

免疫检查点分子在复发性流产中的研究进展

杨慧^{1,2}, 王珊^{1,2*}

¹山东大学齐鲁医学院, 山东 济南

²山东省立医院妇产科, 山东 济南

收稿日期: 2023年7月18日; 录用日期: 2023年8月10日; 发布日期: 2023年8月17日

摘要

复发性流产近年来发病率呈升高趋势, 其病因复杂, 约40%~50%的患者流产没有明确病因, 尚无令人满意的治疗方案, 严重影响育龄期患者的身心健康, 如何改善这部分患者的妊娠结局是目前生殖医学领域急需解决的一大问题。免疫检查点分子是抑制免疫效应细胞的调节分子, 已在肿瘤学、免疫学等领域得到了广泛的研究。近期研究表明免疫检查点分子在母胎界面免疫耐受中起重要作用, 其异常表达可能通过调节母胎界面免疫细胞功能, 进而参与复发性流产的发病。本文就目前研究较深入的免疫检查点分子对复发性流产的影响及干预免疫检查点分子对复发性流产妊娠结局的影响进行综述, 已期为下一步病因相关的基础研究和治疗相关的临床应用提供新的思路。

关键词

免疫检查点分子, 复发性流产, 细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4, 程序性细胞死亡蛋白1, T细胞免疫球蛋白和含粘蛋白结构域的蛋白3, 免疫细胞

Research Progress of Immune Checkpoint Molecules in Recurrent Spontaneous Abortion

Hui Yang^{1,2}, Shan Wang^{1,2*}

¹Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan Shandong

²Department of Gynaecology and Obstetrics, Shandong Provincial Hospital, Jinan Shandong

Received: Jul. 18th, 2023; accepted: Aug. 10th, 2023; published: Aug. 17th, 2023

*通讯作者。

文章引用: 杨慧, 王珊. 免疫检查点分子在复发性流产中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2023, 13(8): 12952-12958.
DOI: 10.12677/acm.2023.1381814

Abstract

The incidence of recurrent spontaneous abortion has been increasing in recent years, and its etiology is complex, about 40%~50% of patients have no clear cause of abortion, there is no satisfactory treatment plan, which seriously affects the physical and mental health of patients of child-bearing age, how to improve the pregnancy outcome of these patients is a major problem that needs to be solved urgently in the field of reproductive medicine. Immune checkpoint molecules are regulatory molecules that inhibit immune effector cells and have been widely studied in oncology, immunology and other fields. Recent studies have shown that immune checkpoint molecules play an important role in maternal-fetal interface immune tolerance, and their abnormal expression may be involved in the onset of recurrent miscarriage by regulating the function of maternal-fetal interface immune cells. This article reviews the effect of immune checkpoint molecules on recurrent spontaneous abortion and the effect of intervening immune checkpoint molecules on the pregnancy outcome of recurrent spontaneous abortion, which is expected to provide new ideas for the next basic research related to etiology and clinical application related to treatment.

Keywords

Immune Checkpoint Molecules, Recurrent Spontaneous Abortion, CTLA-4, PD-1, Tim-3, Immune Cells

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

国外多个指南对复发性流产(RSA)的诊断标准尚未达成一致,在流产次数、孕周、流产是否连续等多个方面存在争议。国内专家通常将与同一配偶连续发生2次及以上孕28周之前的妊娠丢失定义为RSA,其中包括生化妊娠[1]。RSA病因极其复杂,尚未完全阐明,已知的病因包括解剖因素、遗传因素、内分泌因素、感染因素和自身免疫等[1][2]。目前,RSA的临床治疗主要是对因治疗,有明确病因的RSA患者一般可以获得较好的妊娠结局。然而约40%~50%的RSA没有明确病因,称为不明原因复发性流产(URSA),临床中多以尝试性治疗为主,治疗效果欠佳,反复的妊娠丢失对育龄期患者的身体和精神造成极大的冲击,如何改善这部分患者的妊娠结局是目前生殖医学领域急需解决的一大问题。诱导免疫耐受性受损或过度炎症被认为可能与RSA的发生密切相关,近期研究表明免疫检查点分子(ICMs)广泛存在于母胎界面,其异常表达可能通过调节免疫和炎症反应,进而导致RSA的发生。本文将就目前研究较为深入的几类ICMs对RSA的影响以及干预ICMs对RSA妊娠结局的影响进行综述。

