

RESISTANCE OF UTERINE RADIAL ARTERY BLOOD FLOW IS POSITIVELY CORRELATED WITH *PERIPHERAL BLOOD NK* CELL FRACTION IN PATIENTS WITH UNEXPLAINED RECURRENT SPONTANEOUS ABORTION

Hwa Seon Koo, MD, Hyun Jeong Yi, MD, Min Young Lee, MD, Hyun Suk Ahn, MD, Min Hye Choi, MD, Na Young Sung, MD, Yu Im Hwang, MD, In Ok Song, MD, Mi Kyoung Koong, MD, Inn Soo Kang, MD, Kwang-Moon Yang, MD

Department of Obstetrics and Gynecology, Cheil General Hospital and Women's Healthcare Center, Kwandong University College of Medicine, Seoul, Korea

Objective

To evaluate whether increased peripheral blood inflammatory immune cell can induce decrease of uterine blood flow in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion (RSA).

Methods

This study designed prospectively 33 pregnant women between 5 to 7 gestational weeks with a history of unexplained RSA included in this study. 47 normal pregnant women between 5 to 7 gestational weeks without history of infertility and/or RSA included as a control. *Peripheral blood natural killer (pbNK)* (CD3⁺/56⁺) fractions among peripheral blood monocyte (PBMC) were checked by flow cytometry. Uterine color-pulsed Doppler trans-vaginal ultrasound for evaluation of uterine radial artery RI was checked. Uterine radial artery resistance index (RI) compared between study and control group. After then, uterine radial artery RI was compared between high *pbNK* cell fraction above 12.1% among PBMC and normal *pbNK* cells fraction below 12.1%. Correlation between *pbNK* cell fraction to uterine radial artery RI was also evaluated.

Results

Uterine radial artery RI in early pregnancy was significantly higher in patients with RSA than that of normal control (0.60 ± 0.14 vs. 0.54 ± 0.12 , $P=0.039$). Especially, the mean value of uterine radial artery RI in RSA patients with elevated *pbNK* cells was significantly increased than that of normal control (0.62 ± 0.13 vs. 0.54 ± 0.12 , $P=0.029$). Otherwise, *pbNK* cell fractions among PBMC displayed strong positive correlation to uterine radial artery RI (Pearson's correlation coefficient $P=0.001$, $r=0.667$).

Conclusion

Increased *pbNK* cells can evoke decreased uterine blood flow by their pro-inflammatory action on micro vascular structure such as uterine radial artery. This can be a one causative mechanism of inducing spontaneous abortion by increased NK cells. But, larger scaled study is needed for clarify our results.

Keywords: Recurrent spontaneous abortion; Natural killer cell; Uterine radial artery resistance index

일반적으로 습관성 유산(recurrent spontaneous abortion, RSA)은 임신 20주 이전 3번 이상의 자연유산으로 정의되며, 300임신당 하나의 빈도로 발생하는 것으로 알려져 있다. 하지만 1) 태아의 심장박동이 있는 후 유산되었을 경우, 2) 35세 이상의 고령산모에서 유산되었을 경우, 그리고 3) 불임 환자 등과 같이 임신이 성공하기까지의 과정이 어려운 경우 등은 2회의 연속 유산 시 적절한 진단과 치료가 요구된다고 알려져 있다[1].

습관성 유산은 전체 가임 여성의 0.5%~3%에서 발생한다고 보고되고 있으며 그 원인은 유전적 원인, 해부학적 원인, 감염 및 자가항체 등의 원인으로 분류될 수 있지만 30%~40%의 습관성 유산 환자에서는

Received: 2012.3.6. Revised: 2012.5.8. Accepted: 2012.5.21.

Corresponding author: Kwang-Moon Yang, MD, PhD
Department of Obstetrics and Gynecology, Cheil General Hospital and Women's Healthcare Center, Kwandong University College of Medicine, 17 Seoae-ro 1-gil, Jung-gu, Seoul 100-380, Korea
Tel: +82-2-2000-7545 Fax: +82-2-2000-7790
E-mail: km1yang@naver.com

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2012. Korean Society of Obstetrics and Gynecology

기존의 검사로 그 원인이 밝혀지지 않은 원인불명(unexplained cause)으로 분류되어 왔다[2,3]. 하지만 비교적 최근 원인불명의 습관성 유산 환자의 진단을 위해 동종 면역 기전에 의한 원인이 생식 면역학자들을 중심으로 연구되고 있으며 습관성 유산의 면역학적 원인에 대한 성공적인 치료 성과가 보고되고 있다.

여러 연구 결과에 의하여 습관성 유산 환자에서 말초혈액의 자연살해세포의 비율이 그 대조군에 비해 현저하게 증가되어 있음이 밝혀졌고, 이러한 자연살해세포를 감소시키는 치료가 임신의 유지에 도움이 된다는 것 또한 보고되어 왔다[4,5]. 국내의 한 연구 결과에 의하면 습관성 유산 환자에서 임신 전 측정된 말초혈액의 자연살해세포 비율은 대조군에 비하여 현저하게 증가되어 있었으며 그 절단값(cut-off value)을 12.1%로 정하였을 때 말초혈액 자연살해세포 비율이 그 이상 증가된 환자에서 정상군에 비해 습관성 유산의 위험도는 약 8.4배 증가함을 보고한 바 있다[6].

