大韓不妊學會誌: 第32卷 第3號 2005
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 32, No. 3, 2005, 9

습관성 유산 환자에서 저용량 면역글로불린 치료와 말초혈액 내 Natural Killer (NK) 세포의 임계치에 관한 연구

성균관대학교 의과대학, 삼성제일병원 산부인과 불임 및 생식내분비

차선화 · 김해숙 · 김혜옥 · 송인옥 · 유근재 · 궁미경 · 강인수 · 양광문

The Preconceptional Level of Peripheral Natural Killer Cells which was Expected to Bring Successful Treatment Outcome using Low-dose Intravenous Gamma Immunoglobulin (IVIg) Infusion in Patients with Recurrent Spontaneous Abortion

Sun Hwa Cha, Hae Suk Kim, Hye Ok Kim, In Ok Song, Keun Jai Yoo, Mi Kyung Koong, Inn Soo Kang, Kwang Moon Yang

Department of Obstetrics and Gynecology, Samsung Cheil Hospital & Women's Healthcare Center Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Objectives: We aimed to investigate the clinical effect of low-dose intravenous immunoglobulin treatment in unexplained recurrent spontaneous aborters (RSA) with elevated peripheral CD56+ natural killer (NK) cell levels and to determine the pre-conceptional NK cell percentage predictive of subsequent successful pregnancy outcome.

Materials and Methods: Sixty four cases of unexplained recurrent miscarriage with elevated peripheral NK cells (>15%) were received low dose IVIg infusion at the dosage of 400 mg/Kg/month after confirmation of gestational sac and continued until 20 weeks. The patients were divided into two groups according to the pregnancy outcome: Group I was success of treatment defined as live birth at or after 25 gestational weeks and Group II was failure of treatment. The preconceptional levels of the peripheral blood NK cells were compared between two groups.

Results: Fifty-three pregnancies resulted in live births after 25 weeks and 11 resulted in abortion (Overall success rate of IVIG treatment was 82.8%). Preconceptional CD56+ NK cell percentage in group II (27.4±1.9%) was higher than those in group I (22.3±0.8%). By using ROC curve, optimal discrimination between success and failure of treatment was achieved with ≤27% of preconceptional NK cell percentage.

Conclusion: In RSA patients with elevated NK cells, we suggest that preconceptional peripheral blood CD56+ NK cell level could be a useful marker for predicting successful treatment outcome of low-dose IVIg infusion.

Key Words: Recurrent spontaneous abortion, Natural killer cell, Intravenous immunoglobulin

주관책임자: 양광문, 우) 100-380 서울특별시 중구 묵정동 1-19번지, 삼성제일병원 의학연구소 산부인과 불임 및 생식내분비 분과. Tel: (02) 2000-7545, Fax: (02) 2000-7790, e-mail: ykm2955@yahoo.co.kr

근래에 습관성 유산의 원인과 관련하여 natural killer (NK) 세포에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다. 정상적으로 임신 초기에는 말초혈액 내 NK 세포의 활성도와 비율은 감소하는 반면 습관성 유산 환자에서는 증가되어 있고, 임신 전에 측정한 경우에도 역시 습관성 유산의 경력이 있는 여성에서 NK 세포의 비율은 더 높았다.[1~4] 정상 염색체를 갖는 태아를 유산한 여성에서 혈액 내 NK 세포가 증가한 소견을 보이며,[5,6] 비임신 여성에서 NK 세포가 증가한 경우 다음 임신에서 유산될 가능성이 높다고 보고되었다.[7,8] 요컨대 NK 세포를 조절함으로써 성공적인 임신의 예후를 기대할 수 있고, 면역글로불린은 이러한 면역학적인 원인의 습관성 유산 환자에서 착상부위의 NK 세포의 활성도를 낮추어 모체 내 동종 면역체인 태아를 공격하는 것을 막음으로써 유산을 방지하는 효과를 기대한다.[9,10]

그러나 아직까지 면역학적 원인의 습관성 유산 환자에서 면역글로불린 치료의 효과에 대해서 논란이 되고 있는데, 1995년 Coulam 등과 Christiansen 등은 면역글로불린과 위약의 임신 성공률을 비교한 연구에서 각각 62.1% vs. 34.4% (odds ratio, 3.12), 52.9% vs. 29.4% (odds ratio, 2.70)으로 면역글로불린의 효용성을 입증하였으나,[11,12] 1994년 German RSA/IVIG group과 1998년 Stephenson 등은 60.6% vs. 67.7% (odds ratio, 0.73), 50.0% vs. 52.6% (odds ratio, 0.90)으로 의미가 없다고 보고하였다.[13,14]

