

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

#### 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 sejt populációja, a  $\gamma/\delta$  T limfociták és az NKT sejtek is jelen vannak a feto-maternális érintkezési felületen (1,2,3), amely sejtek feladata egyelőre nem teljesen tisztázott.

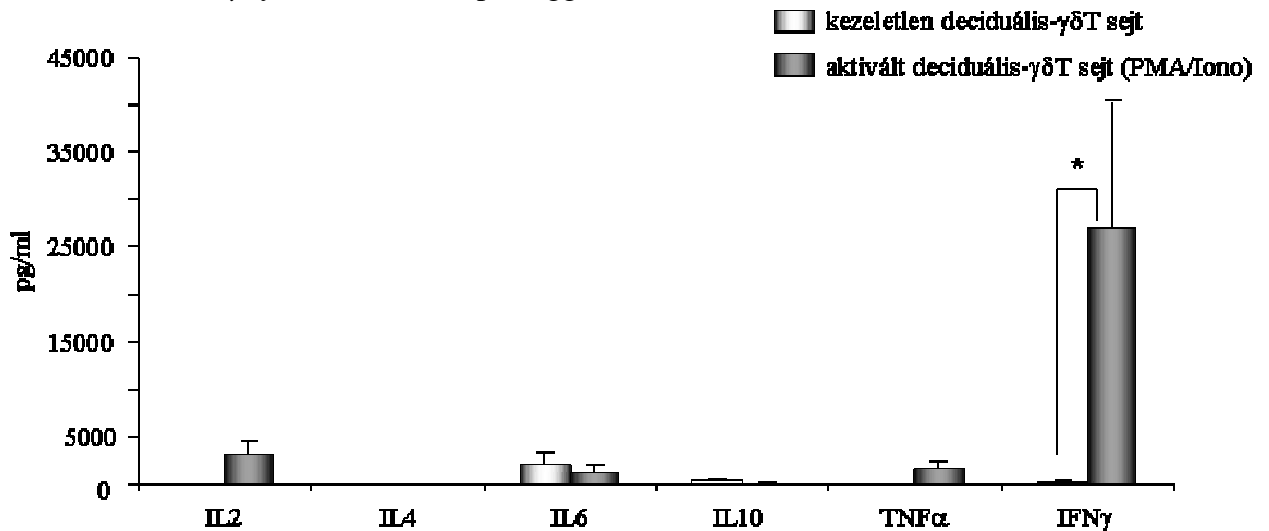
##### 1.1. Gamma/delta T sejtek

###### 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  $\gamma/\delta$  T sejteinek expressziós és funkcionális jellegzetességeit tanulmányoztuk.

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

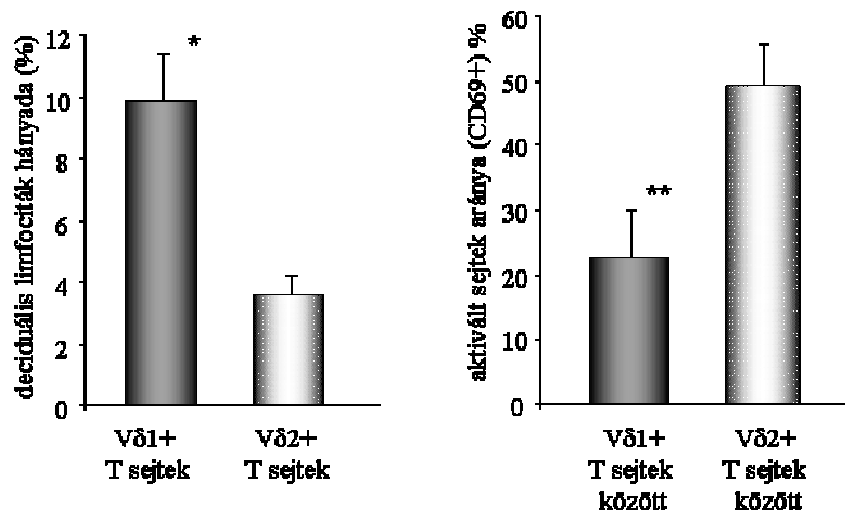


1. ábra (\* $\leq 0.05$ )

