

弓形虫急性感染与小鼠妊娠失败相关性研究

钟秀会, 宫新城, 史万玉, 刘占民, 翟向和, 张 铁, 李绍华

(河北农业大学动物科技学院, 保定 071001)

摘 要: 研究弓形虫感染对小鼠妊娠的影响。用免疫组织化学方法测定子宫部分免疫细胞, 用酶联免疫吸附法测定子宫匀浆中肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白介素-10 (IL-10) 的含量。发现孕 0 天和孕 6 天接种弓形虫, 小鼠全部流产。感染组子宫内膜中仅见少量 CD8⁺ T 淋巴细胞。对照组未见阳性细胞。F4/80⁺ 巨噬细胞在感染组小鼠子宫内膜中大量存在。对照组仅见少量 F4/80⁺ 细胞。细胞因子测定结果表明, TNF- α 弓形虫感染组子宫匀浆中含量高达 76.862 \pm 30.354 pg/mg 蛋白, 显著高于正常妊娠 7 天时小鼠子宫中 TNF- α 的含量($P < 0.01$)。结果提示, 已妊娠母鼠感染弓形虫可引发流产, 并与子宫胎儿界面的 TNF- α 分泌增多有关。孕 0 天感染, 孕鼠子宫匀浆上清液中 IL-10 含量平均值为 19.696 \pm 9.811 pg/mg 蛋白, 显著低于对照组(48.856 \pm 16.518 pg/mg, $P < 0.05$)。孕 6 天感染, 子宫匀浆 IL-10 含量与对照组比较差异不显著($P > 0.05$)。

关键词: 弓形虫; 小鼠; 妊娠失败

中图分类号: S852.72

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2005)01-0077-05

弓形虫感染会诱发机体免疫系统产生 Th1 反应^[1], 影响正常妊娠^[1-3]。Luft 等发现妊娠抑制了弓形虫刺激 NK 细胞活性的能力^[4]。这提示妊娠时, NK 细胞处于抑制状态。母鼠先感染弓形虫再妊娠, 则多数孕鼠流产。并且感染母鼠一个月内不发情^[5]。这表明 Th1 免疫反应占主导地位的情况下, 母体不能正常启动 Th2 免疫反应, 使胚胎着床失败。抗利什曼原虫(*Leishmania major*) 感染使母鼠产生 Th1 反应, 子宫胎儿界面 Th1 细胞因子 IFN- γ 和 TNF 产生增加, 而 Th2 细胞因子 IL-4 和 IL-10 合成量下降, 因而胚胎吸收率和着床失败率均上升^[6]。

对弓形虫的免疫试验表明, γ -干扰素(IFN- γ) 对抗弓形虫免疫起着至关重要的作用^[7]。IFN- γ 受体缺乏的小鼠, 接种低剂量的弓形虫, 10 d 内便发生死亡, 而且巨噬细胞活化程度(表达 MHC II 类抗原) 很低, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 等这些巨噬细胞产物也减少^[7]。除巨噬细胞以外, NK 细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞以及 CD4⁺ T 淋巴细胞均参与弓形虫感染期间的免疫反应。

虽有资料介绍, 弓形虫感染可诱发体内 Th1 免疫反应, 导致妊娠失败^[1], 但迄今尚未见到直接观察弓形虫感染影响妊娠成败过程中, 子宫局部免疫水平变化的资料。Stahl 等人曾研究, 小鼠感染弓形虫 1~2 个月后(慢性阶段) 配种, 大多数孕鼠均发生妊娠失败^[5]。他们对感染弓形虫慢性阶段母鼠的卵巢结构、子宫质量等进行了观察, 但未涉及子宫免疫细胞和细胞因子的变化。

本研究用低剂量的弓形虫感染昆明小鼠, 观察了急性感染阶段小鼠子宫细胞免疫水平和细胞因子含量变化与妊娠之间的相互影响, 证明弓形虫感染能够诱发母体的 Th1 细胞因子反应, 导致妊娠失败。

1 材料和方法

1.1 试验动物

8~10 周龄未经产昆明小鼠, 购自国家计划生育委员会科学技术研究所。常规饲养, 自由采食和饮水。每日光照时间 12 h。经观察临床健康, 适应环境 1 周后, 阴道涂片法作发情检查。涂片经姬姆萨(Giemsa) 染色, 镜下观察全部为无核角化上皮细胞判为发情。发情者与公鼠 1:1 同笼过夜。次日早晨检查有阴栓者定为孕 0 天。