한편 국내에서 김 등은 3회 이상의 반복적 자연유산을 경험한 습관성 유산 여성에서 습관성 유산의 기왕력이 없는 여성에 비해 유의하게 임신 전 말초혈액 림프구의 CD56+ NK 세포의 백분율이 높음 (8.9% vs. 24.5%)을 보고하였고,[15] 저자들은 이전의 연구에서 CD56+ NK 세포가 15% 이상 증가한 여성에서 저용량의 면역글로불린을 주사함으로써 치료하지 않은 군에 비해 통계적으로 유의하게 유산을 방지할 수 있음을 보고하였다.[16]

이에 저자들은 면역학적 원인에 의한 습관성 유산 환자 중, 면역글로불린 치료 후 25주 이상 임신 유지에 성공한 군과 실패한 군 사이의 임신 전 말초혈액 내 CD56+ NK 세포의 백분율을 비교하고, 저용량 면역글로불린 치료의 성공을 예측할 수 있는 임신 전 말초혈액 내 CD56+ NK 세포의 백분율의 임계치에 대해 알아보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

2001년 12월 1일부터 2002년 9월 30일까지 삼성제일병원 습관성 유산 클리닉을 내원한 여성 중 임신 20주 이전에 2번 이상의 반복적 자연 유산을 경험한 원인 불명의 습관성 유산 환자를 포함하였다. 즉, 임신 전에 자궁난관조영술, 복강경, 자궁내시경, 부부 염색체 검사, 자가항체 검사 (anticardiolipin antibody, antinuclear antibody, antimicrosome antibody, antithyroglobulin antibody, lupus anticoagulant), 배란 7일 후 황체 호르몬 검사, 자궁내막검사 등을 시행하여 염색체 이상, 자궁의 해부학적 이상, 내분비 이상, 감염에 의한 습관성 유산을 제외하였다. 이후 임신된 64명에서 이전의 저자들의 연구에 근거하여,[15,16] 임신 전 말초혈액 임파구에서 CD56+ NK cell이 차지하는 백분율을 측정하여 15% 이상 증가된 환자를 대상으로 질초음파 검사를 통해 임신낭을 확인한 직후부터 임신 20주 정도까지 4주 간격으로 환자 몸무게의 Kg당 400 mg 용량의 면역글로불린을 정맥 내 주사하였다. 면역글로불린 치료 후 재태연령 25주 이상 임신 유지에 성공한 환자군 (Group I)과 재태연령 25주 미만에 임신이 종결된 대조군 (Group II)에서 양군의 임신 전 CD16+ 및 CD56+ NK cell 백분율을 비교하였다.

2. CD16+ 및 CD56+ NK cell 백분율의 측정

각각의 환자로부터 말초혈액 10 ml를 채취한 후 F-H gradient solution을 이용하여 림프구나 큰 단핵세포를 2000 μ 정도로 세척하여 분리하였다. CD16+ 및 CD56+ NK cell에 간접 형광염색을 하여 FACScan (Becton-Dickinson Co, mauntainview, U.S.A) 기기를 이용하여 CD16+ 및 CD56+ NK cell을 분석하여 절대수와 백분율을 구하였다.

3. 통계분석

통계적 유의성 검정은 χ^2 test로 하였고, $p<0.05$일 때 통계적으로 유의한 차이가 있다고 정의하였다. ROC (Receiver operating characteristics) curve를 통해

Table 1. Clinical characteristics of the treatment success (Group I) and failure group (Group II)

	Group I (n=53)	Group II (n=11)	P-value
Age (year)	30.4±0.4	31.3±1.1	NS
No. of SAB*	2.5±0.9	2.4±0.5	NS
Weeks of SAB	8.98±0.4	9.86±1.1	NS
Primary SAB (%)	44/53 (83)	8/11 (72.7)	NS
Autoantibody† positivity (%)	30/53 (56.6)	8/11 (72.7)	NS
CD 56+NK cell percentage‡ (%)	22.3±0.8	27.4±1.9	0.008
CD 16+NK cell percentage‡ (%)	13.6±0.8	14.3±2.2	NS

Values were mean ± SE.
Group I: pregnancy sustained beyond 25 gestational weeks
Group II: pregnancy terminated below 25 gestational weeks
*SAB: spontaneous abortion
†Antithyroglobin Ab, antimicrosome Ab, antinuclear Ab, antiphospholipid Ab, lupus anticoagulant, rheumatic Ab.
‡CD56+, CD16+ NK cell percentage in peripheral blood lymphocyte

면역글로불린 치료의 효용성을 증명할 수 있는 임계치를 구하였다.