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

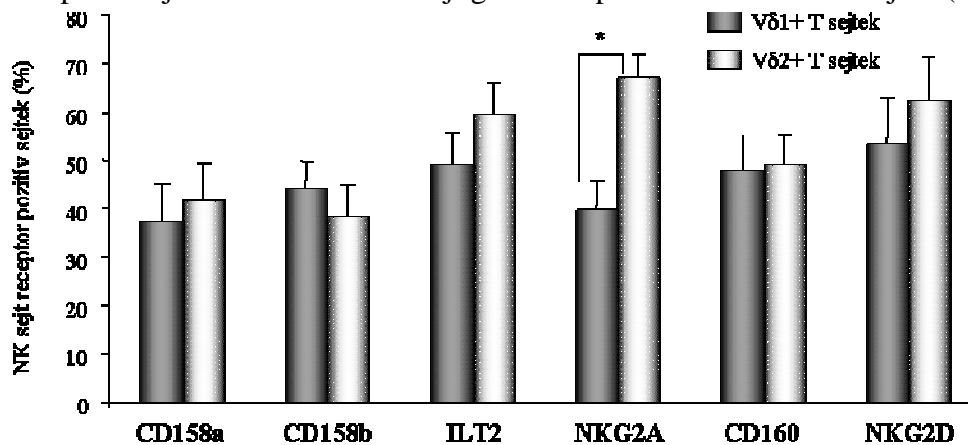
Eredményeink azt mutatják, hogy a deciduális  $\gamma/\delta$  T-sejtek (szemben a perifériás sejtekkel) nyugvó állapotban is képesek cytokintermelésre és aktiváció hatására több IFN- $\gamma$ , IL2 és IL6 cytokineket termelnek mint a perifériás  $\gamma/\delta$  T-sejtek. Mindez azt sugallja, hogy a deciduális  $\gamma/\delta$  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  $\gamma/\delta$  T sejtek között (más irodalmi adatokkal összhangban (2)) a V $\delta$ 1+ populáció mutatkozott dominánsnak, amely sejteknek azonban csupán egynegyede volt aktivált állapotú (2. ábra).



2. ábra (\*  $\leq 0.0001$ , \*\*  $\leq 0.01$ )

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



3. ábra (\* $\leq$ 0.001)

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

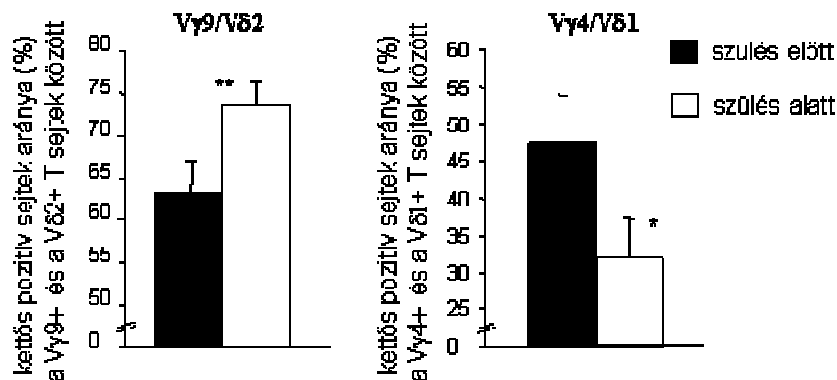
A kifejezettebb sejtölő potenciállal rendelkező V $\delta$ 2+ T limfocita csoport emelkedett NK sejt gátló receptor expressziója képes lehet a V $\delta$ 2+ sejtek kontrollálására, segítve ezzel az immunológiai kilökődés megakadályozását. A  $\gamma/\delta$  T sejtek jelenléte és működőképessége a deciduában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

### 1.1.2. Perifériás $\gamma/\delta$ T sejtek V $\gamma$ és V $\delta$ lánchasználatának megváltozása spontán szülés alatt