1.2 弓形虫感染

弓形虫购自北京医科大学寄生虫学教研室。经小鼠腹腔感染复壮, 1 周后抽取腹水, 加生理盐水稀释, 暗视野下计数, 最后浓度约为 100 个卵囊/mL。

收稿日期: 2003-10-23

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30270980); 河北省畜牧局项目(2001-5)

作者简介: 钟秀会(1957-), 男, 汉族, 河北昌黎人, 博士, 教授, 从事动物生殖免疫和中药药理学研究。E-mail: zhongxiuhui@263.net

感染剂量为每只小鼠 20 个卵囊(0.2 mL)^[8], 腹腔接种。试验分 A、B 2 组, 并设相应对照组。A 组在发现阴栓当天腹腔注入弓形虫, 孕 7 天剖杀。B 组母鼠于孕 6 天时注入弓形虫, 孕 12 天剖杀。各对照组注入等量生理盐水。

1.3 取材及切片制备

颈椎脱臼法处死孕鼠, 迅速剖腹取出子宫, 入 Bouin 液固定 48 h, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, Paraplast(美国 Sigma 公司)包埋, 滑走切片机制备 6 μm 纵切组织片, 展贴于多聚赖氨酸(北京中山公司)处理的载玻片上。56 $^{\circ}\text{C}$ 1 h 烘干, 备用。

1.4 免疫组化染色

应用 LSAB 法(Labelled streptavidin method)对 CD8⁺ T 淋巴细胞、F4/80⁺ 巨噬细胞进行免疫组织化学染色。所用一抗分别为: 大鼠抗小鼠 CD8 单克隆抗体 IgG; 大鼠抗小鼠 F4/80 单克隆抗体 IgG, 由英国牛津大学 Siamon Gordon 教授惠赠。

免疫组织化学染色主要步骤如下: ①切片脱蜡入水, 经 H₂O₂ 封闭, PBS(0.01 mol/L, pH7.4, 下同)洗。染 CD8⁺ T 细胞需经抗原热修复 15 min。②10% 小牛血清 25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。③滴加一抗(除 F4/80 单抗做 1:1 稀释以外, 其余为工作液, 不再稀释), 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, PBS 洗(5 min \times 3, 下同)。④生物素化羊抗大鼠 IgG 1:50 稀释, 25 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h。PBS 洗。⑤HRP 标记链菌亲和素 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 洗。⑥0.03% DAB 显色, 常规脱水, 透明, 封片。阴性对照片采用 PBS 取代一抗, 其余步骤同上。

1.5 细胞计数与统计

40 倍物镜下观察, 每样品计 20 个视野, 统计 40 倍物镜下 125 μm \times 125 μm 网格尺内(0.0156 mm² 面积内)的阳性细胞数。计算组内个体间的平均值, t 检验法分析组间差异显著性。

1.6 子宫匀浆制备及 TNF- α 、IL-10 的 ELISA 测定

孕鼠颈椎脱臼致死。每鼠取左侧子宫角的 1/2, 作为免疫组织化学染色用。其余部分做匀浆。剪除子宫系膜及脂肪, 纵向切开子宫角, 剥去胎儿。剪碎子宫角, 加入含 PMSF(蛋白酶抑制剂)0.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PBS(pH7.6)适量, 冰水中匀浆, 20 000 g 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min, 移取上清液分装备用。

IL-10、TNF- α 含量的 ELISA 测定按试剂盒说明书操作。加终止液后, 即刻在 501 酶标反应仪(上海第三医疗器械厂)上 450nm 处读出 OD 值, 按标

准曲线计算出各样品中 TNF- α 、IL-10 的含量。

各样品中细胞因子 IL-10、TNF- α 的含量以每 mg 蛋白中所含 pg 数来表示。蛋白含量系用 UV-754 型紫外可见分光光度计(上海第三分析仪器厂)测定 280 nm、260 nm 的 OD 值, 依下列公式计算而得:

$$\text{蛋白浓度}(\text{mg}/\text{mL}) = 1.45 \times \text{OD}_{280 \text{ nm}} - 0.74 \times \text{OD}_{260 \text{ nm}}$$

