

사물탕이 임신 말기 생쥐의 면역능에 미치는 영향

염정열, 은재순*

우석대학교 약학대학

Effects of Samultang on Immune Function during the late stage of Pregnancy in BALB/c mice

Jung-Yul Yum and Jae-Soon Eun*

College of Pharmacy, Woosuk University, Samrye 565-701, Korea

Abstract—The purpose of this research was to investigate effects of Samultang water extract (SMT) on cytokine production from immune cells during the late stage of pregnancy in BALB/c mice. SMT(500 mg/kg) was administered *p.o.* once a day for 7 days, and then thymocytes and peritoneal macrophages were separated. At the late stage of pregnant mice, the proliferation of thymocytes and the production of γ -interferon in thymocytes were decreased as compared with normal group, but the production of interleukin-2 and interleukin-4 was increased. The production of tumor necrosis factor- α , nitric oxide and phagocytic activity in peritoneal macrophage was increased as compared with normal group. At the late stage of pregnant mice administered with SMT, the production of interleukin-2 in thymocytes was decreased as compared with a pregnant group, but the proliferation of thymocytes, the production of γ -interferon and interleukin-4 was increased. The production of tumor necrosis factor- α and nitric oxide in peritoneal macrophages were decreased as compared with a pregnant group, but phagocytic activity were increased. These results suggest that SMT has the regulative action on immune function of thymocytes and peritoneal macrophages at the late stage of pregnant mice.

Key words—Pregnancy; Cytokines; Phagocytosis; Thymocyte; Macrophage.

모체는 임신을 성공시키기 위해서 많은 생리적인 조절이 필요하다. 특히 세포들 사이에서 자기(self)와 비자기(non-self)를 인식하는 면역계의 조절은 매우 중요하지만, 모체는 태아를 동종이식(allograft)으로 인식하여 면역적응을 필요로 하지 않을 뿐만 아니라, 모체의 면역계는 변화를 받지만 면역결핍을 초래하지는 않는다.¹⁾

모체는 임신 중 일반적으로 specific immunity는 저하되며,^{2,6)} phagocytic activity 같은 non-specific immunity는 증가한다고 알려져 있으며,^{7,8)} 이러한 현상에 대해서는 호르몬(특히 progesterone)이 일부 관련되어 있다는 것이 알려져 있다.^{9,10)}

Progesterone은 사람에게 있어서 정상적인 임신을 위해 필수적이며, 임신 중 면역조절작용에 있어서도 매우

중요하다.¹¹⁾ 건강한 임신부의 lymphocytes는 progesterone receptor가 존재하기 때문에 임신하지 않은 여성의 lymphocytes에 비해 progesterone에 매우 민감하며, progesterone-induced blocking factor (PIBF)를 방출하여 면역조절작용 및 유산 방지효과를 매개하고,¹²⁾ PIBF는 활성화된 lymphocytes에 의해 T_H2 type cytokines의 생산을 유도한다.¹³⁾ 또한 임신 중에는 성호르몬에 의해 흉선의 중량이 감소하고, CD4⁺CD8⁺ thymocytes에서 apoptosis가 일어나 thymocytes의 수가 감소하는 것으로 알려져 있다.¹⁴⁾

임신 중 면역계의 변화는 매우 다양하기 때문에 정확하게 규명되지는 않았지만, estrogen, corticosteroid 및 B-cell activity는 증가하나, Gram(-)균의 phagocytosis, NK cells, immunoglobulin 및 T-cell의 기능은 감소하는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁾

또한 임신 중에는 TNF, IL-1 및 IL-6와 같은 많

*교신저자 : Fax 063-290-1567

은 종류의 cytokine들도 분비되는데, 이들 cytokine들은 분만 직전에 가장 많이 증가하는 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾

임신 중 태아는 모체의 혈(血)에 의해 양육되므로 임신 중에는 항상 혈 부족 상태가 유발되기 쉽기 때문에, 임상에서 임신 중 산모의 혈을 증가시키기 위해 심비간(心脾肝)에 관여하여 생혈(生血), 통혈(統血), 장혈(藏血) 기능을 원활하게 하여 혈증(血症)을 다스리는 대표적 처방인 사물탕을 사용하고 있다.

