

# A TERHESSÉG IMMUNOGENOMIKAI VONATKOZÁSAI

Szekeres-Barthó Júlia

az orvostudomány doktora, intézetvezető egyetemi tanár  
PTE ÁOK Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet  
julia.szekeres@aok.pte.hu

A terhesség alatt a magzat zavartalanul fejlődik egészen a szülés megindulásáig, annak ellenére, hogy az anyától genetikai és immunológiai szempontból eltér, ezért az anya immunrendszere idegenként ismeri fel. A magzat felérésében apai, az anya számára idegen antigéneket hordoz, így várható lenne, hogy az anyai immunrendszer megtámadja és elpusztítja a magzati szövetet. Jelenlegi ismereteink szerint azonban a magzat jelenlétének immunológiai felismerése nem veszélyezteti a terhességet. A felismerést követően az anya és a magzat között immunológiai párbeszéd indul meg, ami kialakítja a magzatnak kedvező immunológiai környezetet.

A proteomika és a genomika módszereinek alkalmazása forradalmi változásokat eredményezhet a terhességgel kapcsolatos kutatásban. A *microarray* technika lehetőséget nyújt a citokintermeléssel, illetve a növekedéssel kapcsolatos génexpressziós profilok tanulmányozására. Egyre több, a placentáció különböző fázisaiban szerepet játszó cDNS és fehérje válik ismertté, és ezek révén számos, a placentális patológiával kapcsolatos új információhoz jutunk.

Az anya és magzata immunológiai viszonyát döntően az első találkozás határozza meg. Az immunválasz minősége és mértéke attól függ, hogy a magzatra jellemző antigének milyen környezetben jelennek meg, milyen módon kerülnek bemutatásra az immunrendszer sejtjei számára.

## *1.) A terhesség immunológiai felismerése és az ezzel kapcsolatos problémák*

Az emberi méhlepényben a magzati eredetű trofoblaszt sejtek képezik az anyai és magzati felszínek közötti érintkezési határfelületet. Ezek, a magzatra jellemző antigéneket hordozó sejtek a terhesség alatt folyamatos kapcsolatban állnak az anyai vérrel illetve szövetekkel, és így elsőrendűen itt van lehetőség a magzati antigének anyai limfociták általi felismerésére, másrészt a trofoblaszt lehet az anyai immunválasz támadásának célpontja (*1. ábra*).

Az egyén immunológiai ujjlenyomatának tekinthető polimorf szövetegyeztési (HLA) antigének teszik lehetővé, hogy az immunrendszer a saját és idegen struktúrákat megkülönböztesse. Minél nagyobb az eltérés két egyén között ezeknek az antigéneknek a szerkezetében, annál kevésbé tolerálják egymás szöveit. A trofoblasztról hiányoznak a polimorf HLA antigének, jelen van azonban – a szervezetben szinte egyedülálló módon – egy nem klasszikus HLA antigén, a HLA-G. A HLA-G gén szerkezete hasonló a többi I osztályú HLA gének szerkezetéhez, de azokkal ellentétben korlátozottan polimorf, sajátos promotor régióval rendelkezik, és a mRNS változatos szeletelése következtében több különböző membránhoz kötött vagy szolubilis izoformát produkál. Az a négy izoforma, mely membránhoz kötött

formában expresszálódik transzmembrán és cytoplazmikus domainnel rendelkezik. Két másik izoforma (a szolúbilis HLA-G1 és G-2) negyedik intronjában található *stop* kódon megakadályozza a transzmembrán és a cytoplazmikus domain translációját. Ennek hiányában a molekula nem tud b-2-mikroglobulinnal kapcsolódni, ezért a sejt felszínén csak a teljes hosszúságú HLA-G1 fejeződik ki (Le Bouteiller et al., 2003). A szolúbilis HLA-G kulcsfontosságúnak tűnik a terhesség fenntartása szempontjából. Azon embriók implantálódnak sikeresen, amelyek aktívan szekretálják a szolúbilis HLA-G-t (Fuzzi et al., 2002). Aberráns HLA-G expressziót mutattak ki terhességi toxæmiában habituális vetélésben és *in vitro* megtermékenyítés sikertelen eseteiben is. Általánosságban elmondható, hogy a szolúbilis HLA-G jelenléte vagy hiánya összefüggést mutat az implantáció sikerével.

