

수태중인 생쥐에 있어서 림프구아형 및 자연살해세포 활성도의 변화

연세대학교 이과대학 생물학과, *건국대학교 의과대학 해부학교실

신주옥[†] · 고기석* · 최임순

국문초록: 수태기간중 태아가 모체에 의해 면역학적으로 거부반응을 일으키지 않고 동종이식 상태로 유지되는 기작을 밝히는 연구의 일환으로 C3H/HeJ계의 암컷 생쥐와 DBA/2계의 수컷 생쥐를 교배하여 모체에서 발생하는 체계적인 면역기능 및 국소적 면역기능현상에 대하여 연구하고자 수태기간별로 비장 및 자궁으로 들어가는 림프절에서 T세포 및 B세포의 아형을 측정하였고 자연살해세포의 활성도를 측정하였다. 또한 수태혈청 및 수태성 호르몬이 자연살해세포의 활성도에 미치는 영향을 알아보았다. 각 수태기간별로 비장세포에 있어서 T세포와 B세포의 아형을 관찰한 결과, Thy-1.2*세포는 수태기간중 중기 이후에 감소하기 시작하여 수태 4기에는 대조군에 비하여 유의하게 감소하였으며 수태말기에는 회복하였다. L3T4*세포도 Thy-1.2* 세포와 비교하여 비슷한 경향으로 감소 또는 증가하였다. Ly2*세포는 수태중기 이후부터 대조군에 비하여 유의하게 증가하였으며, B세포는 수태중기 이후부터 수태말기까지 계속 증가하였다. 비장에 있어서 자연살해세포의 세포독성은 수태 5일에서 수태 8일 사이에 가장 증가하였으며 그 이후는 대조군 수준으로 감소하였다. 정상혈청 및 수태혈청의 자연살해세포의 세포독성에 대한 영향을 수태시기별로 조사한 결과, 정상혈청과 수태혈청 모두 자연살해세포의 세포독성을 유의하게 억제하였으며, Progesterone은 시험관내 실험과 생체내 실험 모두 약리적인 농도이상에서 농도에 의존적으로 자연살해세포의 세포독성을 증가시켰으며, HCG는 5 unit/ml에서 5000 unit/ml까지 처리농도에 비례하여 자연살해세포의 세포독성을 억제하였다. 자궁으로 들어가는 림프절에서 T세포의 아형은 Thy-1.2*세포는 수태 2기부터 증가하여 대조군보다 유의하게 증가하였으며, L3T4*세포의 유의한 변화없이 Ly2*세포가 수태 2기 이후부터 대조군에 비하여 유의하게 증가하였고 분만 직전에는 조금 감소하였다. 자궁으로 들어가는 림프절에서의 자연살해세포의 세포독성은 착상직후 대조군에 비하여 유의하게 증가하였으며, 수태중기와 수태후기에도 대조군에 비하여 세포독성이 증가하였으며, 같은시기의 비장세포의 자연살해세포의 세포독성보다 높게 나타났다.

서 론

척추동물에 있어서 수태의 성공은 오랜동안 진화를 거듭해 오는 지금까지도 여전히 면역학적으로 이해하기 어려운 현상으로 남아있다. 태아와 모체는 주요 조직적합 항원(major histocompatibility antigen, MHC Ag)이 서로 다르지만 모체가 태아에 대해서 면역학적 거부반응을 일으키

지 않고 동종이식 상태로 수태기간동안 계속 유지되는 사실에 대하여 수태기간동안 많은 연구자들에 의해서 많은 가설들이 발표되어 왔으나 아직까지도 그 정확한 기작에 대해서는 밝혀지지 않고 있다. 모체는 착상된 태아를 보호하기 위하여 여러가지 상호협동작용을 통하여 모체의 면역반응을 억제하는것으로 알려져 있는데 그 주요기작을 대체로 두가지로 나누어 볼수 있다. 첫째는, 수태로 인하여 모체에서 발생하는 다양한 생리적인 변화가 비특이적으로 모체의 면역반응을 억제한다고 보는 기작이며^{3,30)}, 두번째는 태아가 모체의 면역계로부터 스스로를 방어하는 것

* 논문접수 1996년 9월 24일, 수정재접수 1996년 11월 11일.

[†] 별책요청 저자

으로, 태아에서 유래된 세포들이 모체에 대하여 항원으로 작용하지 못하도록 항원의 발현기능을 조절하거나 또는 태아에 의해서 감작된 모체의 면역억제세포들이 작용할 수 없도록 하는 기작을 들 수 있다^{14,22,28)}. 수태기간중 나타나는 모체의 면역억제현상은 전체 면역계를 통하여 나타나는 체계적인 억제현상, 그리고 태아와 모체사이의 조직 (feto-maternal interface tissue)에서 나타나는 국소적인 면역억제현상등 두가지로 나눌수 있다. 모체의 체계적인 면역계의 억제현상은 수태중인 모체의 혈청에서 비특이적으로 작용하는 면역억제인자들 즉, pregnancy-associated protein인 pregnancy associated plasma protein-A³⁹⁾, pregnancy specific β_1 -glycoprotein³⁴⁾, pregnancy associated α_2 -macroglobulins²⁶⁾, α -fetoprotein²⁷⁾이 정상혈청보다 증가되어 있을 뿐만 아니라, chorionic gonadotrophin⁷⁾, estrogen²⁹⁾, progesterone¹¹⁾등의 호르몬도 수태유지에 필요한 생리적인 기능외에 면역억제기능을 나타내는 것으로 알려져 있다. 또한²¹⁾ Masson(1977) 등이 사람의 정상 산모혈청에서 여러 주요세포들의 작용을 방해할수 있는 면역복합체들이 증가되어 있다는 사실을 발견하였으며, 항이디오타입 항체가 임신한 사람의 혈청내에 생성되어 동종T세포의 수용체에 붙어서 이들의 작용을 억제할수 있다는 사실도 알려져 있다¹⁹⁾. 이러한 체액성면역에 의한 억제기능외에도 사람이나 수태중인 생쥐에서 세포매개성면역에 관여하는 여러 주요세포들 즉, T세포^{15,16)}, 자연살해세포⁹⁾, 항체의존성 살해세포와 대식세포¹⁶⁾ 및 호중성백혈구등의 기능이 저하되어 있다는 사실이 보고되었고¹⁰⁾, 이외에도 면역억제기능을 나타낼수 있는 Thy-1, IgM의 표현형을 가진 null 세포가 수태중인 생쥐의 비장에서 수태 중간시기부터 증가되는 사실도 보고된 바 있다²¹⁾.

따라서 본 연구는 태아가 모체에 의해 면역학적으로 거부반응을 일으키지 않고 모체내에서 수태기간동안 유지되는 기작을 연구하는 일환으로 C3H/HeJ계의 암컷 생쥐와 DBA/2계의 수컷 생쥐를 교배하여 모체에서 발생하는 체계적인 면역기능 및 국소적 면역기능현상에 대하여 연구하고자 수태기간별로 비장과 자궁으로 들어가는 림프절에서 T세포 및 B세포의 아형을 측정하였고 자연살해세포의 활성도를 측정하였다. 또한 수태혈청및 수태성 호르몬이 자연살해세포의 활성도에 미치는 영향을 알아보았다.

