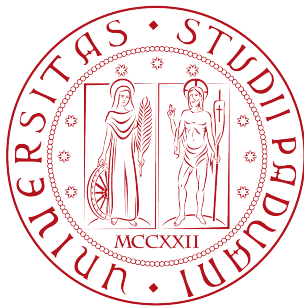


# Il feto è un trapianto allogenico tollerato?

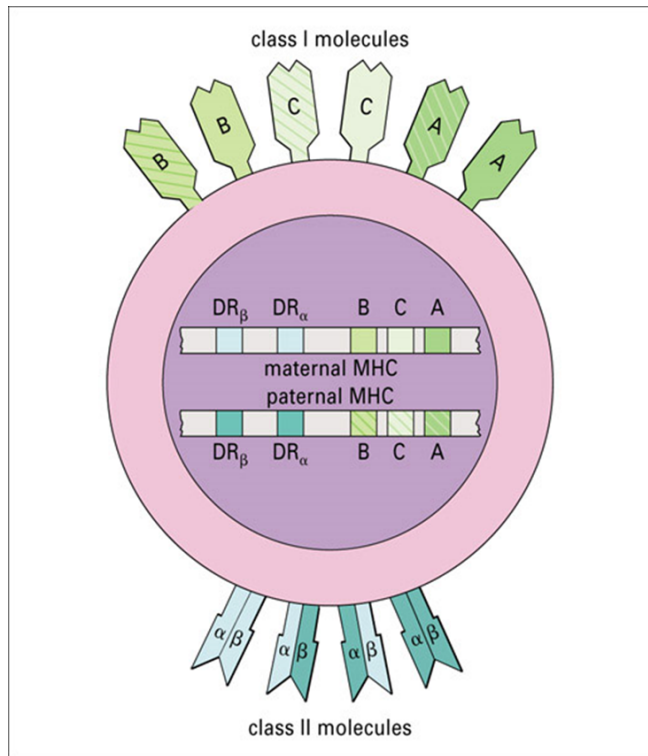
**Alberto Amadori, MD**



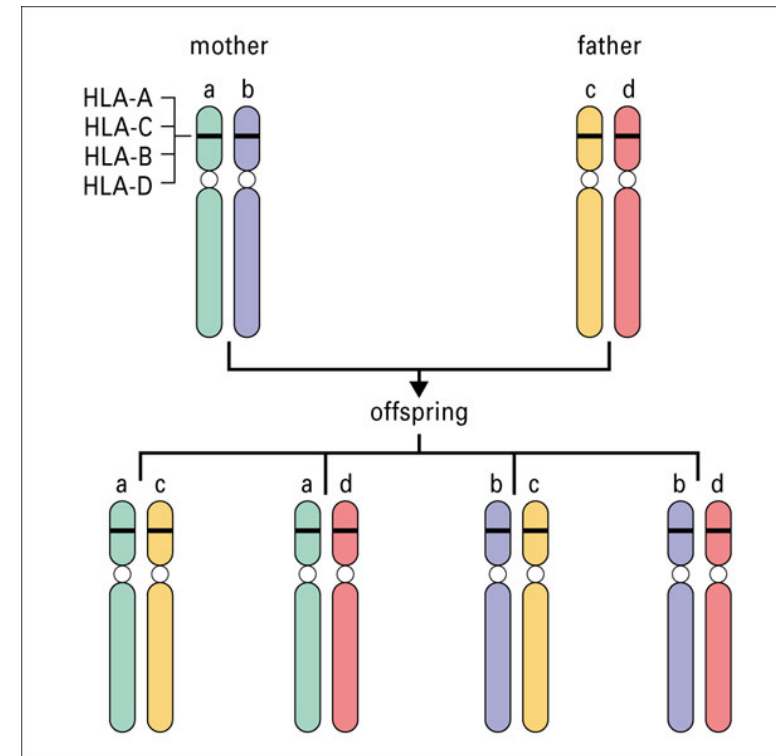
**Highlights in Hematology  
Treviso, 18 Novembre 2017**



gli aplotipi MHC di entrambi i genitori sono ereditati dai figli



© Fleshandbones.com Roitt et al: Immunology 6E



© Fleshandbones.com Roitt et al: Immunology 6E

***Gli antigeni HLA vengono riconosciuti dai linfociti T del ricevente in maniera «diretta» per cross-reattività (ossia senza bisogno di presentazione da parte di Antigen Presenting Cells - APC)***

## Antigeni minori di Istocompatibilità

- quasi ogni prodotto di geni polimorfi (presenti in diverse forme alleliche) può funzionare da antigene minore
- i primi ad essere descritti furono gli antigeni del **cromosoma Y** del maschio che inducevano rigetto dei tessuti maschili trapiantati nella femmina dello stesso ceppo
- ***vengono riconosciuti in maniera «indiretta» (ossia presentati dalle APC del ricevente ai linfociti T)***

# ***I TRE PROBLEMI DELLA GRAVIDANZA:***

## ***1. PROMUOVERE L'ATTECCIMENTO DEL TRAPIANTO SEMI-ALLOGENICO***

*dNK- Macrofagi M2-IL-10, DC pro-angiogeniche e pro-NK, MILD INFLAMMATION*

## ***2. GARANTIRE LA TOLLERANZA DEL TRAPIANTO SEMI-ALLOGENICO***

*no DR expression, poor Class I expression, only indirect presentation, DC entrapment, no lymphatics and Th2 skewing, LINFOCITI Treg, CELLULE NK, Macrofagi M2-IL-10, exosomes with fetal antigens and TGF-beta/other suppressant, silencing produzione deciduale di chemochine*

## ***3. PROTEGGERE IL FETO DALLE INFEZIONI***

*Macrofagi M1, neutrofili, chemokines produced by trophoblast*

*(la gravidanza è accompagnata da una depressione generalizzata che può favorire le infezioni (locali o anche sistemiche), e queste possono causare interruzioni della tolleranza)*

**LA GRAVIDANZA PUO' ESSERE  
DIVISA IN DUE PERIODI:**

1)

**UNA PRIMA FASE**

**INFIAMMATORIA**, CHE FAVORISCE  
L'IMPIANTO con produzione di  
citochine infiammatorie quali **IL-6**,  
**IL-15**, **TNF** e chemochine che  
reclutano cellule linfo-monocitoidi,  
tra cui particolarmente importanti  
le **cellule NK**

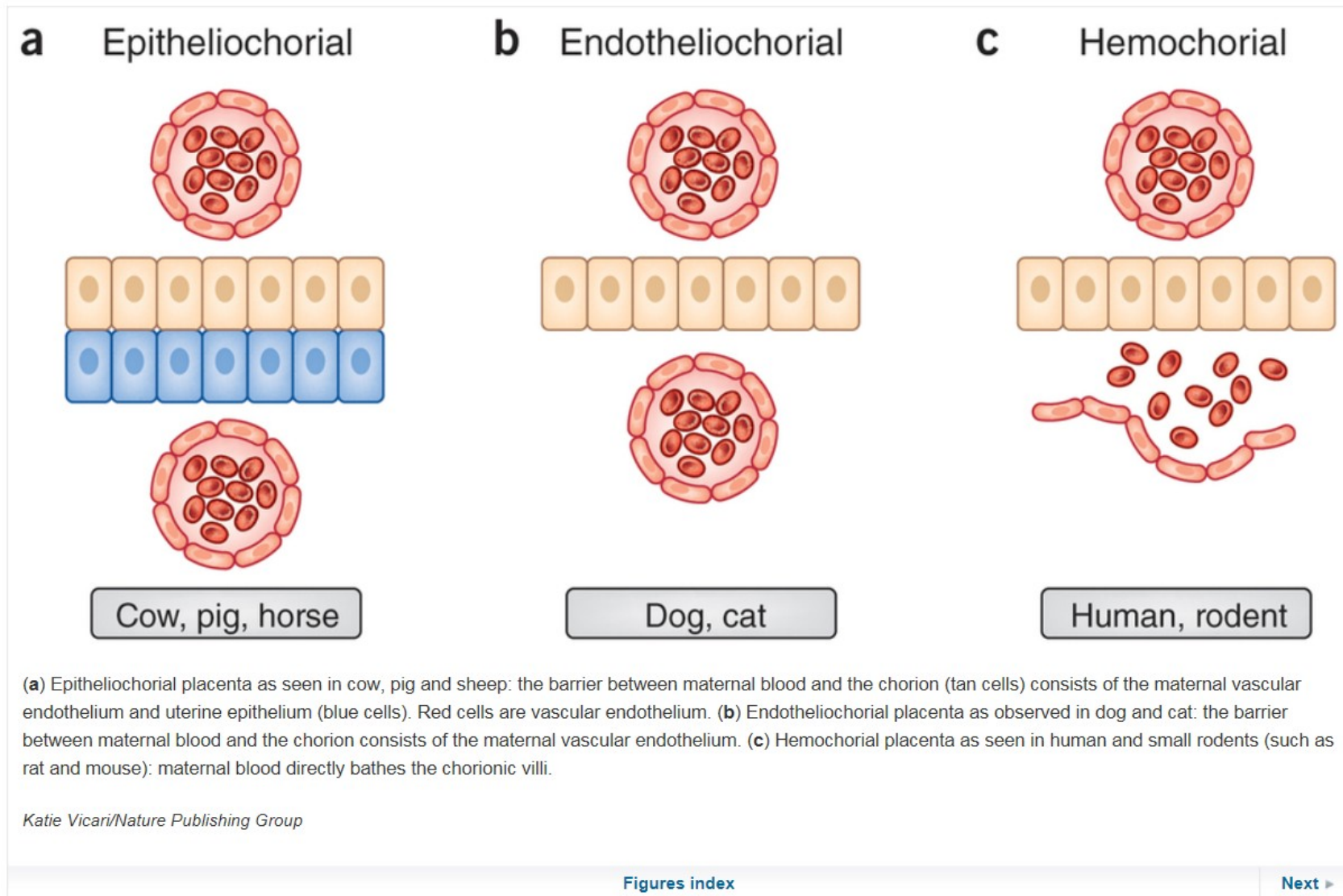
*E' una situazione che in un certo  
senso ricorda il trapianto di midollo  
osseo: la risposta del midollo  
trapiantato deve essere minima per  
evitare una GVHD, ma non  
completamente assente perché  
altrimenti le cellule del trapianto  
non attecchiscono*

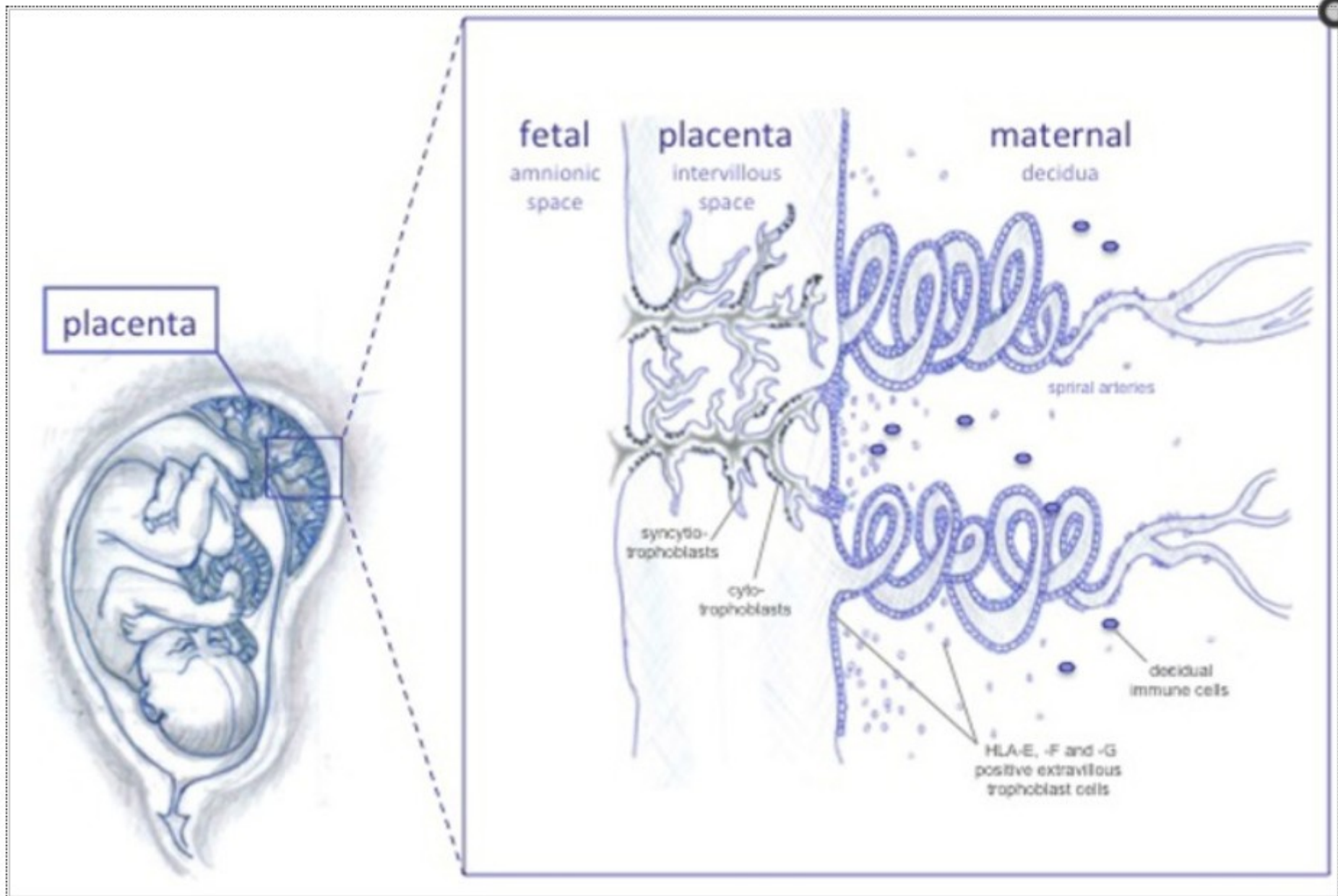
2)

