

MARIANE FERRACIN MARTUCCI

**EXPRESSÃO DO COMPLEXO RECEPTOR CD74 - CD44 PARA O FATOR DE
INIBIÇÃO DE MIGRAÇÃO DE MACRÓFAGOS (MIF) NA INTERFACE MATERNO
PLACENTÁRIA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração:
Biologia Celular e Tecidual

Orientadora:
Profa. Dra. Estela Bevilacqua

São Paulo
2011

RESUMO

MARTUCCI, M. F. **Expressão do complexo receptor CD74-CD44 para o Fator de inibição de migração de macrófagos (MIF) na interface materno placentária em camundongos.** 2011. 75 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

O fator de inibição da migração de macrófagos (MIF) é uma citocina envolvida na ativação da imunidade inata e regulação de suas respostas adaptativas subsequentes, produzida por diversas células, incluindo o trofoblasto durante a gestação. Conhecer as células alvos do MIF pode revelar funções de populações celulares específicas. Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar a expressão gênica e a localização tecidual dos receptores do MIF na interface materno-placentária ao longo da gestação. Para isto, foram utilizados sítios de implantação e placentas de camundongos aos 7,5, 10,5, 13,5 e 17,5 dias de gestação (ddg). A expressão gênica de ambos: receptor e co-receptor foi observada na região materna ao longo de todo o período estudado. O complexo CD74-CD44 foi imunolocalizado em células decíduais fenotipicamente caracterizadas, o que não havia sido previamente relatado. Células endoteliais de vasos uterinos e leucócitos presentes no interior destes vasos também se mostraram reativos aos anticorpos anti-receptores. Estes resultados sugerem que estas populações celulares endometriais são presuntivos alvos do diálogo parácrino trofoblasto-decídua. O significado funcional destes achados, no entanto, merece investigações mais detalhadas. No compartimento fetal, a expressão de CD74 ocorreu principalmente nos dias 7,5 e 17,5 dg e de CD44, ao longo de toda a gestação. Embora tenha sido detectado RNAm do complexo receptor/co-receptor, a imunolocalização destes não foi observada na população trofoblástica no dia 7,5 dg. Esta correlação negativa sugere a ação de mecanismos reguladores pós-transcricionais. Como a transdução do sinal mediado por MIF requer seu reconhecimento pela porção extracelular de CD74 para a ativação de CD44, a baixa expressão de CD74 nos dias 10,5 e 13,5 dg sugere uma restrição à sinalização mediada por este fator. Neste contexto, estes resultados indicam que a ação de MIF sobre a porção fetal da placenta é população-específica, limitada as células trofoblásticas gigantes, podendo induzir respostas mediadas pelo complexo CD44-CD74 nas fases finais da gestação. Neste estudo observou-se a expressão de moléculas do complexo receptor CD74-CD44 na interface materno placentária, abrindo novas possibilidades de mecanismos autócrinos e parácrinos em relação à sinalização mediada por MIF durante a gestação.

Palavras-chave: CD74. CD44. Citocinas. Decídua. Gestação. Placenta.

ABSTRACT

MARTUCCI, M. F. **MIF receptors at maternal fetal interface in mice**. 2011. 75 p. Masters thesis (Cellular and Tecedual Biology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

The macrophage migration inhibitory factor (MIF) is a cytokine involved in activation of innate immunity and regulation of the subsequent adaptive responses, produced by different cells, including trophoblast during gestation. Knowing MIF-target cells may reveal specific cell population functions. Therefore, this study aimed to determine the gene expression and tissue localization of MIF receptors CD44 and CD74 at the maternal-placental interface during gestation. Immunolocalization and gene expression of MIF receptors were done at implantation sites and placentas of mice on gestation days (gd) 7.5, 10.5, 13.5 and 17.5. The gene expression of both, receptor and co-receptor was observed in endometrial tissues throughout the studied period. The complex CD74-CD44 was immunolocalized in phenotypically-characterized decidual cells, which had not been previously reported. Endothelial cells of uterine vessels and leukocytes within these vessels also were immunoreactive to the receptor antibodies. These results suggest that these endometrial cell populations are targets of presumptive trophoblast-decidua paracrine dialogue; the functional significance of these findings, however, needs further investigation. In the placental fetal compartment, the expression of CD74 occurred mainly on days 7.5 and 17.5 of gestation and CD44, throughout pregnancy. Although mRNA of the complex receptor/co-receptor had been identified on gd7.5, the immunolocalization of these proteins was not observed in the trophoblast cell population. It is possible that this negative correlation result from post-transcriptional regulation. Because the signal transduction mediated by MIF requires recognition by the extracellular portion of CD74 for activation of CD44, low expression of CD74 on gd10.5 and 13.5 suggests a restriction of signaling mediated by this factor. In this context, these results indicate that the action of MIF on the fetal portion of placenta is limited to the trophoblast giant cells and therefore, cell population-specific and, might induce responses mediated by CD44-CD74 complex at the final stages of pregnancy. This study showed the expression of CD74 and CD44 at the maternal placental interface, opening new possibilities for autocrine and paracrine mechanisms by MIF-mediated signaling during pregnancy.