따라서 본 실험에서는 사물탕이 임신 말기에 면역능에 미치는 영향을 검토하고자 생쥐의 임신기간 21일을 기준으로, 임신 13일부터 19일까지를 임신 말기로 정하여 사물탕을 경구투여한 후 흉선세포 및 복강 macrophage로부터 분비되는 cytokines의 변화를 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 사물탕의 처방구성은 방약합편¹⁷⁾에 준하여 숙지황(*Rehmanniae Radix Preparata*), 백작약(*Paeoniae Radix alba*), 천궁(*Cnidii Rhizoma*), 당귀(*Angelicae Gigantis Radix*) 각 4.5 g으로 하였으며, 사용한 약재들은 시중 건재상에서 구입하여 엄선하여 사용하였다. 사물탕 3점을 종류수로 3시간씩 2회 가열 추출한 다음 여과하여 여액을 감압 농축한 후 동결건조하여 분말(수득율 18.7%, 이하 SMT라 함)을 얻어 실험에 사용하였다.

시약 및 기구 - 실험에 사용한 시약은 RPMI 1640 media, fetal bovine serum(FBS), trypsin은 Gibco (Grand Island, USA)에서, Dulbecco's modified Eagle's medium(DME), penicillin-streptomycin, lipopolysaccharide(LPS from *E. coli* 026:B6), γ -interferon(γ -IFN), MTT, zymosan, sulfanilamide, N-naphthylethylenediamine \cdot 2HCl은 Sigma (St. Louis, USA)에서, mouse γ -interferon(γ -IFN) immunoassay kit, mouse interleukin-2(IL-2) immunoassay kit, mouse interleukin-4(IL-4) immunoassay kit, mouse tumor necrosis factor- α (TNF- α) immunoassay kit는 R&D (Minneapolis, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 기타 시약은 cell culture용 및 1급 시약을 사용하였다. 사용 기구는 culture flask(Nunc), multi-well plate(96-well, 24-well, Costar), 96-well white plate(Berthold), microplate-reader(Dynatech MR5000), CO₂ incubator (Vision scientific Co.), inverted fluoromicroscope

(Zeiss Co.), luminometer(Berthold Co. 96LP) 등을 사용하였다.

임신 생쥐의 사육 - 사용한 생쥐는 8주령 BALB/c 계를 대한실험동물(주)에서 구입하여 온도 20 \pm 2°C, 습도 55 \pm 5%, light/dark 12 시간의 사육 조건에서 1주일 이상 적응시킨 후 사용하였으며, 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 생쥐 암컷과 수컷을 1:1로 cage에 넣고 24시간 후 암컷의 positive mating 결과를 관찰하여 임신 1일로 하였다. 생쥐 임신 기간이 21일이기에, 임신 말기를 13일부터 19일까지로 정하였다.

세포분리 및 배양 조건 - 실험군에 투여한 SMT의 용량은 사람이 사물탕을 1일 2-3첩(엑스로 6.7-10.1 g/60 kg)을 복용하기 때문에 이를 기준으로 사람 용량의 약 3-5 배 용량인 500 mg/kg으로 정하였다. 생쥐의 흉선세포 분리는 Wysocki¹⁸⁾ 및 Mizel¹⁹⁾의 방법을 이용하였다. 1군을 5 마리로 하여 normal group 및 pregnant group은 생리식염수만을, SMT group은 SMT 500 mg/kg을 1일 1회씩 임신 13일부터 19일까지 7일간 경구투여한 후 다음날 경추탈골하여 생쥐를 도살한 후 실험하였다. 적절한 흉선을 각각 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 멸균된 stainless mesh로 여과하여 세포부유액을 얻은 후, DPBS-A로 2회 세척한 다음(1,500 rpm에서 10 분간 원심분리), 흉선세포 부유액으로 하였다.

