·综 述·

程序性死亡 -1/ 程序性死亡配体 -1 及其相关因子在妊娠及复发性流产中的研究进展

马红交，李晓翠*

（上海同济大学附属第一妇婴保健院计划生育科，上海 201204）

摘要：母胎界面免疫耐受在维持妊娠期发挥着重要作用，而母体免疫功能异常是导致流产的原因之一。程序性死亡-1（programmed death 1，PD-1）及程序性死亡配体 -1（programmed death ligand 1，PD-L1）不仅是免疫检查点，也是当下维持妊娠期调控免疫平衡的研究热点之一。该文就 PD-1 和 PD-L1 及其相关因子在维持妊娠及复发性流产中的研究进展进行阐述，为预防流产和维持妊娠免疫耐受的相关研究提供新的参考。

关键词：程序性死亡-1；程序性死亡配体-1；维持妊娠；流产

中图分类号：R714.21　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1672-9188（2022）05-0633-05

DOI：10.13683/j.wph.2022.05.024

Research progress of PD-1/PD-L1 and its related factors in the maintenance of pregnancy and abortion

MA Hongjiao, LI Xiaocui*

(*Department of Family Planning, Shanghai First Maternity and Infant Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 201204, China*)

Abstract: Immune tolerance at the maternal-fetal interface plays an important role in maintaining pregnancy, and maternal immune dysfunction is one of the causes of abortion. Programmed death-1 (PD-1) and programmed death ligand-1 (PD-L1) not only act as an immune checkpoint, but also as one of the current research hotspots in maintaining immune balance during pregnancy. This article reviewed PD-1 and PD-L1 and their related factors in maintaining pregnancy and recurrent abortion, in order to provide a new reference on preventing abortion and maintaining immune tolerance in pregnancy.

Key words: PD-1; PD-L1; maintain pregnancy; abortion

复发性流产（recurrent abortion，RA）指在妊娠期连续发生 3 次及 3 次以上的自然流产，是临床中常见的妊娠期并发症。其发病机制较复杂，一般与染色体异常、母体因素和环境因素等相关，其中胚胎染色体异常最为常见[1]。近年来国内外研究表明[2-3]，RA 还与氧化应激、免疫抑制和炎症因子反应等相关。

程序性死亡 -1（programmed death-1，PD-1）与程序性死亡配体 -1（programmed cell death ligand-1，PD-L1）均是重要的免疫抑制分子，其可传导抑制性信号，通常在造血细胞（如成熟 $CD4^+$ T 细胞、$CD8^+$ T 细胞、B 细胞、树突状细胞及巨噬细胞等）中表达[4-5]。故本文就 PD-1/PD-L1 及其相关因子在维持妊娠及 RA 中的作用进行探讨。

收稿时间：2021-01-04；**修回时间：**2022-02-07

作者简介：马红交，住院医师，研究方向：复发性流产。

通信作者：李晓翠，副主任医师，研究方向：原因不明复发性流产机制研究、避孕机制研究等。

基金项目：上海市自然科学基金（20ZR1444000）

1 PD-1/PD-L1 与维持妊娠及流产的关系

近年来 PD-1/PD-L1 不仅被广泛应用于肿瘤治疗，且在系统性红斑狼疮、非胰岛素依赖型糖尿病等多种自身免疫性疾病中起着重要作用[6]。同时其相关机制被证实参与良好的维持妊娠及流产的发展过程[7-8]。

在胚胎着床及发育过程中，免疫细胞数量及免疫系统状态变化可直接影响妊娠的维持和结局。PD-1 可抑制人体细胞对免疫系统的反应，并通过抑制 T 细胞的炎症反应调节免疫系统，进而促进母体自身耐受性[9-10]。如 PD-1 的信号传导会使 $CD8^+$ T 细胞效应功能减弱，使其在外周免疫耐受的复杂机制中发挥重要作用[11-12]。而 PD-1 与其配体结合后，可抑制自身反应性 T、B 细胞和效应 T 细胞，从而诱导 T 细胞耐受[13]。故 PD-1/PD-L1 途径在维持有效免疫和母体自身耐受的平衡中具有重要作用。