Key words: CD74. CD44. Cytokine. Decidua. Placenta. Pregnancy.

1 INTRODUÇÃO

A interface materno-placentária envolve um complexo diálogo entre moléculas regulatórias, cruciais para o sucesso da gestação (Zenclussen et al., 2007). Uma dessas moléculas é o Fator de Inibição de Migração de Macrófagos (MIF), uma citocina próinflamatória identificada como um fator solúvel não dializável liberado por linfócitos ativados e células imuno competentes, capaz de inibir a migração de células do exsudato peritoneal (Calandra et al., 2003).

A expressão gênica e protéica de MIF tem sido relatada em diferentes órgãos e tipos celulares, o que inclui: cérebro (neurônios do córtex e cerebelo, hipotálamo, hipocampo, células da glia e epêndima), hipófise, rins (túbulos proximais, ducto coletor, glomérulo, cápsula de Bowman), pulmões (macrófagos alveolares e células epiteliais do brônquio), fígado (células de Kupffer e hepatócitos), baço (polpa branca e vermelha), adrenal (zonas glomerulosa e fasciculata), pele (queratinócitos e glândulas sebáceas), células endoteliais e fibroblastos, ovário e testículo (Calandra et al., 2003; Aeberli et al., 2006). Dentre as células de defesa, o MIF é encontrado em monócitos, macrófagos, células dendríticas, linfócitos T e B, eosinófilos, mastócitos, basófilos e neutrófilos.

As atividades biológicas desempenhadas pelo MIF apontam ações como inibição da migração de mononucleares *in vitro*, antagonismo a glicocorticóides (Calandra et al., 1995; Calandra e Roger, 2003; Fingerle-Rowson et al., 2003), regulação da expressão de receptores do tipo *Toll-like 4* (TLR-4) (Roger et al., 2001), ativação de macrófagos e células T (Roger et al., 2001; Calandra e Roger, 2003) e supressão da apoptose induzida e dependente de p53 (Hudson et al., 1999; Mitchell et al., 2002; Nguyen et al., 2003). Estes efeitos são particularmente importantes no desencadeamento de respostas inflamatórias e atividades proliferativas, o que confere ao MIF um papel relevante como ativador da imunidade inata, regulando respostas adaptativas subseqüentes (Hudson et al., 1999; Mitchell et al., 2002; Fingerle-Rowson et al., 2003; Leech et al., 2003).

Em diferentes tipos celulares, mostrou-se que o MIF liga-se ao receptor de superfície CD74 ativando uma via de sinalização (Leng et al., 2003; Miller et al., 2008) intermediada pela fosforilação de CD44 que, por sua vez,

desencadeia a fosforilação e ativação de quinases reguladas por sinais extracelulares – 1/2 (ERK1/2) pertencentes à cascata de quinases ativadas por mitógenos (MAPK) e envolvidas na expressão de ciclina D1, síntese de DNA e inibição de apoptose (Liao et al., 2003; Swant et al., 2005; Shi et al., 2006).

A molécula de superfície celular CD74, no meio intracelular, regula o dobramento e endereçamento de proteínas do complexo de histocompatibilidade principal de classe II (MHC II) nas células apresentadoras de antígenos (Beswick e Reyes, 2009). Em alguns tipos celulares é também expresso de forma independente deste complexo, atuando como parte do complexo receptor para o MIF (Cuthbert et al., 2009) ou como fator facilitador de adesão para a bactéria *Helicobacter pylori* (Beswick e Reyes, 2009).

A proteína CD44 faz parte de uma família de glicoproteínas transmembrânicas de classe I, cuja função principal é participar de respostas celulares aos sinalizadores do microambiente, regulando o crescimento, sobrevivência, diferenciação e motilidade celular (Ponta et al., 2003); em associação com CD74, atua como co-receptor para o MIF (Shi et al., 2006).

