



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Maternal-fetal HLA compatibility and trophoblast-immune interactions in healthy and preeclamptic pregnancy: elegance in complexity

Hof, L.J. van 't

Citation

Hof, L. J. van 't. (2026, May 22). *Maternal-fetal HLA compatibility and trophoblast-immune interactions in healthy and preeclamptic pregnancy: elegance in complexity*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4303848>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4303848>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).



8

Nederlandse samenvatting(en)

BEKNOPTE SAMENVATTING

Maternale-foetale HLA compatibiliteit en trofoblast-immuun interacties in gezonde en pre-eclamptische zwangerschappen – *de elegantie van complexiteit*

Tijdens de zwangerschap moet het maternale immuunsysteem tolerantie ontwikkelen voor de semi-allogene (half-lichaamsvreemde) foetus, zonder verlies van effectieve afweer tegen infecties. Verstoring van dit proces is geassocieerd met risico's voor moeder en kind, waaronder de veelvoorkomende en ernstige pre-eclampsie (zwangerschapsvergiftiging). In dit proefschrift wordt onderzocht hoe deze immunologische balans wordt gevormd en hoe verstoring bijdraagt aan het ontstaan van pre-eclampsie. De focus ligt op immunogenetische verschillen tussen moeder en foetus, zoals HLA-compatibiliteit, en interacties tussen maternale immuuncellen en foetale cellen (trofoblasten) in de placenta. HLA-moleculen zijn polymorfe celoppervlakte-eiwitten die betrokken zijn bij de directe en indirecte herkenning van (lichaamsvreemd) weefsel door het immuunsysteem. Tijdens de zwangerschap maken zij herkenning van foetale cellen door maternale NK-cellen en T-cellen mogelijk.

In verschillende klinische cohorten, waaronder gezonde en pre-eclamptische zwangerschappen, een genetisch geïsoleerde populatie en zwangerschappen na eiceldonatie, wordt de rol van maternale-foetale HLA-compatibiliteit bestudeerd (de mate van overeenkomst van weefselantigenen tussen moeder en kind). Hierbij wordt aangetoond dat de mate van HLA-compatibiliteit en specifieke HLA-klasse I, HLA-klasse II en HLA-C-gerelateerde interacties geassocieerd zijn met pre-eclampsie en veranderingen in voorspelde CD4⁺ T-celresponsen. Daarnaast wordt aangetoond hoe trofoblasten, zowel *in vivo* in de placenta als *in vitro* in celweekmodellen, maternale immuunresponsen moduleren via expressie van immuunremmende moleculen en directe interactie met maternale CD4⁺ T-cellen. Tot slot wordt de haalbaarheid van niet-invasieve, vroege foetale HLA-typering via cervicale trofoblast-isolatie verkend.

Gezamenlijk laten deze studies zien dat maternale herkenning van foetaal HLA door NK- en T-cellen en de daaropvolgende trofoblast-gedreven immuunregulatie, cruciale determinanten zijn van een succesvolle zwangerschap. Verstoring van deze balans draagt bij aan het ontstaan van pre-eclampsie.

UITGEBREIDE SAMENVATTING

Maternale-foetale HLA compatibiliteit en trofoblast-immuun interacties in gezonde en pre-eclamptische zwangerschappen – *de elegantie van complexiteit*

Inleiding

De zwangerschap vormt een unieke immunologische situatie waarin het maternale immuunsysteem gelijktijdig tolerantie moet ontwikkelen ten opzichte van de semi-allogene foetus en bescherming moet blijven bieden tegen infectieuze bedreigingen. Deze paradoxale opgave vereist een nauwkeurig gereguleerde interactie van zowel het aangeboren als het adaptieve immuunsysteem met de foetale cellen.

