

RÉSZLETES OTKA ZÁRÓ KUTATÓI JELENTÉS

A TERMÉSZETES IMMUNITÁS SZABÁLYOZÁSI ZAVARAINAK HATÁSA A TERHESSÉG KIMENETELÉRE

2006-2010

F048543

Témavezető: dr. Barakonyi Alíz MD, PhD

Cím	oldal
1. A természetes immunitás sejtjeinek működése és szerepe terhességben.....	1
1.1. Gamma/delta T sejtek.....	1
1.1.1. Deciduális γ/δ T sejtek működése a beágyazódás során.....	1
1.1.2. Perifériás γ/δ T sejtek $V\gamma$ és $V\delta$ láncasználatának megváltozása spontán szülés alatt.....	3
1.1.3. Perifériás γ/δ T sejtek pathológiás terhességben	4
1.2. NK sejtek, NKT sejtek és invariáns NKT (iNKT) sejtek.....	5
1.2.1. Perifériás NKT sejtek szerepe In Vitro Fertilizációban (IVF).....	6
1.2.1. Perifériás iNKT sejtek szerepe a toxaemia pathogenezisében.....	6
2. A CD160 NK sejt aktiváló receptor kifejeződése a természetes immunitás sejtjein és annak funkciója a terhesség során	7
2.1. Perifériás CD160 receptor pozitív sejtek egészséges terhesség különböző szakaszaiban.....	7
2.2. CD160 recetor pozitív sejtek a deciduában.....	9
2.3. Perifériás CD160 receptor pozitív sejtek In Vitro Fertilizációban.....	9
2.4. Perifériás CD160 receptor pozitív sejtek pathológiás terhességben.....	11

1. A természetes immunitás sejtjeinek működése és szerepe terhességben

Ismert, hogy az NK (natural killer: természetes ölő) sejtek mellett a természetes immunitás két másik fontos effektor sejtpopulációja, a γ/δ T limfociták és az NKT sejtek is jelen vannak a feto-maternális érintkezési felületen (1,2,3), amely sejtek feladata egyelőre nem teljesen tisztázott.

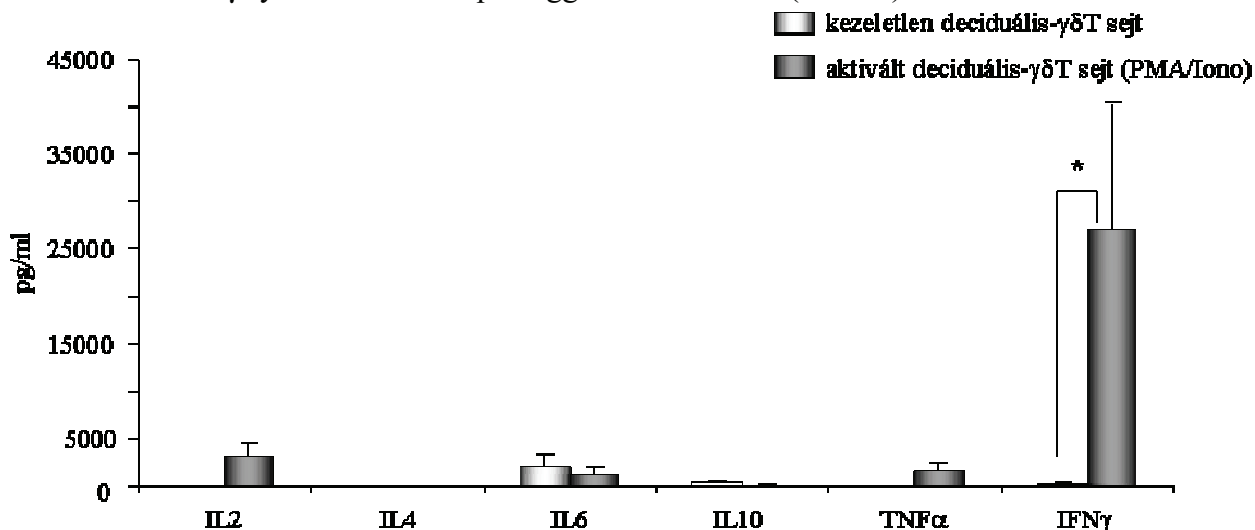
1.1. Gamma/delta T sejtek

1.1.1. Deciduális gamma/delta T sejtek működése a beágyazódás során (*manuscript in preparation*)

Laboratóriumunkban kidolgoztuk azt a technikát, melynek segítségével humán egészséges terhes méhszövet deciduájából (művi abortuszon megjelent egészséges terhes nők mintáit

felhasználva) anyai eredetű limfocitákat szeparálhattunk. Mindez lehetőséget nyújtott arra, hogy a méhben lokálisan vizsgáljuk a beágyazódás szakában jelentkező immunológiai változásokat. Munkánk során a terhes méh deciduális γ/δ T sejtjeinek expressziós és funkcionális jellegzetességeit tanulmányoztuk.

Kísérleteink során azt találtuk, hogy a deciduális γ/δ T sejtek magas cytotoxikus potenciállal és erős IFN- γ cytokintermelő képességgel rendelkeznek (1. ábra).

