**مقدمه**

جنین یک پیوند نیمه بیگانه[1] است؛ چرا که نیمی از ژنوم خود را از پدر و نیم دیگر را از مادر دریافت می‌کند. بنابراین همانگونه که بافت پیوندی پدر توسط سیستم ایمنی مادر دفع می‌شود، این انتظار وجود دارد که جنین نیز دفع شود(۱). اما معمولاً چنین اتفاقی نمی‌افتد. تحمل ایمونولوژیک[2] مادر نسبت به جنین نیمه بیگانه معمایی است که علیرغم مطالعات گستردهٔ انجام شده در طی نیم قرن اخیر هنوز پاسخ مناسب و جامعی، برای آن پیدا نشده است. در سال ۱۹۵۳، Medawar چهار نظریه را در توضیح عدم رد جنین توسط سیستم ایمنی مادر مطرح کرد:

۱) جنین ایمونوژن نیست.

۲) در طی حاملگی پاسخ‌گویی ایمونولوژیک مادر به طور چشمگیری کاهش می‌یابد.

۳) رحم یک مکان امن ایمونولوژیک[3] است.

٤) جفت به عنوان یک سد ایمونولوژیک عمل می‌کند(۲).

نظریه اول در حال حاضر مورد پذیرش نیست؛ چرا که جنین فوق‌العاده ایمونوژن است. مطالعات Hoskin نشان می‌دهد که سلول‌های طحال موش‌های حامله با آلوآنتی‌ژن‌های جنین یک واکنش قوی نشان می دهند، در حالی که موش‌های باکره قادر به القا چنین پاسخ‌هایی نیستند(۳). همچنین فراوانی سلول‌های T مادر با ویژگی برعلیه آنتی‌ژن‌های جنین بسیار بالا بوده و در حدود ۳۰-۱۰٪ خزانهٔ سلول‌های T مادر را تشکیل می‌دهد(٤). از طرف دیگر حاملگی‌های خارج رحمی و دفع پیوند بافت پدر در رحم مادر(٥) نشان می‌دهند که رحم یک مکان امن ایمونولوژیک نمی‌باشد. از طرف دیگر مطالعات Tafuri (٦) نشان می‌دهند که یک سد ایمونولوژیک که مانع تماس آلوآنتی‌ژن‌های جنین با سلول‌های T مادر باشد وجود ندارد.

از مجموع مطالب فوق‌الذکر می‌توان دریافت که نظریه‌های اول، سوم و چهارم Medawar نمی‌توانند توضیح مناسبی برای بقاء جنین نیمه بیگانه باشد. نظریه دوم مبنی بر اینکه پاسخگویی مادر در طی حاملگی کاهش می‌یابد با بسیاری از مطالعات انجام شده همخوانی و مطابقت دارد(٤).

مکانیسم‌هایی که تحمل ایمونولوژیک سلول‌های T مادر را در طی حاملگی القاء می‌کنند، به طور کامل روشن نشده‌اند. ولی به نظر می‌رسد که تحمل ایمونولوژیک مادر به آمیزهٔ[4] منحصر به فردی ازمواد سرکوبگر ایمنی[5]، سیتوکین‌ها و هورمون‌ها که قبل و بعد از لانه‌گزینی بلاستوسیست تولید می‌شوند، ارتباط داشته باشد.

فاکتورهای سرکوبگر متعددی در طی بارداری تولید می‌شوند که هر یک از آنها بر روی بخش خاصی از سیستم ایمنی مادر اثر مهاری دارند. از جملهٔ عوامل سرکوبگر ایمنی در طی بارداری می‌توان به فاکتورهای ٤/٥ و ۱۰/۷ کیلو دالتونی مشتق از عصارهٔ مغز و نخاع رویان، TGFβ[6]، IL-10[7]، IL-4، AFP[8]، Tj6، اسپرمین[9]، گیرنده‌های محلول TNF[10]، Annexin II، DHA[11]، EPF[12]، CD95، IFNτ[13]، پروژسترون، PIBF[14]، PGE2[15]، HCG[16] ویتامین D3 اشاره کرد. این عوامل بر روی جنبه‌های مختلف سیستم ایمنی اثر مهاری دارند که از آن جمله می‌توان به موارد زیرشامل: مهار تولید

1-Semiallograft
2- Immunologic Tolerance
3-Immunoprivileged site

4- Cocktail
5- Immunosuppressive
6- Transforming Growth Factor
7- Interleukin
8- Alpha Feto Protein
9- Spermin
10- Tumor Necrotic Factor
11- Doeosahexaenoic Acid
12- Eearly Pregnancy Factor
13- Interferon
14- Progesterone- induced Blocking Factor
15- Prostaglandin E2
16- Human Chorionic Gonadotropin



Archive of SID
www.SID.ir

لنفوسیت‌های T سیتوکسیک، مهار تحریک لنفوسیت‌ها با میتوژن‌ها، مهار تولید سلول‌هایLAK ، مهار تولید سیتوکین‌های مختلف نظیر IFNγ، TNFα، IL-1، IL-2، مهار سنتز آنتی‌بادی‌ها، مهار MLR [1]، القاء آپوپتوز [2]، عدم بیان مولکول‌های MHC-II و مولکول‌های همراه [3]، مهار تولید NO [4] و مهارGVHD [5] اشاره کرد(۷).

علیرغم مطالعات وسیعی که در مورد تأثیر سرم و یا مایع رویی [6] کشت سلول‌های دسی‌جوا [7] و جفت بر روی سلول‌ها و جنبه‌های مختلف سیستم ایمنی صورت گرفته است، تاکنون هیچ مطالعه‌ای در مورد تأثیر این عوامل بر روی عملکرد سلول‌های دندریتیک [8] به عنوان مهمترین سلول‌های پاسخ ایمنی ذاتی انجام نگرفته است. در این پژوهش تأثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر توانایی سلول‌های دندریتیک در القاء تکثیر اختصاصی به آنتی‌ژن لنفوسیت‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روشها

***الف) موشها:*** موش‌های Balb/c از انستیتوپاستور ایران خریداری شدند. موش‌ها در شرایط مناسب از نظر بهداشت، دما، رطوبت و روشنایی (سیکل ۱۲ ساعته تاریکی- روشنایی) نگه داری شدند. تمام روش‌های تجربی مورد استفاده در این کار پژوهشی توسط کمیتهٔ اخلاق پزشکی پژوهشکدهٔ ابن سینا مورد بررسی و تصویب قرار گرفت.

***ب) تخلیص سلول‌های دندریتیک طحال موش:*** سلول‌های دندریتیک طحال موش مطابق با روش ارائه شده در مقالهٔ قبل(۸) از طحال موش‌های نر۱۲-۱۰هفته‌ای تخلیص شد. به طور خلاصه، طحال موش‌ها پس از نخاعی کردن حیوان در شرایط استریل خارج و پس از خرد کردن با قیچی توسط آنزیم‌های کلاژناز [9] D و DNase (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) هضم شدند. پس از شستشوی سوسپانسیون تکسلولی حاصله با PBS-EDTA، سلول‌های کم‌چگال [10] توسط شیب غلظت [11] اپتی‌پرپ [12] ۱۲٪ (Axis-Shield, Norway) جدا گردیدند. سلول‌های کم‌چگال به مدت ۲ ساعت در RPMI کامل (Sigma, USA) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی ( FCS) [13] (Gibco, Eggenstein, Germany) کشت داده شدند. پس از پایان مدت انکوباسیون، سلول‌های غیر چسبان با RPMI گرم ($۳۷^oC$) چندین بار به آرامی شسته و دور ریخته شدند. به سلول‌های باقی مانده در کف پلیت محیط کامل RPMI گرم اضافه گردید و پلیت‌ها به مدت ۱۶-۱۰ ساعت دیگر در انکوباتور $۳۷\ ^oC$ حاوی $CO_2$ به میزان ۵٪ قرار داده شدند. پس از پایان مدت انکوبه شدن، سلول‌های دندریتیک بالغ که به صورت شناور درآمده بودند جمع‌آوری و پس از شستشو، شمارش و تعیین میزان حیات [14]، خلوص آنها به روش فلوسیتومتری بررسی گردید.

