

태반혈청이 사람의 임파구 배양에 미치는 영향*

가톨릭대학 의학부 미생물학교실

임병욱 · 김금용 · 이종훈

= Abstract =

Effect of Placental Serum to Cultures of the Healthy* Human Peripheral Blood Lymphocytes

Byung-Uk Lim, Gum-Ryong Kim and Chong-Hoon Lee

Department of Microbiology, Catholic Medical College
Seoul, Korea

To investigate the effects of placental serum to *in vitro* culture of the normal human lymphocytes, the peripheral blood lymphocytes were isolated by ficoll-hypaque separation method in 20 healthy human adults.

The blast transformation response of lymphocytes to mitogens were observed by stimulation with PHA(25 μ g/ml) and Con A(25 μ g/ml) using RPMI 1640 media containing 20% placental serum(PS), fetal calf serum(FCS), or human AB serum(AB).

And one-way mixed lymphocyte culture test was performed between these unrelated person compounded into stimulators and responders to investigate the effect of placental serum.

The following results were obtained.

1. In 20 experimental cases, these were no significant difference between FCS, AB, and PS in untreated control cultures.
2. In PHA-treated cultures, whereas the blast transformation rate of the FCS groups and AB groups were $40.8 \pm 4.3\%$ and $44.6 \pm 4.3\%$ respectively, that of PS groups were $21.7 \pm 3.4\%$. Similar results were obtained in Con A-treated cultures. Therefore, placental serum inhibited the mitogenic response of lymphocytes significantly.
3. In MLC tests, stimulation index of the FCS groups and AB groups were 18.5 ± 3.5 and 20.1 ± 3.3 respectively. But placental serum inhibited MLC response of lymphocytes significantly(7.4 ± 1.9).

서 론

임파구가 면역반응에 있어서 증추적인 역할을 담당하고 있다는 것이 밝혀진 이래 *in vitro*에서 임파구를 중심으로 한 각종 연구가 진행되어 오늘날에는 인체의 면역기구에 관한 많은 부분이 밝혀졌다. 특히 태아를 임신한 임신부의 경우에는 매우 복잡한 면역억제 현상

이 *in vivo*에서 일어나고 있음도 주지된 사실이다.

임신부나 산모의 혈청을 여러 면역학적인 방법으로 분석하여 보면 그 혈청내에는 비특이적으로 면역억제 현상을 발휘하는 물질이 있는 것으로 보고되고 있으며 (Stimson, 1976; Damber et al., 1975; Johannsen et al., 1976; Cerni et al., 1977; Contractor & Davies, 1973; Murgita et al., 1978; Yachnin & Lester, 1976; Morse et al., 1976; Caldwell et al., 1975;

*이 논문은 1982년도 문교부 학술연구 조성비와 가톨릭중앙의료원 학술연구 조성비에 의하여 연구되었음.

Cruzen & Gaugas, 1973; Jenkins & Hancock, 1972; Kasakura, 1971), 또한 임신부의 혈청내에는 태아의 HLA 조직항원에 대한 항 HLA 항체도 존재하여(Winchester et al., 1975; Jonker et al., 1977) 이들 물질이 복합적으로 작용하여 임신기간 중 모체의 면역반응에 대한 억제효과를 발휘하고 있는 것으로 밝혀지고 있다. 그러나 태반에서 추출해낸 태반혈청이 인체의 면역반응 특히 임파구에 어떠한 영향을 미치는 지에 대하여는 아직 보고된 바가 없다. 따라서 저자들은 본 대학부속병원 산실로부터 태반을 수거, 혈청을 분리한 다음 Park과 Terasaki(1979)가 개발한 보체의존성 임파구독성시험법을 시행, 태반혈청내의 항 HLA 항체 유무를 검정한 다음, 항 HLA 항체가 없는 태반혈청만을 선별하고, 건강성인 남자 20명에서 분리한 말초혈액임파구를 PHA 및 Con A로 처리하여 이들에 대한 태반혈청의 영향을 조사하고, 나아가서 이들 임파구군을 자극제 및 반응세포군으로 맞추어 임파구혼합배양을 실시하여 대조혈청인 우태아혈청 및 human AB 혈청과의 차이점을 비교, 분석하여 태반혈청이 사람의 임파구 배양에 미치는 영향을 조사하고자 본실험을 실시하였다.

