

소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4의 첨가에 의한 배양액내 호르몬 변화

최선호[†] · 조상래 · 한만희 · 김현중 · 손동수 · 상병돈 · 박춘근¹
농촌진흥청 축산연구소

Hormonal Changes in Cultured Medium on *In Vitro* Culture of Bovine Oviduct Epithelial Cells (BOEC) Supplemented with IL-4

S. H. Choi[†], S. R. Cho, M. H. Han, H. J. Kim, D. S. Son,
B. D. Sang and C. K. Park¹

National Livestock Research Institute, RDA, Namwon, 590-832, Korea

SUMMARY

This study was conducted to investigate the hormonal changes in cultured medium during *in vitro* culture of bovine oviduct epithelial cells (BOEC) supplemented with interleukin (IL)-4 of 0.001, 0.01, 0.1 or 1 ng/ml. BOEC were collected from the oviduct and washed 3 times with 1% antibiotic-mycotic-DMEM medium and cultured at 39°C, 5% CO₂, 95% air for 24~120 hrs. The cultured media were analyzed hormonal changes with hormonal analyzing kit (progesterone (P4), estradiol (E2) : Perkin Elmer, USA) and Transforming growth factor (TGF)- β with Eliza kit (Promega, USA). The production of P4 in 0.001 IL-4 was increased as the culture time increased. P4 production was significantly higher in the medium cultured for 120 hrs than 24 hrs ($P<0.05$). P4 production in 0.01 ng/ml group was similar to that of 0.001 ng/ml. The production of E2 in 0.001 and 0.01 ng/ml groups were increased to 72 hrs like P4 production and showed significantly different between the culture periods ($P<0.05$). After the culture for 96 hrs, P4 and E2 production were increased to 96 hrs, but decreased at 120 hrs. The production of TGF- β showed no changes according to culture period or supplementation of IL-4. In conclusion, the supplementation of IL-4 can increase the production of P4 and E2 and might have important role for the successful pregnancy in bovine.

(Key words : bovine oviduct epithelial cell, IL-4, progesterone, estradiol, TGF- β)

서 론

임신은 수정란이 자궁에서 자리를 잡고, 자궁벽의 분화와 물질 교환 등에 따라 자궁 상피 세포에 수정란이 부착하면서, 자궁 기질의 탈락 등의 과정

을 거치게 된다(Rice와 Chard, 1998). 이러한 과정은 progesterone(P4)의 분비에 이어 estradiol-17 β 에 노출되게 되면 일정한 시간동안 자궁 상피는 수정란을 수용할 수 있게 된다(Psychoyos, 1973). 영장류나 사람에서는 이 시기를 '착상의 창문'이라

¹ 강원대학교(Kangwon National University)

[†] Correspondence : E-mail : sunho@rda.go.kr

하여 자궁의 수정란 수용 시기로 규정하였으며, 대개 LH surge가 발생된 이후 5~10일 경을 일컫는다(Navot 등, 1991). 반면에 이 시기에는 자궁내막에서 여러 가지 인자들이 생산되며, LIF 등 착상 관련 물질들이 분자 생물학적으로 확인되어지고 있으나, 명확히 밝혀진 것은 P4가 임신 유지에 주된 작용을 하는 것으로 보고되고 있다(Sharkey와 Smith, 2003; Guidice, 1999).

수정란 이식의 궁극적인 결과는 임신을 하게 하는 것이나, 소에 있어서 수정란 이식이 수행되고 있지만, 수태율에 커다란 향상을 이루지는 못하였다. 이의 원인으로는 체내 및 체외 수정란에 대한 형태학적, 질적인 차이는 많이 줄었으며, 수정란 이식 시술자들도 많은 경험을 바탕으로 수정란의 취급과 이식을 하는데 문제점이 없는 것으로 보아, 수란우의 조건에 따른 수태율의 차이가 있음을 추측할 수 있다. 이에 따라 임신 및 임신 유지를 위하여 착상과 관련하여 있는 많은 cytokine이나 chemokine 등의 영향에 따라 임신의 성립 및 유지에 대한 연구가 사람이나 생쥐 등에서 활발히 이루어지고 있다. 착상과 관련된 요소로서 단핵구가 생산하는 cytokine은 interleukin(IL)들과 leukaemia inhibitory factor(LIF), tumor necrosis factor(TNF)- α , transforming growth factor(TGF)- α , β 등으로 많은 factor들이 작용하는 것으로 알려져 있다. 이를 이용한 것으로 설치류에서는 과립막세포의 체외 배양시 가장 유래 macrophage가 progestin의 생성을 촉진하였으며(Yamanouchi 등, 1992) 생쥐에 있어서 내막 세포와 수정란을 함께 이식하여 수태율을 향상시킬 수 있다고 하였고(Nakayama 등, 1995), 내막 기질 세포와 내막 lymphocyte는 모체와 태아의 관계를 유지시켜 주며, 그에 따라 임신을 성립시킬 수 있다고 하였다(Bulmer, 1996). 그 밖에 말초혈액의 단핵 세포는 임신 및 비임신 사람의 황체 세포로부터 P4의 생산을 자극하며, 이는 황체의 분화에 있어서 IL-4 혹은 IL-10의 기능이 있음을 증명한다고 하였다(Hashi 등, 1998). 또한 사람에게 있어서 T helper(Th) 2로부터 생산된 IL-4, IL-6는 hCG의 방출을 촉진하여 임신 황체로부터 P4의 생산을 향진시켜, 임신 유지에 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 비임신 생쥐의 감상선 세포는

