

小鼠子宫内膜细胞对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 转化与分泌活性的影响

周丽梅, 贺亚媚, 牛雅静, 付胜勇, 靳亚平

(西北农林科技大学 动物医学院, 农业部家畜生殖内分泌与胚胎工程重点开放实验室, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] **【目的】**探索小鼠子宫内膜细胞培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊外周血单个核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC)的转化及分泌活性的影响。**【方法】**采用噻唑蓝(MTT)比色法和酶联免疫吸附测定法(ELISA), 分别研究小鼠子宫内膜上皮细胞(Endometrial Epithelial Cells, EECs)和基质细胞(Endometrial Stromal Cells, ESCs)培养上清液, 对离体培养的小鼠脾脏淋巴细胞、山羊外周血单个核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC)的增殖转化及白细胞介素2(Interleukin-2, IL-2)和白细胞介素4(Interleukin-4, IL-4)分泌活性的影响。**【结果】**小鼠子宫内膜基质细胞和上皮细胞培养上清液, 均可无种属差异地刺激小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 的增殖转化, 同时抑制植物血凝素(Plant hemagglutinin PHA-P)诱导的小鼠淋巴细胞和山羊 PBMC 分泌 IL-2 的活性, 但对 PHA-P 诱导的 IL-4 分泌有促进或协同作用。**【结论】**EECs 和 ESCs 通过影响小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 的增殖转化与分泌活性, 优势活化 Th2 型淋巴细胞, 在子宫局部免疫调节中发挥重要作用。

[关键词] 子宫内膜细胞; 淋巴细胞; 外周血单个核细胞(PBMC); 白细胞介素-2; 白细胞介素-4; 小鼠; 山羊

[中图分类号] Q813.1⁺1; Q492.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)01-0001-05

Effects of supernatant of mouse endometrial cells on proliferation and secretion activity of mouse spleen lymphocyte and goat PBMC

ZHOU Li-mei, HE Ya-mei, NIU Ya-jing, FU Sheng-yong, JIN Ya-ping

(Key Laboratory of Animal Reproductive Endocrinology and Embryo Biotechnology of Agriculture Ministry of China, College of Animal Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** The study was done to explore the effects of endometrial cells on proliferation and secretion activity of Mouse Spleen Lymphocyte and Goat PBMC the way of paracrine. **【Method】** We studied the effects of the mouse endometrial epithelial cells (EECs), stromal cells (ESCs) culture supernatant on proliferation and secretion activities of IL-2 and IL-4 *in vitro* cultured mouse spleen lymphocyte, goat PBMC by MTT colorimetric test and ELISA method. **【Result】** The supernatant from both the EECs and the ESCs could stimulate the proliferation of mouse spleen lymphocytes and goats PBMC and induce the secretion of IL-2 and IL-4, while inhibit the proliferation and IL-2 secretion of mouse spleen lymphocytes and goats PBMC induced by PHA-P, but enhance IL-4 secretion induced by PHA-P. **【Conclusion】** The results revealed that EECs and ESCs affect the activation and secretion of mouse spleen lymphocytes and goat PBMC, predominantly the Th2 lymphocytes, in a paracrine way, thus play an important role in local uterine immune regulation.

* [收稿日期] 2009-05-20

[基金项目] 陕西省科技发展项目(2008K02-01); 西北农林科技大学博士点基金项目(200807120022)

[作者简介] 周丽梅(1982—), 女, 陕西铜川人, 在读硕士, 主要从事家畜生殖内分泌与生殖免疫学研究。
E-mail: zhoulimei13140106@163.com

[通信作者] 靳亚平(1966—), 男, 陕西宝鸡人, 教授, 博士生导师, 主要从事兽医产科学与家畜生殖内分泌研究。
E-mail: yapingjin@163.com

Key words: uterus endometrial cell; lymphocyte; Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC); Interleukin-2; Interleukin-4; mouse; goat