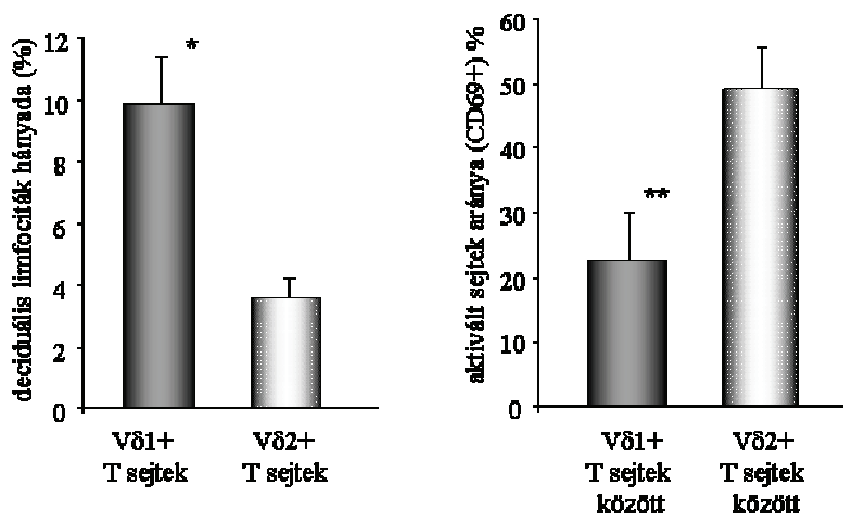


1. ábra (* ≤ 0.05)

Ismert, hogy az IFN- γ képes gátolni az extravillózus trophoblaszt migrációját (4), így a deciduális γ/δ T sejtek a beágyazódás során fontos szerepet játszhatnak a trophoblaszt invázió kontrollálásában.

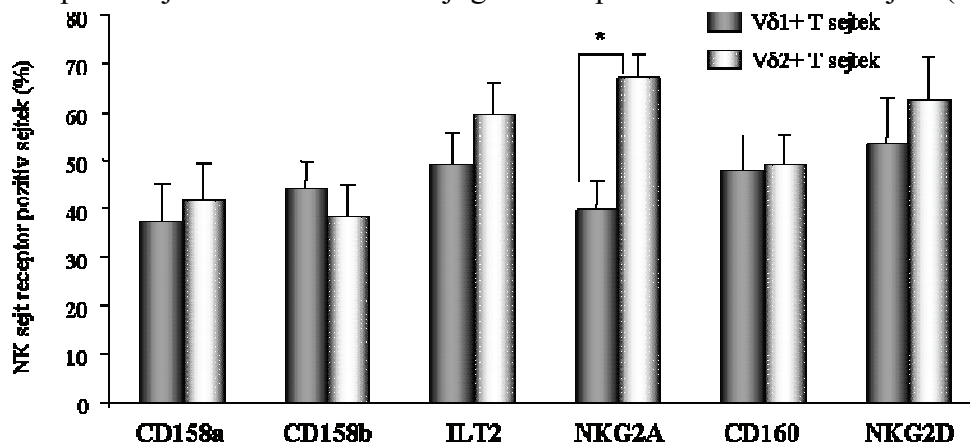
Eredményeink azt mutatják, hogy a deciduális γ/δ T-sejtek (szemben a perifériás sejtekkel) nyugvó állapotban is képesek cytokintermelésre és aktiváció hatására több IFN- γ , IL2 és IL6 cytokineket termelnek mint a perifériás γ/δ T-sejtek. Mindez azt sugallja, hogy a deciduális γ/δ T-sejtek cytokintermelésük révén is fontos szerepet játszhatnak a feto-maternális érintkezési felületen kialakuló speciális immunregulációban, amelyre vonatkozólag eddig nem rendelkezett adattal az irodalom.

A deciduális γ/δ T sejtek között (más irodalmi adatokkal összhangban (2)) a V δ 1+ populáció mutatkozott dominánsnak, amely sejteknek azonban csupán egynegyede volt aktivált állapotú (2. ábra).



2. ábra (* ≤ 0.0001 , ** ≤ 0.01)

A deciduális V δ 1+ és a V δ 2+ γ/δ T sejtek összehasonlító analízise rámutatott, hogy a relatív kis populációt képező V δ 2+ T sejtek magasabb perforin tartalom mellett fokozottabb mértékben expresszálják az NKG2A NK sejt gátló receptort mint a V δ 1+ T sejtek (3. ábra).



3. ábra (* ≤ 0.001)

A két sejtcsoport FasL expressziójában és apoptózisában azonban nem mutatkozott különbség.

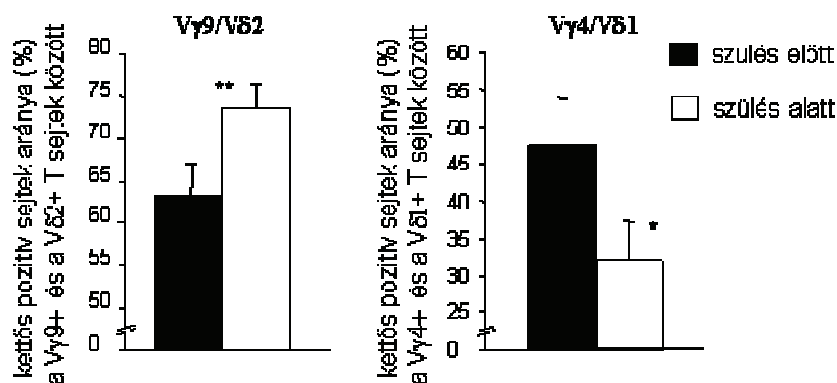
A kifejezettebb sejtölő potenciállal rendelkező V δ 2+ T limfocita csoport emelkedett NK sejt gátló receptor expressziója képes lehet a V δ 2+ sejtek kontrollálására, segítve ezzel az immunológiai kilökődés megakadályozását. A γ/δ T sejtek jelenléte és működőképessége a deciduában azt sugallja, hogy Th1-es karakterük ellenére szerepük lehet az egészséges terhesség fenntartásában.

