

제대혈 내 Matrix Metalloproteinase-9 농도와 제대염의 연관성

제주대학교병원 산부인과학교실¹, 병리과학교실², 소아과학교실³

심순섭¹·강혜심¹·맹영희²·김영돈³

Umbilical Cord Blood Matrix Metalloproteinase-9 Levels are associated with Funisitis

Soon Sup Shim, M.D.¹, Hye Sim Kang, M.D.¹, Young Hee Maeng, M.D.²,
Young Don Kim, M.D., Ph.D.³

Departments of ¹Obstetrics and Gynecology, ²Pathology, and ³Pediatrics, Jeju National University School of Medicine, Jeju, Korea

Purpose: Intrauterine inflammation (IUI) is a leading cause of preterm delivery. Although matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) are known to be related with IUI, it has not been fully elucidated whether MMP-9 or ICAM-3 is associated with IUI. We performed this study to determine whether the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), MMP-9 and ICAM-3 in umbilical cord blood of preterm infants are associated with chorioamnionitis, funisitis or bronchopulmonary dysplasia.

Methods: Eighty-two pairs of pregnant women and their preterm newborns <35 weeks gestation were enrolled. Levels of TNF- α , MMP-9 and ICAM-3 in umbilical cord blood were measured using immunoassays and compared with results of histological examination of placenta and clinical data of the study participants.

Results: The level of MMP-9 in umbilical cord blood was significantly associated with the presence of funisitis ($P=0.007$). The level of TNF- α in umbilical cord blood was significantly associated with the development of bronchopulmonary dysplasia ($P=0.030$). However, presence of chorioamnionitis or funisitis was not associated with development of bronchopulmonary dysplasia. With the establishment of receiver operating characteristic (ROC) curve, the best cut-off value for umbilical blood MMP-9 was 99.42 pg/mL in identification of funisitis. The area under a constructed ROC curve for prediction of funisitis was 0.847 (standard error, 0.112; 95% confidence interval, 0.750-0.917).

Conclusion: Measurement of MMP-9 concentration in umbilical cord blood may be an alternative way to predict whether a preterm infant has been exposed to IUI. Further study with larger numbers of subjects will be necessary to elucidate the association between the presence of IUI and neonatal adverse outcome.

Key Words: Umbilical cord blood, Chorioamnionitis, Funisitis, Bronchopulmonary dysplasia, Tumor necrosis factor- α , Matrix metalloproteinase, Intercellular adhesion molecule

Received: 08 December 2014, Revised: 12 February 2015, Accepted: 17 February 2015

Correspondence to: Young Don Kim, M.D., Ph.D., Department of Pediatrics, Jeju National University School of Medicine, Ara 1-dong 1753-3, Jeju-si, Jeju Special Self-Governing Province 690-767, South Korea

Tel: +82-64-717-2087, Fax: +82-64-717-1097, E-mail: cardios@hanmail.net

Copyright© 2015 by The Korean Society of Perinatology

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 that the original work is properly cited.

The Korean Journal of Perinatology - pISSN 1229-2605 eISSN 2289-0432 - e-kjp.org

자궁 내 감염 및 염증은 조산의 중요한 위험인자이며, 주산기 이환율 및 사망률과 밀접한 연관성을 가진다.¹ 자궁 내 세균 감염이 생기면 세균의 독소에 반응하여 탈락막, 태아막 등에서 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 α (IL-1 α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), granulocyte colony-stimulating factor와 같은 다수의 염증성 매개물질이 생성된다.²⁻⁵ 이는 prostaglandin의 합성 분비와 증식구의 침윤 및 활성을 유발하고, metalloproteinase와 같은 다른 생활성 물질의 합성 및 분비를 유도한다. 또한 분비된 prostaglandin은 자궁 수축을 촉진시켜 조기양막파열을 유도하며, metalloproteinase는 자궁 경부의 콜라겐의 리모델링을 약화시킴으로써 조기 분만에 기여하게 된다.⁶⁻⁸