자궁내막의 분화를 야기하며, 자궁내 LIF의 발현을 촉진한다고 하였다(Fujita 등, 1998). 사람에게 있어서도 IL-4와 IL-13은 첨가 농도의 증가에 따라 흉선 세포 의존형 chemokine이 증가한다고 하였다(Nasu 등, 2004). Cytokine은 비임신 및 임신 내막의 작용을 임신의 상태를 유도하거나, 착상을 촉진한다고 하였다. 그러나 이러한 연구들은 흉선 세포, 자궁 세포, macrophage 등과 cytokine과의 관계에 대한 연구가 집중되어 있고, 특히 IL-11, LIF가 주로 사람의 임신에 주요한 영향을 미친다고 하는 연구가 많다(Makkar 등, 2006; Dimitriadis 등, 2006). 따라서 본 연구는 소의 난관 상피 세포를 체외 배양하고 이와 함께 IL-4를 첨가하였을 때, 임신 관련 호르몬들의 생산을 측정하여, 소의 착상 관련 기전을 조사하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 소 난관 상피의 채취

도축 암소의 난관을 채취하여 4°C 얼음에 채워 실험실로 운반하였고, 난관의 표면을 70% 알코올로 세정한 후 난관채 및 인대를 제거하였다. 인대가 제거된 난관은 메스 가위로 인대 등 오염 가능 부위를 절단하였으며, 난관의 표면을 70% 알코올로 세정을 3회 이상 실시하여 필터 페이퍼로 난관 표면 세정을 마친 후 관류를 준비하였다. 1% antibiotic-antimycotic-DMEM(Gibco, USA) 용액으로 난관팽대부에 20 G 주사침을 삽입하여 관류를 시도하였으며, 난관 당 4~5 ml의 용액으로 관류하여 난관 상피 세포가 배출되도록 하였다. 채취된 난관 상피 세포는 26 G의 주사침이 부착된 1 ml 주사기로 흡입 배출을 10회 이상 반복하여 난관 상피 세포가 단리되도록 유도하였으며, 단리된 난관 상피 세포는 관류액과 동일한 배양액으로 1,500 rpm, 5분, 3회 세정하였으며, 최종 농도가 1×10^6 cells/ml가 되게 조정하였다.

2. 소 난관 상피 세포의 체외 배양

채취 후 최종 농도가 조정된 난관 상피 세포는 DMEM을 기본 배양액으로 IL-4(I-1020, Sigma)를 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1 ng/ml로 첨가하여 24 well

dish에 500 μ l씩 분주하였으며, 각 첨가 처리구는 4반복을 실시하였다. IL-4가 첨가된 배양액으로 39 $^{\circ}$ C CO₂ 배양기에서 24, 48, 72, 96 또는 120시간 동안 체외 배양을 실시하여 배양이 완료된 배양액을 채취하여 호르몬 분석에 이용될 때까지 -70 $^{\circ}$ C 냉동고에 보존하였다.

3. 배양액의 호르몬 분석 및 통계 분석

IL-4첨가에 의해 체외 배양된 소 난관 상피 세포의 배양액의 호르몬 분석은 P4, estradiol(E2)의 경우는 Perkin Elmer(Wallac, USA)의 호르몬 분석 kit를, TGF- β 는 Promega (USA)의 호르몬 분석 kit를 이용하여 실시하였다. 분석이 완료된 결과는 통계 program인 Statview의 ANOVA를 이용하여 분석하였다.