A HLA-G expresszióban megfigyelhető különbségek genetikailag meghatározottak. A HLA-G-t kódoló gén 8. exonjának 3'-nem translalódó régiójában található egy 14 bp hosszúságú szakaszt érintő deléció polimorfizmus (Hviid et al., 2004). Ez a 14 bp szakaszra kiterjedő deléció vagy interció összefüggésbe hozható a mesterséges megtermékenyítés sikertelenségével, és a habituális vetélés fokozott kockázatával, ennek a 14 bázispár hosszúságú szakasznak a jelenléte

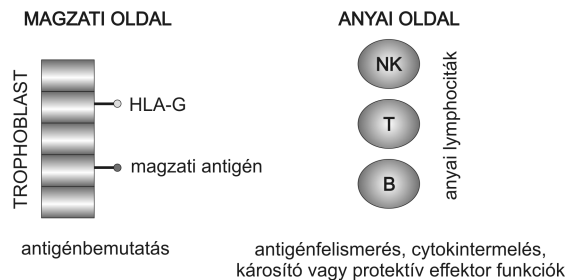
vagy hiánya ugyanis befolyásolja a termelő izoformák minőségét, és így meghatározza a membránhoz kötött, illetve szolúbilis HLA-G arányát, következményesen a HLA-G immunmoduláló hatását. A habituálisan vetelő nők férjeinek jelentős részében a HLA-G alléleken hiányzik ez a 14 bp hosszúságú szekvencia, míg feleségeik túlnyomó részében a 14 bp szekvenciát tartalmazó homozigóta HLA-G allélek található (Hviid et al., 2004). Ez a genetikai kombináció a magzat, illetve a trofoblaszt által expresszált HLA-G izoformák megváltozott profilját, bizonyos HLA-G izoformák fokozott illetve csökkent expresszióját eredményezi.

A HLA-G több lehetséges funkciója révén befolyásolhatja a terhesség kimenetelét.

#### a.) A HLA-G immunmoduláló hatása

A trofoblaszton kifejeződő magzati antigének, illetve egyéb molekulák kölcsönhatásba lépnek az anya immunsejtjein található receptorokkal. A limfociták azokat az idegen antigént hordozó sejteket támadják meg, melyeken az idegen a sajátot reprezentáló klasszikus HLA antigén környezetében jelenik meg. A T-limfociták klasszikus HLA antigének hiányában nem képesek felismerni az idegen struktúrákat, ezért aktiválódás helyett programozott sejthalálnak esnek áldozatul, és nem pusztítják el a trofoblasztot. A limfociták más csoportjai, a természetes

#### AZ ANYA ÉS A MAGZAT IMMUNOLÓGIAI KAPCSOLATA



1. ábra

ölősejtek (NK) gátló és aktiváló receptorok segítségével ismerik fel az eliminálandó sejtet (2. ábra).

Az aktiváló receptor az idegen antigént ismeri fel, ezzel egyidejűleg a gátló receptor letapogatja a sejt felszínét, a sajátra utaló struktúrákat keresve. Ha talál ilyent, a gátló jel felülírja az aktivációs szignált, ilyen módon akadályozva meg a saját struktúrák károsítását. A HLA-G mind a gátló, mind az aktiváló NK-sejt receptorokkal képes kölcsönhatásba lépni, így modulálja a decíduális NK-aktivitást. Egyrészt védi a trofoblasztot az NK-sejtek cytotoxikus hatásától, másrészt viszont az aktiváló receptorokkal való kölcsönhatás révén szerepet játszhat az intrauterin vírusfertőzésekkel szembeni védekezésben.