재료 및 방법

1. 실험동물

C3H/HeJ(H-2^k)계의 암컷 생쥐와 DBA/2(H-2^d)계의 수컷 생쥐를 한국과학기술원 생물학검정실에서 분양받아 사용하였으며, 교배시킨 다음날 아침에 vaginal plug가 확인되었을때 확인된 날을 수태 0일로 정하였다.

2. 실험군 설정

모체의 체계적 면역체계와 국소적인 면역체계를 관찰하기 위하여 대조군과 5가지 실험군으로 나누었다. 수태 0일부터 착상전까지 (교배후 수태 4.5일에서 5일까지)를 제 1실험군으로, 수태 5일부터 8일까지를 제 2실험군, 수태 9일부터 13일까지를 제 3실험군, 수태 14일부터 16일까지를 제 4실험군, 수태 17일부터 분만까지를 제 5실험군으로 정하였으며, 대조군은 같은 주령의 C3H/HeJ계의 암컷 또는 수컷 생쥐를 사용하였다.

3. 비장에서의 단핵세포의 분리

각 수태 단계별로 생쥐를 도살하여 비장을 적출하여 L-glutamine 500 μ g/ml, streptomycin 100 μ g/ml, penicillin 100 units/ml, HEPES (N-[(2-Hydroxy ethyl) piperazine-N'-(2-ethane sulfonic acid)]) 완충액 10mM/ml이 함유된 RPMI 1640배지 (이하 RPMI 불완전배지로 칭함)로 단세포 부유액을 만든후 Ficoll-diatrizoate gradient (1.077g/ml density, Pharmacia Fine Chemicals, Ltd., U.S.A.) 용액에 증첩하여 400g로 25분간 원심분리하여 얻은 단핵세포층을 같은 RPMI 불완전배지로 두번 세척한후 nylon wool mesh(Type 200L, Robbins Scientific Co., U.S.A.)로 여과한후 단크론항체의 결합에 사용하였다.

4. 비장에서 T세포 및 B세포의 아형측정

Ficoll-diatrizoate gradient용액에 의하여 분리된 단핵세포를 인산 완충용액(pH 7.4)에 2×10^6 개/ml로 부유시킨후, 세포 부유액 50 μ l, 1×10^5 개의 세포와 5 μ l FITC-conjugated monoclonal antibody (Anti-mouse Thy-1.2, Anti-mouse L3T4, Anti-mouse Ly2, Anti-mouse B antigen, Serva Feinbiochemica, Germany)와 혼합하였다. 일광 차단후 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰으며 동일완충용액으

로 2회 세척하여 1% (v/v) paraformaldehyde로 고정하여 4℃에서 보관하였다.

림프구의 아형분석은 고정후 24시간 이내에 세포분리분석기로서 Facstar Plus (Fluorescent activated cell sorter: Becton Dickinson, U.S.A.)를 사용하였다. Consort 30 computer program (Becton-Dickinson Immunocytometry System, U.S.A.)을 이용하여 전체 림프구에 대한 백분율로 계산하였다.

5. 자연살해세포의 세포독성측정

자연살해세포의 세포독성을 측정하기 위한 표적세포로는 YAC-1 (A/Sn mouse lymphoma세포를 사용하였다. 세포배양을 위한 배지는 10% 우태아 혈청 (Fetal calf serum, Gibco Lab., U.S.A.), L-glutamine (2mM/ml), penicillin (100units/ml) 및 streptomycin (100µg/ml), 10mM HEPES를 함유시킨 RPMI 1640 배지(이하 RPMI 완전 배지로 약함)를 사용하여 계대배양하였다.

주효세포로 생쥐를 각각 시간별로 희생시켜 무균상태에서 비장을 적출한후, RPMI 완전배지를 사용하여 단세포 부유액을 만든후 0.16M Tris-NH₄Cl(pH 7.2)를 넣어 적혈구를 용혈시키고 이를 RPMI 완전배지에 부유시킨 다음 plastic petri dish (Costar, U.S.A)에 넣어 37℃ 5% CO₂ 항습항온기에서 1시간 배양한후 가볍게 흔들어서 부유되어 있는 비부착성 세포만을 채취하여 사용하였다.

자연살해세포의 세포독성은 4시간 ⁵¹Cr-방출검사방법으로 수행하였다²⁷⁾. YAC-1 세포 1×10⁷ cells/0.2ml에 100 µCi Na₂⁵¹CrO₄ (1mCi/ml, NEZ-0305, New England Nuclear, U.S.A)을 넣고 37℃ 항온조에서 1시간 표지하였다. 그 후 2회 세척하여 ⁵¹Cr이 표지된 세포를 microplate 각 well당 (Costar, round bottom 96 wells, U.S.A.) 1×10⁴ cells/0.1ml 되게 넣고 주효세포: 표적세포의 비율 (E:T ratio)을 100:1이 되도록 주효세포를 10⁶ cells개/0.1 ml을 넣어 37℃ 5% CO₂ 항습항온기에서 4시간 배양하였다. 이때 최대방출을 유발시키기 위해 1N NaOH를 가하였고 자연방출을 측정하기 위해서는 ⁵¹Cr이 표지된 표적세포만을 배양하였다. 배양후 100 µl의 상층액을 수거하여 gamma counter (Packard, Downers Grove, U.S.A.)로 방사능을 측정하였으며 자연살해세포의 세포독성은 다음 공식에 의하여 계산하였다.

$$\text{세포독성비율} = \frac{\text{실험 방출량} - \text{자연 방출량}}{\text{최대 방출량} - \text{자연 방출량}} \times 100$$

6. 수태혈청이 자연살해세포의 세포독성에 미치는 영향

대조군으로 활성화시킨 자연살해세포를 사용하였으며 활성화된 자연살해세포의 주효세포로는 감염후 1일째에 자연살해세포의 세포독성이 가장 높이 올라가는 것으로 알려져 있는²⁸⁾ 자유생활 아메바인 *Naegleria fowleri* (연세대 의대, 기생충학교실에서 받음)의 영양형 1×10⁶개를 비강을 통하여 감염시킨후 24시간이 경과된 비장세포를 사용하였다. 가장 억제정도가 높게 나타난 혈청 농도인 2.5%를 사용하여 정상혈청과 수태혈청의 자연살해세포의 세포독성 억제정도를 측정하였고 Na₂⁵¹CrO₄로 1시간동안 표지한 표적세포를 이용하여 주효세포: 표적세포의 비율을 100:1로 하여 ⁵¹Cr-방출검사법을 시행하였다.

7. Progesterone이 자연살해세포의 세포독성에 미치는 영향

생체내 실험으로 C3H/HeJ계의 수컷 생쥐에 progesterone(0.2mg/1회/1일)을 각각 1일, 2일, 3일, 5일간 연속 투여하고 Na₂⁵¹CrO₄로 표지한 표적세포를 이용하여 주효세포:표적세포의 비율을 100:1로 하여 ⁵¹Cr-방출검사법을 이용하여 자연살해세포의 세포독성을 측정하였다. 대조군은 progesterone이 함유되어 있지 않은 sesame oil을 매 회 같은양을 투여하였다. 또한 시험관내 실험에서 progesterone이 자연살해세포의 세포독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 주효세포와 표적세포의 비율을 100:1로 하고 progesterone을 0.1µg/ml에서 50µg/ml을 처리하여 ⁵¹Cr-방출검사법을 시행하였다.