복강 macrophage의 분리는 동일한 방법으로 약물을 투여하면서 임신 16일째 생쥐 복강에 3% thioglycollate 2 ml를 주입하고, 3일 후에 경추탈골하여 도살시킨 다음, 복강에 cold PBS 10 ml를 넣어 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4°C에서 1,300 rpm으로 10분간 원심분리하고 RPMI 배지로 2회 세척 후, 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO₂ incubator에서 배양시키고 2 시간 후에 부착되지 않은 세포를 제거한 다음, 부착한 복강 macrophage를 cell scraper로 분리하여 사용하였다. 세포배양시 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin (100 units/ml, 100 μ g/ml)을 첨가하여 사용하였다.

세포 증식능 측정 - 흉선세포의 증식능은 MTT법으로 측정하였다. 본 실험에 사용한 MTT법은 Mosmann²⁰⁾이 개발하여 Kotnik²¹⁾이 변형시킨 방법으로, 96-well plate의 각 well에 임신 20일에 분리한 흉선세포를 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에 1 \times 10⁷ cells/ml 농도로 분주하여 concanavalin A

(Con A) 5 µg/ml를 첨가한 후, 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음 배양 종료 4시간 전에 MTT 시약을 가하였다. 배양 종료시 0.1N-HCl에 용해시킨 10% SDS 100 µl를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate-reader로 570 nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 세포생존율을 측정하였다.

Cytokine 측정 - 임신 20일에 분리한 흉선세포(2×10^7 cells/ml) 및 복강 macrophage(2×10^6 cells/ml)를 96 well plate에 200 µl씩 분주한 후 48 시간 동안 CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양액을 원심분리(2,500 rpm, 5분, 4°C)한 다음 상등액 50 µl를 취하여 분비된 흉선세포로부터 분비되는 γ -IFN, IL-2 및 IL-4의 양을, 복강 macrophage로부터 분비되는 TNF- α 의 양을 각각의 mouse immunoassay kit를 이용하여 450 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 표준검량선에 의해 환산하였다.

Nitric oxide 측정 - 임신 20일에 분리한 macrophage를 24 well plate에 well당 2×10^6 cells을 분주한 후 macrophage로부터 생성되는 nitric oxide(NO)의 양을 Griess 시약으로 측정하였다.²²⁾ 각 well에 LPS 1 µg/ml와 IFN- γ 25 units/ml를 첨가하여 24 시간 배양한 후, 배양액 100 µl와 Griess 시약 (1% sulfanilamide + 0.1% N-naphthylendiamine 2HCl + 2.5% H₃PO₄) 100 µl를 혼합하여 96 well module에 넣고, 37°C에서 10분간 방치한 후 570 nm에서 microplate-reader로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO₂의 검량선에 의해 NO₂⁻의 농도를 환산하였다.

Phagocytic activity 측정 - 임신 20일에 분리한 macrophage를 2×10^6 cells/ml가 되도록 DME(without phenol red, 0.34 g/L NaHCO₃, 2.6 g/L Hepes, pH 7.2)에 부유시켜 실험에 사용하였다. Zymosan 용액의 조제는 zymosan 67 mg을 10 ml의 DPBS-A에 넣어 37°C에서 30분간 방치한 후, 동일 양의 DPBS-A로 2회 세척하고 10 ml의 DME에 부유시켜 37°C에서 30분간 처리하였다. 처리된 zymosan을 신선한 DME로 씻어준 후, 10 ml의 DME에 재부유시켜 사용하였다.

Phagocytic activity 측정은 luminometer를 이용하여 측정하였다.^{23,24)} 측정용 microplate(white)의 각 well에 준비된 macrophage 세포부유액 50 µl와 lucigenin 용액 50 µl를 넣고 37°C에서 15분간 전 처리한 후, zymosan 용액 30 µl를 첨가하여 5분 간격으

로 60분 동안 chemiluminescence를 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험 결과들은 mean \pm SE로 나타내었고 통계처리는 student t-test를 실시하여 P < 0.05를 기준으로 하여 유의성 여부를 판정하였다.