### b.) A HLA-G szerepe a congenitális vírusfertőzések elleni védelemben

A HLA-G szerepet játszhat az intrauterin vírusfertőzések elleni lokális védekezésben is. A vírusok immunválaszt kikerülő stratégiáinak egyike az I osztályú HLA antigének expressziójának gátlása, ugyanis ezen antigének hiányában lehetetlenné válik a vírussal fertőzött sejtek idegenként való felismerése. A veleszületett fejlődési rendellenességek egyik leggyakoribb okozója a humán cytomegalovírus több olyan rövid glycoproteint (unique short protein – US) kódol, amelyek megakadályozzák a HLA-en keresztüli antigénbemutatást. A vírus által termelt US peptidek *down* regulálják a klasszikus HLA antigéneket, a HLA-G azonban a molekula rövid cytoplasmikus domainje miatt el-

lenálló ezzel a hatással szemben (Pizzato et al., 2004). A vírusfertőzés csökkenti ugyan a HLA-G expresszióját, de lényegesen később, és kisebb mértékben, mint a klasszikus HLA antigének expresszióját. A HLA-G még 24 órával a vírusfertőzés után is jelen van, és kapcsolódik a decíduális NK-sejtek felszínén jelen levő, aktiváló KIRDL4 receptorral, melynek következményeképpen az NK-sejtek antivirális hatású interferon  $\gamma$ -t (IFN $\gamma$ ) termelnek. A fertőzés későbbi szakaszában a HLA-G expresszió csökkenése miatt megszűnik a gátló receptorok interakciója az NK-sejtekkel, ami tovább fokozhatja az NK-aktivitást. A fenti mechanizmusok révén a HLA-G által modulált NK effektor funkciók fontos szerepet játszanak a fertőzött sejtek eliminálásában.

### 2.) Az anyai immunválasz

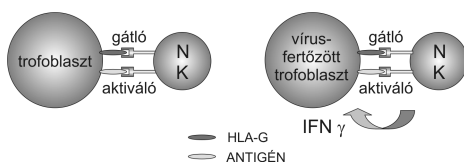
A magzatra jellemző antigének felismerését követően az anyai immunrendszer funkciója, többek közt a cytokintermelés mintázata megváltozik. A cytokinek alacsony molekulású súlyú fehérjék, melyek fontos szerepet játszanak az immunrendszer sejtjei közötti információáramlásban, illetve a sejtek érésének és szaporodásának szabályozásában.

A cytokinek funkciójuk szerint két csoportba oszthatók. A Th1 cytokinek fokozott sejt-közvetítette immunválaszt indukálnak (T-sejt és NK-sejt aktivitás), míg a (Th2) csoportba tartozó cytokinek túlsúlya megnövekedett humorális választ (ellenanyagtermelést) eredményez. Egészséges emberben a kórokozók elleni hatékony védekezés szolgálatában a Th1 csoportba tartozó cytokinek enyhe túlsúlya mutatható ki.

Terhesség alatt a cytokintermelés egyensúlya Th2 irányban tocolódik el. Mindezek következtében az immunglobulin-termelés fokozott, a sejt-közvetítette válaszadási készség, különösen az NK-aktivitás csökkent mértékű lesz.

A foetoplacentális egység anyai és magzati oldala cytokineken keresztül kommunikál. Az anya által termelt cytokinek befolyá-

#### A HLA-G IMMUNVÁLASZT MODULÁLÓ HATÁSA



2. ábra

solják a méhlepény növekedését, a magzat által kifejezett idegen antigének milyensége viszont meghatározza az anya által termelt citokinek minőségét. A normális lefolyású terhességből származó trofoblaszt sejtekkel stimulált limfociták Th2 típusú citokineket termelnek. Vetélésből származó trofoblaszt sejtek azonos körülmények között Th1 típusú választ indukálnak.

A Th1 citokinek a terhesség kimenetele szempontjából kedvezőtlen hatásúak. Az Th1 csoportba tartozó gamma interferon (IFN  $\gamma$ ) cytotoxikus T-limfocitákat és NK-sejteket aktivál, melyek károsíthatják a magzatot. Az IFN  $\gamma$  gátolja a trofoblaszt növekedését, illetve a Th2 citokineket termelő sejtek szaporodását, következésképp a Th2 sejtek által indukált immunglobulintermelést is.