2. ICMs 概述

ICMs是在免疫细胞上表达的共抑制受体,与其相应配体结合后主动传递抑制信号以抑制免疫细胞的激活[2][3],在诱导移植耐受性、肿瘤逃逸和自身过度免疫预防中起积极作用。母胎界面上ICMs与特异性配体结合后,可以诱导母体产生免疫耐受,减弱对胎儿的免疫排斥反应,在妊娠的维持过程中有重要作用。

细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (CTLA-4)是最先被发现的免疫检查点分子, CD28 是其同源受体, 它们共享同一对配体 CD80 和 CD86 [3]。在 T 细胞的激活过程中, CD28 促进和维持 T 细胞反应, CTLA-4 通过与共刺激受体 CD28 竞争与共同配体的结合来介导 T 细胞的抑制[4] [5]。此外, CTLA-4 通过与 CD80/CD86 结合调节抗原递呈细胞(APC)对吡哆胺 2,3-双加氧酶(IDO)的表达可以导致 T 细胞的免疫抑制。

程序性细胞死亡蛋白 1 (PD-1)是一种跨膜蛋白, 属于 B7-CD28 家族。程序性细胞死亡配体-1 (PD-L1)和 PD-L2 是 PD-1 的两个已知配体。PD-1 与其配体的结合可以产生强烈的抑制信号, 下调促炎 T 细胞的活性, 调节免疫系统并促进自身免疫耐受[6]。

T 细胞免疫球蛋白和含粘蛋白结构域的蛋白 3 (Tim-3)属于免疫球蛋白超家族, 最初被发现在 1 型辅助性 t(Th1)细胞表面表达, 与其配体半乳糖凝集素-9 (Gal-9)结合以介导 Th1 细胞衰竭[7]。

3. ICMs 与 RSA 免疫细胞

3.1. 单一 ICMs 与 T 细胞

Th1 细胞/Th2 细胞和 Th17 细胞/调节性 T (Treg)细胞平衡在正常妊娠的建立与维持中起着至关重要的作用[8], Th2 和 Treg 偏倚被认为是诱导对胎儿免疫耐受的主要机制[9]。Th1 细胞通常分泌促炎细胞因子, 如白细胞介素-2 (IL-2)、干扰素- γ (IFN- γ)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等, Th2 细胞分泌抗炎细胞因子, 例如 IL-4、IL-6 和 IL-10 等。Th17 细胞常引起自身免疫和炎症, 而 Treg 细胞表达抗炎细胞因子, 包括 IL-10 和转化生长因子- β 1 (TGF- β 1), 可抑制过度有效的免疫反应[10] [11]。

Jin 等发现与正常妊娠女性相比, 流产患者的 CTLA-4 在外周和蜕膜淋巴细胞的总体表达显著降低[12], CD86 和 CD28 表达明显增加[13]。此外, CTLA-4 的表达与 Th1 相关细胞因子的产生呈负相关, CD86 和 CD28 的表达与 Th1 相关细胞因子的产生呈正相关, 这也表明共刺激分子表达的变化可能导致 Th1 细胞偏倚, 进而调控母体对胎儿的排斥反应[13]。