2 结果

2.1 全身症状

小鼠在接种弓形虫后 4~6 d 出现发病症状, 包括食欲下降, 弓背, 逆毛, 精神沉郁, 卧地不动, 眼流泪, 羞明, 闭眼, 缩腹。可见腹毛处有横向纹理。排尿减少, 尿黄、黏稠, 阴门周围沾有尿迹。

2.2 对妊娠的影响

A 组小鼠, 妊娠 0 天接种弓形虫, 妊 7 天时剖杀。B 组小鼠, 妊娠 6 天接种弓形虫, 妊 12 天时剖杀。所有试验鼠子宫内全无胎儿, 子宫系膜脂肪肥厚, 子宫角细小, 质量减轻(表 1)。

表 1 弓形虫感染对小鼠妊娠的影响(n=5)

Table 1 Effect of *Toxoplasma gondii* infection on pregnancy in mice(n=5)

组别 Groups	剖杀时间 Killed	子宫内 胚胎数 No of embryos	子宫质量/g Weight of uterus
A 组 Group A	孕 7 天	0	0.0780+ 0.0190*
对照 A Control A	孕 7 天	59	0.1509+ 0.0451
B 组 Group B	孕 12 天	0	0.0737+ 0.0146**
对照 B Control B	孕 12 天	61	1.0069+ 0.1620

Compared with corresponding control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, the same below

2.3 子宫免疫细胞变化

2.3.1 CD8⁺ T 淋巴细胞 感染 A 组, 孕鼠全部流产, 子宫内膜中未见 CD8⁺ T 淋巴细胞。对照组也未见 CD8⁺ T 细胞。急性感染 B 组, 子宫血管层或肌层中有少量 CD8⁺ 细胞。其它部位未见到 CD8⁺ 细胞。孕 12 天对照组, 子宫壁及蜕膜组织中均未见到 CD8⁺ 细胞。

2.3.2 巨噬细胞 急性感染 A 组, 子宫内膜中有大量密集阳性细胞, 肌间组织中有较少量的

F4/80⁺ 巨噬细胞。正常孕 7 天对照组小鼠, 仅在胚胎着床点以外的肌间组织中散在少量 F4/80⁺ 细胞。妊娠 12 天流产小鼠(急性感染 B 组), F4/80⁺ MΦ 较多, 出现在子宫壁中; 子宫肌间大量阳性细胞, 内膜间质中较稀, 而正常孕 12 天小鼠子宫 F4/80⁺ 细胞极少。阳性细胞数量变化在流产组均显著高于相应对照组(表 2)。

表 2 弓形虫感染小鼠子宫 CD8⁺ F4/80⁺ 细胞数量变化(n= 5)

Table 2 Changes of CD8⁺ T cells, F4/80⁺ macrophages in uterus of infected mice(n= 5)

组别 Groups	CD8 ⁺ 细胞 CD8 ⁺ cells	F4/80 ⁺ 细胞 F4/80 ⁺ MΦ
A 组 Group A	0	427 ±84**
对照 A Control A	0	36 ±11
B 组 Group B	29 ±6	276 ±67**
对照 B Control B	0	0

2.4 细胞因子含量变化

2.4.1 肿瘤坏死因子-α(TNF-α) 弓形虫感染 A 组, 孕 0 天接种弓形虫, 5 只孕鼠全部发生胚胎吸收, 子宫匀浆中 TNF-α 含量很高, 达 76.862 ± 30.354 pg/mg 蛋白, 显著高于正常妊娠 7 天小鼠子宫中 TNF-α 的含量($P < 0.01$, 表 3)。表明弓形虫急性感染能使孕鼠子宫内 TNF-α 含量增加。

表 3 弓形虫感染小鼠子宫匀浆中 TNF-α 和 IL-10 含量(n= 5)

Table 3 Contents of TNF-α and IL-10 in uterus of infected mice(n= 5)

组别 Groups	TNF-α 含量 TNF-α content	IL-10 含量 IL-10 content
A 组 Group A	76.862 ±30.354**	19.696 ±9.811*
对照 A Control A	20.745 ±5.929	48.856 ±16.518
B 组 Group B	32.681 ±6.252*	22.329 ±11.485*
对照 B Control B	21.267 ±4.967	14.778 ±6.737