결 과

연구 대상 64명 중 임신 초기에 저용량 면역글로불린을 투여 받고 25주 이상 임신이 성공적으로 유지된 군은 53명으로 82.8%의 치료 성공률을 나타냈다. 이들 치료 성공군 (Group I, 53명)과 25주 미만에 임신이 종결된 치료 실패군 (Group II, 11명)간의 평균 나이, 평균 자연 유산 횟수, 일차성 혹은 이차성 습관성 유산의 분포, 자가항체 양성률에 유의한 차이는 없었다 (Table 1).

이번 임신에서 초기에 자연 유산된 치료 실패군 (group II) 11명은 6주에서 20주 사이에 임신이 종결되었으며, 이들 중 5예에서 수태산물에 대한 염색체 검사를 시행하였고, 4예에서는 정상 소견을 보였고, 다른 1예에서는 삼염색체 (21 trisomy)가 진단되었다.

치료 실패군 (Group II) 11명의 CD56+ NK 세포 백분율은 평균 27.4%로 치료 성공군 (Group I, 53명, 22.3%)에 비해서는 유의하게 높은 수치를 나타냈다 (p=0.008) (Figure 1). 그러나 말초혈액 림프구의 CD16+ NK 세포 백분율은 양 군간의 통계학적으로 유의한 차이는 없었다 (Table 1).

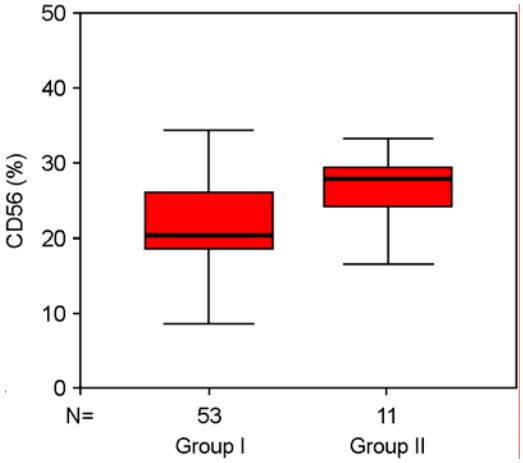

Figure 1. Pre-conceptional CD56+ natural killer (NK) cell percentage in each groups.

저용량 면역글로불린의 치료 성공을 예측할 수 있는 임계치로는 임신 전 혈액 내 CD56+ NK 세포 백분율이 27% 이하일 때 (OR 4.58, 95% CI 1.18~17.8)로 산정되었다 (Table 2).

고 찰

임신 초기에 프로제스테론, 임신단백인 TJ6, 그 외 단핵구나 영양막 세포 (trophoblast)에서 분비하는 사이토카인에 의해 유도되는 세포자멸사 (apo-

Table 2. Prediction of successful pregnancy stratified by preconceptional level of CD56+ NK cell in RSA patients treated with low-dose IVIg

	Cut-off values of CD56+ cell	
	≤27%	≤28%
Sensitivity (%)	79.2	79.2
Specificity (%)	54.5	45.5
Positive predictive value (%)	89.4	87.5
Negative predictive value (%)	35.3	31.3
Relative risk	4.58	2.18
95% CI	1.18~17.8	0.54~8.82

ptosis) 등의 기전에 의해 정상에서는 CD56+ NK 세포가 감소하는 것으로 알려져 있다.[17~21] 그러나 면역학적 원인의 습관성 유산 여성의 면역표현형(immunophenotype)을 조사하면 많은 수에서 말초혈액 내 CD56+, CD56+/16+ NK 세포와 CD19+ B 세포가 현저하게 증가되어 있다.[4] 이러한 NK 세포는 임신 초기에 영양막 세포를 인식하는데 실제 습관성 유산 여성의 말초혈액에서 얻은 NK 세포가 자가 태반세포에 대한 세포독성을 나타냄을 증명할 수 있었다.[22] 이런 환자에서 임신 초기에 CD56+ NK 세포를 감소시킴으로써 반복적인 유산을 막고 성공적인 임신 결과를 얻을 수 있다. 그러나 면역글로불린의 치료를 받고도 자연 유산이 된 여성에서는 CD56+ NK 세포의 감소가 관찰되지 않았다.[10]