1.1.2. Perifériás γ/δ T sejtek V γ és V δ lánchasználatának megváltozása spontán szülés alatt

(*Am J Reprod Immunol* 2008 Mar;59(3):201-5.).

Vizsgálni kívántuk a szülés folyamatához kapcsolódó immunológiai változásokat is. Egészséges körülmények között a vajúrást ill. a szülést immunológiai reakciók is kísérik, úgymint a megváltozott citokinegyensúly (5,6,7) vagy bizonyos leukocita alpopulációk arányának és eloszlásának módosulása (8). Munkánk során meghatároztuk a szülés alatt leggyakoribb perifériás V γ /V δ lánckombinációkat egészséges terhes nők perifériás vérében.

Eredményeink szerint egészséges spontán szülés során változatlan V γ 9, V δ 2, V γ 4 és V δ 1 lánclőfordulás mellett nő a V γ 9/V δ 2 és csökken a V γ 4/V δ 1 γ/δ T populációk megjelenése. Emellett a γ/δ T sejteken megemelkedik a V δ 2 receptorlánc V γ 9 láncsal való kombinálódásának előfordulása, míg a V δ 1 lánc kombinációja a V γ 4 láncsal kevésbé gyakori (4. ábra).



4. ábra (** ≤ 0.03 , * ≤ 0.003)

A $V\gamma 4/V\delta 1 + T$ sejtek aránya a $V\gamma 9/V\delta 2 + T$ sejtekhez viszonyítva szignifikánsan alacsonyabb a vajúdás alatt, mint azt megelőzően a 32.-36. héten (5. ábra).



5. ábra (* ≤ 0.01)

A fenti arányszám szülés alatt megközelíti a habituális vetéléseknél mért arányszámot (9), amely vetélések hátterében feltételezhetően immunológiai okok állnak.

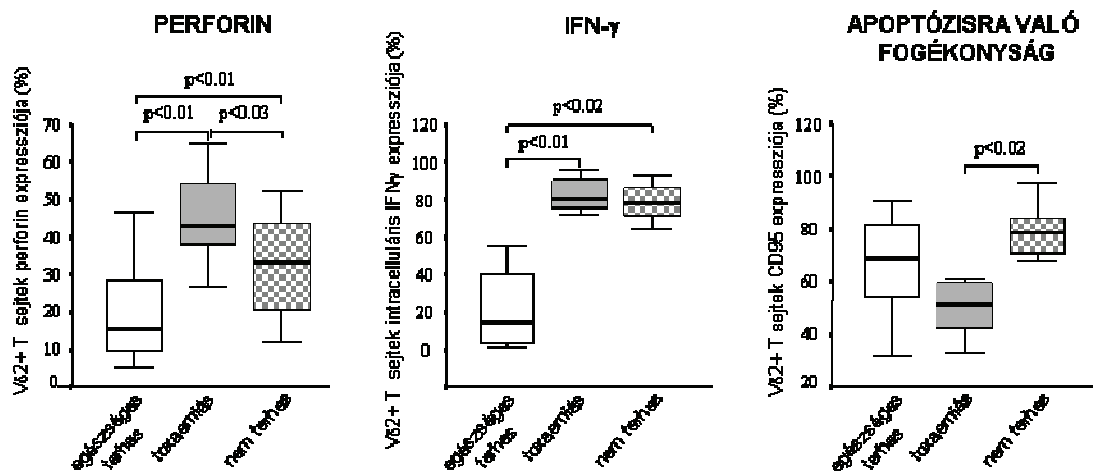
Eredményeink azt sugallják, hogy a γ/δ T sejtpopulációkban bekövetkező fenotípus változások is szerepet játszanak a szülés alatt lezajló immunológiai folyamatokban.

1.1.3. Perifériás γ/δ T sejtek pathológiás terhességben

(*J Reprod Immunol* 2009 Jun; 80(1-2):100-8.)

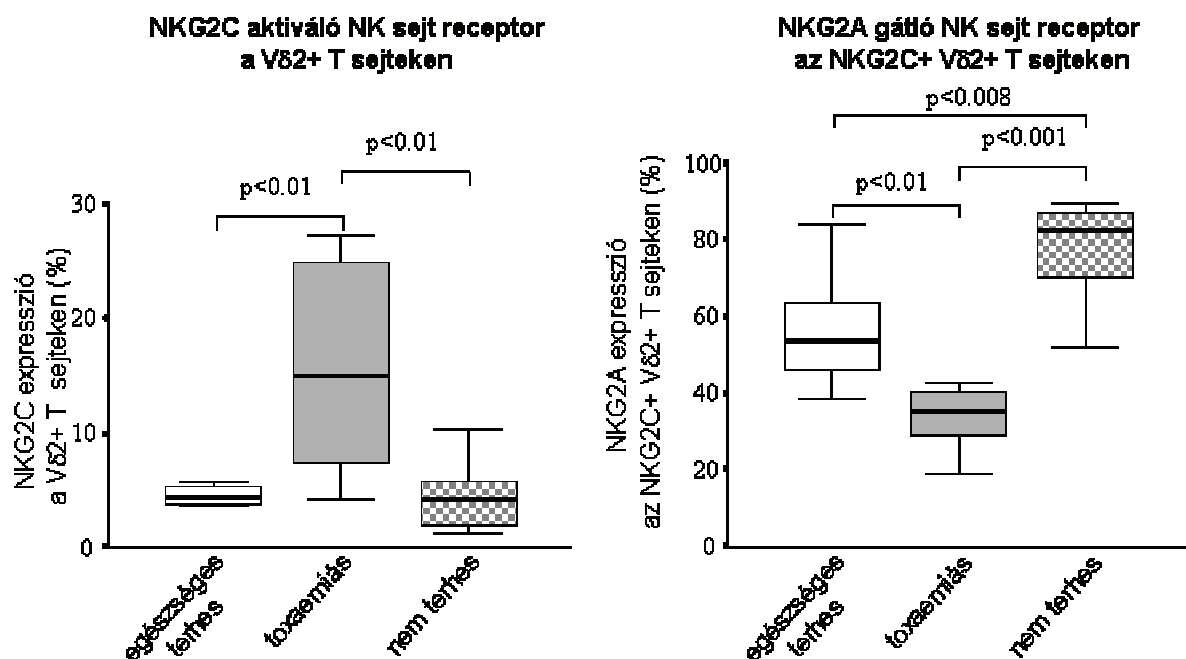
Más kísérleteinkben harmadik trimeszterbeli toxaemiás pathológiás terhes nők perifériás vérében vizsgáltuk a γ/δ T sejteket. A toxaemia etiológiája nem teljesen tisztázott, a kutatási eredmények alapján immunológiai mechanizmusok is részt vesznek a betegség kialakításában. A betegség lefolyása két stádiumra osztható. A preklinikai első stádiumban nincsenek még szisztémás hatások vagy tünetek, csupán lokálisan a méhben jelentkeznek az elégtelen trophoblaszt invázió következményei. Ekkor helyi vérnyomás emelkedéssel biztosítja az anyai szervezet a magzat megfelelő táplálását. A betegség második stádiumában, a harmadik trimeszterben túlzott anyai szisztémás gyulladásos immunválasz, vazóaktív anyagok felszabadulása és megváltozott endothel működés hatására jelentkeznek a klinikai tünetek, ami ödéma - szisztémás hypertonia - proteinuria tünetegyüttesével írható le (10).