결과 및 고찰

흉선세포의 증식에 미치는 효과 - 임신 20일째 흉선세포의 세포생존율을 측정한 결과 concanavalin A (con A)를 처리한 정상군의 세포생존율을 100%로 하였을 때, pregnant group의 세포생존율은 $61.8 \pm 1.5\%$ 로 normal group에 비해 감소되었으며, SMT group은 $83.7 \pm 1.2\%$ 로 pregnant group에 비해 세포생존율이 증가되었으나 normal group에는 미치지 못하였다(Table I). 임신 중 흉선세포의 세포생존율이 감소되었다는 실험 결과는 임신 중 일반적으로 specific immunity가 저하된다는 Hegde²⁾ 및 Szekeres 등³⁾의 결과와 비교할 때 유사한 결과라 할 수 있으며, 임신 중에 SMT를 투여하였을 때 세포생존율이 pregnant group에 비해 증가하였다는 것은 SMT가 임신에 의해 강력하게 저하되는 specific immunity를 어느 정도 회복시킬 수 있음을 시사하는 것이라 할 수 있다.

흉선세포의 γ -interferon, interleukin-2 및 interleukin-4의 생성에 미치는 효과 - 흉선세포에서 분비되는 γ -IFN, IL-2 및 IL-4의 양을 측정된 결과, γ -IFN의 양은 pregnant group에서 52.8 ± 1.9 pg/ml로 normal group 76.4 ± 1.5 pg/ml에 비해 감소되었으나 SMT group은 68.1 ± 1.2 pg/ml로 pregnant group에 비해 증가되었으며, IL-2의 양은 pregnant group에서 231.7 ± 9.1 pg/ml로 normal group 78.7 ± 2.8 pg/ml에

Table I. Effect of Samultang(SMT) on mitogen-stimulated proliferation of murine thymocytes during the late stage of pregnancy in BALB/c mice

Group	Cell viability(%)
Normal group	100.0 \pm 0.9
Pregnant group	61.8 \pm 1.5*
SMT group	83.7 \pm 1.2#

SMT(500 mg/kg) was administered *p.o.* once a day for 7 days, and the separated thymocytes(1×10^7 cells/ml) were cultured for 48 hours in RPMI1640 media mixed with activating mitogen of concanavalin A at 5 µg/ml. The cell viability was determined by MTT method. The data represents the mean \pm SE of 5 mice. *, Significantly different from a normal group($p < 0.001$). #, Significantly different from a pregnant group($p < 0.001$).

Table II. Effect of SMT on the production of cytokines in murine thymocytes during the late stage of pregnancy

Group	Production of Cytokine(pg/ml)		
	γ -Interferon	Interleukin-2	Interleukin-4
Normal group	76.4 \pm 1.5	78.7 \pm 2.8	98.2 \pm 2.2
Pregnant group	52.8 \pm 1.9*	231.7 \pm 9.1**	121.4 \pm 3.7*
SMT group	68.1 \pm 1.2#	136.6 \pm 3.8##	174.5 \pm 7.0#

SMT(500 mg/kg) was administered *p.o.* once a day for 7 days, and the separated thymocytes(2×10^7 cells/ml) were cultured for 48 hours in RPMI1640 media. The secretion of cytokines was determined in supernatants of cultures with ELISA kit. The data represents the mean \pm SE of 5 mice. *, Significantly different from a normal group(*; $p < 0.05$, **; $p < 0.001$). #; Significantly different from a pregnant group(#; $p < 0.05$, ##; $p < 0.001$).

비해 증가되었으나 SMT group은 136.6 \pm 3.8 pg/ml로 pregnant group에 비해 감소되었고, IL-4 양은 pregnant group에서 121.4 \pm 3.7 pg/ml로 normal group 98.2 \pm 2.2 pg/ml에 비해 증가하였으며, SMT group은 174.5 \pm 7.0 pg/ml로 pregnant group에 비해 더욱 증가하였다(Table II).