하지만 증가된 자연살해세포가 습관성 유산을 유발하는 원인 기전은 아직 명확하지 않다. 한 기전으로 자연살해세포가 융모세포(trophoblastic cell)의 림포카인 활성 효소(lymphokine activated kinase)에 직접적으로 작용하여 융모세포의 세포자멸사(apoptosis)를 유발하여 유산을 일으킨다고 설명하고 있으며[7], 또 다른 기전으로 tumor necrosis factor- α , interferon- γ 와 같은 항염증성(pro-inflammatory) 사이토카인을 분비하여 태반 기저부의 모체-태아 간극(inter-space in placental bed)에 무균성 염증반응(sterile inflammation)을 유발하며, 그 결과 미세혈관의 혈전(micro-vascular thrombosis)이 생기고 이것이 RSA를 일으킨다고 설명하고 있다[8]. 한편 다른 연구에서는 습관성 유산 환자에서 임신 전에 자연살해세포의 독성이 정상대조군에 비해 현저하게 증가되어 자연살해세포의 수적 증가뿐 아니라 세포용해능의 증가 또한 습관성 유산의 원인이 됨을 보고하고 있다[6].

한편 여러 보고자에 의해 습관성 유산 환자에서 자궁동맥 혈관 저항이 증가되어 있는 것이 관찰되었으며 그것은 자궁동맥에 의한 혈류 공급이 자궁내막의 수용성(receptivity)을 조절하며 따라서 자궁의 저하된 관류(perfusion)가 습관성 유산의 원인으로 작용할 수 있다고 설명하고

있다[2,3].

또한 자궁으로의 혈류(uterine blood flow)를 측정하는 것이 불임 및 유산의 위험성을 진단하는 유용한 방법이라는 연구 결과가 있으며 그 중 습관성 유산 환자에서는 그 대조군에 비하여 자궁동맥(uterine artery)의 저항지수(resistance index, RI)가 현저하게 증가되어 있다는 보고와 자궁동맥의 pulsed doppler가 자궁혈류(uterine circulation)의 장애에 의한 원인불명의 습관성 유산 환자를 진단하는데 유용한 방법이 된다는 보고가 있었다[9]. 하지만 습관성 유산 환자에서 자궁내 혈관의 혈액학적 또는 혈류 변화에 관한 연구는 아직까지 연구가 많이 이루어지지 않고 있는 실정이다[10].

최근의 연구에 의하면 정상 임신군에서 임신초기부터 임신중기까지 자궁동맥의 저항지수는 변화가 없는 반면 자궁방사동맥(uterine radial artery)의 저항지수는 현저하게 줄어드는 변화를 보였다. 이러한 결과는 자궁내 혈류를 공급하는 혈관 중 그 저항이 측정 가능한 최말단 분지인 자궁방사동맥의 혈류 측정이 임신초기에 태아에게 공급되는 혈액 정도를 자궁동맥에 비해 더 잘 반영한다고 할 수 있겠다[11].

본 연구에서 저자들은 습관성 유산 환자에서 말초혈액의 자연살해세포 비율 변화가 유산을 일으키는 기전으로 자궁내 혈관에 무균성 염증 반응을 유발하며 그 결과 자궁혈류 변화에 영향을 줄 수 있을 것이라는 가정하에 원인불명의 습관성 유산 환자에서 비정상적으로 증가된 말초혈액 자연살해세포 비율이 자궁방사동맥의 혈류를 감소시키는지에 대해 알아보려고 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상군

본 연구는 2011년 2월부터 2011년 6월까지 본원 불임클리닉을 내원한 습관성 유산 기왕력이 있는 환자를 대상으로 진행되었다. 자연 유산 기왕력이 2번 이상 있는 임신 5-7주 여성 33명을 실험군(RSA group)으로 설정하였다. 이들 중 습관성 유산의 원인이 될 수 있는 자궁기형, 염색체이상, 항인지질항체증후군, 항갑상선 글로불린 항체 및

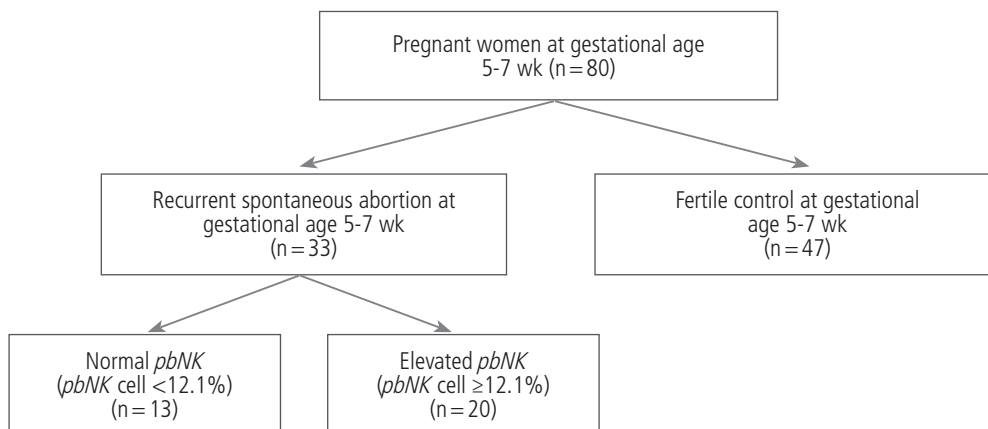


Fig. 1. Diagram of study subjects. pbNK, peripheral blood natural killer.