Kísérleteinkben toxaemiás betegek perifériás vérmintáiban (egészséges terhességből származó mintákkal összehasonlítva) változatlan $V\delta 2$ sejtszám mellett megváltozott $V\delta 2$ fenotípust és funkciót detektáltunk. Adataink azt mutatják, hogy toxaemiában a $V\delta 2 + T$ sejtek Th1-es fenotípussal jellemezhetőek (emelkedett perforin és IFN- γ tartalom) illetve apoptózissal szemben kevésbé fogékonyak, ami hosszabb élettartamot kölcsönöz a sejteknek (6. ábra).



6. ábra

Vizsgáltuk a Vδ2+ T sejtek NK sejt receptor-mintázatát. Az aktiváló és gátló NK sejt receptorok regulációs hatásukat többek között úgy fejtik ki, hogy az aktiváló receptor hatására citotoxicitás ill. citokintermelés következik be, a gátló receptor aktiválódása révén pedig gátlódnak a sejtek ezen funkciói. Abban az esetben, ha egy adott sejten mind a gátló mind az aktiváló receptorok izgalomba kerülnek, a gátló receptor hatása mindig felülírja az aktiváló receptorét, így végső soron a sejtfunkció gátlása következik be (11). Eredményeink alapján valószínűsíthető, hogy az NK sejt receptorok működése aktívan részt vesz a klinikai stádiumot jellemző szisztémás gyulladásos működési zavarban (7. ábra).



7. ábra

1.2. NK sejtek, NKT sejtek és invariáns NKT (iNKT) sejtek

Terhesség során a természetes immunitás sejtjei közül az NK sejtek szerepe a leginkább vizsgált és tisztázott. CD56 NK sejt markert hordoznak azonban az NKT sejtek is illetve a human perifériás vér egy igen kis populációját képező iNKT sejtek. Az iNKT sejtek a γ/δ T

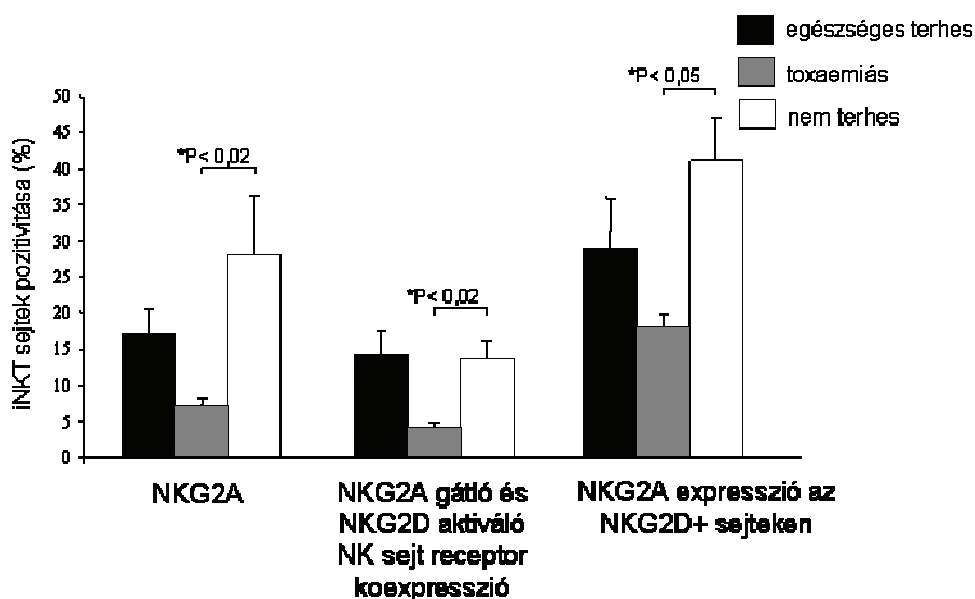
sejtekhez hasonlóan kapcsolódási pontot képezhetnek a természetes és a szerzett immunitás között, hiszen képesek effektor és regulatórikus funkciók betöltésére is (2,3).

