

# MICROCHIMÉRISME POSTGESTATIONNEL

L. Albano – CHU Nice

## 1. Le chimérisme : définitions

Dans la mythologie grecque, la chimère (**Χίμαιρα**) est une créature fantastique ayant, une queue de serpent, un corps de chèvre et une tête de lion qui crache le feu et dévore les humains. Elle est tuée par le héros Bellerophon. Les interprétations de ce mythe sont multiples, mais semblent représenter l'association temps-nature (3 âges de la vie d'une femme associée à 3 saisons de la nature) dans la société à filiation matriarcale des Achéens. En génétique, ce terme est utilisé pour caractériser un organisme qui possède plusieurs génotypes. Le microchimérisme (Mc) se définit par la persistance en faible quantité (moins de 5%) dans un organisme de cellules allogéniques ou d'ADN provenant d'un autre individu génétiquement différent. Il s'agit d'une forme d'hérédité différente de l'hérédité génétique. Le Mc postgestationnel (ou naturellement acquis) désigne la présence de cellules fœtales chez la mère (foeto-maternel) ou de cellules maternelles chez l'enfant (materno-fœtal) secondaire à une grossesse à terme ou non [1], à l'allaitement [2] ou au passage *in utero* de sang entre jumeaux [3].

## 2. Techniques de détection du microchimérisme

Expérimentalement, l'équipe de Bianchi a mis au point en 2008 un modèle murin transgénique [4] afin de repérer facilement des cellules ou de l'ADN mâle chez des souris femelles. Ce modèle correspond à un mâle muté pour le gène d'une protéine de fluorescence verte, à pénétrance totale et à transmission autosomale dominante, sous contrôle du promoteur du gène de la bêta-actine du poulet et d'un enhancer du cytomégalovirus. Après

croisement avec des femelles vierges, celles-ci sont sacrifiées pendant ou après la grossesse. La présence d'une fluorescence dans les tissus est recherchée par PCR quantitative et/ou par immunofluorescence *in situ* [5].

Chez l'humain, la plupart des études utilisent la détection d'ADN ou de cellules masculines chez la femme. Il existe différentes techniques de détection appliquées sur différents tissus. L'ADN masculin peut être détecté par amplification d'une région spécifique du chromosome Y à l'aide d'une PCR. Beaucoup d'études utilisent des méthodes de PCR qualitatives notamment une PCR nichée (nested PCR) et donnent des résultats sous forme de fréquence de Mc. Cette technique est limitée par les contaminations fréquentes et ne permet pas l'expression de résultats quantitatifs. L'utilisation de PCR quantitative est plus pertinente puisqu'elle permet d'exprimer des résultats en niveaux de Mc et d'associer la détection d'haplotypes non partagés [6]. Cette dernière technique permet d'identifier plus précisément la source du Mc. Les cellules masculines peuvent être repérées dans les tissus par hybridation fluorescente *in situ* (FISH) à l'aide de marqueurs des chromosomes X et Y. Cette technique permet également d'identifier le Mc maternel chez le garçon. Le problème lié au FISH est le risque de superposition cellulaire [6]. Lors d'études sur le sang périphérique, différents compartiments sanguins peuvent être explorés. Pendant la grossesse, on trouve de plus hauts niveaux de Mc dans le plasma que dans les PBMC. Par contre, des années après la délivrance, l'ADN fœtal n'est retrouvé que dans les PBMC [6]. La détection de cellules fœtales dans la circulation périphérique maternelle pendant la grossesse permet la réalisation de diagnostic pré-

natal - détermination du sexe et d'anomalies génétiques - par une méthode non invasive. Cette technique consiste en gradients de fi-coll associés à une extraction d'érythroblastes fœtaux par Magnetic Activated Cell Sorting (MACS) [7]. Mais on peut également rechercher le Mc chez des hôtes sans tenir compte de l'appariement sexuel donneur/hôte. Pour cela, on peut utiliser des techniques de PCR VNTR ou de PCR quantitative ciblant le polymorphisme du HLA de classe II sur le locus DRB1[8].