Yamada 등은 원인 불명의 습관성 유산 여성에서 임신 전 NK 세포 활성도가 46% 이상일 때 상대 위험도가 3.6, 말초혈액 림프구중 CD56+ 세포 백분율이 16.4% 이상일 때 상대 위험도가 4.9로 향후 임신에서 생화학적 임신과 정상 염색체를 갖는 태아의 자연 유산의 위험률이 더 높았음을 증명하였고, 따라서 CD56+ NK 세포가 향후 임신의 결과를 예측하고 치료 방침을 세우는 데 있어 효율적인 방법이라고 주장하였다.[6]

본 연구에서도 임신 전반기에 저용량 면역글로불린 치료를 받은 습관성 유산 여성 중 25주 미만에 유산된 군의 임신 전 말초혈액 내 CD56+ NK 세포의 백분율는 27.4%로 25주 이상 임신 유지에 성공한 군에 비해 통계학적으로 유의하게 높은 수치를 나타내었다. 이는 앞서 언급한 바와 같이 NK 세포의 비율이 높을수록 유산의 위험이 높고, 이를 적절하게 조절하는 것이 향후 성공적인 임신 유지에 중요하다는 것을 설명할 수 있다.

CD56+ NK 세포가 증가된 습관성 유산 여성에서 면역글로불린 치료 후 in vivo와 in vitro 모두에서 말초혈액 내 CD56+, CD56+/16+ NK 세포가 효과적으로 억제되었다. 이는 면역글로불린이 Th-2 cytokine 면역 반응이 우세한 방향으로 면역체계를 유도하여 Th-1 cytokine에 의한 항체의존세포매개 세포독성 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)을 약화시킴으로써 NK 세포의 활성화를 저하시키는 것으로 가정하였다.[10,23,24]

Ruiz 등은 습관성 유산 여성에서 면역글로불린 치료 이전과 치료 후 7~11일에 측정한 NK 세포의 활성도를 비교한 in vivo 연구에서 다음 임신시 임신 유지에 성공하여 출산한 예에서는 NK 세포의 활성도가 현저히 감소하거나 변화가 없었던 반면, 유산이 되었던 예는 유산 당시 그 활성도가 현저히 증가되어 있었고, 임신이 되지 않은 1예에서는 매우 높은 NK 세포독성을 나타낸 것으로 보아 NK 세포 활성도가 임신의 예후 및 면역글로불린 치료의 효용성을 예측하는데 도움이 될 수 있다고 보고하였다.[10]

본 연구에서 사용한 저용량의 면역글로불린 치료는 태아의 생존 가능성이 있는 25주를 기준으로 하여 그 이상 임신이 지속되었을 때를 치료의 성공으로 간주한다면 약 82.8%의 치료 성공률을 보였다. 이는 기존의 randomized, double-blind controlled study에 대한 meta-analysis에서 면역글로불린 치료의 overall success rate를 62.4%로 보고한 것에 비해 높게 나타났다. 이는 아마도 기존의 연구들과 달리 본 연구에서는 임신 전 말초혈액 내 CD56+ NK 세포가 증가한 경우, 즉 면역학적 원인에 기인한 습관성 유산 여성에만 선택적으로 면역글로불린을 주입함으로써 치료의 효용성을 높여 주었다고 할 수 있겠다. 비슷하게 Kwak 등의 연구에서 임신 전 NK 세포가 12% 미만으로 면역글로불린을 주입하지 않은 군과 12% 이상이면서 저용량 면역글로불린을 주입한 군, 면역글로불린 주입을 하지 않은 군간의

출산율 (live birth rate)은 각각 83.3% (15/18), 100% (9/9), 33.3% (2/6)로 유의한 차이를 보였다. 특히 이들은 CD56+ NK 세포의 활성도를 미리 측정하여 조절함으로써 유산율 뿐만 아니라 조산 및 자궁내 태아 성장 지연 역시 감소하였다고 보고하였다.[24]