Op het raakvlak tussen de weefsels van moeder en kind (de maternale-foetale interface) ontstaat een gespecialiseerd immuunmilieu waarin binnen de baarmoederwand (decidua) immuuncellen uit het bloed van de moeder, zijnde natuurlijke killercellen (NK-cellen), macrofagen, dendritische cellen en T-lymfocyten zich specialiseren en interacties aangaan met foetale trofoblasten, waaronder de extravillieuze trofoblast (EVT) en de syncytiotrofoblast (STB). Deze cellen dragen gezamenlijk zorg voor succesvolle remodellering van de bloedvaten (spiraalarteriën) en het handhaven van immuuntolerantie. Immunogenetische factoren, van zowel moeder als foetus spelen hierin een belangrijke rol, waaronder moleculen genaamd humaan leukocyte antigenen (HLA). In een ongecompliceerde zwangerschap leidt deze interactie tot succesvolle implantatie, de ontwikkeling van de placenta en foetale groei. Verstoringen in deze processen kunnen daarentegen bijdragen aan het ontstaan van ernstige zwangerschapscomplicaties zoals pre-eclampsie.

Pre-eclampsie is een ernstige multi-systemische zwangerschapscomplicatie, gekenmerkt door hypertensie tezamen met ofwel proteïnurie, tekenen van andere orgaanfunctie of foetale groeirestrictie na 20 weken zwangerschap. Wereldwijd komt pre-eclampsie voor in 3-5% van alle zwangerschappen en vormt het een belangrijke oorzaak van maternale en perinatale morbiditeit en mortaliteit. In ernstige gevallen kan pre-eclampsie leiden tot complicaties zoals insulten (eclampsie), intra-uteriene vruchtdood, abruptio placentae en multiorgaanfalen. Op de lange termijn hebben zowel moeder als kind een verhoogd risico op cardiovasculaire, renale en metabole aandoeningen. De enige curatieve behandeling is de zwangerschap beëindigen ofwel de partus nastreven; beleid is daarom gericht op risicostratificatie, antihypertensiva en optimale timing van de bevalling. Klinisch wordt pre-eclampsie veelal geassocieerd op basis van ernst en zwangerschapsduur, maar indeling op basis van deze criteria wordt niet eenduidig toegepast.

De pathofysiologie van pre-eclampsie is complex en multifactorieel, maar de basis ligt vroeg in de zwangerschap; bij de placentatie. In de zwangerschap dringen foetale extravilleuze trofoblasten (EVT) door in de maternale decidua en remodelleren zij de uterine spiraalarteriën tot vaten met lage weerstand en hoge capaciteit. Bij pre-eclampsie is deze remodelering inadequaet, wat leidt tot endotheelactivatie en systemische ontsteking. Dit wordt beschreven in een tweefasenmodel: aanvankelijke placentale disfunctie (fase 1), gevolgd door systemische endotheelstoornis met klinische manifestaties (fase 2).

Immunologische disregulatie speelt een centrale rol in deze pathofysiologie. Epidemiologische risicofactoren, zoals nullipariteit, nieuwe paterniteit, maar ook eiceldonatie-zwangerschappen, wijzen op de interactie van maternale immuuncellen met foetale (paternale) antigenen. In pre-eclampsie is consistent een afname in aantal en functie van regulatoire T-cellen (Treg) aangetoond in zowel de decidua als het perifere bloed, met een verschuiving naar pro-inflammatoire T-cel responsen. Daarnaast zijn verstoringen in co-inhibitoire paden van immuunregulatie, zoals PD-1, CTLA-4 en CD200, geassocieerd met pre-eclampsie.