자궁 내 감염으로 인한 용모막 또는 양막의 침범으로 나타나는 산모의 급성 염증 반응을 용모양막염(chorioamnionitis)이라 한다면, 제대염(funisitis)은 자궁 내 염증이 탯줄로 확장되면서 Wharton's jelly, 제대혈관 주위에 백혈구가 침윤되어 나타나는, 태아의 염증 반응을 시사하는 대표적인 조직학적 징후이다.^{9,10} 특히 제대염은, 제대혈 내 IL-6, IL-8과 같은 염증성 매개물질 농도의 증가와 관련이 있을 뿐 아니라,¹⁰⁻¹² 기관지폐 형성 이상(bronchopulmonary dysplasia, BPD), 뇌실 주위 백질연화증과 같은 신생아 주요 이환율의 증가와 밀접한 연관성이 있다고 알려져 있다.^{13,14}

이처럼 제대혈 내 염증성 매개물질 농도의 증가는 제대염 및 신생아 이환율과 서로 연결되어 있지만, 관련 염증성 매개물질에 대한 연구는 IL-6, IL-8, TNF- α 등의 일부에 집중되어 있으며, 그 외 다른 염증성 매개체에 대한 연구는 아직 충분하지 않은 실정이다. 본 연구의 목적은 조산아의 제대혈 내 TNF- α , matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), soluble intercellular adhesion molecule-3 (ICAM-3)의 농도가 자궁 내 염증과 연관성이 있는지, 그리고 조산아의 주요 이환율, 특히 BPD의 발생과 관련이 있는지 조사하는데 있다.

대상과 방법

본 연구는 2011년 6월부터 2014년 2월까지 제주대학교병원에서 출생하고 입원한 제대연령 34주 이하의 조산아 가운데 제대혈 채집이 가능하였던 신생아와 그 산모를 대상으로 하였다. 선천성 기형이나 사산으로 출생한 경우 그리고 연구 참여에 동의하지 않는 경우는 조사대상에서 제외하였다.

제대혈의 채집은 분만 당시 태반이 적출되면 바로 시행되었고,¹⁵ 게이지 바늘이 달린 30 cc 주사기를 이용하여 EDTA 튜브에 채집하였다. 채집한 제대혈은 4℃에서 2,000 g, 8분간 원심분리하였다. 이후 상층액을 분리하여 1.25 cc 폴리에틸렌 튜브에 옮겨 담은 후 다음 검사 때까지 -70℃ 냉동고에 보관하였다. 제대혈 내 TNF- α , MMP-9 및 ICAM-3 농도의 측정은 Multiplex assay (Luminex Corp., Austin, TX, USA)를 이용하여 이루어졌다(고마바 이오텍, 서울, 한국). 제시된 측정치는 이중으로 검사한 것을 평균한 값이다.

자궁 내 염증의 유무는 태반조직검사를 통하여 결정하였다. 용모양막염은 용모막판 또는 용모양막에 급성 염증성 세포가 침윤되어 있는 경우로 정의하였다.¹⁵ 제대염은 탯줄의 혈관벽 혹은 Wharton's jelly에 호중구의 침윤이 있는 경우로 정의하였다. 조기양막파열은 조기 진통이 오기 전에 질 내 양수가 검출되는 경우로 정의하였고, 조기 진통은 30분 이상 10분 동안 최소 2회 이상의 규칙적인 진통이 있는 경우로 정의하였다. 고혈압은 자간전증, 자간증, 만성 고혈압을 모두 포함하는 모성 고혈압으로 정의하였다.

조사에 포함된 산모와 그 조산아의 임상적 자료는 병력지를 바탕으로 수집하였다. 산모의 경우, 임신주수, 나이, 분만 방식, 고혈압 또는 당뇨 등의 산모의 질환, 수술 적응증, 조기양막파열, 조기진통, 산전 스테로이드 및 항생제 사용 여부, 혈액 내 총 백혈구 수 등을 조사하였다. 조산아의 경우, 출생체중, 성별, 1분 및 5분 Apgar 점수, 인공환기요법 치료 기간, 신생아 호흡곤란증후군, 동맥관 개존, 뇌실 내 출혈, 뇌실 주위 백질연화증, 폐혈증, 괴사성 장염, 그리고 BPD 여부를 조사하였다. 신생아 호흡 곤란 증후군은 동맥혈 산소분압 50 mmHg 이상 유지하기 위하여 흡입산소농