Guo 等[14]研究发现, RSA 患者蜕膜组织 $\gamma\delta$ T 细胞上的 PD-1 表达显著降低, IFN- γ 、TNF- α 和穿孔素的产生增加, 导致 $\gamma\delta$ T 细胞对滋养层的细胞毒性增强。此外, Wang 等[15]研究发现, 在 RSA 患者中, Th1 细胞上 PD-1 的表达以及 Th17 细胞上 PD-1 和 PD-L1 的表达均下调, 这可能导致 Th1、Th17 和 Treg 之间的失衡。

3.2. 单一 ICMs 与 NK 细胞

NK 细胞是妊娠期母胎界面的第一大免疫细胞群, 蜕膜 NK (dNK)细胞以 CD56^{bright}CD16⁻NK 细胞表型为主, 其特征是毒性弱而分泌能力较强, 可通过分泌多种细胞因子在妊娠中参与调节免疫耐受、滋养细胞侵袭及螺旋动脉重塑等多个环节。

Li 等[16]研究发现超过 60%的 dNK 细胞在妊娠早期表达 Tim-3, Tim-3⁺dNK 提示高水平的 Th2 型细胞因子产生, 并伴有较低的细胞毒性和低水平的 Th1 型细胞因子产生。但是, 与正常妊娠相比, 流产时表达 Tim-3 的 dNK 细胞数量显著减少[16]。Sun 等[17]研究发现 Tim-3 在 NK 细胞中的上调可以使 NK 细胞分泌细胞因子以维持保护性免疫和血管重塑, 同时抑制 NK 细胞对滋养层的细胞毒性以维持局部耐受性。阻断 Tim-3 可显著抑制 IFN- γ 和 TNF- α 的产生, 增强 NK 细胞对滋养层细胞的细胞毒性[17]。这些结果表明, 表达 Tim-3 的 dNK 细胞的数量和功能异常与 RSA 的发生密切相关。

3.3. 单一 ICMs 与巨噬细胞

巨噬细胞是妊娠期母胎界面的第二大免疫细胞群, 通常分为两个亚群: 经典活化的巨噬细胞(M1)和

替代活化的巨噬细胞(M2)。M1 巨噬细胞通过产生促炎细胞因子介导炎症反应。相反, M2 巨噬细胞负责抗炎以及组织的重塑和修复。此外, 蜕膜巨噬细胞可以吞噬凋亡滋养细胞, 从而避免蜕膜中促炎途径的激活。在妊娠过程中, M1/M2 巨噬细胞处于动态平衡状态, 其失衡可能导致子宫内膜促炎微环境, 不利于诱导胎儿耐受, 进而影响妊娠结局。

Zhang 等[18]发现 RSA 患者 M1 巨噬细胞的比例升高, M2 巨噬细胞的比例以及 PD-1 表达降低。在细胞实验中发现, PD-L1 Fc 可促进巨噬细胞向 M2 表型极化, 增加其吞噬活性, 而 PD-1 阻断促进 M1 表型表达, 减弱巨噬细胞吞噬功能并增加相关促炎细胞因子的产生[18]。同时, 该课题组在体内实验中发现, 在自然流产小鼠巨噬细胞上的 PD-1 表达较低, 阻断 PD-1 可促进胚胎吸收[18]。上述结果提示 PD-1 的缺乏可诱导巨噬细胞极化为 M1 表型, 这可能是导致 RSA 的潜在原因[18]。

