

計劃編號：DOH88-TD-1091

行政院衛生署八十八年度科技研究發展計劃

子宮內膜異位症病人腹水中巨噬細胞功能之變化

計劃名稱

研 究 報 告

執行機構：國立台灣大學醫學院附設醫院婦產部

計劃主持人：國立台灣大學醫學院 何弘能教授

研究人員：吳明義醫師、蔡依嫻小姐

執行期限：87年7月1日至88年6月30日

****本研究報告僅供參考,不代表本署意見****

目 錄

	頁次
1. 中文摘要	2
2. 英文摘要	3
3. 前言	4
4. 材料及方法	7
5. 結果	10
6. 討論	12
7. 結論與建議	16
8. 參考文獻	17

中文摘要

為了更了解子宮內膜異位症婦女，其腹水中的巨噬細胞的變化是否會關係到它的致病機轉，我們在此將分析巨噬細胞的培養後產物，如 Nitric oxide (NO, 氧化氮)、總抗氧化物(total antioxidant status, TAS)、細胞素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-10、IL-12 的產量，在正常族群與子宮內膜異位症婦女有何不同？

我們也測量使用不同濃度的細胞內毒素(LPS)，來刺激腹水中的巨噬細胞，看它產生 NO、TAS、IL-6、IL-10、IL-12 的能力，來推論巨噬細胞在這疾病中所扮演的角色。這兩年間台大醫院進行不孕症腹腔鏡檢查，有 36 個子宮內膜異位的病人(第一期與第二期 12 人，第三期與第四期 11 人)。另有 13 人為對照組，為結紮或無特殊發現的患者，取其腹水後，經 24 小時培養，或經 2 ng/mL LPS 或 2 µg/mL LPS 刺激 24 小時，取其上清液，作化驗檢查。

結果顯示，患有子宮內膜異位之婦女及正常婦女比較的結果，沒有刺激，看不出差異。但是，經過 2 ng/mL LPS 刺激後，第一期與第二期子宮內膜異位的病人明顯比對照組產生過多的 NO、IL-6、IL-10，也比第三期與第四期子宮內膜異位的病人少了 TAS，當 LPS 刺激改成 2 µg/mL 以後，第三期與第四期子宮內膜異位的病人比對照組產生過多的 IL-12。

本實驗的結論是子宮內膜異位的病人腹水中細胞素的改變，主要來源還是腹水中的巨噬細胞。這證實以前我們過去的研究發現與推論是正確的。

中文關鍵詞：子宮內膜異位症，腹水，巨噬細胞

英文摘要

PROBLEM: To verify whether the peritoneal macrophage is activated in endometriosis.

METHODS: We examined the synthesis of nitric oxide (NO), total antioxidants (TAS), IL-6, IL-10 and IL-12 by cultured peritoneal macrophages (PM) unstimulated or stimulated with lipopolysaccharide (LPS) from women with endometriosis (early; N=12; advanced; N=11) or without endometriosis (N=13).

