系列内分泌信号转导的过程,还是母体免疫系统通过动态变化建立复杂平衡的过程,即母胎关系是一种独特的免疫学现象^[9-10],特定类型的免疫细胞、免疫分子在植入前与植入后胚胎的发育过程中发挥重要作用^[11],或为母体识别、胚胎着床做准备。哺乳动物的免疫系统可大致分为先天性免疫和适应性免疫两大类,子宫内免疫环境的紊乱是引起着床失败和妊娠并发症的重要因素^[12],已有研究表明,生长中的胎儿依赖于先天性免疫反应的调节^[13],但目前还不清楚囊胚期胚胎如何应对子宫内膜的免疫和炎症挑战,子宫内膜免疫系统在着床早期阶段如何主动进行适应性调节。本研究通过体外免疫实验,初步探索囊胚对白细胞的免疫学作用,研究免疫细胞的亚群变化和功能反应。此研究有助于更好地理解胚胎着床中免疫功能诱导和调节的复杂变化,为进一步研究胚胎-母体互作提供数据参考。

1 材料和方法

1.1 研究材料

1.1.1 实验动物

4-5周龄ICR小鼠购于新疆医科大学。饲养于新疆大学标准的温控和光控动物饲养室,所有动物实验均经新疆大学实验动物伦理委员会批准(XJUAEE-2022-09),并在新疆大学生命科学与技术学院动物福利与使用委员会指导下进行。

1.1.2 实验药品与试剂

RPMI-1640培养基购于Gibco;KSOM培养基和脂多糖(LPS)购于Sigma;孕马血清促性腺激素(PMSG)、人绒毛膜促性腺激素(HCG)购于宁波二厂;胎牛血清(FBS)、双抗(100 μg/mL链霉素、100 μg/mL青霉素)购于Hyclone;磷酸盐缓冲液(PBS)购于Procell;PBMC分离试剂盒购于天津灏洋华科;流式细胞术抗体CD16/32、CD45-ER780、CD3-EV450、CD19-APC、CD4-PE、CD11b-PC5.5、CD49b-PC7、CD11c-FITC和ELISA试剂盒IL-6、IL-10、TNF-α购于Elabscience。

1.1.3 实验仪器

低温高速离心机、CO₂恒温培养箱购于Thermo;流式细胞仪购于BD;体视显微镜购于Motic;酶标仪购于Bio-Rad。

1.2 研究方法

1.2.1 小鼠的超数排卵

取10只6-8周龄ICR雌鼠腹腔注射10 IU孕马血清促性腺激素(pregnant mare serum gonadotropin, PMSG),46 h后注射相同剂量人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG),随即与12周龄以上的可育ICR雄鼠1:1合笼,次日上午8点检栓,见有白色或淡黄色阴道栓时,表明已交配,记为妊娠天数0.5 d。

1.2.2 囊胚的获取

妊娠天数3.5 d时,采用脊椎脱臼法处死雌鼠,在无菌条件下取出子宫,转移至无菌细胞培养皿上。在显微镜下,用200 μL M₂培养液冲洗子宫以收集胚胎,挑选发育良好的囊胚放入预平衡的封有石蜡油的KSOM微滴中,37℃备用。

1.2.3 PBMC的分离

将2-3只健康ICR小鼠眼球取血0.5~2.0 mL,采用PBMC分离试剂盒分离单个核细胞,清洗后用

RPMI-1640 培养基(含 10% FBS 和 1%的青霉素-链霉素双抗)重悬细胞. 用血球计数板计数.

1.2.4 囊胚与 PBMC 共培养

取 PBMC 按照 2×10^4 个/孔(100 μ L)接种于 96 孔板中. 实验分组与处理如下:Control 组为阴性对照组,不接种囊胚;10 组接种 10 个囊胚;20 组接种 20 个囊胚;LPS 组为阳性对照组,加入 LPS;L10 组加入 LPS 并接种 10 个囊胚;L20 组加入 LPS 并接种 20 个囊胚. 每组设 3 个复孔,细胞于 37 $^{\circ}$ C,5% CO_2 的饱和空气湿度环境中与单个核细胞共培养 24 h,分别取培养细胞流式细胞术分析,取培养液上清 ELISA 分析.