***ج) تعیین خلوص سلولهای دندریتیک تخلیص شده به روش فلوسیتومتری:*** سلول‌های دندریتیک تخلیص شده، ۳ بار با بافر رنگ‌آمیزی فلوسیتومتری (PBS حاوی۲٪ سرم جنین گاوی ) شسته شدند و در بافر رنگ‌آمیزی به حالت سوسپانسیون درآمدند. سوسپانسیون سلولی به مدت ۱۵ دقیقه بر روی یخ با غلظت ۵٪ سرم نرمال موش انکوبه شدند. سپس $۱\mu l$ از آنتی‌بادی ضد CD11c موش با منشأ هامستر (BD, Pharmingen, USA) به ازای هر ۵۰۰۰۰۰

1- Mixed Lymphocyte Reaction
2- Apoptosis
3- Costimulatory Molecule
4- Nitric Oxide
5- Graft Versus Host Disease
6- Supernatant
7- Decidua
8- Dendritic Cell (DC)
9- Collagenase
10 - Low Density
11- Gradient
12- Optiprep
13- Fetal Culf Serum
14- Viability



Archive of SID
www.SID.ir

سلول اضافه و مخلوط گردید. برای لوله‌های کنترل منفی (بجای آنتی‌بادی ضد CD11c) سرم ۵٪ هامستر استفاده شد. سلول‌ها به مدت ۴۰ دقیقه بر روی یخ و در تاریکی انکوبه شدند.پس از شستشوی سوسپانسیون سلولی، آنتی‌بادی ثانویه[1] (آنتی‌بادی موشی ضدIgG هامستر کونژوگه باPE) (BD, Pharmingen, USA) با رقت ۱:۱۰۰ روی رسوب سلولی اضافه شد. سوسپانسیون سلولی به‌مدت ۳۰ دقیقه بر روی یخ و در تاریخ انکوبه شد. .پس از شستشو، سوسپانسیون سلولی به لوله‌های مخصوص فلوسیتومتری منتقل و نتایج توسط دستگاه فلوسیتومتری کولتر (Culter, USA) آنالیز گردید. لازم به ذکر است که غلظت مناسب آنتی‌بادی‌های اولیه و ثانویه طی آزمایشات تیتراسیون تعیین گردید.

***د) بارگذاری آنتی‌ژن بر روی سلول‌های دندریتیک و ایمن‌سازی موش‌ها با این سلول‌ها:*** مراحل تخلیص سلول‌های دندریتیک طحال موش تا مرحلهٔ کشت ۲ ساعته و اتصال به پلاستیک انجام شد. سلول‌های غیرچسبان با RPMI گرم حاوی ۵٪ سرم جنین گاوی شسته شد و محیط کشت RPMI کامل حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و $100\mu g/ml$ آنتی‌ژن (Sigma, USA) Conalbumine به پلیت‌ها اضافه گردید. به عنوان کنترل منفی، در برخی از پلیت‌ها فقط RPMI-10 (بدون آنتی‌ژن) اضافه شد. پلیت‌های سلولی به مدت ۱۶-۱۰ ساعت و به طور متوسط ۱۲ ساعت در انکوباتور $37\ ^oC$ حاوی ۵٪ $CO_2$ انکوبه شدند. پس از پایان زمان انکوباسیون، سلول‌های غیر چسبان به عنوان سلول‌های دندریتیک بالغ جمع‌آوری گردیدند.

***ه) ایمن‌سازی موش‌ها با سلول‌های دندریتیک بارگذاری شده با آنتی‌ژن:*** سلول‌های دندریتیک جمع‌آوری شده در مرحلهٔ قبل، ۳ بار با PBS شستشو شدند. سپس سلول‌ها به آرامی و چندین بار با PBS مخلوط و $3\times10^5$ سلول به کف پا یا کف دست موش‌ها تزریق شد. سلول‌های دندریتیک بارگذاری شده با آنتی‌ژن به موش‌های گروه آزمون و سلول‌های دندریتیک بدون آنتی‌ژن به موش‌های گروه کنترل تزریق شد.

***و) آزمون ترانسفورماسیون لنفوسیتی (LTT)[2]:*** ۵ روز پس از تزریق سلول‌های دندریتیک به کف دست یا کف پای موش، حیوان به روش نخاعی کردن کشته شد. بسته به محل تزریق (کف پا یا کف دست) غدد لنفاوی پس زانویی[3] و یا بازویی[4] در شرایط استریل خارج و توسط ته سرنگ له شدند. سوسپانسیون سلولی به دست آمده یک بار با محلول PBS-EDTA با غلظت $5mM$ و ۲ بار با PBS شسته شدند. سلول‌ها در محیط کشت Click(Sigma, USA) کامل حاوی ۰/۵٪ سرم نرمال موش به تعداد $3\times10^5 cell/well$ در میکروپلیت ۹۶ خانه (Falcon, USA)، به همراه $100\mu g/ml$ آنتی‌ژن کشت داده شدند. تمام کشت‌ها به صورت سه گانه[5] انجام شد و در حفره‌های کنترل منفی به جای آنتی‌ژن، فقط محیط کشت کامل Click اضافه گردید. پلیت‌ها به مدت ۸۰ ساعت در انکوباتور $37\ ^oC$ حاوی ۵٪ $CO_2$ انکوبه شدند. پس از مدت مذکور، به هر حفره $1\mu Ci$ تیمیدین رادیواکتیو (Pharmacia, Sweden) اضافه و پلیت کشت سلول به مدت ۱۸-۱۶ ساعت دیگر در انکوباتور $CO_2$، انکوبه شد. سلول‌ها با استفاده از دستگاه هاروستر سلول[6] (A3, ICN-Flow Co. USA) بر روی فیلترهای glass fiber (Whatman, USA) هاروست شدند. میزان cpm[7] با دستگاه β-Counter مدل Wallash 1410

1- Secondary Antibody

2-Lymphocyte Transformation Test
3- Popliteal
4- Brachial
5- Triplicate
6- Cell harvester
7- Count Per Minute



Archive of SID
www.SID.ir

(Pharmacia, Sweden) قرائت شده و انـدیس تحریـک [1] از فرمـول $SI = \frac{\text{میانگین cpm حفره‌های آزمون}}{\text{میانگین cpm حفره‌های کنترل منفی}}$ محاسـبه گردید.

***ز) تعیین سن حاملگی موش:*** غالباً از اثر Whitten [2] بـرای همزمان کردن سـیکل اسـتروس[3] در مـوش‌هـا اسـتفاده شد(۹) . پس از جفت‌گزاری موش‌هـای مـاده Balb/c بـا موشـهای نـرC57BL/6 هـر روز صـبح، وجـود پـلاک واژینال[4] در زیر نور کافی توسـط پیپـت پاسـتوری کـه انتهای آن توسط شعله مـسدود بـود، بررسـی شـد. در موش‌های پلاک مثبت همچنـین وجـود اسـپرم در واژن بررسـی شـد. روز مـشاهده اسـپرم، روز ۰/۵ حـاملگی در نظر گرفته شد.