8. HCG가 자연살해세포의 세포독성에 미치는 영향

HCG를 5unit/ml에서 5000units/ml까지 처리하여 Na₂⁵¹CrO₄로 1시간동안 표지한 표적세포를 이용하여 주효세포:표적세포의 비율을 100:1로 하여 ⁵¹Cr-방출검사법을 이용하여 자연살해세포의 세포독성을 측정하였다. 예비실험을 통하여 HCG가 자연살해세포의 세포독성을 억제하는 것을 알수 있었으므로, 대조군으로 활성화시킨 자

연살해세포를 주효세포로 사용하였으며 여기에 hCG를 농도별로 처리하였다. 활성화된 자연살해세포의 주효세포로는 감염후 1일째에 자연살해세포의 세포독성이 가장 높이 올라가는 것으로 알려져 있는 자유생활 아메바인 *Naegleria fowleri*의 영양형 1×10^5 개를 비강을 통하여 감염시킨후 24시간이 경과된 비장세포를 사용하였다.

9. 수태혈청의 progesterone의 함량측정

Progesterone은 solid phase 방법을 이용한 방사면역측정 kit (Diagnostic products Co., U.S.A.)로 측정하였다. progesterone 항체가 부착되어 있는 polypropylene tube에 흰쥐의 혈청과 125 I-progesterone을 넣어 3시간동안 항온에서 반응시킨 후 유리항원이 포함된 상등액을 제거하고 tube에 결합된 항원-항체 결합체의 방사능을 gamma counter 로 측정하였다.

10. 자궁으로 들어가는 림프절에서 T세포의 아형측정

각 수태 단계별로 생쥐를 도살하여 자궁으로 들어가는 대동맥 주위의 림프절을 적출하여 단세포 부유액을 만들어 단클론항체의 결합에 사용하였다. 림프구 부유액 $50\mu\text{l}$, 1×10^5 개의 세포와 $5\mu\text{l}$ FITC-conjugated monoclonal antibody (Anti-mouse Thy-1.2, Anti-mouse L3T4, Anti-mouse Ly2, Serva Feinbiochemica, Germany)와 혼합하였다. 일광 차단후 4°C 에서 30분간 반응시켰으며 동일완

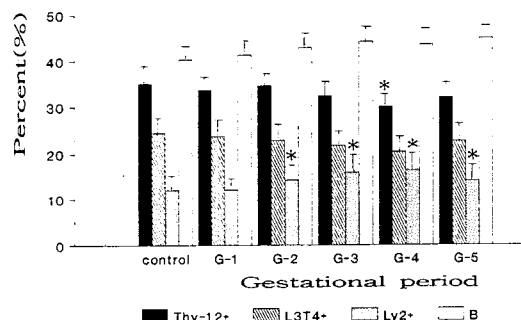


Fig. 1. The time course of changes in total relative frequency(%) of maternal splenic lymphocyte subsets during pregnancy. Each bars represent the mean \pm S.E. of each group repeated experiments (n= 6 to 8). G-1: day 0-day 4.5 after mating, G-2: day 5-day 8 after mating, G-3: day 9-day 13 after mating, G-4: day 14-day 16 after mating, G-5: day 17-before the delivery.
* $p < 0.05$; compared with the control group.

충용액으로 2회 세척하여 1% (W/v) paraformaldehyde로 고정하여 4°C 에서 보관하였다. 림프구의 아형분석은 고정후 24시간 이내에 세포분리분석기로 분석하였다.

11. 자궁으로 들어가는 림프절에서 자연살해세포의 세포독성측정

각 수태 단계별로 생쥐를 도살하여 자궁으로 들어가는 림프절을 적출하여 RPMI 완전배지로 단세포 부유액을 만들어 이를 주효세포로 하고 YAC-1 세포를 표적세포로 하여 주효세포:표적세포의 비율을 100:1로 하여 ^{51}Cr -방출검사법을 이용하여 자연살해세포의 세포독성을 측정하였다.

결 과

1) 수태기간별 비장에서 T세포와 B세포의 아형측정

수태 직후부터 착상전까지의 제 1기에서는 대조군과 비교하여 T세포와 B세포에서 모두 유의한 차이를 발견할수 없었다. Thy-1.2* 세포의 아형은 수태기간별로 초기, 중기 및 후기의 3단계로 나누었을 때 수태초기에 속하는 제1기와 제2기에서는 대조군과 비교하여 유의한 차이를 발견할수 없었으며, 시간이 경과할수록 수태중기 이후에는 다소 감소하고 제4기에는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 이와 함께 L3T4*세포의 아형의 변화는 수태초기에서 수태중기까지 대조군보다 조금 감소하였으나 수태후기인 제5기에서는 다시 대조군 수준으로 증가하였다. Ly2* 세포는 수태중기 이후부터 대조군에 비하여 증가하여 제3기 이후에는 통계적으로 유의하게 감소하였다. B세포는 수태기간이 경과될수록 증가하여 제3기부터 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다. 따라서 모체의 순환계에 태아의 항원이 노출되는 수태중기 이후에는 세포매개성면역에 관여되는 T세포의 변화가 관찰되었으며 Ly2*세포가 수태중기 이후에 대조군에 비하여 유의하게 증가되었다 (Fig 1).

2) 수태기간별 비장에서 자연살해세포의 세포독성 측정

자연살해세포의 세포독성은 수태기간중에 대조군과 비교하여 계속 증가하였으며 착상 직후인 제2기에서는 대조군의 자연살해세포의 세포

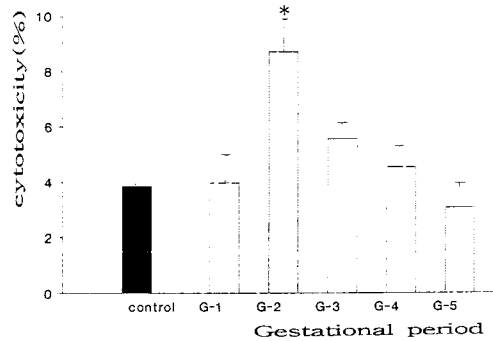


Fig. 2. The time course of changes of maternal splenic natural killer cell activity against YAC-1 cells during pregnancy. Each bar represents the mean \pm S.E. of each group repeated experiments (n=4 to 5). G-1: day 0-day 4.5 after mating, G-2: day 5-day 8 after mating, G-3: day 9-day 13 after mating, G-4: day 14-day 16 after mating, G-5: day 17-before the delivery.

* p<0.05; compared with the control group.

독성보다 통계적으로 유의하게 증가하였고(p<0.05) 그 이후에는 조금씩 감소하여 대조군 수준으로 감소되었다 (Fig 2).