Li 等[19]研究表明 Tim-3 在蜕膜巨噬细胞中的表达在正常妊娠中升高, 并且滋养层以 HLA-C 限制的方式促进增加蜕膜巨噬细胞中的 Tim-3 表达。然而, 与正常妊娠患者相比, RSA 患者 Tim-3⁺蜕膜巨噬细胞的数目减少, TNF- α 的表达增加, CD206、CD80 和 IL-4 的表达减少[19]。同时, 在自然流产小鼠的蜕膜巨噬细胞也可观察到类似情况[19]。在体外实验中, 阻断 Tim-3 可以增加人蜕膜巨噬细胞中 M1 相关 CD80、CXCL9、CXCL10、IL-12/23 和 TNF- α 表达, 但降低 M2 相关 CD163 和 CCL17 的表达以及 STAT-6 磷酸化水平[19]。该课题组还发现 Tim-3⁺蜕膜巨噬细胞可以通过 CD2 途径诱导 dCD4⁺ T 细胞中的 Th2 和 Treg 偏移, 有助于母胎免疫耐受和妊娠维持[19]。此外, Tim-3 蜕膜巨噬细胞可以通过血管生成生长因子促进滋养层的侵袭和管形成能力, Tim-3 信号在母胎界面的免疫微环境中巨噬细胞和滋养层之间的对话中起重要调节作用[20]。这些发现提示, 巨噬细胞上的 Tim-3 异常表达可能与 RSA 的发病相关。

3.4. 多种 ICMs 与 RSA 免疫细胞

Wang 等[21]发现与正常妊娠相比, RSA 患者和自然流产小鼠 Tim-3⁺ PD-1⁺ dCD4 T 细胞的细胞数量减少, 而 Tim-3 和 PD-1 在 dCD4 T 细胞上的共表达促进母胎界面处的 Th2 主导环境, 有助于维持正常妊娠。PD-1 和 Tim-3 阻断可以增加 dCD8 T 细胞的毒性, 并减少了 IL-4 和 IL-10 的产生[21]。Xu 等[22]发现予以 Tim-3 和/或 PD-1 阻断的自然流产小鼠容易发生胚胎丢失, 而且在 Tim-3 和 PD-1 同时被阻断的小鼠可出现更严重的胚胎丢失。

Wang 等[23]发现 dCD8T 细胞上 Tim-3 和 CTLA-4 的降低可能与 RSA 的发生相关, 阻断 Tim-3 和 CTLA-4 可增加促炎因子 TNF- α 和 IFN- γ 的表达, 同时降低抗炎因子 IL-1, TGF- β 10 和 IL-8 等的产生。同时, 在自然流产小鼠中观察到类似的 Tim-3⁺CTLA-4⁺dCD8 T 细胞数量减少和功能紊乱现象[23]。此外, 该课题组还发现, RSA 患者 CTLA-4 和 Tim-3 共表达的 dCD4 T 细胞数目也降低, 其可表达高水平的 TNF- α , IFN- γ 、IL-17A、T-bet、维甲酸相关孤儿受体 γ t (ROR- γ t) 和低水平的 IL-4、TGF- β 1、GATA 结合蛋白 3 (GATA-3)、叉头蛋白 P3 (Foxp3) [24]。

4. ICMs 与 RSA 易感性

ICMs 基因的多态性可能是 RSA 的一个危险因素, 但是由于样本量、种族数量等限制, 目前关于 ICMs 基因多态性作用的研究尚未得出一致的结论。Wang 等[25]在中国女性人群中发现, CTLA-4 基因第 1 外显子 49 位点 A/G 的多态性与 URSA 的发病可能存在相关性。在 URSA 患者中, 可以检测到高频率分布的 G 等位基因和基因 GG 型, Th2 细胞免疫反应降低, 打破了母胎界面的 Th1/Th2 细胞平衡, 进而导致胚胎丢失[25]。Rekha 等[26]在印度北部女性人群中, CTLA4 49 位点基因 GG 型可以促进 RSA 的易感性, 这与之前的研究结果一致。然而, Zarnegar 等[27]在伊朗女性人群中发现, URSA 患者 G 等位基因对 RSA 有保护作用, 与之前的结果相矛盾[27]。这种矛盾可能是由于种族, 研究的纳入和排除标准等存在差异[27],

还需要扩大样本量进一步验证。此外,两个 PD-1 相关 SNP (rs36084323 和 rs3481962)在 RSA 患者中的频率显著高于正常妊娠组,也被认为是 RSA 的危险因素[28]。

