Association between the HLA-G*0105N polymorphism and recurrent abortion in women

Z. Hajifathaliya[1], R. Najafipour[2], MH. Modarressi[1], Sh. Savad[1], Z. Rashvand[2]

[1] Department of Medical Genetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Corresponding Address: Mohammad Hossein Modarressi, Department of Medical Genetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Tel: +98-912-3385292, Email: modaresi@tums.as.ir
Received: 31 Dec 2016; Accepted: 23 Feb 2017

Abstract

Background: In human pregnancies HLA-G (Human leukocyte antigens G) is supposed that play a main role in implantation. It is expressed on trophoblast cells that invades during pregnancy to the uterus decidua and is introduced to induce maternal tolerance immunologically against the fetus.

Objective: The aim of this study was to find association between the HLA-G*0105N polymorphism and recurrent abortion in women.

Methods: This case-control study was conducted on two groups of 108 women with history recurrent abortion (RSA) as a case group or without history RSA as a control group in Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences in 2015. The frequency of null allele of HLA-G*0105N was studied in two groups by PCR-RFLP method. Allele and genotype frequencies of two group were compared using Hardy-Weinberg equilibrium and Chi-square test.

Findings: In case group, 54 (50%) and 17 (15.7%) were heterozygous and homozygous respectively for HLA-G*0105N polymorphism. In control group, only 9 (8%) was homozygous for HLA-G*0105N polymorphism. But there was no significant difference between case and control on HLA-G*0105N allele with RSA (P=0.1004).

Conclusion: As the results, there was no significant association between HLA-G*0105N poly morphism and RSA. Thus, it seems that this HLA-G*0105N polymorphism may effective in relation with other genes or polymorphisms in RSA.

Keywords: HLA-G*0105N, Polymorphism, Recurrent spontaneous abortion

Citation: Hajifathaliya Z, Najafipour R, Modarressi MH, Savad Sh, Rashvand Z. Association between the HLA-G*0105N polymorphism and recurrent abortion in women. J Qazvin Univ Med Sci 2018; 21 (6): 30-37.

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N با سقط مکرر در زنان دارای سابقه سقط مکرر

زینب حاجی فتحعلیا[۱]، دکتر رضا نجفی‌پور[۲]، دکتر محمد حسین مدرسی[۱]، دکتر شهرام سواد[۱]، زهرا رشوند[۲]

[۱] گروه ژنتیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۲] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه ژنتیک پزشکی، تلفن ۰۹۱۲۳۳۸۵۲۹۲
تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۵

✱چکیده

زمینه: HLA-G دارای یک نقش کلیدی مهم در لانه‌گزینی جنین و ایجاد تحمل ایمنولوژی در دوران بارداری است. HLA-G در سطح سلول‌های تروفوبلاست که به درون لایه دسیدوای رحمی نفوذ می‌کند بیان می‌شود و به‌عنوان یک عامل ایجادکننده تحمل مادری جنینی معرفی شده است.

هدف: این مطالعه به منظور بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N با سقط مکرر در زنان دارای سابقه سقط مکرر انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد- شاهدی در سال ۱۳۹۴ بر روی دو گروه ۱۰۸ نفری از زنان با سابقه (گروه مورد) یا بدون سابقه سقط مکرر (گروه شاهد) در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. فراوانی نول الل HLA-G*0105N در زنان ایرانی بارور و زنان دارای سابقه سقط مکرر به‌وسیله تکنیک RFLP-PCR مورد بررسی قرار گرفته و فراوانی اللی و ژنوتیپی افراد با استفاده از آزمون تعادل هاردی وینبرگ و آزمون آماری کای دو بررسی شدند.

یافته‌ها: در گروه مورد، ۱۷ نفر (۱۵/۷٪) هموزیگوت و ۵۴ نفر (۵۰٪) برای پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N هتروزیگوت بودند. در گروه شاهد تنها ۹ نفر (۸٪) برای الل فوق هموزیگوت بودند. با وجود اختلاف در فراوانی ژنوتیپی الل HLA-G*0105N در دو گروه، ارتباط معنی‌داری بین الل الل HLA-G*0105N و سقط مکرر دیده نشد (P=۰/۱۰۰۴).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه هیچ ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N و سقط مکرر نشان نمی‌دهد. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که این پلی‌مورفیسم ممکن است در ارتباط با سایر ژن‌ها یا پلی‌مورفیسم‌ها در ایجاد سقط مکرر تأثیرگذار باشد.