Segundo Bernhagen et al. (2007), o MIF também é um ligante funcional não cognato para os receptores de quimiocina CXCR2 e CXCR4, controlando através desta ligação o recrutamento inflamatório e aterogênico de leucócitos.

Na interface materno-placentária em humanos, o MIF produzido pelas células trofoblásticas tem sido interpretado como uma forma de contrabalançar a ação antiinflamatória de IL-10 durante a implantação e regular a atividade das células *Natural Killer* uterinas (uNK) (Arcuri et al., 1999), que, uma vez ativadas poderiam comprometer a gestação (Konova, 2010). Uma possível função na resposta placentária contra patógenos locais também tem sido sugerida (Ferro et al., 2008).

Estudos prévios realizados em nosso laboratório mostraram que em camundongos, o MIF é produzido durante toda a gestação, atingindo picos máximos nas fases em que ocorre o amadurecimento placentário entre os dias 10 e 13 da prenhez (Faria et al., 2010). Estes estudos mostraram também que as principais células a expressar o MIF são as células trofoblásticas, embora outros componentes da interface materno-placentária também parecem contribuir com esta produção.

A presença do MIF na interface materno placentária sugere que as inúmeras funções atribuídas a este fator possam assumir papéis relevantes para a homeostase local e, conseqüentemente, para a própria gestação, em situações de normalidade e/ou desafio por patógenos. Neste contexto, o mapeamento de células alvo do MIF na interface materno placentária é uma etapa fundamental para a compreensão de suas principais funções durante a gestação.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo nos permitiram concluir que:

1. A expressão e localização de CD74-CD44 na interface materno-placentária variam de acordo com a fase gestacional e tipo celular materno ou fetal.
2. Em todos os períodos estudados houve expressão gênica do receptor/co-receptor de *Mif*, na porção materna da placenta.
3. Na porção materna da placenta, imunoreatividade para o receptor e o co-receptor de MIF: CD74 e CD44, respectivamente, foi observada em leucócitos, células decíduais e endoteliais em todos os períodos gestacionais estudados, levando à conclusão de que estas células poderiam ser responsivas ao MIF.
4. Na porção fetal da placenta, a expressão gênica de CD74 e de CD44 não obedeceu a padrões semelhantes. Houve expressão de CD44 em todos os períodos estudados, mas não de CD74, que foi mais abundante apenas nos dias 7,5 e 17,5 de gestação. A baixa expressão do receptor CD74 pode ser um fator de limitação da ação do MIF nestas fases da gestação.
5. Células trofoblásticas gigantes apresentaram-se imunorreativas para CD44 e CD74 nos dias 10,5, 13,5 e 17,5, mas não no dia 7,5 de gestação. A ausência de imunomarcagem pode significar que estas células não são responsivas ao MIF nesta fase da gestação.
6. A diferença entre a expressão gênica de CD74 e CD44 no dia 7,5 de gestação e a imunoreatividade para estes fatores sugere mecanismos pós-transcricionais de regulação desta via de sinalização.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS*

Aeberli D, Leech M, Morand EF. Macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoid sensitivity. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(8):937-43.

Ain R, Canham LN, Soares MJ. Gestation stage-dependent intrauterine trophoblast cell invasion in the rat and mouse: novel endocrine phenotype and regulation. *Dev Biol*. 2003;260(1):176-90.

Akoum A, Metz CN, Morin M. Marked increase in macrophage migration inhibitory factor synthesis and secretion in human endometrial cells in response to human chorionic gonadotropin hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(5):2904-10.

Amin MA, Haas CS, Zhu K, Mansfield PJ, Kim MJ, Lackowski NP, Koch AE. Migration inhibitory factor up-regulates vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 via Src, PI3 kinase, and NFkappaB. *Blood*. 2006;107(6):2252-61.

Apte RS, Sinha D, Mayhew E, Wistow GJ, Niederkorn JY. Cutting edge: role of macrophage migration inhibitory factor in inhibiting NK cell activity and preserving immune privilege. *J Immunol*. 1998;160(12):5693-6.

Arcuri F, Cintonino M, Vatti R, Carducci A, Liberatori S, Paulesu L. Expression of macrophage migration inhibitory factor transcript and protein by first-trimester human trophoblast. *Biol Reprod*. 1999;60:1299-1303.