결 과

1. 소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4의 첨가에 의한 P4의 생산

소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4 첨가에 의한 배양액내의 P4의 생산은 Fig. 1과 같다. 0.001 ng/ml의 IL-4를 첨가한 배양액의 P4의 농도는 배양 시간이 경과할수록 P4가 증가하는 경향을 보였으며, 24시간보다 120시간에서는 약 2배의 생산을 보여 유의적인 차이를 나타냈다($P < 0.05$). 0.01 ng/ml의 경우에도 0.001의 경우와 유사한 경향을 보였으나, 0.001 ng/ml의 경우보다는 다소 생산량이 낮았다. 0.1이나 1 ng/ml의 경우는 배양 시간에 따라 생산량은 다른 두 가지의 농도와 같이 배양 시간 96시간까지는 증가하였으나, 배양 시간 120시간에서는 감소하였다.

2. 소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4의 첨가에 의한 E2의 생산

소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4 첨가에 의한 배양액내의 E2의 생산은 Fig. 2와 같다. 0.001, 0.01 ng/ml 첨가시는 P4의 경우와 같이 배양 시간 72시간까지 배양 시간에 따라 생산량이 증가하여 유의적인 차이를 나타내었으며($P < 0.05$), 0.1, 1 ng/ml의 경우는 배양 시간 96시간까지 증가하는 경향

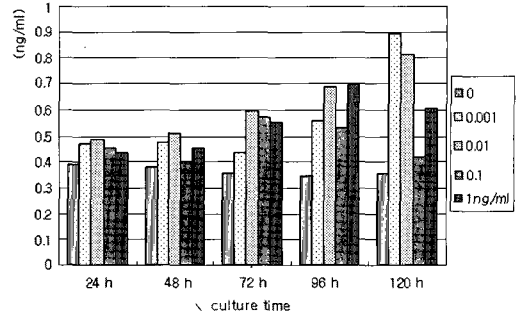


Fig. 1. Progesterone production of BOEC with IL-4 during *in vitro* culture.

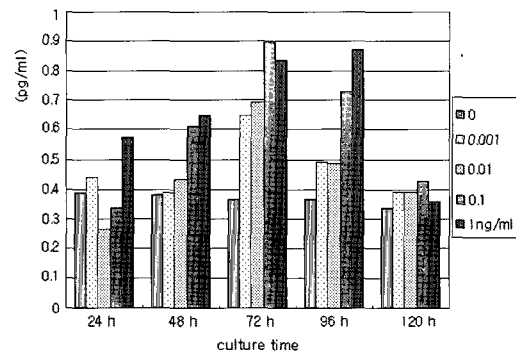


Fig. 2. Estradiol production of BOEC with IL-4 during *in vitro* culture.

을 보였다. 그러나 배양 시간 120시간에는 IL-4의 첨가 농도에 관계없이 배양 시간 24시간제의 생산량과 유사한 경향을 나타냈다.

3. 소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4의 첨가에 의한 TGF- β 의 생산

소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4 첨가에 의한 배양액내 TGF- β 의 생산은 Fig. 3과 같다. TGF- β 의 생산은 IL-4의 첨가 농도 및 배양 시간에 대하여 차이를 나타내지 않았으며, 유의성도 나타나지 않았다. 배양 초기에 비하여 배양 시간 120시간에는 약간 생산이 낮아지는 것으로 나타나 IL-4에 의한 TGF- β 의 생산은 배양 시간 96이후에는 활성이 저하하는 것으로 나타났다.

고 찰

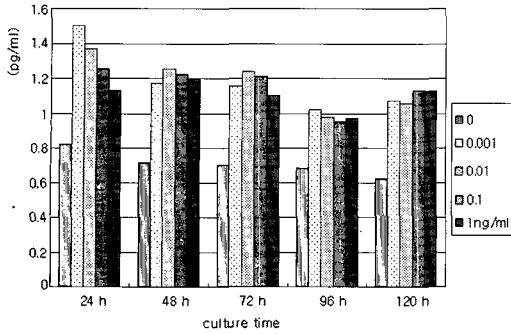


Fig. 3. TGF- β production of BOEC with IL-4 during *in vitro* culture.