کلیدواژه‌ها: HLA-G*0105N، پلی‌مورفیسم، سقط مکرر

✱مقدمه:

سقط مکرر یکی از معضلات امر سلامت و بحران‌های اصلی زوجین در سراسر دنیا می‌باشد و به بروز ۲ تا ۳ سقط یا بیش‌تر قبل از نیمه اول بارداری اطلاق می‌شود.[۱] تخمین زده می‌شود که ۲ درصد زنان در سن باروری دچار سقط مکرر می‌شوند که در حدود ۵۰ درصد آن دارای علت مشخص نمی‌باشند و سقط ایدیوپاتیک نامیده می‌شود. شایع‌ترین علت سقط‌های منفرد اختلالات ژنتیکی می‌باشد در حالی‌که شایع‌ترین دلیل سقط مکرر علل ایمنولوژیک به‌حساب می‌آید. بنابراین درصد عمده‌ای از سقط‌های ایدیوپاتیک به‌علت عملکرد معیوب سیستم ایمنی مادر نسبت به جنین است.[۲]

یکی از سؤالات اساسی در بارداری این است که چگونه سیستم ایمنی مادر، جنین را به‌عنوان یک موجود بیگانه شناسایی و دفع نمی‌کند. نگاهی به مراحل لانه‌گزینی جنین نشان می‌دهد که در تمامی مراحل، سیستم ایمنی در پذیرش جنین توسط مادر نقش مهمی دارد و مکانیسم‌های خاصی وجود دارد که از جنین در مقابل سیستم ایمنی مادر دفاع کرده و از آسیب جنین و دفع آن جلوگیری می‌کند. به‌نظر می‌رسد در میان این مکانیسم‌ها ژن HLA-G، عضوی از کمپلکس ژنی مجموعه سازگاری بافتی اصلی (Human Major Histocompatibility Complex, MHC)

که در موقعیت کروموزومی ۳، ۲۱ p ۶ انسان قرار دارد، مهم‌ترین نقش را ایفا می‌کند.[۳]

HLA-G دارای۷ ایزوفرم می‌باشد که ۴ تای آن‌ها متصل به غشا (G4, G3, G2, G1) و ۳ تا ترشحی (G7, G6, G5) هستند.[۴] با وجود آن که mRNA ژن HLA-G در بافت‌های مختلفی قابل شناسایی می‌باشد ولی بیان پروتئین HLA-G محدود به سلول‌های تروفوبلاست جفت در سطح مشترک مادری- جنینی، مایع آمنیوتیک و برخی از بافت‌های رحم مادر در طول بارداری است.[۵] در یک بارداری موفق، سطح HLA-G در دوران بارداری در خون محیطی مادر تغییر می‌کند به‌گونه‌ای که در سه ماهه اول افزایش یافته و در اوایل سه ماهه سوم به حداکثر میزان خود می‌رسد و با نزدیک شدن به زمان زایمان میزان آن کاهش می‌یابد. کاهش سطح HLA-G طی هفته‌های اول بارداری با عوارضی همچون شکست لانه‌گزینی، سقط‌های مکرر خود به خود و پره اکلامپسی ارتباط دارد.[۶] به‌علاوه تغییر در میزان بیان در برخی از بیماری‌های اتوایمن و التهابی از جمله؛ لوپوس، آرتریت روماتوئید دیده شده است.[۷]

پروتئین HLA-G دارای چندین عملکرد از جمله: ۱) جلوگیری از فعالیت سلول‌های سیتوتوکسیک دسیدوای dNK ۲) جلوگیری از تکثیر سلول‌های TCD4 ۳) جلوگیری از تمایز سلول‌های B و سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن ۴) القای تولید سلول‌های Th2 و IL10 ۵) تنظیم آنژیوژنز در جفت می‌باشد که همه این عملکردها باعث ثبات و تقویت بارداری می‌شود.[۸-۱۰] HLA-G دارای پلی‌مورفیسم‌هایی در نواحی کُدکننده و غیرکُدکننده توالی ژن خود می‌باشد.[۱۰] در ناحیه کُدکننده دارای ۴۴ پلی‌مورفیسم و ۲ نول الل HLA-G*0105, HLA-G*0103 می‌باشد.[۱۱]