1.2.1. Perifériás NKT sejtek szerepe In Vitro Fertilizációban (IVF) (*Reprod Biomed Online* 2010 Dec;21(6):750-6.)

Az ismeretlen eredetű női infertilitás, a habituális vetélés és egyes beágyazódási rendellenességek hátterében leggyakrabban immunológiai adaptációs zavar feltételezhető. Ebből kifolyólag több nemzetközi tanulmány is foglalkozik az in vitro fertilizáció (IVF) során fellépő beágyazódási zavarok immuno-pathogenezisével. Jelen munkánkban IVF-en átesett nők perifériás vérmintáiban vizsgáltuk a természetes immunitás sejtjeit a beavatkozás előtt (petesejtleszívás napján) és az embriótranszfert követően 1 héttel. Eredményeink azt mutatják, hogy azoknál a nőknél, akiknél nem járt sikerrel az IVF, mind az NKT, mind az NK sejtek Th1-es típusú karakterrel rendelkeznek, ami hozzájárulhatott a beavatkozás sikertelenségéhez.

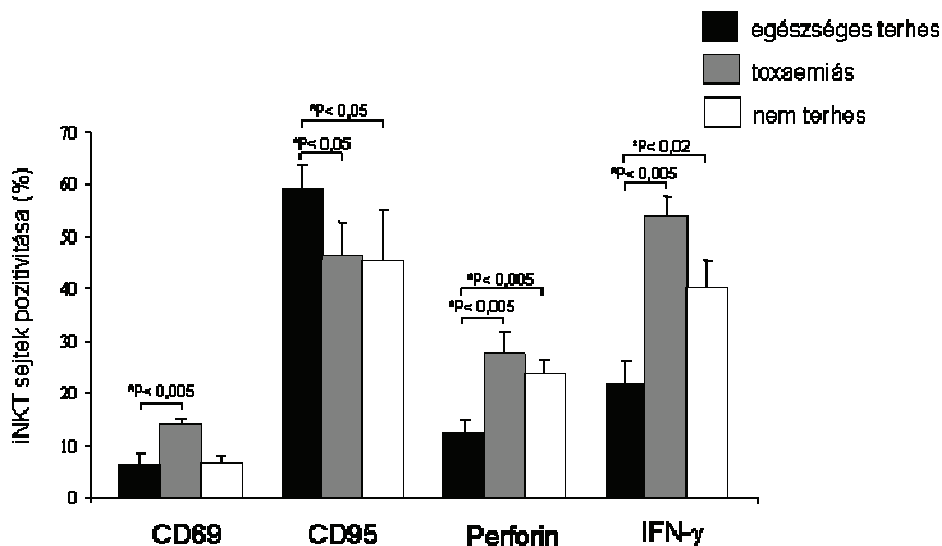
1.2.2. Perifériás iNKT sejtek szerepe a toxaemia pathogenezisében (*Am J Reprod Immunol* 2008 Aug;60(2):118-26.)

Toxaemiás pathológiás terhes nők perifériás vérében vizsgálva az iNKT sejteket azok potenciálisan cytotoxikus limfocitáknak bizonyultak, ami a felszínükön kifejeződő NK sejt receptorok megváltozott mintázatának is köszönhető (8. ábra).



8. ábra

A megemelkedett aktivitású (CD69) perifériás iNKT sejtek megnövekedett perforin tartalma és IFN- γ produkciója a toxaemiára jellemző Th1-es karaktert erősítik (9. ábra). Csökkent apoptotikus készségük (CD95) miatt pedig hosszabb időn keresztül képesek a terhesség egészséges kimenetelét gátló hatásukat kifejteni (9. ábra).



9. ábra

Mindez arra utal, hogy az iNKT sejtek is szerepet kapnak a terhesség harmadik trimeszterében szisztémás tünetekkel jelentkező toxaemia patomechanizmusában.

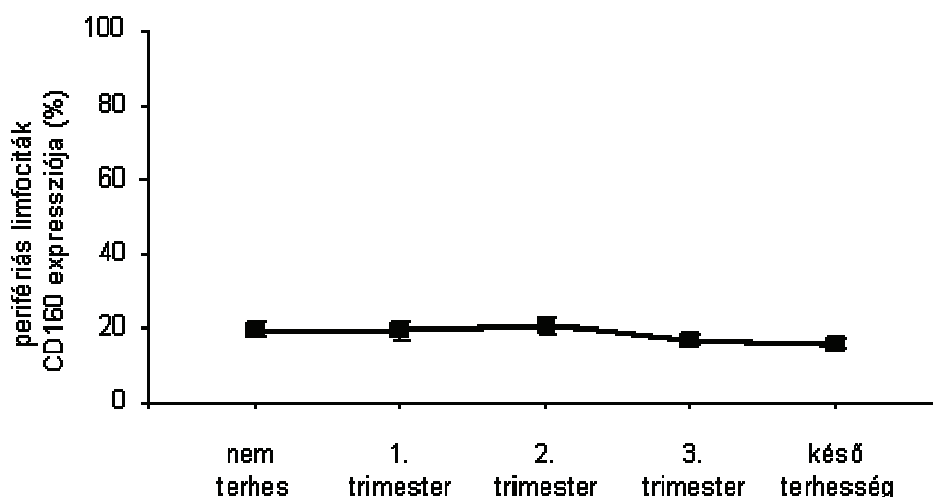
2. A CD160 NK sejt aktiváló receptor kifejeződése a természetes immunitás sejtjein és annak funkciója a terhesség során