한편 아직까지 습관성 유산 여성에서 사용하는 면역글로불린 치료의 적절한 용량에 대한 연구는 정립된 바 없다. 이전에 발표되었던 연구들에서 사용한 면역글로불린 치료의 용량과 주입 시기는 매우 다양하고 결과 역시 다양하게 나타났다. 다만 Ruiz은 습관성 유산 여성에서 채취한 혈액을 이용한 in vitro 실험에서 면역글로불린을 처리하였을 때 93%에서 용량에 비례하여 (dose-dependent) NK 세포 활성도가 감소하는 것을 증명하고 이는 effector cell 수준에서 immunoglobulin의 antigen binding portion에 의해 매개되기 때문이라고 설명하였다.[23] 이에 저자들은 저용량 면역글로불린 치료의 성공을 예측할 수 있는 CD56+ NK 세포의 임계치를 알아보고자 하였고, CD56+ NK 세포가 27% 이하일 때에는 저용량 만으로도 유의하게 (OR 4.58, 95% CI 1.18~17.8) 효과를 기대할 수 있으나 28% 이상에서는 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

최근 Morikawa 등은 4회 이상 반복 자연 유산의 경력이 있는 원인 불명의 습관성 유산 여성에서 임신 확인 직후 대용량의 면역글로불린 (over the course of 5 days at a dose of 20 g/d, for a total dose of 100 g)을 투여한 결과, 태아의 염색체 이상으로 인한 자연 유산을 제외하면 100%에서 임신 유지에 성공하였고, 말초혈액 내 CD56+ NK 세포의 비율도 치료 이전에 비해 유의하게 감소하였다고 보고하였다.[25] 본 연구에서 저용량 면역글로불린 치료로 실패한 군에서 특히 임신 전 CD56+ NK 세포가 현저하게 상승된 여성에서는 이처럼 면역글로불린의 용량이나 주입 시기를 달리함으로써 임신 유지의 성공을 기대해 볼 수 있겠다.

이상의 연구 결과로 원인 불명의 습관성 유산 여성에서 면역글로불린 치료를 시행하는데 있어 말초혈액 내 CD56+ NK 세포의 활성도를 측정하는 것은 유용한 지표로 이용될 수 있고, 한편 NK 세포의 비율이 현저하게 상승된 경우에는 저용량의 면역글로불린 치료 만으로는 잘 조절되지 않아 효과적으로 유산을 방지하지 못함을 알 수 있었다. 따라서 향후 면역글로불린 용량과 반응에 관련된 체계적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: Is successful pregnancy a TH2 phenomenon? Immunol Today 1993; 14: 353-6.
2. Higuchi K, Aoki K, Kimbara T, Hosoi N, Yamamoto T, Okada H. Suppression of natural killer cell activity by monocytes following immunotherapy for recurrent spontaneous aborters. Am J Reprod Immunol 1995; 33: 221-7.
3. Kwak JY, Beaman KD, Gilman-Sachs A, Ruiz JE, Schewitz D, Beer AE. Up-regulated expression of CD56+, CD56+/CD16+, and CD19+ cells in peripheral blood lymphocytes in pregnant women with recurrent pregnancy losses. Am J Reprod Immunol 1995; 34: 93-9.
4. Beer AE, Kwak JY, Ruiz JE. Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple failed in vitro fertilization cycles. Am J Reprod Immunol 1996; 35: 376-82.
5. Clark DA, Coulam CB. Is there an immunological cause of repeated pregnancy wastage? Adv Obstet Gynecol 1995; 3: 321-42.
6. Yamada H, Morikawa M, Kato EH, Shimada S, Kobashi G, Minakami H. Pre-conceptional natural-killer-cell activity and percentage as predictors of biochemical pregnancy and spontaneous abortion with normal chromosome karyotype. Am J Reprod Immunol 2003; 50: 351-4.
7. Aoki K, Kajiura S, Matsumoto Y, Ogasawara M, Okada S, Yagami Y, et al. Preconceptional natural-killer-cell activity as a predictor of miscarriage. Lancet 1995; 345: 1340-2.
8. Emmer PM, Veerhoek M, Nelen WL, Steegers EA, Joosten I. Natural killer cell reactivity and HLA-G