Egy másik Th1 citokin, a TNF és a magzati károsodás közötti kapcsolat is ismert. TNF- $\alpha$ -val történő kezelés egérben a terhesség megszakadásához vezet. Szokványosan vetélő nőkben emelkedett TNF  $\alpha$  szint mutatható ki, ami arra utal, hogy ezen citokinek szintén közrejátszhatnak a szokványos vetélés kialakulásában.

A Th1 válasz kedvezőtlen hatásával szemben a foetoplacentális egység Th2 típusú citokinek termelésével védekezik. Az utóbbi csoportba tartozó IL-10 egy 35–40 kDa molekulásúlyú fehérje, melyet T- és B-sejtek egyaránt termelnek. Az IL-10 terhesség alatti hiánya a magzati fejlődés szempontjából előnytelen. Az IL-10 hiányos egerek súlyos károsodásokkal születnek, nagyságuk pedig az ugyanazon anyától született többi egémek csakkétharmada. A magzati károsodás kivédhető az anyák IL-10 kezelésével, ill. a Th1 citokinek semlegesítésével (Kuhn et al., 1992).

A normális magzati fejlődést nagymértékben befolyásolja a citokintermelés egyensúlya. A jelenleg elfogadott koncepció szerint a Th2 irányban eltoltt citokintermelés kedvező, míg a Th1 túlsúly kedvezőtlen a terhesség kimenetele szempontjából. A gén microarray

technika új utakat nyitott a placentális citokintermelés vizsgálatában. Gerard Chaouat és munkatársai rávilágítottak, hogy az egér placentafejlődése során változó mértékben aktiválódnak különböző citokin gének, közülük egyesek jelenléte például a pete beágyazódásának időszakában elengedhetetlen a normális implantációhoz (Chaouat et al., 2003). A terhesség előrehaladásával differenciáltan expresszálódnak gének között egyaránt előfordulnak Th1 és Th2 citokinek. Ez a meglepő felfedezés megkérdőjelezi azt a klasszikus elméletet, amely szerint a Th1 válasz előnyös, a Th2 válasz pedig káros a terhesség fennmaradása szempontjából. Kritikával kell azonban vizsgálni ezeket az új eredményeket is. A módszer korlátai közé tartozik többek közt, hogy gén *array* technikával vizsgálva, gyakran még egy homogén szövetminta különböző részei is más eredményt adhatnak, továbbá figyelembe kell venni azt a tényt, hogy a placenta különböző limfocitapopulációk mellett számos egyéb sejtfeleséget tartalmaz, melyek funkciói, így citokintermelése is hormonális szabályozás alatt állnak. Arról sem szabad megfeledkeznünk, hogy az egér terhességvizsgálata során nyert adatok csupán korlátozásokkal extrapolálhatók az emberi szituációra. Ezek az új eredmények tehát nem kérdőjelezik meg a korábbi, perifériás Th2 túlsúlyra utaló adatokat, de árnyalják a képet, és rámutatnak arra, hogy a periférián észlelt változások gyakran más irányúak, mint azok, melyek lokálisan a foeto-maternális határon zajlanak.

#### *Pathológias terhességek immun genomikai alapjai*

Emberben a normális placentális fejlődés különböző szakaszaiban expresszálódnak gének nem vizsgálhatók, hiszen normális terhességből származó mintát kizárólag korai, elektív terhességmegszakításból lehetséges nyerni, ezért főképpen a pathológiás és egészséges

terhesség összehasonlításáról kaphatunk információt.