长期以来,胎儿被认为是一种自体移植物,但令人困惑的是,妊娠的建立和维持无法用经典的移植免疫耐受或肿瘤免疫逃逸理论来解释。由于母体激素的作用,很多可溶性免疫介质和免疫细胞聚集在哺乳动物的生殖道内,它们不仅没有引起强烈的免疫排斥反应,反而可以维持和促进正常的月经周期、胚胎植入和胎儿发育。正常妊娠过程中,母体能通过免疫调节系统有效地制约母体对胎儿产生的排斥反应,使母胎界面产生多种免疫因子,有助于胎盘生长和发育,使整个妊娠过程得以顺利完成;若机体免疫系统调节功能紊乱,则导致病理妊娠。

子宫是雌性哺乳动物重要的生殖器官,是孕育胎儿的重要场所,也是重要的内分泌器官^[1]。子宫内膜作为胚胎附植的场所,是母体和胚胎进行信息交换的重要组织。子宫内膜通过合成和分泌多种细胞因子,参与到免疫-神经-内分泌三大网络系统中。了解子宫内膜对局部免疫调节的影响,对预防病理性妊娠具有重要意义。本试验探讨了小鼠子宫内膜细胞培养上清液对小鼠淋巴细胞和山羊外周血单个核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC)的增殖转化作用,以及其对白细胞介素 2 (Interleukin-2, IL-2) 和白细胞介素 4 (Interleukin-4, IL-4) 分泌活性的影响,旨在揭示子宫内膜细胞通过旁分泌对淋巴细胞和外周血单个核细胞的作用机制,为进一步了解子宫内膜细胞在局部免疫调节中的作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 18~22 g 雌性昆明系小鼠,购自第四军医大学实验动物中心,临床检查健康;8 月龄奶山羊,购自陕西杨凌养殖户,临床检查健康。

1.1.2 主要试剂 D-MEM/F-12 和 RPMI1640, Gibco 公司;胰蛋白酶,上海生工;胶原酶 II, Gibco 公司;MTT 和 PHA-P, Sigma 公司;ELISA 试剂盒,北京晶美生物工程有限公司;胎牛血清(FCS),杭州四季青公司;淋巴细胞分离液,中国医学科学院生物工程研究所。

1.1.3 主要仪器 96 孔细胞培养板, Costar 公司;离心机, Sigma 公司;超净工作台, 苏净集团安泰公司;组织培养倒置显微镜, Nikon 公司;恒温培养箱,

上海福玛试验设备有限公司;超低温冰箱, U410-86, New brunswick;电泳仪, DYY-III 型, 北京六一仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 小鼠腺上皮细胞与基质细胞培养上清液的制备 采用文献[2]的方法,分离制备小鼠腺上皮细胞(Endometrial Epithelial Cells, EECs)和基质细胞(Endometrial Stromal Cells, ESCs)培养上清液,台盼兰拒染色法检测活性,计数,用含质量分数 10% 胎牛血清的 D-MEM/F-12 培养液调整活细胞密度为 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 。待细胞长至铺满皿底 80% 时,连续 3 d 吸取细胞培养上清液混合, -80°C 保存待用。

1.2.2 小鼠脾脏淋巴细胞的分离 将小鼠颈椎脱臼处死,无菌采集脾脏,超净工作台内去膜、清洗、剪碎,置孔径为 $74\ \mu\text{L}$ 的细胞筛上用注射器推塞轻轻挤压,过细胞筛,用 PBS(KCl 0.20 g、 KH_2PO_4 0.20 g、NaCl 8.00 g、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 2.88 g, 调 pH 至 7.2~7.4, 定容至 1 000 mL, 115°C 高压灭菌 20 min)清洗稀释后,采用淋巴细胞分离液分离淋巴细胞, PBS 清洗 3 次,取含质量分数 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液悬浮细胞,台盼兰拒染色法检测活性,计数,用 RPMI1640 培养液调整活细胞密度为 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 。

1.2.3 山羊 PBMC 的分离 山羊颈静脉无菌采血 10 mL,用质量分数 1% 的肝素抗凝,用淋巴细胞分离液分离,将分离的淋巴细胞用 5 倍体积的 D-Hank's 液洗涤 2 次,最后用无血清 RPMI1640 培养液洗涤 1 次,取含质量分数 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液悬浮细胞,台盼兰拒染色法检测活性,计数,用 RPMI1640 培养液调整活细胞密度为 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 。