نول الل HLA-G*0105 به‌علت حذف اسید آمینه سیتوزین در کدون ۱۳۰ اگزون ۳، ایجاد یک جهش تغییر چهارچوب و به دنبال آن تبدیل کدون اسید آمینه والین به کدون توقف (Val189Stop) می‌شود.[۱۲] در این حالت ایزوفرم‌های HLA-G1, G5, G4 که دارای دامین α_2 اند سنتز نمی‌شوند و فقدان HLA-G5, G1 در سطح جنینی- مادری باعث عملکرد معیوب سیستم ایمنی مادر و در نتیجه شناسایی جنین به عنوان عامل بیگانه و سقط آن می‌شود. بنابراین، این نول الل باعث افزایش خطر سقط مکرر می‌شود.[۱۳] این نول الل نادر بوده و بیش‌تر در جمعیت آفریقایی دیده می‌شود و مسئول ۱۱ درصد سقط‌های مکرر در جمعیت آفریقایی، ۱۵/۴ درصد در جمعیت هندی و ۴/۱۷ درصد در جمعیت برزیلی می‌باشد.[۱۴] در مطالعه نادری و همکارانش با استفاده از تکنیک PCR-RFLP نشان دادند که در زنان ایرانی دارای سقط مکرر سطح HLA-G*0105N افزایش چشمگیری نسبت به گروه کنترل دارد.[۱۸] لذا این مطالعه جهت بررسی ارتباط پلی مورفیسم HLA-G*0105N با سقط مکرر در زنان دارای سابقه سقط مکرر انجام شد.

❋مواد و روش‌ها:

این مطالعه مورد- شاهدی در سال ۱۳۹۴ در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. چون این مطالعه برای اولین بار در ایران انجام شده است برای انتخاب پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N از روش‌های بیوانفورماتیک و سایت‌هایی نظیر NCBIو Ensembel بهره گرفته شده است. مطالعه بر روی زنان دارای سابقه سقط مکرر و یا دارای سابقه شکست IVF که در سن باروری (۱۵ تا ۵۰ سال) بودند و هیچ علت آناتومیکی و هورمونی برای علت سقط آن‌ها شناخته نشده بود انجام شد. بعد از گرفتن شرح حال، ۵ سی‌سی نمونه خون محیطی از ۱۰۸ بیمار با میانگین سنی ۲۶ سال (۱۸ تا ۳۴ سال) به‌عنوان گروه بیماران برای انجام تحقیقات گرفته شد. نمونه‌های شاهد نیز از ۱۰۸ نفر با سابقه داشتن یک بارداری موفق بدون سابقه سقط مکرر یا نازایی که از نظر نژادی و سنی مشابه گروه بیماران بود با میانگین سنی ۳۰ سال (۲۰ تا ۴۰) تهیه شد.

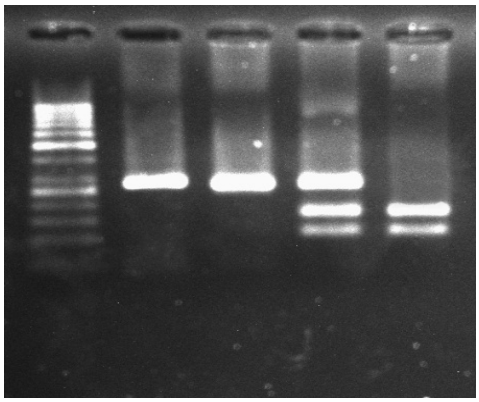
در انتخاب افراد گروه مورد و شاهد مواردی نظیر

تعداد فرزند زنده و نمایه توده بدنی و ... مدنظر نبوده و شرط کافی و لازم برای ورود به مطالعه قرار داشتن در سن باروری و داشتن سابقه سقط مکرر بوده است. البته بیمارانی که علت آناتومیکی، هورمونی و ... برای سقط آن‌ها تشخیص داده شده بود وارد مطالعه نشدند. DNA ژنومیکی هر دو گروه براساس دستورالعمل کیت استخراج Dyna BioDNA شرکت سیناژن از خون محیطی افراد استخراج و با راند شدن بر روی ژل آگارز ۲ درصد وجود DNA در نمونه‌های استخراج شده تأیید شد.