Arcuri F, Ricci C, Ietta F, Cintonino M, Tripodi SA, Cetin I, Garzia E, Schatz F, Klemi P, Santopietro R, Paulesu L. Macrophage migration inhibitory factor in the human endometrium: expression and localization during the menstrual cycle and early pregnancy. *Biol Reprod*. 2001;64(4):1200-5.

Arcuri F, Cintonino M, Carducci A, Papa S, Riparbelli MG, Mangioni S, Di Blasio AM, Tosi P, Viganò P. Human decidual natural killer cells as a source and target of macrophage migration inhibitory factor. *Reproduction*. 2006;131(1):175-82.

*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

Berndt K, Kim M, Meinhardt A, Klug J. Macrophage migration inhibitory factor does not modulate co-activation of androgen receptor by Jab1/CSN5. *Mol Cell Biochem.* 2008;307(1-2):265-71.

Bernhagen J, Krohn R, Lue H, Gregory JL, Zerneck A, Koenen RR, Dewor M, Georgiev I, Schober A, Leng L, Kooistra T, Fingerle-Rowson G, Ghezzi P, Kleemann R, McColl SR, Bucala R, Hickey MJ, Weber C. MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. *Nat Med.* 2007;13(5):587-96.

Beswick EJ, Reyes VE. CD74 in antigen presentation, inflammation, and cancers of the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol.* 2009;15(23):2855-61.

Bloom BR, Bennett B. Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. *Science.* 1966;153(731):80-2.

Bozza M, Satoskar AR, Lin G, Lu B, Humbles AA, Gerard C, David JR. Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis. *J Exp Med.* 1999;189(2):341-6.

Calandra T, Bernhagen J, Metz CN, Spiegel LA, Bacher M, Donnelly T, Cerami A, Bucala R. MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. *Nature.* 1995;377:68-71.

Calandra T, Froidevaux C, Martin C, Roger T. Macrophage Migration Inhibitory Factor and Host Innate Immune Defenses against Bacterial Sepsis. *J Infect Dis.* 2003;187:385-90.

Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nature.* 2003;3:791-800.

Chakraborty I, Das SK, Dey SK. Differential expression of vascular endothelial growth factor and its receptor mRNAs in the mouse uterus around the time of implantation. *J Endocrinol.* 1995;147(2):339-52.

Cheng Q, McKeown SJ, Santos L, Santiago FS, Khachigian LM, Morand EF, Hickey MJ. Macrophage migration inhibitory factor increases leukocyte-

endothelial interactions in human endothelial cells via promotion of expression of adhesion molecules. *J Immunol.* 2010;185(2):1238-47.

Choi CH, Roh CR, Kim TJ, Choi YL, Lee JW, Kim BG, Lee JH, Bae DS. Expression of CD44 adhesion molecules on human placentae. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006;128(1-2):243-7.

Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem.* 1987;162(1):156-9.

Coleman AM, Rendon BE, Zhao M, Qian MW, Bucala R, Xin D, Mitchell RA. Cooperative regulation of non-small cell lung carcinoma angiogenic potential by macrophage migration inhibitory factor and its homolog, D-dopachrome tautomerase. *J Immunol.* 2008;181(4):2330-7.

Cross JC, Hemberger M, Lu Y, Nozaki T, Whiteley K, Masutani M, Adamson SL. Trophoblast functions, angiogenesis and remodeling of the maternal vasculature in the placenta. *Mol Cell Endocrinol.* 2002;187(1-2):207-12.

Croy BA, Ashkar AA, Foster RA, DiSanto JP, Magram J, Carson D, Gendler SJ, Grusby MJ, Wagner N, Muller W, Guimond MJ. Histological studies of gene-ablated mice support important functional roles for natural killer cells in the uterus during pregnancy. *J Reprod Immunol.* 1997;35(2):111-33.

Croy BA, Chantakru S, Narumiya S, Ichikawa A, Sugimoto Y. Prolonged gestation does not extend survival of uterine natural killer lymphocytes in mice deleted in the receptor for prostaglandin F2alpha. *J Reprod Immunol.* 2000;46(2):125-9.

Cuthbert RJ, Wilson JM, Scott N, Coletta PL, Hull MA. Differential CD74 (major histocompatibility complex Class II invariant chain) expression in mouse and human intestinal adenomas. *Eur J Cancer.* 2009;45(9):1654-63.

David JR. Delayed hypersensitivity in vitro: its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1966;56(1):72-7.

Faria MR, Hoshida MS, Ferro EA, Ietta F, Paulesu L, Bevilacqua E. Spatiotemporal patterns of macrophage migration inhibitory factor (Mif) expression in the mouse placenta. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010;8:95.