弓形虫感染 B 组, 在小鼠孕 6 天时接种, 孕 12 天剖杀, 5 只孕鼠全部发生流产。子宫匀浆中 TNF-α 含量与相应对照组比, 有显著升高($P < 0.05$), 但升高幅度比感染 A 组低(见表 3)。结果提示, 已妊娠母鼠感染弓形虫可引发流产, 并与子宫胎儿界面

的 TNF-α 分泌增多有关。

2.4.2 白介素-10(IL-10) 急性弓形虫感染 A 组, 5 只孕鼠子宫匀浆上清液中 IL-10 含量平均值为 19.696 ±9.811 pg/mg 蛋白。对照组为 48.856 ±16.518 pg/mg 蛋白, 二者之间差异显著($P < 0.05$, 表 3)。有趣的是, 弓形虫感染小鼠, 虽然子宫匀浆中 IL-10 含量低于对照组, 但外周血清中 IL-10 含量(7.552 4 ±4.093 7 pg/mg 蛋白)却显著高于($P < 0.05$)健康对照组(1.114 ±0.129 5 pg/mg 蛋白)。

急性弓形虫感染 B 组, 5 只孕鼠均发生胚胎吸收。子宫匀浆 IL-10 含量平均值为 22.329 ± 11.485 pg/mg 蛋白, 对照组为 14.778 ±6.737 pg/mg 蛋白。两组比较, 未见统计差异($P > 0.05$, 表 3)。

3 讨论

关于弓形虫急性感染期间生殖机能的改变未见报道。本研究发现, 无论是胚胎着床前还是胚胎着床后感染弓形虫, 均会严重影响正常妊娠, 引起胚胎着床失败或胚胎吸收的发生(表 1)。

弓形虫感染会引起妊娠母体子宫胎儿界面的免疫机能发生哪些变化, 未见前人报道。有关资料称, 抗弓形虫感染的免疫反应是由 T 细胞介导的^[9], 并且表达 Th1 细胞因子。因而有学者推测这种 Th1 反应导致母体排斥胎儿^[11]。有报道称, MΦ 在抗弓形虫感染中具有不可替代的作用^[7]。弓形虫诱导 MΦ 产生 IL-12, TNF-α, IL-1β 等^[8]。IL-12 和 IFN-γ 等促进 T 细胞向着 Th1 表型分化^[10]。因此认为, 弓形虫感染诱发巨噬细胞合成细胞因子, 在启动寄生虫特异性的细胞介导的免疫反应方面有重要意义。Eisenhauer 等的试验也说明在弓形虫感染过程中 MΦ 活化^[11]。本试验观察到, 急性感染 A 组, 小鼠发生着床失败, 子宫内膜中见到大量 MΦ。急性感染 B 组, 子宫壁中仍有大量 F4/80⁺ 细胞(表 2), 表明 MΦ 参与弓形虫感染急性期的免疫过程。

CD8⁺ T 淋巴细胞在急性感染期间小鼠子宫中仅有少量分布。这一结果提示, CD8⁺ T 淋巴细胞并不参与弓形虫急性感染的免疫反应。体外试验表明, 人的静止 αβT 细胞在初次接触被弓形虫感染的外周血单核细胞时大量增殖, 这时增殖的 T 细胞多为 CD4⁺, 而 CD8⁺ T 细胞并不增殖。这些 CD4⁺ 细胞产生大量 IFN-γ。说明在急性弓形虫感染阶段,

CD4⁺ T 细胞起着重要作用^[12]。用弓形虫抗原免疫小鼠,使 CD4⁺ T 细胞增殖,而 CD8⁺ T 细胞未见明显变化^[13]。其他学者也这样认为,CD4⁺ T 细胞参与弓形虫急性感染的免疫反应。也有报道称,弓形虫急性感染阶段,机体内存在一种 IFN- γ 机制:寄生虫刺激 M Φ 产生 IL-12、TNF- α 、IL-1 β 等,诱导 NK 产生 IFN- γ ,来抵御弓形虫的侵袭^[8]。这一机制并不依赖 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的存在^[14]。上述报道虽然结果不尽相同,但都支持这种观点,即:急性弓形虫感染阶段,CD8⁺ T 细胞并不增殖。