실험 재료 및 방법

1. 검사대상 및 말초혈액채취

20~30세 사이의 건강성인 남자 20명의 전박요측피경맥(cephalic vein)으로부터 heparin이 함유된 혈액채취용 시험관인 vacutainer(125×16mm, sodium heparin 286 USP unit, Division of Becton, Dickinson and company, U.S.A)를 사용하여 말초혈액을 채취하였다.

2. 임파구 분리

채취한 말초혈액을 1000×g로 10분간 원침하여 그연층(buffy coat)만을 채취하여 Hank's balanced salt solution(이하 HBSS로 약기)을 동량 첨가하여 잘 혼합한 다음 Jondal(1972)의 방법에 따라 제조한 ficoll/hypaque 비중차 용액(비중 1.070) 위에 조심스럽게 증층시키고 1000×g에서 10분간 원침하여 임파구층만을 pasteur pipet로 회수하였다. 그리고 이것을 25mM HEPES buffer가 함유된 RPMI 1640 배양액(pH7.2)에 부유시키고 400×g로 10분간 3회 반복 원침하여 세척한 다음 동일 배양액에 재부유시켜 세포농도가 1.0×10⁶/ml 되도록 조정하였다가 실험에 사용하였다.

3. 태반 혈청 분리

본 대학 부속병원 산실로부터 -20°C에 보관시켜 두었던 태반을 2~4°C에서 녹여 세절한 다음 본교실에서 제작한 유압식 압축기를 사용하여 압축, 태반 추출물을 분리하였다. 그 다음 이 추출물을 4°C에서 15,000×g로 30분간 원침하여 조직성분을 제거하고 상침물을 회수하여 -80°C에 보관하였다가 실험에 사용하였으며 이들중 각 3ml를 transfer pipet에 옮겨 담은 후 100~150개의 HLA 항원형이 알려져 있는 spleen lymphocyte 세포 panel을 사용하여 Park과 Terasaki(1979)가 개발한 Complement dependent microlymphocytotoxicity 법을 시행하여 태반혈청내의 항 HLA-A, B, C 및 DR 항체의 유무를 분석하였으며 그 결과 항 HLA 항체가 없는 것으로 밝혀진 태반혈청만을 선별하여 pooling 한 다음 56°C에 30분간 비동화시켜 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

4. 임파구 배양시험

1) Mitogen 처리 배양

임파구를 mitogen으로 자극시켜 배양했을 때 태반혈청이 어떠한 영향을 미치는 지를 조사하기 위하여 96 well tissue culture plate(costar, #3596, Cambridge, U.S.A)의 well에 1×10⁶/ml로 조정된 임파구 부유액 200 μ l을 넣고 태반혈청을 20%되게 첨가한 다음 여기에 mitogen으로 Phytohemagglutinin(Difco Laboratories, Detroit, Michigan, U.S.A; 이하 PHA로 약기) 또는 Concanavalin A(Calbiochem-Behring corp., La Jolla, U.S.A. 이하 Con A 약기)를 각각 25 μ g/ml 되도록 가하였으며 이것을 5% CO₂ 배양기에서 37°C로 72시간 동안 배양하여 mitogen에 대한 아세포화변환율을 관찰하였다. 아세포화변환율의 관찰은 최종 배양일에 각 well로부터 세포를 회수, slide 위에 도말, 고정한 후 May-Grünwald-Giemsa 염색표본을 만든 다음 Gani(1976)의 판정기준에 따라 각 well 내의 임파구의 아세포화변환율을 산출하였다.

