

## 孕早期山羊胎儿 IL 4 水平与 PBMC 增殖活性的关系

楚元奎, 吴 瑞, 吴庆侠, 丰艳妮, 靳亚平\*

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:** 探讨了妊娠早期山羊胎儿 IL 4 水平与外周血单核细胞(PBMC)增殖活性的关系。用 MTT 法, 检测孕早期山羊胎儿匀浆上清液(FHS)在不同浓度下对 PBMC 转化增殖活性的影响, 设立孕 130 d 胎儿血清(FS)及 FHS+PHA P 对照组; 检测蛋白质浓度在  $1 \times 10^{-4}$  mg/mL 时 IL 4 的含量, 并与转化后的含量进行比较。结果: 妊娠早期, FHS 对 PBMC 转化活性的影响随着妊娠的发展而逐渐降低, 但均低于妊娠后期对照组, FHS 蛋白质浓度在  $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-5}$  mg/mL 时, 对 PBMC 的转化增殖效果均较好( $P < 0.05$ ), 且与 PHA P 具有协同作用; 妊娠早期 FHS 的 IL 4 水平随着妊娠的发展呈现上升的趋势, 且均高于 FS 对照组, FHS 的 IL 4 水平与转化后无显著差异( $P > 0.05$ )。妊娠早期 FHS IL 4 水平的上升与 PBMC 转化活性下降之间呈负相关关系, 正常妊娠早期主要是 Th2 型细胞因子在起作用, 因此可以说明, PBMC 转化活性的下降可能是 IL 4 发挥免疫抑制作用的结果, 进而说明, 妊娠早期胎儿可能通过自身分泌一些 Th2 型细胞因子, 在母体子宫局部免疫中发挥免疫抑制作用, 使其自身不被母体排斥, 使妊娠能够顺利进行。

**关键词:** 山羊; IL 4; 淋巴细胞转化; 怀孕早期; 母胎免疫

中图分类号: S827

文献标识码: A

文章编号: 1004 1389(2006)06 0015 05

### The Effect of IL 4 Level of Goat Fetus During Early Pregnancy on Proliferation of PBMC

CHU Yuan kui, WU Rui, WU Qing xia, FENG Yan ni and JIN Ya ping\*

(College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** To study the effect of IL 4 level of Goat fetus during early pregnancy on Proliferation of Peripheral Blood Mononuclear cells (PBMC). Detecting the Fetal Homogenate Supernatant (FHS)'s effect on Proliferation of PBMC during early pregnancy at different protein concentrations by MTT assay, with Fetal Serum (FS) and FHS cooperated with PHA P as control group; Detecting the IL 4 level of FHS when protein concentration is  $1 \times 10^{-1}$  mg/mL, compared with it after transformation. The effect of FHS on lymphocyte proliferation cut down and the IL 4 level of FHS is strengthen when the concentration of FHS is  $1 \times 10^{-4}$  mg/mL the pregnancy goes on during early pregnancy, but it is contrary in the later stage of pregnancy; Lymphocytes remarkable proliferated when protein concentration is  $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-5}$  mg/mL ( $P < 0.05$ ), and transformation effect of FHS cooperated with PHA P was much better than it is single ( $P < 0.05$ ). It has no difference between IL 4 level of FHS and it after transformation ( $P > 0.05$ ). Conclusion: The IL 4 level of FHS is strengthen and it is contrary with the effect of transformation as the pregnancy goes on during early pregnancy, because of Th2 cytokines play the dominated role during early pregnancy, it is indicated that the cutting down of PBMC's transformation effect is probably caused by IL 4 that plays the immunosuppressive role during early pregnancy. Furthermore, it is indicated that Fetus plays the immunosuppressive role in uterine

收稿日期: 2006 05 08 修回日期: 2006 06 01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39770545); 西北农林科技大学青年骨干教师支持计划项目(01140305)。

作者简介: 楚元奎(1980—), 男, 陕西铜川人, 在读硕士, 主要从事家畜生殖内分泌研究。

\*通讯作者。

local immunity during early pregnancy through secreting some Th2 cytokines to avoid the immunological rejection by parent, and that makes the pregnancy to proceed smoothly.