5. ICMs 干预与 RSA 妊娠结果

多项体内实验在自然流产小鼠中观察到 PD-1, CTLA-4 和 Tim-3 信号传导缺陷,并且在阻断 PD-1, CTLA-4 和 Tim-3 后胚胎丢失增加,其中两种类型的免疫检查点分子的联合阻断导致比单一类型的干预可能会导致更严重的妊娠结局[22] [23]。此外, Jin 等[29]发现,在动物实验中,阻断 CD80 和 CD86 可以上调 CTLA-4 的表达,促进 Th2 偏倚,进而增强小鼠母体对胎儿的耐受性。周等[30]发现,在自然流产小鼠妊娠早期,给予 CTLA-4 Ig 可以降低 CD4⁺IL-17A⁺/CD4⁺细胞的比例,逆转 Th17/Treg 细胞失衡,从而明显降低胚胎吸收率。这些发现支持 CTLA-4、PD-1 和 Tim-3 可能在维持母胎耐受,促进正常妊娠的维持等方面起积极作用。

近年来,ICMs 相关的精准治疗策略在癌症的治疗中取得了突破性进展,母胎界面的免疫耐受性与肿瘤细胞诱导的免疫耐受性相似,目前虽然没有针对 ICMs 治疗 RSA 的药物,但是一些临床治疗可能通过间接性改变 ICMs,进而改善 RSA 的妊娠结局。

环孢素(CsA)是一类免疫抑制药物,现广泛用于自身免疫性疾病以及器官移植术后患者,一项前瞻性临床对照研究提示予以 URSA 患者小剂量 CsA 治疗,可显著增加其活产率[31]。Zhou 等[32]发现 CsA 可以显著上调 CTLA-4 的表达,下调 CD80、CD86 和 CD28 的水平,促进母胎界面的 Th2 偏倚,降低自然流产小鼠的胚胎吸收率,改善妊娠结局。Wang 等[33]研究发现,予以 RSA 患者 CsA 治疗可以降低 Th17 主要效应因子 IL-17A 的产生,同时上调 CTLA-4、Tim-3、以及 Treg 相关 TGF- β 1, IL-10 的表达,恢复 Th17/Treg 细胞平衡,同时诱导 Th2 偏倚。此外,伍等[34]发现通过有效的淋巴细胞免疫治疗,URSA 患者外周血中 PD-1 表达显著升高,Th1/Th2 平衡向 Th2 偏倚,进而增加 URSA 患者的活产率。

6. 小结与展望

综上所述,PD-1、CTLA-4、TIM-3 可能通过改变免疫细胞功能及细胞因子谱,以调节母胎界面的免疫反应,在维持正常妊娠过程中发挥至关重要的作用,是 RSA 患者治疗中具有前景的靶点分子。同时,一些新兴 ICMs 逐渐被发现,比如抑制性白细胞免疫球蛋白样受体(LILRB)可能在母胎界面免疫耐受诱导、子宫螺旋动脉重塑和妊娠期免疫记忆重塑等方面发挥重要作用[35]。越来越多的研究者关注于 ICMs 相关精准治疗的研究,已在多种恶性肿瘤中取得了一些突破性进展,胎盘因其侵袭性、高增殖和免疫逃逸能力也被视为假性恶性组织[19]。由于 RSA 中 ICMs 的具体机制尚未完全阐明,目前没有针对 ICMs 和 RSA 直接作用的药物,还需要更成熟的基础理论来支持其在临床中的应用。但是,针对 ICMs 的干预可能为 RSA 患者的治疗提供新的思路 and 选择,激活 ICMs 可能会提高生育能力并降低妊娠并发症的风险[36],为母婴结局的改善带来新的希望。我们期待未来在 ICMs 方面有更多、更深入的研究,为 RSA 的诊断和治疗提供更安全、更有针对性的方案。