감염 등이 있는 경우를 제외하였다. 그리고 습관성 유산의 기왕력이 없는 임신초기의 산모 47명을 대조군(fertile control group)으로 선정하였다(Fig. 1).

2. CD3⁺/CD56⁺/CD16⁺ Peripheral blood natural killer (pbNK) cell 분획(fraction) 측정

각각의 환자로부터 말초혈액 10 mL을 채취하여 그 중 100 μ L의 전혈을 사용하였다. CD3, CD56 및 CD16 세포 표면 항원을 혈액세포에 단클론항체(monoclonal antibody)를 이용하여 간접 형광 염색하여 유세포분석기(FACS Calibur, Becton-Dickinson Co, San Jose, CA, USA)를 사용하여 분석하였다. 단클론항체는 CD3 FITC/CD56⁺CD16⁺PE를 사용하였다. 간접형광염색법에서는 모두 FITC-IgG1/PE-IgG2를 음성 대조형광물질로 사용하였다. 헤파린이 처리된 진공시험관에 채

취한 전혈 100 μ L에 형광색소가 부착된 각각의 항체 10 μ L를 넣어준 후, 잘 혼합하여 4°C에서 20분간 반응시킨다. 적혈구 용혈용액 1 mL을 넣고 잘 혼합하고 실온 암소에서 10분간 반응시켰다. 5분간 원심분리(1,600 rpm)하여 상층액을 버리고 phosphate buffered saline으로 2회 세척한 후 1% paraformaldehyde 용액을 넣고 잘 섞어준 후 분석하였다. 결과 분석은 Cell Quest pro software (FACS Calibur)를 이용하여 림프구만을 gating (R1)한 후, 선별된 림프구들 중에서 CD3⁺/CD56⁺/CD16⁺ 부분만을 백분율(CD3⁺/CD56⁺/CD16⁺ number/lymphocyte number \times 100)로 구하였다(Fig. 2).

3. pbNK cell의 세포용해 활성도 측정

각각의 환자로부터 말초혈액 10 mL을 채취하여 Ficoll-hypaque gradient solution을 이용하여 림프구와 단핵세포층(peripheral blood monocytes, PBMCs)을 분리하여 세척하였다. 수획한 PBMCs와 PKH2로 염색한 K562 세포를 함께 배양하였으며, 용혈된 표적세포는 propidium iodide dye (PI)를 이용하여 핵을 염색하여 유세포분석기를 사용하여 분석하였다. 헤파린이 처리된 진공시험관에 채취한 말초혈액 10 mL에서 PBMCs를 분리하고, 세포 수를 측정하였다. K562는 배양액으로 세척한 후, PKH2 염색약 1 μ L를 넣고 잘 섞어 1분간 반응시킨 후, 세포용해 활성도 분석용 K562 세포를 준비하였다. 세포용해 활성도는 effector cell:target cell (E:T)의 비율을 50:1, 25:1, 그리고 12.5:1로 2시간 동안 PBMC와 K562 cell을 함께 반응시킨 후, PI로 1-5분간 염색한 후 분석하였다. 결과 분석은 Cell Quest Pro Software를 이용하여 각각의 E:T 비율에서의 세포 용해 활성도(K562 dead cell number/K562 whole cell number \times 100)를 계산하였다(Fig. 2).

33명의 습관성 유산 기왕력이 있는 산모에서, 임신 5에서 7주 사이에 혈액검사를 위해 혈액을 채취한 후 유세포분석기를 이용하여 말초혈액 자연살해세포의 비율 및 자연살해세포 독성을 측정하였다. 이전 연구 결과를 바탕으로 습관성 유산 환자 33명을 자연살해세포 비율 12.1%를 기준으로 그 이상인 산모를 증가 NK군(elevated NK, n=20), 12.1% 미만인 산모를 정상 NK군(normal NK, n=13)로 분류하였다(Fig. 1).

4. 자궁의 혈류 측정

자궁혈류의 측정은 자궁으로 혈류를 공급하는 말단 혈관인 자궁방사동맥의 저항지수를 측정하는 방법을 사용하였다. 질식도플러초음파를 이용하여 자궁의 내막(endometrium)과 근층(myometrium)의 접합 부분에서 자궁방사동맥을 숙지한 후 그 저항지수를 측정하였으며 저항지수는 최고 수축기 혈류속도에서 이완기 말 혈류속도를 뺀 값을 최고 수축기 혈류속도로 나눈 값 즉, [최고 수축기 혈류속도(peak systolic velocity)-이완기 말 혈류속도(end diastolic velocity)]÷최고 수축기 혈류 속도(peak systolic velocity)의 공식을 이용하여 계산하였다[12].