1.2.5 流式细胞术检测白细胞亚群变化

共培养 24 h 后,从培养箱中取出 96 孔板,将培养液吸入 1.5 mL EP 管中,加入 400 μ L PBS,1 200 r/min 离心 10 min,吸出上清备用. EP 管加入 0.5 μ L CD16/32 封闭抗体,室温孵育 15 min 后,加入抗体 CD45-ER780、CD3-EV450、CD19-APC、CD4-PE、CD11b-PC5.5、CD49b-PC7、CD11c-FITC 各 1 μ L,混匀后常温避光孵育 15 min. 加入 1 mL PBS 混匀,1 200 r/min、4 $^{\circ}$ C 离心 10 min,弃上清. 用 200 μ L PBS 重悬细胞,用流式细胞仪检测 PBMC.

1.2.6 ELISA 检测细胞因子

用 ELISA 试剂盒检测培养上清液中 IL-6、IL-10 和 TNF- α 水平. ELISA 实验方法参照试剂盒说明书进行操作,实验结果通过使用酶标仪测量 450 nm 处的 OD 值得到. 根据标准曲线计算细胞因子浓度.

1.2.7 统计学分析

实验数据采用 IBM SPSS Statistics 20 进行处理和分析,采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据作图,采用 One-way ANOVA 对处理组及对照组进行比较分析, $P < 0.05$ 表示有显著性差异. 流式细胞术数据使用 FlowJo 10 软件进行分析.

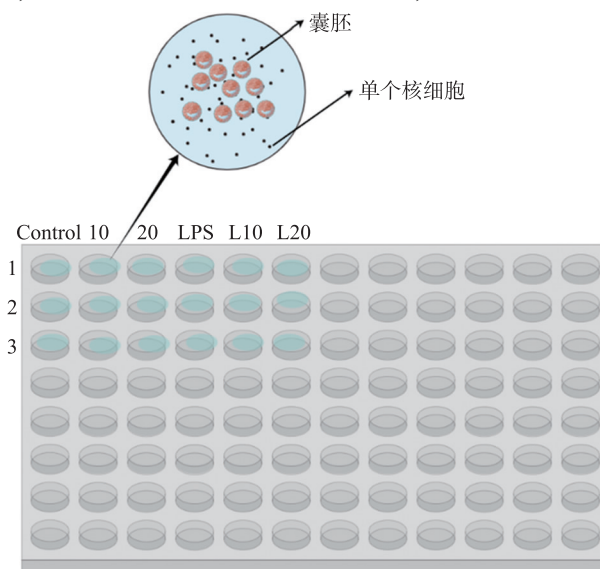
2 实验结果

2.1 小鼠囊胚的获取

超数排卵合笼母鼠妊娠天数 3.5 d 时,取囊胚培养于 KSOM 微滴. 在体视显微镜下,从 KSOM 微滴中选取 180 枚发育良好的囊胚,分为 4 组,即 10、20、L10、L20 组,分别与 PBMC 或 PBMC+LPS 共培养 24 h (如图 1 所示). 通过将囊胚与 PBMC 共培养来探究囊胚期胚胎对免疫细胞的细胞数量、亚群变化、细胞因子分泌的影响.