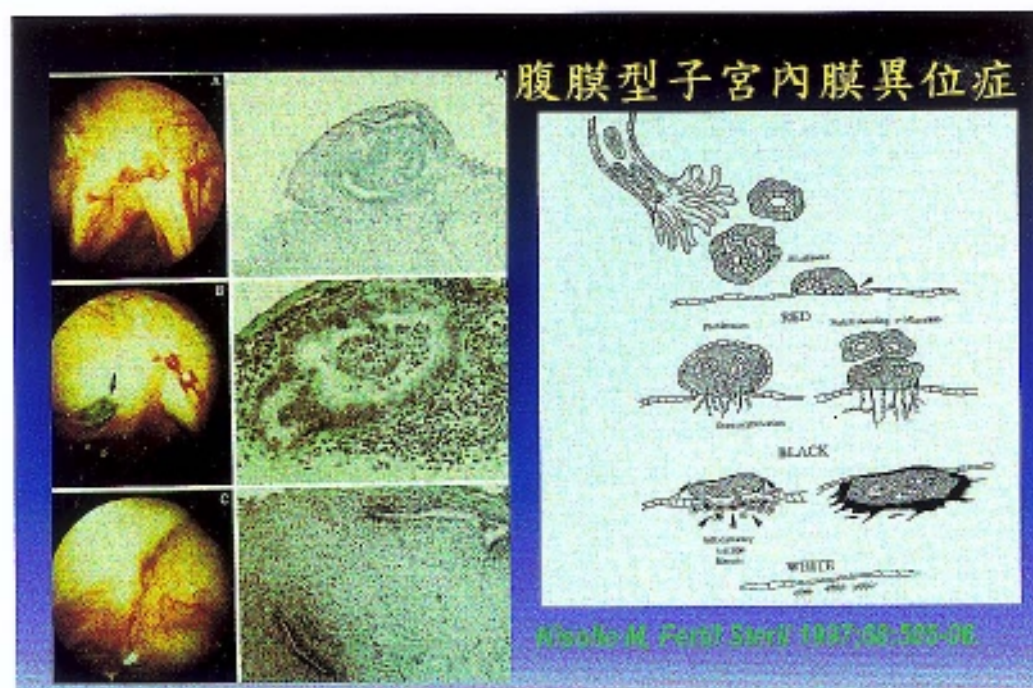
RESULTS: After stimulation with 2 ng/mL LPS for 24 hours, PM from women with early stage endometriosis secreted more NO, IL-6 and IL-10 than control. Higher IL-12 levels were noted in women with advanced endometriosis when compared with controls. We also detected higher TAS levels in the advanced endometriosis group after 2 ng/mL LPS stimulation for 24 hours than those in the early endometriosis group.

CONCLUSION: The increased production of IL-6, IL-10 and IL-12 by stimulated PM confirmed previous observations that the PM is the principle source of these cytokines in peritoneal fluid.

Key words: endometriosis, IL-6, IL-10, IL-12, macrophage

前言

子宮內膜異位症(endometriosis)，在 1860 年代就被發現，顧名思義就是指“子宮內膜”長在子宮以外的地方(異常位置)。雖然，子宮內膜異位症致病的機轉，一直是大家爭論的焦點。文獻上曾有過四種假說：(1)1885 年由 von Rocklinghausen 所提的胚胎來源說，(2)1919 年由 Meyer 所提的腹膜化生說，(3)1927 年由 Sampson 提出的月經逆流說及(4)1949 年由 Jauert 所提出的血液散佈學說。但目前為止最廣為接受的說法是：1927 年 Dr. Sampson 提出來的，在月經來潮時，脫落的子宮內膜細胞，沿著輸卵管倒流入腹腔中，而造成「子宮內膜異位」(見圖一)。但是許多後來的研究指出，如果在月經期間實施腹腔鏡檢查，有高達八九成以上，可以在腹腔中找到逆流的子宮內膜細胞(見圖二)，但是一般人群中只有 5% 左右有子宮內膜異位症，即使是不孕症或月經痛的案例，也只有 20-50% 得到子宮內膜異位症(見表一)。因此，最近幾年，有人提出導致此病症的重要因素，是免疫系統機能失調的結果，許多的研究報告指出，患有子宮內膜異位的婦女其腹水中，活化的巨噬細胞數目會增加，自然殺手細胞的毒殺作用會降低，而細胞激素、前列腺素、補體以及一些酵素的濃度會上升。之前我們的研究[1]，就曾經證明了在嚴重的子宮內膜異位的病人中，其腹水內的自然殺手細胞的毒殺作用降低，與 $CD3^+CD25^+$ 這種淋巴球的次族群會被壓抑。



圖一 在月經來潮時，脫落的子宮內膜細胞，沿著輸卵管倒流入腹腔中，而造成「子宮內膜異位」病灶。A 為紅色或透明病灶，活性較強；B 為出血後病灶，呈藍黑色，活性較弱；C 為已癒合病灶，幾乎無活性。