在抗弓形虫急性感染过程中,IFN- γ 起着不可替代的作用^[7]。TNF- α 作为 NK 和 M Φ 活化的产物,也参与抗弓形虫免疫^[11]。在弓形虫感染中,M Φ 活化产生 TNF- α ,TNF- α 活化 NK,使之产生 IFN- γ ^[8]。试验也观察到,除 IFN- γ 外,在小鼠抗弓形虫感染过程中,TNF- α 和 IL-12 也大量产生^[15]。本试验中,急性感染 A 组、B 组小鼠子宫匀浆中 TNF- α 含量均显著高于对照组(表 3)。

IL-10 有多种生物学功能。主要的功能似乎是抑制 M Φ 合成单核细胞因子 IL-1 β ,TNF- α ,IL-12,下调 NK 细胞和 CD4⁺ T 细胞产生 IFN- γ ^[16]。此外,IL-10 还可阻断 IFN- γ 活化的 M Φ 的正常功能^[17]。令人感到自相矛盾的是,弓形虫感染同时诱导 IL-10 和 IFN- γ 的产生^[18]。IFN- γ 的作用已经比较清楚,它既介导细胞免疫(如活化 M Φ),又介导体液免疫(刺激 B 细胞分化,产生 IgG)。而 IL-10 的作用则不太明了。合乎逻辑的假说就是,弓形虫在感染初期刺激 IL-10 产生,以下调宿主细胞介导的免疫,使自身得以生存下来^[18]。利用小鼠脑细胞培养研究发现,感染弓形虫的胶质细胞可产生 IL-10 和 TNF- α ,表明弓形虫有刺激 IL-10 生成的能力^[19]。本试验结果中,急性感染 A 组小鼠子宫匀浆中 IL-10 含量低于健康孕鼠,而血清中 IL-10 含量高于健康鼠。急性感染 B 组和健康对照组间,子宫 IL-10 含量无统计差异。这些结果可否这样解释,胚胎着床前感染弓形虫,使子宫 IL-10 含量降低,胚胎着床失败。胚胎着床后的妊娠母体感染弓形虫,虽然也会发生流产,但因母体在感染前 IL-10 水平较高,弓形虫又能刺激 IL-10 产生,因而感染组和对照组无显著差异。

参考文献:

[1] Wegmann T G, Lin H, Guilbert L, et al. Bidirectional

cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? [J] Immunol Today, 1993, 14(7): 353~ 356.

- [2] Canada N, Meireles C S, Rocha A, et al. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses [J]. J Parasitol, 2002, 88(6): 1247~ 1248.
- [3] Smieleska-Los E, Rypula K, Pacon J. The influence of feeding and maintenance system on occurrence of *Toxoplasma gondii* infections in dogs [J]. Pol J Vet Sci, 2002, 5(4): 231~ 235.
- [4] Luft B J, Remington J S. Effect of pregnancy on augmentation of natural killer cell activity by corynebacterium parvum and *Toxoplasma gondii* [J]. J Immunol, 1984, 132: 2375~ 2380.
- [5] Stahl W, Kaneda Y, Noguchi T. Reproductive failure in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii* [J]. Parasitol Res, 1994, 80: 20~ 28.
- [6] Krishnan L, Guilbert L J, Wegmann T G, et al. T helper 1 response against *Leishmania major* in pregnant C57BL/6 mice increases implantation failure and fetal resorptions. Correlation with increased IFN- γ and TNF and reduced IL-10 production by placental cells [J]. J Immunol, 1996, 156(2): 653~ 662.
- [7] Deckert-schluter M, Rang A, Weiner D, et al. Interferon gamma receptor deficiency renders mice highly susceptible to toxoplasmosis by decreased macrophage activation [J]. Lab Invest, 1996, 75: 827~ 841.
- [8] Sher A, Derkers E Y, Gazzihelli R T. Induction and regulation of host cell-mediated immunity by *Toxoplasma gondii* [J]. Ciba Found Symp, 1995, 195: 95~ 104.
- [9] Gazzinelli R T, Hakim F T, Hieny G M, et al. Synergistic role of CD4⁺ and CD8⁺ T Lymphocytes in IFN- γ production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine [J]. J Immunol, 1991, 146: 286~ 292.
- [10] Hsieh C-S, Macatonia S E, Tripp C S, et al. Development of Th1 CD4⁺ T cells through IL-12 production by listeria induced macrophages [J]. Science, 1993, 260: 547~ 549.
- [11] Eisenhauer P, Mack D C, Mcleod R. Prevention of peroral and congenital acquisition of *Toxoplasma gondii* by antibody and activated macrophages [J]. Infect Immun, 1988, 56: 83~ 87.
- [12] Subauste C S, Fuh F, de Waal Malefyt R, et al. Alpha beta T cell response to *Toxoplasma gondii* in previously unexposed individuals [J]. J Immunol, 1998, 160(7):