소에 있어서 임신을 위해서는 정상적인 자성 생식기가 임신을 위한 준비를 갖추어야 하며, 이를 뒷받침하는 난소의 황체 기능이 정상적이고, 이를 조정 및 적절한 자궁의 조건을 조절하게 하는 호르몬 및 cytokine 등의 factor에 의해 조절된다. 또한 면역학적으로 암컷의 생식기 내에서 거부 반응이 일시적으로 감소되는 것으로 알려져 있으나, 충분히 이해되지 못하고 있다. 이 시기에는 면역 반응이 변형되도록 하는 신호에 의해서나, 수정란의 영양막 세포에서 분비되는 MHC 항체에 따라 변형되는 것으로 여겨진다(Ellis, 1994; Wegmann 등, 1993). 즉 착상 시기에 lymphocyte의 자극에 의해 착상에 유용하게 이용되는 cytokine의 농도가 증가하면서 착상을 성립하는 것으로 생각된다. 면역 기능이 착상을 위한 상태로 변형되면서, T helper 2(Th2)가 주로 반응하며, IL-4, IL-5, IL-10 등의 cytokine 생산이 먼저 이루어지게 된다. 동시에 임신 관련 호르몬들도 lymphocyte의 분화를 야기하고, 암컷 생식 기도에서 면역 작용을 억제하는 항체도 생산되게 된다. 다시 말해 임신기에는 Th2 반응에 의해 면역 기능이 엇갈리게 되는 것으로 생각된다.

소에 있어서 자궁 소구에 태반을 형성하기 위해 태아의 용모막이 자궁 소구에 부착은 임신 19일까지 수행되지 않는다(Wathes와 Wooding, 1980). 이러한 현상은 황체 퇴행이 억제되고 모체가 임신을 인식하는 신호에 의해 진행되며, 임신 10~25일경에 수정란의 영양막 세포로부터 INF- τ 의 생산에 의해 개시된다. 그 이후 난소의 황체 세포가 내분

비적인 주요 산물인 P4의 생산을 증가함으로써 임신을 유지하고, 그에 따라 태아의 성장을 유도한다. P4 receptor mRNA의 수준도 사람의 생리 주기에 따라 황체의 수명에 맞추어 P4 분비와 동조하여 유지된다고 하였다(Duffy와 Stoufferl, 1995). 난포 세포에서 P4 receptor의 발현은 난포내의 P4의 역할이 중요함을 나타낸다고 할 수 있다(Broeck 등, 2002). 이와 같이 P4는 난소내의 황체와 난포의 상호 작용에 의해 자궁의 P4의 분비를 조절하며, 임신시 황체 세포의 낮은 발현은 황체 세포의 수명에 따르며, receptor의 퇴행에 기인한다. 본 연구에서는 난관 상피 세포의 체외 배양에서 황체 세포 혹은 난포, 자궁 상피 세포가 임신시에 분비할 것으로 예상되는 P4를 난관 상피 세포를 체외 배양시 IL-4의 첨가에 의해 확인할 수 있었다. 또한 자궁 내막 기질 세포와 자궁 내막의 lymphocyte는 모체와 태아 상호 작용에 있어서 모체의 상황을 유지시켜 주며, 임신의 성립에 기여하는 것으로 보고되고 있어(Bulmer, 1996; Navot 등, 1991; Kearns와 Lala, 1983), 자궁 내막 상피와 IL-4의 첨가에 의해 P4의 생산 양상을 조사해야 할 것으로 생각된다. 본 실험에서 E2의 생산 양상도 P4의 생산 형태와 비슷한 것으로 나타나, 난관 상피 세포는 임신의 전 단계인 수정란의 분할에 관여하는 것으로만 생각되나, 황체 형성 시기의 자궁 상피 세포와 비슷한 기능을 가지고 있음을 알 수 있다. 따라서 P4의 생산은 황체 세포만이 할 수 있는 것으로 생각되어져 왔으나, 난관 상피 세포로도 가능함으로 채취가 어려운 황체 세포를 대체하여 P4의 생산을 유도할 수 있다는 것을 본 연구 결과에서는 시사하고 있다. IL-4 첨가에 의한 난관 상피 세포의 체외 배양시 TGF- β 의 생산은 큰 변화가 없었다. 이러한 결과는 임신 및 임신 말기의 양의 자궁 상피 세포 m-RNA를 측정하여, TGF- β 가 확인되었으며, IL-4와 IL-2는 확인되지 않았다고 한 결과(Fox 등, 1998)와 비교하면, 난관 상피 세포에서는 TGF- β 가 관여하지 않는 것으로 여겨지며, 이는 본 연구의 결과와도 유사한 경향이었으나, IL-4의 경우는 소와 양, 생쥐, 사람의 경우와는 다른 것으로 나타나, 동물 중에 따른 임신 시기의 cytokine의 작용이 다를 수 있음을 확인할 수 있었다. 양의 경우는 임신 15~

16일경에 착상이 성립되기 시작하며, 30~35일경에는 자궁 내막의 lymphocyte의 수가 현저히 변화하는 것으로 나타났다(Abu Nasar 등, 2004; Gogolin-Ewens 등, 1989).