in recurrent spontaneous abortion. Transplant Proc 1999; 31: 1838-40.
9. Kwak JY, Kwak FM, Ainbinder SW, Ruiz AM, Beer AE. Elevated peripheral blood natural killer cells are effectively downregulated by immunoglobulin G infusion in women with recurrent spontaneous abortions. Am J Reprod Immunol 1996; 35: 363-9.
10. Ruiz JE, Kwak JY, Baum L, Gilman-Sachs A, Beaman KD, Kim YB, et al. Intravenous immunoglobulin inhibits natural killer cell activity in vivo in women with recurrent spontaneous abortion. Am J Reprod Immunol 1996; 35: 370-5.
11. Coulam CB, Krysa L, Sterm J, Bustillo M. Intravenous immunoglobulin for treatment of recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol 1995; 34: 333-7.
12. Christiansen OB, Mathiesen O, Husth M, Ramsussen KL, Ingersler HJ, Lauristen JG, et al. Placebo-controlled trial of treatment of unexplained secondary recurrent spontaneous abortion with i.v. immunoglobulin. Hum Reprod 1995; 10: 2690-5.
13. Intravenous immunoglobulin in the prevention of recurrent miscarriage. The German RSA/IVIG Group [editorial]. Br J Obstet Gynaecol 1994; 101: 1072-7.
14. Stephenson MD, Dreher K, Houlihan E, Wu V. Prevention of unexplained recurrent spontaneous abortion using intravenous immunoglobulin: a prospective, randomized, double, blinded, placebo controlled trial. Am J Reprod Immunol 1998; 39: 82-8.
15. 김문영, 양광문, 김해숙, 차선화, 궁미경, 강인수 등. 말초혈액 CD56+ Natural Killer cell의 증가에 기인하여 면역글로불린 치료 후 분만한 습관성 유산 환자에서 향후 계획 임신 전 시행한 말초혈액 NK cell의 변화에 대한 연구. 대한산부회지 2004; 47: 1926-30.
16. 차선화, 양광문, 박찬우, 김해숙, 조동희, 강인수, 궁미경 등. 말초혈액 CD56+ Natural Killer Cell 증가에 기인한 습관성 유산 환자에서 정맥 내 면역글로블린 치료의 효과에 관한 연구. 대한불임학회지 2005; 32: 165-70.
17. Szekeres-Bartko J, Faust Z, Varga P, Szereday L, Kelemen K. The immunological pregnancy protective effect of progesterone is manifested via controlling cytokene production. Am J Reprod Immunol 1996; 35: 348-57.
18. Ribbing SL, Hoverland RC, Beaman KD. T-cell suppressor factor play an integral role in preventing fetal rejection. J Reprod Immunol 1988; 14: 83-95.
19. Nichols TC, Kang J, Angkachatchai V, Beer AE, Beaman KD. Expression of a membrane form of the pregnancy associated protein TJ6 on lymphocytes. Cell Immunol 1994; 155: 219-29.
20. Beaman KD, Angkahatchai V, Gilman-Sacks A. TJ6: The pregnancy-associated cytokine. Am J Reprod Immunol 1996; 35: 338-41.
21. Clark DA, Vince G, Flanders KC, Hirte H, Starkey P. CD56+ lymphoid cells in human first trimester pregnancy decidua as a source of novel TGF-β 2-related immunosuppressive factors. Hum Reprod 1994; 9: 2270-7.
22. Yokoyama M, Sano M, Sonoda K, Nozaki M, Nakamura GI, Nakano H. Cytotoxic cells directed against placental cells detected in human habitual abortions by an in vitro terminal labeling assay. Am J Reprod Immunol 1994; 31: 197-204.
23. Ruiz JE. Effect of intravenous immunoglobulin on natural killer cell activity in women with recurrent spontaneous abortion. Master thesis, Finch university of health sciences/The chicagomedical school, United states; 1995.
24. Kwak JY, Kwak FM, Gilman-Sachs A, Beaman KD, Cho DD, Beer AE. Immunoglobulin G infusion treatment for women with recurrent spontaneous abortions and elevated CD56+ Natural killer cells. Early pregnancy 2000; 4: 154-64.
25. Morikawa M, Yamada H, Kato EH, Shimada S, Kishi T, Yamada T, et al. Massive intravenous immunoglobulin treatment in women with four or more recurrent spontaneous abortions of unexplained etiology: down-regulation of NK cell activity and subsets. Am J Reprod Immunol 2001; 46: 399-404.