2.2 囊胚对外周血白细胞亚群的调控作用

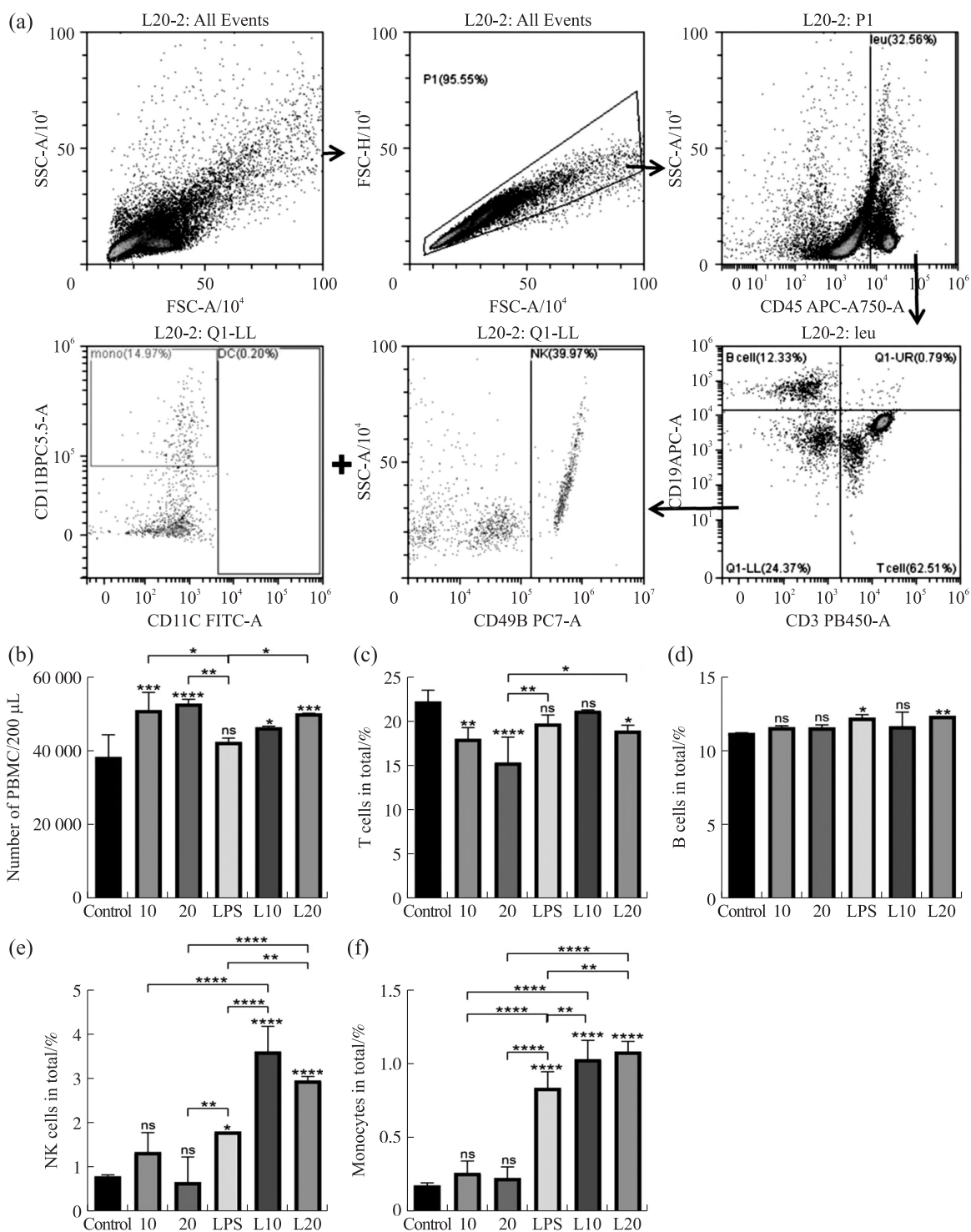
为探究囊胚对 PBMC 中白细胞亚群的调控作用,将囊胚与 PBMC 共培养 24 h 后,通过流式细胞术检测 PBMC 的数量变化(CD45^+)以及 T 细胞($\text{CD3}^+\text{CD19}^-$)、B 细胞($\text{CD19}^+\text{CD3}^-$)、NK 细胞(CD49b^+)、单核细胞(Monocyte, $\text{CD11b}^+\text{CD11c}^-$)的比例变化情况,如图 2(a)所示. 结果显示,10 个囊胚与 PBMC 共培养 24 h 后 PBMC 数量为 50 799,20 个囊胚共培养组与之相比数量无显著差异(10 vs 20 = 50 799 vs 52 511, ns);与 Control 组相比(Control vs 10 = 39 064 vs 50 799, $P < 0.01$),囊胚处理组的 PBMC 数量显著升高. 与对照相比,T 细胞在 10 组(Control vs 10 = 22.25% vs 18.01%, $P < 0.01$)、20 组(Control vs 20 = 22.26% vs 15.33%, $P < 0.000 1$)显著下降,虽然 20 组比 10 组下降更多,但无统计学差异(见图 2(b)、(c)). B 细胞在所有实验组中比例无明显变化(见图 2(d)). 数据显示,囊胚不能直接显著影响 NK 和单核细胞(见图 2(e)、(f)).



