

# VIP modulates the pro-inflammatory maternal response inducing tolerance to trophoblast cells

Laura Fraccaroli, Julio Alfieri, Luciana Larocca, Mario Calafat, Valeria Roca, Eduardo Lombardi, Roxana Ramhorst, Claudia Pérez Leirós

Immunopharmacology Laboratory, School of Sciences, University of Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Br J Pharmacol 2009;156:116-126

Reproducción 2010; 25: 46-47

## Summary

**Background and purpose.** Successful embryo implantation is followed by a local pro-inflammatory and Th1 response, subsequently controlled by a Th2 response. Vasoactive intestinal peptide (VIP) has anti-inflammatory effects and promotes tolerogenic/Th2 responses while favouring embryonic development. We investigated the potential regulatory role of VIP on human trophoblast cells, maternal pro-inflammatory responses and trophoblast-maternal leukocyte interactions. **Experimental approach.** We tested VIP effects directly on a trophoblast cell line (Swan 71 cells) and after co-culture with maternal peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) as models of the foeto-maternal dialogue. We also co-cultured maternal and paternal PBMCs to test effects of endogenous VIP on maternal alloresponses. **Key results.** Swan 71 cells express VPAC(1) receptors and VIP induced their proliferation and the expression of leukaemia inhibitor factor, a pro-implantatory marker. After interaction with trophoblast cells, VIP increased Foxp3, the proportion of CD4+CD25+Foxp3+ cells within maternal PBMCs and transforming growth factor beta expression. Also, during the trophoblast-maternal PBMCs interaction, VIP reduced pro-inflammatory mediators [interleukin (IL)-6, monocyte chemoattractant protein 1, nitric oxide], while increasing IL-10. Trophoblast cells produced VIP which dose-dependently suppressed allomaternal responses, accompanied by reduced expression of the T cell transcription factor, T-bet. **Conclusions and implications.** Vasoactive intestinal peptide induced pro-implantatory markers and trophoblast cell proliferation, while controlling the initial pro-inflammatory response,

by increasing maternal regulatory T cells and anti-inflammatory cytokines. As an autocrine regulatory peptide VIP might contribute to fetal survival through two mechanisms; a direct trophic effect on trophoblast cells and an immunomodulatory effect that favours tolerance to fetal antigens.

## El VIP modula la respuesta materna proinflamatoria al inducir tolerancia en las células trofoblásticas

### Resumen

**Antecedentes y objetivo.** Una implantación embrionaria exitosa es seguida de una respuesta local pro-inflamatoria TH1, subsecuentemente controlada por una respuesta TH2. El péptido intestinal vasoactivo (VIP) tiene efectos anti-inflamatorios y promueve respuestas de tipo TH2 y tolerogénicas que favorecen el desarrollo embrionario. Es por ello que investigamos el potencial rol regulador del VIP sobre las células trofoblásticas humanas, respuestas maternas pro-inflamatorias e interacciones leucocitarias maternas trofoblásticas. **Diseño experimental.** Evaluamos los efectos directos del VIP sobre una línea celular trofoblástica (células Swan-71) y luego de co-cultivo con células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) como modelo del diálogo foeto-materno. También co-cultivamos PBMCs maternas y paternas para testear los efectos del VIP endógeno sobre alo-respuestas maternas. **Resultados.** Las células Swan-71 expresan receptores para el VIP (VPAC1). Más aún, el VIP indujo su proliferación y la expresión del factor inhibidor de leucemia, un marcador pro-implantatorio. Luego de la

interacción con células trofoblásticas, el VIP aumentó la expresión de Foxp3, la frecuencia de células CD4+CD25+Foxp3+ dentro de PBMCs y la expresión del factor de crecimiento transformador beta (TFGB). Además, durante el diálogo entre PBMCs maternos y células trofoblásticas, el VIP redujo mediadores pro-inflamatorios (interleuquina IL 6, proteína atrayente de monocitos-1 y óxido nítrico) e incrementó IL-10. Las células del trofoblasto produjeron el VIP, el cual en forma dosis-dependiente suprimió la respuesta alomaterna acompañada por una expresión reducida del factor de transcripción de células T, T-*bet*. **Conclusiones.** El VIP indujo marcadores pro-implantatorios y la proliferación de células trofoblásticas, controlando la respuesta inicial pro-inflamatoria al aumentar células T maternas reguladoras y citoquinas anti-inflamatorias. De modo que el VIP como regulador autocrino podría contribuir a la supervivencia fetal a través de dos mecanismos: un efecto trófico directo sobre las células trofoblásticas y un efecto inmunomodulador que favorece la tolerancia a antígenos fetales.

### Comentario

La implantación embrionaria en humanos es el resultado final de complejas interacciones moleculares entre un útero preparado hormonalmente y un blastocisto maduro. Así, se generaría un diálogo entre la madre y el feto en el que participarían factores hormonales, de crecimiento y diferenciación placentarios interconectando los sistemas inmune, nervioso y endocrino. En este contexto, el VIP, un neuropéptido producido por

células linfoides y neuronales con una potente capacidad anti-inflamatoria, regula el balance de mediadores pro/anti-inflamatorios re-dirigiendo la respuesta inmune hacia un perfil de tipo tolerogénico. Las propiedades anti-inflamatorias del VIP se basan en su habilidad de modular distintas poblaciones leucocitarias, así como también en la migración de las mismas. En varios modelos *in vitro* e *in vivo* se ha demostrado que el VIP inhibe las funciones del macrófago, principales células productoras de citoquinas y con capacidad de modular la respuesta inmune adaptativa. Más aún, en el modelo murino de trasplante de médula ósea alogénica el rechazo agudo característico de la enfermedad injerto contra huésped (GVHD) fue prevenido en presencia del VIP. El efecto protector inducido por el VIP se basó en la capacidad de inducir linfocitos T regulatorios, suprimiendo así la expansión masiva de linfocitos T alorreactivos efectores. En el contexto de tolerancia materno-fetal, el VIP se visualizó por inmunocitoquímica en la formación de la placenta y regularía la embriogénesis en etapas tardías de la implantación en el modelo murino. El mecanismo por el cual el VIP regula la embriogénesis es aún desconocido, sin embargo, presenta varias funciones como, por ejemplo, estimular la liberación de factores neurotróficos y citoquinas. El hecho de que el VIP actúe durante un período limitado entre la implantación y la placentación, período de suma vulnerabilidad sumado a la capacidad del VIP de suprimir la respuesta alogénica, lo postulan como un factor fundamental en la inducción y mantenimiento de la tolerancia materna.