### 3. Le microchimérisme postgestationnel

Le Mc acquis pendant la grossesse résulte d'un trafic cellulaire fœto-maternel physiologique. Le placenta est une barrière perméable et sélective qui permet le passage bidirectionnel d'ADN et de cellules fœtales de la circulation fœtale vers la circulation maternelle et vice-versa. L'existence de cette circulation a été démontrée par la mise en évidence dans le sang de cordons d'enfants ayant un déficit immunitaire de type SCID de lymphocytes T maternels détectés dans 50% des cas étudiés [9]. Les techniques d'analyse quantitative du Mc montrent que le passage foeto-maternel est plus important que le trafic materno-fœtal [10]. Les cellules fœtales comme les cellules maternelles sont retrouvées chez la mère et l'enfant des années après l'accouchement.

#### 3.1 Le microchimérisme fœto-maternel

La présence de cellules fœtales intactes est retrouvée chez 30% des femmes dans le sang périphérique dès la 6<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée [11], ce pourcentage atteint 94% à la 34<sup>e</sup> semaine [12]. La circulation fœto-maternelle concerne différents types cellulaires comprenant des trophoblastes, des érythroblastes nucléés et des leucocytes [12], progéniteurs hématopoïétiques [13] ou mésenchymateux [14]. Le taux de cellules fœtales circulantes

est d'environ 1 cellule fœtale pour 500 000 cellules maternelles [12]. Il a été également montré qu'il existe de l'ADN fœtal « nu », d'un poids 150 à 250 paires de bases, détecté dans le sérum ou le plasma maternels [15] ainsi que dans l'urine [16] des femmes enceintes.

Après l'accouchement, l'ADN libre disparaît dans les 2 heures suivant la délivrance alors que les cellules fœtales vont persister au long cours chez 30% à 50% des femmes ayant eu une grossesse [17][18]. Il faut noter qu'une grossesse de garçon à terme n'est pas une condition indispensable à l'établissement d'un Mc mâle comme le montre une étude de Yan et coll. [19] qui retrouve la présence d'ADN du chromosome Y chez 30% de femmes n'ayant pas de fils. En effet, les rapports sexuels, des grossesses passées inaperçues de même qu'un jumeau mort précocement *in utero* (« vanishing twin syndrome ») peuvent aboutir à l'installation d'un Mc. Une revue d'études individuelles publiées montre que les femmes ayant eu un avortement spontané ou provoqué ont une plus grande probabilité d'avoir un Mc au long cours [20]. Des études montrent que l'on retrouve des cellules chimériques mâles dans les poumons, reins, cœurs, foies, thyroïdes, peau et ganglions de femmes sans pathologie de ces organes [21, 22]. Des cellules souches issues du placenta fœtal peuvent persister dans la circulation maternelle de nombreuses années après la grossesse. Des cellules CD34+ et CD34+ /CD38+ sont retrouvées par amplification génique plusieurs décennies après l'accouchement, dans le sang périphérique [23-25], mais également dans la moelle osseuse [26].

#### 3.2 Le microchimérisme materno-fœtal

Le Mc materno-fœtal est d'analyse plus récente. Des cellules maternelles issues des lignées myéloïdes et lymphoïdes ainsi que des progéniteurs hématopoïétiques sont

## Microchimérisme postgestationnel

retrouvées chez le fœtus dès la 14<sup>e</sup> semaine de grossesse [27]. Leur persistance chez l'enfant et l'adulte sains a été démontrée [28] à l'aide de PCR criblant l'haplotype maternel non partagé. Cette étude montre que 55% des adultes normaux sont porteurs de cellules circulantes maternelles. La présence de cellules maternelles a été retrouvée dans des situations pathologiques. En effet on a montré une augmentation de fréquence du Mc maternel dans la dermatomyosite juvénile [29, 30] et la sclérodermie [31]. Leurs capacités de migration et de réparation tissulaire ont été suggérées dans un cas de lupus néonatal compliqué d'un bloc auriculo-ventriculaire où des cellules maternelles correspondant à 81% des cardiomyocytes ont été retrouvées dans le cœur du nouveau-né [32].