注:本图采用 Figdraw 软件绘制

图 1 囊胚与单个核细胞共培养模式图

Fig. 1 Co-culture pattern diagram of blastocysts and mononuclear cells



图中, (a) 为以 L20 组为例的流式分群逻辑, (b)、(c)、(d)、(e)、(f) 分别为共培养 24 h 后不同处理组的单个核细胞数量、T 细胞、B 细胞、NK 细胞和单核细胞比例的改变。

相比于阴性对照组 (Control), * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ (ANOVA)。

图 2 流式细胞术分析胚胎对 PBMC 细胞亚群的免疫作用

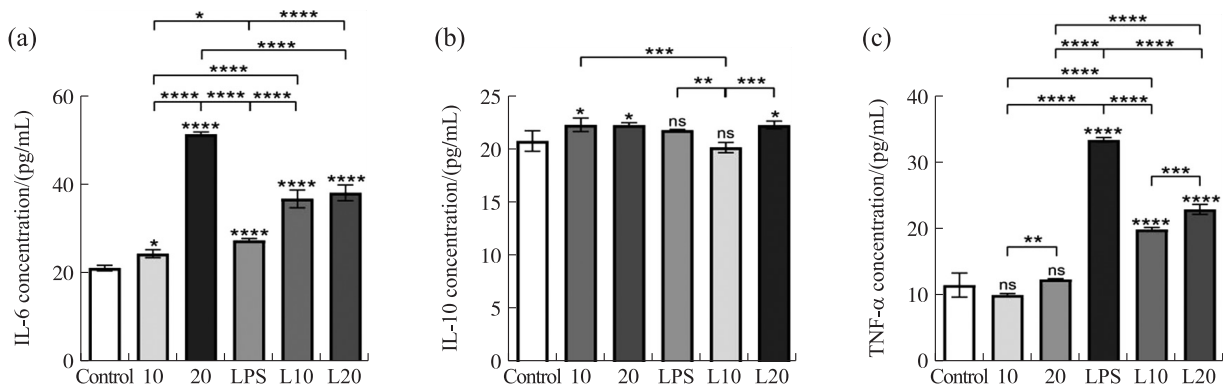
Fig. 2 The immune effect of embryos on PBMC cell subsets analyzed by flow cytometry

LPS 是诱导产生炎症反应的强烈免疫反应原, LPS 处理 PBMC 可引起 NK、单核细胞增殖 (图 2(e), Control vs LPS = 0.79% vs 1.80%, $P < 0.05$; 图 2(f), Control vs LPS = 0.18% vs 0.84%, $P < 0.0001$)。仅囊胚与 PBMC 共培养时, NK 和单核细胞比例均无显著变化; 值得注意的是, LPS+囊胚共培养 L10 组、L20 组与 LPS 组相比, NK 和单核细胞比例均进一步显著增加 (图 2(e), LPS vs L10 = 1.80% vs 3.61%, $P < 0.0001$, LPS vs L20 = 1.80% vs 2.95%, $P < 0.01$; 图 2(f), LPS vs L10 = 0.83% vs 1.03%, $P < 0.01$, LPS vs L20 = 0.83%

vs 1.08%, $P < 0.01$). 实验结果表明, PBMC 对囊胚期胚胎的反应, 后天免疫以抑制为主, 先天免疫不活跃, 但囊胚能上调 PBMC 对 LPS 的先天免疫反应.

2.3 囊胚对 PBMC 功能的调控作用

囊胚与 PBMC 共培养 24 h 后, 通过 ELISA 检测培养液中细胞因子 IL-6、TNF- α 及 IL-10 的分泌情况, 如图 3 所示. 检测结果显示, 囊胚处理组 PBMC 分泌 IL-6 的量显著升高 (Control vs 10 = 21.04 pg/mL vs 24.25 pg/mL, $P < 0.05$; Control vs 20 = 21.04 pg/mL vs 51.32 pg/mL, $P < 0.0001$), 且随着囊胚数量增多 IL-6 增加越多 (10 vs 20 = 24.25 pg/mL vs 51.32 pg/mL, $P < 0.0001$); 囊胚与 LPS 一起共培养, IL-6 的含量显著高于 LPS 单独与 PBMC 共培养时的含量 (见图 3(a), LPS vs L10 = 27.29 pg/mL vs 31.69 pg/mL, $P < 0.0001$). 与 Control 组相比, 与囊胚共培养组的 IL-10 分泌量也显著增高 (见图 3(b), Control vs 10 = 20.71 pg/mL vs 22.21 pg/mL, $P < 0.05$). 实验还发现, 囊胚不能促进 TNF- α 的分泌, 但可以抑制 LPS 诱导的 TNF- α 分泌 (见图 3(c), LPS vs L10 = 33.39 pg/mL vs 19.92 pg/mL, $P < 0.0001$; LPS vs L20 = 33.39 pg/mL vs 22.92 pg/mL, $P < 0.0001$). 从以上数据可见, 囊胚对 PBMC 功能呈现差异化调控作用.