Ferro EA, Mineo JR, Ietta F, Bechi N, Romagnoli R, Silva DA, Sorda G, Bevilacqua E, Paulesu LR. Macrophage migration inhibitory factor is up-regulated in human first-trimester placenta stimulated by soluble antigen of *Toxoplasma gondii*, resulting in increased monocyte adhesion on villous explants. *Am J Pathol.* 2008;172(1):50-8.

Fingerle-Rowson G, Koch P, Bikoff R, Lin X, Metz CN, Dhabhar FS, Meinhardt A, Bucala R. Regulation of macrophage migration inhibitory factor expression by glucocorticoids in vivo. *Am J Pathol.* 2003;162:47-56.

Fingerle-Rowson G, Petrenko O, Metz CN, Forsthuber TG, Mitchell R, Huss R, Moll U, Müller W, Bucala R. The p53-dependent effects of macrophage migration inhibitory factor revealed by gene targeting. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(16):9354-9.

Fingerle-Rowson G, Petrenko O. MIF coordinates the cell cycle with DNA damage checkpoints. Lessons from knockout mouse models. *Cell Div.* 2007;2:22.

Flaster H, Bernhagen J, Calandra T, Bucala R. The macrophage migration inhibitory factor-glucocorticoid dyad: regulation of inflammation and immunity. *Mol Endocrinol.* 2007;21(6):1267-80.

Gore Y, Starlets D, Maharshak N, Herman S, Kaneyuki U, Leng L, Bucala R, Shachar I. Macrophage Migration Inhibitory Factor Induces B Cell Survival by Activation of a CD74-CD44 Receptor Complex. *J Biol Chem.* 2008;283:2784-92.

Gregory JL, Leech MT, David JR, Yang YH, Dacumos A, Hickey MJ. Reduced leukocyte-endothelial cell interactions in the inflamed microcirculation of macrophage migration inhibitory factor-deficient mice. *Arthritis Rheum.* 2004;50(9):3023-34.

Halder JB, Zhao X, Soker S, Paria BC, Klagsbrun M, Das SK, Dey SK. Differential expression of VEGF isoforms and VEGF(164)-specific receptor neuropilin-1 in the mouse uterus suggests a role for VEGF(164) in vascular permeability and angiogenesis during implantation. *Genesis.* 2000;26(3):213-24.

Hannan NJ, Paiva P, Dimitriadis E, Salamonsen LA: Models for study of human embryo implantation: choice of cell lines? *Biol Reprod.* 2010;82(2):235-45.

Hristoskova S, Holzgreve W, Zhong XY, Hahn S. Macrophage migration inhibition factor is elevated in pregnancy, but not to a greater extent in preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet.* 2006;274(1):25-8.

Hudson JD, Shoaibi A, Maestro R, Carnero A, Hannon GJ, Beach DH. A proinflammatory cytokine inhibits p53 tumor suppressor activity. *J Exp Med.* 1999;190:1375-82.

Ietta F, Wu Y, Romagnoli R, Soleymanlou N, Orsini B, Zamudio S, Paulesu L, Caniggia I. Oxygen regulation of macrophage migration inhibitory factor in human placenta. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292(1):E272-80.

Javeed A, Zhao Y, Zhao Y. Macrophage-migration inhibitory factor: role in inflammatory diseases and graft rejection. *Inflamm Res.* 2008;57(2):45-50.

Jung H, Seong HA, Ha H. Critical role of cysteine residue 81 of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in MIF-induced inhibition of p53 activity. *J Biol Chem.* 2008;283(29):20383-96.

Katz S, Abrahamsohn PA. Involution of the antimesometrial decidua in the mouse. An ultrastructural study. *Anat Embryol (Berl).* 1987;176(2):251-8.

Kiso Y, Yamashiro S, McBey BA, Croy BA. Tissue-specific differentiation of a natural killer cell subset in ectopically grafted murine uterine tissue. *Transplantation.* 1992;54(1):185-7.

Kleemann R, Hausser A, Geiger G, Mischke R, Burger-Kentischer A, Flieger O, Johannes FJ, Roger T, Calandra T, Kapurniotu A, Grell M, Finkelmeier D, Brunner H, Bernhagen J. Intracellular action of the cytokine MIF to modulate AP-1 activity and the cell cycle through Jab1. *Nature.* 2000;408(6809):211-6.

Konova E. The role of NK cells in the autoimmune thyroid disease-associated pregnancy loss. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2010;39(3):176-84.