参考文献

- [1] 中华医学会妇产科学分会产科学组,复发性流产诊治专家共识编写组.复发性流产诊治专家共识(2022) [J].中华妇产科杂志 2022, 57(9):653-667.
- [2] Dimitriadis, E., Menkhorst, E., Saito, S., Kutteh, W.H. and Brosens, J.J. (2020) Recurrent Pregnancy Loss. *Nature Reviews Disease Primers*, 6, Article No. 98. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00228-z>
- [3] Rowshanravan, B., Halliday, N. and Sansom, D.M. (2018) CTLA-4: A Moving Target in Immunotherapy. *Blood*, 131, 58-67. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-741033>

- [4] Hosseini, A., Gharibi, T., Marofi, F., Babaloo, Z. and Baradaran, B. (2020) CTLA-4: From Mechanism to Autoimmune Therapy. *International Immunopharmacology*, **80**, Article No. 106221. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106221>
- [5] Zhang, H., Dai, Z., Wu, W., Wang, Z., Zhang, N., Zhang, L., Zeng, W.J., Liu, Z. and Cheng, Q. (2021) Regulatory Mechanisms of Immune Checkpoints PD-L1 and CTLA-4 in Cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **40**, Article No. 184. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-01987-7>
- [6] Yu, X., Gao, R., Li, Y. and Zeng, C. (2020) Regulation of PD-1 in T Cells for Cancer Immunotherapy. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **881**, Article ID: 173240. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173240>
- [7] Zhao, L., Cheng, S., Fan, L., Zhang, B. and Xu, S. (2021) TIM-3: An Update on Immunotherapy. *International Immunopharmacology*, **99**, Article ID: 107933. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107933>
- [8] Zolfaghari, M.A., Arefnezhad, R., Parhizkar, F., Hejazi, M.S., Motavalli Khiavi, F., Mahmoodpoor, A. and Yousefi, M. (2021) T Lymphocytes and Preeclampsia: The Potential Role of T-Cell Subsets and Related MicroRNAs in the Pathogenesis of Preeclampsia. *American Journal of Reproductive Immunology*, **86**, e13475. <https://doi.org/10.1111/aji.13475>
- [9] Saito, S., Nakashima, A., Shima, T. and Ito, M. (2010) Th1/Th2/Th17 and Regulatory T-Cell Paradigm in Pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, **63**, 601-610. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x>
- [10] Jutel, M., Akdis, M., Budak, F., Aebischer-Casaulta, C., Wrzyszczyk, M., Blaser, K. and Akdis, C.A. (2003) IL-10 and TGF- β Cooperate in the Regulatory T Cell Response to Mucosal Allergens in Normal Immunity and Specific Immunotherapy. *European Journal of Immunology*, **33**, 1205-1214. <https://doi.org/10.1002/eji.200322919>
- [11] Lee, G.R. (2018) The Balance of Th17 versus Treg Cells in Autoimmunity. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**, Article 730. <https://doi.org/10.3390/ijms19030730>
- [12] Jin, L.P., Chen, Q.Y., Zhang, T., Guo, P.F. and Li, D.J. (2009) The CD4⁺CD25^{bright} Regulatory T Cells and CTLA-4 Expression in Peripheral and Decidual Lymphocytes Are Down-Regulated in Human Miscarriage. *Clinical Immunology*, **133**, 402-410. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2009.08.009>
- [13] Jin, L.P., Fan, D.X., Zhang, T., Guo, P.F. and Li, D.J. (2011) The Costimulatory Signal Upregulation Is Associated with Th1 Bias at the Maternal-Fetal Interface in Human Miscarriage. *American Journal of Reproductive Immunology*, **66**, 270-278. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2011.00997.x>