3) 수태혈청이 자연살해세포의 세포독성에 미치는 영향

비동화시킨 수태혈청 뿐만 아니라 정상혈청에도 자연살해세포의 세포독성 억제요소가 존재하는 것으로 나타났으며, 혈청내 자연살해세포의 세포독성 억제요소의 뚜렷한 억제현상을 측정하기 위하여 대조군으로 활성화시킨 자연살해세포를 사용하였으며 가장 억제정도가 높게 나타난 혈청농도인 2.5%를 사용하여 수태시기별로 혈청의 자연살해세포에 대한 세포독성의 억제정도를 측정하였다. 비동화한 정상혈청을 처리하였을 때에는 자연살해세포의 세포독성이 $5.08 \pm 0.18\%$ 이었으며 대조군의 세포독성에 비하여 약 70% 억제되어 통계적으로 매우 유의하였다 (P<0.01). 착상 이전의 시기인 제1기의 혈청을 처리한 실험군에서는 정상혈청 처리군과 비슷한 수준으로 억제되었으며, 제2기의 혈청을 처리한 실험군에서는 오히려 정상혈청 처리군보다 증가하여 세포독성이 $12.75 \pm 1.93\%$ 로 나타났고 대조군에 비하여 세포독성을 약 24% 억제하였다. 그 후 제3기와 제4기의 혈청을 처리한 실험군의 자연살해세포의 세포독성은 제2기의 혈청을 처리한 실험군보다 세포독성의 억제정도가 감소하였으며

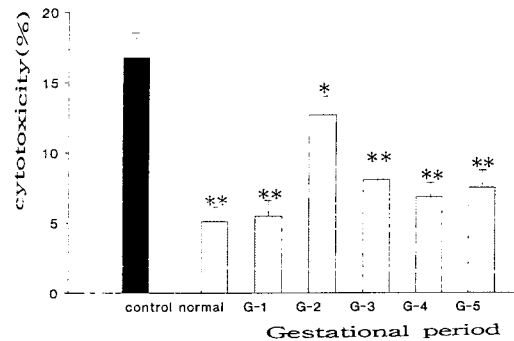


Fig. 3. The effects of normal and pregnancy serums on natural killer cell activity against YAC-1 cells. Each bar represents the mean \pm S.E. of each group repeated experiments (n=4 to 5). G-1: day 0-day 4.5 after mating, G-2: day 5-day 8 after mating, G-3: day 9-day 13 after mating, G-4: day 14-day 16 after mating, G-5: day 17-before the delivery.

* p<0.05; compared with the control group.

** p<0.01; compared with the control group.

제5기의 혈청을 처리한 실험군에서는 자연살해세포의 세포독성을 제4기의 혈청을 처리한 실험군보다 더 억제하였으나 정상혈청 처리군보다는 자연살해세포의 세포독성이 적게 억제되었다 (Fig 3).

4) 수태혈청내에서 progesterone의 함량측정

비수태 혈청내 progesterone의 함량은 0.75 ± 0.09 ng/ml이었으며, 착상전인 제1기의 혈청에는 8.05 ± 1.09 ng/ml, 제2기의 혈청에는 45.57 ± 3.95 ng/ml, 제3기의 혈청에는 98.26 ± 20.74 ng/ml이었다. 제4기의 혈청에는 362.45 ± 20.74 ng/ml, 제5기의 혈청에는 660.45 ± 98.75 ng/ml의 progesterone이 측정되었다.

5) Progesterone이 자연살해세포의 세포독성에 미치는 영향

Progesterone을 1회/1일 투여하였을 경우에는 자연살해세포의 세포독성이 $3.11 \pm 0.44\%$ 로 대조군의 세포독성과 비교하여 유의한 차이를 발견할 수 없었으며, progesterone을 연속 2일간 투여하였을 경우에는 자연살해세포의 세포독성이 대조군과 비교하여 증가하였다. 연속 3일간 투여하였을 경우에는 유의하게 증가하였으며 연속 5일간 투여하였을 경우에는 자연살해세포의 세포독성은 progesterone의 투여 횟수와 비례하여 대조군에 비하여 매우 유의하게 증가하였다(p<0.01)

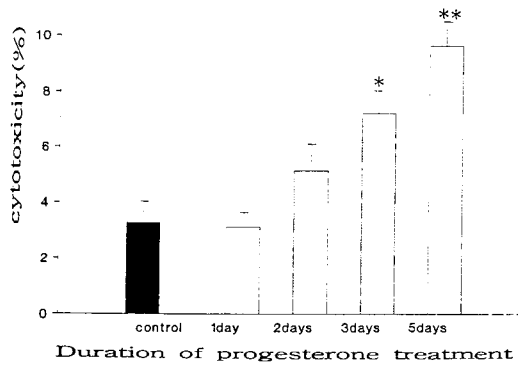


Fig. 4. The effect of progesterone treated(0.2 mg/day) for different duration on natural killer cell activity against YAC-1 cells. Each bar represents the mean \pm S.E. of each group repeated experiments (n=5 to 6).

*p<0.05; compared with the control group.
** p<0.01; compared with the control group.

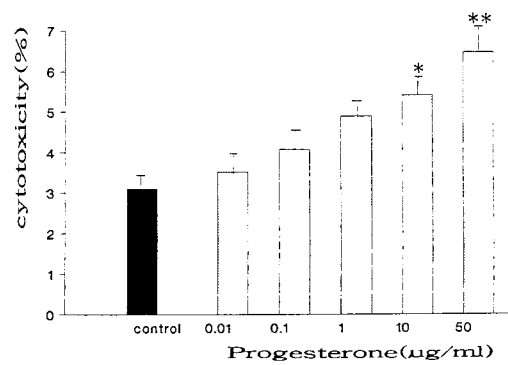


Fig. 5. The effect of progesterone on natural killer cell activity against YAC-1 cells. Each bar represents the mean \pm S.E. of each group repeated experiments (n=5 to 6).

*p<0.05; compared with the control group.
** p<0.01; compared with the control group.

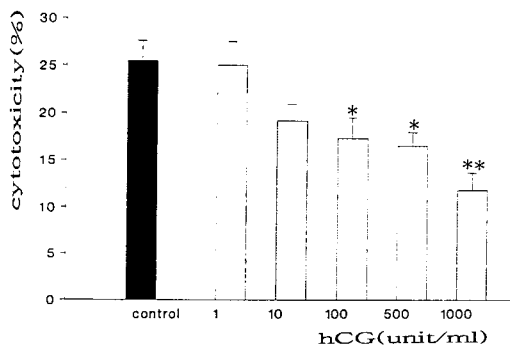


Fig. 6. The effect of hCG on natural killer cell activity against YAC-1 cells. Each bar represents the mean \pm S.E. of each group repeated experiments (n=6).

*p<0.05; compared with the control group.
**p<0.01; compared with the control group.

(Fig 4). Sasemi oil을 투여한 대조군은 투여횟수에 따라 자연살해세포의 세포독성은 유의한 차이를 발견할수 없었다. 또한 시험관내 실험에서 progesterone이 자연살해세포의 세포독성에 미치는 영향을 알아본 결과, 주효세포와 표적세포의 비율을 100:1로 하고 progesterone을 10µg/ml을 처리하였을 때 세포독성이 대조군의 값에 비하여 자연살해세포의 세포독성이 유의하게 증가하였으며 그 이하의 농도에서는 조금 증가하였으나 통계학적으로 유의하지 않았다. Progesterone의 처리농도가 50µg/ml까지 증가할수록 자연살해세포의 세포독성이 증가하였으며 그 값이 대조군에 비하여 통계적으로 매우 유의함을 알수 있었

다 (p<0.01)(Fig 5).