圖二 腹水中逆流的子宮內膜異位組織，此病人作腹腔鏡檢查時已是月經週期第十天，仍有嚴重的逆流月經(溶解與未溶解的紅血球相當多)，故臨床上有相當廣泛嚴重的子宮內膜異位症，此病人在本院已經多次治療，目前疾病並無明顯緩解，仍未懷孕。

表一 子宮內膜異位症之臨床發生比率(prevalence)

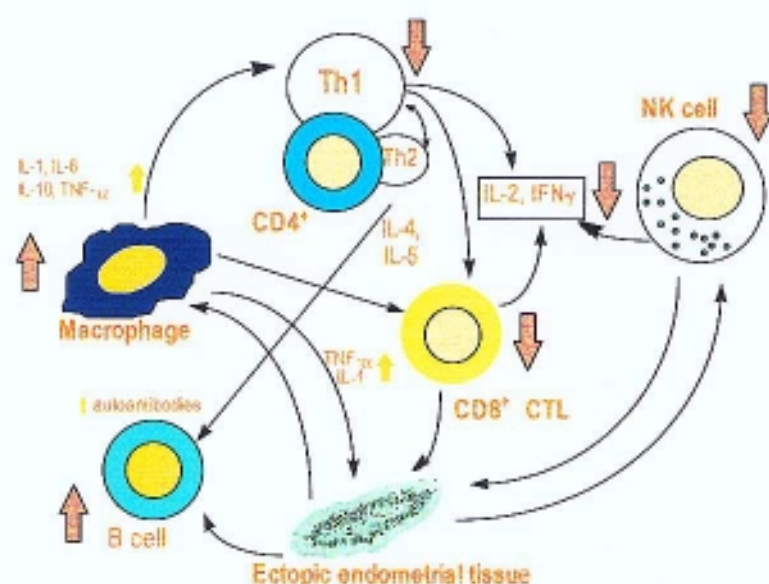
手術方法	總人數	子宮內膜異位症	
		人數	比率
輸卵管重接通	1,860	19	1%
輸卵管結紮	3,060	61	2%
VTH	858	69	8%
ATH	5,511	606	11%
診斷性腹腔鏡 (不孕患者)	724	116	16%
手術性腹腔鏡	2,065	619	30%
診斷性腹腔鏡 (有經痛之年輕患者)	140	74	53%

(Wheeler JM, Infertil Reprod Med Clin North America 1992;3:545-9.)

患有子宮內膜異位症婦女，其腹水中的巨噬細胞所釋放出的生長激素，會刺激異位內膜細胞，以及一些有害胚胎的細胞激素大量增生[2]，

而降低此婦女的受孕力，而且這些患者體內會產生自體免疫抗體，及一些會活化 B cell 之淋巴激素。最近有人提出子宮內膜異位可為一種特別的類淋巴細胞的活力減弱所致，而此種細胞具有辨識並溶解自體內膜細胞的能力。NK (natural killer) cell (自然殺手細胞)，被認為具有這個能力。有人曾經做了一個實驗[3]，發現用 NK cell 的專一性抗體處理內膜中的效應細胞，可以移除細胞毒殺的作用，由此推論子宮內膜的細胞毒殺作用應該是經由 NK cell 完成。另外也有實驗顯示除了 $CD3^+CD16^+$ NK cell 具有細胞毒殺的能力之外， $CD3^+CD8^+$ 的 T cell 次族群也會影響 NK cell 的作用。

本實驗室除了證明了子宮內膜異位症婦女，腹水中的自然殺手細胞功能上有缺陷外[1]， $CD25^+$ T 細胞有被抑制的現象[1]，且二者都可以用 GnRHa 六個月的治療來恢復[4]，腹水中細胞素的變化顯示 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 有增加，而 IFN- γ 卻有減少[5]，86 年度衛生署補助計劃的結論更顯示出，T 細胞受 PHA、ConA 刺激產生 IL-2 能力的缺損，可以 GnRHa 來恢復[5]。87 年度衛生署補助計劃結論，可看到子宮內膜異位症婦女 IL-10、IL-12 的濃度上升，導致輔助型 T 細胞活性被抑制，額外利用了不同的刺激物(PHA、ConA)，來刺激腹水中的淋巴球細胞，發覺 IL-5 產生減少[6]。