1.2.4 EECs、ESCs 对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 增殖转化的影响 按表 1 的试验分组设计接种细胞于 96 孔细胞培养板, 37°C 、体积分数 5% CO_2 培养箱中培养 66 h,进行 MTT 试验,以空白组调零,测量各孔 OD_{570} 值,计算刺激指数($SI = \text{试验孔 } \text{OD}_{570} \text{ 值} / \text{阴性对照孔 } \text{OD}_{570} \text{ 值}$)。

1.2.5 ESCs、EECs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 分泌活性的影响 按 1.2.4 介绍的方法进行分组培养,于培养 66 h 收集细胞培养上清, $2\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 20 min,吸取上清液,按照

ELISA 试剂盒说明书进行操作,以空白组调零,于 450 nm 下测定各孔 OD₄₅₀ 值。

1.2.6 数据的统计分析 数据采用 SPSS16.0 软件进行单因素方差分析。

表 1 试验分组设计

Table 1 Experiment design in groups

组 别 Group	鼠脾淋巴细胞 或山羊 PBMC Splenic lymphocytes of mouse or PBMC of goat	RPMI1640 培养液 RPMI1640 medium	EECs 或 ESCs 培养上清液 Medium supernatant of EECs or ESCs	PHA-P (200 μg/mL)
空白组 The black group	—	200	—	—
阴性对照组 Negative group	100	100	—	—
PHA-P 阳性对照组 Control group of PHA-P	100	50	—	50
培养上清液单独培养组 The alone culture group of Medium supernatant	100	50	50	—
培养上清液与 PHA-P 混合培养组 The mixed culture group of Medium supernatant and PHA-P	100	—	50	50

2 结果与分析

2.1 EECs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 增殖转化的影响

从表 2 可以看出,与阴性对照组相比,EECs 培养上清液可极显著刺激小鼠脾脏淋巴细胞的增殖转化($P<0.01$);与 PHA-P 阳性对照组相比,EECs 培

养上清液极显著降低了小鼠脾脏淋巴细胞的增殖转化($P<0.01$);EECs 培养上清液与 PHA-P 混合作用时,其对小鼠脾脏淋巴细胞增殖转化的刺激作用极显著低于 PHA-P 阳性对照组及 EECs 上清液组($P<0.01$)。EECs 培养上清液对山羊 PBMC 的增殖转化作用与其对小鼠脾脏淋巴细胞的作用相似。

表 2 EECs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 增殖转化的影响($n=6$)

Table2 Effects of the EECs supernatant on mice splenic lymphocyte and goat PBMC proliferation($n=6$)

组 别 Group	SI	
	小鼠脾脏淋巴细胞 Splenic lymphocytes of mouse	山羊 PBMC PBMC of goat
阴性对照组 Negative group	1.049±0.006 Aa	1.067±0.018 Aa
PHA-P 阳性对照组 Control group of PHA-P	1.267±0.015 Bb	1.216±0.006 Bb
EECs 培养上清液 Medium supernatant of EECs	1.144±0.009 Cc	1.164±0.004 Cc
EECs 培养上清液+PHA-P Medium supernatant of EECs & PHA-P	1.097±0.012 Ad	1.104±0.010 Ad

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$)。下表同。

Note: Values in each line with different lower case superscripts differ at $P<0.05$, and with different capital superscripts differ at $P<0.01$.

The following table is same.