***ح) تعیین سـیکل اسـتروس:*** از بررسـی اسـمیر واژینـال بـرای تعیـین فـاز اسـتروس مـوش‌هـای مـاده Balb/c استفاده شد. برای این کار، از مایع واژینال اسـمیر تهیـه شد. پس از خشک شدن، اسمیرها بـه روش پاپـانیکولا[5] رنگ‌آمیزی شدند و توسـط میکروسـکوپ نـوری مـورد مطالعه قرار گرفتند.

***ط) کشت سـلول‌هـای دسـی‌جـوا:*** پـس از نخـاعی کـردن حیوان (موش‌های ماده با سن حاملگی ۱۲ روزه)، رحـم در شرایط استریل خـارج گردیـد و بـه خـوبی بـا PBS شسته شد. رحم از ناحیه آنتـی‌مزومتریـال [6] بـرش داده شد و جنین و لایه‌هـای اطـراف آن بـه دقـت از کپـسول جفتی جدا شد. سپس کپسول‌های جفتی[7] از دیواره رحم به دقت جدا و در PBS سرد قرار داده شدند. با استفاده از پنس و قیچی ریز دسی‌جوای قاعده‌ای[8] از کپسول‌های جفتی جدا گردید. بافت دسی‌جوا ۳ بار با PBS شـسته و سـپس در RPMI-1640 حـاوی ۵٪ سـرم جنـین گـاوی توسط قیچی به قطعات ریز تقسیم شد. قطعـات حاصـل (بدون سانتریفوژ) ۲ بار با RPMI شسته شـدند. سـپس حدود $1ml$ مخلوط آنزیمی حاوی $1mg/ml$ کلاژناز تیـپ II (Wortington, USA) و $30\mu l/ml$ DNase (Roche, Germany) به قطعات بافتی اضافه و پس از پیپت کردن به مدت ۵ دقیقه در درجه حرارت آزمایشگاه انکوبه شد. مـایع رویـی بـه دقـت خـارج و دور ریختـه شـد و به قطعات بافتی باقی مانـده، $5ml$ از مخلـوط آنزیمـی مذکور اضافه گردید. پس از چندین بار مخلـوط کـردن، قطعـات بـافتی در انکوبـاتور $37^oC$ حـاوی ۵٪ $CO_2$ بـه مـدت ۵۰ دقیقـه انکوبـه شـد. سوسپانـسیون سـلولی حاصـل از هـضم آنزیمـی دو بـار بـا محلـول $5mM$ PBS-EDTA شستشو شـد. سـلول‌هـا بـه تعـداد $400000$ $cell/well$ در RPMI-1640 کامـل حـاوی ۲۰٪ سرم جنین گاوی و در حفره‌های پلیـت کـشت ۲۴ خانـه (BD, Pharmingen, USA) کشت داده شـدند. پلیـت بـه انکوباتور $CO_2$ منتقل و به مدت ۴۸ ساعت انکوبـه شـد. پـس از مـدت مـذکور مـایع رویـی حفـره‌هـای مختلـف جمع‌آوری و با یکدیگر مخلوط گردید. این مـایع در دور $12000g$، درجـه حـرارت $4^oC$ و بـه مـدت ۱۵ دقیقـه سانتریفوژ شد. مایع رویی پس از سانتریفوژ به آرامـی جمـع‌آوری و در فریـزر $-70\ ^oC$ نگهـداری شـد. جهـت بررسی مرفولوژی سلول‌های چسبان، پلیت کشت سلول بـا PBS گـرم شستـشو داده شـد و بـا رنـگ گیمـسا رنگ‌آمیزی گردید. به عنوان کنتـرل، سـلول‌هـای رحمـی مـوش‌هـای غیـر حاملـه در فازهـای مختلـف اسـتروس مطابق روش بالا کـشت داده شـد و مـایع رویـی کـشت جمع‌آوری و فریز گردید.

***ی) آزمون‌های آماری:*** این مطالعه یک مطالعهٔ تجربی است که بر روی گروه‌هـایی دارای ۵ سـر مـوش‌هـای حاملـهٔ آلوژن در اوایل، اواسط و اواخر حاملگی (گروه تجربی) و گروه‌هایی دارای ۵ سر موش‌های مـادهٔ غیرحاملـه در سیکل‌های مختلف فـاز اسـتروس (گـروه شـاهد) انجـام

1- Stimulation Index
2- Whitten Effect
3- Estrous Cycle
4- Vaginal Plaque
5- Papanicolau
6- Antimesometrial
7- Placental Capsules
8- Deciduas Basalis



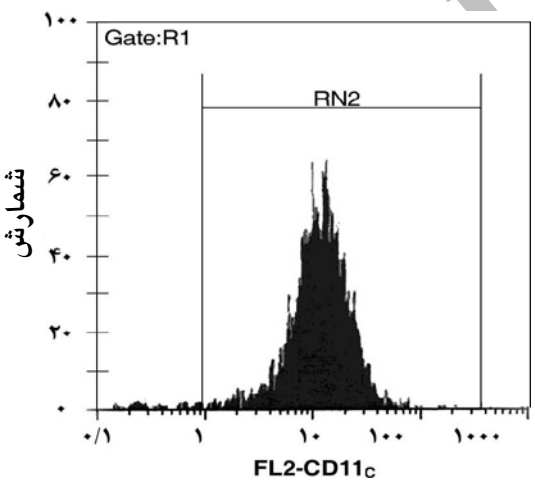
Archive of SID
www.SID.ir

گرفت. برای مقایسه تأثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیک از آزمون غیر پارامتری کروسکال – والیس استفاده شد. نتایج (میانگین± انحراف معیار) از ۵ آزمایش مستقل بدست آمد. P-value کوچکتر و یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

***الف) تخلیص سلول‌های دندریتیک از طحال موش:*** پس از هضم آنزیمی طحال موش‌های همخون [1] با آنزیم‌های کلاژناز و DNase، تعداد $۱۰^{۸}$× ۲/۹۵-۱/۹۵ و به طور متوسط $۱۰^{۸}$×۲/۳۶ لکوسیت به ازای هر طحال به دست آمد. در این مطالعه از محیط شیب غلظت اپتی‌پرپ با چگالی *gr/ml* ۱/۰۶۸ برای غنی‌سازی اولیه سلول‌های دندریتیک طحال استفاده شد. تعداد سلول‌های LD در چگالی *gr/ml* ۱/۰۶۸ معادل ۶-۳٪ و به طور متوسط ٤/۱٪ کل سلول‌ها بود. مطالعه با میکروسکوپ فاز کنتراست (Olympus, Japan) نشان داد که تنها، ۱۵ دقیقه پس از کشت سلول‌های کم چگال، سلول‌های دندریتیک به کف پلیت متصل شده و به آرامی در سطح آن گسترش می‌یابند. پس از حدود ۲-۱/۵ ساعت، سلول‌های دندریتیک کاملاً به سطح پلیت چسبیده و زوایید سیتوپلاسمی خود را در کف پلیت انتشار می‌دادند. شستشوی پلیت پس از مدت مذکور سبب حذف سلول‌های غیر چسبان شده و مرفولوژی دقیق سلول‌های دندریتیک نمایان می‌گردید. پس از شستشو، تنها حدود ۰/۳٪ کل سلول‌های اولیه طحال در کف پلیت باقی می‌ماند که عمدتاً در زیر میکروسکوپ نمای دندریتیک داشتند. سلول‌های غیر دندریتیک، کوچکتر، گرد و براق بودند. پس از حدود ۱۶-۱۲ ساعت سلول‌های دندریتیک بالغ شده و به صورت شناور درآمدند، در حالیکه اکثر سلول‌های غیر DC، به صورت چسبیده باقی ماندند. تعدادی از سلول‌های دندریتیک پس از شناور شدن به هم متصل شده و تجمعات کوچک تا بزرگ سلولی را تشکیل می‌دادند. این تجمعات سلولی به راحتی با پیپت کردن محیط کشت حاوی سلول، شکسته می‌شد. در مجموع از هر طحال موش‌های مورد مطالعه $۱۰^{۵}$× ۷-٤سلول دندریتیک با میزان حیات بیش از ۹۵٪ بدست آمد. مطالعه فلوسیتومتری با آنتی‌بادی ضدCD11c نشان داد که خلوص سلول‌های دندریتیک تخلیص شده ۳٪±۹۳/۷٪ می‌باشد (شکل شمارهٔ۱).