이러한 방법을 이용하여 임신 5-7주 산모의 자궁방사동맥 저항지수를 측정하였고 오차를 줄이기 위해 자궁 내막의 서로 다른 3곳에서 자궁방사동맥 저항지수를 측정한 후 그의 평균값을 이용하여 본 연구에

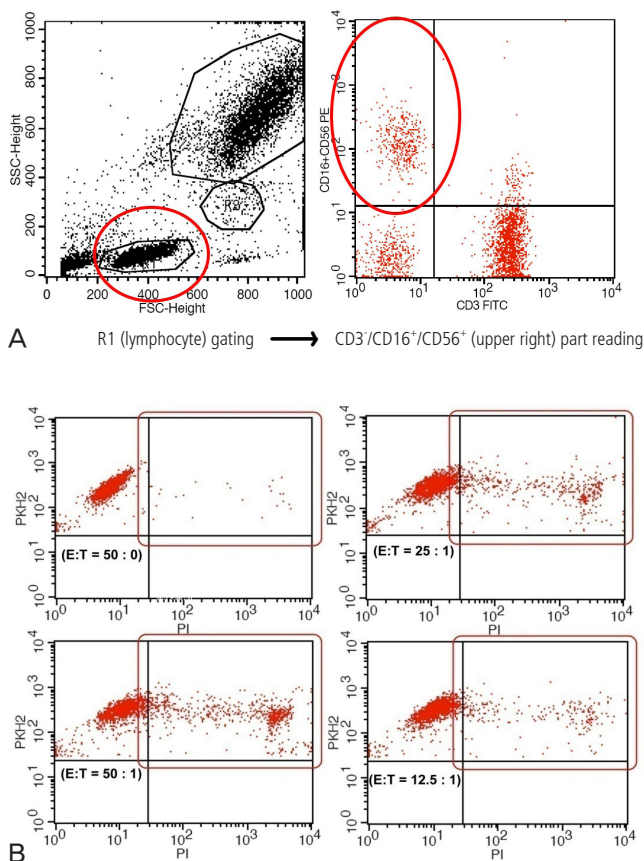


Fig. 2. Analysis of peripheral blood natural killer (pbNK) cell fraction and NK cell cytolytic activities (NKA) by using flow cytometry at gestational age 5 to 7 weeks (A) analysis of pbNK by using flow cytometry. Circled area in left figure indicated lymphocyte population among peripheral blood monocyte (PBMC). Circled area in right figure indicated NK cell (CD3⁺CD56⁺) cell population among lymphocyte. (B) Analysis of NKA by using flow cytometry. NKA was checked by % dead target cell (K562 cell) after 2 hour incubation of PBMC in three different effector to target (E:T) ratio.

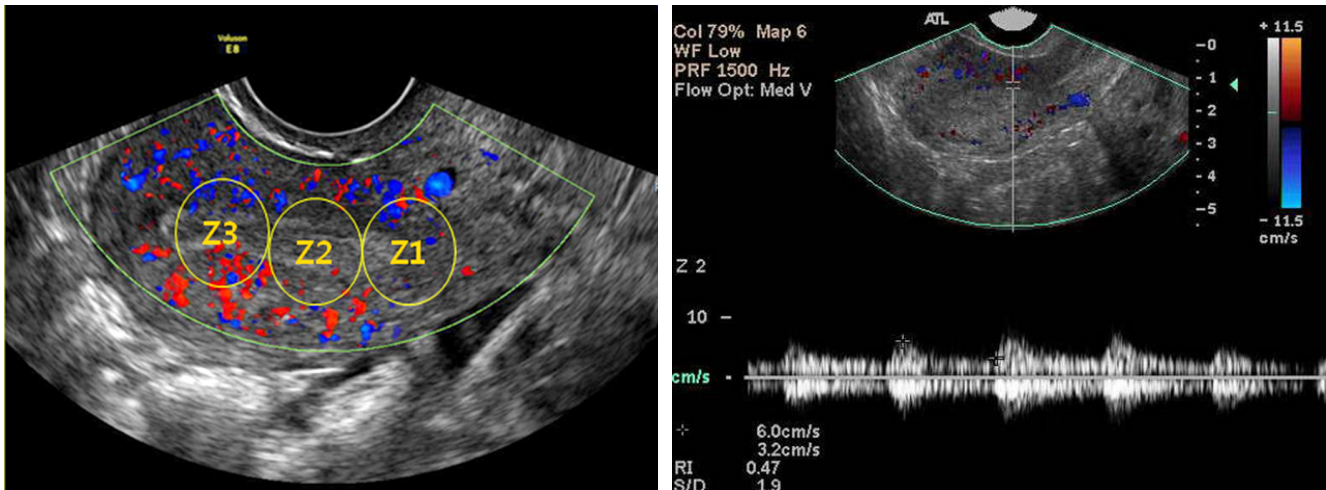


Fig. 3. Measurement of uterine blood flow by Doppler ultrasonogram. Resistance index (RI)=(peak systolic velocity-end diastolic velocity)/peak systolic velocity; Z1, zone for the 1st time measured resistance index; Z2, zone for the 2nd time measured resistance index; Z3, zone for the 3rd time measured resistance index.