도 0.4 이상의 산소 흡입 또는 인공환기요법을 필요로 하고 흉부 방사선 소견상 양측 폐야의 특징적 소견이 보이는 경우로 정의하였다. 동맥관 개존은 심초음파검사를 통하여 진단된 경우로 정의하였다. 뇌실 내 출혈 및 뇌실 주위 백질 연화증은 뇌초음파검사 소견에 따라 진단 분류하였고, 패혈증은 혈액배양 검사가 양성인면서 임상 증상이 나타나는 경우로 하였다. 괴사성 장염은 복부 방사선검사에서 낭성 장기종이 인지될 경우로 정의하였다. BPD는 미국국립보건원(National Institute of Health, NIH) 정의상 중등도 기관지폐 형성 이상에 해당되는 경우로 정의하였고,¹⁶ 교정연령 36주에도 nasal continuous positive pressure ventilation, high-flow nasal cannula 등의 보조요법이 지속적으로 필요한 경우에도 BPD로 간주하였다.

수집된 임상적 자료는 태반조직검사 결과 및 측정된 제대혈 내 TNF- α , MMP-9, ICAM-3의 농도와 상호 비교하였다. 본 연구와 관련한 프로토콜은 제주대학교병원 연구윤리심의위원회의 승인을 얻었으며, 사전에 보호자에게 문서화된 동의를 얻은 뒤 연구에 참여시켰다.

통계 분석을 위하여 SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)과 MedCalc 7.2 (MedCalc Software, Belgium)를 이용하였다. 연속형 변수에 대해서는 Student's *t*-test, Mann-Whitney *U*-test를 이용하였고, 구간형 변수에 대해서는 Chi-square test, Fisher's exact test를 이용하였다. 제대혈 내 염증성 매개물질의 농도 간의 상호 연관성 여부는 Spearman 상관분석을 이용하였다. 자궁 내 염증의 인지를 위한 최적의 결정치(cut-off value) 및 예측도 결정을 위하여 receiver operating characteristics (ROC) 곡선 분석을 이용하였다.

결 과

조사기간 동안 본원에서 출생한 제대연령 34주 이하의 조산아는 모두 231명이었고, 이 가운데 연구 참여에 동의하지 않았거나, 제대혈이 채집되지 않거나 혹은 선천성 기형 등의 이유로 배제된 조산아를 제외한 총 82명이 최종적으로 본 연구에 포함되었다. 조사에 포함된 82명 가운데 제왕절개술에 의하여 출생한 조산아는 71명(86.6%)이었고,

남아는 44명(53.7%), 부당 경량아는 20명(24.4%)이었으며, 쌍생아는 8쌍이었다. 조산아의 평균 제대연령과 출생체중은 각각 31.6주(24-34주), 1,703.7 g (600-2,910 g)이었다. 조사 대상 82명 가운데 신생아 호흡곤란증후군을 보였던 환아는 17명(20.7%), 교정연령 36주에 산소 투여가 필요하였던 중등도 이상의 BPD 진단을 받은 환아는 4명(5%)이었다. 뇌초음파검사에서 뇌실 주위 백질연화증으로 진단된 환아는 3명(3.7%)이었다. 입원 기간 중 폐출혈, 공기유출, 패혈증, 괴사성 장염, 심한 뇌출혈(grade III or IV)을 보인 환아는 없었고, 수술적 교정이 필요한 동맥관 개존 환아도 없었다. 입원 기간 중 전원된 1명을 포함하여 본 연구에 참여한 모든 조산아는 퇴원할 때까지 생존하였다. 제왕절개술의 주된 이유로는 제왕절개 재수술($n=17$), 자간전증 혹은 모성고혈압($n=15$), 전치태반/조기태반박리($n=13$), 둔위태위($n=9$), 다태아($n=9$), 태아절박가사($n=3$) 및 기타($n=5$) 순이었다. 조사 대상 전체 산모 가운데 조기양막파수는 19명(23.2%)이었고, 양막파수 없는 조기진통은 23명(28.1%), 조기양막파수 혹은 조기진통 가운데 하나라도 보인 경우는 40명(48.8%)이었다.