圖三，我們對子宮內膜異位症的病人腹水中細胞免疫的網路設定的假說，腹水中細胞以 TH1 為主，但 NK 細胞活性的下降，是否來自 TH1 受抑制，如果 TH1 受抑制，是否跟 TH2 活化或巨噬細胞有關，大部分的研究都顯示腹水細胞中，巨噬細胞有活化的現象。

這讓我們想到，子宮內膜異位症不只是自然殺手細胞有變化，T 細胞有改變，可能巨噬細胞也扮演重要角色。為了更了解子宮內膜異位症婦女，其腹水中的巨噬細胞的變化是否會關係到它的致病機轉，我們在此分析了 LPS 刺激後，一些巨噬細胞的產物如 NO, IL-6, IL-10, IL-12 在正常族群與子宮內膜異位症婦女有何不同？

實驗材料及方法

一、病人周邊血液及腹水檢體的取得：

這兩年間台大醫院進行不孕症腹腔鏡檢查，以及輸卵管結紮手術的病人取其腹水，這些病人在手術進行前三個月，沒有接受任何荷爾蒙治療，而且腹腔鏡手術進行的時間是在病人月經乾淨後的濾泡期早期。有 23 個子宮內膜異位的病人，分別是第一期與第二期 12 人，第三期與第四期 11 人。另有 13 人為對照組，為結紮或無特殊發現的患者，取其腹水作 IL-10、IL-12 的測試。我們定義第一期及第二期為輕度子宮內膜異位患者，第三期及第四期為重度子宮內膜異位患者，這些腹水在測試前，都冷凍在 -70°C 冰箱裡，免得受影響。

在腹腔鏡之前，麻醉後，抽取 8 mL 的靜脈血，分別是 Heparin 管子 6 mL 作自然殺手細胞的細胞毒殺作用測試，另 EDTA 管子 2 mL 作流體細胞分析。抽取腹水時，由熟練的醫師，負責最前面的步驟，務求儘量減少血液的污染，並且器械方面都是用 EO 消毒，免得有些 cidex 或 formalin 消毒的器械，雖然清洗多次，仍有殘餘物影響細胞的功能表現。

測量腹水體積與其中細胞濃度並記錄之。腹水 30 分鐘內送至實驗室，離心 400 g，10 min 後，沈澱物以 RPMI-1640 重新懸浮(2 mM/mL L-glutamine，25 mM/mL HEPES，50 $\mu\text{g/mL}$ penicillin，50 $\mu\text{g/mL}$ streptomycin)，用 Ficoll-Hypaque 漸層離心法 800 g，20 min 離心兩次，將腹水及血液中的單核細胞分別分離出來，並用 trypan blue 測定其存活率，大約 95% 以上都是活的，再用加了 10 % 胎牛血清(FCS)的 RPMI-1640，調成 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 的濃度備用，如果有些細胞無法確定是否為紅血球或單核球，用 Turk solution 染色，會看的更清楚。

二、巨噬細胞的分離與培養：

將取得的白血球溶液 1 c.c. $2 \times 10^6/\text{mL}$ ，放入直徑 3 cm 的塑膠培養皿中， 37°C ，5% CO_2 60 分鐘，之後，用 RPMI-1640 洗滌三次，除去不要的白血球細胞，然後加入 1 c.c. 的 RPMI-1640 與 10% FCS (fetal calf serum) 培養。

每一個培養皿分別入 1 c.c. RPMI-1640，1 c.c. 4 $\mu\text{g/mL}$ LPS (from E. coli; Sigma)，1 c.c. 4 ng/mL LPS，在 37°C 5% CO_2 下兩小時。之後，使得每個培養皿的細胞濃度為 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 中所剩的巨噬細胞，分別在對照組，2 $\mu\text{g/mL}$ ，2 ng/mL 的 LPS 刺激下培養。