A CD160 receptor aktiválódása az NK sejteken citotoxikus hatást (12) illetve Th1-es citokinválaszt indukál (13). A receptor szerepét tekintve a mai ismereteink főként a vírusfertőzések során betöltött funkciójára szorítkoznak (14). További kutatásaink során vizsgáltuk a receptor megjelenését és jellegzetességeit terhes nők perifériás vérmintáiban illetve a terhes méh deciduális szövetében, arra keresve a választ, hogy vajon lehet-e szerepe a CD160 receptornak a terhesség során kialakuló megváltozott immunegyensúlyban. A beágyazódás folyamatának immunológiai kontrollját illetve az apai géneket is hordozó magzat kilökődésének megakadályozását ugyanis finoman összehangolt immunológiai szabályozórendszer végzi, mely során a toleranciát szolgáló Th2-es válaszok (15), ill. enyhe pro-inflammatórikus mechanizmusok egyaránt helyet kapnak (16).

2.1. Perifériás CD160 receptor pozitív sejtek egészséges terhesség különböző szakaszaiban

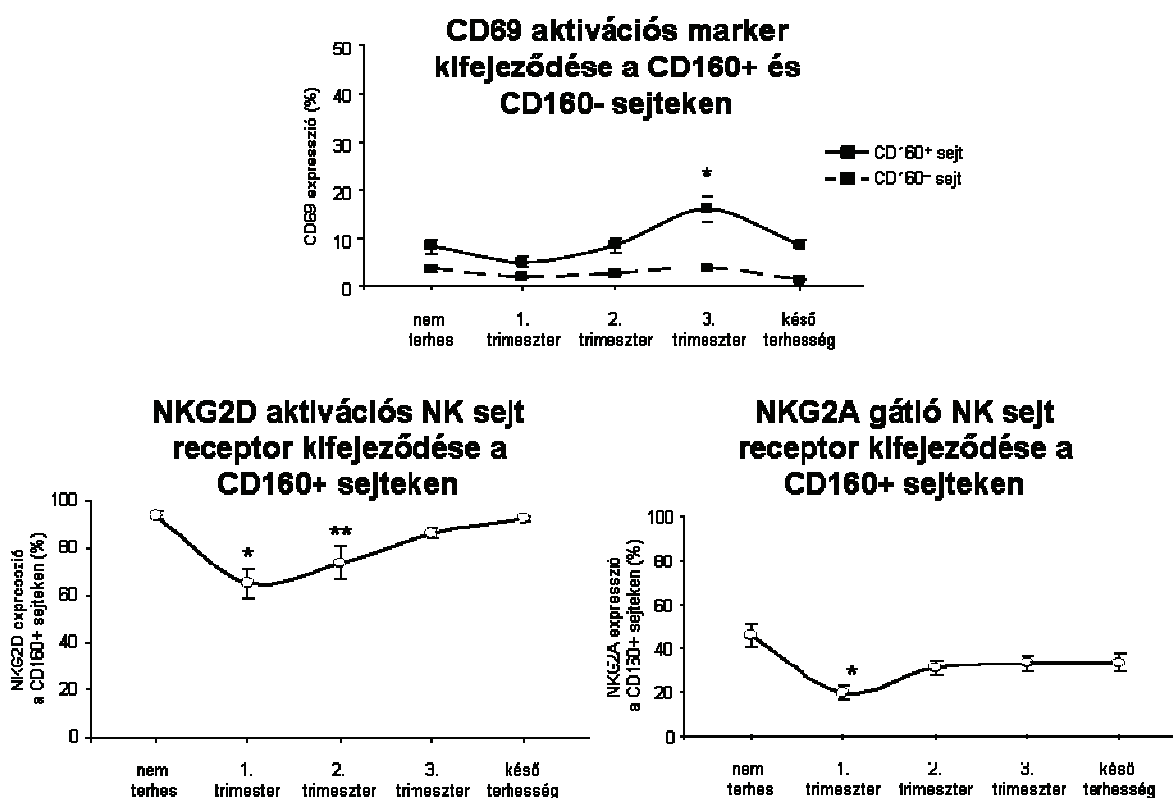
(*Am J Reprod Immunol: in press*)

Újabb kísérleteinkben nem terhes, ill. egészséges terhes nők perifériás vérének vizsgáltuk a terhesség 4 különböző szakaszában a beágyazódástól a szülés előtti hetekig bezárólag. Eredményeink szerint a CD160 receptor pozitív sejtek terhesség alatt is jelen vannak a perifériás vérben (10. ábra),



10. ábra

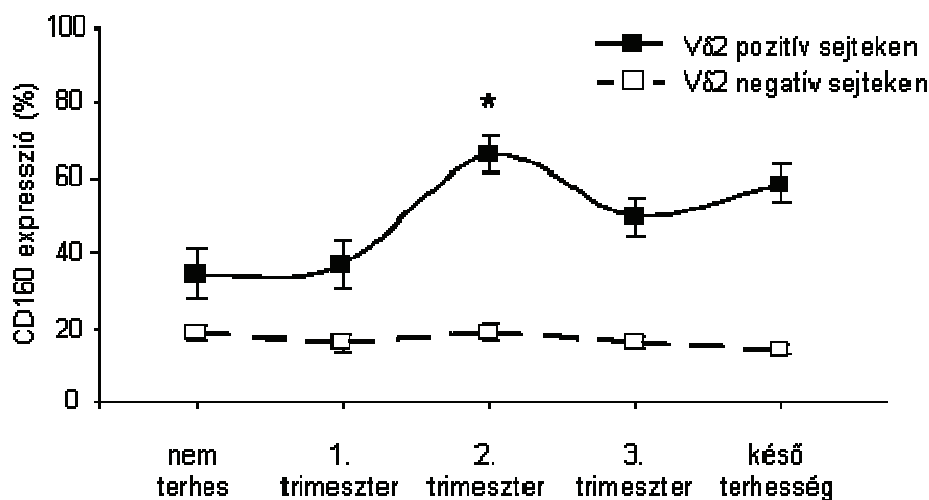
habár a terhesség különböző szakaszaiban különböző jellegzetességekkel bírnak. A beágyazódás időszakában a nem terhes csoporthoz viszonyítva, a perifériás CD160+ sejtek alacsony aktivációs rátát mutatnak és alacsony az NK sejt receptor expressziójuk is, míg a terhesség előrehaladásával a fenti paraméterek mind emelkedést mutattak (11. ábra).