**UNA FASE DI GESTAZIONE**, CHE  
FAVORISCE FENOMENI DI  
**TOLLERANZA**



# I MODELLI SPERIMENTALI SONO UN PROBLEMA.....





# ***I TRE PROBLEMI DELLA GRAVIDANZA:***

## ***1. PROMUOVERE L'ATTECCHIMENTO DEL TRAPIANTO SEMI-ALLOGENICO***

***dNK- Macrofagi M2 - IL-10, DC pro-angiogeniche e pro-NK, MILD INFLAMMATION***

## ***2. GARANTIRE LA TOLLERANZA DEL TRAPIANTO SEMI-ALLOGENICO***

***no DR expression, poor Class I expression, only indirect presentation, DC entrapment, no lymphatics and Th2 skewing, LINFOCITI Treg, CELLULE NK, Macrofagi M2-IL-10, exosomes with fetal antigens and TGF-beta/other suppressant, silencing produzione deciduale di chemochine***

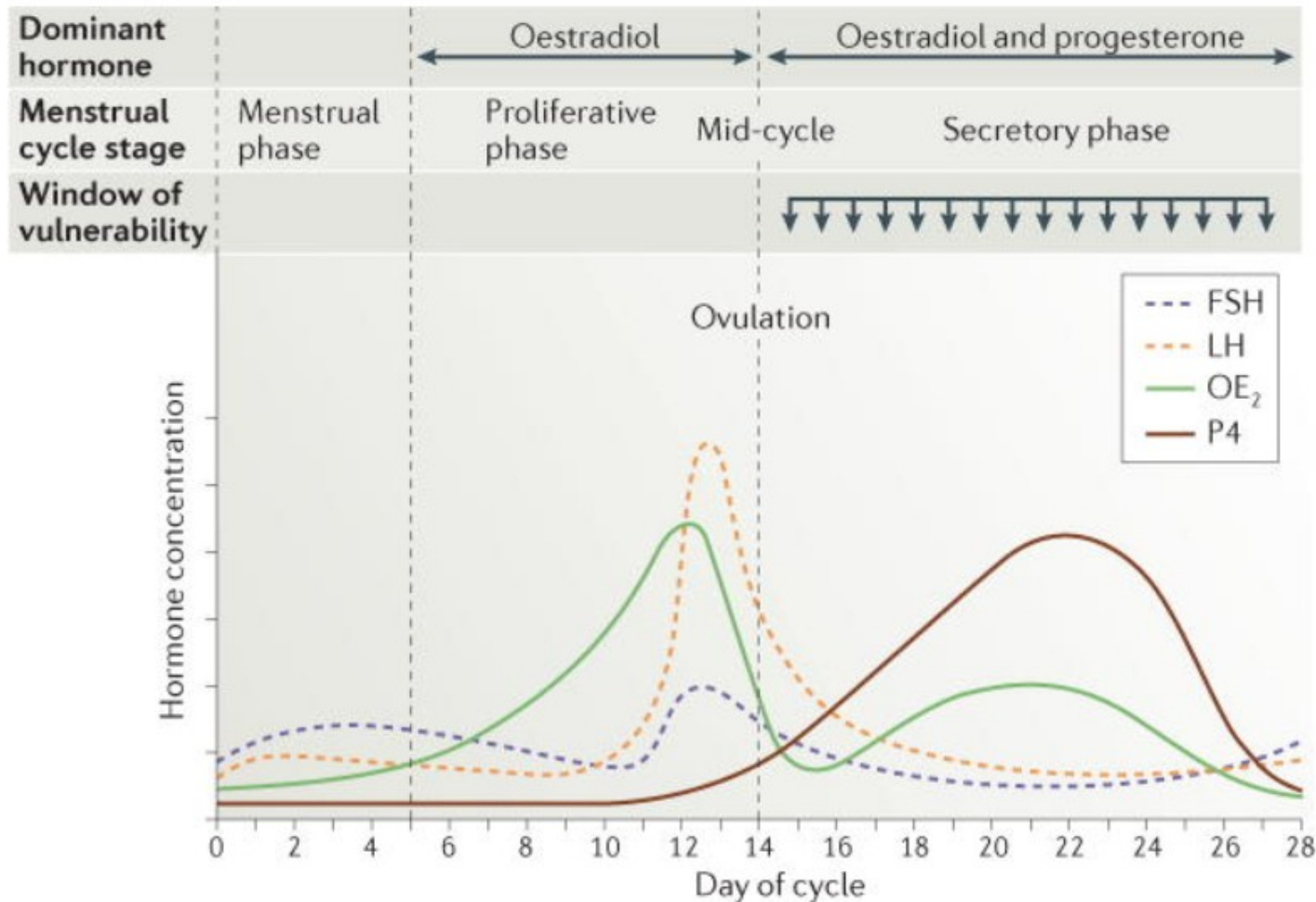
## ***3. PROTEGGERE IL FETO DALLE INFEZIONI***

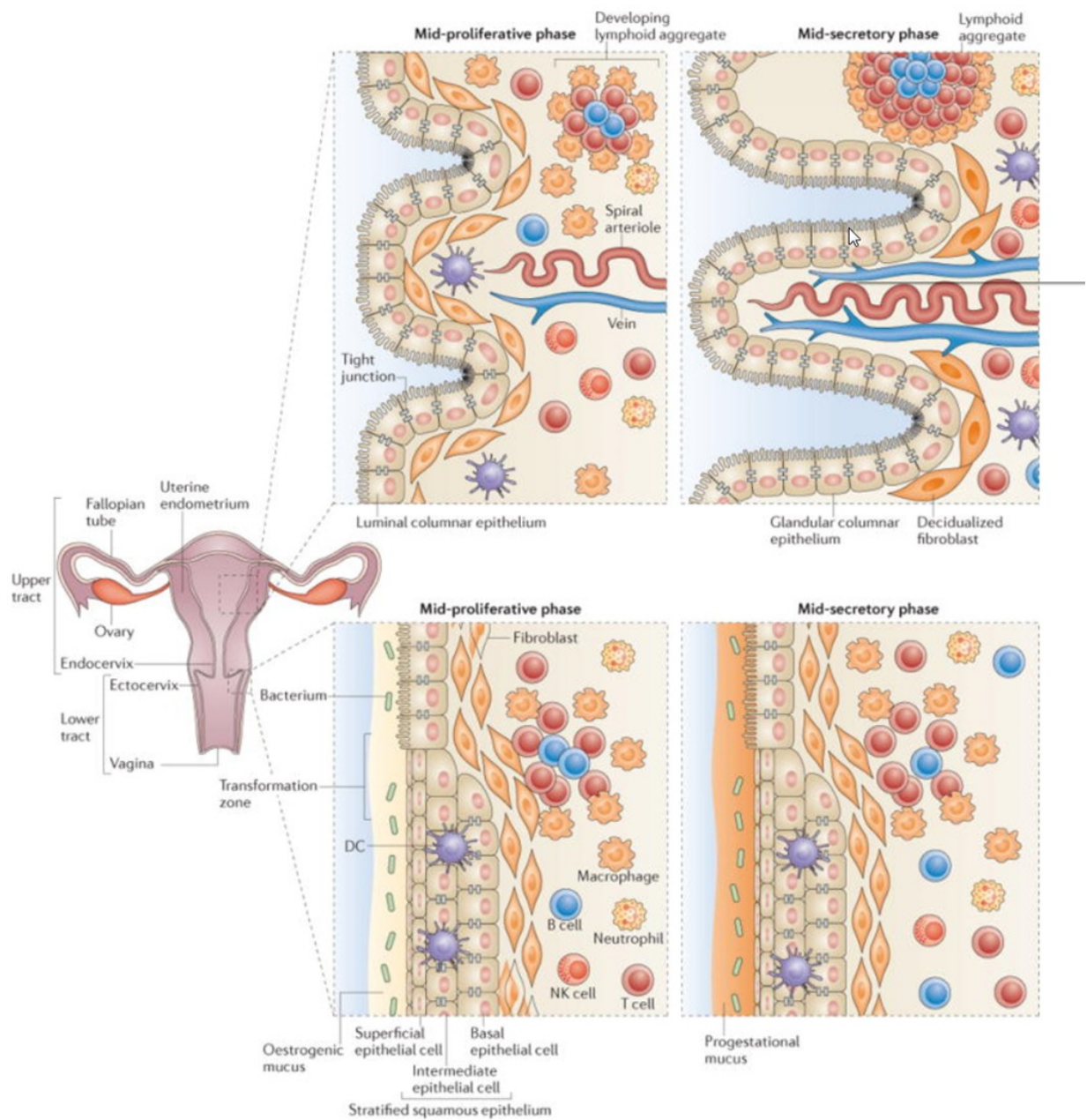
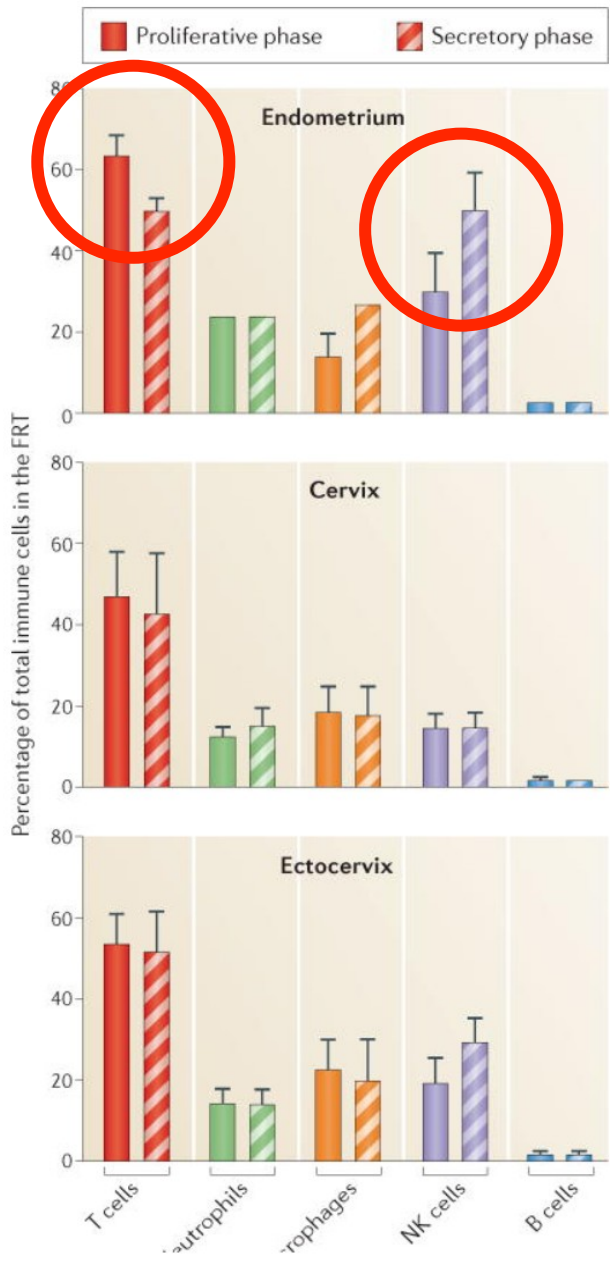
***Macrofagi M1, neutrofili, chemokines produced by trophoblast***

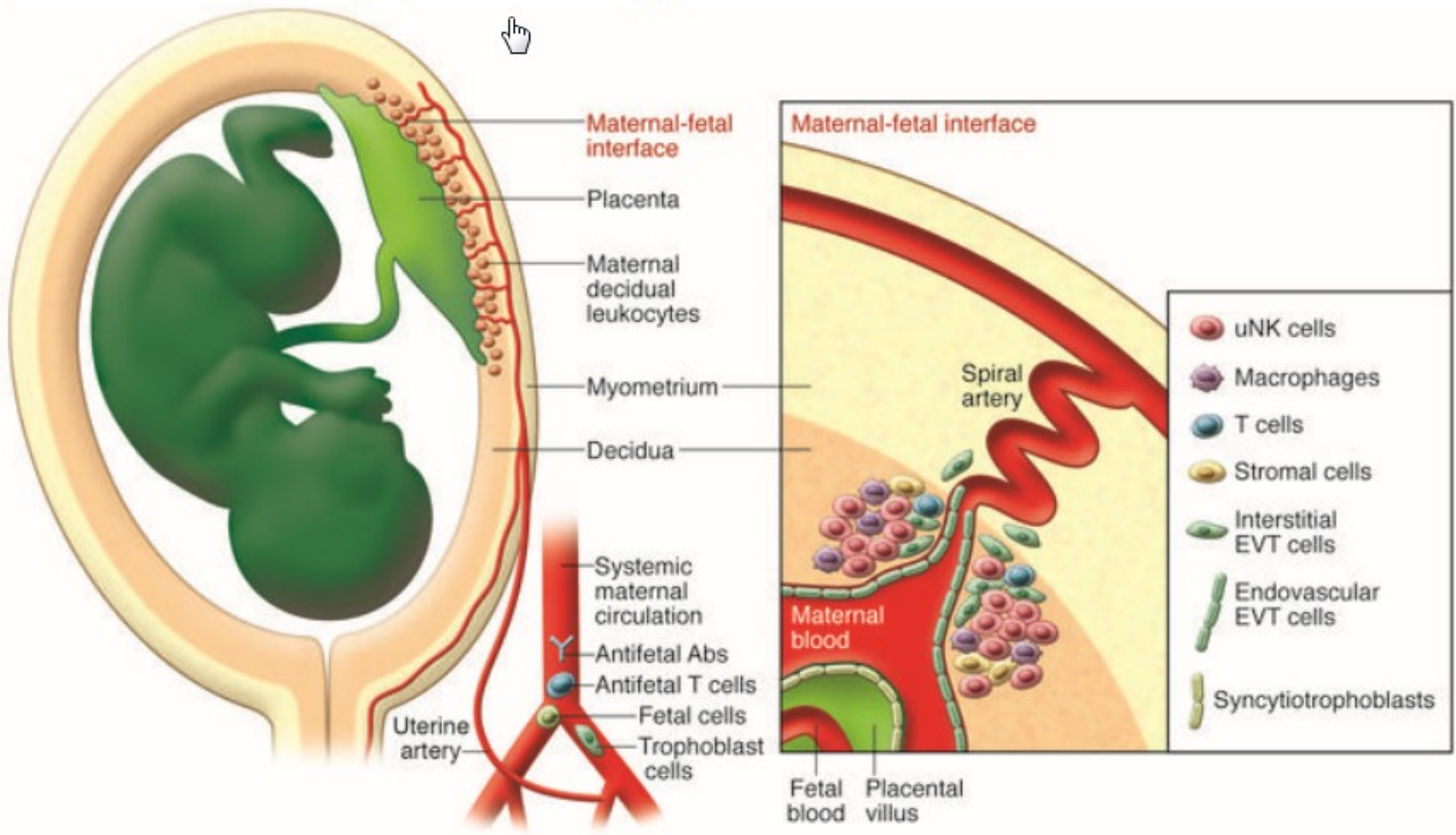
***(la gravidanza è accompagnata da una depressione generalizzata che può favorire le infezioni (locali o anche sistemiche) , e queste possono causare interruzioni della tolleranza)***