***ب) کشت سلول‌های دسی‌جوا:*** دسی‌جوای قاعده‌ای موش‌های حامله آلوژن [2] (Balb/c × C57BL/6) در روز دوازدهم حاملگی جدا گردید و پس از هضم آنزیمی کشت داده شد. در مجموع از هر موش حامله با ۵ کپسول جفتی به طور متوسط $۱۰^{۶}$×۱/۵±۸/۳ سلول با میزان حیات ۳٪±۹۵٪ به دست آمد. $۱۰^{۵}$×٤ سلول در حجم *µl* ۸۰۰ از RPMI کامل حاوی ۲۰٪ سرم جنین گاوی در هر حفره پلیت‌های کشت ۲٤ خانه کشت داده




**شکل ۱- بررسی بیان مارکر CD11c در سطح سلول‌های دندریتیک تخلیص شده از طحال موش به روش فلوسیتومتری، میزان خلوص حدود ۹۵٪ است.**

1- Inbred

2- Allogenic Pregnancy

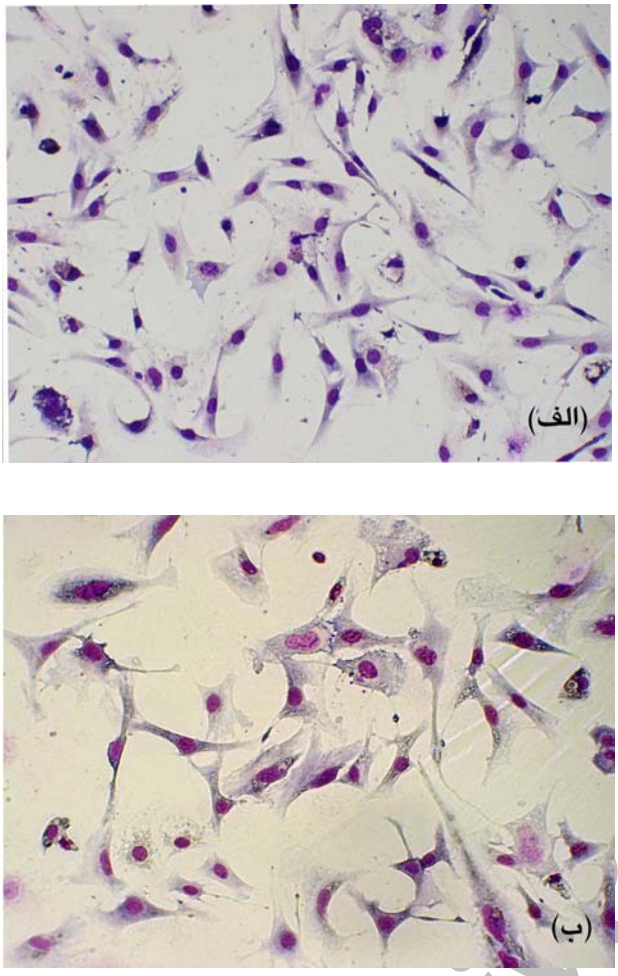


Archive of SID
www.SID.ir

شـدند. مطالعـه مرفولـوژی سـلول‌هـای کـشت شـده دسی‌جوا نشان داد که سه جمعیت اصلی سلولی شـامل سلول‌های بسیار بزرگ، متوسط و کوچک قابل مشاهده است. همچنین تعداد کمی سلول بـا نمـای دنـدریتیک در کشت سلول‌های دسی‌جوا وجود داشت. تنها در عـرض چند ساعت پس از کشت، تعـدادی از سـلول‌هـا بـه کـف پلیت چسبیدند. ایـن سـلول‌هـا عمـدتاً کـشیده بـا زوایـد سیتوپلاسمی و از نظـر نمـای کلـی شـبیه فیبروبلاسـت بودند. ۲٤ ساعت پس از کشت، ایـن سـلول‌هـا کـاملاً در سطح پلیت پخش شدند. پـس از ٤٨ سـاعت مـایع رویـی کـشت سـلول‌هـای دسـی‌جـوا جمـع‌آوری و بـا یکـدیگر مخلـوط گردیـد و پـس از سـانتریفوژ در دور بـالا در فریزر $-70^{o}C$ منجمد شد.

جهت بررسی بیشتر سلول‌های دسی‌جـوا، در برخـی از موارد پلیت‌های سـلولی در ۲٤، ٤٨و ۷۲ سـاعت پـس از کشت با گیمسا رنگ‌آمیزی شد( شکل شمارهٔ۲). مقایـسه سلول‌های کف پلیت در فواصل زمانی مذکور نـشان داد که با افزایش مدت زمان کـشت، انـدازه هـسته و بـویژه سیتوپلاسـم سـلول‌هـا بـه نحـو قابـل تـوجهی افـزایش می‌یابد. همچنین زواید اطراف سلول در این رنگ‌آمیـزی کاملاً مشخص بود. مطالعه سلول‌ها نشان داد که برخـی از سلول‌ها دارای دو هسته و برخی دیگر سـه هـسته‌ای می‌باشند.

***ج ) بارگذاری سلول‌های دندریتیک با آنتی‌ژن و ایمن‌سازی موش‌ها با ایـن سـلول‌هـا:*** بـه منظـور بررسـی توانـایی سلول‌های دندریتیک تخلـیص شـده از طحـال مـوش در القاء پاسـخ‌هـای اختـصاصی آنتـی‌ژن در لنفوسـیت‌هـا، سلول‌های دندریتیک با آنتی‌ژن بارگذاری و به کف پا یا دست موش‌هـا تزریـق شـدند. سـپس مطـابق بـه روش Inaba (۱۰) غدد لنفاوی پس زانویی و یا بازویی (بـسته به محل تزریق) خارج و سلول‌های آن با همـان آنتـی‌ژن مجـدداً تحریـک گردیـد. بـه طـور کلـی میـانگین cpm حفره‌های آزمون (سلول‌هـای غـدد لنفـاوی مـوش‌هـای



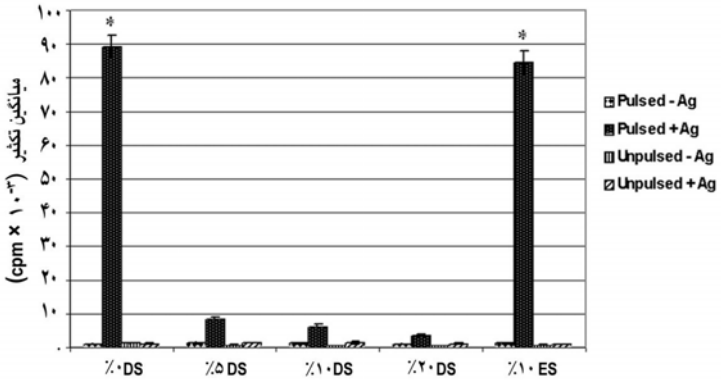

**شکل۲- رنگ‌آمیزی سلول‌هـای دسـی‌جـوای اواسـط حـاملگی موش به روش گیمسا، سلول‌های غیرچسبان شـسته و حـذف شده‌اند (درشت‌نمـایی ۲۰۰ برابـر): ۲۴ سـاعت پـس از کـشت (الف)، ۴۸ ساعت پس از کشت (ب)، ۷۲ ساعت پس از کشت (ج).**