相比于阴性对照组 (Control), * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ (ANOVA).

图 3 囊胚对 PBMC 细胞因子的调控作用

Fig. 3 Regulatory effect of blastocysts on PBMC cytokines

3 分析与讨论

本研究将囊胚与 PBMC 共培养 24 h, 发现囊胚对 PBMC 的增殖、亚群变化以及细胞功能具有调控作用, 且这种调控作用具有特殊性, 即后天免疫以抑制为主, 先天免疫不活跃, 但能上调 PBMC 对 LPS 的先天免疫反应, 对功能性细胞因子也呈现差异化的调节作用.

本文实验研究在囊胚的刺激下 (24 h 处理时间, 模拟围着床期囊胚在子宫腔中与游离的免疫细胞可能发生互作的时间窗口) 各类外周血白细胞的应答情况, 因此只需关注到各类白细胞的比例变化. 因共培养的时间较短 (24 h), 增加的细胞中有较大数量细胞未被 CD45 识别, 可能是因为细胞正处于增殖期或诱导转分化前期, 细胞 Markers 未被完全展示. 因此, T 细胞、B 细胞、单核细胞和 NK 细胞均只占细胞总群较少比例, 这也是文章的局限性之一. 数据显示, 与囊胚共培养后 PBMC 数量显著增加, 适应性免疫细胞 T 细胞比例下降, B 细胞比例无明显变化; 而在 LPS 诱发先天性免疫发生后, NK、单核细胞比例显著升高, 且在受到囊胚的作用时会进一步升高, 数据表明囊胚会抑制适应性/后天性免疫反应的发生, 而增强先天性免疫反应. 体外培养过程中, 植入前胚胎、子宫内膜细胞以及被募集到植入部位的免疫细胞会分泌一些细胞因子, 如 IL-6、IL-10 和 TNF- α ^[14-15], 这些细胞因子的异常表达与胚胎植入失败和反复流产有关^[16]. 本文研究表明, 囊胚可同时诱导产生后天性免疫的促炎性细胞因子 IL-6 和抑炎性细胞因子 IL-10, 但对促炎性细胞因子 TNF- α 呈现截然不同的反应, 囊胚虽不直接抑制 TNF- α 的分泌, 但会抑制 LPS 诱导的 TNF- α 的大量分泌. 由数据可见, 胚胎对 PBMC 细胞因子分泌呈协调控制性. 本研究初步探索了胚胎作为半抗原的特殊免疫性质, 探明了囊胚期胚胎可能引发白细胞发生的免疫反应, 提示囊胚在子宫环境可能发挥免疫精细调控作用, 暗示了着床中母胎免疫互作发挥着重大作用.

在胚胎着床期间, 胚胎着床局部呈免疫抑制, 先天性免疫可能起到保护子宫免受感染的作用, 且囊胚

能够协助上调先天性免疫反应. Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)家族已被确定为主要的病原体识别受体家族^[17],表达于NK细胞、单核细胞等先天免疫细胞上,介导先天免疫反应. 小鼠妊娠早期,母体受LPS感染已被证明会抑制胚胎着床^[18],TLR4能够识别LPS,激发先天性免疫反应并产生IL-6、TNF- α 和IL-1 β ,抑制LPS的TLR4途径,对胚胎发育、着床有不良影响^[19]. 本文实验发现,在LPS刺激下,PBMC中NK细胞和单核细胞的比例显著增高,当囊胚和LPS与PBMC共同培养时,NK细胞和单核细胞比例比仅LPS刺激时更高,表明囊胚能够协助先天性免疫反应,防止周围环境中的有害微生物影响胚胎发育,维持胚胎早期发育环境的稳定,促使胚胎成功着床.