**Key words:** Goat; IL 4; Lymphocyte transformation; Early pregnancy; Maternal fetal immunity

孕体能够分泌多种细胞因子和激素,通过刺激母体子宫内膜细胞或直接作用于子宫内膜免疫活性细胞,参与子宫局部免疫的调节<sup>[1]</sup>。众多研究表明,妊娠后子宫和胚胎分泌物所产生的局部免疫调节是胚胎不被母体免疫排斥的主要机制。妊娠早期的胚胎能够通过白细胞介素 4、5、6 和 11 (IL 4、IL 5、IL 6、IL 11) 等辅助型 T 细胞 2 (Th2) 型细胞因子的局部分泌,来保持胚胎生长发育的最适状态<sup>[2]</sup>。IL 4 主要由 Th2 型细胞产生,属于维持妊娠的主要细胞因子,可抑制 Th1 型免疫反应,辅助胎儿的存活<sup>[3]</sup>。在整个妊娠期很容易检测到 IL 4 的存在。本实验主要通过测定胎儿体内 IL 4 水平的变化与 PBMC 转化活性之间的关系,来反映妊娠早期胎儿在子宫局部免疫中的作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 实验动物 孕早期山羊胎儿(妊娠 20、30、40、50、60 和 130 d 左右)采于杨凌姚安村农户家中,供体山羊均为临床检查健康无生殖系统疾病的母羊;血液,采于西北农林科技大学实验动物中心,供体为临床检查健康的山羊。

1.1.2 主要试剂 RPMI 1640 培养基(GIBCO);淋巴细胞分离液(上海华精生物高科技有限公司);IL 4 试剂盒(第四军医大学免疫学教研室);新生牛血清(赛乐);植物血凝素 P (PHA-P)(Sigma);噻唑蓝(MTT)(润德生物);十二烷基磺酸钠(SDS)(Xiamen Sanland);二甲基亚砷(DMSO)(Amresco);台盼蓝(Sigma);肝素钠(北京鼎国生物技术中心)。

1.1.3 主要溶液 0.05mol/L pH7.2 的 PBS; pH 7.4 的 D Hanks 溶液;1 mol/L Hepes 缓冲液;0.1 mol/L 丙酮酸钠溶液;0.2mol/L L 谷氨酰胺溶液;200 单位/mL 青、链霉素溶液。

### 1.2 方 法

1.2.1 胎儿匀浆上清液(FHS)及胎儿血清(FS)的制备 采取适用妊娠期的山羊子宫。对妊娠 130 d 左右的山羊,就地打开子宫,取出胎儿对其进行心脏采血,血液不抗凝,静置分离血清;取回

其它妊娠时期的子宫,在无菌间内打开子宫取出胎儿,按下述方法制备 FHS:用灭菌生理盐水冲洗后再用含抗生素(青霉素 200 单位/mL,链霉素 200 单位/mL)的溶液浸泡 5 min,用 PBS 液漂洗 3 次,将胎儿剪碎,量取体积,加入 5 倍体积的 PBS,移入无菌烧杯内,反复冻融 2~3 次,融解后匀浆,匀浆液再反复冻融 2~3 次。然后取出,2 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液。将 FHS 和 FS 过滤除菌,分装,-20℃冻存备用<sup>[4]</sup>。

1.2.2 FHS 和 FS 蛋白质多肽含量的测定及样品处理 用 280 nm 紫外光吸收法测定 FHS 和 FS 的蛋白质多肽含量。根据测得的标准蛋白质的  $A_{280}$  得出回归方程  $Y = 0.0508 + 0.588X$ ,  $r = 0.96548673$ ,利用此方程,分别计算出各 FHS 及 FS 的蛋白质多肽含量,用 PBS 将其浓度统一调成 0.1 mg/mL,然后用不完全 1640 培养液做 10 倍稀释,每个样品依次稀释 5 个浓度,即每组共有  $1 \times 10^{-1}$  mg/mL,  $1 \times 10^{-2}$  mg/mL,  $1 \times 10^{-3}$  mg/mL,  $1 \times 10^{-4}$  mg/mL,  $1 \times 10^{-5}$  mg/mL 和  $1 \times 10^{-6}$  mg/mL 6 个浓度,过滤分装,-20℃冻存备用。

1.2.3 外周血单个核细胞(PBMC)悬液的制备 山羊无菌颈静脉采血 40 mL,加入肝素钠(1:100)抗凝,并加入等体积 PBS 平衡盐稀释血液,然后用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞,2 500 r/min 离心 30 min,将 PBMC 移入另一离心管中,用无菌 D Hanks 溶液洗涤 2~3 次,倾去上清液,用无菌 RPMI 1640 完全培养液吹打混匀,2% 台盼蓝染色,细胞存活率大于 95%,调整细胞密度为  $5 \times 10^6$  个/mL 细胞悬液<sup>[5,6]</sup>。