- [14] Guo, R., Jiang, S., Zhang, J., Yang, Q., Gao, L., Xia, W., Tong, L., Feng, P., Xu, Y., Zhang, T., et al. (2022) PD-1 Mediates Decidual $\gamma\delta$ T Cells Cytotoxicity during Recurrent Pregnancy Loss. *American Journal of Reproductive Immunology*, **88**, e13562. <https://doi.org/10.1111/aji.13562>
- [15] Wang, W.J., Salazar Garcia, M.D., Deutsch, G., Sung, N., Yang, X., He, Q., Jubiz, G., Bilal, M., Dambaeva, S., Gilman-Sachs, A., et al. (2020) PD-1 and PD-L1 Expression on T-Cell Subsets in Women with Unexplained Recurrent Pregnancy Losses. *American Journal of Reproductive Immunology*, **83**, e13230. <https://doi.org/10.1111/aji.13230>
- [16] Li, Y.H., Zhou, W.H., Tao, Y., Wang, S.C., Jiang, Y.L., Zhang, D., Piao, H.L., Fu, Q., Li, D.J. and Du, M.R. (2016) The Galectin-9/Tim-3 Pathway Is Involved in the Regulation of NK Cell Function at the Maternal-Fetal Interface in Early Pregnancy. *Cellular & Molecular Immunology*, **13**, 73-81. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.126>
- [17] Sun, J., Yang, M., Ban, Y., Gao, W., Song, B., Wang, Y., Zhang, Y., Shao, Q., Kong, B. and Qu, X. (2016) Tim-3 Is Upregulated in NK Cells during Early Pregnancy and Inhibits NK Cytotoxicity toward Trophoblast in Galectin-9 Dependent Pathway. *PLOS ONE*, **11**, e0147186. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147186>
- [18] Zhang, Y., Ma, L., Hu, X., Ji, J., Mor, G. and Liao, A. (2019) The Role of the PD-1/PD-L1 Axis in Macrophage Differentiation and Function during Pregnancy. *Human Reproduction*, **34**, 25-36. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey347>
- [19] Li, M., Sun, F., Xu, Y., Chen, L., Chen, C., Cui, L., Qian, J., Li, D., Wang, S. and Du, M. (2022) Tim-3⁺ Decidual M ϕ s Induced Th2 and Treg Bias in Decidual CD4⁺T Cells and Promoted Pregnancy Maintenance via CD132. *Cell Death & Disease*, **13**, Article No. 454. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04899-2>
- [20] Cui, L., Sun, F., Xu, Y., Li, M., Chen, L., Chen, C., Qian, J., Li, D., Du, M. and Wang, S. (2023) Tim-3 Coordinates Macrophage-Trophoblast Crosstalk via Angiogenic Growth Factors to Promote Pregnancy Maintenance. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 1538. <https://doi.org/10.3390/ijms24021538>
- [21] Wang, S., Zhu, X., Xu, Y., Zhang, D., Li, Y., Tao, Y., Piao, H., Li, D. and Du, M. (2016) 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. *Human Reproduction*, **31**, 700-711. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew019>
- [22] Xu, Y.Y., Wang, S.C., Lin, Y.K., Li, D.J. and Du, M.R. (2017) Tim-3 and PD-1 Regulate CD8⁺ T Cell Function to Maintain Early Pregnancy in Mice. *Journal of Reproduction and Development*, **63**, 289-294. <https://doi.org/10.1262/jrd.2016-177>
- [23] Wang, S., Sun, F., Li, M., Qian, J., Chen, C., Wang, M., Zang, X., Li, D., Yu, M. and Du, M. (2019) The Appropriate Frequency and Function of Decidual Tim-3⁺CTLA-4⁺CD8⁺ T Cells Are Important in Maintaining Normal Pregnancy. *Cell Death & Disease*, **10**, Article No. 407. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1642-x>