Table 1. Clinical characteristic of study groups

Characteristic	Control	RSA		P-value
	(n=47)	Normal <i>pbNK</i> (n=13)	Elevated <i>pbNK</i> (n=20)	
Age (yr)	34.2 ± 3.8	35.0 ± 4.2	34.0 ± 3.0	NS
Gravity	1.4 ± 1.6	2.9 ± 1.9	2.6 ± 1.2	0.000/0.002 ^a
Parity	0.4 ± 0.6	0.4 ± 0.6	0.4 ± 0.6	NS
Live birth	0.3 ± 0.6	0.3 ± 0.6	0.4 ± 0.6	NS
No. of SA	-	2.7 ± 0.3	2.5 ± 0.2	NS
NKA (%)				
50:01:00	-	25.9 ± 12.3	32.9 ± 22.1	NS
25:01:00	-	17.7 ± 9.3	24.3 ± 18.7	NS
12.5:1	-	10.6 ± 6.7	15.9 ± 13.6	NS

Values are presented as mean ± standard deviation.

pbNK, peripheral blood natural killer cell; SA, spontaneous abortion; NKA, NK cell cytolytic activity; NS, not significant.

^aStatistically significant different between control and normal *pbNK*/control and elevated *pbNK*.

이용하였다(Fig. 3). 또한 자궁방사동맥 저항지수의 측정은 산모의 기왕력을 모르는 한 연구자에 의해 측정되었다.

5. 결과의 분석

각 군별로 자궁방사동맥의 저항지수를 비교하였고, 습관성 유산 환자에서 말초혈액 자연살해 세포의 비율과 자궁방사동맥 저항지수 간의 상관 관계를 알아보았다.

연구 결과는 SPSS ver. 12.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) 통계프로그램을 사용하여 분석하였다. 각 군 간의 비교를 위해 연속변수의 비교는 one way analysis of variance와 Student's *t*-test를 이용하였고, 상관관계 분석을 위해서는 Pearson's correlation을 사용하였으며 통계 분석 후 *P*값이 0.05 이하인 경우 통계적으로 유의하다고 정의하

결 과

1. 대상 환자의 특성

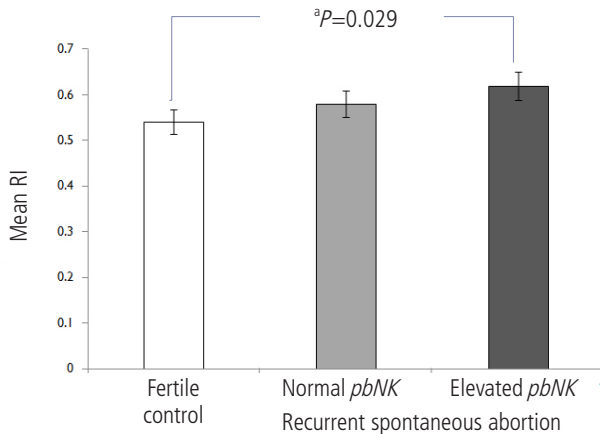
각 군의 나이 및 환자의 분만력, 출산력은 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 다만 자연유산의 경험 횟수는 습관성 유산 환자에서 평균 2.6±0.2회였고 습관성 유산 환자 중 말초혈액 자연살해세포 비율이 12.1% 미만인 습관성 유산 환자그룹(normal NK)에서는 2.7±0.3, NK가 12.1% 이상 증가된 습관성 유산 환자그룹(elevated NK)에서는 2.5±0.2이었으며 이는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

Table 2. Comparison of mean uterine radial artery resistance index between groups

	Control	RSA		
	(n=47)	RSA total (n=33)	Normal <i>pbNK</i> (n=13)	Elevated <i>pbNK</i> (n=20)
Mean resistance index	0.54 ± 0.12 ^{a,b}	0.60 ± 0.14 ^a	0.58 ± 0.16	0.62 ± 0.13 ^b

RSA, recurrent spontaneous abortion; normal *pbNK*, peripheral blood natural killer cell fraction among lymphocyte showed below 12.1%; elevated *pbNK*, peripheral blood NK cell fraction among lymphocyte showed above 12.1%.

^a*P*=0.039, Student's *t*-test, ^b*P*=0.029, one-way analysis of variance.

**Fig. 4.** Comparison of mean uterine radial artery resistance index. RI, resistance index; *pbNK*, peripheral blood natural killer.

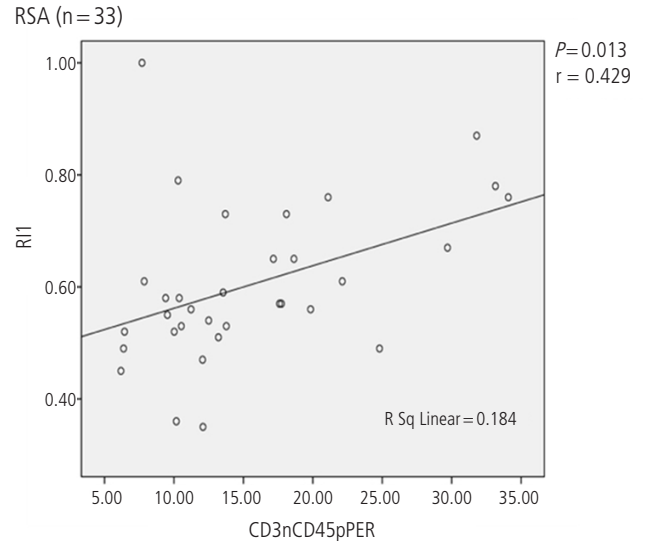
또한 말초혈액 자연살해세포 독성도 normal NK군과 elevated NK군 간 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다(Table 1).