Archive of SID
www.SID.ir

تحریک شده با سلول‌های دندریتیک بارگذاری شده با آنتی‌ژن) در ۵ آزمایش مستقل، در حضور ۱۰۰*µg/ml* آنتی‌ژن ۳۶۳۲±۸۹۲۱۰ و در عدم حضور آنتی‌ژن ۲۰۲±۱۰۵٤ بود. همچنین میانگین cpm حفره‌های کنترل منفی (سلول‌های غدد لنفاوی موش‌های تحریک شده با سلول‌های دندریتیک بارگذاری نشده) در حضور ۱۰۰*µg/ml* آنتی‌ژن ۱۳۰±۹٦۰ و در عدم حضور آنتی‌ژن ۲۲۰±۱۲۰۰ بود. به این ترتیب میانگین اندکس تحریک ۱٤/٤ ±۸۷/۳ برآورد گردید. آزمون آماری نشان داد که بین cpm حفره‌های آزمون و حفره‌های کنترل منفی در حضور آنتی‌ژن اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱).

***د) تأثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیک:*** جهت بررسی تأثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیک مقدار ۵٪، ۱۰٪ و یا ۲۰٪ مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا در طی بارگذاری آنتی‌ژنی و کشت شبانه به محیط کشت سلول‌های دندریتیک اضافه شد. بقیه مراحل مشابه با مراحل ارائه شده در قسمت‌های «د»، «هـ» و «و» قسمت مواد و روش‌ها انجام شد. نتایج حاصله از ۵ آزمون نشان داد که تیمار کردن[1] سلول‌های دندریتیک با مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوای موش‌های حامله آلوژن در تمام غلظت‌های ۵٪، ۱۰٪ و ۲۰٪ موجب مهار تکثیر اختصاصی لنفوسیت‌ها در برابر آنتی‌ژن می‌گردد (P<۰/۰۰۰۱). پس از اضافه کردن مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا به مقدار ۵٪، ۱۰٪ و ۲۰٪، میزان cpm و SI [2] به ترتیب به میزان۱۰۳۷±۸۱۰۰ (SI = ۶/۲۴ ±۰/٤)، ٦۲۰۰ ± ۵۸۲ (SI = ۵/۶۸ ± ۰/۷۵) و ۳۵۰۰ ±٤٤۲ (SI = ۳/۵±۰/۲) کاهش پیدا کرد (نمودار شمارهٔ۱)؛ اگرچه با افزایش غلظت مایع رویی کشت




**نمودار ۱- تاثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر سلول‌های دندریتیک از نظر القاء پاسخ تکثیری اختصاصی به آنتی‌ژن در لنفوسیت‌ها. سلولهای دندریتیک به هنگام بارگذاری با آنتی‌ژن با ۵٪، ۱۰٪ و یا ۲۰٪ سوپ کشت سلولهای دسی‌جوا (DS) و یا با ۱۰٪ سوپ کشت سلولهای آندومتر موشهای ماده غیرحامله (ES) تیمار شده و سپس به کف دست و یا کف پای موشها تزریق شدند. پس از ۵ روز غدد لنفاوی ناحیه‌ای خارج و در حضور آنتی‌ژن (Ag+) و یا غیاب آنتی‌ژن (Ag-) کشت داده شدند. به عنوان کنترل منفی عملیات مشابهی روی سلول‌های دندریتیک بدون بارگذاری آنتی‌ژن صورت گرفت. میزان تکثیر به روش مندرج در فصل مواد و روشها اندازه‌گیری گردید. نتایج (انحراف معیار± میانگین) از پنج آزمایش مستقل بدست آمده‌اند.**

***: P=0.000**

سلول‌های دسی‌جوا میزان تکثیر کاهش می‌یافت؛ ولی اختلاف معنی‌داری از این نظر مشاهده نشد.

تیمار کردن سلول‌های دندریتیک با مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا (بدون آنتی‌ژن) در تمام غلظت‌های مورد استفاده تأثیری بر تکثیر سلول‌های غدد لنفاوی نداشت. از طرف دیگر اضافه کردن مایع رویی کشت سلول‌های آندومتر موش‌های غیر حامله به روی کشت سلول‌های دندریتیک تأثیری بر توانایی سلول‌های دندریتیک از نظر القاء تکثیر اختصاصی به آنتی‌ژن در لنفوسیت‌ها نداشت.

## بحث

در این پژوهش جهت جمع‌آوری مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا، در روز دوازدهم حاملگی دسی‌جوا از کپسول جفتی موش‌های حامله جدا و پس از

1- Treatment
2- Stimulation Index



Archive of SID
www.SID.ir

هضم آنزیمی کشت داده شد. در کشت سلول‌های دسی‌جوا سه جمعیت اصلی سلولی شامل سلول‌های بزرگ، متوسط و کوچک دیده شد. سلول‌های چسبنده عمدتاً کشیده، با زواید سیتوپلاسمی فراوان و از نظر نمای کلی شبیه سلول‌های فیبروبلاست بودند. در مطالعه Pippard (۱۱) نیز چندین جمعیت سلولی در کشت سلول‌های دسی‌جوای موش‌های حامله ۱۱ روزه گزارش شده است. ولی اکثر سلول‌ها از نوع پهن و ستاره‌ای مطابق شکل شمارهٔ۱ بودند. او همچنین گزارش کرد که با افزایش زمان کشت، تعداد سلول‌ها و نیز اندازه و تعداد هسته‌ها افزایش می‌یابد. با توجه به خصوصیات مرفولوژیک و نیز ویژگی‌های رشد، به نظر می‌رسد که سلول‌های پهن و ستاره‌ای شکل گزارش شده در مطالعه Pippard همان سلول‌هایی باشند که ما نیز در این پژوهش بدان دست یافتیم. این سلول‌ها احتمالاً منشأ استرومایی داشته و از نوع سلول‌های استرومایی دسی‌جوا [1] می‌باشند(۱۳-۱۱). در مطالعه Valadimirsky و همکاران (۱۲) نیز نتایج مشابهی گزارش شده است.

در مطالعه حاضر نشان داده شد که برخی از سلول‌های چسبیده به کف پلیت و با نمای ستاره‌ای دارای دو و یا بیشتر از دو هسته می‌باشند. چنین سلول‌هایی در دیگر مطالعات نیز گزارش شده است(۱۲-۱۱). این پدیده احتمالاً ناشی از تقسیم میتوز در این سلول‌ها می‌باشد.

نتایج حاصله از این پژوهش نشان داد که تیمار کردن سلول‌های دندریتیک با مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوای موش‌های حامله آلوژن در تمام غلظت‌های ۵٪، ۱۰٪ و ۲۰٪ موجب مهار تکثیر اختصاصی لنفوسیت‌ها در برابر آنتی‌ژن می‌گردد.

مطالعات متعددی در زمینه تأثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا، سلول‌های تروفوبلاست و عصاره جفت [2] بر روی جنبه‌های مختلف سیستم ایمنی صورت گرفته است ولی تاکنون هیچ مطالعه‌ای در زمینه تأثیر فاکتورهای مذکور بر عملکرد سلول‌های دندریتیک ارائه نشده است. مطالعه Badet و همکارانش(۱٤) نشان می‌دهد که مایع رویی حاصل از کشت ٤٨ ساعته دسی‌جوای موش‌های حامله دارای اثر مهاری قوی بر MLR آلوژنیک است و این تأثیر در اواسط حاملگی موش (حدود روزهای ۹-۸ حاملگی) به اوج خود می‌رسد.