囊胚诱导雌性生殖系统适度的免疫反应是母胎信息交互的重要形式,以往的研究中认为囊胚作为一种半抗原,其成功着床的必要条件是妊娠初期的免疫调节和耐受性诱导^[20],即认为在怀孕期间,促炎性细胞因子会减少,抗炎性细胞因子会增加. 但本文通过对抗炎性细胞因子IL-10及促炎性细胞因子IL-6、TNF- α 的研究发现,在囊胚植入过程中炎症细胞因子的变化不是简单的偏倚,促炎和抗炎细胞因子是动态调节、协调控制的,与以往研究有所差异^[21]. 已有研究证明IL-6在胚胎的发育和植入中发挥着重要作用,Cheng等^[22]通过实验发现添加IL-6的反义结合肽后,囊胚的形成率和植入率都显著降低,而在富含IL-6的培养液中,囊胚率也较高^[23]. 本文研究发现随着囊胚数量的增多,培养液中IL-6的浓度显著升高,且囊胚还可以上调LPS处理下的IL-6分泌量,进一步证明了促炎性细胞因子在囊胚发育过程中也起到重要作用. TNF- α 是一种强大的多功能细胞因子,已被证明高水平的TNF- α 会抑制小鼠胚胎生长和妊娠发展^[24],LPS会刺激巨噬细胞产生TNF- α 而造成妊娠异常引起流产^[25]. 本文实验结果显示,囊胚对于TNF- α 的分泌没有显著的影响,但会降低LPS诱导的TNF- α 表达,表明囊胚对不利细胞因子的异常增多有主动调控作用,能够维持胚胎发育与着床稳定发生. 炎症的作用对于妊娠建立与维持是重要的,然而,异常和持续的炎症、缺乏产生抗炎细胞因子细胞可导致多种妊娠障碍,IL-10在抑制过度炎症方面发挥着重要作用^[26]. IL-10在妊娠的前3个月分泌量增加^[27],能够促进胎盘形成,调节滋养细胞的侵袭和分化,发挥多种免疫调控功能. 本文实验结果显示,囊胚可显著提高IL-10的分泌量,也证明了抗炎性细胞因子IL-10在小鼠囊胚期发挥着重要作用. 除去IL-6、IL-10、TNF- α 外,仍有许多关键细胞因子影响着胚胎着床与子宫内膜容受性. Robb等^[28]的研究发现,IL-11受体 α 链无效突变的雌性小鼠具有生育能力缺陷,IL-11在正常胚胎着床过程中起着重要作用. 而IL-11具有抗炎活性^[29]. 在小鼠中,植入前给予IL-1受体拮抗剂可以显著减少植入胚胎数量^[30],这也表明促炎性细胞因子IL-1^[31]在胚胎植入中发挥了重要作用. 还有IL-1 β 、LIF等细胞因子在植入过程以进化保守的方式上调^[32],在囊胚的着床过程中发挥重要作用. 细胞因子网络的正常功能对形成稳定的生理内环境至关重要,而细胞因子失调与一些妊娠并发症相关^[33],本文实验证明在囊胚孵化期间,促炎和抗炎细胞因子环境是动态调节的,即妊娠初期免疫细胞在母胎界面并不是简单地被抑制,成功的妊娠也依赖于活跃反应的免疫系统,其可以在必要时保护母亲和胎儿免受环境的损害^[34].

正常着床过程是促炎和抗炎免疫反应之间及时调节的局部变化的结果,即怀孕不是一个单一的事件^[35],实际上有3个不同的免疫阶段,第一阶段为促炎阶段,炎症反应确保子宫的充分修复和死亡细胞的清除,促使胚胎着床和胎盘形成;第二阶段是抗炎阶段,这一时期是胎儿生长发育的时期;第三阶段是促炎阶段,炎症反应诱导分娩的起始^[36-37]. 每个阶段虽均具有独特的免疫环境,但都不是单一的调节过程,妊娠期间的免疫环境是动态的、反应灵敏的、调节的,而不是单纯抑制性或促进性的. 本研究通过体外实验发现了囊胚对外周血白细胞的亚群变化以及促炎、抗炎细胞因子分泌的协调控制,提示在着床前母胎互作已涉及免疫调控,对后续着床进程发挥着重大的影响,本研究为进一步解析着床前母胎免疫互作提供了数据参考.