2. 각 군 간의 자궁방사동맥 저항지수 비교

자궁방사동맥의 평균 저항지수는 대조군에 비하여 습관성 유산 환자군에서 통계학적으로 의미 있게 높은 결과를 보였다(0.60 ± 0.14 vs. 0.54 ± 0.12 , *P*=0.039). 자궁방사동맥의 평균 저항지수를 말초혈액의 NK cell의 증감에 따라 각 군을 비교한 결과 말초혈액 NK 세포의 분획이 12.1% 이상 증가된 elevated NK군에서 정상대조군에 비해 통계학적으로 유의하게 높게 나타난 결과를 보인 반면(normal fertile vs. elevated NK, 0.54 ± 0.12 vs. 0.62 ± 0.13 ; *P*=0.029), 정상말초혈액분획군(normal NK group)의 자궁방사동맥 저항지수의 평균은 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다(normal fertile vs. normal NK, 0.54 ± 0.12 vs. 0.58 ± 0.16 ; *P*>0.05) (Table 2, Fig. 4).

3. 말초혈액 자연살해세포 비율과 자궁방사동맥 저항지수의 상관관계

습관성 유산 환자에서 말초혈액 자연살해세포의 비율과 자궁방사동맥 저항지수의 상관관계를 보았을 때 전체 습관성 유산 환자에서 말초혈액 자연살해세포의 비율과 자궁방사동맥 저항지수 사이에는 양의 상관관계가 나타났고(*P*=0.013, *r*=0.429), 특히 습관성 유산 환자 중 증가 NK (elevated NK)군에서는 더욱 강한 양의 상관관계를 보였다

**Fig. 5.** Correlation of uterine radial artery resistance index and *pbNK* cell fraction in RSA group. RI, resistance index; RSA, recurrent spontaneous abortion.

(*P*=0.001, *r*=0.667) (Fig. 5).

하지만 습관성 유산 환자 중 normal NK군에는 말초혈액 자연살해세포 비율과 자궁방사동맥 저항지수와는 통계학적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았다(*P*=0.996, *r*=−0.002) (Fig. 6).

고 찰

임신 중 자궁내 혈관의 혈류공급 및 관류는 응고-항응고(coagulation vs. anticoagulation) 및 섬유소 용해-반 섬유소용해(fibrinolysis vs. anti-fibrinolysis) 활동의 적절한 조절에 의해 적당한 상태를 유지하는 것이 태아의 생존 및 성장에 불가피한 요소이다[13]. 또한 자궁으로의 혈류 공급 및 원활한 관류는 수정란의 착상 및 임신의 유지에 매우 중요한 역할을 하며 비정상적인 자궁으로의 혈류공급 및 관류는 원인이 밝혀지지 않은 불임의 원인이 될 수 있다고 많은 연구에서 밝혀졌다[14,15]. 또한 습관성 유산 환자에서는 그 대조군에 비하여 자궁동맥의 저항지수가 현저하게 증가되어 있다는 보고가 있지만[9], 자궁혈류 이상과 습관성 유산의 상관 관계에 대한 연구는 아직 미미한 실정이며 현