24 小時後，吸取上清液，離心後冷凍於- 70°C 中，其中 IL-6, IL-10, IL-12 可用 ELISA Kit (R&D)測其濃度。而 Nitric oxide，則用 Greiss Reagent 作用後，可用比色法簡單測出其含量。2,3 •ABTS 則可以測得其中抗氧化物的濃度。

三、統計方法：

除了 IL-12 是採取大於敏感度的個案數外，其餘均採平均值±標準差的表示方法，而且用 Kruskal-Wallis H test 加上 Dunn procedure 修正，至於 IL-12 則用 χ^2 test 來做比較，P 值小於 0.05 才認為有統計意義。

結 果

一、腹水巨噬細胞基礎細胞素生成量

患有子宮內膜異位之婦女及正常婦女比較的結果，NO, TAS, IL-6, IL-10, IL-12 都沒有明顯的差異。(Table 1)

Table 1. Basal synthesis of various cytokines by the peritoneal macrophages from women with endometriosis and fertile controls

Cytokines*	Controls (N=13)	Endometriosis	
		Early (N=12)	Advanced (N=11)
NO (μ M) ^a	106.9 $\pm$ 13.5	123.5 $\pm$ 13.1	112.4 $\pm$ 10.1
TAS (mmol/L) ^a	2.53 $\pm$ 0.34	2.44 $\pm$ 0.50	3.37 $\pm$ 0.62
IL-6 (pg/mL) ^a	1094 $\pm$ 260	899 $\pm$ 260	1131 $\pm$ 317
IL-10 (pg/mL) ^a	268.5 $\pm$ 181.8	113.2 $\pm$ 41.9	132.0 $\pm$ 32.6
IL-12 (> 5 pg/mL) ^b	0/13	1/12	1/11

*NO = total nitric oxide production measured by the concentration of nitrate, TAS = total antioxidant status, IL-6 = interleukin 6, IL-10 = interleukin 10, IL-12 = interleukin 12.

^aMean $\pm$ SEM; Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney test were used. There were no significant differences.

^b(Number of cases odetected by the IL-12 ELISA kit) / (Number of total cases). Fisher's exact test was used to compare each other. No significant differences were seen.

二、腹水巨噬細胞經 LPS 刺激後的細胞素產物

在較低量(2 ng/mL)的 LPS 刺激下，早期子宮內膜異位症患者比對照組表現出更多的巨噬細胞活性，例如 NO, IL-6, IL-10 的明顯升高(Table 2)，而晚期的子宮內膜異位症患者比對照組多出 TAS 的產量。

Table 2. Lipopolysaccharide (LPS) (2ng/mL)-stimulated synthesis of various cytokines by the peritoneal macrophages from women with endometriosis and fertile controls

Cytokines	Controls (N=13)	Endometriosis	
		Early (N=12)	Advanced (N=11)
NO (μ M)*	120.0 $\pm$ 13.8 ^a	169.0 $\pm$ 11.0 ^a	133.6 $\pm$ 15.3
TAS (mmol/L)*	2.60 $\pm$ 0.34	2.05 $\pm$ 0.34 ^b	4.00 $\pm$ 0.64 ^b
IL-6 (pg/mL)*	1262 $\pm$ 341 ^c	2744 $\pm$ 236 ^c	1573 $\pm$ 425
IL-10 (pg/mL)*	933 $\pm$ 99 ^d	1569 $\pm$ 179 ^d	1090 $\pm$ 101
IL-12 (> 5 pg/mL)**	0/13	1/12	2/11

*NO = total nitric oxide production measured by the concentration of nitrate, TAS = total antioxidant status, IL-6 = interleukin 6, IL-10 = interleukin 10, IL-12 = interleukin 12. *

Mean $\pm$ SEM following stimulation by 2 ng/mL LPS for 24 hours. ******(Number of cases detected by the IL-12 ELISA kit) / (Number of total cases) following stimulation with 2 ng/mL LPS for 24 hours.