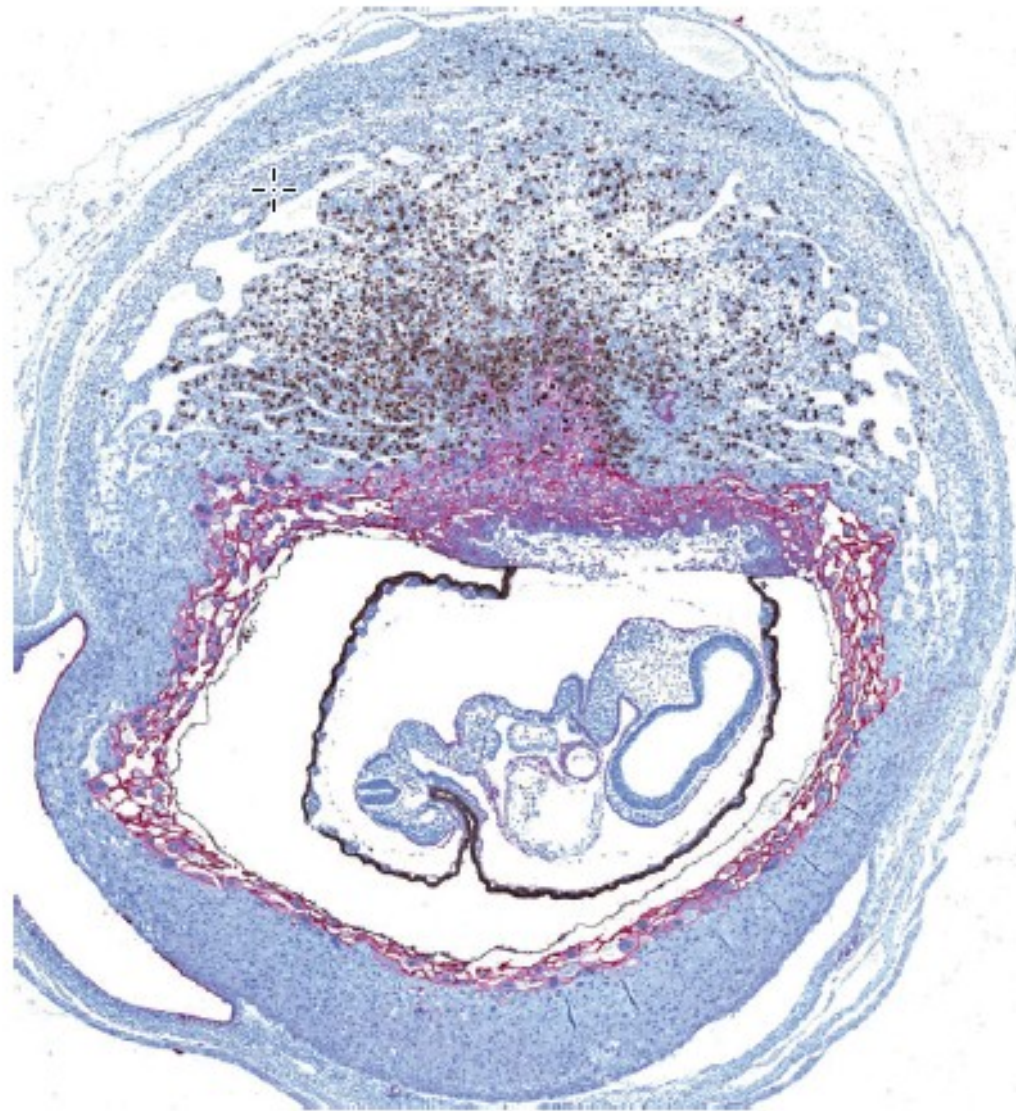


# ***Effetto degli ormoni sul sistema immunitario***







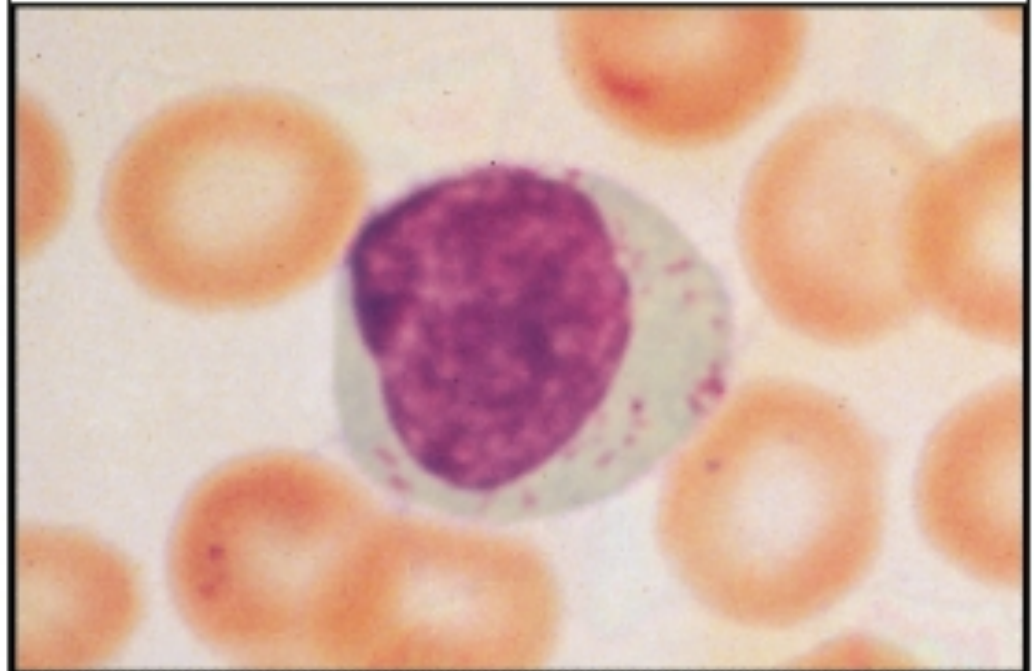
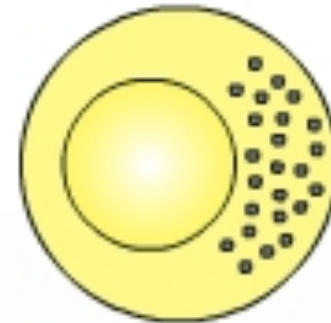


DBA = maternal NK cells

Cytokeratin = fetal trophoblast cells

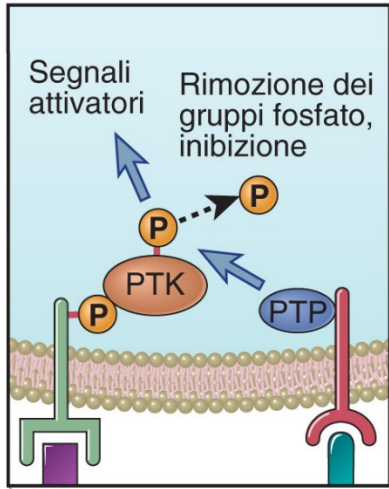
# *Le cellule NK*

Natural killer (NK) cell

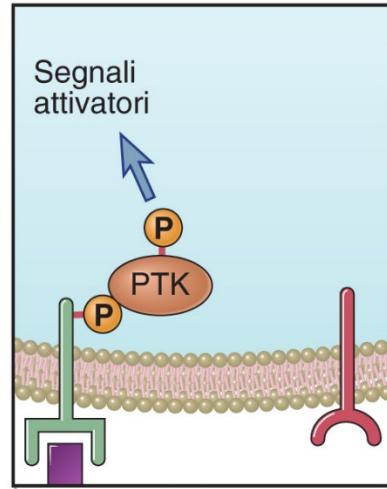


Releases lytic granules that kill some virus-infected cells

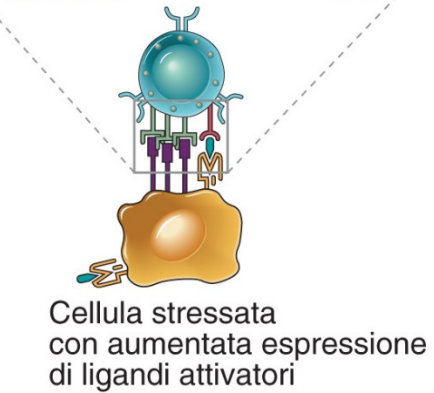
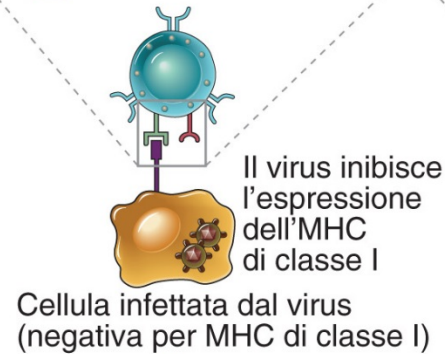
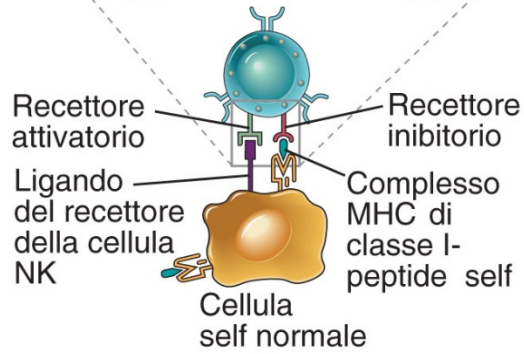
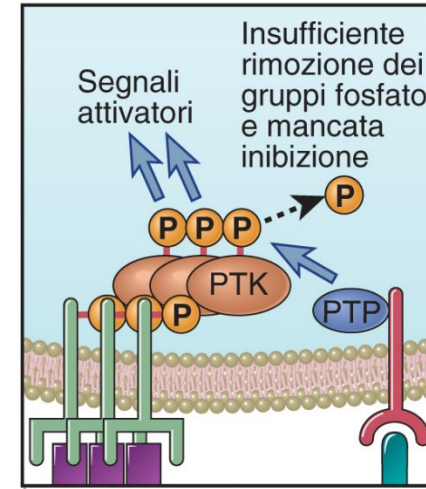
**A** Ingaggio del recettore inibitorio



**B** Mancato ingaggio del recettore inibitorio



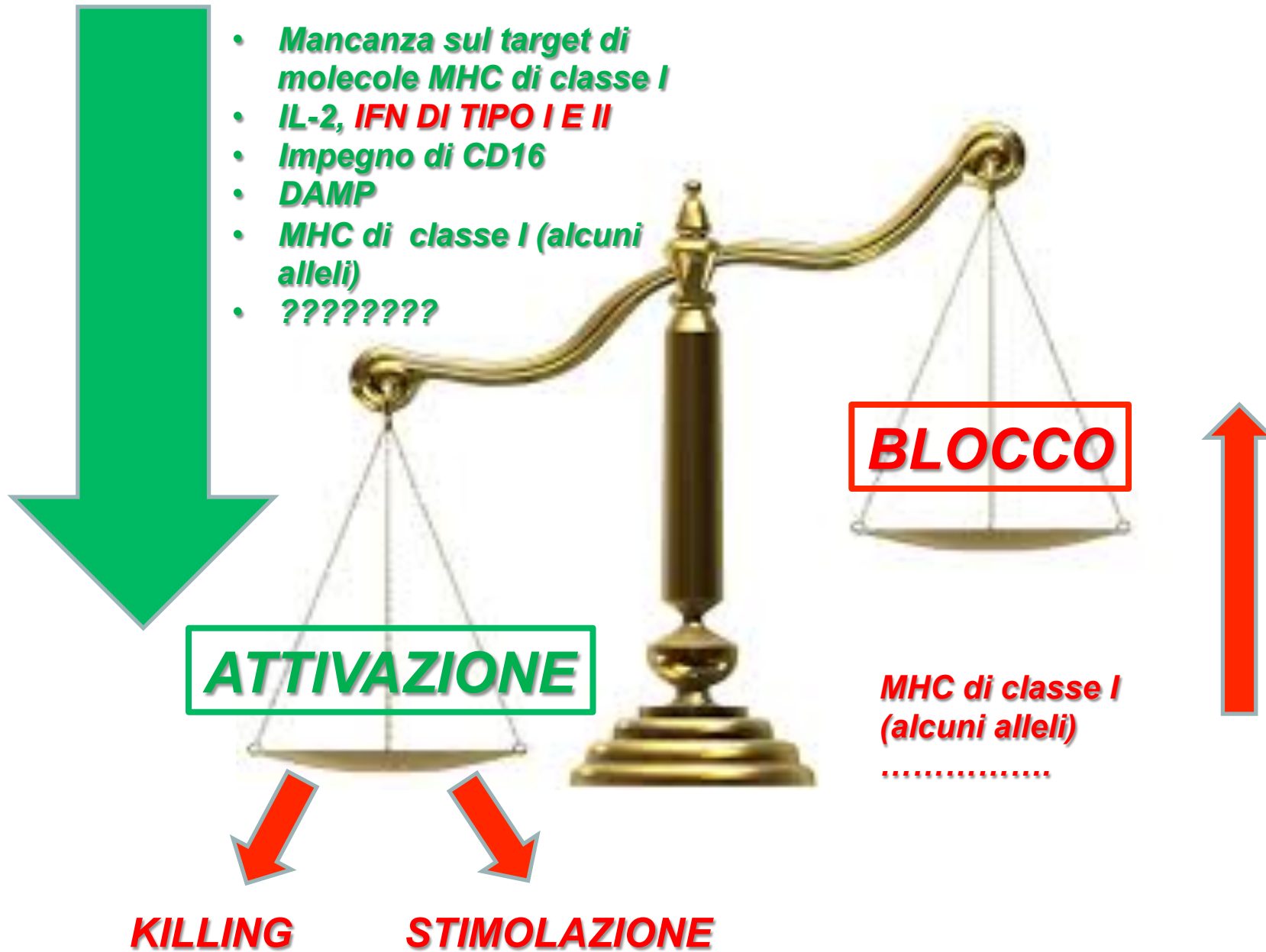
**C** Ingaggio di numerosi recettori attivatori