PD-1/PD-L1 的可溶形式为可溶性程序性死亡蛋白 -1（soluble programmed death 1，sPD-1）和可溶性程序性死亡蛋白配体 -1（soluble programmed death ligand-1，sPD-L1），亦是人体重要的免疫抑制分子，其主要表达于活化 T 细胞表层[14]。sPD-1 与 sPD-L1 升高会抑制 T 细胞的激活而发挥负性调节作用[15-16]，从而引发机体产生免疫失调反应，导致流产发生。sPD-1 可通过竞争性抑制作用阻断 PD-L1 和 PD-1 之间的相互作用，增强 T 细胞活化能力[17]，促进母胎界面免疫耐受，进而有利于成功妊娠。有研究显示[18-19]，妊娠期女性血清中 sPD-L1 水平较非妊娠女性和产后女性高，而 sPD-1 水平则低于非妊娠女性。提示 sPD-L1 升高后可降低母体免疫应答能力，有利于诱导母体免疫耐受形成。

2 PD-1/PD-L1 维持妊娠及流产中的相关研究

2.1 调节 T 细胞亚群参与妊娠及流产

据文献[20]报道，PD-1 与 PD-L1 组成的新分子和刺激途径可提供免疫抑制信号，调节 T 细胞活化，维持外周免疫耐受和免疫激活之间的平衡。PD-1/PD-L1 诱导外周免疫耐受是通过促进调节性 T 细胞（regulatory T cells, Tregs）发育和抑制过度活跃的 T 细胞两种机制调节完成的[21]。Tregs 保持对同种异体器官的自身耐受性，阻断 PD-1/PD-L1 通路会引起 Tregs 变化[22]，降低细胞因子的释放及活力，进而导致流产发生。分泌白介素（interleukin，IL）-17 炎症因子的辅助性 T 细胞 17（helper T cell 17，Th17）与同种异体移植的排斥和耐受性缺失有关，Tregs 具有调节 Th17 的作用，RA 患者体内的 Th17 伴随 Tregs 降低而增加。Th1 细胞上 PD-1 低表达及 Th17 细胞上 PD-1 和 PD-L1 表达下降导致 T 细胞过度活化，抑制 Th1 细胞向 Tregs 转化，故 Th1 和 Th17 等效应 T 细胞上调或者 Tregs 缺失，均可导致流产发生[23-24]。Tregs 和 PD-1/PD-L1 途径在免疫应答调节中至关重要，两者阻断均可引起免疫耐受破坏和器官损伤[25]。另外，sPD-1 的异常表达通过抑制 PD-1/PD-L1 对 Tregs 的负性调节，使 Tregs 不能正常发挥免疫耐受作用[26]。Tregs 分泌的细胞因子转换生长因子（transforming growth factor，TGF）-β、IL-10 表达减少也会导致妊娠过程中无法形成有效免疫耐受，引发流产。

Wafula 等[27]为研究细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 -4（cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4，CTLA-4）和 PD-1 在由 Tregs 介导的小鼠胎儿妊娠过程中的作用，将从正常妊娠 14 d 的小鼠体内获得的 Tregs 静脉过继转移到已妊娠 2 d 易流产的小鼠体内，并分别在小鼠妊娠的 D0、D3、D6 和 D9 向腹膜内注射 250 μg 抗 PD-1 或抗 CTLA-4 单克隆抗体。结果发现阻断 PD-1 会消除 Tregs 的保护作用，而阻断 CTLA-4 不会干扰到其保护作用，表明 PD-1 是 Tregs 诱导胎儿保护的重要介质。Li 等[28]研究发现 RA 患者的蜕皮细胞中 PD-L1 分子及其信使 RNA 水平均下降，但正常早孕与 RA 患者体内 PD-1 的表达无显著差异，虽阻断 PD-1 对 Tregs 数量影响较小，但其可导致 Tregs 功能受损，表明 PD-L1 异常与 RA 的发生密切相关，且 Tregs 可通过 PD-1/PD-L1 通路发挥免疫抑制调节作用。Francesca 等[23]也证实阻