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

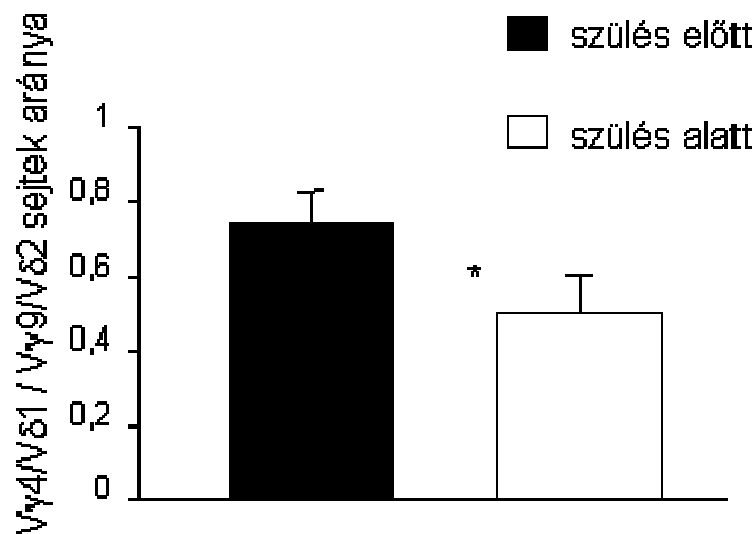
Vizsgálni kívántuk a szülés folyamatához kapcsolódó immunológiai változásokat is. Egészséges körülmények között a vajúdat ill. a szülést immunológiai reakciók is kísérik, úgymint a megváltozott citokinegyensúly (5,6,7) vagy bizonyos leukocita alpopulációk arányának és eloszlásának módosulása (8). Munkánk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

Eredményeink szerint egészséges spontán szülés során változatlan V $\gamma$ 9, V $\delta$ 2, V $\gamma$ 4 és V $\delta$ 1 láncléfordulás mellett nő a V $\gamma$ 9/V $\delta$ 2 és csökken a V $\gamma$ 4/V $\delta$ 1  $\gamma/\delta$  T populációk megjelenése. Emellett a  $\gamma/\delta$  T sejteken megemelkedik a V $\delta$ 2 receptorlánc V $\gamma$ 9 lánccal való kombinálódásának előfordulása, míg a V $\delta$ 1 lánckombinációja a V $\gamma$ 4 lánccal kevésbé gyakori (4. ábra).



4. ábra (\*\* $\leq$ 0.03, \* $\leq$ 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 (\* $\leq 0.01$ )

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

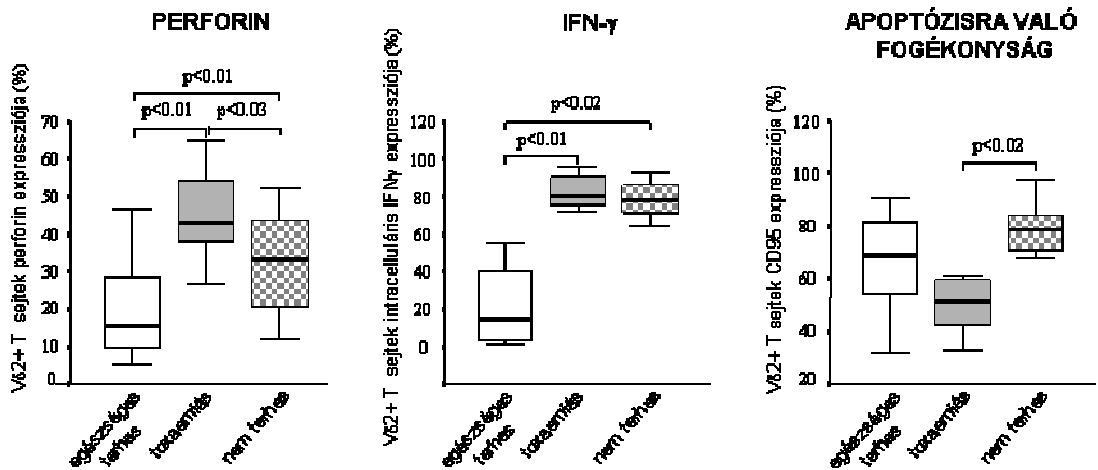
Eredményeink azt sugallják, hogy a  $\gamma/\delta$  T sejtpopulációkban bekövetkező fenotípus változások is szerepet játszanak a szülés alatt lezajló immunológiai folyamatokban.