6) HCG가 자연살해세포의 세포독성에 미치는 영향

HCG는 처리농도에 비례하여 자연살해세포의 세포독성이 억제하였으며 5000unit/ml을 처리하였을 때 자연살해세포의 세포독성이 대조군 세포독성에 비하여 약 50% 감소하였으며 2500unit/ml을 처리하였을 때에는 세포독성이 약 35% 감소하였다. 또한 5000unit/ml을 처리하였을때는 매우 유의하게 억제하였다. HCG 처리 농도가 감소할수록 자연살해세포의 세포독성이 대조군 수준으로 증가되었으며 50unit/ml 이하를 처리하였을 경우에는 대조군과 비교하여 유의한 차이를 발견 할수 없었다 (Fig 6). 따라서 HCG는 5unit/ml에서 5000unit/ml까지 처리농도에 비례하여 자연살해세포의 세포독성을 억제하였다.

2. 태아와 모체사이의 조직에서 발생하는 국소적인 면역기능

1) 수태기간별 자궁으로 들어가는 림프절세포에서 T세포의 아형측정

자궁으로 들어가는 림프절에서 Thy-1.2*세포 및 L3T4*세포는 태아항원이 모체의 순환계에 노출되는 제 2기부터 대조군에 비하여 증가하였으며 림프절의 크기도 뚜렷하게 증가하였다. 대조군의 Thy-1.2* 세포는 75.17 \pm 2.89%였으며 L3T4* 세포는 61.27 \pm 3.75%, Ly2*세포는 12.83 \pm 2.67%

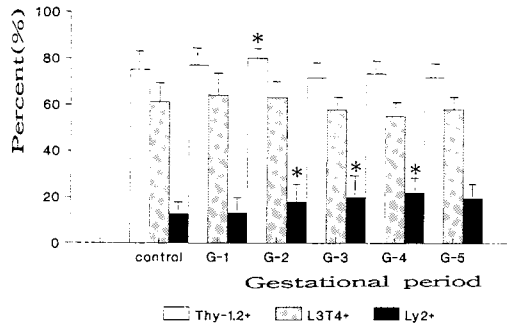


Fig. 7. The time course of changes in total relative frequency(%) of lymphocyte subsets during pregnancy in uterus draining lymph nodes. Each bars represent the mean±S.E. of each group repeated experiments(n=6 to 8). G-1: day 0-day 4.5 after mating, G-2: day 5-day 8 after mating, G-3: day 9-day 13 after mating, G-4: day 14-day 16 after mating, G-5: day 17-before the delivery
* p<0.05; compared with the control group.

로 나타났다. 제2기의 Thy-1.2*세포와 Ly2*세포는 대조군에 비하여 유의하게 증가하였으며, 제2기 이후에는 조금 감소하였으나 대조군에 비하여는 증가하였다. 특히, Ly2*세포는 제2기에 대조군에 비하여 유의하게 증가하여 제3기에는 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다 (Fig 7). 따라서 자궁으로 들어가는 림프절에서 T세포의 아형의 변화를 측정 한 결과, 제2기에 Thy-1.2*세포와 Ly2*세포가 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다.

2) 수태기간별 자궁으로 들어가는 림프절세포에서 자연살해세포의 세포독성측정

자궁으로 들어가는 림프절세포에서 자연살해세포의 세포독성은 수태기간중 각 시기에 비장의 자연살해세포의 세포독성과 비교하였을때, 비장의 자연살해세포의 세포독성보다 높은 세포독성을 나타내었다. 대조군의 세포독성은 4.35±0.75%였으며 특히 제 2기에는 세포독성이 대조군과 비교하여 매우 유의하게 증가하였으며, 그 이후에는 감소하였으나 제3기의 세포독성과 제4기의 세포독성은 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 증가하였다.

또한 제5기의 세포독성은 대조군보다 높은 세포독성을 갖는 것으로 나타났다 (Fig 8). 따라서 수태기간중 자궁으로 들어가는 림프절에서 자연살해세포의 세포독성이 매우 높은 것으로 나타났다, 같은시기의 체계적 면역기관인 비장의

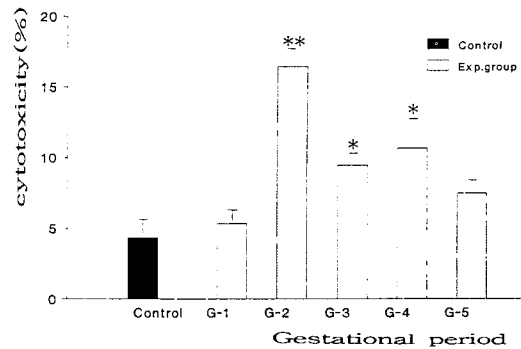


Fig. 8. The time course of changes in natural kill cell activity against YAC-1 cells during pregnancy in uterus draining lymph nodes. Each bars represent the mean±S.E. of each group repeated experiments (n=6 to 8). G-1: day 0-day 4.5 after mating, G-2: day 5-day 8 after mating, G-3: day 9-day 13 after mating, G-4: day 14-day 16 after mating, G-5: day 17-before the delivery
* p<0.05; compared with the control group.
** p<0.01; compared with the control group.

자연살해세포의 세포독성과 비교하였을때 더 활성화되어 있는 것으로 나타났다.

고 찰

수태기간중 태아가 모체로부터 거부반응을 일으키지 않고 생존하기 위해서는 기본적인 두가지 조건이 만족되어야 하는데, 태아와 모체의 유전인자의 조화와 모체 및 태아에서 발생하는 면역학적인 조절인자이다. 수태유지에는 모체의 체계적인 면역기능의 억제현상만으로는 수태기간중 발생하는 면역억제 조절기작을 충분히 설명할수 없으며 태아와 모체사이의 조직에서 발생하는 국소적인 면역억제현상이 수태유지에 그 결정적인 역할을 하는 것으로 알려지고 있다. 최근 세포분리분석기를 이용하여 수태기간중 체계적인 면역체계와 국소적인 면역체계를 구성하고 있는 세포들의 아형과 수의 균형을 알아보고자 하는 연구가 활발히 이루어지고 있으나 그 결과는 아직 일치되어 있지 않다. Lee⁹⁾ 등이 ICR계의 생쥐를 수태시켜서 비장에서 T세포와 B세포의 아형을 측정 한 결과, L3T4*세포는 수태중기 이후에 계속 증가하였으며 Ly2*세포는 수태중기까지는 감소하였으나 수태중기 이후부터 수태말기까지 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 수태초기에는 Ly2*세포가 수태유지에 결정적인 역할을 하며, 수태중기 이후부터 수태말기까지 증가한

L3T4*세포와 IgG 양성세포는 수태후기에 그 결정적인 역할을 할것으로 보고하였다. 또한 Chatterjee-Hasrouni⁹등 에 의하면 생쥐를 동형교배하였을 때 수태중기에 Thy-1.2*세포가 조금 감소하였으나 이형교배시에는 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며, Ly2*세포는 이형교배시에 수태기간중 수태중기 이후에 계속 증가하였다고 보고하였다.