### 3.3 Le microchimérisme fœtal est impliqué dans diverses situations pathologiques

L'influence du Mc fœtal chez la femme est très discutée puis que l'on a retrouvé celui-ci chez des femmes en bonne santé ou présentant des pathologies auto-immunes. Des études sont même en faveur d'un rôle protecteur du Mc fœtal. Les facteurs pouvant conduire à l'un ou l'autre rôle sont inconnus.

#### 3.3.1 Pathologies de la grossesse

Certaines situations obstétricales peuvent augmenter le passage transplacentaire à la fois des cellules et de l'ADN fœtal. Il semble que les anomalies de la structure placentaire plus que la pathologie elle-même soit responsable de cette augmentation du trafic cellulaire.

Une étude mesurant le niveau d'ADN fœtal dans le plasma de femmes enceintes retrouve de plus hauts niveaux de Mc chez celles qui vont accoucher avant terme ( $\leq 34$  semaines de gestation) que chez des femmes menant leur grossesse jusqu'au terme. Parmi ces femmes dont le travail commence prématu-

rément, la réponse à un traitement par tocolyse est meilleure lorsque le niveau de Mc est bas [33].

La pré éclampsie correspond à l'association d'une hypertension artérielle gravidique, d'une protéinurie et d'un syndrome oedémateux. Le placenta sécrète des médiateurs de l'inflammation qui vont léser l'endothélium, notamment au niveau rénal. Les complications sont nombreuses et graves. Les facteurs de risque de la développer et les biomarqueurs prédictifs de survenue sont mal identifiés. On a montré que les femmes en pré éclampsie avaient un niveau de Mc élevé [34-36]. De plus, cette élévation du nombre de cellules fœtales chez la mère est détectée avant les manifestations cliniques [35]. Au cours des grossesses aneuploïdes, on peut retrouver également des anomalies de structure placentaire [37]. Pour conforter cette observation, Bianchi et coll. ont retrouvé une augmentation du Mc fœtal chez les femmes porteuses de fœtus trisomiques 15 ou 21 [38]. Les cellules fœtales ont été incriminées dans la pathogénie d'une maladie dermatologique spécifique de la grossesse : l'éruption polymorphique de la grossesse. Cette pathologie affecte 0,5 à 2% des femmes et débute au troisième trimestre. L'éruption commence dans la majorité des cas à l'abdomen, épargnant la région péri ombilicale, et s'étend vers les cuisses, les fesses et les bras. Il s'agit de papules érythémateuses de 1 à 2 mm, qui se regroupent pour former des plaques urticariennes. Le prurit associé est intense. Les lésions diminuent en une à six semaines après l'accouchement, mais on observe une exacerbation dans 15 % des cas en période post-partum. La lésion histologique correspond à un infiltrat lymphocytaire périvasculaire dans le derme. Aractingi et coll. [39] ont détecté des cellules fœtales masculines dans le derme et l'épiderme de ces patientes mais pas chez des femmes enceintes contrôles, suggérant

un rôle possible des cellules fœtales dans la réponse inflammatoire au sein des tissus maternels. Enfin, certains ont évoqué le fait qu'un nombre insuffisant de cellules fœtales dans la circulation maternelle favoriseraient l'avortement spontané. Les anticorps maternels anti-HLA fœtaux sont fréquemment observés dans le sérum des multipares [40] de même que la présence d'anticorps anti-HLA maternels a été retrouvée chez certains enfants [41]. Reed et coll. montrent que la mère produit des anticorps contre les antigènes HLA non partagés fœtaux dès 8 semaines de grossesse et que ces anticorps sont complexés avec des alloantigènes solubles fœtaux. L'exposition du système immunitaire maternel aux alloantigènes fœtaux portés par les cellules fœtales microchimériques induit la production d'anticorps cytotoxiques qui seraient nécessaires au maintien de la grossesse [42].