1.2.4 淋巴细胞增殖反应检测 实验孔每孔加入 100  $\mu$ L 淋巴细胞悬液,其中 PHA 诱导增殖组每孔加入 PHA-P 应用液 50  $\mu$ L,再加入 FHS 50  $\mu$ L,每个浓度设 3 复孔;自发增殖组每孔加入 FHS 100  $\mu$ L,每个浓度设 3 复孔;阳性对照组加入 PHA-P 应用液 50  $\mu$ L,再加入 RPMI 1640 完全培养液 50  $\mu$ L,设 3 复孔;阴性对照组加入 RPMI 1640 完全培养液 100  $\mu$ L,设 3 复孔;统一设调零孔,加入 RPMI 1640 完全培养液 200  $\mu$ L,设 3 复孔。置 37℃,5%CO<sub>2</sub> 培养箱培养 66 h,然后

每孔加入对四基偶氮唑盐(MTT)25  $\mu\text{L}$ , 继续培养 4~6 h 之后, 每孔加入 50  $\mu\text{L}$  SDS DMF 溶解缓冲液作用 2 h, 使细胞和染料沉淀完全溶解, 用酶联免疫检测仪在波长 570 nm 条件下测定各孔 OD 值。刺激指数 SI= 实验孔 OD 值 / 对照孔 OD 值。

1.2.5 夹心法 ELISA 检测 IL 4 采用夹心法 ELISA 试剂盒测定样品 IL 4。参照使用说明进行, 主要过程是: 取 96 孔酶标板, 每孔加用碳酸盐包被缓冲液稀释好的包被抗体 100  $\mu\text{L}$ , 在 4  $^{\circ}\text{C}$  下作用 48 h 后用洗涤液洗涤 3 次, 之后实验组每孔加 100  $\mu\text{L}$  待测样品, 对照组每孔加 100  $\mu\text{L}$  IL 4 阴性对照液, 之后在 37  $^{\circ}\text{C}$  作用 1 h, 再用洗涤液洗涤 3 次后, 每孔加 100  $\mu\text{L}$  LABTS 显色液, 37  $^{\circ}\text{C}$

下作用 30 min。用酶标仪以 410 nm 为检测波长, 以对照组调零, 测定 OD 值, 换算成刺激指数, 刺激指数 SI= 实验孔 OD 值 / 对照孔 OD 值, 记录并分析结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 PBMC 增殖反应检测结果

#### 2.1.1 FHS 浓度对 PBMC 转化活性的影响

表 1 结果表明: FHS 浓度对 PBMC 转化活性的影响随着 FHS 浓度的不同而发生变化, FHS 浓度在  $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-5}$  mg/mL 时对 PBMC 的转化效果最好。在实验浓度范围内, FHS 浓度高于或低于该浓度时对 PBMC 的转化增殖效果都会减弱。

表 1 FHS 浓度对 PBMC 转化活性影响的测定结果(LSD 法)

Table 1 Tested results of FHS concentration on proliferation effect of PBMC(LSD Method)

FHS 浓度 Concentration	FHS / (mg · mL <sup>-1</sup> )	刺激指数(SI) Stimulation index $\bar{x}_i$ (SI)	$\bar{x}_i$ 1.5180	$\bar{x}_i$ 1.6502	$\bar{x}_i$ 1.6625	$\bar{x}_i$ 1.7636	$\bar{x}_i$ 1.9727
$1 \times 10^{-4}$		1.9745	0.4565 **	0.3243 **	0.3120 **	0.2109 *	0.0018
$1 \times 10^{-5}$		1.9727	0.4547 **	0.3225 **	0.3102 **	0.2091 *	
$1 \times 10^{-6}$		1.7636	0.2456 *	0.1134	0.1011		
$1 \times 10^{-2}$		1.6625	0.1445	0.0123			
$1 \times 10^{-3}$		1.6502	0.1322				
$1 \times 10^{-1}$		1.5180					

2.1.2 妊娠天数对 PBMC 转化活性的影响 由表 2 结果可知, 妊娠 130 d FS 对照组的转化效果与妊娠早期各 FHS 的转化效果之间存在着极显著差异。妊娠 20 d 和妊娠 30 d 的转化活性与妊娠 50 d 和 60 d 的转化活性相比较时均存在显著差异, 而它们与妊娠 40 d 的转化活性相比较时均无显著差异; 妊娠 40 d 的转化活性与 60 d 的转化