본 실험에서는 Thy-1.2*세포와 L3T4*세포는 착상직후인 수태 5일과 수태 8일사이에 대조군에 비하여 유의한 차이는 없었으나 감소하는 경향을 나타냈으며, 수태후기까지 계속 감소하였으며 분만 직전에는 회복하였다. 또한 Ly2*세포는 수태중기부터 증가하기 시작하여 수태후기까지 대조군에 비하여 유의하게 증가하였는데 이러한 결과는 Rukavina²⁰등의 결과와 일치한다. Chatterjee-Hasrouni⁹등의 결과에 의하면 null세포가 수태중기 이후에 대조군에 비하여 유의하게 증가하여 수태후기까지 계속 증가하였으며, 특히 이들 null세포에 속하는 자연살해세포가 수태초기부터 증가하여 수태중기와 수태후기까지 증가하였다. null세포는 골수세포에서 유래하였으며 IgM*, Thy-1의 표현형으로 나타나 자연살해세포 역시 null세포에 속하는 것으로 알려져 있으며 수태기간 동안 자연살해세포를 포함한 null세포의 면역학적 역할에 대하여 관심이 점차 부각되고 있다¹⁷. 자연살해세포는 MHC 항원에 제한되지 않고 암세포와 배세포를 살해할수 있으며 살해T세포에 살해되지 않는 암세포도 살해할수 있는 것으로 알려져 있으며²⁰, 이러한 자연살해세포가 태아와 모체사이의 조직에 매우 많이 존재하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 수태기간 별로 비장세포의 자연살해세포의 세포독성을 측정 한 결과, 수태 5일에서 수태 8일사이에 대조군에 비하여 유의하게 증가하였으며, 그 이후에도 통계적으로 유의하지는 않았으나 자연살해세포의 세포독성이 수태말기까지 계속 나타났는데, Chatterjee-Hasrouni⁹등 이 보고한 바와 같이 수태기간 동안 null세포가 유의하게 증가하였다는 사실이 본 실험의 결과를 뒷받침해 준다고 하겠다.

수태기간중 증가하는 호르몬들도 수태유지에 필요한 생리적인 기능 이외에도 면역억제기능을 갖는 것으로 알려져 있는데⁷, 생쥐에서 estradiol을 만성적으로 투여하였을 때 자연살해세포의 세포독성이 억제되며²¹, progesterone은 약리적인

농도($10^{-5}M$)이상에서 림프구의 아세포화를 억제하는 것으로 알려졌다²⁴. 본 연구에서는 progesterone이 시험관내 실험과 생체내 실험에서 모두 약리적 농도 이상에서 농도에 의존적으로 자연살해세포의 활성도를 증가시키는 것으로 나타났는데, 약리적인 농도이상에서 림프구의 활성을 억제한다는²⁵등의 보고와는 상반되는 결과이다. 그러나 progesterone과 estradiol에 의하여 가임신을 유도하였을 때 유도된 탈락막세포(decidua)에 자연살해세포가 활성화되는 것으로 보아 자연살해세포가 progesterone에 의하여 활성화될 수 있다는 것을 나타내주고 있다¹³. 순수 정제된 HCG는 면역억제기능이 없는 것으로 알려졌다²⁶, crude hCG는 800unit/ml 이상에서 림프구의 아세포화를 억제하는 것으로 알려져 있다²⁹. Sargent³⁰도 수태기간중 hCG가 자연살해세포의 활성도를 억제함을 보고하였으며, 수태기간중 hCG의 농도와 L3T4*세포의 수가 서로 반비례 관계를 나타낸다고 하였다⁷. 본 연구에서는 hCG가 1000unit/ml까지 처리농도에 비례하여 자연살해세포의 세포독성을 억제하였는데, 이러한 결과는 사용한 hCG가 순수 정제되지 않은 결과라고 여겨진다. 또한 수태초기부터 수태중기까지 Thy-1.2*세포와 L3T4* 세포가 감소하는 경향을 나타냈으며 Thy-1.2*세포 및 L3T4*세포가 감소한 시기와 CG의 농도가 증가한 시기가 일치하므로 CG의 농도와 L3T4*세포의 수가 반비례 관계에 있다는 Clark¹⁰등의 결과와 일치한다. 이로 미루어보아 호르몬과 림프구의 기능과 수는 서로 상관관계가 있다는 것을 알수 있다. 그러나 대부분의 prostaglandin E2를 제외한 수태성 호르몬은 생리적인 농도에서 면역억제기능을 나타내지 않는 것으로 보고되어 있어서³¹ 수태기간중 이들의 면역억제기능에 대하여는 더 많은 연구가 있어야 할것으로 생각된다.

태아와 모체사이의 조직에서 발생하는 국소적인 면역억제현상에 대하여 Chatterjee-Hasrouni⁹등은 UDLN에서 Thy-1.2*세포는 수태 8일째까지 감소하다가 그 후 증가하며, B세포는 수태 8일 이후부터 수태말기까지 꾸준히 증가한다고 보고하였다. 또한 이들은 대부분 T세포의 아세포로 이루어진 UDLN에 수태중기 이후부터 항체생성에 관여하는 플라즈마세포가 유의하게 증가하기 시작한다는 사실을 보고하였으며, Lee³등도 수태중인 생쥐에서 UDLN에 IgG2양성 플라즈마 세포의 존

재를 단크론항체를 이용한 면역세포화학적염색 방법과 면역조직화학적염색 방법에 의하여 증명한 바 있다. 또한 Struyf⁹⁾등은 착상직후에 UDLN의 크기가 다른시기에 비하여 뚜렷하게 증가하는데 이것은 이 시기에 순환하는 림프구가 UDLN에 축적되어 이 시기부터 수태중기까지 림프구의 수가 매우 유의하게 증가한다고 설명하였다.

Ansell⁹⁾등의 결과에 의하면 생쥐를 이형교배하였을 때 UDLN에서 살해T세포의 생성이 억제되는데, 살해T세포의 전구세포는 감소하지 않았으나 전구세포가 살해T세포로 발생하는 것을 억제하는 기작이 존재할 것으로 여겨지며 UDLN에 존재하는 억제세포가 분비하는 물질이 이러한 억제작용을 매개할 것이라 하였다. Clark 등¹⁰⁾은 항 Thy-1.2 항체를 처리하여도 억제요소가 계속 생성되는 것으로 보아 이러한 억제요소가 흉선에서 유래된 억제세포에 의하여 분비되는 것이 아니라는 사실을 증명하였다. 이러한 결과는 이 시기에 UDLN에서 null세포들이 유의하게 증가한다는 Chatterjee-Hasrouni⁸⁾등의 결과로 미루어보아 이러한 억제요소를 분비하는 비흉선성 억제세포가 수태기간중 비장과 UDLN에서 그 수가 증가되는 null세포로 생각되며 이들이 국소적인 면역억제기능에 관여할 것으로 생각된다. 또한 Smith³³⁾등에 의하면 설치류에 있어서 UDLN을 제거하면 수정능력이 감소하였다는 사실을 보고한 바 있어서, 수태유지에 UDLN이 결정적인 역할을 한다는 것을 알 수 있다.