γ -IFN은 T_H1 세포와 NK 세포에서 주로 분비되며, macrophage를 활성화한다. 따라서 모체의 cytokines는 성장하는 태아의 생과 사에 결정적인 역할을 한다. 사람에서는 γ -IFN과 IL-2와 같은 T_H1 cytokines 및 TNF- α 는 일반적으로 임신을 유지하는데 유해하기 때문에 분비가 억제되나, IL-4와 IL-10과 같은 T_H2 cytokines는 분비가 증가하는 것으로 알려져 있으며, T_H1/T_H2 cytokine ratio가 임신 중에는 감소되는 것으로 밝혀졌다.²⁵⁻²⁷ 본 실험 결과에서 임신 중 IL-2의 양이 증가하였는데, 이는 thymocytes에서만 분비되는 cytokine을 측정하였기 때문인지 아니면 사람과 생쥐의 개체 차에 의한 것인지는 추후 연구되어야 과제이다. 임신 중 SMT를 투여시 γ -IFN 및 IL-4의 양이 증가하고 IL-2의 양이 감소하였다는 것은 SMT를 임신 중에 복용하였을 때 thymocytes로부터 분비되는 cytokines의 양적인 변화를 나타내어 면역계에 영향을 줄 수 있음을 시사하는 것이지만, SMT에 의해 변화되는 cytokines이 임신에 유익하게 작용할지 해롭게 작용할지에 대해서는 본 실험의 결과만으로 단정하기 어려우며 더 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

복강 macrophage의 tumor necrosis factor- α 의 생성에 미치는 효과 - 복강 macrophage에서 분비되는 TNF- α 의 양을 임신 말기에 측정한 결과, TNF- α 양은 pregnant group에서 483.5 \pm 12.4 pg/ml로 normal group 300.7 \pm 9.5 pg/ml에 비해 증가되었으나, SMT group은 367.9 \pm 10.7 pg/ml로 pregnant group에 비해 감소되었다(Table III).

TNF- α 의 양은 분만 직전에 증가하여 분만시 필수

Table III. Effect of SMT on the production of Tumor necrosis factor- α in murine peritoneal macrophage during the late stage of pregnancy

Group	Tumor necrosis factor- α (pg/ml)
Normal group	300.7 \pm 9.5
Pregnant group	483.5 \pm 12.4*
SMT group	367.9 \pm 10.7#

SMT(500 mg/kg) was administered *p.o.* once a day for 7 days, and then 3% thioglycollate was injected *i.p.* at the 4th day. Peritoneal macrophages(2×10^6 cells/ml) obtained after 2 hours adherence period were cultured for 48 hours in RPMI1640 media. The secretion of cytokines was determined in supernatants of cultures with ELISA kit. The data represents the mean \pm SE of 5 mice. *, Significantly different from a normal group(*; $p < 0.01$). #; Significantly different from a pregnant group(#; $p < 0.01$).

적인 prostaglandins의 합성을 촉진하는 것으로 알려져 있으나,^{28,29} 사람에서는 TNF- α 는 조기 유산과 관련되어 있어 과도한 TNF- α 의 증가는 임신을 유지하는데 해로운 것으로 알려져 있다.³⁰ 임신 중 TNF- α 의 양이 증가하였는데, SMT 투여에 의해 감소하였다는 것은 SMT가 macrophage로부터 TNF- α 가 과도하게 분비되는 것을 억제하여 임신에 유익하게 작용할 수 있음을 의미하는 것이라 사료된다.

복강 macrophage의 nitric oxide 생성에 미치는 효과 - Normal group의 macrophage에 LPS와 IFN- γ 를 처리하였을 때 nitric oxide(NO) 생성량은 pregnant group에서 36.4 \pm 1.2 μ M로 normal group 12.2 \pm 1.1 μ M에 비해 증가되었으나, SMT group은 25.4 \pm 1.4 μ M로 pregnant group에 비해 감소되었다(Table IV).