### 1.1.3. Perifériás $\gamma/\delta$ T sejtek pathológiás terhességben

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

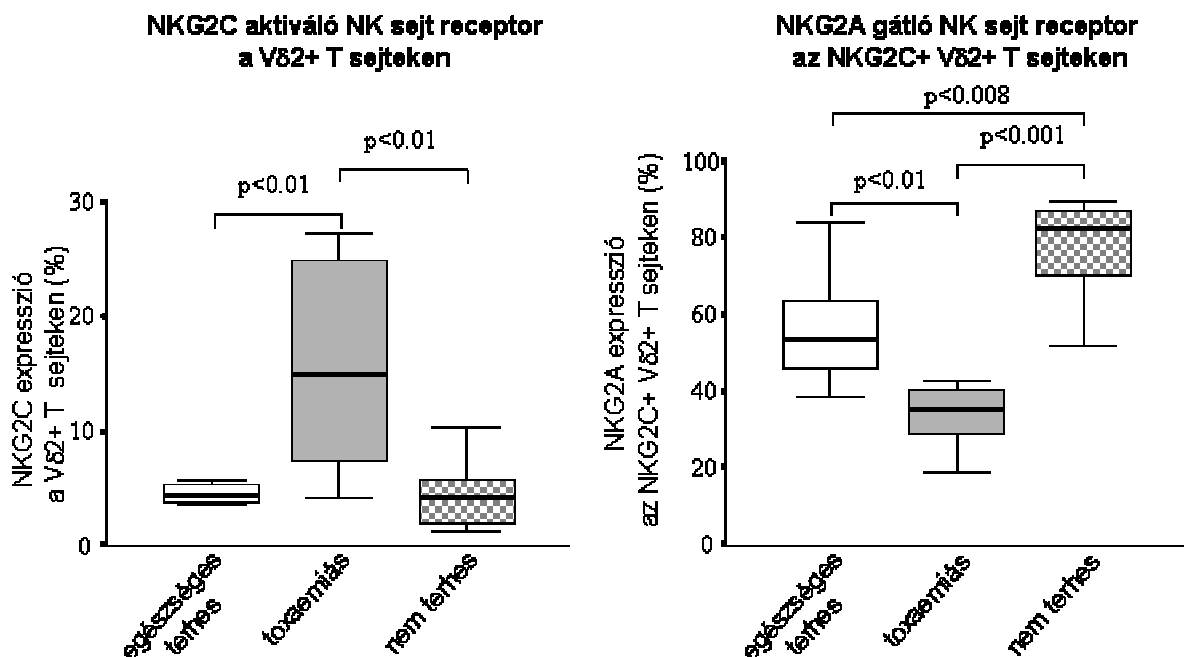
Más kísérleteinkben harmadik trimeszterbeli toxaemiás pathológiás terhes nők perifériás vérében vizsgáltuk a  $\gamma/\delta$  T sejteket. A toxaemia etiológiája nem teljesen tisztázott, a kutatási eredmények alapján immunológiai mechanizmusok is részt vesznek a betegség kialakításában. A betegség lefolyása 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 gyulladási immunválasz, vazóaktív anyagok felszabadulása és megváltozott endothel működés hatására jelentkeznek a klinikai tünetek, ami ödéma - szisztémás hipertónia - 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- $\gamma$  tartalom) illetve apoptózissal szemben kevésbé fogékonyak, ami hosszabb élettartamot kölcsönöz a sejteknek (6. ábra).