소의 초기 임신시 자궁내의 lymphocyte는 임신 16일의 interferone- γ 와 부합되지 않는다고 하였으며, 비임신시에도 IL-2 mRNA가 많이 관찰됨을 보고(Leung 등, 2000)한 것과 같이 소에 관여하는 cytokine은 자성 생식 기관, 발정 주기 중의 시기 등에 따라 상당한 차이를 보이고 있다.

이상의 결과로 미루어 볼 때, 소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4의 첨가에 따라 P4 및 E2의 생산을 확인할 수 있었으나, TGF- β 는 난관 상피에서는 생산이 이루어지지 않는 것으로 나타나, 임신과 직접 관여하고 있지 않는 난관에서의 기능이 구분되어짐을 확인할 수 있었으며, 임신 관련 물질의 확인 및 이를 이용한 임신율의 향상을 위해서는 더 많은 연구가 요구된다고 하겠다.

적 요

본 연구는 소 난관 상피 세포를 채취 체외 배양을 실시하고, 이에 착상과 관련이 있는 IL-4를 첨가하여 배양액내의 임신에 관련된 호르몬들(P4, E2, TGF- β)의 변화를 관찰함으로써, 소 난관 상피 세포와 착상과의 관계를 구명하고자 실시하였으며, 그에 따른 결과는 다음과 같다. 소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4 첨가에 의한 배양액내의 P4의 생산은 0.001 ng/ml의 IL-4를 첨가한 배양액의 P4의 농도는 배양 시간이 경과할수록 증가하는 경향을 보였으며, 24시간보다 120시간에서는 약 2배의 생산을 보여 유의적인 차이를 나타냈다($P < 0.05$). 0.01 ng/ml의 경우에도 0.001의 경우와 유사한 경향을 보였으나, 0.001 ng/ml의 경우보다는 다소 생산량이 낮았다. 0.1이나 1 ng/ml의 경우는 배양 시간에 따른 생산량은 다른 두 가지의 농도와 같이 배양 시간 96시간까지는 증가하였으나, 배양 시간 120시간에서는 감소하였다. 소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4 첨가에 의한 배양액내의 E2의 생산은 0.001, 0.01 ng/ml 첨가시는 P4의 경우와 같이 배양 시간 72시간까지 배양 시간에 따라 생산

량이 증가하여 유의적인 차이를 나타내었으며($P < 0.05$), 0.1 및 1 ng/ml의 경우는 배양 시간 96시간까지 증가하는 경향을 보였다. 그러나 배양 시간 120시간에는 IL-4의 첨가 농도에 관계없이 배양 시간 24시간째의 생산량과 유사한 경향을 나타냈다. 소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4 첨가에 의한 배양액내 TGF- β 의 생산은 IL-4의 첨가 농도 및 배양 시간에 대하여 차이를 나타내지 않았으며, 유의성도 나타나지 않았다. 배양 초기에 비하여 배양 시간 120시간에는 약간 생산이 낮아지는 것으로 나타나 IL-4에 의한 TGF- β 의 생산은 배양 시간 96이후에는 활성이 저하하는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 소 난관 상피 세포의 체외 배양시 IL-4 첨가는 P4 및 E2의 생산에 영향을 미치는 것으로 나타났으며, TGF- β 의 생산에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타나, IL-4는 소의 임신의 성립에 중요한 역할을 하며, 난관 상피 세포 이외의 자성 생식 기도 내에 있어서 IL-4와 관련된 기전에 대하여 더 많은 연구가 요구된다.