이상의 실험에는 대조군으로 태반혈청 대신 20%의 FCS이 첨가된 실험결과 20%의 human AB serum이 첨가된 실험결과를 각각 두었으며 모든 실험은 3배수로 실시하여 그 평균치를 실험성적으로 삼았다.

2) 임파구혼합배양 시험

태반혈청이 임파구 혼합배양시 어떤 영향을 미치는 가를 알아보기 위하여 20명의 실험대상자를 자극세포군과 반응세포군으로 조합시켜 이들 중 자극세포군으로 사용할 임파구부유액을 mitomycin C로 25 μ g/ml 되도록

첨가, 37°C에서 30분간 반응시켜 DNA 합성을 차단시킨 다음 RPMI 1640 배양액으로 3회 세척한 다음 다시 동일배양액에 $1 \times 10^6/ml$ 되도록 재부유시켰다. 그 후 각 반응세포군과 자극세포군을 $100 \mu l$ 씩 well에 분주, 혼합한 다음 우태아혈청, human AB 혈청 및 태반혈청을 각각 20%되게 첨가하여 대조군과 함께 5% incubator에서 37°C로 120시간 배양하였으며 배양최종일에 세포를 회수, 위과 같은 방법으로 염색, 표본을 만든 다음 반응결과를 관찰하고 아래 공식에 의거 stimulation index를 산출하여

$$\text{Stimulation index} = \frac{\text{MLC 아세포변환율} - \text{대조군}}{100 - \text{대조군 아세포}}$$

$$\frac{\text{아세포변환율}}{\text{변환율}} \times 100$$

태반혈청이 임파구혼합배양에 미치는 영향을 대조군과 비교, 관찰하였다.

성 적

1. 임파구의 mitogen 반응에 대한 태반혈청의 영향

1) Mitogen 처리하지 않은 대조군

20명의 검사대상자로부터 분리한 말초혈액임파구를 각각 우태아혈청, human AB 혈청 및 태반혈청이 20% 함유된 RIMP 1640 배양액에서 72시간 및 120시간 동안 배양하여 그 반응을 관찰한 결과 표 1과 같은 성적을 얻었다. 즉 3일 배양한 경우 각 실험군의 평균 자연아세포변환율(spontaneous transformation rate)은 우태아혈청실험군의 $4.2 \pm 1.1\%$, human AB 혈청 실험군이 $4.5 \pm 1.8\%$, 태반혈청군이 $3.9 \pm 1.4\%$ 로 나타났으며 5일 배양한 경우에는 우태아혈청실험군이 $5.3 \pm 2.2\%$, human AB 혈청실험군이 $5.0 \pm 2.6\%$, 태반혈청실험군이 $4.8 \pm 1.8\%$ 등으로 나타나 각 혈청별에 따른 큰 차이는 없는 것으로 나타났다.

2) Mitogen 처리군

검사대상자로부터 분리한 말초혈액임파구를 mitogen으로 처리한 후 배양하였을 때 태반혈청이 미치는 영향을 알아보기 위하여 각 실험군을 $25 \mu g/ml$ 의 PHA와 $25 \mu g/ml$ 의 Con A로 처리하여 각 혈청이 20% 함유된 RPMI 1640 배양액에서 72시간 배양한 후 아세포변환율을 관찰한 결과 그림 1, 2, 와 같은 성적을 얻었다. 즉 PHA 처리 배양실험군의 경우 우태아혈청 실험군이 $40.8 \pm 4.3\%$ human AB 혈청 실험군이 $44.6 \pm 4.3\%$ 의 아세포변환율을 나타냈으나 태반혈청실험군은 $21.7 \pm 3.4\%$ 의 아세포변환율을 보여 태반혈청이 임파구의 PHA에 대한 반응을 현저하게 억제하는 것으로

나타났으며, Con A 처리 배양 실험군의 경우 우태아혈청 실험군이 $30.1 \pm 4.1\%$ human, AB 혈청 실험군이 $28.6 \pm 4.6\%$ 로 나타났으나 태반혈청실험군은 $19.3 \pm 3.4\%$ 의 아세포변환율을 보여 대조혈청에 비하여 임파구의 Con A에 대한 반응을 크게 억제시킨 것으로 나타났다.