4 展望

母体对于侵入的半抗原囊胚的接受性,使作者联想到对癌症微转移的继发器官部位的接受性. 事实上,妊娠在增殖、侵袭和免疫特权方面与癌细胞转移有相似之处. 妊娠和肿瘤形成均为复杂的生理和病理过程^[38],目前迫切需要开发针对癌症各个方面的治疗方法:恶性增殖、侵袭、血管生成拟态、血管生成和免疫特权^[39],因此研究妊娠期间免疫反应是如何协调发生的,有助于发现妊娠和肿瘤形成两种系统的相似性,可以帮助未来的研究和设计肿瘤与妊娠并发症治疗的新颖和创新的治疗方法.

[参考文献] (References)

- [1] WU H M, CHEN L H, HSU L T, et al. Immune tolerance of embryo implantation and pregnancy: The role of human decidual stromal cell- and embryonic-derived extracellular vesicles [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23 (21) : 13382.
- [2] WILTBANK M C, BAEZ G M, GARCIA-GUERRA A, et al. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows [J]. *Theriogenology*, 2016, 86 (1) : 239–253.
- [3] ROCHA C C, DA SILVEIRA J C, FORDE N, et al. Conceptus-modulated innate immune function during early pregnancy in ruminants: A review [J]. *Animal Reproduction*, 2021, 18 (1) : e20200048.
- [4] WALKER C G, MEIER S, LITTLEJOHN M D, et al. Modulation of the maternal immune system by the pre-implantation embryo [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11 (1) : 474.
- [5] SESHAGIRI P B, VANI V, MADHULIKA P. Cytokines and blastocyst hatching [J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2016, 75 (3) : 208–217.
- [6] PARIAS B C, REESE J, DAS S K, et al. Deciphering the cross-talk of implantation: Advances and challenges [J]. *Science*, 2002, 296 (5576) : 2185–2188.
- [7] BIDARIMATH M, KHALAJ K, WESSELS J M, et al. MicroRNAs, immune cells and pregnancy [J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2014, 11 (6) : 538–547.
- [8] TRUE H, BLANTON M, SURESHCHANDRA S, et al. Monocytes and macrophages in pregnancy: The good, the bad, and the ugly [J]. *Immunological Reviews*, 2022, 308 (1) : 77–92.
- [9] BLOIS S M, KAMMERER U, ALBA SOTO C, et al. Dendritic cells: Key to fetal tolerance? [J]. *Biology of Reproduction*, 2007, 77 (4) : 590–598.
- [10] YOSHINAGA K. Review of factors essential for blastocyst implantation for their modulating effects on the maternal immune system [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2008, 19 (2) : 161–169.
- [11] LEE J, KIM J, KIM S H, et al. Effects of coculture with immune cells on the developmental competence of mouse preimplantation embryos in vitro and in utero [J]. *Reproductive Sciences*, 2015, 22 (10) : 1252–1261.
- [12] GUO Y L. The underdeveloped innate immunity in embryonic stem cells: The molecular basis and biological perspectives from early embryogenesis [J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2019, 81 (2) : e13089.
- [13] HUSSAIN T, MURTAZA G, KALHORO D H, et al. Understanding the immune system in fetal protection and maternal infections during pregnancy [J]. *Journal of Immunology Research*, 2022, 2022 : 7567708.
- [14] ZHONG H X, SUN Q, CHEN P L, et al. Detection of IL-6, IL-10, and TNF- α level in human single-blastocyst conditioned medium using ultrasensitive single molecule array platform and its relationship with embryo quality and implantation: A pilot study [J]. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 2020, 37 (7) : 1695–1702.
- [15] DEKEL N, GNAINSKY Y, GRANOT I, et al. Inflammation and implantation [J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2010, 63 (1) : 17–21.
- [16] HUA F, LI C H, WANG H, et al. Relationship between expression of COX-2, TNF- α , IL-6 and autoimmune-type recurrent miscarriage [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2013, 6 (12) : 990–994.
- [17] LEMAITRE B, NICOLAS E, MICHAUT L, et al. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults [J]. *Cell*, 1996, 86 (6) : 973–983.
- [18] JAISWAL Y K, CHATURVEDI M M, DEB K. Effect of bacterial endotoxins on superovulated mouse embryos in vivo: Is CSF-1 involved in endotoxin-induced pregnancy loss? [J]. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2006, 2006 : 32050.
- [19] WILLIAMS C L, TEELING J L, PERRY V H, et al. Mouse maternal systemic inflammation at the zygote stage causes blunted cytokine responsiveness in lipopolysaccharide-challenged adult offspring [J]. *BMC Biology*, 2011, 9 : 49.
- [20] MOLD J E, MICHAËLSSON J, BURT T D, et al. Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero [J]. *Science*, 2008, 322 (5907) : 1562–1565.
- [21] MEDAWAR P B. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates [J]. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 1953, 7 : 320–338.
- [22] CHENG T C, HUANG C C, CHEN C I, et al. Leukemia inhibitory factor antisense oligonucleotide inhibits the development of murine embryos at preimplantation stages [J]. *Biology of Reproduction*, 2004, 70 (5) : 1270–1276.
- [23] DUNGLISON G F, BARLOW D H, SARGENT I L. Leukaemia inhibitory factor significantly enhances the blastocyst formation