断 PD-L1 可导致模型小鼠胚胎丢失，同时外周淋巴组织中 Th17 和 Th1 细胞增加，进一步说明了 PD-L1 缺乏或减少参与自然流产的发病机理。

2.2 PD-1/PD-L1 影响巨噬细胞极化参与妊娠及流产

巨噬细胞在不同环境的刺激下可极化为不同的亚型，并参与调节一系列生殖过程，如胚胎植入、胎盘形成和分娩等[29]。巨噬细胞大致分为经典激活巨噬细胞 M1 和交替激活巨噬细胞 M2。与 M1 相比，M2 细胞具有免疫抑制能力，有助于组织重建，促进抗体介导的免疫应答反应，其中 M2 表型占优势的蜕膜巨噬细胞是妊娠早期母胎耐受的重要因素。Zhang 等[30]发现 PD-1 缺乏或阻断 PD-1 途径均可诱导单核细胞 / 巨噬细胞极化为 M1 表型。RA 患者体内 M1 表型的巨噬细胞增加，而 M2 型巨噬细胞含量降低，提示 M1 表型表达增加可能是流产的潜在原因。同时体内小鼠实验数据显示 PD-1 阻断或缺乏与母胎界面 M2 百分比降低和胚胎丢失相关。另有研究[31]认为通过 PD-1 阻断，使其信号增强导致巨噬细胞分化为 M1 型的糖酵解来调节巨噬细胞极化，提示 PD-1 阻断或缺乏促进 M1 巨噬细胞分化和抑制 M2 极化，减少巨噬细胞的吞噬作用并增加促炎细胞因子产生进而增加胚胎流产的风险。而 PD-L1 使巨噬细胞向 M2 表型极化，使吞噬活性增强有利于维持妊娠。巨噬细胞上 PD-1 和 PD-L1 表达功能的变化是导致 RA 患者在母胎界面观察到的糖尿病异常的原因。PD-1 信号传导亦是巨噬细胞分化和功能的主要调节因子，对妊娠成功至关重要。

2.3 PD-1/PD-L1 通过 3 型天然淋巴细胞（group 3 innate lymphoid cells，ILC3s）介导机制参与妊娠及流产

在人类蜕膜组织上发现的 ILC3s 被认为是维持妊娠持续发展的重要分子，可通过免疫检查点等相关分子机制调节其自身表达[32-33]。Vacca 等[34]指出在早期妊娠时，ILC3s 可表达抑制性检查点 PD-1 和 T 细胞免疫球蛋白及 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 3（T cell immunoglobulin mucin molecule-3，Tim-3），ILC3s 中 PD-1 的功能活性与胚胎滋养层细胞相互作用。该研究指出早期妊娠时 PD-1 高表达参与 ILC3s 功能调节，而随着妊娠的正常持续进行，其表达量逐渐下降。ILC3s 还可表达功能性 PD-1，PD-1 表达或功能的改变可破坏免疫耐受进而导致妊娠失败。该研究还表明 PD-L1 在母胎界面处的绒毛膜外滋养细胞中高表达。与正常妊娠者相比，RA 患者体内 PD-L1 表达水平较低，提示 PD-1/PD-L1 可通过调节 ILC3s 介导的母胎耐受机制防止妊娠早期胎儿排斥反应。

2.4 PD-1/PD-L1 与 Tim-3 共表达在妊娠过程中的作用

Tim-3 是 Tim 家族的一员，作为一种免疫负调控分子对免疫耐受起关键作用。临床研究中已证实 PD-1、PD-L1、Tim-3 三者可共同参与免疫调节机制，且 PD-1 与 Tim-3 正相关亦参与众多肿瘤发生发展机制，如口腔鳞癌、非小细胞肺癌及鼻咽癌等[35-37]。Wang 等[11]研究发现正常妊娠女性的蜕膜组织与 Tim-3 和 PD-1 的双重表达明显高于 RA 患者，表明 Tim-3 和 PD-1 共表达对维持母胎免疫耐受和成功妊娠具有重要作用。进一步动物模型显示：阻断 Tim-3 和（或）PD-1 抗体可导致雌鼠体内胎儿丢失。此外，Tim-3 和 PD-1 途径的双重阻断可导致宫内活胎数量进一步减少。两者还参与免疫排斥反应，增强母体免疫耐受，有利于降低流产的发生率。段忠亮等[38]研究发现 RA 患者的 Tim-3 和 PD-1 表达不足可引起免疫排斥反应及维持免疫耐受作用减弱。

王宋春等[39]研究发现，妊娠期 PD-1 和 Tim-3 可上调 $CD4^+$ T 细胞，促进母胎界面处的 Th2 偏向。该研究还发现在正常孕鼠模型中同时阻断 PD-1 和 Tim-3 通路，可减少 $CD4^+$ T 细胞的 Th2 型细胞因子的产生，引起胚胎流产风险增加。而何泽现等[40]研究发现妊娠期 Tim-3、PD-1 通过减弱单核细胞的抑制，使得 IL-12 分泌增加，IL-12 通过诱导 T 细胞向 Th1 细胞分化[41]，导致 Th1 型细胞因子干扰素（interferon，IFN）-γ 升高，Th2 型细胞因子 IL-4 表达水平降低，及间接调节 Th1/Th2 平衡偏向 Th1 细胞分化参与流产发生。

在 PD-1/PD-L1 与妊娠及流产相关性研究中发现，该通路可能是作为导致孕妇发生流产的一个重要因素，且对建立和维持胎儿 - 母亲免疫耐受具有重要意义。其通过调节 Tregs 功能起到维持妊娠作用的同时，调节巨噬细胞分化和功能，达到预防妊娠丢失的目的。在人类蜕膜组织中 ILC3s 功能性表达 PD-1 与 PD-L1 相互作用维持母胎界面的免疫调节平衡，及与 Tim-3 的共表达可增强母体免疫耐受进而维持妊娠发展。