Beer⁹⁾은 수태중인 모체의 태반으로 들어가는 혈청이 말초혈액보다 자연살해세포의 세포독성을 더 억제시킨다고 보고하였으나 본 연구의 결과는 비동화시킨 정상혈청과 수태혈청이 모두 유의하게 자연살해세포의 세포독성을 억제하였으므로, 혈청내에 존재하는 자연살해세포의 세포독성 억제요소의 세포독성과 자연살해세포의 세포독성이 일치하지는 않는 것으로 생각되며, 수태기간중 자연살해세포의 세포독성 억제요소 외에 자연살해세포의 세포독성을 조절하는 다른 조절기작이 존재할 것으로 생각된다. Croy¹³⁾등은 CBA계의 암컷 생쥐와 DBA/2계의 수컷 생쥐를 교배하여 자연유산의 확률을 높은 실험군에서 자연살해세포의 활성과 태아의 흡착율이 매우 밀접하게 연관되어 있다는 것을 보고하였다. 그러나 수태기간중 비장과 탈락막세포에서 활성화된 자연살해세포는 같은시기의 태아세포들에 대

하여 살해작용을 나타내지 않는 것으로 보고하였으며⁹⁾, 수태기간중 자연살해세포의 정확한 역할에 대하여 관심이 모아지고 있다. Head²⁰⁾등은 수태기간중 자연살해세포의 역할은 살해기능에 관여하기 보다는 여러가지 림포카인들을 분비하여 영양아층세포의 성장을 돕는 역할을 할 것이라고 하였는데, 특히 영양아층세포는 자연살해세포가 분비하는 CSF-1과 GM-CSF에 반응하며 이러한 림포카인에 의하여 영양아층세포의 성장과 탐식기능이 증가된다고 하였다. 또한 수태초기의 영양아층세포는 IFN- α 와 같은 물질을 분비하며, 이 물질에 의하여 탈락막으로 자연살해세포가 모이게 되며 자연살해세포의 활성이 증가된다고 하였다. 이러한 보고들로 미루어보아 탈락막세포에 존재하는 자연살해세포는 수태유지에 반드시 필수적인 것이라고는 생각되지 않으나 수태기간중 자연살해세포의 역할은 영양아층세포가 자궁의 근육층으로 침투하는 것을 막으며, 다양한 림포카인을 분비하여 영양아층세포의 성장과 탐식기능을 증가시키고, 태아와 모체사이의 조직에 존재하는 억제세포들이 면역조절기능에 실패하였을 때 살해작용과 탐식기능에 참가하여 태아가 모체로 흡착되는 과정에 관여할 것으로 생각된다.

따라서 본 연구의 결과로 미루어보아 비장세포에 있어서 Thy-1.2⁺세포와 L3T4⁺세포는 수태기간 중기 이후에 감소하기 시작하여 수태 4기에 대조군에 비하여 유의하게 감소한 것으로 보아 수태초기의 면역기능 조절에 관여하였을 것으로 생각되며 Ly2⁺세포와 B세포는 수태중기 이후부터 수태말기까지 계속 증가한 것으로 보아 이시기의 체계적인 면역조절에 관여할 것으로 생각된다. 특히 자궁으로 들어가는 림프절에서의 면역세포의 변화가 비장에서의 변화와 비슷한 경향을 보이거나 같은시기의 비장세포의 자연살해세포의 세포독성보다 높게 나타나는 것으로 보아 모체의 체계적인 면역체계의 억제현상과 태아와 모체사이의 조직에서 발생하는 국소적인 면역억제현상이 태아가 모체내에서 동종이식 상태로 유지시키기 위하여 상호 협력할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 이규래, 신주옥, 임경일 (1990): *Negleria fowl-*

- eri가 자연살세포의 활성화에 미치는 영향. 기생충학잡지, **29(3)**: 267-277.
2. Lee WJ, Lim CW, Hwang DH, Lee KH and Chang KY (1990): Immunohistochemical study on changes of T- and B-cell population in mouse during pregnancy. *Seoul J Med* **31**: 167-181.
 3. Alanen A (1982): Maternal immune function in normal pregnancy and pre-eclampsia. Doctoral Dissertation, Univ. Turku Turku Finland.
 4. Ansell JD, McDougall CM, Speedy G and Inchley CJ (1978): Changes in lymphocyte accumulation and proliferation in lymph nodes draining the pregnant uterus. *Clin Exp Immunol*, **31**: 397-407.
 5. Athanassakis I (1988): In "Role of T cells and T cell products in placental proliferation and function during murine pregnancy", Ph.D. Thesis, Univ. Alberta.
 6. Beer AE and Billingham PE (1980): Mechanisms of non-rejection of foeto-placental allografts. *Folia Biologica (Praha)*, **26**: 225.
 7. Canepa S, Horowitz R, Degenne D, Magnin G, Valat C and Bardos P (1984) Correlation of plasma hormone levels and peripheral circulating lymphocyte subpopulations during human pregnancy. *Immunol Lett*, **8**: 159-163.
 8. Chatterjee-Hasrouni S, Santer V and Lala PK (1980): Characterization of maternal small lymphocyte subsets during allogenic pregnancy in mouse. *Cell Immunol* **50**: 290-304.
 9. Chatterjee-Hasrouni S and Lala PK (1981): Natural-killer cell activity during murine pregnancy. In: Proceeding of International Conference of reproductive immunology. *J Reprod Immunol, Suppl S24*.
 10. Clark DA, McDermott M and Sczewczuk MR (1980): Impairment of host vs graft reaction in pregnant mice; II) Selective suppression of cytotoxic cell generation correlates with soluble suppressor activity and with successful allogeneic pregnancy. *Cell Immunol*, **52**: 106-118.
 11. Clemens LE, Siiteri PK and Stites DP (1979): Mechanism of immunosuppression of progesterone on maternal lymphocyte activation during pregnancy. *J Immunol*, **122**: 1978-1985.
 12. Cornfield DB, Jencks J, Binder RA and Rath CE (1979): T- and B-lymphocytes in pregnant women. *Obstet Gynecol* **53**: 203-208.
 13. Croy BA, Waterfield A, Wood W and King GJ (1988): Normal murine and porcine embryos recruit NK cells to the uterus. *Cell Immunol* **115**: 471-480.
 14. Daya S and Clark DA (1986): Immunosuppression factor (or factors) produced by human embryos *in vitro*. *N Engl J Med* **315**: 1551-1552.
 15. Dodson MG, Kerman RH, Lange CF, Sefani SS and O'Leary JA (1977): T- and B-cells in pregnancy. *Obstet Gynecol*, **49**: 299-302.
 16. El-Maalem H and Fletcher J (1980): Impaired neutrophil function & myeloperoxidase deficiency in pregnancy. *Br J Hematol*, **44**: 375-381.
 17. Geiselhart AJ, Dietl K, Marzusch P, Ruck M, Horney HP, Kaiserling E and Handgretinger R (1995): Comparative analysis of the immunophenotypes of decidual and peripheral blood large granular lymphocytes and T cells during early human pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, **33**: 315-322.
 18. Godkin JD, Bazer FW, Moffatt J, Sessions F and Roberts RM (1982): Purification and properties of a major, low molecular weight protein released by the trophoblast of sheep blastocysts at Day 13-21. *J Reprod Fertil*, **65**: 141-150
 19. Head JR (1982): Pregnancy induced hyporesponsiveness to paternal allo-antigens. I. Alterations of humoral immunity in primiparous female rats. *Transplantation* **34**: 251-258
 20. Head JR (1989): Can trophoblast be killed by cytotoxic cells?: In vitro evidence and *in vivo* possibilities. *Am J Reprod Immunol Microbiol*, **20**: 100-105.
 21. Lala PK, Chatterjee-Hasrouni SM, Kerns, Montgomery B and Colavincenzo V (1983): Immunobiology of fetomaternal interface. *Immunol Rev*, **75**: 87-176.
 22. Lata JA, Tuan RS, Shepley KJ, Mulligan MM,