سپس DNA های به‌دست آمده با استفاده از تکنیک (Polymerase Chain Reaction, PCR) تکثیر یافتند و مجدداً جهت تأیید درستی PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد راند شدند. در مرحله بعد تکنیک RFLP برای بررسی وجود یا عدم وجود پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N در اگزون ۳ ژن HLA-G مورد استفاده قرار گرفت. توالی‌های پرایمر برای تکثیر اگزون ۳ با استفاده از نرم‌افزار پرایمر۳ طراحی شده‌اند عبارتند از Forward: 5`-CACACCCTCCAGTGGATGAT-3 و Reverse: 5`-GGTACCCGCGCGCTGCAGCA-3. ساخت پرایمرها توسط شرکت سیناژن صورت گرفت و سپس واکنش PCR در دستگاه Flexy cycle PCR با حجم کلی ۲۵ میکرولیتر که شامل ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۰/۵ میکرولیتراز محصول PCR، ۱۰ Taqmaster mix و ۱۲/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل و براساس تنظیمات PCR به‌صورت: دمای واسرشتگی اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ دقیقه، ۱۰ چرخه شامل؛ واسرشتگی ۹۴ درجه برای ۱۵ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها ۶۵ درجه برای ۳۰ ثانیه و مرحله گسترش ۶۸ درجه برای ۱ دقیقه و سپس ۲۹ چرخه واسرشتگی ۹۴ درجه برای ۱۵ ثانیه، مرحله اتصال پرایمرها ۵۴/۷ درجه برای ۳۰ ثانیه، مرحله گسترش ۶۸ درجه برای ۱ دقیقه و در نهایت ۱ دور گسترش نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۸ دقیقه انجام شد. محصول PCR حاصل به طول ۲۷۶ جفت باز می‌باشد. سپس براساس راهنمای آنزیم محدودگر PpuM- I (Fermentas, Lithuania) (شرکت سیناژن)، تکنیک RFLP برای محصولات PCR انجام شد که شامل ۱واحد آنزیم PpuM–I، ۲ میکرولیتر بافر ۱۰x، ۱۰ میکرولیتر محصول PCR و ۸ میکرولیتر آب مقطر استریل بوده است. این آنزیم توالی RG/GWCCY را شناسایی کرده و بُرش می‌زند. بنابراین اگر در جایگاه اثر آنزیم G باشد برش اتفاق می‌افتد. پس محصولاتی از PCR که فاقد توالی پلی‌مورفیسم HLA-G*0105 باشند، مورد برش قرار می‌گیرند و دو باند متفاوت ۱۰۸ و ۱۶۸ نوکلوئیدی ایجاد می‌کنند. در حالی‌که بر روی توالی محصولات PCR دارای پلی‌مورفیسم فوق بی‌اثر می‌باشد. در نهایت با بررسی تصاویر حاصل از راند نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۲ درصد، تحلیل آماری با استفاده از آزمون آماری کای مربع و نرم‌افزار SPSS ۱۶ انجام و سطح معنی‌داری کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

❋ یافته‌ها:

نتایج الکتروفورز محصولات PCR و RFLP هر فرد در روی ژل آگارز تهیه و مورد بررسی قرار گرفت. Ladder DNA مورد استفاده ۵۰ جفت باز بود. در گروه شاهد ۹ نفر (۸ درصد) برای الل HLA-G*0105N هموزیگوت بودند این در حالی است که در گروه بیماران ۱۷ نفر (۱۵/۴ درصد) هموزیگوت و ۵۴ نفر (۵۰ درصد) هتروزیگوت بودند. فراوانی اللی HLA-G*0105N در هر دو گروه ۰/۴ گزارش شد که از نظر آماری تفاوتی نداشت. مقدار کای مربع نشان داد که هر دو گروه در تعادل هاردی وینبرگ بودند ولی با وجود تفاوت در فراوانی ژنوتیپی دو گروه تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها در ارتباط با الل HLA-G*0105N دیده نشده است. رابطه معناداری بین وجود الل HLA-G*0105N با سقط مکرر در زنان ایرانی وجود ندارد (P=۱۰۰۴/۰) (شکل شماره ۱).