3 结语

PD-1/PD-L1 作为诱导或维持免疫细胞活化和耐受的关键调控因子，在维持妊娠和 RA 中起着重要作用。当 RA 患者体内出现 PD-1/PD-L1 异常表达导致免疫系统变化时，可能是引发 RA 的原因之一。这提示我们可将其作为 RA 患者的检测指标之一，为临床治疗提供参考。目前相关临床研究还在推进，PD-1/PD-L1 在维持妊娠及流产中的作用仍有待进一步开展。

参考文献：

[1] 乐杰. 妇产科学[M]. 7 版, 北京: 人民卫生出版社, 2008: 85.

[2] 左立莹, 田莉. 体外受精-胚胎移植妊娠自然流产相关因素研究进展[J]. 实用妇产科杂志, 2021, 37(10): 752-755.

[3] Liao AH, Liu H. The epigenetic regulation of the immune system during pregnancy[J]. Am J Reprod Immunol, 2021: 365-385.

[4] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, *et al*. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death[J]. EMBO J, 1992, 11(11): 3887-3895.

[5] Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity[J]. Immunol Rev, 2010, 236: 219-242.

[6] Takeuchi M, Doi T, Obayashi K, *et al*. Soluble PD-L1 with PD-1-binding capacity exists in the plasma of patients with non-small cell lung cancer[J]. Immunol Lett, 2018, 196: 155-160.

[7] 张永红, 廖爱华. PD-1/PD-L1 信号通路在妊娠中的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(1): 126-130.

[8] 朱一喜, 何树光, 陈超英, 等. PD-1/PD-L1 在复发性流产患者外周血 T 淋巴细胞中的表达及意义[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(1): 98-102.

[9] Syn NL, Teng MWL, Mok TSK, *et al*. De-novo and acquired resistance to immune checkpoint targeting[J]. Lancet Oncol, 2017, 18(12): e731-e741.

[10] Fife BT, Pauken KE. The role of the PD-1 pathway in autoimmunity and peripheral tolerance[J]. Ann N Y Acad Sci, 2011, 1217(1): 45-59.

[11] Wang SC, Li YH, Piao HL, *et al*. PD-1 and Tim-3 pathways are associated with regulatory $CD8^+$ T-cell function in decidua and maintenance of normal pregnancy[J]. Cell Death Dis, 2015, 6(5): e1738.

[12] Riella LV, Paterson AM, Sharpe AH, *et al*. Role of the PD-1 pathway in the immune response[J]. Am J Transplant, 2012, 12(10): 2575-2587.

[13] Mishra AK, Kadoishi T, Wang X, *et al*. Squamous cell carcinomas escape immune surveillance via inducing chronic activation and exhaustion of $CD8^+$ T Cells co-expressing PD-1 and LAG-3 inhibitory receptors[J]. Oncotarget, 2016, 7(49): 81341-81356.

[14] Birtas Atesoglu E, Tarkun P, Demirsoy ET, *et al*. Soluble programmed death 1(PD-1) is decreased in patients with immune thrombocytopenia(ITP) potential involvement of PD-1 pathway in ITP immunopathogenesis[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2016, 22(3): 248-251.

[15] 吕治安, 王娟妮, 杨艳艳. 探讨 sPD-1 和 sPD-L1 在原发性肾病综合征患者中的表达及其临床意义[J]. 临床肾脏病杂志, 2020, 20(3): 223-226.

[16] Ding Y, Sun C, Li J, *et al*. The prognostic significance of soluble programmed death ligand 1 expression in cancers: a systematic review and meta-analysis[J]. Scand J Immunol, 2017, 86(5): 361-367.

[17] Amancha PK, Hong JJ, Rogers K, *et al*. *In vivo* blockade of the programmed cell death-1 pathway using soluble recombinant PD-1-Fc enhances $CD4^+$ and $CD8^+$ T cell responses but has limited clinical benefit[J]. J Immunol, 2013, 191(12): 6060-6070.

[18] Enninga EAL, Harrington SM, Creedon DJ, *et al*. Immune checkpoint molecules soluble program death ligand 1 and galectin-9 are increased in pregnancy[J]. Am J Reprod Immunol, 2018, 79(2): e12795.

[19] Okuyama M, Mezawa H, Kawai T, *et al*. Elevated soluble

PD-L1 in pregnant women's serum suppresses the immune reaction[J]. Fronti Immunol, 2019, 10: 86.