Verder zijn specifieke maternale en foetale genetische interacties geassocieerd met een verhoogd risico op pre-eclampsie. Een essentieel element binnen de immunologische context van zwangerschap is de maternale herkenning van foetale antigenen, die grotendeels wordt bepaald door verschillen in de polymorfe humane HLA moleculen. De foetus erft HLA-allelen van beide ouders en is daarmee voor de moeder deels allogeen. Wetenschappelijk onderzoek suggereert dat deze allo-antigene prikkel noodzakelijk is voor een succesvolle zwangerschap. Zowel een te sterke als een te zwakke immuunrespons kan echter leiden tot ontregeling van maternale immuunmodulatie. Maternale-foetale HLA-compatibiliteit en de wijze waarop foetale antigenen worden gepresenteerd aan zowel maternale NK-cellen als T-cellen vormen daarom cruciale, maar complexe determinanten van zwangerschapsuitkomsten. Een belangrijke interactie is die waarbij killer-cell immunoglobulin-like receptors (KIR) op maternale NK-cellen foetale HLA-C-moleculen op trofoblastcellen herkennen. Zo is de combinatie van een matернаal KIR AA-genotype met foetaal HLA-C2 geassocieerd met een verhoogd risico op pre-eclampsie, waarschijnlijk door excessieve remming van deciduale NK-cellen en daardoor oppervlakkige trofoblastinvasie in de decidua. Ook veranderingen in andere immunologische variabelen, zoals HLA-G, macrofagen, dendritische cellen en het complementsysteem lijken bij te dragen aan de een suboptimaal microklimaat in de placenta en het onderliggende mechanisme van pre-eclampsie.

Binnen deze immunologische context vormt eiceldonatie een bijzonder klinisch en biologisch model. Bij eiceldonatie is de foetus volledig allogeen ten opzichte van de

draagster en is sprake van een hoge mate van maternale-foetale HLA-mismatches. Deze zwangerschappen gaan gepaard met een significant verhoogd risico op pre-eclampsie en vertonen kenmerken van zowel versterkte immuunactivatie als compensatoire tolerogene mechanismen. Eiceldonatie biedt daarmee een unieke mogelijkheid om te bestuderen hoe maternale immuunmodulatie wordt bewerkstelligd.

Het doel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift was om de immunologische mechanismen te ontrafelen die bijdragen aan maternale-foetale tolerantie en om inzicht te verkrijgen in hoe verstoring van deze processen kan leiden tot pre-eclampsie. Daarbij lag de focus op twee nauw verweven pijlers: (1) maternale-foetale HLA-compatibiliteit en de gevolgen hiervan voor maternale immuunactivatie, en (2) de rol van trofoblasten in het moduleren van maternale immuunresponsen, met bijzondere aandacht voor CD4⁺ T-cellen. Door gebruik te maken van diverse klinische cohorten, genetische modellen en experimentele benaderingen is getracht deze processen integraal te bestuderen.

De relevantie van dit onderzoek ligt niet alleen in het verdiepen van fundamenteel inzicht in reproductieve immunologie, maar ook in het identificeren van immunologische factoren die in de toekomst kunnen bijdragen aan preventie, vroege risicostratificatie, en mogelijk behandeling van pre-eclampsie.

Onderzoeksmethoden en bevindingen

Hoofdstuk 2

In hoofdstuk 2 wordt de relatie onderzocht tussen maternale-foetale HLA-compatibiliteit en het optreden van een ongecompliceerde zwangerschap dan wel pre-eclampsie. In deze studie worden HLA-typeringen van moeder en kind geanalyseerd om de frequentie en aard van HLA-overeenkomsten en -verschillen te bepalen. Daarnaast wordt specifiek gekeken naar interacties tussen maternaal KIR en foetaal HLA-C, gezien hun bekende rol in de regulatie van immuunresponsen tijdens de zwangerschap.

De analyses tonen aan dat bij ongecompliceerde zwangerschappen de mate van maternale-foetale HLA-compatibiliteit niet afwijkt van wat op basis van toeval wordt verwacht. Daarentegen wordt bij pre-eclamptische zwangerschappen een verhoogde compatibiliteit waargenomen voor alle HLA moleculen en meer specifiek HLA klasse I, in het bijzonder HLA-C. Tevens worden verschillen aangetoond in de verdeling van maternale KIR/foetaal HLA-C-genotypecombinaties, met een relatieve oververtegenwoordiging van HLA-C2 in pre-eclampsie. Deze bevindingen wijzen erop dat een verminderde allo-antigeniciteit en afwijkende KIR-HLA-C-interacties kunnen bijdragen aan ontregelde maternale immuunadaptatie en de pathofysiologie van pre-eclampsie.