### 3.3.2 Pathologies auto-immunes

Les maladies auto-immunes correspondent à un ensemble varié d'une centaine de pathologies caractérisées par une réponse immune pathologique contre les constituants de l'organisme. Ces maladies plus fréquentes chez la femme inter agissent avec la grossesse et la délivrance. La réaction du greffon contre l'hôte (GVHD), secondaire aux greffes de moelle osseuse présente des similarités cliniques avec certaines maladies auto-immunes et peut générer la formation d'auto-anticorps [43]. La GVHD survient lorsque les lymphocytes T du donneur présents dans le greffon réagissent avec les antigènes de surface des cellules du receveur. Les incompatibilités HLA, les compétences immunologiques du receveur, le nombre et les caractéristiques des lymphocytes T du greffon sont des facteurs de risque de survenue d'une GVHD [44]. Ces observations ont permis d'élaborer l'hypothèse d'un rôle du Mc fœtal ou maternel dans la pathogénie des maladies auto-

immunes. Quoi qu'il en soit, il reste difficile de déterminer si les cellules fœtales jouent un rôle actif dans la pathogénie des maladies auto-immunes ou si elles ne sont qu'un marqueur de l'inflammation.

Il existe deux séries d'études analysant la fréquence ou le niveau du Mc. La première montre une augmentation de la fréquence et du niveau et de Mc fœtal chez des patientes atteintes de pathologies auto-immunes - sclérodermie [18, 45], maladie de Grave [46], thyroïdite d'Hashimoto [47], maladie de Sjögren [48], cirrhose biliaire primitive [49] ou lupus [50] - par rapport à une population de femmes saines. La seconde série est constituée d'études qualitatives explorant le Mc fœtal dans la sclérodermie [51-53], la maladie de Sjögren [54], la cirrhose biliaire primitive [55, 56] et le lupus [57] sans montrer d'augmentation de fréquence du Mc fœtal chez les patientes par rapport aux contrôles. Ces résultats opposés s'expliquent par l'utilisation de méthodes très différentes que ce soit dans la constitution des groupes, les techniques utilisées de sensibilité et de spécificité variées, le matériel analysé, sang périphérique (total ou PBMC) ou organe cible. La pathogénie des maladies auto-immunes est multifactorielle : génétique, environnementale, hormonale, infectieuse. L'implication des cellules fœtales dans la pathogénie de la sclérodermie a été étudiée par l'équipe d'Artlett. Elle montre que les cellules fœtales microchimériques sont immunocompétentes et expriment CD3 [58] et CD4 [59], que la patiente ne partage pas les antigènes HLA de classe I avec ces cellules [60] mais son système immunitaire ne s'active pas contre elles en raison peut-être de la tolérance établie pendant la gestation. Il est possible également que les cellules microchimériques aient un rôle effecteur direct, comme le suggère une étude dans laquelle des clones de lymphocytes T masculins issus de la peau et du sang périphérique de

## Microchimerisme postgestationnel

femmes sclérodermiques réagissent contre les antigènes HLA maternels [61]. La compatibilité HLA mère-enfant semble être un autre facteur de risque de sclérodermie. En effet, l'étude du HLA des cellules microchimériques mâles montre que lorsque l'antigène HLA-DR est partagé par la mère et l'enfant, le risque de développer une sclérodermie est multiplié par 7 chez la femme [31].

### **3.3.3 Capacités de différenciation et de réparation tissulaire**

Chez l'animal, le rôle bénéfique des cellules fœtales microchimériques a été suggéré par quelques observations. Une étude de Wang et coll. [62] a étudié un modèle de rats comprenant des mâles transgéniques GFP (Green Fluorescent Protein) et des femelles Sprague-Dawley (SD). Des lésions rénales de nécrose tubulaire et des lésions hépatiques sont provoquées par injections de gentamycine et absorption d'éthanol chez les femelles SD après grossesse. On retrouve des cellules fœtales mâles fluorescentes dans la moelle osseuse des femelles, dans leur sang périphérique, dans le foie et dans le rein. Les cellules fluorescentes correspondent, dans le rein, à des cellules épithéliales tubulaires et dans le foie, à des hépatocytes. Ces cellules GFP ne sont pas retrouvées dans les organes des femelles non soumises à l'alcool et aux aminosides. Ces résultats suggèrent qu'une lésion tissulaire favorise l'installation de cellules fœtales au sein de l'organe lésé et que ces cellules microchimériques participent à sa réparation.