6. ábra

Vizgáltuk 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  $\gamma/\delta$  T

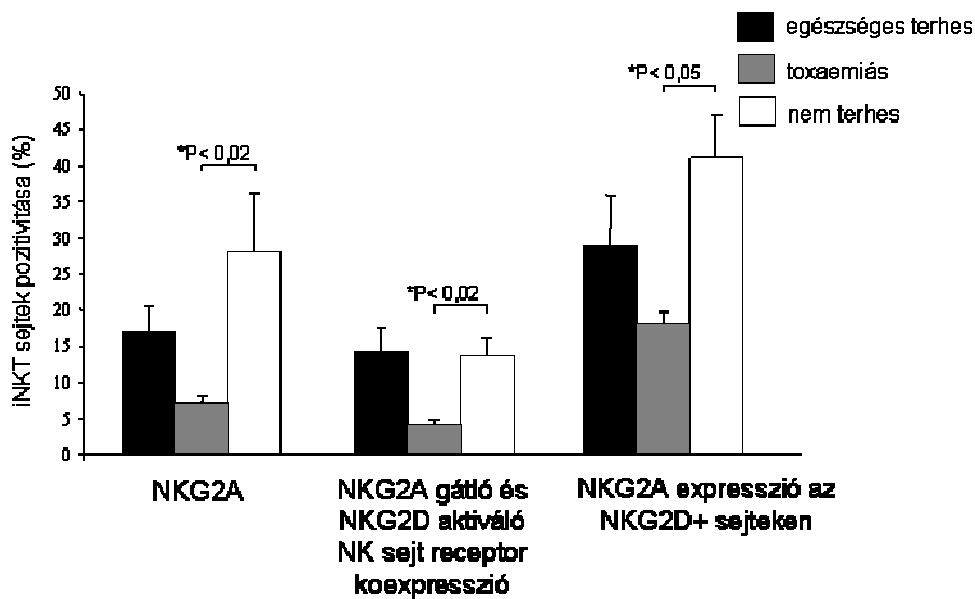
sejtekhez hasonlóan kapcsolódási pontot képezhetnek a természetes és a szerzett immunitás között, hiszen képesek effektor és regulatórikus funkciók betöltésére is (2,3).

### 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 háttérben 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.

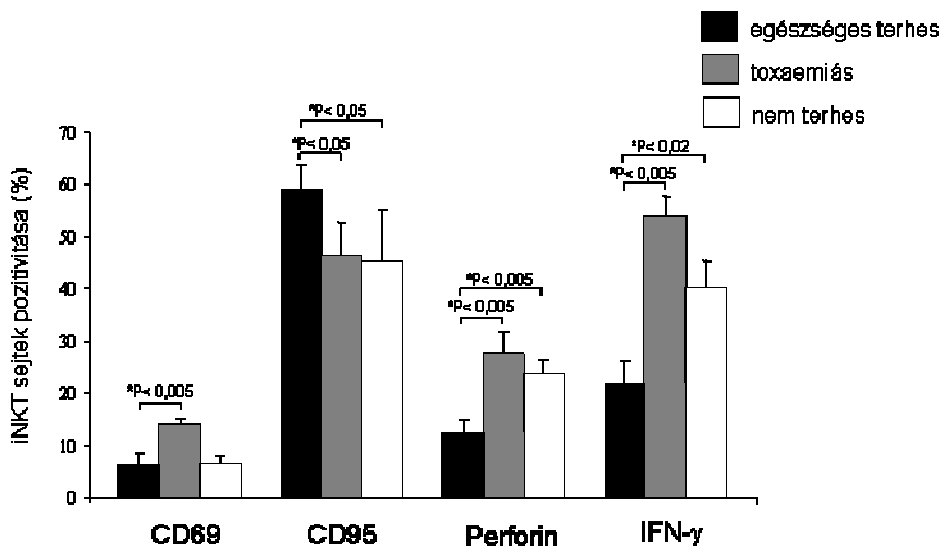
### 1.2.2. Perifériás iNKT sejtek szerepe a toxaemia pathogenezisében (*Am J Reprod Immunol 2008 Aug;60(2):118-26.*)

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- $\gamma$  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.