شکل ۱- قطعه تکثیر یافته اگزون ۳، محصول PCR و محصولات PCR-RFLP در نمونه‌های بیمار و شاهد

MW: DNA ladder ۵۰ جفت بازی

نمونه ۱: توالی تکثیر یافته اگزون ۳ (محصول PCR) به طول۲۷۶جفت باز قبل از تأثیر آنزیم PpUM-1

نمونه ۲: توالی اگزون ۳ بعد از تأثیر آنزیم در افراد هموزیگوت برای پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N (۲۷۶جفت باز)

نمونه ۳: توالی اگزون ۳ بعد از تأثیر آنزیم در افراد هتروزیگوت برای پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N (۱۰۸، ۱۶۸ و ۲۷۶ جفت باز)

نمونه ۴: توالی اگزون ۳ بعد از تأثیر آنزیم در افراد هموزیگوت فاقد پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N (۱۶۸و ۱۰۸جفت باز)

*بحث و نتیجه‌گیری:

در مطالعه حاضر در بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N با سقط، هیچ ارتباط معنی‌داری در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشد. مطالعه‌های مشابه مختلفی در سراسر دنیا به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N با سقط مکرر پرداخته‌اند که برخی از آن‌ها همانند مطالعه بر روی جمعیت‌های فرانسه، ژاپن و چین همراهی معناداری نشان نداده‌اند،[۱۶] در حالی‌که مطالعه در جمعیت‌های آمریکا، آلمان و هندوستان همراهی قوی را گزارش کرده‌اند.[۱۶] دلیل این نتایج می‌تواند تفاوت‌های نژادی، تفاوت در معیارهای انتخاب بیماران و گروه شاهد، تأثیر متقابل پلی‌مورفیسم‌های ژن HLA-G در بیان یکدیگر، همراهی بیان برخی از پلی‌مورفیسم‌های این ژن با یکدیگر، تأثیر متقابل ژن HLA-G با سایر ژن‌های دخیل در سقط و پلی‌مورفیک بودن ژن HLA-G باشد.

زیدی و همکارانش در بررسی سطح سرمی sHLA-G در زنان تونسی مبتلا به سقط مکرر گزارش کردند که زنان دارای سابقه سقط مکرر سطح پایین‌تری از sHLA-G را داشتند. به‌عبارتی میزان کم‌تری از ۱ و ۵ HLA-G را بیان کردند که این امر ناشی از وجود پلی‌مورفیسم HLA-G*0105N بوده است.[۱۷] به‌طور مشابه ناردی و همکارانش در مطالعه‌ای با استفاده از تکنیک PCR-RFLP نشان دادند که در زنان دارای سقط مکرر سطح HLA-G*0105N افزایش چشمگیری نسبت به گروه کنترل دارد (P=۰۱۵/۰).[۱۸] این در حالی است که مطالعه مشابهی که توسط جیسم در جمعیت زنان عراقی دارای سابقه سقط مکرر انجام شد نتایج متفاوتی نشان داده و ارتباط معناداری بین وجود HLA-G*0105N و سقط مکرر گزارش نکرده است (P≥۱۲/۰).[۱۹]

در مطالعه موراندی و همکارانش بیان شده که وجود پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های HLA-G و HLA-E همراه هم در یک فرد، شانس سقط مکرر را افزایش می‌دهد و هیچ یک از پلی‌مورفیسم‌های HLA-G به تنهایی در ایجاد سقط مکرر نقش ندارند مگر این‌که در همراهی با پلی‌مورفیسم‌های دیگر باشند،[۲۰] این امر می‌تواند یکی از دلایل تأیید نتیجه مطالعه حاضر باشد. همچنین در مطالعه دیگری ابُر و همکارانش بیان کردند که علاوه بر پلی‌مورفیسم G*0105N، پلی‌مورفیسم‌های G*0103 و G*0106 در ژن HLA-G نیز در ایجاد سقط مکرر مؤثرند.[۲۱] مطالعات بسیاری نیز همراهی پلی‌مورفیسم حذف- جایگزینی ۱۴جفت بازی (rs371194629) در ناحیه 3`UTR ژن HLA-G را با سقط مکرر نشان داده‌اند.[۲۲-۲۴]