فاکتورهای موجود در سوپ دسی‌جوا همچنین بر تکثیر تیموسیت‌ها و تکثیر لنفوسیت‌ها در برابر میتوژن اثر مهاری دارند(۱۵). Beer و Dodd نیز نشان دادند که بافت دسی‌جوا می‌تواند رد پیوند پوست را در رحم موش به تأخیر اندازد(۱۷-۱٦).

در مطالعات دیگر نیز کاهش قدرت کشندگی طبیعی سلول‌های NK و اثر مهاری سلول‌های تروفوبلاست بر تولید سلول‌های T سیتوتوکسیک و فرایند ADCC [3] نشان داده شده است(۱۹-۱۸). با توجه به اینکه الف) دسی‌جوا در سطح تماس مادر – جنین قرار گرفته است ب) تشکیل آن مستقل از ژنوتیپ جنین است و ج) رشد و تکامل آن به هورمون‌های استروئیدی با فعالیت سرکوبگر ایمنی بستگی تام دارد، به نظر می‌رسد که این بافت محل مناسبی برای تولید فاکتورهای سرکوبگر ایمنی باشد.

سرکوب ایمنی یکی از جنبه‌های بارز و شناخته شده بارداری است. مطالعات بسیار متعددی در زمینه سرکوب ایمنی در طی بارداری انجام شده است. اصولاً با توجه به ماهیت شبه پیوند جنین و احتمال القاء پاسخ‌های ایمنی مخرب برعلیه جنین، وجود مکانیسم‌های سرکوب ایمنی در طی بارداری کاملاً منطقی به نظر می‌رسد. فاکتورهای سرکوبگر متعددی

1- Decidual Stromal Cells

2- Placental Extract
3- Antibody Dependent Cell- Mediated Cytotoxicity



Archive of SID
www.SID.ir

در طی بارداری تولید می‌شوند که هر یک از آنها برروی بخش خاصی از سیستم ایمنی مادر اثر مهاری دارند. با توجه به اینکه می‌توان پاسخ‌های ایمنی را به دو بخش موضعی و عمومی تقسیم‌بندی نمود و با توجه به اینکه سرکوب ایمنی موضعی در موضع تماس مادر- جنین از اهمیت بالاتری برخوردار است، منطقی به نظر می‌رسد که عوامل سرکوبگر ایمنی عمدتاً در موضع بارداری با غلظت بالاتری حضور داشته باشند.

در این پژوهش نشان داده شد که مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بطور قابل ملاحظه‌ای توانایی سلول‌های دندریتیک را در القاء تکثیر لنفوسیت‌ها کاهش می‌دهد. عوامل متعددی توسط سلول‌های دسی‌جوا تولید می‌شوند که می‌توانند پاسخ‌های القایی توسط سلول‌های دندریتیک را سرکوب نمایند. یکی از این عوامل HLA-G است. این مولکول بطور انتخابی بر روی سلول‌های تروفوبلاست عرضه می‌شود(۷). HLA-G محلول می‌تواند توانایی سلول‌های دندریتیک مشتق از سلول‌های $CD34^+$ و یا منوسیت را در القاء تکثیر سلول‌های T آلوژن به طور قابل ملاحظه‌ای مهار نماید؛ بدون اینکه تأثیری روی تمایز، بلوغ و یا آپوپتوز داشته باشد(۲۰). مطالعات انجام شده دیگر نشان می‌دهند که HLA-G بلوغ سلول‌های دندریتیک موش را در شرایط In Vitro مختل می‌کند. این امر سبب کاهش قدرت عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیک شده و موجب بالا رفتن بقاء پیوند آلوگرافت می‌شود(۲۱).

یکی دیگر از فاکتورهایی که به مقدار زیاد توسط سلول‌های دسی‌جوا تولید شده و بر روی سلول‌های دندریتیک اثر مهاری دارد، IL-10 است. تیمار کردن سلول‌های دندریتیک با IL-10 موجب کاهش توانایی این سلول‌ها در عرضه آنتی‌ژن می‌شود(۲۲). این کار همچنین سبب القاء آنرژی[1] اختصاصی به آنتی‌ژن در لنفوسیت‌های $TCD8^+$ (۲۳) و $TCD4^+$ (۲٤) می‌گردد. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که سلول‌های T آنرژیک که توسط سلول‌های دندریتیک تیمار شده با IL-10 القاء شده‌اند، از تکثیر لنفوسیت‌های T اختصاصی آنتی‌ژن از طریق مکانیسم غیر وابسته به آنتی‌ژن[2] جلوگیری می‌نمایند(۲۵،۲٦).

یکی دیگر از مولکول‌هایی که توسط سلول‌های دسی‌جوا تولید شده(۲۷) و دارای اثر مهاری بر روی سلول‌های دندریتیک می‌باشد، PGE2 است. نکته جالب توجه اینکه همانند IL-10، فقط سلول‌های دندریتیک نابالغ نسبت به اثرات PGE2 حساس بوده و پس از بلوغ نسبت به آن مقاوم می‌شوند(۲۸).

در مطالعه ما نیز مایع‌رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر روی سلول‌های دندریتیک نابالغ اثر داده شد. بنابراین احتمال دارد که فاکتورهایی نظیر IL-10 و PGE2 که توسط سلول‌های دسی‌جوا تولید می‌شوند، در همان مراحل اولیه بلوغ بر روی سلول‌های دندریتیک اثر کرده و موجب مهار عرضه آنتی‌ژن توسط این سلول‌ها شده باشند. اخیراً نقش سرکوب کنندگی ایمنی ویتامین D3 نظر بسیاری از محققین را به خود جلب کرده است. ویتامین D3 مانع بلوغ سلول‌های دندریتیک انسانی مشتق از منوسیت‌ها شده و توانایی سلول‌های دندریتیک را برای برداشت آنتی‌ژن‌های محلول و نیز تحریک آلوژنیک و اتولوگ سلول‌های T به نحو قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌دهد(۳۰-۲۹). جالب توجه اینکه همانند IL-10 و PGE2، سلول‌های دندریتیک بالغ نسبت به اثر ویتامین D3 مقاوم می‌باشند(۳۰).

تحریک لنفوسیت‌های T توسط سلول‌های دندریتیک در مجاورت دگزامتازون و آنالوگ ویتامین D موجب می‌شود که لنفوسیت‌های T حساس شده مقادیر زیادی IL-10 تولید کنند(۳۱). این سیتوکین نیز به نوبهٔ خود

1- Anergy

2- By-stander



Archive of SID
www.SID.ir

می‌تواند اثرات مهاری خود را بر روی سلول‌های دندریتیک اعمال نماید. لنفوسیت‌های T فوق‌الذکر قادرند که به صورت اختصاصی به آنتی‌ژن[1] تکثیر سایر لنفوسیت‌های T را مهار نمایند(۳۱). از طرف دیگر ویتامین D3 و گلوکوکورتیکوئیدها در مهار سلول‌های دندریتیک اثر هم‌افزایی[2] دارند بطوریکه سلول‌های دندریتیک تیمار شده با این دو فاکتور قدرت تحریکی بسیار کمی برای تکثیر لنفوسیت‌های T دارند(۳۲).