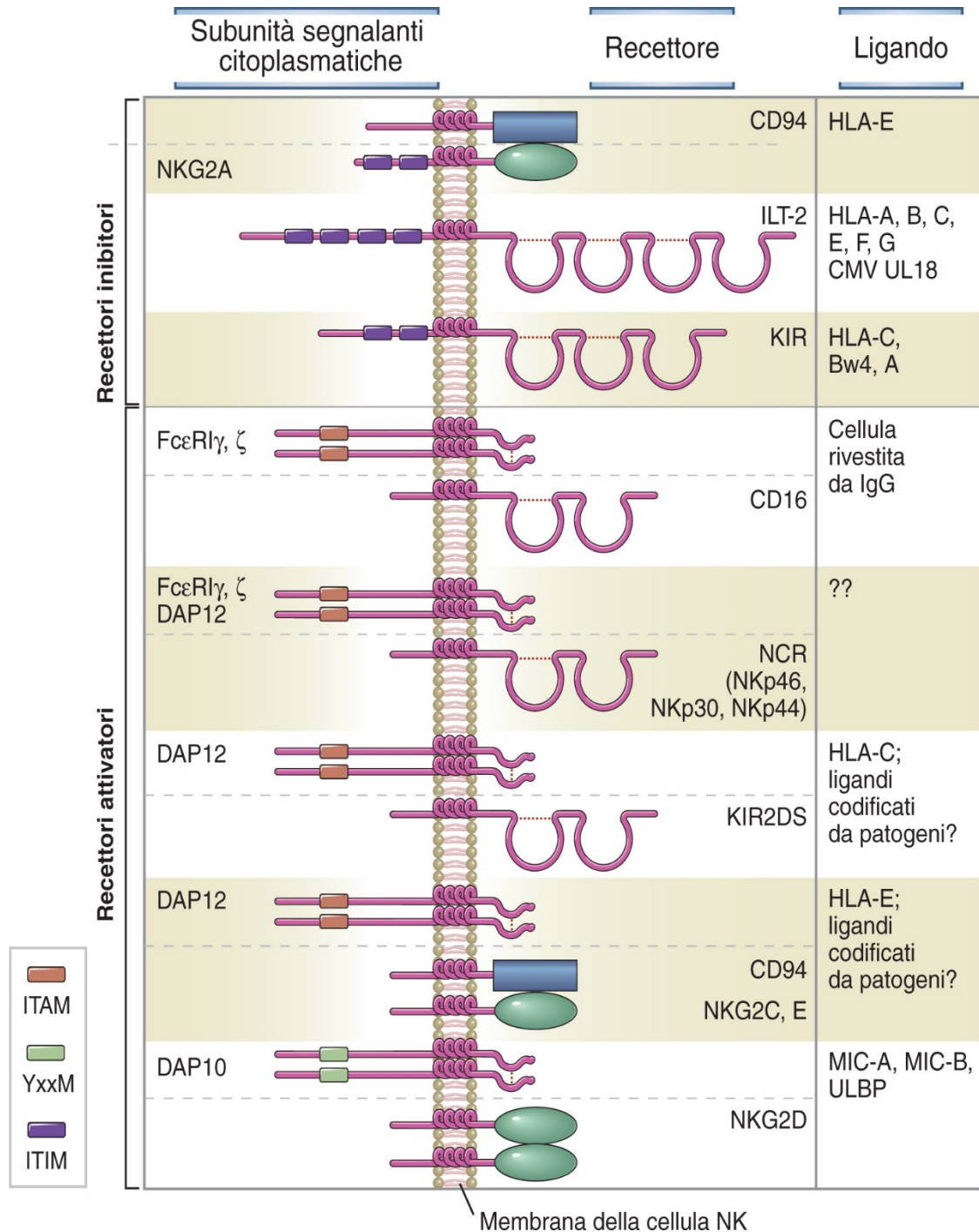
**Cellula NK non attivata; nessuna uccisione cellulare**

**Cellula NK attivata; uccisione della cellula infettata**

**Cellula NK attivata; uccisione della cellula stressata**



# Recettori inibitori/ attivatori delle cellule NK





***A livello placentare non vengono espressi antigeni HLA di classe II e gli antigeni canonici del sistema HLA A e B, ma solo, e debolmente, i prodotti degli alleli HLA-C e dei cosiddetti alleli HLA-Ib (non classici)***

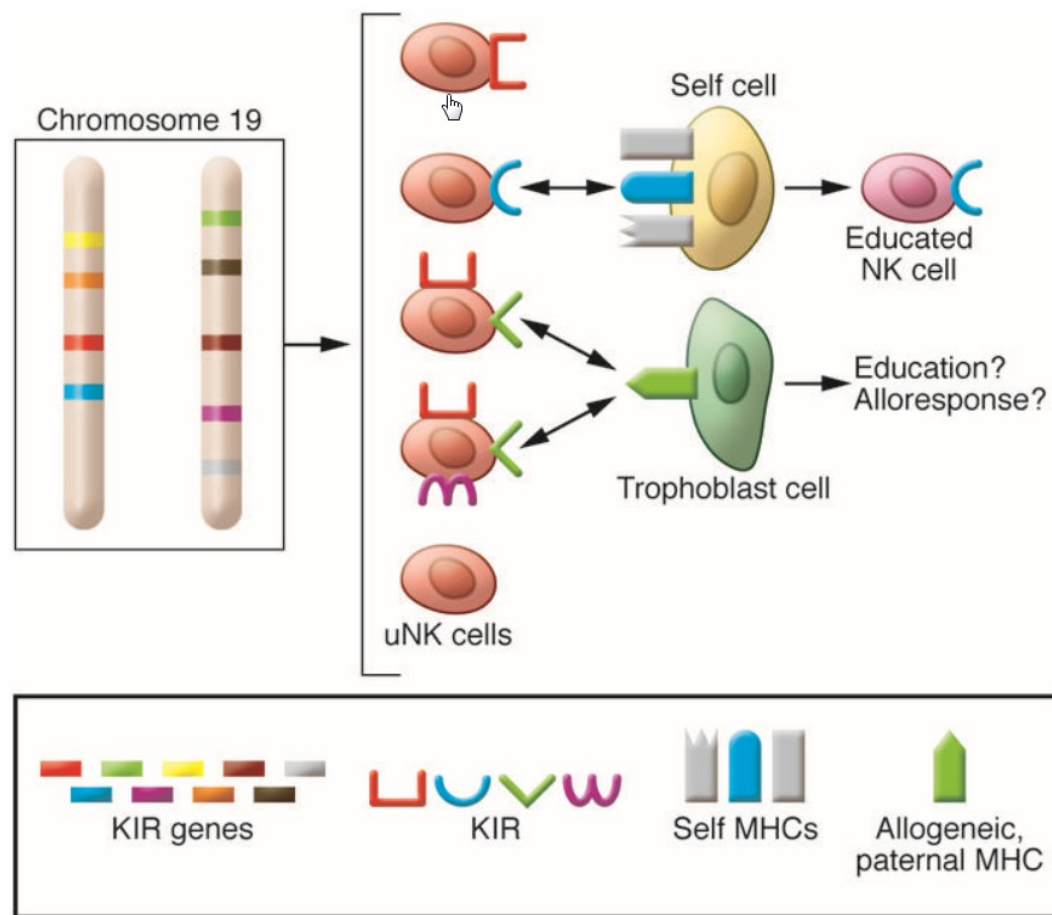
Table 1. HLA class I genes showing number of alleles, sites of expression and cognate receptors. The HLA class I genes expressed by EVT are shown in red

HLA	Alleles	Somatic cells	Trophoblast	Receptors
<i>Classical</i>				
A	2185	+++	-	TCR
B	2870	+++	-	TCR
C	1850	+	+++	TCR
C1 group alleles	N at pos 80			KIR2DL2/3
C2 group alleles	K at pos 80			KIR2DL1/S1
<i>Non-classical</i>				
E	6	+	+	CD94/NKG2
F	4	(+)	-?	?
G	16	-	+++	LILRB1, LILRB2, KIR2DL4?

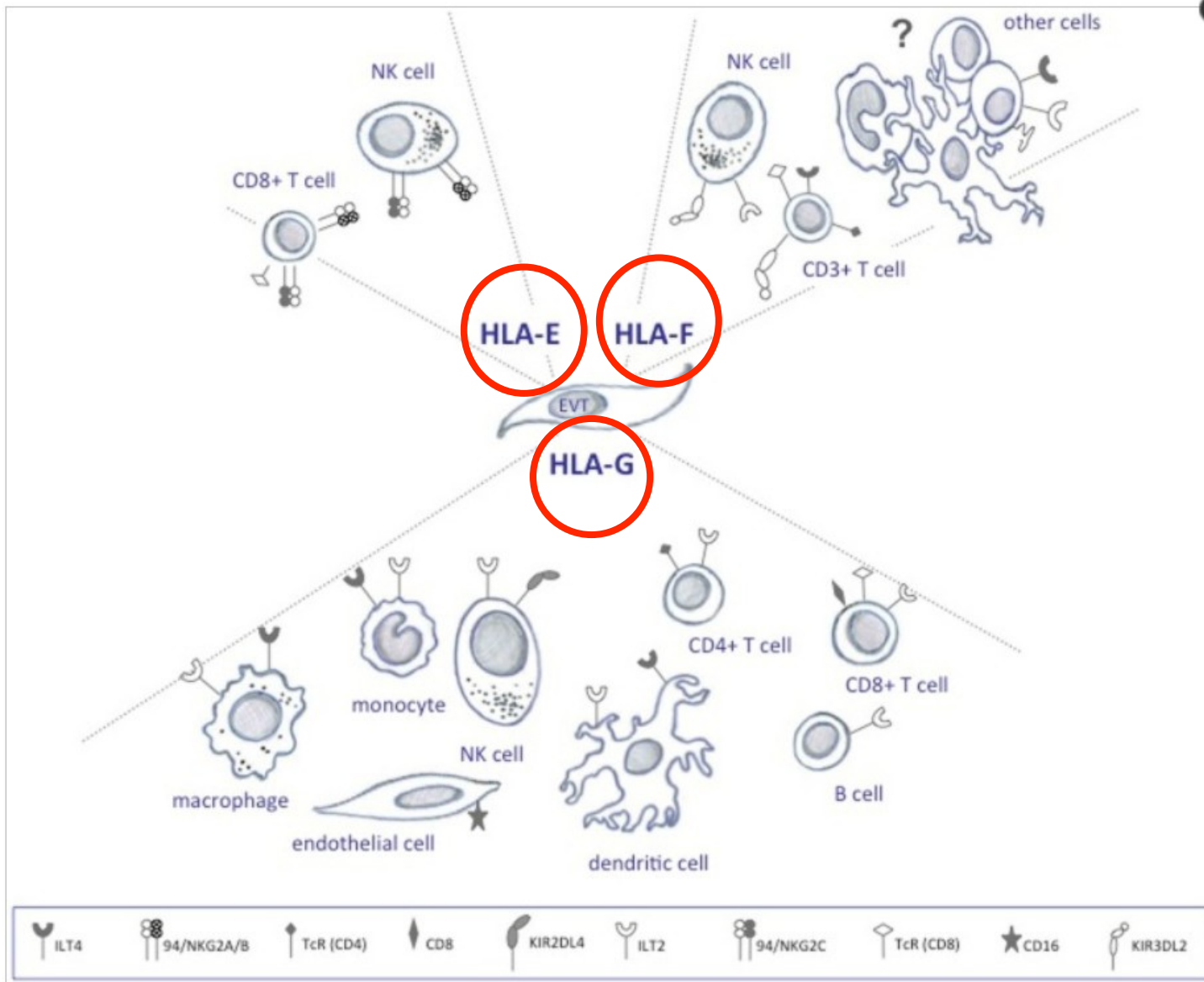
**Sul Cromosoma 19 esistono almeno 15 geni KIR, tutti polimorfi.**

**L'allelismo è enorme: si va da poche decine di alleli per alcuni KIR a più di un centinaio per altri.**

**Si capisce così come le possibili combinazioni HLA-C/KIR siano infinite.....**



**In generale, i KIR con coda citoplasmatica lunga (L) hanno un effetto inibente sulla funzione NK, mentre i KIR con coda breve (S) attivano la cellula NK alla proliferazione e alla produzione di citochine**