Chez l'humain, l'équipe de Bayes-Genis [63, 64] retrouve des cardiomyocytes mâles dans le cœur de 2 femmes ayant eu des garçons. Si l'on a clairement montré que les cellules fœtales étaient présentes au sein de divers organes solides chez la femme, on suggère ici que ces cellules fœtales progénitrices puissent se différencier en cardiomyocytes dans un microenvironnement approprié. De

même, des cellules thyroïdiennes mâles totalement différenciées ont été mises en évidence chez une femme porteuse d'un goitre multinodulaire [65] et des hépatocytes mâles ont été détectés chez une femme infectée par le virus de l'hépatite C [66]. Leur rôle dans la réparation tissulaire a été évoqué par O'Donoghue et coll. [67] qui analysent la présence de cellules microchimériques mâles dans le tissu sain et tumoral de femmes atteintes d'un cancer pulmonaire. On retrouve significativement plus de cellules microchimériques dans le tissu malade que dans le tissu sain.

### **Conclusion**

Les microchimérismes foetal et maternel ont été impliqués dans certaines maladies auto-immunes mais les hypothèses actuelles sont plutôt en faveur d'un rôle potentiel de réparation tissulaire. Par analogie avec la thérapie cellulaire utilisant des cellules fœtales placentaires, les possibilités thérapeutiques des cellules chimériques multipotentes détectées chez la femme adulte sont en cours d'étude. Elles pourraient constituer une solution thérapeutique moins controversée sur le plan éthique que les prélèvements fœtaux.