البته با توجه به ویژگی پلی‌مورفیک بودن ژن HLA-G برای نتیجه‌گیری کامل نیاز به انجام تحقیقات کامل‌تر در گروه‌های جمعیتی بزرگ و مختلف می‌باشد. با این وجود نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه رحیمی و همکارانش

کـه بـه بررسـی فراوانـی انـواع پلـی‌مورفیسـم‌هـای ژن HLA-G در زنـان سـالم ایرانـی پرداختـه و فراوانـی پلـی‌مورفیسـم HLA-G*0105N را ۹ درصـد گـزارش کرده‌اند همخوانی دارد.[۲۵] از جمله برتری‌های این مطالعه این است که برای اولین بار بر روی جمیـت زنـان ایرانـی انجام شده است و نتایج آن می‌تواند در بررسـی وضـعیت ایمونولوژی باروری زنان دارای سابقه سقط مکرر در نظـر گرفته شود و منجر به علت‌یـابی درصـدی از سـقط‌هـای ایدیوپاتیک گردد.

❋سپاس‌گزاری:

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقـاتی مصـوب کمیته آموزشی- پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران بـا تأییدیـه کمیتـه اخـلاق IR.TUMS.REC.1394.553 است که با حمایت مالی این دانشگاه در مرکـز تحقیقـات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. بدین‌وسیله از کلیه افرادی که در انجـام ایـن طـرح مـا را یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

❋مراجع:

1 .Berger DS, Hogge WA, Barmada MM, Ferrell RE. Comprehensive analysis of HLA-G: implications for recurrents pontaneous abortion. Reprod Sci 2010; 17(4): 331-8. doi: 10.1177/1933719109356802.

2. Akhter A, Faridi RM, Das V, Pandey A, Naik S, Agrawal S. In vitro up-regulation of HLA-G using dexamethasone and hydrocortisone in first-trimester trophoblast cells of women experiencing recurrent miscarriage. Tissue Antigens 2012; 80(2): 126-35. doi: 10.1111/j.1399-0039.2012.01884.x.

3. Mosaferi E, Majidi J, Mohammadian M, Babaloo Z, Monfaredan A, Baradaran B. HLA-G expression pattern: reliable assessment for pregnancy outcome prediction. Adv Pharm Bull 2013; 3(2): 443-6. doi: 10.5681/apb.2013.072.

4. Donadi EA, Castelli EC, Arnaiz-Villena A, Roger M, Rey D, Moreau P. Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association. Cell Mol Life Sci 2011; 68(3): 369-95. doi: 10.1007/s00018-010-0580-7.

5. Rizzo R, Vercammen M, van de Velde H, Horn PA, Rebmann V. The importance of HLA-G expression in embryos, trophoblast cells, and embryonic stem cells. Cell Mol Life Sci 2011; 68(3): 341-52. doi: 10.1007/s00018-010-0578-1.

6. González A, Rebmann V, LeMaoult J, Horn PA, Carosella ED, Alegre E. The immunosuppressive molecule HLA-G and its clinical implications. Crit Rev Clin Lab Sci 2012; 49(3): 63-84. doi: 10.3109/10408363.2012.677947.

7. Rizzo R, Bortolotti D, Baricordi OR, Fainardi E. New insights into HLA-G and inflammatory diseases. Inflamm Allergy Drug Targets 2012; 11(6): 448-63. doi: 10.2174/187152812803590037.

8. Le Page ME, Goodridge JP, John E, Christiansen FT, Witt CS. Response to comment on ”Killer Ig-like receptor 2DL4 does not mediate NK cell IFN-gamma responses to soluble HLA-G preparations. J Immunol 2014; 192(9): 4003-4. doi: 10.4049/jimmunol.1400492.

9. Gregori S, Tomasoni D, Pacciani V, Scirpoli M, Battaglia M, Magnani CF, et al. Differentiation of type1 T regulatory cells (Tr1) by tolerogenic DC-10 requires the IL-10-dependent ILT4/HLA-G pathway. Blood 2010; 116(6): 935-44. doi: 10.1182/blood-2009-07-234872.

10. Catamo E, Addobbati C, Segat L, Sotero Fragoso T, Tavares Dantas A, de Ataide

Mariz H, et al. Comprehensive analysis of polymorphisms in the HLA-G 5′upstream regulatory and 3′untranslated regions in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus. Tissue Antigens 2015; 85(6): 458-65. doi: 10.1111/tan.12545.