Hoofdstuk 3

Hoofdstuk 3 is een voortzetting van de studieopzet van Hoofdstuk 2, specifiek binnen een genetisch geïsoleerde populatie, die gekenmerkt wordt door een beperkte HLA-diversiteit. Deze populatie biedt de mogelijkheid om de invloed van lage HLA-variantie en eventuele selectie op maternale-foetale compatibiliteit en immuunresponsen te bestuderen. In deze populatie wordt onderzocht of HLA-(mis)matches verschillen tussen ongecompliceerde zwangerschappen en zwangerschappen met zwangerschaps-geïnduceerde hypertensie of pre-eclampsie.

Hoewel in ongecompliceerde zwangerschappen geen afwijking wordt gevonden tussen geobserveerde en verwachte HLA-overeenkomsten of verschillen tussen moeder en kind, ondanks een hogere mate van HLA-homozygotie, worden bij hypertensieve zwangerschappen significant meer HLA-DQB1 verschillen aangetoond. Deze bevinding wordt verder ondersteund door verhoogde PIRCHE-II-scores, die de potentiële sterkte van CD4⁺ T-celresponsen tegen foetale HLA-epitopen voorspellen. Deze resultaten suggereren een immunogenetische basis voor hypertensieve zwangerschapscomplicaties, waarbij specifieke HLA-klasse II verschillen bijdragen aan afwijkende maternale immuunresponsen.

Hoofdstuk 4

In hoofdstuk 4 wordt de haalbaarheid van niet-invasieve foetale HLA-typering in de vroege zwangerschap onderzocht. Hiertoe is een methodologische vergelijking uitgevoerd voor de isolatie van HLA-G⁺ EVT uit maternale cervixmonsters: de eerder beschreven 'HLA-G-coupled nanoparticle immunomagnetic separation (TRIC)' in vergelijking met de voor deze toepassing nieuw toegepaste 'fluorescence-activated cell sorting (FACS)', een variant van flowcytometrie.

De studie laat zien dat het met FACS mogelijk is EVT te isoleren, zij het met een beperkte opbrengst, en een foetaal HLA-genotype te detecteren. Hoewel verdere technische optimalisatie noodzakelijk is, toont deze benadering potentie voor toekomstige klinische toepassing, met name voor vroege risicostratificatie van zwangerschappen met een verhoogd risico op pre-eclampsie.

Hoofdstuk 5

In hoofdstuk 5 wordt onderzocht of de expressie van bepaalde co-inhibitoire moleculen in placenta's van pre-eclamptische zwangerschappen in het derde trimester is veranderd, met bijzondere aandacht voor eiceldonatie-zwangerschappen. De hypothese was dat in deze zwangerschappen de grotere immunogenetische verschillen mogelijk een sterkere mate van immuunregulatie vereisen in vergelijking met spontaan ontstane zwangerschappen. Er werden veranderingen in de placentale expressie van PD-L1, CD200

en indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) vastgesteld in eiceldonatie-zwangerschappen, met name gelokaliseerd op de STB. Daarnaast bleek dat de placentale CD200-eiwitexpressie in ongecompliceerde eiceldonatie-zwangerschappen positief correleerde met het aantal HLA-verschillen (zowel totaal HLA als HLA-klasse I). De resultaten van dit onderzoek wijzen op een compenserende toename van immuunregulatie bij verhoogde allo-immunologische belasting in eiceldonatie-zwangerschappen, waarbij een ontoereikende regulatoire respons mogelijk ten grondslag ligt aan de verhoogde incidentie van pre-eclampsie.