^aP = 0.019, ^bP = 0.006, ^cP = 0.006, ^dP = 0.007 by the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney *U*-test.

在較高量(2 μ g/mL)的 LPS 刺激下，子宮內膜異位症患者比對照組沒有表現出更多的巨噬細胞活性，而只有在晚期的子宮內膜異位症患者比對照組多出 IL-12 的產量而已(Table 3)。

Table 3. Lipopolysaccharide (LPS) (2 μ g/mL)-stimulated synthesis of various cytokines by the peritoneal macrophages from women with endometriosis and fertile controls

Cytokines	Controls (N=13)	Endometriosis	
		Early (N=12)	Advanced (N=11)
NO (μ M)*	113.4 $\pm$ 12.3	135.4 $\pm$ 10.6	109.9 $\pm$ 13.8
TAS (mmol/L)*	2.79 $\pm$ 0.45	2.41 $\pm$ 0.48	3.52 $\pm$ 0.65
IL-6 (pg/mL)*	1059 $\pm$ 276	1439 $\pm$ 245	997 $\pm$ 268
IL-10 (pg/mL)*	2379 $\pm$ 295	2497 $\pm$ 235	2892 $\pm$ 376
IL-12 (> 5 pg/mL)**	1/13 ^a	2/12	7/11 ^a

*NO = total nitric oxide production measured by the concentration of nitrate, TAS = total antioxidant status, IL-6 = interleukin 6, IL-10 = interleukin 10, IL-12 = interleukin 12.

*Mean $\pm$ SEM following stimulation by 2 ng/mL LPS for 24 hours. ******(Number of cases detected by the IL-12 ELISA kit) / (Number of total cases) following stimulation with 2 μ g/mL LPS for 24 hours.

^aP = 0.023 by the Fisher exact test.

討 論

異位的子宮內膜異位病灶，持續刺激，使得一些抗體產生與 NK 細胞的 Fc 接受體結合，因此 NK 細胞的細胞毒殺能力降低[7]，但在周遭血液中沒有持續刺激，便無此現象。這也許是為什麼我們無法在子宮內膜異位症病人的周邊血液，無法看出 NK 細胞的細胞毒殺能力降低的現象，但是嚴重的子宮內膜異位症，因為持續的刺激，所以毒殺能力降低變降低了。

T 細胞表面的活化標誌，有早期性(CD69 與 CD25)和晚期性(HLA-DR) [8,9]，它們有些刺激 NK 細胞，有些抑制 NK 細胞。最早我們的研究，曾顯示血液與腹水中的細胞，在子宮內膜異位患者有受抑制的現象[1]，而且可能跟 NK 細胞活性下降有關。之前我們的研究結果更證實子宮內膜異位症 T 細胞的 $CD3^+CD25^+$ 與 $CD3^+CD69^+$ 比率血液中有下降的傾向，在腹水中， $CD3^+CD25^+$ 也有降低。

上年度實驗更驗證了，輕度(也就是早期) 子宮內膜異位症患者腹水中淋巴球次族群 $HLA-DR^+CD4^+CD3^+$ 有降低的現象，而 $CD8^+$ 部分卻沒有此現象，由此可知，這些變化可能發生在 T helper cells (輔助型 T 細胞) 身上，而輔助型 T 細胞可分為 Th1 與 Th2，其分泌的細胞素也不一樣，前者為 IL-2 與 IFN- γ ，後者為 IL-4 與 IL-5 [10]。而 Th1 比 Th2 在我們的病人更明顯有影響力，惟其經培養或刺激，並無法很清楚告訴我們影響的機制。