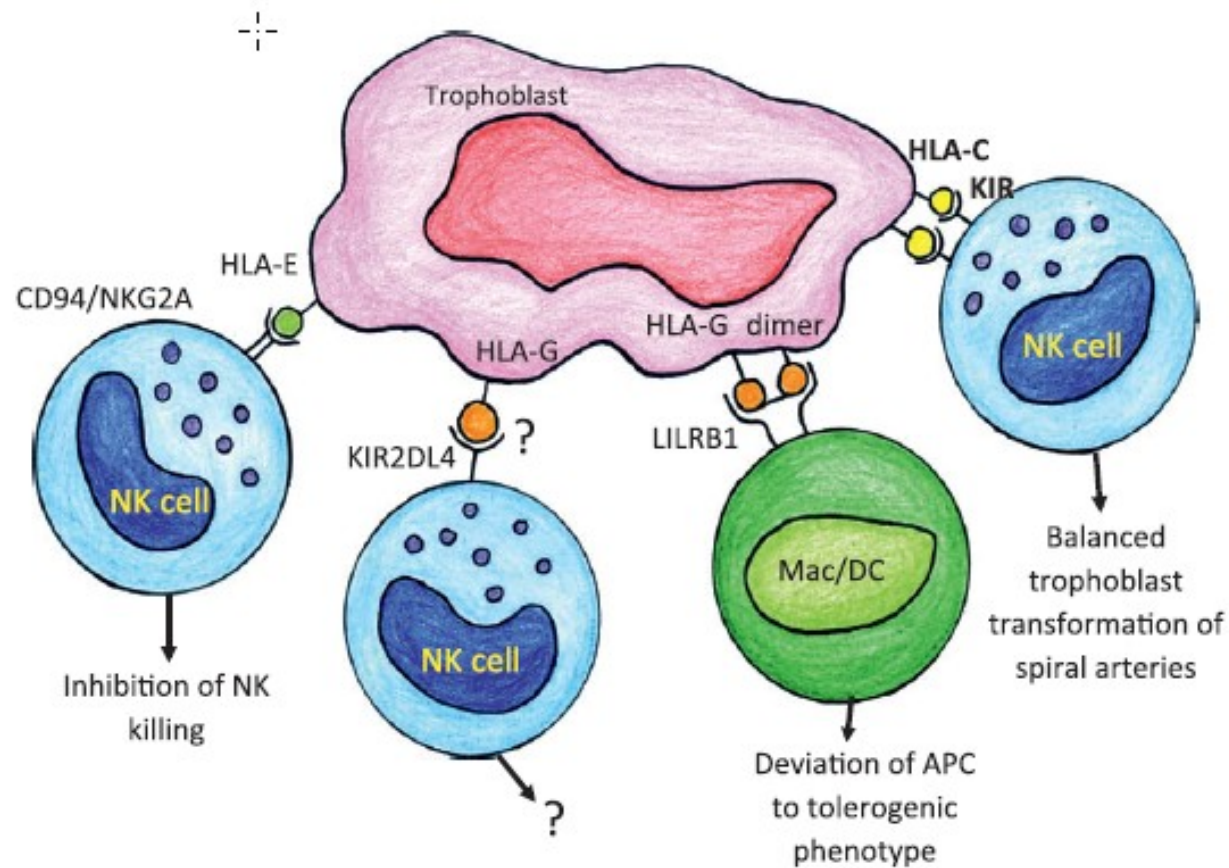


**Anche perché il quadro è reso ancora più complesso dall'esistenza di un gran numero di alleli HLA «non canonici» che possono anch'essi interagire con prodotti dei geni KIR**

HLA class Ib and cognate receptors expressed on decidual immune cells.

**Le cellule NK della decidua vengono educate localmente.**

**Il repertorio KIR delle NK circolanti e deciduali è diverso**



***Sappiamo che le cellule NK sono inibite dall'espressione sulle cellule autologhe dei propri alleli HLA-C, e che rispondono con l'uccisione di cellule che mancano di tali alleli («missing self»)***

***Ma sappiamo che il feto esprime alleli HLA-C del padre oltre a quelli della madre: le cellule del feto sono quindi parzialmente missing self***

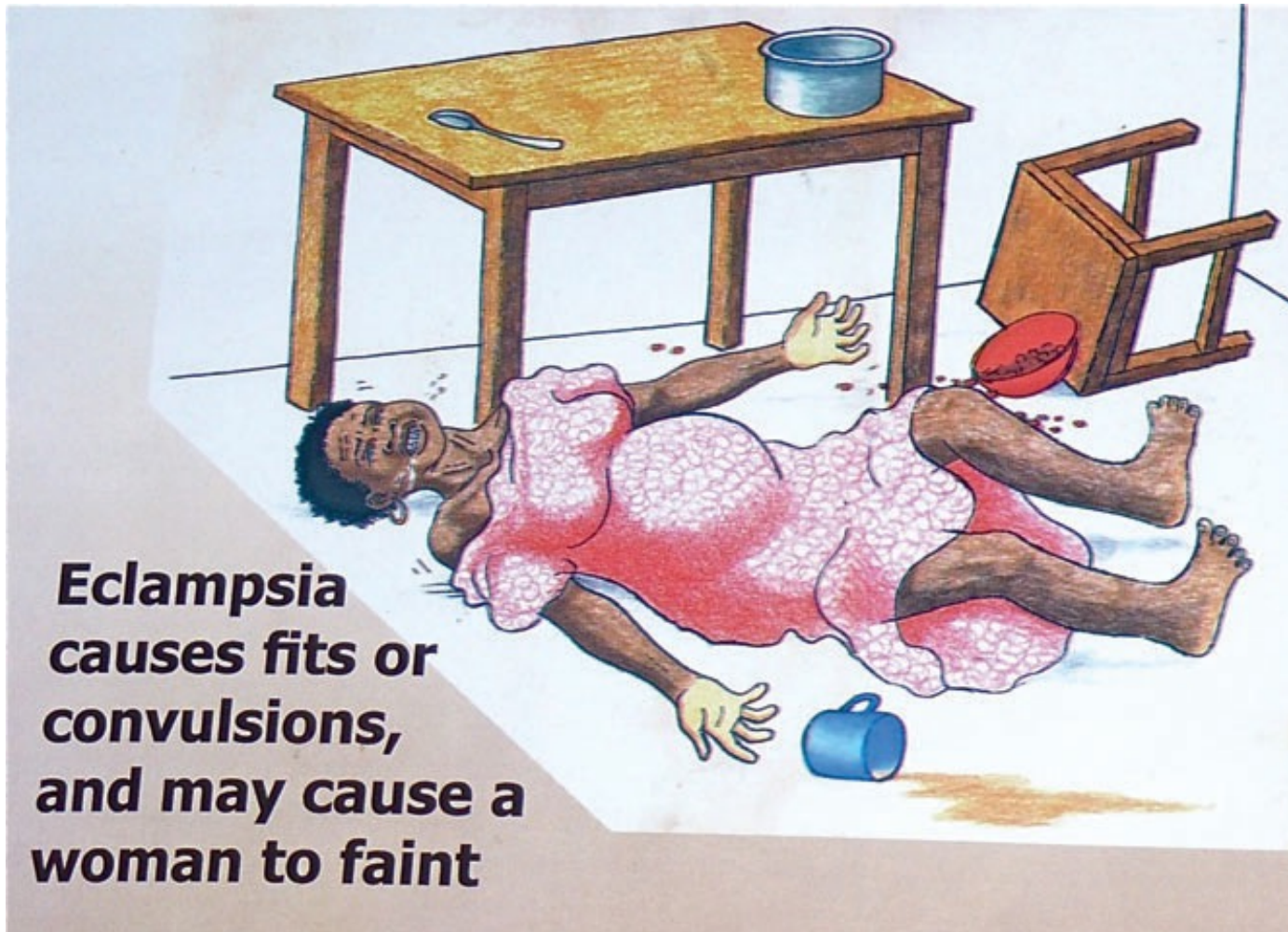
***A pensarci bene, la situazione è analoga a quanto avviene nel trapianto di midollo semi-allogeneico, dove la mancanza di certi prodotti HLA-C (missing self parziale) nelle cellule di midollo attiva le NK, che esercitano il ben noto fenomeno di «graft-versus-leukemia»***

***Nella gestazione, la differenza sta nel fatto che l'attività litica delle cellule NK della decidua è bloccata, e l'ago della bilancia pende verso la stimolazione di funzioni non killer.....***

***Anche se i meccanismi di azione sono ancora largamente da chiarire, soprattutto nell'uomo, il ruolo svolto dalle cellule NK nel promuovere il trofismo fetale è indiscusso, sulla base di dati sperimentali inconfutabili ottenuti nei modelli animali***

***Le cellule **dNK** rappresentano una popolazione distinta dalle NK circolanti, sia fenotipicamente che funzionalmente; pur esprimendo elevati livelli di CD56 e bassi livelli di CD16, la loro attività litica è fortemente inibita rispetto a queste ultime, anche per l'influenza di fattori presenti nel microambiente deciduale, ma l'attivazione delle loro funzioni favorenti lo sviluppo deciduale stesso (fattori pro-angiogenici?) sono indiscusse***

# ***L'espressione dei diversi alleli KIR è rilevante per la gestazione?***



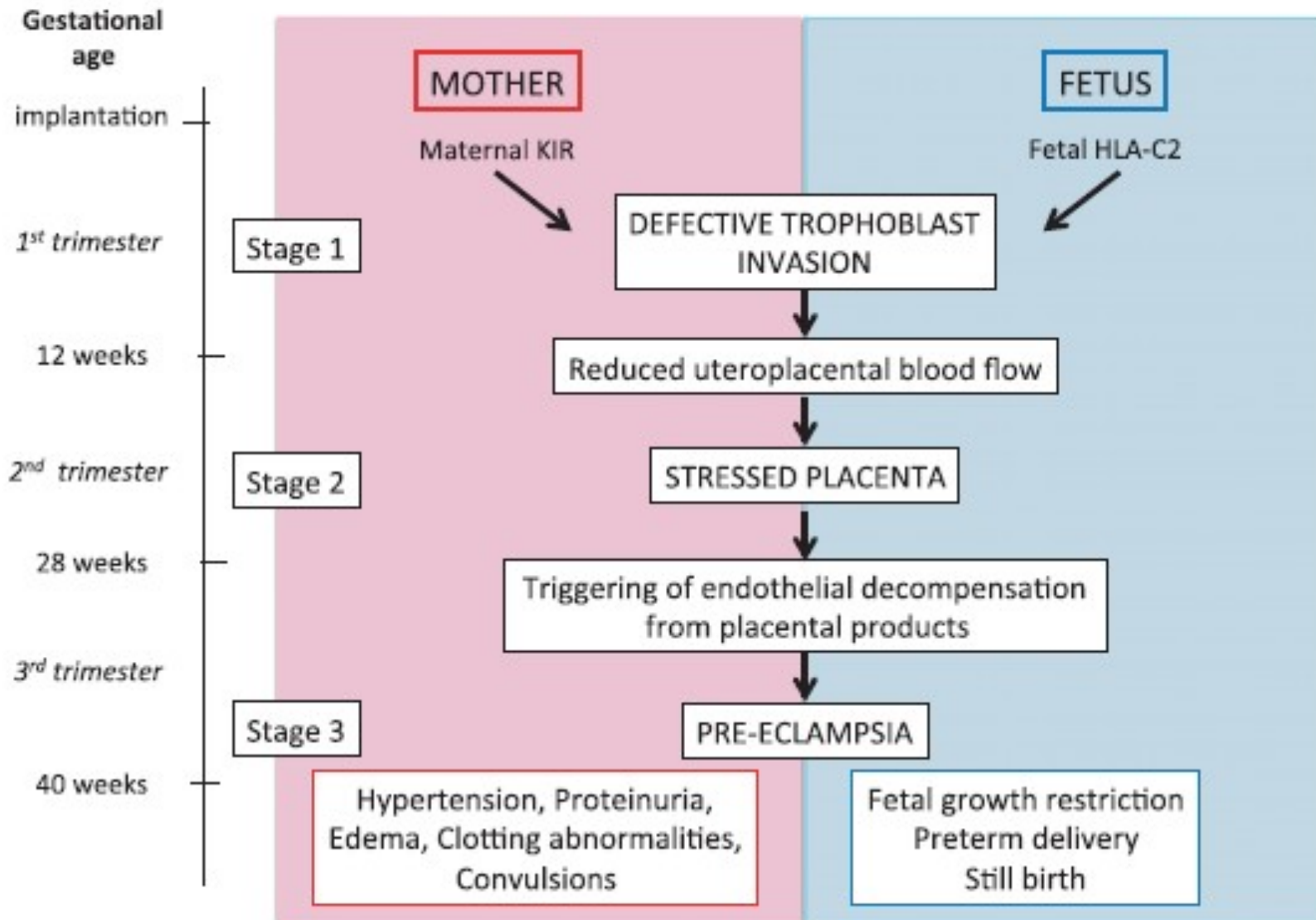






Fig. 5. Potential functional impact of different maternal killer immunoglobulin receptor (KIR) binding to fetal C2 epitopes.