2.2 ESCs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 增殖转化的影响

从表 3 可以看出,与阴性对照相比,ESCs 培养上清液可极显著刺激小鼠淋巴细胞的增殖转化($P<0.01$);与 PHA-P 阳性对照组相比,ESCs 培养上清液可显著降低刺激指数($P<0.05$);ESCs 培养

上清液与 PHA-P 混合作用时,其对小鼠脾脏淋巴细胞增殖转化的刺激作用极显著低于 PHA-P 阳性对照组及 ESCs 培养上清液组($P<0.01$)。ESCs 培养上清液对山羊 PBMC 的增殖转化作用与其对小鼠脾脏淋巴细胞的作用相似。

表 3 ESCs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 增殖转化的影响($n=6$)

Table 3 Effects of the ESCs medium supernatant on mice splenic lymphocyte and goat PBMC proliferation ($n=6$)

组 别 Group	SI	
	小鼠脾脏淋巴细胞 Splenic lymphocytes of mouse	山羊 PBMC PBMC of goat
阴性对照组 Negative group	1.060±0.007 Aa	1.059±0.010 Aa
PHA-P 阳性对照组 Control group of PHA-P	1.154±0.004 Bb	1.208±0.003 Bb
ESCs 培养上清液 Medium supernatant of ESCs	1.137±0.003 Bc	1.177±0.004 Cc
ESCs 培养上清液+PHA-P Medium supernatant of ESCs & PHA-P	1.084±0.007 Dd	1.103±0.003 Dd

2.3 EECs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 分泌活性的影响

从表 4 可以看出,与阴性对照组相比,EECs 培养上清液可极显著提高小鼠 IL-4 的分泌活性($P<0.01$),但其对 IL-2 分泌活性的影响不显著($P>0.05$);与 PHA-P 阳性对照组相比,EECs 培养上清液使 IL-4 的分泌活性极显著降低($P<0.01$),使 IL-2 的分泌活性显著降低($P<0.05$);EECs 培养上清

液与 PHA-P 混合作用时,其对 IL-2 的分泌活性有抑制作用,IL-2 分泌活性显著低于 PHA-P 阳性对照组($P<0.05$),但其对 IL-4 的分泌活性有协同刺激作用,IL-4 分泌活性显著高于 PHA-P 阳性对照组($P<0.05$),极显著高于 EECs 培养上清液组($P<0.01$)。EECs 培养上清液对山羊 PBMC 分泌功能的影响与其对小鼠脾脏淋巴细胞的作用相似。

表 4 EECs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 分泌活性的影响($n=3$)

Table 4 Effects of the EECs medium supernatant on mice splenic lymphocyte and goat PBMC function in the secretion ($n=3$)

组别 Group	OD ₄₅₀			
	小鼠脾脏淋巴细胞 Splenic lymphocytes of mouse		山羊 PBMC PBMC of goat	
	IL-2	IL-4	IL-2	IL-4
阴性对照组 Negative group	0.088±0.007 Aa	0.091±0.009 Aa	0.078±0.007 Aa	0.089±0.001 Aa
PHA-P 阳性对照组 Control group of PHA-P	0.117±0.024 Ab	0.119±0.018 Bb	0.113±0.011 Bb	0.121±0.005 Bb
EECs 培养上清液 Medium supernatant of EECs	0.099±0.011 Aa	0.105±0.014 Cc	0.089±0.011 Aa	0.096±0.012 Cc
EECs 培养上清液+PHA-P Medium supernatant of EECs & PHA-P	0.106±0.009 Ad	0.125±0.008 Bd	0.102±0.018 Bd	0.131±0.004 Bd

2.4 ESCs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 分泌活性的影响

从表 5 可以看出,与阴性对照相比,ESCs 培养上清液可极显著提高小鼠 IL-4 的分泌活性($P<0.01$),但对 IL-2 的分泌活性影响不显著($P>0.05$);与 PHA-P 阳性对照组相比,ESCs 培养上清液使 IL-2 与 IL-4 的分泌活性极显著降低($P<0.01$);ESCs 培养上清液与 PHA-P 混合作用时,其

对 IL-2 的分泌活性有抑制作用,IL-2 分泌活性极显著低于 PHA-P 阳性对照组($P<0.01$),但对 IL-4 的分泌起协同刺激作用,IL-4 分泌活性显著高于 PHA-P 阳性对照组($P<0.05$),极显著高于 EECs 培养上清液组($P<0.01$)。ESCs 培养上清液对山羊 PBMC 分泌功能的影响与其对小鼠脾脏淋巴细胞的作用相似。