[20] Zhang Y, Liu Z, Tian M, *et al*. The altered PD-1/PD-L1 pathway delivers the 'one-two punch' effects to promote the Treg/Th17 imbalance in pre-eclampsia[J]. Cell Mol Immunol, 2018, 15(7): 710-723.

[21] Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, *et al*. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection[J]. Nat Immunol, 2007, 8(3): 239-245.

[22] Okazaki T, Honjo T. The PD-1–PD-L pathway in immunological tolerance[J]. Trends Immunol, 2006, 27(4): 195-201.

[23] D'Addio F, Riella LV, Mfarrej BG, *et al*. The link between the PDL1 costimulatory pathway and Th17 in fetomaternal tolerance[J]. J Immunol, 2011, 187(9): 4530-4541.

[24] Lee SK, Kim JY, Hur SE, *et al*. An imbalance in interleukin-17-producing T and Foxp3^{+}regulatory T cells in women with idiopathic recurrent pregnancy loss[J]. Hum Reprod, 2011, 26(11): 2964-2971.

[25] Zhang YH, Tian M, Tang MX, *et al*. Recent insight into the role of the PD-1/PD-L1 pathway in feto-maternal tolerance and pregnancy[J]. Am J Reprod Immunol, 2015, 74(3): 201-208.

[26] 祝丽琼, 陈慧, 刘梅兰, 等. 不明原因复发性流产患者外周血 Treg 细胞及细胞因子 TGF-β、IL-10 的表达及临床意义[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(1): 96-99.

[27] Wafula PO, Teles A, Schumacher A, *et al*. PD-1 but not CTLA-4 blockage abrogates the protective effect of regulatory T cells in a pregnancy murine model[J]. Am J Reprod Immunol, 2009, 62(5): 283-292.

[28] Li G, Lu C, Gao J, *et al*. Association between PD-1/PD-L1 and T regulate cells in early recurrent miscarriage[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(6): 6512-6518.

[29] Zhang YH, He M, Wang Y, *et al*. Modulators of the balance between M1 and M2 macrophages during pregnancy[J]. Front Immunol, 2017, 8: 120.

[30] Zhang Y, Ma L, Hu X, *et al*. The role of the PD-1/PD-L1 axis in macrophage differentiation and function during pregnancy[J]. Hum Reprod, 2019, 34(1): 25-36.

[31] Liu PS, Wang H, Li X, *et al*. α-Ketoglutarate orchestrates macrophage activation through metabolic and epigenetic reprogramming[J]. Nat Immunol, 2017, 18(9): 985-994.

[32] Vacca P, Pesce S, Greppi M, *et al*. PD-1 is expressed by and regulates human group 3 innate lymphoid cells in human decidua[J]. Mucosal Immunol, 2019, 12(3): 624-631.

[33] Diefenbach A, Colonna M, Koyasu S. Development, differentiation, and diversity of innate lymphoid cells[J]. Immunity, 2014, 41(3): 354-365.

[34] Vacca P, Pesce S, Greppi M, *et al*. PD-1 is expressed by and regulates human group 3 innate lymphoid cells in human decidua[J]. Mucosal immunol, 2019, 12(3): 624-631.

[35] 于少华, 张易青. 探讨 Tim-3 和 PD-1/PD-L1 在非小细胞肺癌中表达的意义[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(30): 24.

[36] 王秀娟. Tim-3、PD-1 在鼻咽癌患者NK细胞上的表达及临床意义研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2020.

[37] 史慧洁. PD-1, TIM-3 在口腔鳞癌组织和外周血T细胞表达的相关性研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2019.

[38] 段忠亮, 施幼豪, 李明清, 等. 复发性自然流产患者 T 细胞中 Tim-3 和 PD-1 的表达[J]. 检验医学, 2016, 31(6): 474-478.

[39] Wang S, Zhu X, Xu Y, *et al*. Programmed cell death-1 (PD-1) and T-cell immunoglobulin mucin-3 (Tim-3) regulate CD4^{+} T cells to induce Type 2 helper T cell (Th2) bias at the maternal–fetal interface[J]. Human Reprod, 2016, 31(4): 700-711.

[40] 何泽现, 王健, 穆雅琴, 等. 原因不明复发性流产患者外周血单核细胞上 Tim-3 和 PD-1 的表达及意义[J]. 免疫学杂志, 2017, 33(4): 321-326.

[41] Chen CJ, Hou JW, Chiang BL. The difference in immune response and IL-12p35 methylation between newborns and adults[J]. J Biomed Sci, 2014, 21(1): 76.

(编辑：沈佳婕)