11. ábra

A 2. trimeszterben a CD160+ perifériás limfociták 20%-a γ/δ T sejt (amelyek főként V δ 2 láncot hordoznak) és a V δ 2+ T sejtek több mint 65%-a CD160 receptor pozitív. Mindez arra

utal, hogy a V δ 2⁺ sejteken kifejeződő CD160 receptor fontos funkcionális szereppel bírhat a terhesség ezen szakaszában. Ezt a hipotézist támasztja alá az a megfigyelés is, miszerint a V δ 2-negatív limfociták CD160 expressziója a terhesség minden szakaszában és nem terhes állapotban is mindig 20% alatt marad (12. ábra).



12. ábra

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy a CD160 receptornak szerepe lehet az egészséges terhesség fennmaradásának immunológiai támogatásában. Mindez megvalósulhat pl. azért, hogy a CD160 a periférián is keringő szolubilis HLA-G ligand (17) felismerését követően (amelyről ismert, hogy cytotoxikus válasz kiváltására nem képes (12)) cytokintermelődés beindításával vehet részt a terhességre jellemző immunológiai változások kialakításában.

2.2. CD160 receptor pozitív sejtek a deciduában

Ezt követően vizsgálni kívántuk az egészséges terhes méh CD160⁺ deciduális limfocitáit is, ezért megkezdtük a terhes méh deciduájából szeparált CD160⁺ limfociták fenotípusának és funkciójának meghatározását. A perifériás eredményekhez képest a deciduában igen kevés a CD160 receptor pozitív sejt, ám a deciduális CD160⁺ sejtek 40%-a aktivált állapotú, ami a periférián mért érték ötszöröse. Kísérleteinkben, más irodalmi adatokkal összhangban (2) a $\gamma\delta$ T sejtek megjelenése háromszoros emelkedést mutat a méhben a perifériához képest és a kevésbé cytotoxikus V δ 1 TCR⁺ populáció képezi a domináns sejtcsoportot (szemben a periférián uralkodó erősen cytotoxikus V δ 2 túlsúllyal). A perifériához viszonyítva a deciduális V δ 1⁺ sejteken nem változik a CD160 receptor megjelenése és a deciduális V δ 1⁺ sejtek aktiváltsági foka emelkedett. Mindez arra utal, hogy a terhesség alatt a V δ 1⁺ T sejteken jelen levő CD160 receptor immunológiailag aktív állapotban lehet.

2.3. Perifériás CD160 receptor pozitív sejtek In vitro Fertilizációban

(Reprod Biomed Online Dec;21(6):750-6. 2010.)

A CD160 receptor kifejeződését vizsgáltuk IVF során is. Munkánkban sikeres és sikertelen mesterséges megtermékenyítésen átesett nők perifériás limfocitáinak fenotípusát és funkcióját hasonlítottuk össze. Adatainkból kiderült, hogy azoknál a betegeknél, akiknél az IVF későbbi sikerrel járt, a petesejt leszívásakor enyhén emelkedettebb volt a perifériás NK sejtek CD160

receptor expressziója mint azoknál a betegeknél, akiknél az IVF beavatkozás nem járt sikerrel. Ez a különbség azonban nem mutatkozott szignifikánsnak.

Az NKT és a CD3+ sejteken sikeres terhességgel végződött IVF esetében szignifikánsan magasabb volt a CD160 receptor expresszió az IVF beavatkozás előtt levett perifériás vérmintákban, mint a sikertelen beültetésen átesett betegeknél (1. táblázat).

IVF előtt vett minta (petesejtleszíváskor)			
	sikeres IVF	sikertelen IVF	P-érték
Betegek száma:	8	11	-
CD3+ sejtek CD160 expressziója (%)	1,35±0,39	0,604±0,17	0,04
NKT (CD3+/CD56+) sejtek CD160 expressziója (%)	3,09±0,82	1,57±0,36	0,04

1. táblázat

Meglepő módon a sikeres IVF-en átesett betegek perifériás NKT sejtjein, a beavatkozás előtti és az embriotranszfer utáni mintákat összehasonlítva, szignifikáns csökkenést mutatott az NKT sejteken a CD160 receptor expressziója, míg sikertelen IVF beavatkozás során szignifikáns emelkedést tapasztaltunk (2. táblázat).

	sikeres IVF (n=8)		P-érték
	IVF előtt (petesejtleszívás)	IVF után (embriotranszfer után 1 héttel)	
CD160+ NKT sejtek	3,09±0,82	2,04±0,81	0,05
	sikertelen IVF (n=11)		
	IVF előtt (petesejtleszívás)	IVF után (embriotranszfer után 1 héttel)	
CD160+ NKT sejtek	1,57±0,36	2,2±0,5	0,04

2. táblázat

Sikertelen IVF estében a fentiekhez hasonlóan, szignifikánsan megemelkedett CD160 expressziót sikerült detektálnunk az NK sejteken is az embriótranszfer után 1 héttel.