Hoofdstuk 6

In hoofdstuk 6 wordt het potentiële regulerende effect van EVT op het fenotype van de deciduale CD4⁺ T-celpopulatie onderzocht. In een *in vitro* model werden primaire, eerste trimester gedifferentieerde EVT gekweekt samen met geactiveerde conventionele CD4⁺ T-cellen (Tconv). Deze co-cultuur leidde tot inductie van een regulatorisch fenotype in geactiveerde Tconv, gekenmerkt door verhoogde expressie van CD25, FOXP3 en HELIOS, gecombineerd met een verminderde expressie van CCR7. Deze fenotypische verschuiving was afhankelijk van CD3-gemedieerde, en in het bijzonder CD28-gemedieerde co-stimulatie, en ging gepaard met verhoogde proliferatie en een toegenomen secretie van immuunmodulerende factoren, waaronder IL-10 en IDO.

Deze bevindingen suggereren dat EVT, in aanwezigheid van adequate CD3/CD28-stimulatie door antigeenpresenterende cellen in het lokale micro-omgeving, actief kunnen bijdragen aan de inductie en expansie van regulatorische T-cellen in de decidua, en daarmee mogelijk een directe rol spelen in het bevorderen van maternale-foetale immuuntolerantie tijdens de vroege zwangerschap.

Discussie

De maternale immuniteit wordt tijdens de zwangerschap niet simpelweg onderdrukt, maar actief gemoduleerd en dynamisch aangepast. Zowel directe als indirecte herkenning van foetale HLA-antigenen kan aanleiding geven tot maternale immuunresponsen. Deze responsen kunnen foetale en placentaire groei bevorderen of verstoren, en zo invloed hebben op zwangerschapsuitkomsten. Immunologisch 'succes' in de zwangerschap wordt waarschijnlijk bepaald door zowel de mate van genetische (HLA-)compatibiliteit als de wijze waarop de maternale immuunrespons hierop wordt gereguleerd. Een zekere mate van HLA-incompatibiliteit tussen de moeder en de foetus is noodzakelijk voor een adequate placentatie en aldus een gezonde zwangerschap. Deze immunogenetische overeenkomst beïnvloedt essentiële HLA-afhankelijke interacties tussen trofoblasten en zowel NK-cellen als T-cellen. Vervolgens dragen immuunregulerende mechanismen zoals co-inhibitoire moleculen vanuit o.a. de trofoblast bij aan het modeleren van deze maternale immuunresponsen.

Maternale-foetale HLA klasse II verschillen kunnen bijdragen aan de etiologie van pre-eclampsie via een ander mechanisme dan HLA-C, omdat trofoblasten normaal geen HLA klasse II tot expressie brengen. Foetale HLA klasse II antigenen worden daarom gepresenteerd aan maternale immuuncellen door andere celtypen, zoals dendritische cellen en macrofagen. Onze bevindingen suggereren dat HLA klasse II verschillen de pathofysiologie van pre-eclampsie beïnvloeden via T-celactivatie en dat het effect verschilt, afhankelijk van of presentatie lokaal op het maternale-foetale raakvlak of systemisch via lymfoïde organen en het perifere bloed plaatsvindt. De associaties van zowel HLA-C als HLA-DQB1 met pre-eclampsie wijzen op aparte, maar complementaire immunologische routes. Welke HLA-afhankelijke route in associatie met pre-eclampsie in een studie wordt aangetoond is afhankelijk van verschillende factoren, waaronder de variatie in populaties, genetische achtergrond, studieopzet, ziekte-definitie en pathofysiologische mechanismen. Gezamenlijk benadrukken onze bevindingen dat pre-eclampsie ontstaat uit een samenspel van immunogenetische factoren, placentale adaptatiemechanismen en maternale immuunresponsen.