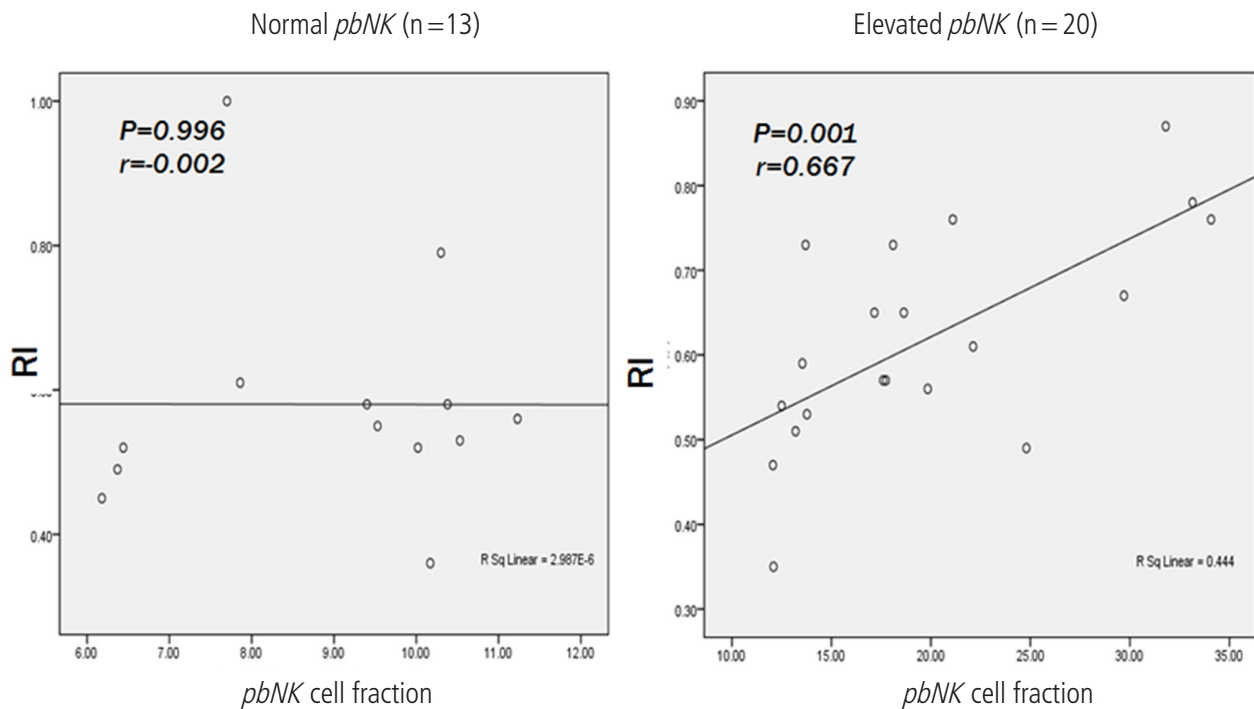


Fig. 6. Correlation between uterine RA-RI and *pbNK* cell fraction in normal and elevated NK groups. RA-RI, radial artery-resistance index; *pbNK*, peripheral blood natural killer.

재까지 자궁혈류 이상과 말초혈액 자연살해세포의 연관성에 관한 연구는 이루어지지 않고 있는 실정이다.

본 연구에서 저자들은 원인불명의 습관성 유산 환자에서 자궁동맥보다 자궁으로의 혈류공급을 더욱 정확하게 반영하는 것으로 보고되는 자궁방사동맥 저항의 측정을 통해 자궁혈류의 변화와 습관성 유산의 상관 관계에 대해 규명하고자 하였다.

그 결과 습관성 유산 환자의 자궁방사동맥 저항지수는 정상군에서의 자궁방사동맥의 저항지수와 비교해 보았을 때 통계학적으로 유의하게 높은 결과를 보여 임신초기 자궁으로의 혈류공급 저하가 습관성 유산의 원인이 될 수 있음을 제시하였다.

한편, 말초혈액 자연살해세포가 증가되어 있는 습관성 유산 환자에서, 자궁방사동맥의 저항지수는 정상군에 비하여 현저하게 증가되어 있는 반면, 말초혈액 자연살해세포가 정상인 습관성 유산 환자에서 자궁방사동맥의 저항지수는 정상을 보이며, 습관성 유산 환자를 대상으로 분석한 결과 자궁방사동맥의 저항지수가 말초혈액 자연살해세포의 비율과 양의 상관관계를 보이고 그 정도는 말초혈액 자연살해세포의 비율이 증가되어 있는 경우에는 더욱 강한 결과를 보여, 말초혈액에서 증가된 자연살해세포가 유산을 유발하는 병인적 기전이 임신초기 자궁 내 혈류 공급과 연관될 수 있음을 제한할 수 있었다.

기존 문헌에 의하면 말초혈액 자연살해세포의 습관성 유산에 대한 병인적 설명으로 자연살해 세포가 다른 면역세포를 자극하여 pro-inflammatory 사이토카인의 분비를 증가시키고 증가된 pro-inflammatory 사이토카인들이 탈락막의 미세 혈관에서 무균성 염증반

응(sterile inflammation)과 혈전 형성을 촉진시켜 자궁으로의 혈류를 감소시킨다고 설명하고 있지만[16] 명확한 기전적 설명을 위해서는 더욱 많은 연구가 요구된다.

저자들은 본 연구의 결과에 의해 말초혈액 자연살해세포 비율 측정 및 질식초음파 및 Doppler를 이용한 자궁으로의 혈류 공급 및 관류의 평가는 습관성 유산 환자에서 임신초기 해당 임신의 반복유산의 위험도를 예측하는 유용한 방법이 될 수 있으며 유산의 재발 방지를 위한 면역 억제 치료 및 자궁혈액 관류를 증가시킬 수 있는 항응고제 사용과 해당 약물 투여의 치료 효과를 측정하고 궁극적으로 임신의 산과적 예후를 양호하게 하는 객관적인 진단표식자로의 이용이 가능할 수 있음을 제안하고자 한다.

하지만 본 연구는 대상군의 수가 적다는 점과 자연살해세포 및 사이토카인에 대한 분자 생물학적기전 및 특성을 밝히지 못한 점 및 말초혈액 자연살해세포 비율이 증가되어 있지 않은 환자에서의 습관성 유산의 원인에 대한 연구가 이루어지지 못한 한계점이 있다. 이러한 한계를 극복하기 위해 더 많은 대상군 및 임신의 산과적 예후(obstetric outcomes)까지 포함한 연구가 필요할 것으로 생각되며 저자들은 해당 연구를 진행 중에 있다.