Laudanna C, Alon R. Right on the spot. Chemokine triggering of integrin-mediated arrest of rolling leukocytes. *Thromb Haemost.* 2006;95(1):5-11.

Leech M, Lacey D, Xue Jr, Santos L, Hutchinson P, Wolvetang E, David JR, Bucala R, Morand EF. Regulation of p53 by macrophage migration inhibitory factor in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48:1881-9.

Leng L, Bucala R. Insight into the biology of macrophage migration inhibitory factor (MIF) revealed by the cloning of its cell surface receptor. *Cell Res.* 2006;16(2):162-8.

Leng L, Metz CN, Fang Y, Xu J, Donnelly S, Baugh J, Delohery T, Chen Y, Mitchell RA, Bucala R. MIF signal transduction initiated by binding to CD74. *J Exp Med.* 2003;197(11):1467-76.

Li H, Niederkorn JY, Neelam S, Mayhew E, Word RA, McCulley JP, Alizadeh H. Immunosuppressive factors secreted by human amniotic epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46(3):900-7.

Liao H, Bucala R, Mitchell RA. Adhesion-dependent signaling by MIF. *J Biol Chem.* 2003;278:76-81.

Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, Tuntipopipat S, Wegmann TG: Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol.* 1993;151(9):4562-73.

Lue H, Kapurniotu A, Fingerle-Rowson G, Roger T, Leng L, Thiele M, Calandra T, Bucala R, Bernhagen J. Rapid and transient activation of the ERK MAPK signalling pathway by macrophage migration inhibitory factor (MIF) and dependence on JAB1/CSN5 and Src kinase activity. *Cell Signal.* 2006;18(5):688-703.

Lue H, Thiele M, Franz J, Dahl E, Speckgens S, Leng L, Fingerle-Rowson G, Bucala R, Lüscher B, Bernhagen J. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) promotes cell survival by activation of the Akt pathway and role for CSN5/JAB1 in the control of autocrine MIF activity. *Oncogene.* 2007;26(35):5046-59.

Magalhães ES, Paiva CN, Souza HS, Pyrrho AS, Mourão-Sá D, Figueiredo RT, Vieira-de-Abreu A, Dutra HS, Silveira MS, Gaspar-Elsas MI, Xavier-Elsas P, Bozza PT, Bozza MT. Macrophage migration inhibitory factor is critical to interleukin-5-driven eosinophilopoiesis and tissue eosinophilia triggered by *Schistosoma mansoni* infection. *FASEB J.* 2009;23(4):1262-71.

Malassiné A, Frendo JL, Evain-Brion D. A comparison of placental development and endocrine functions between the human and mouse model. *Hum Reprod Update.* 2003;9(6):531-9.

Maltepe E, Bakardjiev AI, Fisher SJ. The placenta: transcriptional, epigenetic, and physiological integration during development. *J Clin Invest*. 2010;120(4):1016-25. doi: 10.1172/JCI41211.

Manaseki S, Searle RF. Natural killer (NK) cell activity of first trimester human decidua. *Cell Immunol*. 1989;121(1):166-73.

Marzusch K, Buchholz F, Ruck P, Handgretinger R, Geiselhart A, Engelmann L, Dietl J. Interleukin-12- and interleukin-2-stimulated release of interferon-gamma by uterine CD56++ large granular lymphocytes is amplified by decidual macrophages. *Hum Reprod*. 1997;12(5):921-4.

Miller EJ, Li J, Leng L, McDonald C, Atsumi T, Bucala R, Young LH. Macrophage migration inhibitory factor stimulates AMP-activated protein kinase in the ischaemic heart. *Nature*. 2008;451:578-83.

Mitchell RA, Liao H, Chesney J, Fingerle-Rowson G, Baugh J, David J, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: regulatory role of innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:345-50.

Mitchell RA, Metz CN, Peng T, Bucala R. Sustained Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) and Cytoplasmic Phospholipase A2 Activation by Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF). *J Biol Chem*. 1999;274(25):18100-6.

Morand EF, Leech M, Weedon H, Metz C, Bucala R, Smith MD. Macrophage migration inhibitory factor in rheumatoid arthritis: clinical correlations. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41(5):558-62.

Mossman, H W. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Contr Embryol Carneg Metab*. 1937;79:237-44.

Müntener M, Hsu YC. Development of trophoblast and placenta of the mouse. A reinvestigation with regard to the in vitro culture of mouse trophoblast and placenta. *Acta Anat (Basel)*. 1977;98(3):241-52.