我們在之前的實驗曾得到一個結論，即腹水中細胞素的變化顯示 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 有增加，而 IFN- γ 卻有減少[5]，卻沒有 IFN- γ 減少的現象，因為這些是體外培養的單核球細胞，非從前腹水中濃度，在體內，IFN- γ 來自自然殺手細胞，但它卻是功能被壓抑的，IFN- γ 也可能來自 Th1 細胞，但跡象顯示，Th1 細胞在子宮內膜異位症患者腹水中是功能不足的，本實驗也支持此論點。離開了人體，在培養過程中，環境不一樣了，一些在體內存在有的環環相扣現象不見了，所以才得到不同的結果。

為什麼體內外不同？巨噬細胞，應該扮演重要角色，可能把抗原(內膜異位的組織抗原)，傳達給其他細胞(例如輔助型 T 細胞)所致，亦即是抗原表現細胞(antigen presenting cells, APC)，對於子宮內膜異位症這種逆流的異位組織，巨噬細胞在腹腔又是數目最多的區域，一定扮演免疫的關鍵性角色，除了跟 NK cell, K cells, Cytotoxic T cells 外一樣具有殺掉外來細胞功能外，適度調控免疫反應應該是巨噬細胞所發動的。所以去年

實驗(DOH-87-TD-1059)，我們去測試體內 IL-10、IL-12 的濃度(腹水)，結果發現好像的確有巨噬細胞活化的現象，而且只有輕度子宮內膜異位症患者較明顯，但是與其說輕度，倒不如說比較早期，或正處於活躍型的子宮內膜異位症。

目前有越來越多的文獻支持這個論點，所以本實驗用 LPS 一種細胞內毒素，去刺激巨噬細胞，只有巨噬細胞，沒有其他自然殺手或其他細胞存在的情況下，到底有沒有活化的現象。結果顯示，當沒有刺激物時，子宮內膜異位症的患者，比起對照組並沒有什麼不同，這有三個原因可以解釋，第一，也許子宮內膜異位症患者本身，腹水的巨噬細胞藉由分泌 IL-10 而有自我調控的功能，有動物實驗證實腹膜炎的老鼠，加入 IL-10 會使敗血症產生較和緩，巨噬細胞 IL-1, IL-6, TNF- α 產生較少[11]。第二，也許巨噬細胞要活化，需要持續的抗原刺激，在子宮內膜異位症的患者腹水中，增加抗原抗體辨識的 IFN- γ 減少[5]，與緩和抗原抗體辨識的 IL-10 增加的現象[6]，會使體內環境時，抗原抗體反應減緩，而在體外培養，這些巨噬細胞沒有刺激，IL-10 的產生或其他巨噬細胞的活化徵象便不明顯。第三，也許那些我們以前測出活躍性的巨噬細胞是躲在內膜異位組織裡的，而在腹膜裡面的巨噬細胞(本實驗所收集的)，反而不是那麼活躍。

但，當有適當的 LPS 刺激時，我們可以看到 IL-6, IL-10, NO 產生物的增加，在早期患者。這可以說明巨噬細胞在此時是活躍的，可能經由此太活躍的過程，把 Th1 細胞給抑制了，以至於出現以前我們的實驗結果[6]。是不是子宮內膜異位症患者巨噬細胞是暫時性的靜默，在無刺激的培養環境中，看不出相對於對照組的高活性，而在此，卻引發此超強的反應？果真如此，那麼為何離開人體的巨噬細胞會有暫時性的靜默，是我們目前還不知道的問題。為什麼大量刺激，反而看不出什麼變化呢？有可能太強的刺激，把一些不該活化的功能都給引發了，所以看不出其中差別。

為什麼早期比晚期的子宮內膜異位症容易引發這些巨噬細胞的變化？從前，也有文獻指出[12,13]，他們研究腹水裡面，IL-10 濃度於子宮內膜異位症與對照組病人，沒有差別，但是他們都是第三其與第四期的病人居多。而活躍性較強的病灶，如火焰狀，腺體狀，它的分數並不高，因此，已經有不少人說明[14,15]巨噬細胞，早期比晚期的子宮內膜異位症厲害。而自然殺手細胞的毒性減低，卻是晚期比早期嚴重，除了圖三中所提，巨噬細胞引起 T helper cells 活性減低[6]，使 IFN- γ 產量減低[5]外，一定還有一個另外的機制影響著子宮內膜異位症。我們初步的懷疑