Table 1. Effects of placental serum to lymphocyte culture for 3 and 5 day control cultures in healthy human adults

Kinds of serum tested	Sportaneous transformation rate(%)	
	3 day culture	5 day culture
FCS	4.2 ± 1.1	5.3 ± 2.2
AB	4.5 ± 1.8	5.0 ± 2.6
PS	3.9 ± 1.4	4.8 ± 1.8

FCS: Fetal calf serum, AB: Human AB serum, PS: Placental serum

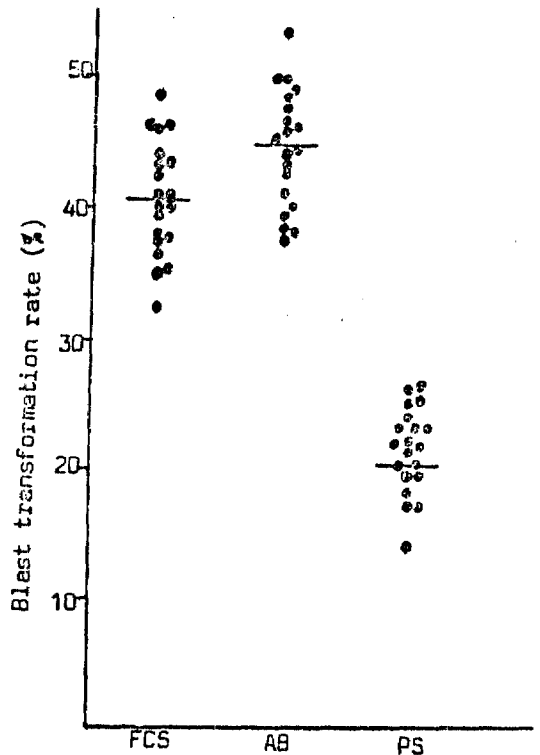


Fig. 1. Effects of placental serum to PHA response of normal lymphocytes. (FCS; fetal calf serum, AB; human AB serum, PS; placental serum)

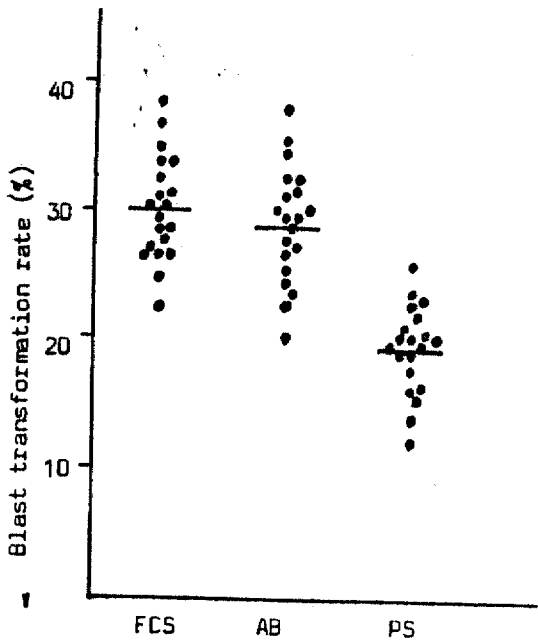


Fig. 2. Effects of placental serum to Con A response of normal lymphocytes. (FCS; fetal calf serum, AB; human AB serum, PS; placental serum)