دسی‌جوا علاوه بر گلوکوکورتیکوئیدها حاوی مقادیر زیادی از آنزیم ۱- آلفا هیدروکسیلاز[3] می‌باشد که می‌تواند پروهورمون ۲۵- کوله کلسیفرول[4] را به ۱ و ۲۵ دی‌هیدروکسی کوله کلسیفرول (ویتامین D3)[5] تبدیل نماید(۷).

استرادیول یکی دیگر از فاکتورهایی است که می‌تواند توانایی سلول‌های دندریتیک را در فعال کردن لنفوسیت‌های T اختصاصی آنتی‌ژن مهار نماید. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که تزریق استرادیول به موش‌ها، قدرت عرضهٔ آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیک طحال موش را کاهش می‌دهد(۳۳). مطالعه‌ای دیگر نشان می‌دهد که استرادیول عرضهٔ آنتی‌ژن توسط سلول‌های اپی‌تلیال رحم را افزایش می‌دهد ولی عرضهٔ آنتی‌ژن توسط سلول‌های استرومایی رحم را کاهش می‌دهد(۳٤). با توجه به اینکه سلول‌های عرضه کننده اصلی بافت رحم، سلول‌های استرومایی (شامل ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک) می‌باشند، به نظر می‌رسد که در مجموع استروژن سبب کاهش قدرت عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن در رحم شود. مطالعات Wira و همکارانش نشان می‌دهند که توانایی عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های استرومایی رحم در فاز پرواستروس[6] بیشتر از فاز استروس است(۳٤). لازم به ذکر است که در فاز استروس غلظت استرادیول به بیشترین حد خود می‌رسد(۳۵).

با توجه به مجموع مطالب ذکر شده به نظر می‌رسد که اثر مهاری مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر توانایی سلول‌های دندریتیک در تحریک لنفوسیت‌های T ناشی از حضور طیف وسیعی از مولکول‌های تنظیم کننده سیستم ایمنی[7] است که توسط سلول‌های دسی‌جوا تولید می‌شوند. این مولکول‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلف نظیر مهار بلوغ و تمایز (۲۲،۲۹)، مهار عرضه مولکول‌های همراه (۳۰-۲۹، ۲۲،۲٤)، القاء بیان گیرنده‌های مهاری (۲٦، ۳٦)، میان کنش با گیرنده‌های مهاری سطح سلول (۲۰)، کاهش برداشت آنتی‌ژن (۲۹) و القاء سیتوکین‌های مهاری نظیر TGF-β (۳۷) می‌توانند عرضهٔ آنتی‌ژن توسط سلول‌های دندریتیک را در شرایط in vivo مهار نمایند.

اگرچه برخی از فاکتورهای فوق‌الذکر نظیر IL-10 از طریق اختلال در فرایند بلوغ سلول‌های دندریتیک، توانایی آنها را در عرضهٔ آنتی‌ژن مهار می‌نمایند، ولی به نظر نمی‌رسد که در مجموع مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا از این طریق بر عملکرد سلول‌های دندریتیک تأثیر گذاشته باشد. چرا که حتی غلظت‌های ۲۰٪ سوپ دسی‌جوا نتوانست از بلوغ ناشی از کشت شبانه سلول‌های دندریتیک ممانعت به عمل آورد. ولی این احتمال وجود دارد که مهار فرایند بلوغ در سطح مولکولی مانند مهار بیان عواملی نظیر مولکول‌های همراه باشد.

از طرف دیگر تأثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر روی سلول‌های دندریتیک ناشی از سمیت آن بر روی سلول‌های دندریتیک نیست، چرا که مطالعه

1- Antigen- Specific
2- Synergism
3- 1-α hydroxylase
4- 25 hydroxy cholecalciferol
5- 1, 25 (OH)2 Colecalciferol

6- Proestrus
7-Immunomodulatory Molecule



Archive of SID
www.SID.ir

ما نشان داد که حتی ۱۸ ساعت پس از تأثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر سلول‌های دندریتیک، میزان حیات این سلول‌ها بسیار بالا (۹۵٪ <) است. از طرف دیگر این احتمال وجود دارد که پس از تأثیر مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا بر سلول‌های دندریتیک، حرکت این سلول‌ها پس از تزریق از پوست به سمت غدد لنفاوی مهار شده باشد. اگرچه با توجه به افزایش تعداد سلول غدد لنفاوی ناحیه‌ای پس از تزریق سلول‌های دندریتیک تیمار شده با سوپ دسی‌جوا، مهار کامل حرکت سلول‌های دندریتیک را نمی‌توان پذیرفت. دسی‌جوا همچنین حاوی PGD2 است. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که PGD2 از مهاجرت سلول‌های لانگرهانس [1] به سمت غدد لنفاوی جلوگیری می‌نماید(۳۸). PGD2 به طور فعال در رحم و اندومتر ساخته می‌شود(۳۹) بنابراین به نظر می‌رسد که PGD2 در دسی‌جوا می‌تواند از مهاجرت سلول‌های دندریتیک ناحیه به سمت غدد لنفاوی جلوگیری کرده و بدین ترتیب از حساس شدن سلول‌های T با آنتی‌ژن‌های پدری ممانعت نماید.

در مجموع نتایج حاصله نشان داد که مایع رویی کشت سلول‌های دسی‌جوا می‌تواند بر توانایی سلول‌های دندریتیک در عرضهٔ آنتی‌ژن اثر مهاری داشته باشد. بنابراین، این احتمال وجود دارد که سلول‌های دندریتیک موضع بارداری نیز از محصولات ترشحی سلول‌های دسی‌جوا متأثر گردند. این مکانیسم در واقع یکی از راه‌کارهای تحمل ایمونولوژیک مادر نسبت به جنین است، چرا که سلول‌های دندریتیک به عنوان قویترین سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن می‌توانند آنتی‌ژن‌های پدری را به لنفوسیت‌های T مادر عرضه کرده و موجب القای پاسخ‌های مخرب ایمونولوژیک بر علیه جنین گردند.

**تشکر و قدردانی**

بدین وسیله از زحمات سرکار خانم پروانه احمدی و سرکار خانم اکرم روزبهانی که در حروفچینی و صفحه‌آرایی این مقاله همکاری نموده‌اند کمال تشکر و قدردانی را دارد.

## *References*

1- Bouma G.J., Van Caubergh P., Van Bree S.P., Castelli-Visser R.M., Witvliet M.D., Van der Meer-Prins E.M., Van Rood J.J., Claas F.H. Pregnancy can induce prinming of cytotoxic T lymphocytes specific for paternal HLA antigens that is associated with antibody formation. Transplantation.1996;62(5):672-8.

2- Billingham R.E., Brent L., Medawar P.B. Actively acquired tolerance of foreign cells.1953. Transplantation.2003;76(10):1409-12.

3- Hoskin D.W., Murgita R.A. Specific maternal anti-fetal lymphoproliferative responses and their regulation by natural immunosuppressive factors. Clin Exp Immunol.1989;76(2):262-7.

4- Mellor A.L., Munn D.H. Immunology at the maternal-fetal interface: lessons for T cell tolerance and suppression. Annu Rev Immunol.2000; 18:367-91(Review).

5- Borland R. Placenta as an allograft. In. Comparative placentation. Eds. Steven DH. London, Academic press.1975;pp:268-281.

6- Tafuri A., Alferink J., Moller P., Hammerling G.J., Arnold B. T cell awareness of paternal alloantigens during pregnancy.Science.1995;270 (5236):630-3.

۷- مصفا نریمان، زرنانی امیرحسن، حسن زهیر محمد. ایمونولوژی حاملگی طبیعی. تهران، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی، چاپ اول ۱۳۸۲.