是，KIR (killer cell inhibitory receptor)，而且越多量的倒流月經，越容易刺激 KIR 的表現，才会有這兩大類細胞功能表現，參差不齊的原因。這是我們下一個實驗的主要方向。

結論與建議

嚴重子宮內膜異位症患者，在免疫學上的變化，不見得樣樣比早期子宮內膜異位症來得大，例如本實驗探討腹水巨噬細胞發現，輕度患者腹水中巨噬細胞有活化的現象，較晚期的子宮內膜異位症反而沒有此現象，可能經複雜的相互作用後，T helper cell 功能又有轉變。

經過刺激培養，細胞所處環境可能與體內大不相同，因此本實驗未能充分以此模式說明子宮內膜異位症的成因，本實驗結果僅能推測腹水中巨噬細胞的活化可能與此疾病進行的機制有關。

參考文獻

1. Ho HN, Chao KH, Chen HF, et al: Peritoneal natural killer cytotoxicity and CD25⁺ CD3⁺ lymphocyte subpopulation are decreased in women with stage III-IV endometriosis. *Hum Reprod* 1995;10, 2671-5.
2. Olive DL, Montoya I, Riehl RM, et al: Macrophage-conditioned media enhance endometrial stromal cell proliferation in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:953-8.
3. Oosterlynck DJ, Cornillie FJ, Waer M, et al: Women with endometriosis show a defect in natural killer activity resulting in a decreased cytotoxicity to autologous endometrium. *Fertil Steril* 1991;56:45-51.
4. Wu MY, Chao KH, Chen SU, et al: The suppression of peritoneal cellular immunity in women with endometriosis could be restored after gonadotropin releasing hormone agonist treatment. *Am J Reprod Immunol* 1996;35:510-6.
5. Ho HN, Wu MY, Chao KH, et al: Decrease in interferon gamma (IFN- γ) production and impairment of T lymphocyte proliferation were noted in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1236-41.
6. Ho HN, Wu MY, Chao KH, Chen CD, Chen SU, Yang YS. Peritoneal interleukin-10 increases with decrease in activated CD4⁺ T lymphocytes in women with endometriosis. *Hum Reprod* 1997;12:2528-33.
7. Hill JA: Immunology and endometriosis. *Fertil Steril* 1992;58:262-4.
8. Ho HN, Wu MY, Chen HF, et al: In vivo gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH-a) decreases CD3⁺CD25⁺ lymphocyte without increasing serum level of soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R). *Am J Reprod Immunol* 1996;33:134-9.
9. Chen CK, Huang SC, Chen CL, et al: Increased expression of CD69 and HLA-DR but not CD25 or CD71 on endometrial T cells of non-pregnant women. *Hum Immunol* 1995;42:227-32.
10. Mosmann T, Coffman RL: Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions. *Adv Immunol* 1989;46:111-47.
11. Rongione AJ, Kusske AM, Ashley SW, et al: Interleukin-10 prevents early cytokine release in severe intraabdominal infection and sepsis. *J Surg Res* 1997;70:107-112.
12. Rana N, Braun DP, House R, et al: Basal and stimulated secretion of cytokine by peritoneal macrophages in women with endometriosis. *Fertil*

Steril 1996;65:925-930.

- 13.Hsu CC, Yang BC, Wu MH, et al: Enhanced interleukin-4 expression in patients with endometriosis. Fertil Steril 1997;67:1059-1064.
- 14.Halme J, Becker S, Wing R: Accentuated cyclic activation of peritoneal macrophages in patients with endometriosis. Am J Obstet Gynecol 1984;148:85-90.
- 15.Braun DP, Gebel H, Rotman C, et al: The development of cytotoxicity in peritoneal macrophages from women with endometriosis. Fertil Steril 1992;57:1203-1210.