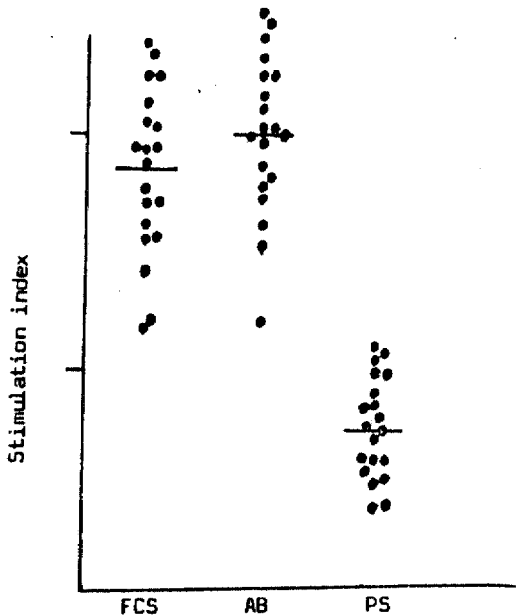


Fig. 3. Effects of placental serum to mixed lymphocyte culture response between unrelated persons (FCS; fetal calf serum, AB; human AB serum, PS; placental serum)

2. 처리군임파구혼합배양에 대한 태반혈청의 영향

검사대상자의 말초혈액으로부터 임파구를 분리한 후 이들을 반응세포군과 자극세포군으로 맞추어 총 20개의 임파구혼합배양을 실시, stimulation index를 얻은 후 대조혈청과 태반혈청이 임파구혼합배양에 미치는 영향을 비교, 분석한 결과 그림 3과 같은 성적을 얻었다. 즉 우태아혈청의 첨가된 대조실험군에서는 stimulation index가 최하 11.6에서 최고 23.8까지 평균 18.5 ± 3.5 의 반응치를 보였으며 human AB 혈청이 함유된 대조실험군에서는 최하 12.3에서 최고 25.2까지 평균 20.1 ± 3.3 의 반응치를 나타냈으나 태반혈청이 20% 함유된 실험군에서는 최하 4.2에서 최고 10.4까지 평균 7.4 ± 1.9 의 반응치를 보여 태반혈청이 다른 대조혈청보다 임파구혼합배양 반응을 현저하게 억제한 것으로 나타났다.

고 찰

20세기 후반에 이르러 시작된 면역학의 눈부신 발전으로 인하여 각종 면역반응의 기전이 자세히 밝혀지고 있으며 또한 면역반응에 관여하는 각종세포 특히 임파구가 면역계의 중추적인 역할을 담당하고 있음이 이미 알려졌다(Roitt et al., 1969; Taylor, 1963; Cohen et al., 1970; Blomgren & Anderson, 1969; Davis et al., 1967; Mitchell & Miller, 1968). 따라서 *in vitro*에서 임파구를 중심으로 한 여러 세포를 이용하여 각종 면역반응의 기전을 밝혀내는 여러가지 실험방법이 다양하게 개발되어 왔다. *in vitro*에서 임파구를 적절하게 유지시키기 위하여는 배양액의 성분, 배양온도, pH 등 여러가지 요인이 잘 조화를 이루어야 하며 특히 배양액속에는 혈청을 일정량 첨가하여 배양하여야만 각종 면역실험기간 중 임파구를 *in vivo*에 가버운 상태로 유지시킬 수 있음은 주지된 사실이다.

현재까지는 배양액에 첨가되는 혈청으로는 각종 nonspecific inhibitor 및 항체 등이 거의 없는 우태아혈청(fetal calf serum)이 널리 사용되고 있으며 이외에 human AB 혈청이 흔히 쓰이고 있다. 그러나 저자들은 이들 혈청 이외에 사람의 태반으로부터 추출하여 얻어진 혈청을 사용하여 이 태반혈청이 사람의 임파구 배양에 있어서 어떠한 영향을 미치는지를 조사하여 다량으로 얻을 수 있는 태반혈청이 기존혈청과의 대체사용이 가능한지를 알아보려고 하였다. 본 실험에서는 가끔적 신선한 태반을 얻고자 본 대학 부속병원 산실로

부터 분만 직후 얻어진 태반을 즉시 -20°C 에 보관하였다가 본 실험실로 운반하여 실험에 사용하였다.