表 5 ESCs 培养上清对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 分泌活性的影响($n=3$)

Table 5 Effects of the ESCs medium supernatant on mice splenic lymphocyte and goat PBMC function in the secretion ($n=3$)

组别 Group	OD ₄₅₀			
	小鼠脾脏淋巴细胞 Splenic lymphocytes of mouse		山羊 PBMC PBMC of goat	
	IL-2	IL-4	IL-2	IL-4
阴性对照组 Negative group	0.087±0.009 Aa	0.087±0.008 Aa	0.088±0.014 Aa	0.089±0.01 Aa
PHA-P 阳性对照组 Control group of PHA-P	0.106±0.003 Bb	0.115±0.011 Bb	0.109±0.003 Bb	0.116±0.013 Bb
ESCs 培养上清液 medium supernatant of ESCs	0.096±0.002 Aa	0.104±0.009 Cc	0.099±0.001Aa	0.098±0.021 Ac
ESCs 培养上清液+PHA-P medium supernatant of ESCs & PHA-P	0.091±0.001 Aa	0.127±0.014 Bd	0.092±0.012 Aa	0.121±0.014 Bd

3 讨论

子宫是雌性哺乳动物重要的生殖器官,是孕育胎儿的重要场所,同时又是一个重要的内分泌器官。子宫内膜是卵巢激素作用的靶组织,在生殖生理研究中占有重要地位。正常的子宫内膜由单层柱状上皮细胞和固有层组成,上皮细胞具有抗原递呈作用,可作为运输通道将粘膜下的 IgA 和 IgG 运送到子

宫腔^[3]。子宫内膜细胞表达 toll 样受体,不仅能上调调节细胞的抗病毒能力,而且还可探测潜在的病原菌并诱导杀菌剂的产生,如粘液、防御素、白细胞蛋白酶抑制剂等^[4-5]。子宫内膜腺上皮细胞还可以通过可溶性分子调节子宫局部免疫应答。Rao 等^[6]将子宫内膜细胞混悬液和子宫内膜上皮细胞分别与 PBMC 共培养,结果发现二者均可抑制由 ConA 和抗原引起的淋巴细胞增殖,因此认为起这种抑制作

用的主要是上皮细胞。Lok Sze Ho 等^[7]将子宫内膜上皮细胞与 PBMC 共培养时发现,子宫内膜上皮细胞可使 PBMC 在培养 4 d 后比单独培养的 PBMC 细胞活率提高 72.5%。本试验研究了小鼠 EECs 培养上清液对小鼠脾脏淋巴细胞及山羊 PBMC 的增殖转化作用,结果表明,小鼠 EECs 培养上清液能够显著提高小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 的增殖转化率,这一结果与上述 Lok Sze Ho 等^[7]发现的上皮细胞的作用类似。小鼠 EECs 培养上清液能显著抑制由 PHA-P 诱导的小鼠淋巴细胞和山羊 PBMC 的增殖,这与上述 Rao 等^[6]提到的上皮细胞的功能完全一致。ESCs 对小鼠脾脏淋巴细胞和山羊 PBMC 的增殖转化和分泌活性的影响作用相似,提示子宫内膜基质细胞可以通过一些可溶性因子与上皮细胞相作用^[8-10]。

根据分泌细胞因子的不同,可将 Th 细胞(CD₄⁺辅助细胞)分为 Th1 和 Th2 2 个功能性亚群。Th1 型细胞因子对妊娠组织具有细胞毒效应。Th2 型细胞可分泌 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10 等细胞因子,Th2 细胞分泌的这些细胞因子对妊娠具有免疫营养作用,有利于妊娠。Th1/Th2 2 个细胞亚型相互制约,决定着机体细胞免疫与体液免疫间的平衡。在正常妊娠期,子宫局部 Th1/Th2 比例发生倒置,而多种流产现象中均伴随有 Th1 型细胞因子含量的升高^[11]。Nan 等^[12]研究了大鼠和小鼠种间胚胎移植模型,结果证明,Th1 和 Th2 型细胞因子比例的偏移是异种妊娠障碍的主要原因。