Macrophages에서 분비되는 nitric oxide는 성장하는 태아에 대해 직접적으로 유해하다는 Elias 등³¹의 보고와 비교할 때, 성장이 이미 끝난 임신 말기에 nitric oxide가 어떠한 역할을 할 것인가에 대해서는

Table IV. Effect of SMT on the production of nitric oxide in murine peritoneal macrophage during the late stage of pregnancy

Group	Nitric oxide(μ M)
Normal	12.2 \pm 1.1
Pregnant group	36.4 \pm 1.2*
SMT group	25.4 \pm 1.4#

SMT(500 mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and then 3% thioglycollate was injected i.p. at the 4th day. Peritoneal macrophages(2×10^6 cells/ml) obtained after 2 hours adherence period were cultured for 24 hours in RPMI1640 media mixed with γ -interferone and lipopolysaccharide. The data represents the mean \pm SE of 5 mice. *, Significantly different from a normal group($p < 0.001$). #; Significantly different from a pregnant group ($p < 0.01$).

nitric oxide가 생체에 미치는 영향이 다양하기 때문에 본 실험의 결과로 정확히 설명하기는 어렵다. 다만, nitric oxide가 T cell의 증식을 억제한다는 Taylor 등의 보고³²⁾와 macrophage에서 분비되는 nitric oxide에 의해 자기 면역계가 억제된다는 Liew 등의 보고³³⁾와 비교하여 볼 때, 임신 말기에 감소된 thymocytes의 증식이 nitric oxide의 증가에 기인된 것이 아닌가 추정되지만 자세한 기전은 추후 연구되어야 할 것이다.

복강 macrophage의 phagocytic activity에 미치는 효과 - 복강 macrophage의 phagocytic activity는 pregnant group에서 normal group에 비해 증가되었으며, SMT group은 pregnant group 보다 더욱 증가하였다(Fig. 1).

임신 말기에 macrophage로부터 lucigenin chemiluminescence(CL)를 측정된 결과 pregnant group에서 normal group에 비해 증가되었으며, SMT group에서 pregnant group에 비해 lucigenin chemiluminescence가 더욱 증가되었다. CL은 luminol 또는 lucigenin 등에 의해 증가되는데, luminol-dependent chemiluminescence는 myeloperoxidase-H₂O₂ system과 관련되어 있으며, lucigenin-dependent CL은 phagocyte에 의해 생성되는 superoxide와 관련이 있는 것으로 알려져 있다.^{34,35)}

Pregnant group에서 복강 macrophage의 lucigenin chemiluminescence가 증가하였으며 SMT group에서 더욱 증가하였다는 것은 macrophage의 phagocytic activity가 증가하였다는 것을 의미한다. 이러한 결과는 임신 중 phagocytic activity가 증가된다는 Carmen³⁶⁾의 보고와도 일치하는 것이다.

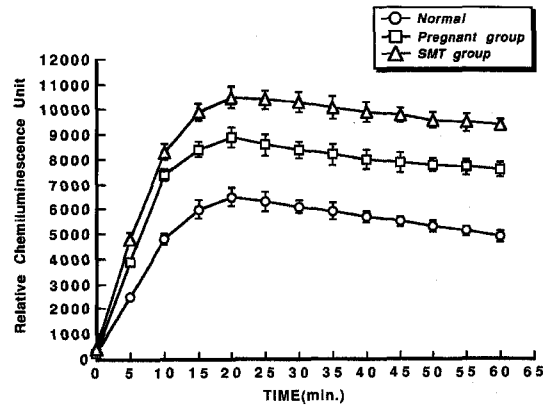


Fig. 1. Effect of SMT on lucigenin chemiluminescence in murine peritoneal macrophages during the late stage of pregnancy in mice.