Nemajerova A, Moll UM, Petrenko O, Fingerle-Rowson G. Macrophage migration inhibitory factor coordinates DNA damage response with the proteasomal control of the cell cycle. *Cell Cycle*. 2007;6(9):1030-4.

Nguyen MT, Lue HQ, Kleeman R, Thiele M, Tolle G, Finkelmeier D, Wagner E, Braun A, Bernhagen J. The cytokine macrophage migration inhibitory factor reduces pro-oxidative stress-induced apoptosis. *J Immunol.* 2003;170:3337-47.

Nishihira J. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): its essential role in the immune system and cell growth. *J Interferon Cytokine Res.* 2000;20(9):751-62.

Noels H, Bernhagen J, Weber C. Macrophage migration inhibitory factor: a noncanonical chemokine important in atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med.* 2009;19(3):76-86.

Paffaro VA Jr, Bizinotto MC, Joazeiro PP, Yamada AT. Subset classification of mouse uterine natural killer cells by DBA lectin reactivity. *Placenta.* 2003;24(5):479-88.

Paulesu L, Cateni C, Romagnoli R, Ietta F, Dantzer V. Variation in macrophage-migration-inhibitory-factor immunoreactivity during porcine gestation. *Biol Reprod.* 2005;72(4):949-53.

Plaisier M. Decidualisation and angiogenesis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2010 Dec 8. [Epub ahead of print]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Plaisier%20M.%20Decidualisation%20and%20angiogenesis>.

Ponta H, Sherman L, Herrlich A. CD44: from adhesion molecules to signaling regulators. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4(1):33-45.

Renaud SJ, Graham CH. The role of macrophages in utero-placental interactions during normal and pathological pregnancy. *Immunol Invest.* 2008;37(5):535-64.

Reyes JL, Terrazas LI, Espinoza B, Cruz-Robles D, Soto V, Rivera-Montoya I, Gómez-García L, Snider H, Satoskar AR, Rodríguez-Sosa M. Macrophage migration inhibitory factor contributes to host defense against acute *Trypanosoma cruzi* infection. *Infect Immun.* 2006;74(6):3170-9.

Roger T, David J, Glauser MP, Calandra T. MIF regulates innate immune responses through modulation of toll-like receptor 4. *Nature.* 2001;414:920-4.

Rossi AG, Haslett C, Hirani N, Greening AP, Rahman I, Metz CN, Bucala R, Donnelly SC. Human circulating eosinophils secrete macrophage migration

inhibitory factor (MIF). Potential role in asthma. *J Clin Invest.* 1998;101(12):2869-74.

Salgado RM, Capelo LP, Favaro RR, Glazier JD, Aplin JD, Zorn TM. Hormone-regulated expression and distribution of versican in mouse uterine tissues. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009;7:60.

Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. *Molecular Cloning – A Laboratory Manual.* 2nd ed. New York; Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989.

Satoskar AR, Bozza M, Rodriguez Sosa M, Lin G, David JR. Migration-inhibitory factor gene-deficient mice are susceptible to cutaneous *Leishmania major* infection. *Infect Immun.* 2001;69(2):906-11.

Schwartz V, Lue H, Kraemer S, Korbiel J, Krohn R, Ohl K, Bucala R, Weber C, Bernhagen J. A functional heteromeric MIF receptor formed by CD74 and CXCR4. *FEBS Lett.* 2009 Sep 3;583(17):2749-57.

Shachar I, Flavell RA. Requirement for invariant chain in B cell maturation and function. *Science.* 1996;274(5284):106-8.

Shi X, Leng L, Wang T, Wang W, Du X, Li J, McDonald C, Chen Z, Murphy JW, Lolis E, Noble P, Knudson W, Bucala R. CD44 is the signaling component of the macrophage migration inhibitory factor – CD74 receptor complex. *Immunity.* 2006;25:594-606.

Soares MJ. The prolactin and growth hormone families: pregnancy-specific hormones/cytokines at the maternal-fetal interface. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004;2:51.

Sugimoto H, Taniguchi M, Nakagawa A, Tanaka I, Suzuki M, Nishihira J. Crystal structure of human D-dopachrome tautomerase, a homologue of macrophage migration inhibitory factor, at 1.54 Å resolution. *Biochemistry.* 1999;38(11):3268-79.

Suthanthiran M, Strom TB. Immunobiology and immunopharmacology of organ allograft rejection. *J Clin Immunol.* 1995;15(4):161-71.