- 3403~ 3411.
- [13] Brinkmann V, Remington J S, Sharma S D. Vaccination of mice with the protective F3G3 antigen of *Toxoplasma gondii* activates CD4⁺ but not CD8⁺ T Cells and induces toxoplasma specific IgG antibody [J]. Mol Immunol, 1993, 30(4) : 353~ 358.
- [14] Johnson L L, Vandervegt F P, Havell E A. Gamma interferon-dependent temporary resistance to acute *Toxoplasma gondii* infection independent of CD4⁺ or CD8⁺ lymphocytes[J]. Infect Immun, 1993, 61; 5174~ 5180.
- [15] Gazzinelli R T, Wysocka M, Hieny S, et al. In absence of endogenous IL-10, mice acutely infected with *Toxoplasma gondii* succumb to a lethal immune response dependent on CD4⁺ T cells and accompanied by overproduction of IL-12, IFN- γ and TNF- α [J]. J Immunol, 1996, 157: 798~ 805.
- [16] Fiorentino D F, Zlotnick T, Mosmann T, et al. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages[J]. J Immunol, 1991, 147: 3815~ 3822.
- [17] Gazzinelli R T, Oswald I P, James S L, et al. IL-10 inhibits parasite killing and nitrogen oxide production by IFN- γ activated macrophages [J]. J Immunol, 1992, 148: 1792~ 1796.
- [18] Khan I A, Matsuura T, Kasper L H. IL-10 mediates immunosuppression following primary infection with *Toxoplasma gondii* in mice[J], Parasite Immunol, 1995, 17: 185~ 189.
- [19] Fischer H G, Nitzgen B, Reichmann G, et al. Cytokine responses induced by *Toxoplasma gondii* in astrocytes and microglial cells[J], Eur J Immunol, 1997, 27(6) : 1539~ 1548.

Study on the Correlation between *Toxoplasma gondii* Infection and Pregnancy failure in Mice

ZHONG Xir-hui, GONG Xir-cheng, SHI Wan-yu, LIU Zhan-min, ZHAI Xiang-he,
ZHANG Tie, LI Shaohua

(Department of Animal Science and Veterinary Medicine, Agricultural University of Hebei,
Baoding 071001, China)

Abstract: The influence of *Toxoplasma gondii* infection on the success of mice pregnancy was investigated in this paper. Immunohistochemistry was applied to locate immunocytes in the uterus, and enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was conducted in order to determine the contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-10 in uterine lysates. All the mice were aborted when the *Toxoplasma gondii* were incubated intraperitoneously on day 0 or day 6 of pregnancy. A few CD8⁺ T lymphocytes were scattered in the endometrium of infected animals, while none cells were seen in the control mice. Large number of F4/80⁺ macrophages were counted in the infected mice. A few were seen in the control group. TNF- α level was significantly higher (76.862 ± 30.354 pg/mg protein) in the infected mice compared with the control animals($P < 0.01$), indicating a close correlation between pregnancy failure and *Toxoplasma* infection. IL-10 contents were 19.696 ± 9.811 pg/mg protein in the supernatants of the mice infected with *Toxoplasma* on day 0, significantly lower than those of control group(48.856 ± 16.518 pg/mg protein, $P < 0.05$). No significant differences of IL-10 contents were observed between the infected mice and controls when infection was carried out on day 6 of pregnancy ($P > 0.05$).

Key words: *Toxoplasma gondii*; mouse; pregnancy failure