SMT(500 mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and then 3% thioglycollate was injected i.p. at the 4th day. Peritoneal macrophages(2×10^6 cells/ml) obtained after 2 hours adherence period were cultured in DME media (without phenol red) containing opsonized zymosan. The lucigenin chemiluminescence was measured at 5 min. intervals for 60 min. Other procedures were described as detailed in the materials and method section. Each point represents the mean \pm SE of 5 mice.

결론

사물탕은 임신 말기에 thymocytes 및 macrophages로부터 분비되는 cytokines 및 macrophages의 phagocytic activity를 조절하는 작용이 있다고 사료된다.

사사

본 논문은 2000년도 우석대학교 학술연구조성비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Gordon M. S. (1994) Pregnancy and immunity. *British Medical J.*, 308: 1385-1386.
- Hegde, U. C. (1991) Immunomodulation of the mother during pregnancy. *Med. Hypotheses*, 35: 159-164.
- Szekeress-Bartho, J., Csernus, V., Hadnagy, J. and Pasca, A.S. (1983) Immunosuppressive effect of sera progesterone during pregnancy depends on the progesterone binding capacity of the lymphocytes. *J.*

- Reprod Immunol.* 5: 81-88.
4. Szekeres-Bartho, J. (1990) Endocrine regulation of the immune system during pregnancy. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 38: 126-140.
 5. Sridama, V., Pacini, F. and Yang, S. L. (1982) Decreased levels of helper T cells: a possible cause of immunodeficiency in pregnancy. *N. Engl. J. Med.*, 307: 352-356.
 6. Castilla, J., Rueda, R. and Vargas, M. L. (1989) Decreased levels of circulating CD4⁺ T lymphocytes during normal human pregnancy. *J. Reprod Immunol.*, 15: 103-111.
 7. Sevaraj, R. J., Sbarra, A. J. and Thomas, G. B. (1992) A microtechnique for studying chemiluminescence response of phagocytes in pregnancy. *J. Reticuloendothel. Soc.* 31: 3-16.
 8. Shibuya, T., Izuchi, K. and Kuroiwa, A. (1987) Study on nonspecific immunity in pregnant women: increased chemiluminescence response of peripheral blood phagocytes. *Am. J. Reprod Immunol. Microbiol.*, 15: 19-23.
 9. Mannel, D. N., Falk, W. and Yron, I. (1990) Inhibition of murine cytotoxic T cell responses by progesterone. *Immunol. Lett.*, 26: 89-94.
 10. Davies, M. and Browne, C. M. (1985) Pregnancy-associated nonspecific immunosuppression: Kinetics of the generation and identification of the active factors. *Am. J. Reprod Immunol.* 9: 77-83.
 11. Hasen P. J., Bazer F. W. and Segerson E. C. (1986) Skin graft survival in the uterine lumen of ewes treated with progesterone. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* 12: 48-54.
 12. Szekeres J., Csernus V., Pejtsik B., Emody L. and Pasca A. S. (1981) Progesterone as an immunologic blocking factor in human pregnancy serum. *J. Reprod. Immunol.* 3: 333-339.
 13. Szereday L., Varga P. and Szekeres-Bartho J. (1997) Cytokine production by lymphocytes in pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 38: 418-422.
 14. Ann G. C. and Marion D. K. (1994) The thymus in pregnancy: the interplay of neural, endocrine and immune influences. *Immunology Today*, 15(11): 545-551.
 15. Kristen D. P. (1997) Immunologic adaptations during pregnancy. *L. Obstet. Gynecol. Neonatal Nurs.*, 26(4): 388-394.
 16. Opsjon, S. L., Wathen, N. C., Tingulstad, S., Wiedswang, G., Sundan, A. Waage, A. and Austgulen, R. (1993) Tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy. *Am. J. Obstet Gynecol.*, 169: 397-404.
 17. 申載鏞 (1988) 方藥合編解説, 62, 서울, 成輔社.
 18. Wysocki, L. J. and Sato, V. L. (1978) Planning for lymphocytes A method for cell selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75: 2844-2848.
 19. Mizel, S. B., Openheim, J. J. and Rosensteich, D. L. (1979) Characterization of lymphocyte-activating factor(LAF) produced by the macrophage cell line P388D1. *J. Immunol.* 120: 1497-1503.
 20. Mosmann, T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. *J. Immunol. methods.* 65: 55-63.
 21. Kotnic, V. and Fleischmann, W. R. Jr. (1990) A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. *J. Immunol. methods.* 129: 23-30.
 22. Rockett, K. A., Awburn, M. M., Cowden, W. B. and Clark, I. A. (1991) Killing of Plasmodium falciparum *in vitro* by nitric oxide derivatives. *Infect. Immunity*, 59(9): 3280-3283.
 23. Blair, A. L., Cree, I. A., Beck, J. S. and Hating, M. J. G. (1988) Measurement of phagocyte chemiluminescence in a microtiter plate format. *J. Immunol. Methods*, 112: 163-168.
 24. Boudard, F., Vallot, N., Cabaner, C. and Bastide, M. (1994) Chemiluminescence and nitrite determinations by the MALU macrophage cell line. *J. Immunol. Methods*, 174: 259-268.
 25. Anthony, S. R., Carol, J., Christine, C. and Walter, P. M. (1997) Evidence for reduced Th1 function in normal pregnancy: A hypothesis for the remission of rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 24(6): 1045-1050.
 26. Christina, E., Lief, M., Goran, B. and Jan, E. (1997) Paternal leukocytes selectively increase secretion of IL-4 in peripheral blood during normal pregnancies: Demonstrated by a novel one-way MLC measuring cytokine secretion. *Am. J. Reprod. Immunol.* 38(5): 320-326.
 27. Gunter, R., Arno, N., Harald, S., Peter, M. and Alexander, V. R. (1998) Shifts in the T_H1/T_H2 balance during human pregnancy correlate with apoptotic changes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 245(3): 933-938.
 28. Josep, M. A., Neus, C. and Francisco, J. L. (1997) TNF and pregnancy: the paradigm of a complex interaction. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 8(3): 181-188.
 29. Davies, M. and Browne, C. M. (1985) Pregnancy