태반혈청내에는 태아의 HLA 조직항원에 대하여 산모에서 생성된 항 HLA 항체가 다량 존재하게 되므로 이 항체가 임파구의 각종 반응에 미치는 영향을 제거하기 위하여 저자들은 HLA 조직형이 알려져 있는 150명의 임파구 세포 panel를 사용하여 Park와 Terasaki (1979)의 complement dependent microlymphocytotoxicity 법에 따라 태반혈청내에 함유된 항 HLA 항체 유무를 검정하였으며 그 결과 항 HLA 항체가 없는 것으로 밝혀진 태반혈청만을 사용하였다. 먼저 분리된 임파구를 우태아혈청, human AB혈청 및 태반혈청이 일정량 함유된 배양액 속에서 배양한 대조실험에서는 3일 배양이나 5일 배양의 경우 모두 각혈청간의 차이는 크지 않은 것으로 나타났으나 mitogen으로 처리한 실험이나 임파구혼합배양을 실시한 경우에는 태반혈청이 모두 대조혈청에 비해 이들 면역반응을 현저하게 억제하는 것으로 나타났다. 즉 PHA 처리배양 실험의 경우 우태아혈청 실험군과 human AB혈청 실험군의 아세포화변환율은 각각 $40.8 \pm 4.3\%$ 및 $44.6 \pm 4.3\%$ 로 나타내며 반해 태반혈청 실험군은 $21.7 \pm 3.4\%$ 로 나타나 태반혈청이 T-임파구 mitogen인 PHA의 임파구에 대한 반응을 현저하게 억제시키는 것으로 나타났으며 역시 T-임파구 mitogen인 Con A의 경우에는 비슷한 억제현상을 보였다.

또한 임파구혼합배양에 따른 태반혈청의 영향에 관한 실험에서도 우태아혈청실험군 및 human AB혈청 실험군의 경우 18.5 ± 3.5 및 $20.1 \pm 3.3\%$ 의 stimulation index를 나타내며 비해 태반혈청 실험군의 경우에는 7.4 ± 1.9 의 stimulation index를 보여 역시 태반혈청이 임파구의 혼합배양반응을 현저히 억제하는 것으로 나타났다.

이상과 같이 태반혈청의 특성 및 성분을 조사한 보고는 아직 별로 없으나 Stimson(1980)은 임신부의 혈청(pregnancy serum)을 이용한 실험에서 임신부의 혈청내에는 pregnancy-associated α_2 -glycoprotein, pregnancy-specific β_1 -glycoprotein, human placental lactogen, alpha-fetoprotein, 그리고 chorionic gonadotrophin과 같은 물질들이 존재하여 비특이적으로 면역억제효과를 발휘하여 임파구의 PHA 반응 및 MLC 반응을 억제한다고 보고하였고, Bissenden들(1980)도 이와 비슷한 결과를 보고하였으며 Birkeland와 Kristoffer sen(1980)도 임신중에는 Con A에 대한 반응이 저하된다는 보고를 통해 임신부의 혈청내에 면역억제 물질이 존재함을 암시하였다.

이상 여러 연구자들의 보고와 본 실험성적을 비교하여 볼 때 태반혈청내에도 비특이적으로 면역억제효과를 발휘하는 물질이 존재할 것으로 생각되며 이로 인하여 임파구의 mitogen에 대한 반응이나 임파구혼합배양 반응이 억제된 것으로 사료된다. 그러므로 태반혈청은 기존 사용되고 있는 우태아혈청 및 human AB혈청에 대체하여 사용할 수는 없으나 이 태반혈청내에 함유되어 있을 것으로 생각되는 비특이적 면역억제 물질에 관해 계속적인 연구 및 분석을 진행한다면 임신중 지속되는 면역억제현상을 파악하는데 큰 도움이 될 것으로 사료된다.