A normális terhesség során differenciáltan kifejeződő gének közül több fokozottan expresszálódik toxemiás terhességben. Normális és pre-eclampsias terhességből származó placenták összehasonlítása során 221 citokin-asszociált gén között 162 olyat találtak, melyek expressziójában kétszeres különbség mutatkozott a két csoport között. Ezek között túlnyomórészt Th1 citokin gének, például néhány, a TNF receptor családdhoz tartozó gén (TNF és TNF receptorok) expressziója fokozódik jelentősen a pre-eclampsias placentában (Chen et al., 1996). Elképzelhető, hogy a Th1 citokin gének *up* regulációja szerepet játszik a pre-eclampsia pathogenezisében.

#### *Habituális vetélés*

Mind állatokban, mind emberben azok a terhességek sikeresek, amelyekben az anyai és apai HLA antigének különböznek. A HLA gének különbözősége a párválasztásban is szerepet játszik. A szaglóreceptorok génjei a HLA gének közelében helyezkednek el, és azokkal együtt öröklődnek. Állatokban jól ismert a szaglás párválasztásban játszott szerepe, az azonban nem köztudott, hogy a szag alapján történő választás egyben a célszerűséget, a genetikai szempontból legmegfelelőbb partner kiválasztását szolgálja.

Az apa és az anya genetikai különbözősége, túlmenően azon, hogy megakadályozza a genetikai hibák halmozódását, lehetővé teszi a terhesség immunológiai felismerését is, ami elősegíti a terhesség normális lefolyását biztosító, a magzat számára kedvező immunológiai környezet kialakulását.

Habituális vetélőknek azokat az asszonyokat nevezzük, akiknek korábban három vagy több spontán vetéléssel végződő terhességük volt. Az ilyen betegek jelentős részében a genetikai hibák, hormonális és anatómiai rendellenességek kizárása után

nem találunk magyarázatot az idő előtti terhességmegszakadás ismételt előfordulására. Megfigyelték azonban, hogy bizonyos HLA alloantigénekkal szignifikánsan gyakrabban társul habituális vetélés, mint másokkal. Ilyen hajlamosító gének előfordulnak a II. osztályú HLA antigéneket, továbbá a HLA-G-t, illetve bizonyos I osztályú HLA antigéneket kódoló gének között. A HLA-DR1, -DR3 és -DR4 jelenléte szignifikánsan magasabb habituális vetélőkben, mint a kontrollpopulációban. Christina Kruse és munkatársai (2004) adatai szerint a habituálisan vetelő asszonyok között szignifikánsan magasabb a HLA-DRB1\* 03 antigénnel rendelkezők előfordulása, mint az egészséges kontrollok között. A legalább négy spontán vetélésen átesett nőkben még szorosabb az összefüggés ezzel HLA-allotípussal. Kilencvennégy habituálisan vetelő nő követéses vizsgálata során a HLA-DR1 és/vagy HLA-DR3 pozitív nők 62 %-ának terhessége végződött vetéléssel, míg az egyéb allotípusú habituális vetélőkben csak 29 % volt a vetélések aránya (Kruse et al., 2004). A habituálisan vetelő nők HLA-DR1 vagy DR3 pozitív testvéreinek ötször akkora az esélye a vetélésre, mint HLA-DR1 és DR3 negatív rokonaiknak. Feltehető, hogy ezek a másodosztályú allélek egyes citokinek hyperszekrécióját előidéző változásokhoz vezetve hajlamosítanak a terhesség idő előtti megszakadására.

A fenti adatok alapján nyilvánvaló, hogy az immunogenomika módszertárának kihasználásával nyerhető eredmények új megvilágításba helyezik az anya és magzata immunológiai kapcsolatáról kialakult klasszikus elképzelést. Várható, hogy ennek alapján idővel új, a patológiás terhességek kezelésére alkalmas megoldások születnek.