- associated nonspecific immunosuppression: Mechanism for the activation of the immunosuppressive factors. *Am. J. Repord Immunol.* 9: 84-90.
30. Casey, M. L., Cox, S. M. Beutler, B., Milewich, L. and McDonald P. C. (1989) Cachectin/tumor necrosis factor-alpha formation in human decidua. Potential role of cytokines in infection-induced preterm labor. *L. Clin. Invest.* 83: 430-436.
 31. Elias K. H., Alain J. D., Emilia A., Wayne S. L. and Malcolm G. B. (1997) Role of interferon- γ in the priming of decidual macrophages for nitric oxide production and early pregnancy loss. *Cellular Immunol.* 181: 68-75.
 32. Taylor, A. W., Severn, A., Xu, D., Mcsorley, S. J., Garside, P., Pardon, J. and Phillip, R. S. (1994) *Eur. J. Immunol.*, 24: 980-984.
 33. Liew, F. Y. and Cox, F. E. G. (1991) *Immunoparasitology Today*, 7: A17-21.
 34. Holt, M. E., Ryall, M. E. T. and Campbell, A. K. (1984) Albumin inhibits human polymorphonuclear leukocyte luminol-dependent chemiluminescence: evidence for oxygen radical scavenging. *Br. J. Exp. Pathol.* 65: 231-237.
 35. Breiheim, G., Stendahl, O. and Dahlgren, C. (1984) Intra- and extracellular events in luminol-dependent chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes. *Infect. Immun.* 45: 1-6.
 36. Carmen, B., Ana, B. R. and Eduardo, O. (1994) Increased phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes during pregnancy. *Eur. J. Obstetrics & Gynecology*. 57: 43-46.

(2000년 3월 15일 접수)