결 론

사람의 태반에서 추출한 태반혈청이 건강성인 임파구에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하기 위하여 건강성인 남자 20명에서 분리한 말초혈액임파구를 태반혈청이 20% 함유된 배양액에서 PHA 및 ConA로 처리하여 mitogen에 대한 반응을 조사하였으며 이들 임파구를 자극세포군과 반응세포군으로 맞추어 임파구혼합배양실험을 실시하여 우태아혈청 및 human AB혈청이 첨가된 대조군과 비교, 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 임파구를 각 혈청이 함유된 배양액에서 3일 및 5일 배양하여 자연아세포화변환율을 측정할 결과 각 혈청간에는 큰 차이가 없었다.
2. PHA 처리 실험군에 있어서는 태아혈청실험군 및 human AB혈청실험군의 아세포화변환율이 $40.8 \pm 4.3\%$ 및 $44.6 \pm 4.3\%$ 인데 비해 태반혈청실험군은 $21.7 \pm 3.4\%$ 의 아세포화변환율을 보여 태반혈청이 임파구의 PHA 반응을 현저하게 억제하였으며 Con A 처리실험군도 태반혈청에 의해 현저히 반응이 억제되었다.
3. 임파구혼합배양실험에 있어서도 우태아혈청 및 human AB혈청 실험군의 stimulation index가 18.5 ± 3.5 , 20.1 ± 3.3 인데 비하여 태반혈청 실험군은 7.4 ± 1.9 의 stimulation index를 보여 태반혈청이 임파구 혼합배양반응도 현저히 억제하였다.

참 고 문 헌

- Birkeland, S.A. and Kristoffersen, K.: *Lymphocyte Transformations and antigens during normal human pregnancy a longitudinal study. Scand. J. Immunol.* 11, 321-325, 1980.
- Bissenden, J.G., Ling, N.R. and Mackintosh, P.:

- Suppression of mixed lymphocyte reactions by pregnancy serum. Clin. exp. Immunol.* 39, 195—202, 1980.
- Blomgren, H. & Anderson, B.: *Evidence for a small pool of immunocompetent cells in the mouse thymus. Exp. cell Res.* 57, 185—192, 1969.
- Caldwell, J.L., States, D.P. & Fudenberg, H.H.: *Human chorionic gonadotrophin: effects of crude and purified preparations on lymphocyte responses to phytohaemagglutinin and allogeneic stimulation. J. Immunol.* 115, 1249, 1975.
- Cerni, C., Tatra, G. & Bohn, H.: *Immuno suppression by human placental lactogen(HPL) and the pregnancy-specific-glycoprotein(SP-1). Arch Gynak.* 223. 1. 1977.
- Chhen, J.J., Fishbach, M. & Claman, H.N.: *Hydrocortisone resistance of graft vs host activity in mouse thymus, spleen, and bone marrow. J. Immunol.* 105, 1146—1150, 1970.
- Contractor, S.F. & Davies, H.: *Effect of human chorionic somatomammotrophin and human chorionic gonadotrophin on phytohaemagglutinin-induced lymphocyte transformation nature: New Biology,* 243, 184, 1973.
- Damber, M.G., Vonschoultz, B., Stigbrand, T. & Tarnvik, A.: *Inhibition of the mixed lymphocyte reaction by the pregnancy zone protein. Eebs Lett.* 58, 29, 1975.
- Davis, A.J.S., Leuchars, E., Wallis, V., Marchant, R. & Elliott, E.V.: *The failure of thymus derived cells to make antibody. Transplantation* 5, 222, 1969.
- Gani, R.: *The nucleoli of cultured human lymphocytes: I. Nucleolar morphology in relation to transformation and the DNA cycle. Exp. Cell Res.* 97, 249—2588, 1976.
- Jenkins, D.M. & Hancock, K.W.: *Maternal Unresponsiveness to paternal histocompatibility antigens in human pregnancy. Transplantation,* 13, 618, 1972.
- Johannsen, R., Halpt, H., Bohn, H., Heide, K., Seiler, F.R. & Schwick, H.G.: *Inhibition of the mixed leukocyte culture (MLC) by protein s: mechanism and specificity of the reaction. Z. Immunitätsforsch.* 152, 280, 1976.
- Jones, E., Curzen, P. & Gaugas, J.M.: *Suppressive activity of pregnancy plasma on the mixed lymphocyte reaction. J. Obstet. Gynaec. Brit. Commonm.* 80, 603, 1973.
- Jonker, M., Van Leeuwen, A. & Van Rood, J.J.: *Inhibition of the mixed lymphocyte reaction by alloantisera in man. II. Incidence and characteristics of MLC-inhibiting antisera from multiparous women. Tissue Antigens,* 9, 246, 1977.
- Kasakura, S.: *A factor in maternal plasma during pregnancy that suppresses the reactivity of mixed leukocyte cultures. J. Immunol.* 107, 1296, 1971.
- Mitchel, G.F. & Miller, J.F.A.P.: *Cell to cell interaction in the immune response: II. The source of hemolysin-forming cells in irradiated mice given bone marrow and thymus or thoracic duct lymphocytes. J. Exp. Med.* 128, 821—837, 1968.
- Morsi, J.H. Sfarns, G., Arden, J., Agosto, G.M. & Canhld. R.D.: *The effects of crude and purified human gonadotrophin on in vitro stimulated human lymphocyte cultures. Cell. Immunol.* 25, 178, 1976.
- Morgha, R.A., Andersson, I.C., Sheram, M.S., Bennioh, H. & Wigzii, H.: *Effects of human alpha-poetoprotein on human B and T lymphocyte proliferation in vitro. Clin. Exp. Immunol.* 33, 347, 1978.
- Park, M.S. and Terasaki, P.I.: *Microdroplet lymphocytotoxicity test. In manual of Tissue Typing Techniques,* p. 92—103, Bethesda, Maryland, NIH publication No. 80—545, 1972.
- Perper, R.J., Zee, T.W. & Mickeson, M.M.: *Purification of lymphocytes and platelets by gradient centrifugation. J. Lab. & Clin. Med.* 72, 842—848, 1968.
- Roitt, I.M., Greaves, M.F., Torrigiani, G., Broftaff, J. & Playfair, J.H.L.: *The cellular basis of Immunological responses. Lancet* 2, 367—371, 1969.
- Shmson, W.H.: *Studies on the immunosuppres*

- sive properties of a pregnancy-associated macroglobulin. Clin. Exp. Immunol.* 25, 199, 1976.
- Stimson, W.T.: *Are pregnancy-associated serum proteins responsible for the inhibition of lymphocyte transformation by pregnancy serum? Clin. Exp. Immunol.* 40, 157—160, 1980.
- Taylor, R.B.: *Immunological competence of thymus cells after transfer to thymectomized recipients. Nature* 199, 873—874, 1963.
- Winchester, R.J., F.U.S.M., Sernet, P., Kunkel, H.G., Dupont, B. & Bersild, C.: *Recognition by pregnancy serum of non-HLA alloantigens selectively expressed on B lymphocytes. T. Exp. Med.* 141, 924, 1975.
- Yachnin, S. & Lester, E.: *Inhibition of human lymphocyte transformation by human alphafoetoprotein(HAFP): comparison of foetal and hepatoma HAFP and kinetic studies of in vitro immunosuppression. Clin. Exp. Immunol.* 26, 484, 1976.