***E' comunemente accettato che certe combinazioni HLA/KIR possono favorire la pre-eclampsia***

***Ad esempio, madri con un fenotipo KIR AA portatrici di un feto esprime un allele HLA-C2 paterno sono a maggior rischio***

***In altre parole, un'eccessiva inibizione delle cellule NK si tradurrebbe in un difettoso sviluppo della placentazione, con danni nutrizionali al prodotto del concepimento***

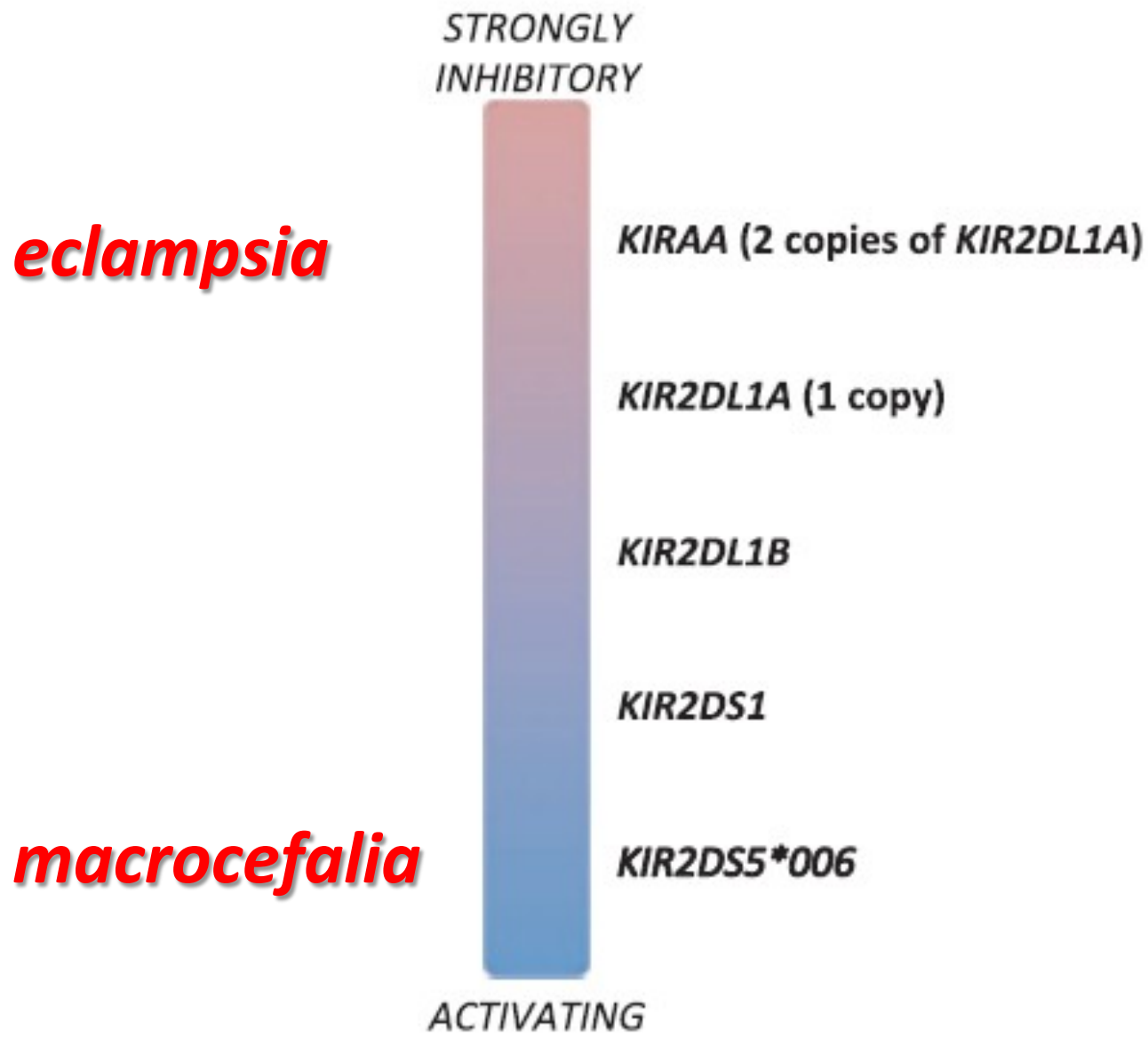


Fig. 5. Potential functional impact of different maternal killer immunoglobulin receptor (KIR) binding to fetal C2 epitopes.

***.....e tutto ciò può avere qualche relazione con il trapianto di midollo emopoietico?***

***Pazienti con leucemia mieloide acuta che ricevono un trapianto di midollo da donatori con un aplotipo KIR-B hanno un esito clinico migliore rispetto ai riceventi con epitopi HLA C1 e che non siano omozigoti per C2***

# *Il repertorio delle cellule NK deciduali pone anche importanti questioni di ordine teleologico*

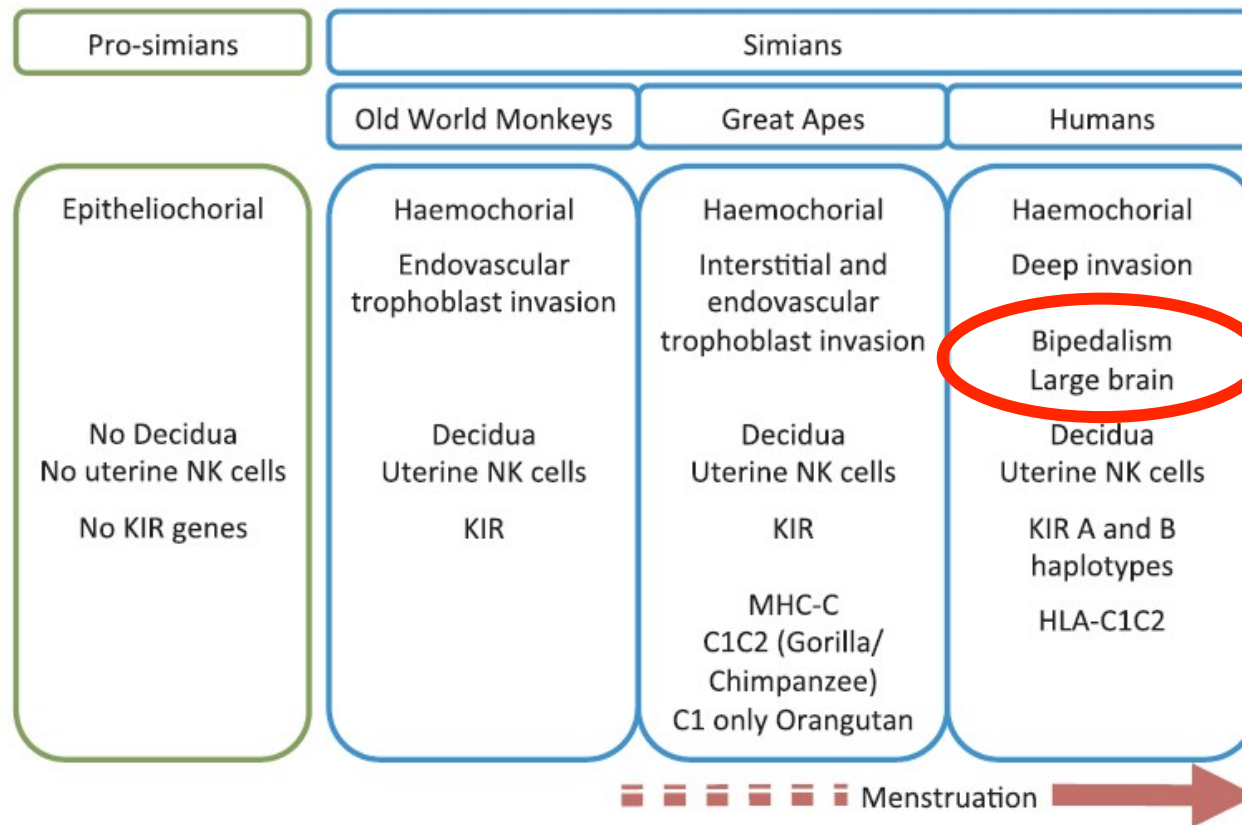


Fig. 7. Correlation of killer immunoglobulin receptor (KIR) and Major Histocompatibility Complex (MHC) genes, placental anatomy and decidualization in primates.

# ***I TRE PROBLEMI DELLA GRAVIDANZA:***

## ***1. PROMUOVERE L'ATTECCHIMENTO DEL TRAPIANTO SEMI-ALLOGENICO***

*dNK- Macrofagi M2-IL-10, DC pro-angiogeniche e pro-NK, MILD INFLAMMATION*

## ***2. GARANTIRE LA TOLLERANZA DEL TRAPIANTO SEMI-ALLOGENICO***

***no DR expression, poor Class I expression, only indirect presentation, DC entrapment, no lymphatics and Th2 skewing, LINFOCITI Treg, CELLULE NK, Macrofagi M2-IL-10, exosomes with fetal antigens and TGF-beta/other suppressant, silencing produzione deciduale di chemochine***

## ***3. PROTEGGERE IL FETO DALLE INFEZIONI***

*Macrofagi M1, neutrofili, chemokines produced by trophoblast*

*(la gravidanza è accompagnata da una depressione generalizzata che può favorire le infezioni (locali o anche sistemiche) , e queste possono causare interruzioni della tolleranza)*

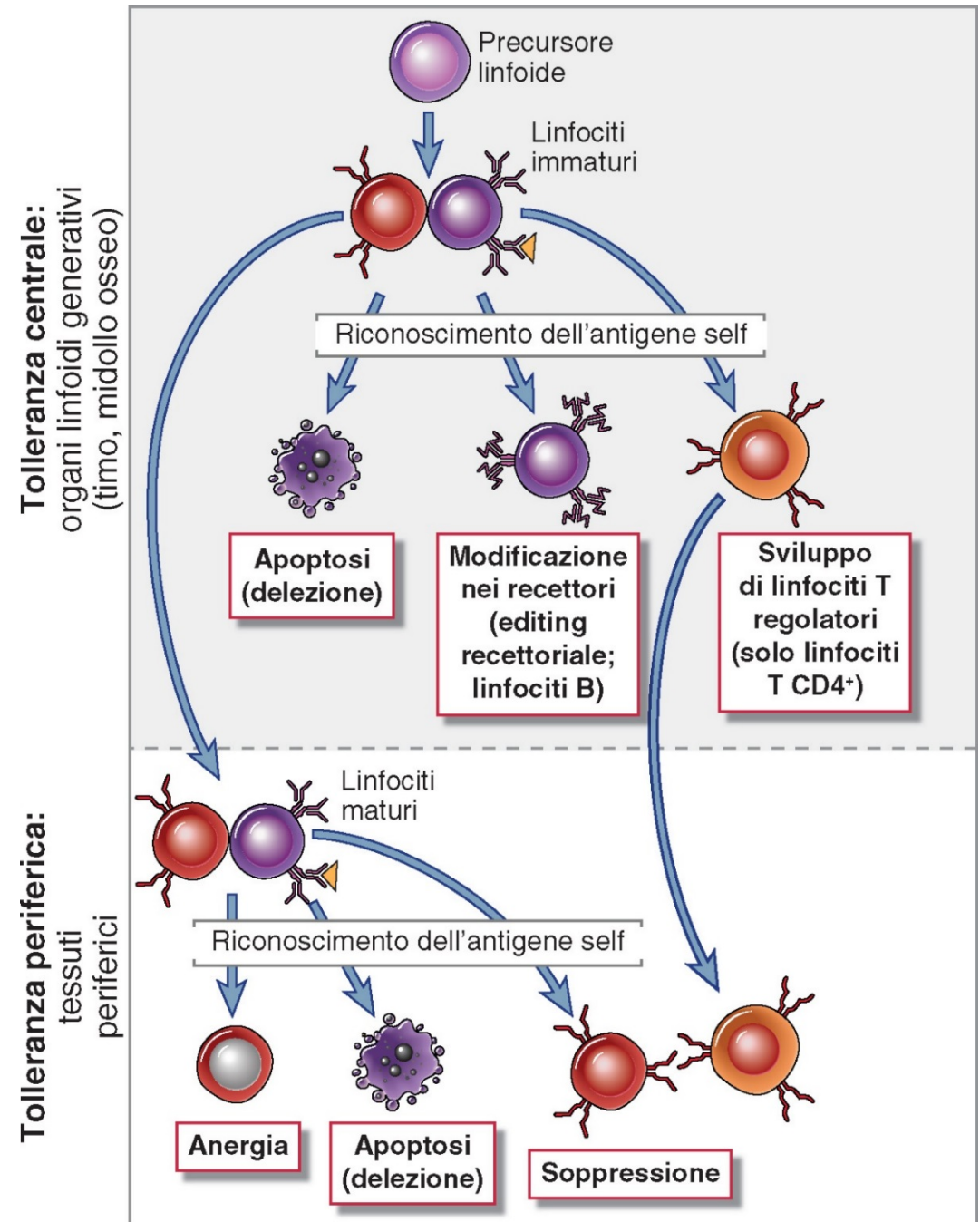
# LA TOLLERANZA DEI LINFOCITI T SI BASA SU DUE MECCANISMI:

- **TOLLERANZA CENTRALE**
- **TOLLERANZA PERIFERICA**

## TOLLERANZA CENTRALE: DELEZIONE CLONALE

## TOLLERANZA PERIFERICA

- **ANERGIA CLONALE**
- **IGNORANZA CLONALE**
- **T REGOLATORI**



**Table 1. HLA class I genes showing number of alleles, sites of expression and cognate receptors. The HLA class I genes expressed by EVT are shown in red**

HLA	Alleles	Somatic cells	Trophoblast	Receptors
<i>Classical</i>				
A	2185	+++	-	TCR
B	2870	+++	-	TCR
C	1850	+	+++	TCR
C1 group alleles	N at pos 80			KIR2DL2/3
C2 group alleles	K at pos 80			KIR2DL1/S1
<i>Non-classical</i>				
E	6	+	+	CD94/NKG2
F	4	(+)	-?	?
G	16	-	+++	LILRB1, LILRB2 KIR2DL4?