11. Abbas A, Tripathi P, Naik S, Agrwal S. Analysis of human leukocyte antigen(HLA)–G polymorphism in normal women and in women with recurrent spontaneous abortions. Eur J Immunogenet 2004; 31(6): 275-8. doi: 10.1111/j.1365-2370.2004.00487.x.

12. Roberta R, Daria B, Silvia B, Enrico F. HLA-G molecules in autoimmune diseases and infections. Front Immunol 2014; 5: 592. doi: 10.3389/fimmu.2014.00592.

13. Le Discorde M, Le Danff C, Moreau P, Rouas-Freiss N, Carosella ED. HLA-G*0105N null allele encodes functional HLA-G isoforms. Biol Reprod 2005; 73(2): 280-8. doi: 10.1095/biolreprod.104.037986.

14. Simon A, Laufer N, Repeated implantation failure: clinical approach. Fertil Steril 2012; 97(5): 1039-43. doi: 10.1016/j. fertnstert.2012.03.010.

15. Dahl M, Hviid TV. Human leucocyte antigen class Ib molecules inpregnancy success and early pregnancy loss. Hum Reprod Update 2012; 18(1): 92‑109. doi: 10. 1093/humupd/dmr043.

16. Verloes A, Van de Velde H, LeMaoult J, Mateizel I, Cauffman G, Horn PA, et al. HLA-G expression in human embryonic stem cells and preimplantation embryos. J Immunol 2011; 186(4): 2663-71. doi: 10. 4049/jimmunol.1001081.

17. Zidi I, Rizzo R, Bouaziz A, Laaribi AB, Zidi N, Di Luca D, et al. sHLA-G1 and HLA-G5 levels are decreased in Tunisian women with multiple abortion. Hum Immunol 2016; 77(4): 342-5. doi: 10. 1016/j. humimm.2016.01.019.

18. Nardi Fda S, Slowik R, Wowk PF, da Silva JS, Gelmini GF, Michelon TF, et al. Analysis of HLA-G polymorphisms in couples with implantation failure. Am J Reprod Immunol 2012; 68(6): 507-14. doi: 10.1111/aji.12001.

19. Jassem RM, Shani WS, Loisel DA, Sharief M, Billstrand C, Ober C. HLA-G polymorphisms and soluble HLA-G protein levels in women with recurrent pregnancy loss from Basrah province in Iraq. Hum Immunol 2012; 73(8): 811-7. doi: 10.1016/j. humimm.2012.05.009.

20. Morandi F, Pistoia V. Interactions between HLA-G and HLA-E in physiological and pathological conditions. Front Immunol 2014; 5: 394-9. doi: 10.3389/fimmu.2014. 00394.

21. Ober C, Aldrich CL, Chervoneva I, Billstrand C, Rahimov F, Gray HL, et al. Variation in the HLA-G promoter region influences miscarriage rates. Am J Hum Genet 2003; 72(6): 1425-35.

22. Enghelabifar M, Allafan S, Khayatzadeh J, Shahrokh Abadi Kh, Hasanzadeh Nazarabadi M, Moradi F, et al. Association of the maternal 14-bp insertion/deletion polymorphism in the histocompatibility leukocyte antigen G gene with recurrent implantation failure. Iran J Reprod Med 2014; 12(9): 641-6.

23. Jeong KH, Kim SK, Kang BK, Chung JH, Shin MK, Lee MH. Association between an HLA-G 14 bp insertion/deletion polymorphism and non-segmental vitiligo in the Korean population. Arch Dermatol Res 2014; 306(6): 577-82. doi: 10.1007/s00403-014-1459-5.

24. Barrientos G, Toro A, Moschanskyb P, Cohen M, Garcia MG, Rose B, et al. Leptin promotes HLA-G expression on placental trophoblasts via the MEK/Erk and PI3K signaling pathways. Placenta 2015; 36(4): 419-26. doi: 10.1016/j.placenta.2015.01.006.

25. Rahimi R, Zavaran Hosseini A, Yari F. Null allele frequencies at HLA-G locus in Iranian healthy subjects. Iran J Immunol 2008; 5(4): 207-11. doi: IJIv5i4A3.