活性之间存在着显著差异, 而与妊娠 50 d 的转化活性之间无显著差异。实验结果提示, 妊娠早期 FHS 对 PBMC 的转化活性随着妊娠的发展而呈现降低趋势, 各相邻实验组之间无显著差异, 但是与妊娠后期 FS 对照组的转化活性相比较时均存在显著差异, 且刺激指数(SI)均低于妊娠后期 FS 对照组。

表 2 妊娠天数对 PBMC 转化活性影响的测定结果(LSD 法)

Table 2 Tested results of pregnant day on proliferation effect of PBMC(LSD Method)

妊娠天数/d Pregnant days	刺激指数(SI) Stimulation index $\bar{x}_i$ (SI)	$\bar{x}_i$ 1.3951	$\bar{x}_i$ 1.4952	$\bar{x}_i$ 1.6426	$\bar{x}_i$ 1.7856	$\bar{x}_i$ 1.7976
130	2.4250	1.0299 **	0.9298 **	0.7824 **	0.6394 **	0.6274 **
20	1.7976	0.4025 **	0.3024 **	0.1550	0.0120	
30	1.7856	0.3905 **	0.2904 **	0.1430		
40	1.6426	0.2475 *	0.1474			
50	1.4952	0.1001				
60	1.3951					

2.1.3 自发增殖组与诱发增殖组转化效果的比较 由表 4 结果可知, 不论妊娠天数大小, FHS, FS 组与 FHS, FS+PHA-P 组在 PBMC 转化增殖的效果上均存在着显著差异( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), FHS, FS+PHA-P 组的刺激指数明显高于 FHS, FS 组, 表明 FHS, FS 与 PHA-P 在促进 PBMC 转化增殖方面具有协同作用。

### 2.2 IL 4 水平检测结果

FHS, FS 在浓度为  $1 \times 10^{-4}$  mg/mL 时转化效果较好, 故对该浓度下各 FHS 及 FS 的 IL 4 水平进行测定。从图 1 可看出, 妊娠早期各实验组胎儿的 IL 4 水平与妊娠 130 d FS 对照组的 IL 4 水平相比较时均较高, 且妊娠早期 FHS 的 IL 4 水平随着妊娠的发展呈上升变化。FHS 的 IL 4

水平较同期转化后 FHS 的 IL 4 水平稍高, 而与同期转化后 FHS+PHA P 的 IL 4 水平相近, 但由表 4 检验结果可知, 这三者之间差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。实验结果提示, 妊娠早期, 胎儿体内

的 IL 4 的水平随妊娠的发展呈现上升的趋势, 但到了妊娠的后期, 胎儿体内的 IL 4 水平却有所降低。

表 3 自发增殖组与诱发增殖组转化效果的差异性比较( $t$  检验)

Table 3 The comparison of the transformation effect between spontaneous group and induced group( $t$  test)

妊娠天数/d Pregnant day		刺激指数(SI) Stimulation index (SI) ( $\bar{x} \pm SD$ ) 浓度 ( $mg \cdot mL^{-1}$ ) Concentration						$t$ 检验 $t$ test
		$1 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-4}$	$1 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-2}$	$1 \times 10^{-1}$	
20	FHS	1.871±0.027	1.943±0.031	1.986±0.007	1.757±0.010	1.543±0.009	1.686±0.024	$P < 0.05$
	FHS+PHA P	2.233±0.015	2.332±0.013	2.356±0.002	1.967±0.010	1.830±0.022	1.938±0.024	
30	FHS	1.871±0.008	1.886±0.010	1.928±0.019	1.843±0.008	1.743±0.043	1.443±0.010	$P < 0.05$
	FHS+PHA P	2.200±0.011	2.186±0.009	2.343±0.024	2.157±0.024	1.971±0.008	1.757±0.011	
40	FHS	1.572±0.013	1.886±0.014	1.814±0.037	1.571±0.014	1.743±0.020	1.271±0.014	$P < 0.05$
	FHS+PHA P	1.700±0.017	2.143±0.050	2.200±0.012	1.786±0.013	1.928±0.010	1.800±0.014	
50	FHS	1.571±0.010	1.686±0.011	1.657±0.015	1.271±0.024	1.500±0.031	1.286±0.013	$P < 0.05$
	FHS+PHA P	1.743±0.015	1.914±0.011	1.871±0.021	1.543±0.018	1.828±0.010	1.586±0.016	
60	FHS	1.486±0.012	1.500±0.010	1.614±0.025	1.243±0.013	1.214±0.031	1.314±0.017	$P < 0.01$
	FHS+PHA P	1.728±0.018	1.786±0.011	1.814±0.017	1.671±0.035	1.714±0.014	1.486±0.012	
130	FS	2.211±0.014	2.935±0.011	2.848±0.010	2.216±0.021	2.232±0.016	2.108±0.010	$P < 0.05$
	FS+PHA P	2.453±0.025	3.202±0.013	3.084±0.034	2.447±0.012	2.466±0.008	2.389±0.017	