- rates of human embryos cultured in serum-free medium[J]. *Human Reproduction*, 1996, 11(1): 191–196.
- [24] SAITO S, MIYAZAKI S, SASAKI Y. Th1/Th2 balance of the implantation site in humans[M]//MOR G. *Immunology of Pregnancy*. New York, USA: Springer, 2006: 37–48.
- [25] BEUTLER B, CERAMI A. Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the biological coin[J]. *Nature*, 1986, 320(6063): 584–588.
- [26] CHATTERJEE P, CHIASSON V L, BOUNDS K R, et al. Regulation of the anti-inflammatory cytokines interleukin-4 and interleukin-10 during pregnancy[J]. *Frontiers in Immunology*, 2014, 5: 253.
- [27] HANNA N, HANNA I, HLEB M, et al. Gestational age-dependent expression of IL-10 and its receptor in human placental tissues and isolated cytotrophoblasts[J]. *Journal of Immunology*, 2000, 164(11): 5721–5728.
- [28] ROBB L, LI R, HARTLEY L, NANDURKAR H H, et al. Infertility in female mice lacking the receptor for interleukin 11 is due to a defective uterine response to implantation[J]. *Nature Medicine*, 1998, 4(3): 303–308.
- [29] SANDS B E, BANK S, SNINSKY C A, et al. Preliminary evaluation of safety and activity of recombinant human interleukin 11 in patients with active Crohn's disease[J]. *Gastroenterology*, 1999, 117: 58–64.
- [30] SIMON C, CABALLERO-CAMPO P, GARCIA-VELASCO J A, et al. Potential implications of chemokines in reproductive function: An attractive idea[J]. *Journal of Reproductive Immunology*, 1998, 38(2): 169–193.
- [31] BANKERS-FULBRIGHT J L, KALLI K R, MCKEAN D J. Interleukin-1 signal transduction[J]. *Life Sciences*, 1996, 59(2): 61–83.
- [32] YOCKEY L J, IWASAKI A. Interferons and proinflammatory cytokines in pregnancy and fetal development[J]. *Immunity*, 2018, 49(3): 397–412.
- [33] AZIZIEH F Y, RAGHUPATHY R G. Tumor necrosis factor- α and pregnancy complications: A prospective study[J]. *Medical Principles Practice*, 2015, 24(2): 165–170.
- [34] MOR G, ALDO P, ALVERO A B. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2017, 17(8): 469–482.
- [35] MOR G, CARDENAS I. The immune system in pregnancy: A unique complexity[J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2010, 63(6): 425–433.
- [36] MOR G, CARDENAS I, ABRAHAMS V, et al. Inflammation and pregnancy: The role of the immune system at the implantation site[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2011, 1221(1): 80–87.
- [37] MOR G. Pregnancy reconceived[J]. *Natural History*, 2007, 116(4): 36–41.
- [38] BEAMAN K D, JAISWAL M K, KATARA G K, et al. Pregnancy is a model for tumors, not transplantation[J]. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2016, 76(1): 3–7.
- [39] HOLTAN S G, CREEDON D J, HALUSKA P, et al. Cancer and pregnancy: parallels in growth, invasion, and immune modulation and implications for cancer therapeutic agents[J]. *Mayo Clinic Proceedings*, 2009, 84(11): 985–1000.

[责任编辑: 严海琳]