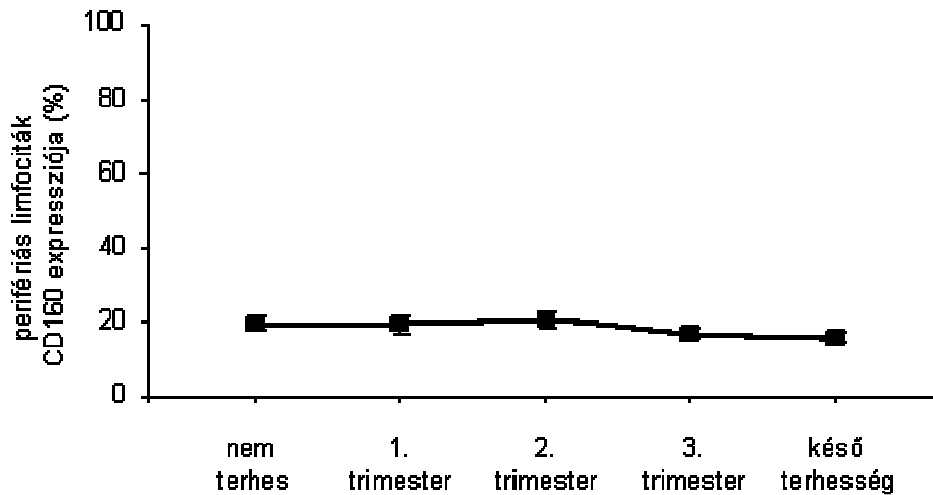
## 2. A CD160 NK sejt aktiváló receptor kifejeződése a természetes immunitás sejtjein és annak funkciója a terhesség során

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

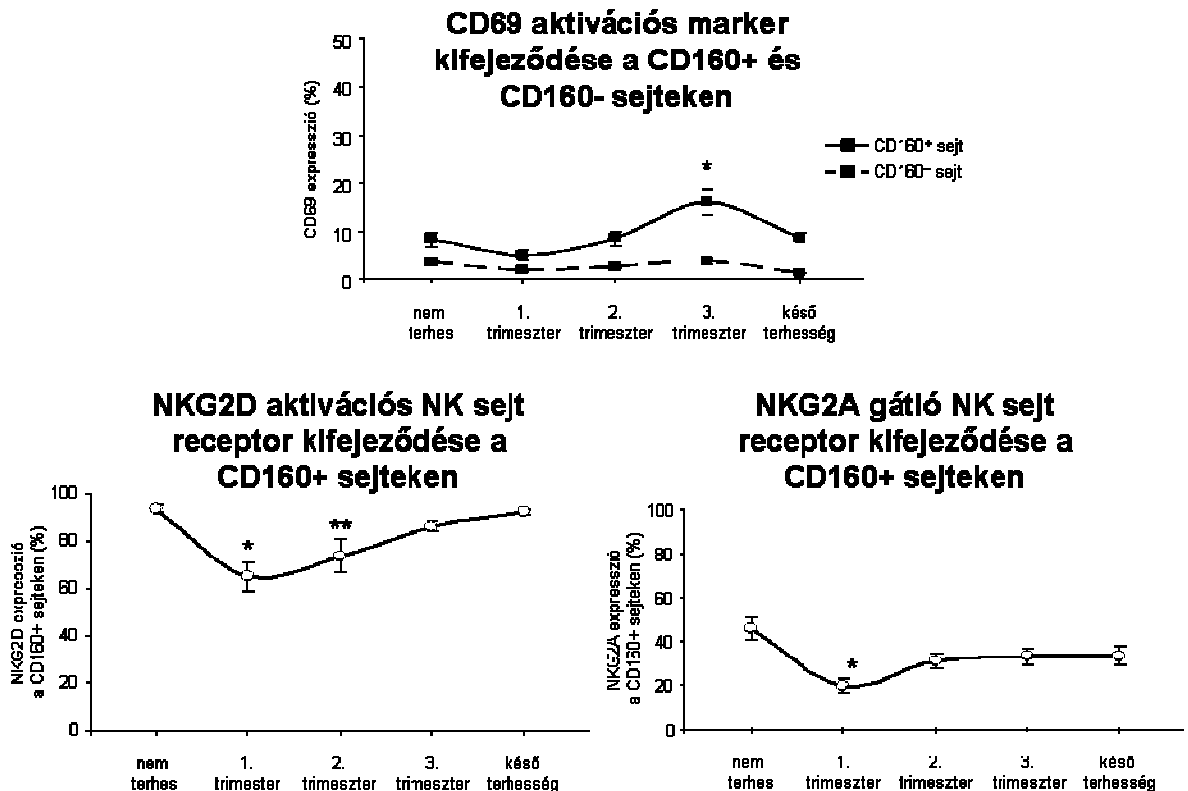
(*Am J Reprod Immunol: in press*)