注: FHS: 胎儿匀浆上清液; FS: 胎儿血清。

Note: FHS: Fetal Homogenate Supernatant; FS: Fetal serum.

表 4 IL 4 水平测定结果

Table 4 Tested results of IL 4 level

实验组 Test group	IL 4 水平(SI) IE 4 level(SI) ( $\bar{x} \pm SD$ ) 妊娠天数/d Pregnant days						$t$ 检验 $t$ test
	20	30	40	50	60	130	
A	1.602±0.012	1.634±0.024	1.641±0.031	1.685±0.011	1.734±0.018	1.443±0.016	PAB> 0.05
B	1.763±0.023	1.812±0.017	1.827±0.021	1.856±0.022	1.872±0.012	1.517±0.013	PAC> 0.05
C	1.741±0.015	1.785±0.008	1.858±0.010	1.862±0.009	1.926±0.024	1.546±0.007	PBC> 0.05

注: A: FHS, FS 转化后的上清液; B: FHS, FS; C: FHS, FS+PHA P 转化后的上清液。

Note: A: FHS, FS after transformation; B: FHS, FS; C: FHS, FS+PHA P after transformation.

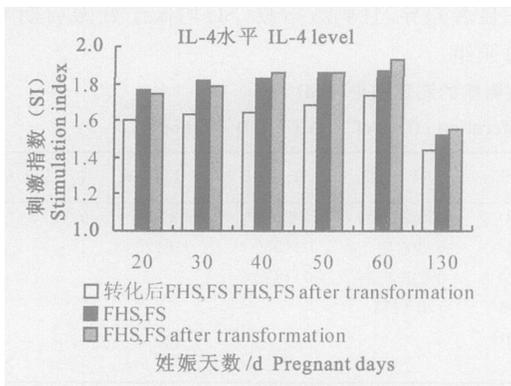


图 1 IL 4 水平测定结果

Fig. 1 Tested results of IL 4 level

### 3 讨论

孕体在妊娠免疫反应的调节中发挥着重要作用。孕体可分泌多种细胞因子和激素, 通过刺激母体子宫内膜细胞或直接作用于子宫内膜免疫活

性细胞, 参与子宫局部免疫的调节。众多研究表明, 妊娠后子宫和胚胎分泌物所产生的局部免疫调节是胚胎不被母体免疫排斥的主要机制。Heap<sup>[7]</sup> 等认为胚胎的分泌物对子宫内膜具有重要的调节作用。妊娠早期的胚胎能够通过 IL 4、IL 5、IL 6 和 IL 11 等 Th2 型细胞因子的局部分泌, 来保持胚胎生长发育的最适状态。IL 4 主要由 Th2 型细胞产生, 属于维持妊娠的主要细胞因子, 可抑制 Th1 型免疫反应, 辅助胎儿的存活。在整个妊娠期很容易检测到 IL 4 的存在。据研究, IL 4 可以刺激胎盘生长, 防止 NK 细胞对滋养层细胞的损伤, 因而有利于胚胎附植。IL 4 的早期出现是诱导 Th0 型细胞向 Th2 型分化重要的激发因子<sup>[8]</sup>, 从而使免疫应答走向细胞免疫抑制<sup>[9]</sup>。IL 4 是山羊胚胎附植等生殖环节重要的调节物质, 也是参与妊娠子宫局部免疫抑制的主要细胞因子<sup>[10]</sup>。此外, 在正常妊娠早期呈现 IL 4