- [24] Wang, S., Chen, C., Li, M., Qian, J., Sun, F., Li, Y., Yu, M., Wang, M., Zang, X., Zhu, R., *et al.* (2019) Blockade of CTLA-4 and Tim-3 Pathways Induces Fetal Loss with Altered Cytokine Profiles by Decidual CD4⁺T Cells. *Cell Death & Disease*, **10**, Article No. 15. <https://doi.org/10.1038/s41419-018-1251-0>
- [25] Wang, X., Lin, Q., Ma, Z., Hong, Y., Zhao, A., Di, W. and Lu, P. (2005) Association of the A/G Polymorphism at Position 49 in Exon 1 of CTLA-4 with the Susceptibility to Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion in the Chinese Population. *American Journal of Reproductive Immunology*, **53**, 100-105. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2004.00251.x>
- [26] Gupta, R., Prakash, S., Parveen, F. and Agrawal, S. (2012) Association of CTLA-4 and TNF- α Polymorphism with Recurrent Miscarriage among North Indian Women. *Cytokine*, **60**, 456-462. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.05.018>
- [27] Nasiri, M. and Rasti, Z. (2016) CTLA-4 and IL-6 Gene Polymorphisms: Risk Factors for Recurrent Pregnancy Loss. *Human Immunology*, **77**, 1271-1274. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2016.07.236>
- [28] Hayashi, Y., Nishiyama, T., Nakatochi, M., Suzuki, S., Takahashi, S. and Sugiura-Ogasawara, M. (2018) Association of Genetic Variants of PD1 with Recurrent Pregnancy Loss. *Reproductive Medicine and Biology*, **17**, 195-202. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12093>
- [29] Jin, L.P., Zhou, Y.H., Wang, M.Y., Zhu, X.Y. and Li, D.J. (2005) Blockade of CD80 and CD86 at the Time of Implantation Inhibits Maternal Rejection to the Allogeneic Fetus in Abortion-Prone Matings. *Journal of Reproductive Immunology*, **65**, 133-146. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2004.08.009>
- [30] 周晓燕. CTLA-4lg 对小鼠流产模型外周 Th17/Treg 细胞及妊娠结局的影响[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽医科大学, 2012.
- [31] Ling, Y., Huang, Y., Chen, C., Mao, J. and Zhang, H. (2017) Low Dose Cyclosporin A Treatment Increases Live Birth Rate of Unexplained Recurrent Abortion—Initial Cohort Study. *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology*, **44**, 230-235. <https://doi.org/10.12891/ceog3375.2017>
- [32] Zhou, W.H., Dong, L., Du, M.R., Zhu, X.Y. and Li, D.J. (2008) Cyclosporin A Improves Murine Pregnancy Outcome in Abortion-Prone Matings: Involvement of CD80/86 and CD28/CTLA-4. *Reproduction*, **135**, 385-395. <https://doi.org/10.1530/REP-07-0063>
- [33] Wang, S., Li, M., Sun, F., Chen, C., Ye, J., Li, D., Qian, J. and Du, M. (2021) Th17/Treg-Cell Balance in the Peripheral Blood of Pregnant Females with a History of Recurrent Spontaneous Abortion Receiving Progesterone or Cyclosporine A. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **21**, Article No. 37. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9469>
- [34] 伍金华, 谢志威, 车小群, 李秀娟, 黎淑贞. 原因不明复发性流产患者外周血 PD-1、Th1/Th2 型细胞因子水平测定及其相关性研究[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2014(9): 1592-1596.
- [35] Wang, J., Zhao, S.J., Wang, L.L., Lin, X.X., Mor, G. and Liao, A.H. (2023) Leukocyte Immunoglobulin-Like Receptor Subfamily B: A Novel Immune Checkpoint Molecule at the Maternal-Fetal Interface. *Journal of Reproductive Immunology*, **155**, Article ID: 103764. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2022.103764>
- [36] Chen, Z., Huang, J., Kwak-Kim, J. and Wang, W. (2023) Immune Checkpoint Inhibitors and Reproductive Failures. *Journal of Reproductive Immunology*, **156**, Article ID: 103799. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2023.103799>