Pre-eclampsie is een heterogene aandoening waarbij verschillende onderliggende ziektemechanismen tot dezelfde klinische presentatie kunnen leiden. Dit bemoeilijkt onderzoek, omdat patiëntgroepen daardoor moeilijk vergelijkbaar zijn en studies soms tegenstrijdige resultaten opleveren. In toenemende mate ondersteunen wetenschappelijke uitkomsten het pleidooi voor subtypering van pre-eclampsie op basis van onderliggende pathofysiologische mechanismen, zoals angiogene disbalans, maternale cardiovasculaire dysfunctie of immunologische maladaptatie. Een dergelijke benadering kan bijdragen aan betere voorspelling, preventie en behandeling van pre-eclampsie. In veel studies wordt pre-eclampsie nog voornamelijk vanuit een vasculair óf immunologisch perspectief benaderd. In werkelijkheid zijn deze processen sterk met elkaar verweven en afhankelijk van zowel het tijdstip in de zwangerschap als de locatie van de interacties aan de maternale-foetale interface.

Foetale HLA-typering via FACS-geïsoleerde HLA-G⁺ EVT uit cervicale monsters blijkt technisch haalbaar, maar is momenteel niet geschikt voor routinematig klinisch gebruik. Specifieke matернаal-foetale HLA-associaties en hun rol bij zwangerschapscomplicaties zoals pre-eclampsie worden nog onvoldoende begrepen, waardoor toepassing beperkt blijft tot wetenschappelijk onderzoek. Optimalisatie van isolatieprotocollen, verbetering van trofoblastmarkers en grotere cohortstudies zijn nodig om nauwkeurigheid en voorspellende waarde te verhogen. Transparantie in methodologie en het publiceren van zowel positieve als negatieve resultaten is cruciaal om het veld vooruit te brengen en toekomstige klinische toepassingen mogelijk te maken.

Trofoblastcellen vormen een belangrijk contactpunt vanuit de foetus met de moeder en spelen een centrale rol in zowel immuunmodulatie als vaatremodellering tijdens de zwangerschap. Onze bevindingen suggereren dat regulatoire T-cellen in de decidua deels perifeer worden geïnduceerd door interacties tussen trofoblastcellen en antigeenpresenterende cellen. In de literatuur is nog geen consensus over de mate waarin thymus-afgeleide en perifeer geïnduceerde Tregs bijdragen aan immuunregulatie tijdens de zwangerschap. Waarschijnlijk dragen beide populaties op complementaire wijze bij aan het handhaven van maternale-foetale immuuntolerantie. De immunologische micro-omgeving van de decidua is complex; andere cellen zoals macrofagen en dendritische cellen presenteren antigenen aan T-cellen en leveren essentiële co-stimulerende en cytokine signalen, terwijl EVT de immuunrespons verder moduleren. Vooruitgang in *in vitro* celweekmodellen en geavanceerde technieken zoals single-cell transcriptomics en placenta-on-a-chip systemen kan helpen de dynamiek van trofoblast-immuuninteracties beter te doorgronden en de beperkingen van diermodellen voor mens-specifieke mechanismen te overkomen.

Onze bevindingen bij zwangerschappen na eiceldonatie laten zien dat het maternale immuunsysteem kan compenseren voor extreme HLA-incompatibiliteit via adaptieve immuunregulatie. Over het algemeen wordt het belang van zowel lokale als systemische immuunmodulatie onderstreept, waarbij timing, celtype en locatie bepalend zijn voor het effect op placentavorming en maternale tolerantie.

Conclusie

Dit proefschrift toont aan dat maternale-foetale immuuninteracties worden gestuurd door een samenspel van immunogenetische verschillen en placentale immuunmodulerende mechanismen. Door deze processen vanuit de petri-schaal, in de placenta, en op populatieniveau te bestuderen, biedt dit werk nieuwe inzichten in de pathofysiologie van pre-eclampsie en vormt het aangrijpingspunten voor toekomstige diagnostische en therapeutische strategieën.