References

1. Berek JS, Novak E. Berek & Novak's gynecology. 15th ed. Phi-

- adelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
2. El-mashad AI, Mohamed MA, Farag MA, Ahmad MK, Ismail Y. Role of uterine artery Doppler velocimetry indices and plasma adrenomedullin level in women with unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res* 2011;37:51-7.
3. Ferreira AM, Pires CR, Moron AF, Araujo Júnior E, Traina E, Mattar R. Doppler assessment of uterine blood flow in recurrent pregnancy loss. *Int J Gynaecol Obstet* 2007;98:115-9.
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. Perricone C, De Carolis C, Giacomelli R, Zaccari G, Cipriani P, Bizzi E, et al. High levels of NK cells in the peripheral blood of patients affected with anti-phospholipid syndrome and recurrent spontaneous abortion: a potential new hypothesis. *Rheumatology (Oxford)* 2007;46:1574-8.
6. Choi JY, Hwang SJ, Han AR, Yoo JH, Park DW, Park CW, et al. Increased peripheral NK cell fraction and their cytolytic activity in patients with history of recurrent spontaneous abortion. *Korean J Reprod Med* 2010;37:115-24.
7. Avril T, Jarrousseau AC, Watier H, Boucraut J, Le Bouteiller P, Bardos P, et al. Trophoblast cell line resistance to NK lysis mainly involves an HLA class I-independent mechanism. *J Immunol* 1999;162:5902-9.
8. Kwak-Kim J, Park JC, Ahn HK, Kim JW, Gilman-Sachs A. Immunological modes of pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2010;63:611-23.
9. Habara T, Nakatsuka M, Konishi H, Asagiri K, Noguchi S, Kudo T. Elevated blood flow resistance in uterine arteries of women with unexplained recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 2002;17:190-4.
10. Ghosh A, Ghosh M, Bhattacharya SM. Anti-phospholipid antibodies as a cause of recurrent pregnancy loss: a study in Calcutta, India. *J Obstet Gynaecol* 2006;26:407-10.
11. Tamura H, Miwa I, Taniguchi K, Maekawa R, Asada H, Taketani T, et al. Different changes in resistance index between uterine artery and uterine radial artery during early pregnancy. *Hum Reprod* 2008;23:285-9.
12. Keats TE, Siström C. *Atlas de medidas radiológicas*. Madrid, España: Elsevier Science; 2002.
13. Hui C, Lili M, Libin C, Rui Z, Fang G, Ling G, et al. Changes in coagulation and hemodynamics during pregnancy: a prospective longitudinal study of 58 cases. *Arch Gynecol Obstet* 2012;285:1231-6.
14. Steer CV, Tan SL, Mason BA, Campbell S. Midluteal-phase vaginal color Doppler assessment of uterine artery impedance in a subfertile population. *Fertil Steril* 1994;61:53-8.
15. Goswamy RK, Williams G, Steptoe PC. Decreased uterine perfusion: a cause of infertility. *Hum Reprod* 1988;3:955-9.
16. De Carolis C, Perricone C, Perricone R. NK cells, autoantibodies, and immunologic infertility: a complex interplay. *Clin Rev Allergy Immunol* 2010;39:166-75.

원인불명의 습관성 유산 환자에서 말초혈액 자연살해세포의 증가가 임신초기 자궁혈류의 변화에 미치는 영향

관동대학교 의과대학 제일병원 산부인과

구화선, 이현정, 이민영, 안현숙, 최민혜, 성나영, 황유임, 송인옥, 궁미경, 강인수, 양광문

목적

원인불명의 습관성 유산 환자에서 말초혈액 중 비정상적 비율로 증가된 자연살해세포가 자궁으로의 혈류를 감소시키는지에 대해 알아보고자 하였다.

연구방법

본 연구는 전향적 연구로, 습관성 유산의 기왕력을 갖는 임신 5-7주 사이의 환자 33명을 대상으로 하였으며 습관성 유산의 기왕력이 없는 정상 임신 5-7주 47명을 대조군으로 하였고, 습관성 유산군은 말초혈액 자연살해세포 비율 12.1%를 기준으로 정상(normal) natural killer (NK) group과 증가(elevated) NK group으로 나누어 연구를 진행하였다. 임신 5-7주 사이에 측정된 말초혈액에서 유세포분석기를 이용하여 말초혈액 자연살해세포 분획 및 세포용해 활성도를 측정 후 그 결과를 비교 분석하였고 질식초음파의 Doppler를 이용하여 자궁방사동맥의 저항을 측정 후 각 군에서 비교하였다. 또한 말초혈액 자연살해세포분획과 자궁방사동맥 저항지수 간의 연관성을 알아보았다.

결과

자궁방사동맥의 평균 저항지수는 대조군에 비교하여 습관성 유산 환자군에서 통계학적으로 의미 있게 높았고(0.60 ± 0.14 vs. 0.54 ± 0.12 , $P=0.039$), 말초혈액 자연살해세포의 분획이 12.1% 이상 증가(elevated NK)군에서도 정상대조군에 비해 통계학적으로 유의하게 높게 나타났다(0.62 ± 0.13 vs. 0.54 ± 0.12 , $P=0.029$). 또한 전체 습관성 유산 환자에서 말초혈액 자연살해세포의 비율과 자궁방사동맥 저항지수 사이에는 양의 상관관계가 나타났다($P=0.013$, $r=0.429$), 특히 습관성 유산 환자중 증가(elevated) NK군에서는 더욱 강한 양의 상관관계를 보였다($P=0.001$, $r=0.667$).

결론

증가된 말초혈액의 자연살해세포는 자궁방사동맥과 같은 미세 혈관에 항염증 반응을 일으켜 자궁으로의 혈류를 감소시켜 습관성 유산을 야기한다고 설명할 수 있겠다. 하지만 본 연구의 결론을 확인하기 위해서는 더 큰 규모의 연구뿐 아니라 분자생물학적 기전에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

중심단어: 습관성 유산, 자연살해세포, 자궁방사동맥 저항지수