表达相对增加而 IFN- $\gamma$  表达相减少的趋势<sup>[12, 13]</sup>, 这有助于强化 Th2 型免疫优势, 有助于维持妊娠<sup>[11]</sup>。由此可见, 正常妊娠早期的 Th2 型免疫优势随妊娠进展不断强化, 从而使母胎界面 Th1 型/Th2 型免疫平衡始终保持在最有利于妊娠维持的 Th2 型免疫偏离状态<sup>[14]</sup>。

本试验结果表明, FHS 的蛋白质浓度对 PBMC 转化活性的影响起着重要作用, FHS 浓度在  $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-5}$  mg/mL 时对 PBMC 的转化效果最好。在转化过程中, PHA-P 与 FHS 起协同作用, 其作用明显高于 FHS 单独作用于 PBMC 的效应。妊娠早期, FHS 对 PBMC 的转化活性随着妊娠的发展而呈现降低趋势, 而此时胎儿体内的 IL 4 的水平却呈现上升的趋势, 说明胎儿体内 IL 4 的变化影响着 PBMC 的转化活性, 二者之间呈负相关关系; 妊娠 130 d FS 对照的转化活性显著高于妊娠早期各组, 而其 IL 4 水平稍低于妊娠早期各组, 该结果说明了妊娠后期 Th1 型细胞因子开始占居主导地位, 其妊娠后期转化活性的增强可能与 Th1/Th2 型细胞因子的比例变化有关。由于正常妊娠早期主要是 Th2 型细胞因子在起作用, 因此可以说明, 随着妊娠的发展, 妊娠早期 PBMC 转化活性的下降与胎儿 IL 4 水平上升之间有必然联系, 可能是 IL 4 发挥免疫抑制作用的结果, 表明妊娠早期, 胎儿体内的 IL 4 可能在母体子宫局部免疫中发挥着免疫抑制作用, 进而说明, 妊娠早期胎儿自身可能通过分泌一些对妊娠起维持作用的 Th2 型细胞因子, 从而在母体子宫局部免疫中发挥着免疫抑制作用, 使其自身不被母体排斥, 使妊娠能够顺利进行。

#### 参考文献:

- [1] 靳亚平, 王爱华, 王建辰. 母胎间的免疫学关系[J]. 动物医学进展, 2000, 21: 84~86.
- [2] Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, *et al.* Synthesis of T helper 2 type cytokines at the maternal fetal interface[J]. J Immunol 1993, 4562~4573.
- [3] Alexey Y, Karulin, Maik D, *et al.* Indirect IL 4 Pathway in Type 1 Immunity[J]. J Immunol 2002, 168: 545~553.
- [4] 廖琼, 刘翔. 羊膜匀浆上清液对兔角膜上皮细胞增殖的影响[J]. 眼科新进展, 2004, 24: 264~265.
- [5] 王爱华, 靳亚平, 武浩. 猪 PBMC 产生 IL 2 最适条件的探讨[J]. 西北农业学报, 2000, 9(3): 9~11.
- [6] 郭松林, 谏南辉, 易道生. 鸭淋巴细胞转化试验(MTT法)最佳条件的研究[J]. 江西农业大学学报, 2003, (1): 126~129.
- [7] Heap. Role of embryonic signals in the establishment of pregnancy[J]. Br Med Bull, 1979, 35: 129~135.
- [8] Paliard X, Malelijit RP, Yssel H, *et al.* Simultaneous production of IL 2, IL 4 and IFN $\gamma$  by activated human CD4+ and CD8+ T cell clones[J]. J Immunol 1988, 141: 149.
- [9] 陈声林, 熊思东. 口服耐受机制的研究进展[J]. 上海免疫学杂志, 2000, 20(3): 187.
- [10] 沈文正. CD58 及孕酮对妊娠山羊子宫内膜淋巴细胞分泌活动的影响[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2001.
- [11] 朱晓勇, 李大金, 孙晓溪, 等. 协同刺激分子 CD86 在母胎免疫调节中的作用——中国免疫学会第二届青年学术会议论文集[C]. 北京, 2000.
- [12] Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, *et al.* Bidirectional cytokine interactions in the maternal fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon[J]. Immunity Today, 1993, 14: 353.
- [13] Marzi M, Viganò A, Trabattini D, *et al.* Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic human pregnancy[J]. Cj in Exp Immunol, 1996, 106(1): 127.
- [14] Raghupathy R, Makhseed M, Azizieh F, *et al.* Cytokine production by maternal lymphocytes during normal human pregnancy and in unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. Hum Reprod, 2000, 15(3): 713~718.