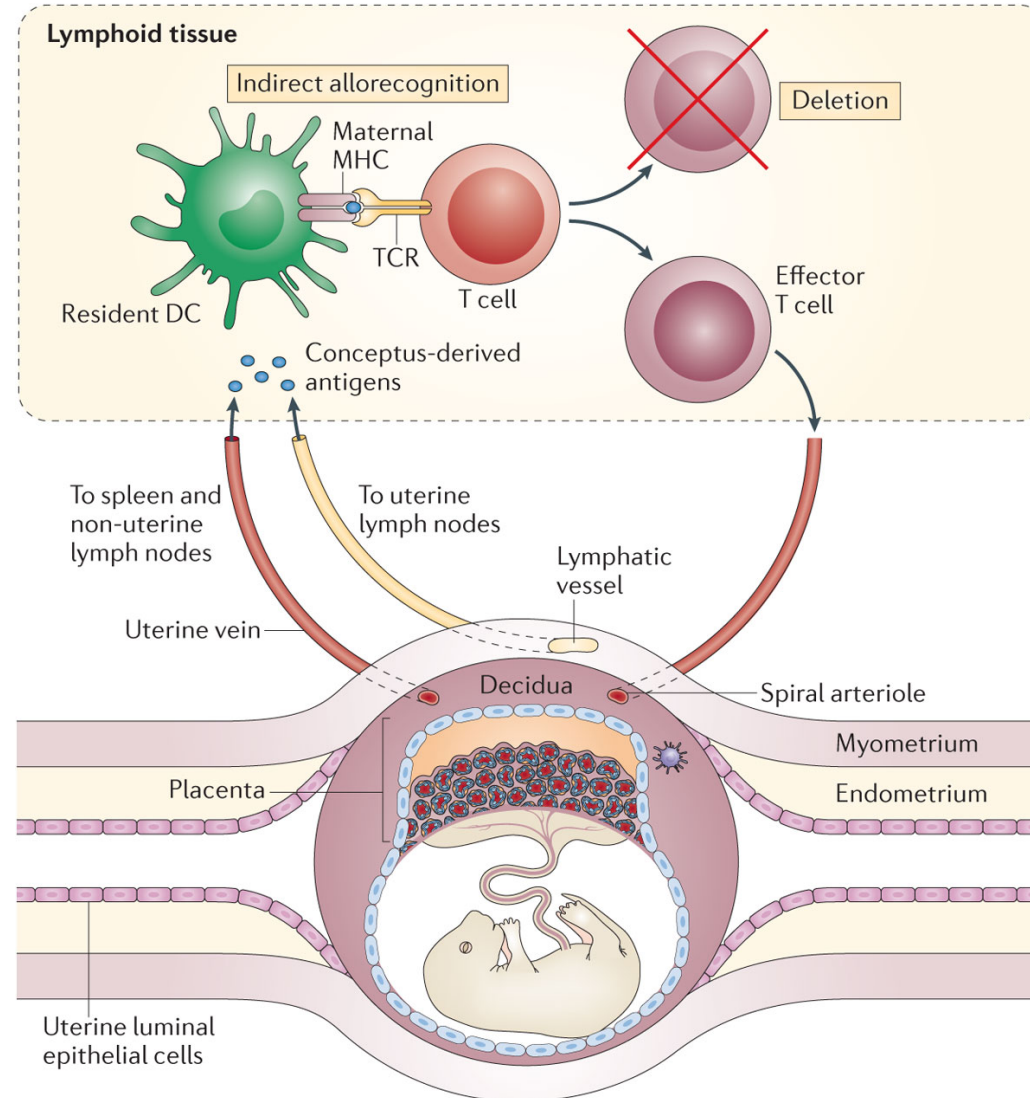
?, unknown.

***Il trofoblasto NON esprime alleli A e B di classe I***

***Il trofoblasto NON esprime alleli HLA di classe II***

***IL RICONOSCIMENTO DIRETTO DEGLI ALLOANTIGENI FETALI E' QUINDI MINIMALE.....***

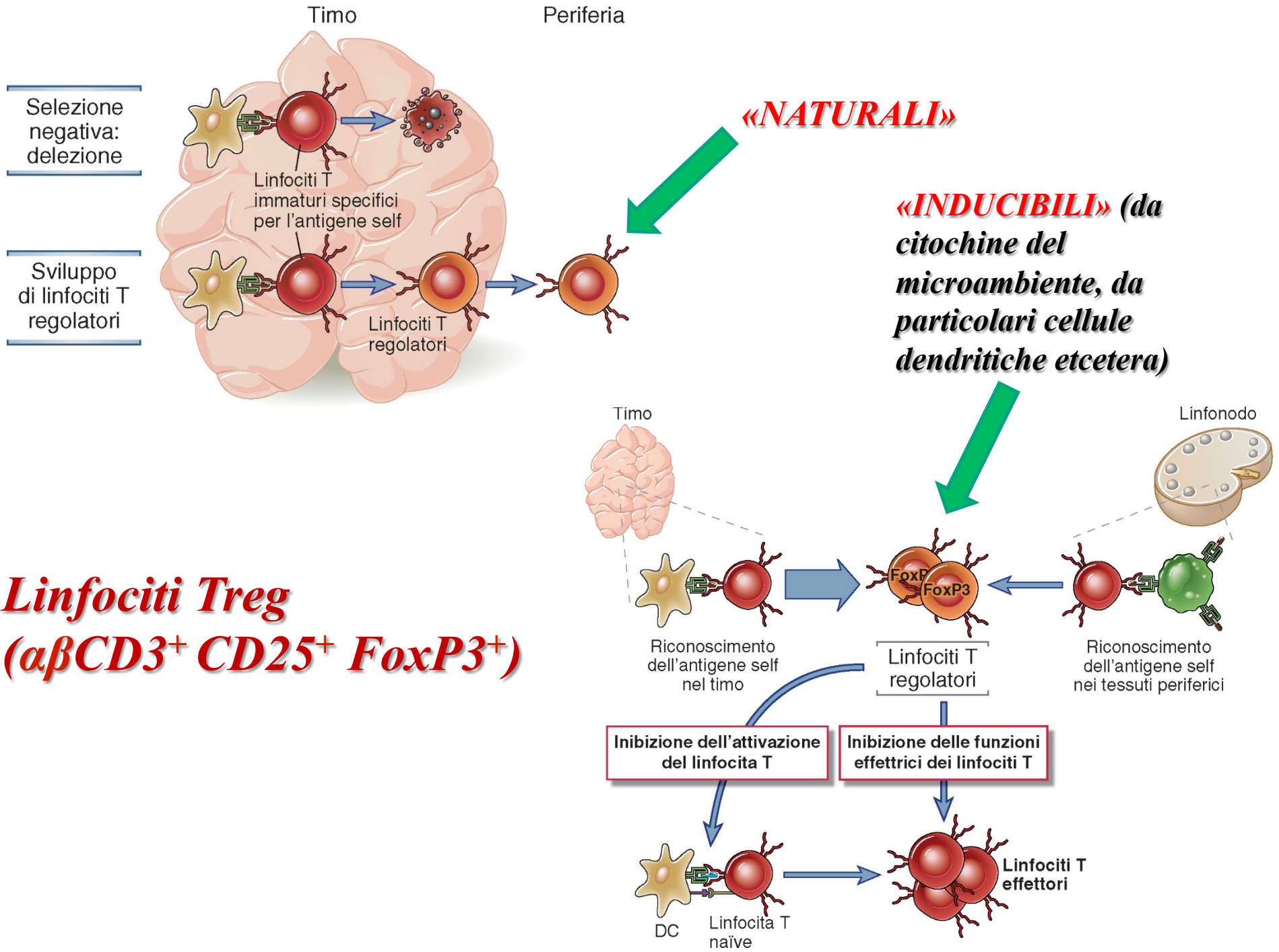
# .....e l'unico modo di riconoscimento degli alloantigeni paterni è quello indiretto



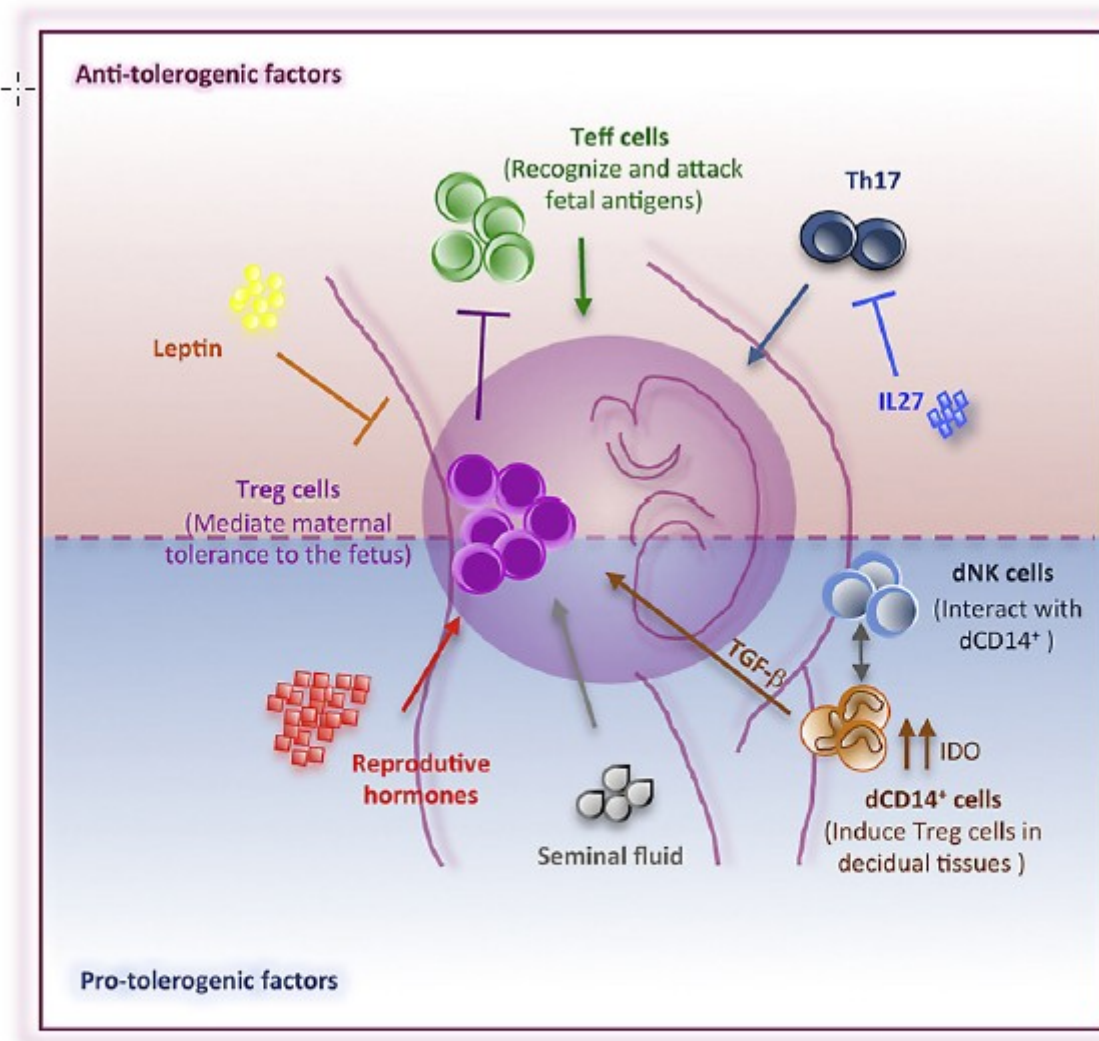


# *La tolleranza T del feto si basa su:*

- 1. Mancata espressione da parte del trofoblasto di HLA di classe II e I*
- 2. Riconoscimento alloantigeni solo indiretto*
- 3. Mancanza di una rete linfatica nella decidua*
- 4. Entrapment delle Cellule Dendritiche (DC) nella decidua*
- 5. Fenotipo delle DC materne che favoriscono la generazione di T regolatori*
- 6. Tollerizzazione nei linfonodi regionali da exosomi contenenti antigeni e fattori immunosoppressivi*
- 7. Produzione di citochine immunosoppressive (TGF- $\beta$ , IL-10)*
- 8. Skewing della risposta in senso Th-2*
- 9. Silencing della produzione di chemochine nelle cellule stromali della decidua*
- 10. Microchimerismo materno per passaggio di cellule dal feto alla madre (malattie autoimmuni?)*
- 11. T REGOLATORI (Treg)*



**Linfociti Treg**  
**( $\alpha\beta$ CD3<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup>)**



**Fig. 1.** Regulatory T cells play a key role in preventing fetal rejection by maternal immune system. Different anti- and pro-tolerogenic factors such as cytokines, pregnancy hormones, seminal fluid and decidual (d)-NK and -CD14<sup>+</sup> cells can modulate the number and the functions of regulatory T cells during pregnancy.



***IMMUNOSOPPRESSIONE SI',***

***MA NON TROPPO.....***

# ***I TRE PROBLEMI DELLA GRAVIDANZA:***

## ***1. PROMUOVERE L'ATTECCIMENTO DEL TRAPIANTO SEMI-ALLOGENICO***

*dNK- Macrofagi M2-IL-10, DC pro-angiogeniche e pro-NK, MILD INFLAMMATION*

## ***2. GARANTIRE LA TOLLERANZA DEL TRAPIANTO SEMI-ALLOGENICO***

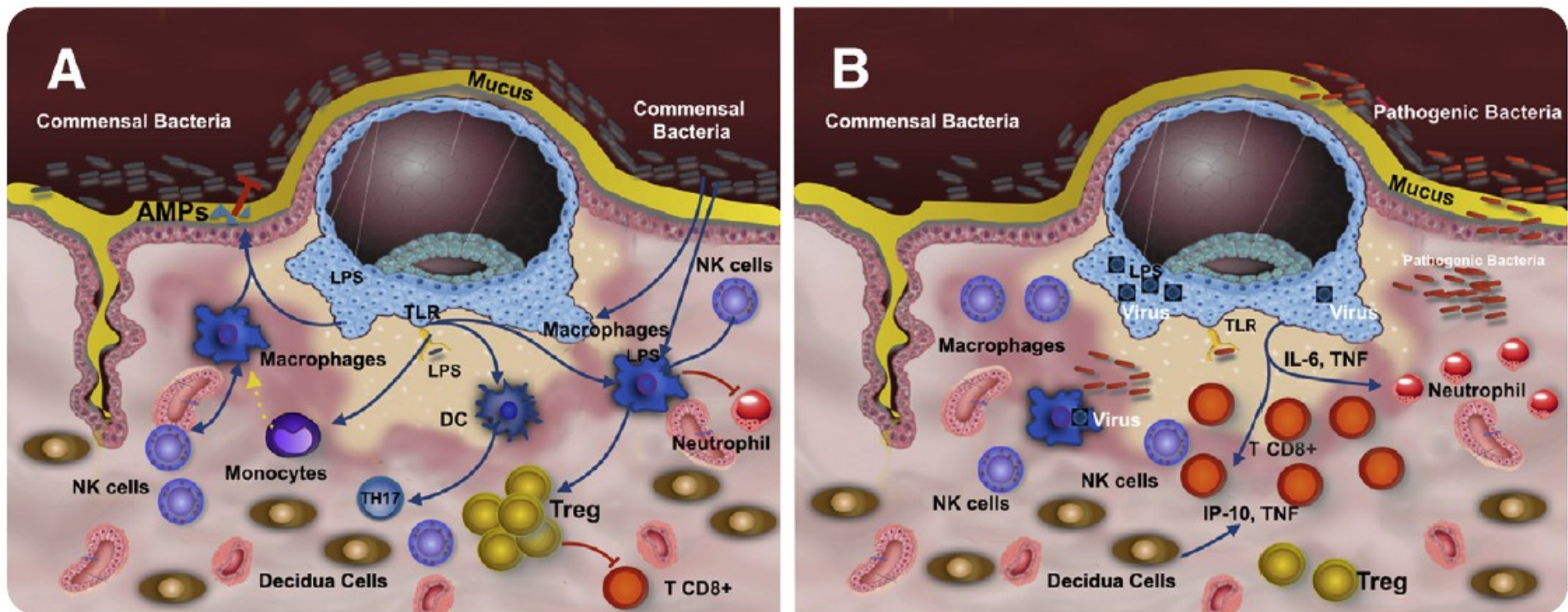
*no DR expression, poor Class I expression, only indirect presentation, DC entrapment, no lymphatics and Th2 skewing, LINFOCITI Treg, CELLULE NK, Macrofagi M2-IL-10, exosomes with fetal antigens and TGF-beta/other suppressant, silencing produzione deciduale di chemochine*