**BIBLIOGRAPHIE**

1. Cadavid A, Rugeles MT, Peña B, Sánchez F, García H, et al. Cell microchimerism in patients with recurrent spontaneous abortion: preliminary results. *Early Pregnancy*. 1997;3(3):199-203.
2. Weiler IJ, Hickler W, Sprenger R. Demonstration that milk cells invade the suckling neonatal mouse. *Am J Reprod Immunol*. 1983;4(2):95-8.
3. van Dijk BA, Boomsma DI, de Man AJ. Blood group chimerism in human multiple births is not rare. *Am J Med Genet*. 1996;61(3):264-8.
4. Fujiki Y, Tao K, Bianchi DW, Giel-Moloney M, Leiter AB, Johnson KL. Quantification of green fluorescent protein by in vivo imaging, PCR, and flow cytometry: comparison of transgenic strains and relevance for fetal cell microchimerism. *Cytometry A*. 2008;73(2):11-118.
5. Khosrotehrani K, Johnson KL, Guégan S, Stroh H, Bianchi DW. Natural history of fetal cell microchimerism during and following murine pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2005;66(1):1-12.
6. Lambert N, Nelson JL. Microchimerism in autoimmune disease: more questions than answers? *Autoimmun Rev*. 2003;2(3):133-9.
7. Smits G, Holzgreve W, Hahn S. An examination of different Percoll density gradients and magnetic activated cell sorting (MACS) for the enrichment of fetal erythroblasts from maternal blood. *Arch Gynecol Obstet*. 2000;263(4):160-3.
8. Pujal JM, Gallardo D. PCR-Based Methodology for Molecular Microchimerism Detection and Quantification. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2008;233(9):1161-70.
9. Appleton AL, Curtis A, Wilkes J, Cant AJ. Differentiation of maternal-fetal GVHD from Omenn's syndrome in pre-BMT patients with severe combined immunodeficiency. *Bone Marrow Transplant*. 1994;14(1):157-9.
10. Lo YM, Lau TK, Chan LY, Leung TN, Chang AM. Quantitative analysis of the bidirectional fetomaternal transfer of nucleated cells and plasma DNA. *Clin Chem*. 2000;46(9):1301-9.
11. Thomas MR, Williamson R, Craft I, Yazdani N, Rodeck CH. Y chromosome sequence DNA amplified from peripheral blood of women in early pregnancy. *Lancet*. 1994 Feb 12; 343(8894):413-4.
12. Gänshirt D, Garritsen HS, Holzgreve W. Fetal cells in maternal blood. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1995;7(2):103-8.
13. Osada H, Doi S, Fukushima T, Nakauchi H, Seki K, Sekiya S. Detection of fetal HPCs in maternal circulation after delivery. *Transfusion*. 2001;41(4):499-503.
14. O'Donoghue K, Choolani M, Chan J, de la Fuente J, Kumar S, et al. Identification of fetal mesenchymal stem cells in maternal blood: implications for non-invasive prenatal diagnosis. *Mol Hum Reprod*. 2003;9(8):497-502.
15. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997;350(9076):485-7.
16. Umansky SR, Tomei LD. Transrenal DNA testing: progress and perspectives. *Expert Rev Mol Diagn*. 2006;6(2):153-63.
17. Hyodo M, Samura O, Fujito N, Tanigawa M, Miyoshi H, et al. No correlation between the number of fetal nucleated cells and the amount of cell-free fetal DNA in maternal circulation either before or after delivery. *Prenat Diagn*. 2007;27(8):717-21.
18. Lambert NC, Lo YMD, Erickson TD, Tylee TS, Guthrie KA, et al. Male microchimerism in healthy women and women with scleroderma: cells or circulating DNA? A quantitative answer. *Blood*. 2002;100(8):2845-51.
19. Yan Z, Lambert NC, Guthrie KA, Porter AJ, Loubiere LS, et al. Male microchimerism in women without sons: quantitative assessment and correlation with pregnancy history. *Am J Med*. 2005;118(8):899-906.
20. Khosrotehrani K, Johnson KL, Lau J, Dupuy A, Cha DH, Bianchi DW. The influence of fetal loss on the presence of fetal cell microchimerism: a systematic review. *Arthritis Rheum*. 2003;48(11):3237-41.
21. Koopmans M, Kremer Hovinga ICL, Baelde HJ, Fernandes RJ, de Heer E, et al. Chimerism in kidneys, livers and hearts of normal women: implications for transplantation studies. *Am J Transplant*. 2005;5(6):1495-502.
22. Koopmans M, Kremer Hovinga ICL, Baelde HJ, Harvey MS, de Heer E, et al. Chimerism occurs in thyroid, lung, skin and lymph nodes of women with sons. *J Reprod Immunol*. 2008; 78(1):68-75

23. Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, DeMaria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(2):705-8.
24. Adams KM, Lambert NC, Heimfeld S, Tylee TS, Pang JM, et al. Male DNA in female donor apheresis and CD34-enriched products. *Blood*. 2003;102(10):3845-7.
25. Mikhail MA, M'Hamdi H, Welsh J, Levicar N, Marley SB, et al. High frequency of fetal cells within a primitive stem cell population in maternal blood. *Hum Reprod*. 2008;23(4):928-33.
26. O'Donoghue K, Chan J, de la Fuente J, Kenne N, Sandison A, et al. Microchimerism in female bone marrow and bone decades after fetal mesenchymal stem-cell trafficking in pregnancy. *Lancet*. 2004;364(9429):179-82.
27. Jonsson AM, Uzunel M, Götherström C, Papadogiannakis N, Westgren M. Maternal microchimerism in human fetal tissues. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(3):325.e1-6.
28. Maloney S, Smith A, Furst DE, Myerson D, Rupert K, et al. Microchimerism of maternal origin persists into adult life. *J Clin Invest*. 1999;104(1):41-7.
29. Artlett CM, Ramos R, Jimenez SA, Patterson K, Miller FW, Rider LG. Chimeric cells of maternal origin in juvenile idiopathic inflammatory myopathies. Childhood Myositis Heterogeneity Collaborative Group. *Lancet* 2000 Dec 23-30;356(9248):2155-6.
30. Artlett CM, Miller FW, Rider LG, Childhood Myositis Heterogeneity Collaborative Study Group. Persistent maternally derived peripheral microchimerism is associated with the juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Rheumatology (Oxford)*. 2001;40(11):1279-84.
31. Lambert NC, Erickson TD, Yan Z, Pang JM, Guthrie KA, et al. Quantification of maternal microchimerism by HLA-specific real-time polymerase chain reaction: studies of healthy women and women with scleroderma. *Arthritis Rheum*. 2004;50(3):906-14.
32. Stevens AM, Hermes HM, Rutledge JC, Buyon JP, Nelson JL. Myocardial-tissue-specific phenotype of maternal microchimerism in neonatal lupus congenital heart block. *Lancet*. 2003;362(9396):1617-23.
33. Leung TN, Zhang J, Lau TK, Hjelm NM, Lo YM. Maternal plasma fetal DNA as a marker for preterm labour. In: *Lancet*. 1998 Dec 12;352(9144):1904-5
34. Lo YM, Leung TN, Tein MS, Sargent IL, Zhang J, et al. Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia. *Clin Chem*. 1999;45(2):184-8.
35. Leung TN, Zhang J, Lau TK, Chan LY, Lo YM. Increased maternal plasma fetal DNA concentrations in women who eventually develop preeclampsia. *Clin Chem*. 2001;47(1):137-9.
36. Zhong XY, Holzgreve W, Hahn S. Circulatory fetal and maternal DNA in pregnancies at risk and those affected by preeclampsia. *Ann NY Acad Sci*. 2001;945:138-40.
37. Strobel SL, Brandt JT. Abnormal hematologic features in a live-born female infant with triploidy. *Arch Pathol Lab Med*. 1985;109(8):775-7.
38. Bianchi DW, Williams JM, Sullivan LM, Hanson FW, Klinger KW, Shuber AP. PCR quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies. *Am J Hum Genet*. 1997;61(4):822-9.
39. Aractingi S, Berkane N, Bertheau P, Le Goué C, Dausset J, et al. Fetal DNA in skin of polymorphic eruptions of pregnancy. *Lancet*. 1998;352(9144):1898-901.
40. Carandina G, DeRitis L, Palazzi P, Mattiuzi PL. Maternal lymphocytotoxic antibodies and bilirubin levels in the postpartum offspring. *Tissue Antigens*. 1977;10(4):348-52.
41. Le Deist F, Raffoux C, Griscelli C, Fischer A. Graft vs graft reaction resulting in the elimination of maternal cells in a SCID patient with maternofetal GVHD after an HLA identical bone marrow transplantation. *J Immunol*. 1987;138(2):423-7.
42. Reed E, Beer AE, Hutcherson H, King DW, Suciú-Foca N. The alloantibody response of pregnant women and its suppression by soluble HLA antigens and anti-idiotypic antibodies. *J Reprod Immunol*. 1991;20(2):115-28.
43. Bohgaki T, Atsumi T, Koike T. Multiple autoimmune diseases after autologous stem-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2007 Dec 27;357(26):2734-6
44. Brubaker DB. Immunopathogenic mechanisms of post-transfusion graft-vs-host disease. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1993;202(2):122-47.
45. Ohtsuka T, Miyamoto Y, Yamakage A, Yamazaki S. Quantitative analysis of microchimerism in systemic sclerosis skin tissue. *Arch Dermatol Res*. 2001;293(8):387-91.