Mindez arra enged következtetni, hogy a CD160 receptor jelenlétének az IVF beavatkozás előtt pozitív prediktív értéke lehet, míg a receptor expressziójának downregulációját eredményező mechanizmusok is elengedhetetlenek a sikeres beágyazódás és a terhesség egészséges kihordásának érdekében.

2.4. Perifériás CD160 receptor pozitív sejtek pathológiás terhességben

További munkánk során megkezdjük a CD160 receptor pozitív sejtek jelenlétének vizsgálatát toxaemiás terhes nők perifériás vérében. Bevezető adataink azt mutatják, hogy a CD160+ γ/δ T sejtek szignifikánsan alacsonyabb mértékben vannak jelen a toxaemiás betegek vérében, amely sejtek főként cytotoxikus V δ 2+ T limfocitáknak bizonyultak. A V δ 1+ T sejteken a CD160 expresszió nem változott. A toxaemiás csoportban csökkent szintű volt az aktivált CD160+ sejtek megjelenése. A fenti jelenségek teljes körű megértéséhez még további vizsgálatokra van szükség.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy egészséges és pathológiás terhességeket vizsgálva további adatokkal szolgáltunk a természetes immunitás elemeinek, különösen a γ/δ T sejteknek a terhességi immunológiában betöltött szerepére vonatkozóan. Kísérleteink ezen felül kiterjedtek még a CD160 NK sejt receptor pozitív sejtek vizsgálatára illetve arra kerestük a választ, hogy vajon milyen szerepet tölthet be a receptor a terhességre jellemző speciális immunológiai egyensúly kialakításában. Kapott eredményeinket nemzetközi folyóiratokban publikáltuk, legújabb eredményeink jelenleg közlés alatt állnak.

Referenciák:

1. Manaster I, Mandelboim O.: The unique properties of uterine NK cells. Am J Reprod Immunol. 2010 Jun;63(6):434-44.
2. Mincheva-Nilsson L.: Pregnancy and gamma/delta T cells: taking on the hard questions. Reprod Biol Endocrinol. 2003 Dec 2;1:120.
3. Boyson JE, Aktan I, Barkhuff DA, Chant A.: NKT cells at the maternal-fetal interface. Immunol Invest. 2008;37(5):565-82.
4. Hu Y, Dutz JP, MacCalman CD, Yong P, Tan R, von Dadelszen P.: Decidual NK cells alter in vitro first trimester extravillous cytotrophoblast migration: a role for IFN-gamma. J Immunol. 2006 Dec 15;177(12):8522-30.
5. Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA, Norman JE : Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. Mol Hum Reprod 2003;9:41-5.
6. Osman I, Young A, Jordan F, Greer I, Norman J: Leukocyte density and proinflammatory mediator expression in regional human fetal membranes and decidua before and during labor at term. J Soc Gynecol Investig 2006;13:97-103.
7. Sehringer B, Schafer WR, Wetzka B, Deppert WR, Brunner-Spahr R, Benedek E, Zahradnik HP: Formation of proinflammatory cytokines in human term myometrium is stimulated by lipopolysaccharide but not by corticotropin-releasing hormone. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:4859-65.
8. Thomson AJ, Telfer JF, Young A, Campbell S, Stewart CJ, Cameron IT, Greer IA, Norman JE: Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. Hum Reprod 1999;14:229-36.
9. Barakonyi A, Polgar B, Szekeres-Bartho J.: The role of gamma/delta T-cell receptor-positive cells in pregnancy: part II. Am J Reprod Immunol. 1999 Aug;42(2):83-7.
10. Merviel P, Carbillon L, Challier JC, Rabreau M, Beaufils M, Uzan S.: Pathophysiology of preeclampsia: links with implantation disorders. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004 Aug 10;115(2):134-47.

11. Moretta A, Sivori S, Vitale M, Pende D, Morelli L, Augugliaro R, Bottino C, Moretta L: Existence of both inhibitory (p58) and activatory (p50) receptors for HLA-C molecules in human natural killer cells. *J Exp Med*. 1995 Sep 1;182(3):875-84.
12. Le Bouteiller P, Barakonyi A, Giustiniani J, Lenfant F, Marie-Cardine A, Aguerre-Girr M, Rabot M, Hilgert I, Mami-Chouaib F, Tabiasco J, Boumsell L, Bensussan A.: Engagement of CD160 receptor by HLA-C is a triggering mechanism used by circulating natural killer (NK) cells to mediate cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Dec 24;99(26):16963-8.
13. Barakonyi A, Rabot M, Marie-Cardine A, Aguerre-Girr M, Polgar B, Schiavon V, Bensussan A, Le Bouteiller P.: Cutting edge: engagement of CD160 by its HLA-C physiological ligand triggers a unique cytokine profile secretion in the cytotoxic peripheral blood NK cell subset. *J Immunol*. 2004 Nov 1;173(9):5349-54.
14. Cai G, Freeman GJ.: The CD160, BTLA, LIGHT/HVEM pathway: a bidirectional switch regulating T-cell activation. *Immunol Rev*. 2009 May;229(1):244-58.
15. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR: Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today*. 1993 Jul;14(7):353-6.
16. Sargent IL, Borzychowski AM, Redman CW: Immunoregulation in normal pregnancy and pre-eclampsia: an overview. *Reprod Biomed Online*. 2006 Nov;13(5):680-6.
17. Solier C, Aguerre-Girr M, Lenfant F, Campan A, Berrebi A, Rebmann V, Grosse-Wilde H, Le Bouteiller P: Secretion of pro-apoptotic intron 4-retaining soluble HLA-G1 by human villous trophoblast. *Eur J Immunol* 2002;32:3576-3586.