Suzuki H, Kanagawa H, Nishihira J. Evidence for the presence of macrophage migration inhibitory factor in murine reproductive organs and early embryos. *Immunol Lett.* 1996;51:141-7.

Swant JD, Rendon BE, Symons M, Mitchell RA. Rho GTPase-dependent signaling is required for macrophage migration inhibitory factor-mediated expression of cyclin D1. *J Biol Chem.* 2005;280:23066-72.

Takahashi K, Koga K, Linge HM, Zhang Y, Lin X, Metz CN, Al-Abed Y, Ojamaa K, Miller EJ. Macrophage CD74 contributes to MIF-induced pulmonary inflammation. *Respir Res.* 2009 May 4;10:33.

Todros T, Bontempo S, Piccoli E, Ietta F, Romagnoli R, Biolcati M, Castellucci M, Paulesu L. Increased levels of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005;123(2):162-6.

Torry DS, Leavenworth J, Chang M, Maheshwari V, Groesch K, Ball ER, Torry RJ. Angiogenesis in implantation. *J Assist Reprod Genet.* 2007;24(7):303-15.

Trundley A, Moffett A. Human uterine leukocytes and pregnancy. *Tissue Antigens.* 2004 Jan;63(1):1-12.

Veillat V, Carli C, Metz CN, Al-Abed Y, Naccache PH, Akoum A. Macrophage migration inhibitory factor elicits an angiogenic phenotype in human ectopic endometrial cells and triggers the production of major angiogenic factors via CD44, CD74, and MAPK signaling pathways. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(12):E403-12.

Vestweber D, Winderlich M, Cagna G, Nottebaum AF. Cell adhesion dynamics at endothelial junctions: VE-cadherin as a major player. *Trends Cell Biol.* 2009;19(1):8-15.

Viganò P, Cintorino M, Schatz F, Lockwood CJ, Arcuri F. The role of macrophage migration inhibitory factor in maintaining the immune privilege at the fetal-maternal interface. *Semin Immunopathol.* 2007;29(2):135-50.

Wada S, Fujimoto S, Mizue Y, Nishihira J. *Biochem Mol Biol Int.* Macrophage migration inhibitory factor in the human ovary: presence in the follicular fluids and production by granulosa cells. 1997;41(4):805-14.

Wang B, Goff AK. Interferon-tau stimulates secretion of macrophage migration inhibitory factor from bovine endometrial epithelial cells. *Biol Reprod.* 2003;69(5):1690-6.

Wang C, Tanaka T, Nakamura H, Umesaki N, Hirai K, Ishiko O, Ogita S, Kaneda K. Granulated metrial gland cells in the murine uterus: localization,

kinetics, and the functional role in angiogenesis during pregnancy. *Microsc Res Tech.* 2003;60(4):420-9.

Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today.* 1993;14(7):353-6.

Yabunaka N, Nishihira J, Mizue Y, Tsuji M, Kumagai M, Ohtsuka Y, Imamura M, Asaka M. Elevated serum content of macrophage migration inhibitory factor in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2000;23(2):256-8.

Yu WH, Woessner JF Jr, McNeish JD, Stamenkovic I. CD44 anchors the assembly of matrilysin/MMP-7 with heparin-binding epidermal growth factor precursor and ErbB4 and regulates female reproductive organ remodeling. *Genes Dev.* 2002 Feb 1;16(3):307-23.

Xie L, Qiao X, Wu Y, Tang J. β -Arrestin1 Mediates the Endocytosis and Functions of Macrophage Migration Inhibitory Factor. *PLoS One.* 2011 Jan 25;6(1):e16428.

Zavan B, Paffaro AM, Joazeiro PP, Yamada AT, Paffaro VA Jr. Immunocytochemical studies of adhesion molecules on mouse UNK cells and their extracellular matrix ligands during mouse pregnancy. *Anat Rec (Hoboken).* 2010;293(6):1081-8.

Zenclussen AC, Schumacher A, Zenclussen ML, Wafula P, Volk HD. Immunology of pregnancy: cellular mechanisms allowing fetal survival within the maternal uterus. *Expert Rev Mol Med.* 2007;9(10):1-14.

Zeng FY, Weiser WY, Kratzin H, Stahl B, Karas M, Gabius HJ. The major binding protein of the interferon antagonist sarcolectin in human placenta is a macrophage migration inhibitory factor. *Arch Biochem Biophys.* 1993;303(1):74-80.