- Jackson LG and Smith JB (1992): Localization of major histocompatibility complex class I and II mRNA in human first-trimester chorionic villi by *in situ* hybridization. *J Exp Med*, **175**: 1027-1732.
23. Masson PL, Delire M and Cambiaso CL (1977): Circulating immune complex in normal human pregnancy. *Nature*, **266**: 542-543.
 24. Mendelsohn J, Multer MM and Bernheim JL (1977): Inhibition of human lymphocyte stimulation by steroid hormones: Cytokinetic mechanisms. *Clin Exp Immunol*, **27**: 127-134.
 25. Morse JH, Stearns G, Arden J, Agosto GM and Canfield RE (1976): The effects of crude and purified human gonadotropin on *in vitro* stimulated human lymphocyte cultures. *Cell Immunol*, **25**: 178-188.
 26. Morton HB, Rolfe GJ, Clunie A, Anderso MJ and Morrison J (1977): An early pregnancy factor detected in human serum by the rosette inhibition test. *Lancet*, **1**: 394.
 27. Murgita RA, Goil EA, Kontianen S and Wigzell H (1977): Alpha-fetoprotein induces suppressor T cells *in vitro*. *Nature*, **267**: 257-259.
 28. Rebstock S, Lucas K, Weiss M, Thompson J and Zimmermann W (1993): Spatio temporal expression of pregnancy-specific glycoprotein gene mCGM1 in rat placenta. *Dev Dyn*, **198**: 171-181.
 29. Rukavina D, Kapovic M and Radojic A (1991): Immunoregulatory factors contributing to fetal allograft survival. *Int J Dev Biol*, **35(3)**: 275-278.
 30. Sargent IL: Maternal and fetal immune responses during pregnancy. *Exp Clin Immunogenet*, **10**: 85-102, 1993.
 31. Schiff RI, Mercier D and Buckley RH (1975): Inability of gestational hormones to account for the inhibitory effects of pregnancy plasma on lymphocyte response *in vitro*. *Cell Immunol*, **20**: 69-80.
 32. Seaman WE, Blackman MA, Gindhart TM, Roubinian JR, Loeb JM and Talal N (1978): b-estradiol reduces natural killer cells in mice. *J Immunol*, **121**: 2193-2198.
 33. Smith G (1983): *In vitro* susceptibility of mouse placental trophoblast to cytotoxic effector cells. *J Reprod Immunol*, **5**: 39-47.
 34. Stimson WH (1980): Are pregnancy-associated serum proteins responsible for the inhibition of lymphocyte transformation by pregnancy serum? *Clin Exp Immunol*, **40**: 157-160.
 35. Struyf NJ, De Cleyn KM, Bridts CH, De Clerck LS, Buytaert PM and Stevens WJ (1989): Inhibition of natural killer cell activity by retroplacental sera as compared to peripheral sera. Lack of influence of immune complexes. *J Reprod Immunol*, **16**: 261-267.
 36. Sulke AN, Jones DB and Wood PJ (1985): Hormonal modulation of human natural killer cell activity *in vitro*. *J Reprod Immunol*, **7**: 105-110.
 37. Ulberg M and Jondal M (1981): Recycling and target binding capacity of human natural killer cells. *J Exp Med*, **153**: 615-628].

=Abstract=

The Alterations of the Lymphocyte Subsets and the Natural Killer Cell Activity in the Pregnant Mouse

Chuog Shin[†], Ki-Seok Koh* and Rim-Soon Choe

Department of Biology, Yonsei University,

**Department of Anatomy, College of Medicine, Kon-Kuk Medical University*

The conceptus which are resulted by mating between two genetically non-identical partners can be considered to be an allograft to the mother science which is not rejected by the mother's immunological attack. The present studies have been, therefore, attempted in order to elucidate the mechanism by which protection of the fetoplacental allograft, between the C3H/HeJ female mouse and DBA/2 male mouse occurred. For this purpose, firstly systemic immunity was investigated by measuring T and B lymphocytes subsets. Natural killer cell activity in maternal splenic tissue and by observing the effects of pregnancy serums, progesterone and hCG on immune systems. Secondly, local immunity also investigated by measuring T lymphocytes subsets, natural killer cell activity in lymph nodes draining the uterus. The subsets of Thy-1.2⁺ cells and L3T4⁺ cells decreased slightly while the subsets of Ly2⁺ cell increased significantly compared with those of the control group beyond the mid-gestational stage. The subsets of B cell gradually increased from the mid-gestational stage until delivery. The natural killer cell activity in the maternal splenic tissue significantly increased during the period of 5th to 8th day of gestation. The natural killer cell activity was significantly suppressed by the pregnancy serums and non-pregnant serums compared with those of serum-free group. The treatment of hCG significantly suppressed natural killer cell activity in the dose dependent manner (1 unit/ml-1000 unit/ml) while progesterone increased the natural killer cell activity at pharmacological dose only. In the lymph nodes draining the uterus, the subsets of Thy-1.2⁺ cells significantly increased during the period of implantation and L3T4⁺ cell subsets slightly increased during the mid-gestational stage. The subsets of Ly2⁺ cell increased significantly during the mid-gestational stage, but decreasing slightly before delivery. The natural killer cell activity was significantly elevated after the implantation period in the lymph nodes draining the uterus. The natural killer cell activity of the lymph nodes draining the uterus was higher than those of splenic tissue during the same periods of gestation.

It is therefore, concluded that during the pregnancy, the phenomena which the fetoplacental allograft has not been rejected and rather protected from the maternal immunological attack might be due to local immune suppression in fetomaternal interface tissues rather than systemic immune suppression. And the subsets of Thy-1.2⁺ cells and L3T4⁺ cells mainly contribute to accepting allograft in early stage of pregnancy, while the subsets of Ly2⁺ cell and the subsets of B cell increased significantly compared with those of the control group beyond the mid-gestational stage, so their role in systemic immunity and local immunity gradually increased from the mid-gestational stage until delivery.

Key Words: systemic immunity, local immune suppression, fetomaternal interface, uterus draining lymph node.

[Korean J. Biomed. Lab. Sci. 2(2): 211-222, December 1996]

[†]Corresponding author