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).

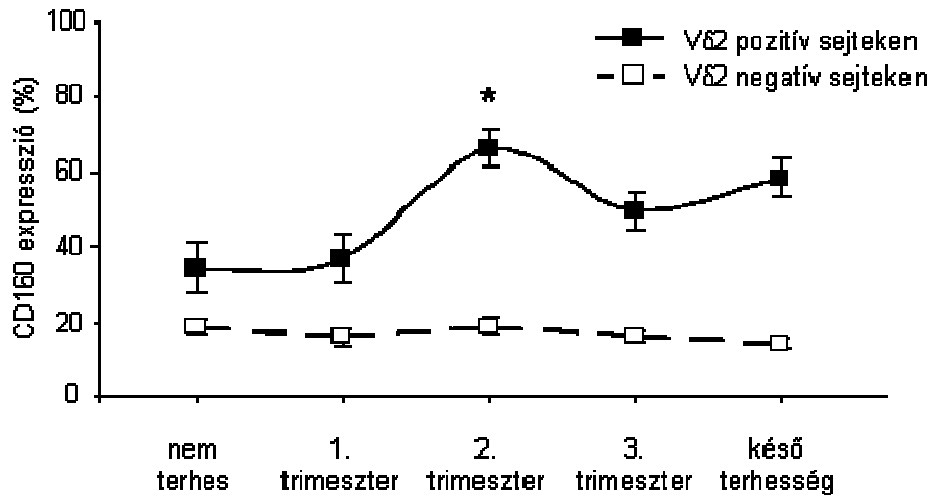


11. ábra

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



utal, hogy a V $\delta$ 2<sup>+</sup> sejteken kifejeződő CD160 receptor fontos funkcionális szereppel bírhat a terhesség ezen szakaszában. Ezt a hipotézist támasztja alá az a megfigyelés is, miszerint a V $\delta$ 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. azáltal, 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 recetor pozitív sejtek a decíduában

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

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

### 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).

	<b>sikeres IVF (n=8)</b>		P-érték
	<b>IVF előtt</b> (petesejtleszívás)	<b>IVF után</b> (embriotranszfer után 1 héttel)	
<b>CD160+ NKT sejtek</b>	<b>3,09±0,82</b>	<b>2,04±0,81</b>	<b>0,05</b>

	<b>sikertelen IVF (n=11)</b>		P-érték
	<b>IVF előtt</b> (petesejtleszívás)	<b>IVF után</b> (embriotranszfer után 1 héttel)	
<b>CD160+ NKT sejtek</b>	<b>1,57±0,36</b>	<b>2,2±0,5</b>	<b>0,04</b>

### 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 megkezdtük a CD160 receptor pozitív sejtek jelenlétének vizsgálatát toxaeмиás terhes nők perifériás vérében. Bevezető adataink azt mutatják, hogy a CD160+  $\gamma/\delta$  T sejtek szignifikánsan alacsonyabb mértékben vannak jelen a toxaeмиás betegek vérében, amely sejtek főként cytotoxikus V $\delta$ 2+ T limfocitáknak bizonyultak. A V $\delta$ 1+ T sejteken a CD160 expresszió nem változott. A toxaeмиás 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  $\gamma/\delta$  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.