#### *Összefoglalás*

Tekintve, hogy a magzat az anya számára immunológiailag idegen, a terhesség normális lefolyásának feltétele egy, a mag-

zat zavartalan fejlődését biztosító kedvező immunológiai környezet kialakítása. Ennek a folyamatnak első lépése a magzati antigének anyai immunrendszer általi felismerése. Ebben, és a megfelelő válasz kialakításában fontos szerepet játszik egy, nem klasszikus HLA molekula, a korlátozott polimorfizmusú HLA-G, melynek különböző méretű és funkciójú szolúbilis vagy membránhoz kötött izoformái alakítják a lokális immunológiai környezetet, és szerepet játszanak az intratuterin fertőzésekkel szembeni védekezésben. A HLA-G expresszió genetikailag meghatározott. A gén adott helyein található öröklött vagy mutáció következtében kialakult változások határozzák meg, milyen izoformák termelődnek, milyen arányban képződik szolúbilis és membránhoz kötött forma.

A felismerés után megváltozott citokin-termelés profiljáról kialakult eddigi ismereteinket részben megerősítették, részben módosították a gén array technika nyújtotta lehetőségek. Meglepő módon több, korábban egyértelműen károsnak tekintett citokin gén aktiválódik a méhlepényben normális terhesség során, mégis egyértelmű különbség mutatható ki ezen gének aktiváltsági fokában pathológiás és normális terhesség között, az előbbiek javára. A habituális abortuszok genetikai vizsgálata során vált nyilvánvalóvá, hogy bizonyos HLA allotípusok szokványos vetéléssel társultan fordulnak elő. Feltehető, hogy ezek az allélek bizonyos, a terhesség kimenetele szempontjából kedvezőtlen hatású citokinek hyperszekréciónak idézik elő, és ilyen módon hozzájárulnak a terhesség idő előtti megszakadásához.

Kulcsszavak: *terhesség, antigénbemutató, természetes ölösejt, citokinegyensúly*

#### IRODALOM

- Chaouat, Gerard – Ledee-Bataille, N. – Zourbas, S. – Dubanchet, S. – Sandra, O. – Martal, J. – Ostojic, S. – Frydman, R. (2003): Implantation: Can Immunological Parameters of Implantation Be of Interest for Pre-Eclampsia? *Journal of Reproductive Immunology*. 59, 205–217.
- Chen, G. – Wilson, R. – Wang, S. H. – Zheng, H. Z. – Walker, J. J. – McKillop, J. H. (1996): Tumor Necrosis Factor Alpha Gene Polymorphism and Expression in Pre-Eclampsia. *Clinical and Experimental Immunology*. 104, 154–159.
- Fuzzi, Beatrice – Rizzo, R. – Criscuoli, L. – Noci, I. – Melchioni, L. – Scarselli, B. – Bencini, E. – Menicucci, A. – Baricordi, O. R. (2002): HLA-G Expression in Early Embryos Is a Fundamental Prerequisite for the Obtainment of Pregnancy. *European Journal of Immunology*. 32, 311–315.
- Hviid, Thomas Vauvert F. – Rizzo, R. – Christiansen, O. B. – Melchioni, L. – Lindhard, A. – Baricordi, O. R. (2004): HLA-G and IL-10 in Serum in Relation to *HLA-G* Genotype and Polymorphisms. *Immunogenetics*. 56, 135–141.
- Kruse, Christina – Steffensen, R. – Varming, K. – Christiansen, O. B. (2004): A Study of HLA-DR and -DQ Alleles in 588 Patients and 562 Controls Confirms That HLA-DRB1\*03 Is Associated with Recurrent Miscarriage. *Human Reproduction*. 19, 1215–1221.
- Kuhn, Ralf – Rajewsky, K. – Muller, W. (1992): *IL-4 and IL-10 Deficient Mice*. 8<sup>th</sup> International Congress of Immunology. (Abstr.). 03.
- Le Bouteiller, Philippe – Legrand-Abrevant, F. – Solier, C. (2003): Soluble HLA-G1 at the Materno-foetal Interface. *Placenta*. 17, 10–15.
- Pizzato, Nathalie – Gammy-Susini, B. – Le Bouteiller, P. – Lenfant, F. (2004): Differential Down Regulation of HLA-G and HLA-A2 or A-3 Cell Surface Expression Following Human Cytomegalovirus Infection. *Journal of Reproductive Immunology*. 62, 3–15.