本试验发现,小鼠脾脏淋巴细胞以及山羊 PBMC 经 PHA-P 刺激后,Th1、Th2 型细胞因子 IL-2、IL-4 分泌活性均升高,与阴性对照组相比差异显著;EECs 或 ESCs 培养上清液单独作用均能刺激 IL-2 和 IL-4 的分泌,但对 IL-4 的刺激作用达极显著水平;EECs(ESCs)培养上清液与 PHA-P 混合作用时,可抑制 PHA-P 诱导的 IL-2 的分泌,而促进 PHA-P 诱导的 IL-4 的分泌。提示 EECs 和 ESCs 对免疫细胞的作用是非特异的,可能主要刺激淋巴细胞和 PBMC 中 Th2 型细胞的活化和分泌功能,而抑制由抗原诱导的 Th1 型淋巴细胞的转化,但这些作用在小鼠、山羊之间没有种属差异。该结果表明,子宫内膜细胞在子宫局部内分泌-免疫调节中具有重要作用,而这种特性可能对胚胎附植有重大意义。

[参考文献]

- [1] Fallarino F, Grohmann U, Hwang K W, et al. Modulation tryptophan catabolism by regulatory T cells [J]. Nat Immunol, 2003, 4(12): 1206-1212.
- [2] 吴庆侠, 丰艳妮, 楚元奎, 等. 山羊子宫内膜基质细胞的分离培养及鉴定 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(4): 11-14.
Wu Q X, Feng Y N, Chu Y K, et al. Isolation, culture and identification of goat endometrium stromal cells [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2007, 35(4): 11-14. (in Chinese)
- [3] Wira C R, Sandoe C P. Specific IgA and IgG antibodies in the secretions of the female reproductive tract: effects of immunization and estradiol on expression of this response *in vivo* [J]. J Immunol, 1987, 138: 4159-4164.
- [4] Schaefer T M, desouza K, Fahey J V, et al. Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production by human uterine epithelial cells [J]. Immunology, 2004, 112: 428-436.
- [5] Schaefer T M, Fahey J V, Wright J A, et al. Innate immunity in the human female reproductive tract: antiviral response of uterine epithelial cells to the TLR3 agonist poly(I:C) [J]. J Immunol, 2005, 174: 992-1002.
- [6] Rao H Prabhala, John V Fahey, Shirley L Humphrey, et al. Regulation by human uterine cells of PBMC proliferation: influence of the phase of the menstrual cycle and menopause [J]. Journal of Reproductive Immunology, 1998, 40: 25-45.
- [7] Lok Sze Ho, Lai Ling Tsang, Yiu Wa Chung, et al. Establishment of a mouse primary co-culture of endometrial epithelial cells and peripheral blood leukocytes: Effect on epithelial barrier function and leukocyte survival [J]. Cell Biology International, 2006, 30: 977-982.
- [8] Grant C R, Wira C R. Effect of mouse uterine stromal cells on epithelial cell transepithelial resistance (TER) and TNF- and TGF-release in culture [J]. Biology of Reproduction, 2003, 69: 1091-1098.
- [9] Cooke P S, Buchanan D L, Young P, et al. Stromal estrogen receptors mediate mitogenic effects of estradiol on uterine epithelium [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 6(4): 6535-6540.
- [10] Emilia P, Minici F, Alesiani O, et al. Stromal-Epithelial interactions modulate estrogen responsiveness in normal human endometrium [J]. Biology of Reproduction, 2001, 64: 831-838.
- [11] Chaouat G, Dubanchet S, Ledée N. Cytokines: Important for implantation? [J]. J Assist Reprod Genet, 2007, 24: 491-505.
- [12] Nan C L, Lei Z L, Zhao Z J, et al. Increased Th1/Th2 (IFN- γ /IL-4) cytokine mRNA ratio of rat embryos in the pregnant mouse uterus [J]. J Reprod Dev, 2007, 53: 219-228.