## ***3. PROTEGGERE IL FETO DALLE INFEZIONI***

***Macrofagi M1, neutrofili, chemokines produced by trophoblast***

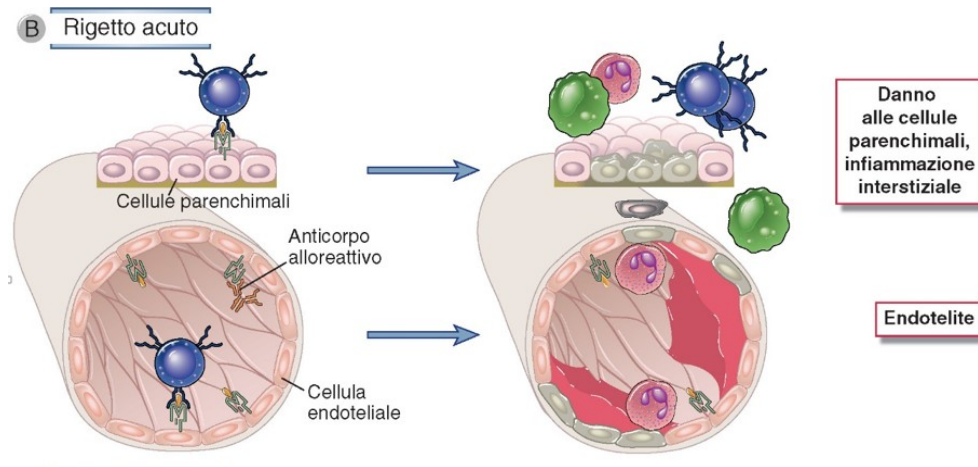
(la gravidanza è accompagnata da una depressione generalizzata che può favorire le infezioni (locali o anche sistemiche) , e queste possono causare interruzioni della tolleranza e aborto)

# IL MICROBIOMA



**A**, Commensal present at mucus covering epithelium of uterus promotes induction of regulatory factors by trophoblast and decidual macrophages. Further, macrophages secrete antimicrobial products that control commensal overgrowth and prevent invasion of pathogenic bacteria. Recognition of bacterial products by trophoblast enhances expression of antiinflammatory factors expanding T regulatory cells (T regs) and promoting tolerance. **B**, Viral infection at implantation site inhibits macrophage capacity to control bacterial growth, disturbing symbiosis among microbiota, trophoblast, and immune cells at implantation site, leading to inflammatory condition responsible for preterm birth.

*Mor. Trophoblast immune modulation. Am J Obstet Gynecol 2015.*



## ***IL PARTO COME RIGETTO DI TRAPIANTO ???????***

***1.CROLLO Treg (?)***

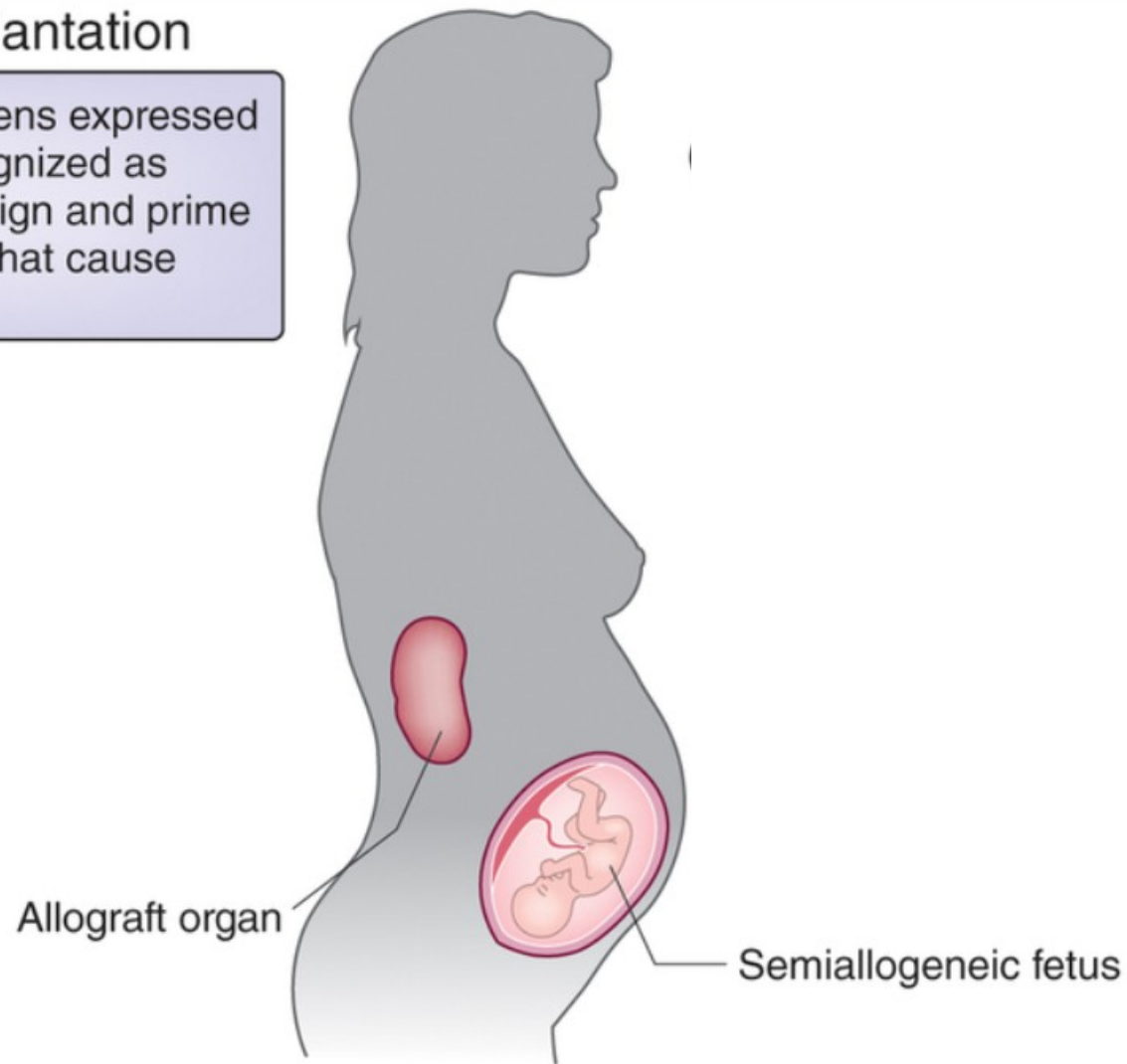
***2.CROLLO NK (?)***

***3.SHIFT DEI MACROFAGI DA UN PROFILO M2 A UN PROFILO M1 (?)***

***4.PRODUZIONE DI CITOCHINE PROINFIAMMATORIE E ATTIVAZIONE MASSIVA DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO***

## Organ transplantation

- Discordant alloantigens expressed by the graft are recognized as immunologically foreign and prime activation of T cells that cause rejection



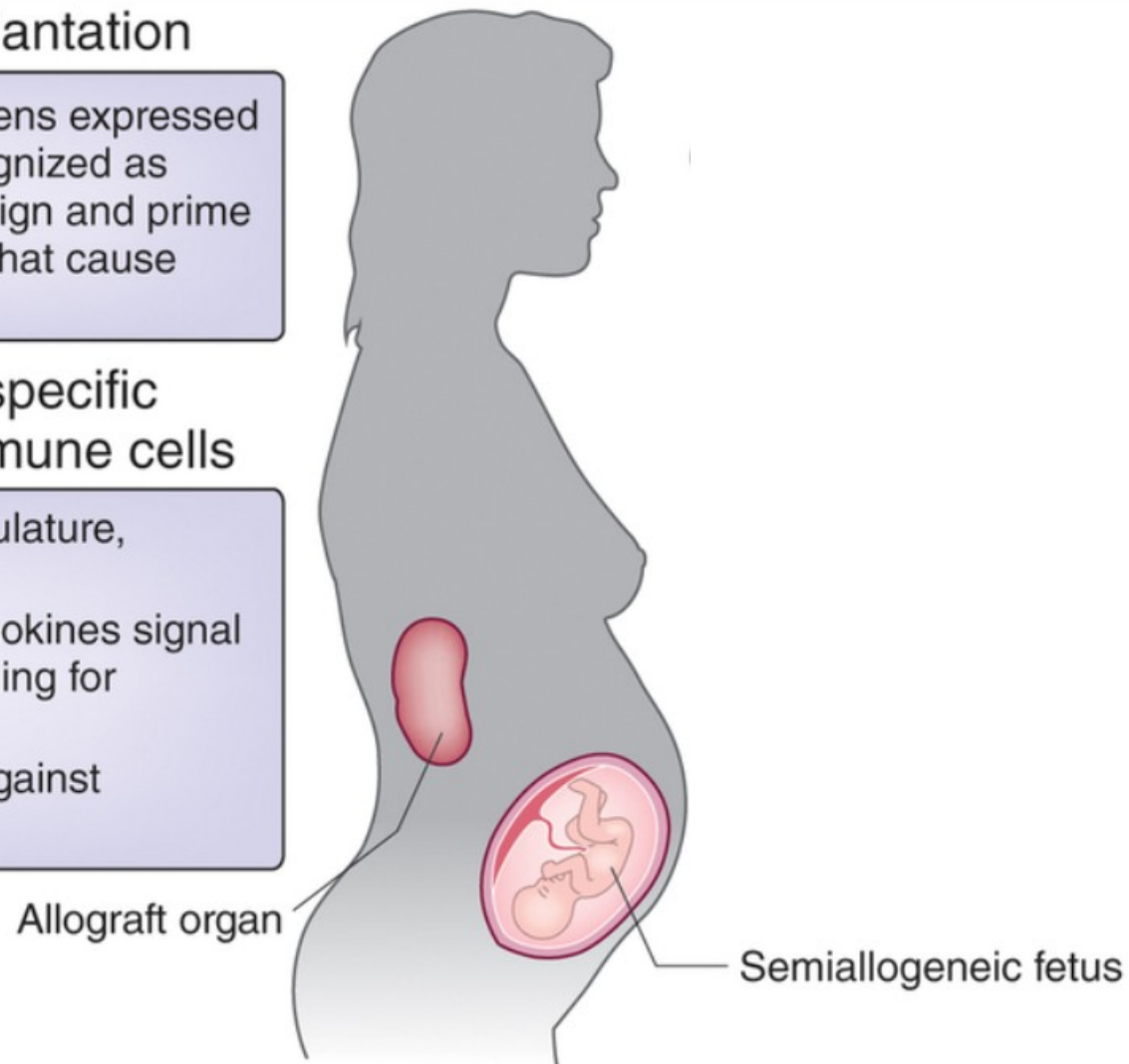


## Organ transplantation

- Discordant alloantigens expressed by the graft are recognized as immunologically foreign and prime activation of T cells that cause rejection

## Pregnancy-specific functions of immune cells

- uNK cells alter vasculature, lymphatics
- Cytokines and chemokines signal endometrial remodeling for implantation
- Protection of fetus against microbial challenge



## Organ transplantation

- Discordant alloantigens expressed by the graft are recognized as immunologically foreign and prime activation of T cells that cause rejection

## Pregnancy-specific functions of immune cells

- uNK cells alter vasculature, lymphatics
- Cytokines and chemokines signal endometrial remodeling for implantation
- Protection of fetus against microbial challenge

Allograft organ



## Pregnancy-specific barriers to fetal rejection (reproductive immunetolerance)

### Local factors

- Uterine entrapment of antigen-presenting cells
- Chemokine gene silencing by decidual stromal cells

### Systemic factors

- Expansion of maternal regulatory T cells with fetal specificity
- Release of tolerogenic placental debris into maternal circulation
- Immune modulation by progesterone and its downstream factors

Semiallogeneic fetus

**GRAZIE per l'attenzione!!!!**

*Clark DA, Semin Immunopathol, 2016*

*Djurisic & Hviid, Front Immunol 2014*

*Erlebacher, Nat Rev Immunol 2013*

*La Rocca et al, Immunol Lett 2014*

*Moffett & Colucci, JCI 2014*

***Moffett & Colucci, Immunol Rev 2015***

*Mor, Am J Obst Gynecol 2015*

*Prince AL, J Reprod Immunol 2014*

*PrabhuDas M et al, Nat Immunol 2015*

*Saito et al, Am J Reprod Immunol 2010*

*Wira et al, Nat Rev Immunol 2015*



***albido@unipd.it***