46. Ando T, Imaizumi M, Graves PN, Unger P, Davies TF. Intra-thyroidal fetal microchimerism in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3315-20.
47. Klintschar M, Immel UD, Kehlen A, Schwaiger P, Mustafa T, et al. Fetal microchimerism in Hashimoto's thyroiditis: a quantitative approach. *Eur J Endocrinol.* 2006;154(2):237-41.
48. Endo Y, Negishi I, Ishikawa O. Possible contribution of microchimerism to the pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford).* 2002;41(5):490-5.
49. Fanning PA, Jonsson JR, Clouston AD, Edwards-Smith C, Balderson GA, et al. Detection of male DNA in the liver of female patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 2000;33(5):690-5.
50. Abud Filho M, Pavarino-Bertelli EC, Alvarenga MP, Fernandes IM, Toledo RA, et al. Systemic lupus erythematosus and microchimerism in autoimmunity. *Transplant Proc.* 2002;34(7):2951-2.
51. Selva-O'Callaghan A, Mijares-Boeckh-Behrens T, Prades EB, Solans-Laqué R, Simeón-Aznar CP, et al. Lack of evidence of foetal microchimerism in female Spanish patients with systemic sclerosis. *Lupus.* 2003;12(1):15-20.
52. Murata H, Nakauchi H, Sumida T. Microchimerism in Japanese women patients with systemic sclerosis. *Lancet.* 1999 Jul 17;354(9174):220.
53. Gannagé M, Amoura Z, Lantz O, Piette JC, Caillat-Zucman S. Feto-maternal microchimerism in connective tissue diseases. *Eur J Immunol.* 2002;32(12):3405-13.
54. Toda I, Kuwana M, Tsubota K, Kawakami Y. Lack of evidence for an increased microchimerism in the circulation of patients with Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2001;60(3):248-53.
55. Schöniger-Hekele M, Müller C, Ackermann J, Drach J, Wrba F, et al. Lack of evidence for involvement of fetal microchimerism in pathogenesis of primary biliary cirrhosis. *Dig Dis Sci.* 2002;47(9):1909-14.
56. Rubbia-Brandt L, Philippeaux MM, Chavez S, Mentha G, Borisch B, Hadengue A. FISH for Y chromosome in women with primary biliary cirrhosis: lack of evidence for leukocyte microchimerism. *Hepatology.* 1999 Sep;30(3):821-2.
57. Mosca M, Curcio M, Lapi S, Valentini G, D'Angelo S, et al. Correlations of Y chromosome microchimerism with disease activity in patients with SLE: analysis of preliminary data. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(7):651-4.
58. Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis. *N Engl J Med.* 1998;338(17):1186-91.
59. Artlett CM, Cox LA, Ramos RC, Dennis TN, Fortunato RA, et al. Increased microchimeric CD4+ T lymphocytes in peripheral blood from women with systemic sclerosis. *Clin Immunol.* 2002;103(3 Pt 1):303-8.
60. Artlett CM, Welsh KI, Black CM, Jimenez SA. Fetal-maternal HLA compatibility confers susceptibility to systemic sclerosis. *Immunogenetics.* 1997;47(1):17-22.
61. Scaletti C, Vultaggio A, Bonifacio S, Emmi L, Torricelli F, et al. Th2-oriented profile of male offspring T cells present in women with systemic sclerosis and reactive with maternal major histocompatibility complex antigens. *Arthritis Rheum.* 2002;46(2):445-50.
62. Wang Y, Iwatani H, Ito T, Horimoto N, Yamato M, et al. Fetal cells in mother rats contribute to the remodeling of liver and kidney after injury. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;325(3):961-7.
63. Bayes-Genis A, Bellosillo B, de la Calle O, Salido M, Roura S, et al. Identification of male cardiomyocytes of extracardiac origin in the hearts of women with male progeny: male fetal cell microchimerism of the heart. *J Heart Lung Transplant.* 2005;24(12):2179-83.
64. Bayes-Genis A, Roura S, Prat-Vidal C, Farré J, Soler-Botija C, et al. Chimerism and microchimerism of the human heart: evidence for cardiac regeneration. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2007;4 Suppl 1:S40-5.
65. Srivatsa B, Srivatsa S, Johnson KL, Samura O, Lee SL, Bianchi DW. Microchimerism of presumed fetal origin in thyroid specimens from women: a case-control study. *Lancet.* 2001;358(9298):2034-8.
66. Johnson KL, Samura O, Nelson JL, McDonnell M, d WM, Bianchi DW. Significant fetal cell microchimerism in a nontransfused woman with hepatitis C: Evidence of long-term survival and expansion. *Hepatology.* 2002 Nov;36(5):1295-7.
67. O'Donoghue K, Sultan HA, Al-Allaf FA, Anderson JR, Wyatt-Ashmead J, Fisk NM. Microchimeric fetal cells cluster at sites of tissue injury in lung decades after pregnancy. *Reprod Biomed Online.* 2008;16(3):382-90.