1- Langerhans



Archive of SID
www.SID.ir

20- Le Friec G., Laupeze B., Fardel O., Sebti Y., Pangault C., Guilloux V., Beauplet A., Fauchet R., Amiot L. Soluble HLA-G inhibits human dendritic cell-triggered allogeneic T-cell proliferation without altering dendritic differentiation and maturation processes. Hum Immunol.2003;64(8): 752-61.
21- Liang S., Baibakov B., Horuzsko A. HLA-G inhibits the functions of murine dendritic cells via the PIR-B immune inhibitory receptor. Eur J Immunol.2002;32(9):2418-26.
22- Zheng Z., Narita M., Takahashi M., Liu A., Furukawa T., Toba K., Aizawa Y. Induction of T cell anergy by the treatment with IL-10-treated dendritic cells. Comp Immunol Microbiol Infect Dis.2004;27(2):93-103.
23- Steinbrink K., Jonuleit H., Muller G., Schuler G., Knop J., Enk A.H. Interleukin-10-treated human dendritic cells induce a melanoma-antigen-specific anergy in CD8(+) T cells resulting in a failure to lyse tumor cells. Blood.1999;93(5): 1634-42.
24- Steinbrink K., Wolfl M., Jonuleit H., Knop J., Enk A.H. Induction of tolerance by IL-10-treated dendritic cells. J Immunol.1997;159(10):4772-80.
25- Levings M.K., Sangregorio R., Roncarolo M. G. Human CD25(+)CD4(+) t regulatory cells suppress naive and memory T cell proliferation and can be expanded in vitro without loss of function. J Exp Med.2001;193(11):1295-302.
26- Steinbrink K., Graulich E., Kubsch S., Knop J., Enk A.H. CD4(+) and CD8(+) anergic T cells induced by interleukin-10-treated human dendritic cells display antigen-specific suppressor activity. Blood.2002;99(7):2468-76.
27- Anteby S.O., Bauminger S., Zor U., Lindner H.R. Prostaglandin synthesis in decidual tissue of the rate uterus. Prostaglandins.1975;10(6):991-9.
28- Kalinski P., Schuitemaker J.H., Hilkens C.M., Kapsenberg M.L. Prostaglandin E2 induces the final maturation of IL-12-deficient CD1a+CD83+ dendritic cells: the levels of IL-12 are determined during the final dendritic cell maturation and are resistant to further modulation. J Immunol.1998; 161(6):2804-9.
29- Penna G., Adorini L. 1 Alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. J Immunol.2000;164(5):2405-11.
30- Berer A., Stockl J., Majdic O., Wagner T., Kollars M., Lechner K., Geissler K., Oehler L. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) inhibits dendritic

۸- امیرحسن زرنانی، سید محمد مؤذنی، فاضل شکری، مژده صالح‌نیا، علی‌احمد بیات، محمود جدی تهرانی. بهینه‌سازی تخلیص سلول‌های دندریتیک طحال موش به منظور استفاده در تخلیص و مطالعه سلول‌های دندریتیک ارگان‌های تولید مثل. فصلنامه باروری و ناباروری، سال چهارم (۱۳۸۱)، شماره ۱، صفحات ۲۹-۱۷.

9- Pool T. The UFAW handbook on the care & management of laboratory animals, Longman scientific & Technical, 6th Edition.1989;pp:289-323.
10- Inaba K., Metlay J.P., Crowley M.T., Steinman R.M. Dendritic cells pulsed with protein antigens in vitro can prime antigen-specific, MHC-restricted T cells in situ. J Exp Med.1990;172(2): 631-40.
11- Pippard D.F. In-vitro development and degeneration of stromal cells from the uterus of the rat at three stages of pregnancy. J Reprod Fertil.1987; 81(1):249-57.
12- Vladimirsky F., Chen L., Amsterdam A., Zor U., Lindner H.R. Differentiation of decidual cells in cultures of rat endometrium. J Reprod Fertil. 1977;49(1):61-8.
13- Olivares E.G., Montes M.J., Oliver C., Galindo J.A., Ruiz C. Cultured human decidual stromal cells express B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) and stimulate allogeneic T cells. Biol Reprod. 1997;57(3):609-15.
14- Badet M.T., Bell S.C., Billington W.D. Immunoregulatory activity of supernatants from short-term cultures of mouse decidual tissue. J Reprod Fertil.1983;68(2):351-8.
15- Badet M.T., Bell S.C., Billington W.D. Partial characterization of immunosuppressive factors from short-term cultures of murine decidual tissue Ann Immunol (Paris).1983;134C(3):321 -9.
16- Beer A.E., and Billingham R.E. Host responses to intra-uterine tissue, cellular and fetal allografts. J Reprod Fert.1974;21:59-88.
17- Dodd M., Andrew T.A., Coles J.S. Functional behaviour of skin allografts transplanted to rabbit deciduomata. J Anat.1980;130(2):381-90.
18- Kolb J.P., Chaouat G., Chassoux D. Immunoactive products of placenta. III. Suppression of natural killing activity. J Immunol.1984;132(5): 2305-10.
19- Chaouat G., Kolb J.P. Immunoactive products of placenta. IV. Impairment by placental cells and their products of CTL function at effector stage. J Immunol.1985;135(1):215-22.



Archive of SID
www.SID.ir

cell differentiation and maturation in vitro. Exp Hematol.2000;28(5):575-83.
31- Dong X., Bachman L.A., Kumar R., Griffin M.D. Generation of antigen-specific, interleukin-10- producing T-cells using dendritic cell stimulation and steroid hormone conditioning. Transpl Immunol.2003;11(3-4):323-33.
32- Xing N. L., Maldonado M.L., Bachman L.A., McKean D.J., Kumar R., Griffin M.D. Distinctive dendritic cell modulation by vitamin D(3) and glucocorticoid pathways. Biochem Biophys Res Commun.2002;297(3):645-52.
33- Liu H.Y., Buenafe A.C., Matejuk A., Ito A., Zamora A., Dwyer J., Vandenbark A.A., Offner H. Estrogen inhibition of EAE involves effects on dendritic cell function. J Neurosci Res.2002;70(2) : 238-48.
34- Wira C.R., Kaushic C., Richardson J. Role of sex hormones and cytokines in regulating the mucosal immune system in the femal reproductive tract. In: Mucosal Immunology. Orga P. (Editors) Aca-demic Press.1999; pp: 1449-1461.
35- Fata J.E., Chaudhary V., Khokha R. Cellular turnover in the mammary gland is correlated with systemic levels of progesterone and not 17beta-estradiol during the estrous cycle. Biol Reprod. 2001;65(3):680-8.
36- Vlad G., Piazza F., Colovai A., Cortesini R., Della Pietra F., Suciu-Foca N., Manavalan J.S. Interleukin-10 induces the upregulation of the inhibitory receptor ILT4 in monocytes from HIV positive individuals. Hum Immunol.2003;64(5): 483-9.
37- Wira C.R., Roche M.A., Rossoll R.M. Antigen presentation by vaginal cells: role of TGFbeta as a mediator of estradiol inhibition of antigen presentation. Endocrinology.2002;143 (8):2872-9.
38- Angeli V., Faveeuw C., Roye O., Fontaine J., Teissier E., Capron A., Wolowczuk I., Capron M., Trottein F. Role of the parasite-derived prostaglandin D2 in the inhibition of epidermal Langerhans cell migration during schistosomiasis infection. J Exp Med.2001;193(10):1135-47.
39- Rees M.C., Kelly R.W. Prostaglandin D2 release by endometrium and myometrium. Br J Obstet Gynaecol.1986;93(10):1078-82.

Archive of SID



www.SID.ir