참고문헌

- Abu Nasar MD, Rahman A, Snibson JK, Lee CS and Meeusen ENT. 2004. Effects of implantation and early pregnancy on the expression of cytokines and vascular surface molecules in the sheep endometrium. *J. Reprod. Immun.*, 64:45-58.
- Broeck W van den, D'haeseleer M, Coryn M and Simoens P. 2002. Cell-specific distribution of progesterone receptors in the bovine ovary. *Reprod. Dom. Anim.*, 37:164-170.
- Bulmer JN. 1996. Cellular constituents of human endometrium in the menstrual cycle and early pregnancy. In Bronson RA Alexander NJ Anderson D et al. (eds.), *Reproductive Immunology*. Blackwell Science, Cambridge, pp. 212-239.
- Dimitriadis E, Stoikos C, Stafford-Bell M, Clark I, Paiva P, Kovacs G and Salamonsen L. 2006. Interleukin-11, IL-11 receptor α and leukemia inhibitory factor are dysregulated in endometrium of infertile women with endometriosis during

- the implantation window. *J. Reprod. Immunol.*, 69:53-64.
- Duffy DM and Stouffer RL. 1995. Progesterone receptor messenger ribonucleic acid in the primate corpus luteum during the menstrual cycle : possible regulation by progesterone. *Endocrinol.*, 136:1869-1876.
- Ellis SA. 1994. MHC studies in domestic animals. *European J. Immunogenetics*, 21:209-215.
- Fox A, Lee CS, Brandon MR and Meeusen EN. 1998. Effects of pregnancy on lymphocytes within sheep uterine interplacentomal epithelium. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 40:295-302.
- Fujita K, Nakayama T, Takabatake K, Higuchi T, Fujita J, Maeda M, Fujiwara H and Mori T. 1998. Administration of thymocytes derived from non-pregnant mice induces an endometrial receptive stage and leukemia inhibitory factor expression in the uterus. *Hum. Reprod.*, 13:2888-2894.
- Giudice LC. 1999. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum. Reprod.*, 14:3-6.
- Gogolin-Ewens KJ, Lee CJ, Mercer WR and Brandon MR. 1989. Site-directed differences in the immune response to the fetus. *Immunology*, 66: 312-317.
- Hashi K, Fujiwara H, Yoshioka S, Kataoka N, Yamada S, Hirano T, Mori T, Fujii S and Maeda M. 1998. Peripheral blood mononuclear cells stimulate progesterone production by luteal cells derived from pregnant and non-pregnant women: possible involvement of interleukin-4 and interleukin-10 in corpus luteum function and differentiation. *Hum. Reprod.*, 13:2738-2744.
- Kearns M and Lala PK. 1983. Life history of decidual cells: a review. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.*, 3:78-82.
- Leung ST, Derecka K, Mann GE, Flint APF and Wathes DC. 2000. Uterine lymphocytes distribution and interleukin expression during early pregnancy in cows. *J. Reprod. Fertil.*, 119:25- 33.
- Makkar G, Ng EH, Yeung WS and Ho PC. 2006. Reduced expression of interleukin-11 and interleukin-6 in the preimplantation endometrium of excessive ovarian responders during *in vitro* fertilization treatment. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91:3181-3188.
- Nasu K, Sun B, Nishida M, Fukuda J, Narahara H and Miyakawa I. 2004. Cultures human endometrial epithelial cells produce thymus and activated-regulated chemokine with stimulation or interleukin-4 and interleukin-13. *Fertil. Steril.*, 82 (suppl.) 3:1014-1018.
- Navot D, Bergh PA and Williams M. 1991. An insight into early reproductive processes through the *in vivo* model of ovum donation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 72:408-412.
- Nakayama T, Goto Y, Kanzaki H, Takabatake K, Himeno T, Noda Y and Mori T. 1995. The use of intra-endometrial embryo transfer for increasing the pregnancy rate. *Hum. Reprod.*, 10:1833-1836.
- Psychoyos A. 1973. Hormonal control of ovoidimplantation. *Vitam. Horm.*, 31:201-256.
- Rice A and Chard T. 1998. Cytokine in implantation. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 9:287-296.
- Sharkey AM and Smith SK. 2003. The endometrium as a cause of implantation failure. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 17:2891-2807.
- Wathes DC and Wooding FBP. 1980. An electron microscopic study of implantation in the cow. *American J. Anatomy*, 159:285-306.
- Wegmann TG, Lin H, Guilbert L and Mosmann TR. 1993. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? *Immunology Today*, 14:353-356.
- Yamanouchi K, Matsuyama S, Nishihara M, Shiota K, Tachi C and Takahashi M. 1992. Splenic macrophages enhance prolactin-induced progesterin secretion from mature rat granulosa cells *in vitro*. *Biol. Reprod.*, 46:1109-1113.

(접수일: 2006. 9. 18 / 채택일: 2006. 12. 21)