태반조직검사상 용모양막염은 22명(26.8%)이었고, 제대염은 5명(6.1%)이었다. 제대염의 경우 모두 용모양막염을 동반하고 있었으며, 제대염 없이 용모양막염만을 가지는 경우는 17명(21.0%)이었다. 용모양막염 없이 제대염을 단독으로 가지는 경우는 없었다.

먼저 용모양막염 또는 제대염 유무에 따라 조사 대상을 분류하고 이에 따른 산모와 조산아의 기본 정보 및 신생아 이환율을 비교하였다(Table 1). 용모양막염을 동반한 군의 산모는 그렇지 않은 군에 비하여 혈액 내 백혈구 수가 의미 있게 증가되어 있었고, 조기양막파수의 동반 및 항생제 사용이 보다 빈번하였다. 또한 용모양막염을 동반한 산모에서 출생한 조산아는 그렇지 않은 군에 비하여 제대연령 및 출생체중이 의미 있게 작았고 신생아 호흡 곤란 증후군의 빈도는 의미 있게 높았다. 그러나 BPD, 뇌실 주위 백질연화증의 발생 빈도는 두 군간의 의미 있는 차이가 없었다. 제대염을 동반한 군의 산모는 그렇지 않은 군에 비하여 혈액 내 백혈구 수가 의미 있게 증가되어 있었고, 산모 및 태아의 빈맥, 조기양막파수의 동반, 항생제 및 산전 dexamethasone

Table 1. Clinical characteristics of the study participants*

	CA (+) n=22	CA (-) n=60	P value [†]	FN (+) n=5	FN (-) n=77	P value [†]	BPD (+) n=4	BPD (-) n=78	P value [†]
Mother									
Cesarean section	16 (72.7)	55 (9.7)	NS	2 (40)	69 (89.6)	0.016	3 (75)	68 (87.2)	NS
Age (yr)	32.5±4.4	31.6±4.3	NS	30.4±5.0	31.9±4.3	NS	29.5±4.7	31.9±4.3	NS
Serum WBC	10,850.0±3,535.2	9,113.3±2,717.1	0.040	14,740.0±4,844	9,244.2±2,592.8	0.000	11,625.0±499.2	9,473.4±3,075.4	NS
Maternal tachycardia	10 (45.5)	25 (41.7)	NS	5 (100)	30 (39.0)	0.012	2 (50)	33 (42.3)	NS
Fetal tachycardia	12 (54.5)	20 (33.3)	NS	4 (80)	28 (36.4)	NS	2 (50)	30 (38.5)	NS
Funisitis	5 (22.7)	0 (0)	0.001	-	-	-	1 (25)	4 (5.1)	NS
Chorioamnionitis	-	-	-	5 (100)	17 (22.1)	0.001	1 (25)	21 (26.9)	NS
Antibiotics use	11 (50.0)	11 (18.3)	0.010	4 (80)	18 (23.4)	0.017	1 (25)	21 (26.9)	NS
Dexamethasone use	12 (54.5)	19 (31.7)	NS	5 (100)	26 (33.8)	0.006	3 (75)	28 (35.9)	NS
PPROM	11 (50.0)	8 (13.3)	0.001	4 (80)	15 (19.5)	0.009	1 (25)	18 (23.1)	NS
PTL with intact membrane	7 (31.8)	16 (26.7)	NS	1 (20)	22 (28.6)	NS	1 (25)	22 (28.2)	NS
PIH & others	3 (13.6)	13 (21.7)	NS	0 (0)	1 (1.3)	NS	1 (25)	14 (17.9)	NS
Preterm Infant									
Gestational age (week)	31.3±3.1	33.1±2.3	0.012	29.6±3.4	32.8±2.5	0.010	26.3±1.7	32.9±2.3	0.001
Birth weight (g)	1,670.0±419.8	1,852.7±517.1	NS	1,634.0±546.6	1,814.7±495.6	NS	840.0±209.9	1,853.1±455.5	0.001
Male	11 (50.0)	27 (45.0)	NS	3 (60)	35 (45.5)	NS	2 (50)	36 (46.2)	NS
SGA	13 (92.9)	24 (54.5)	0.020	5 (100)	32 (60.4)	NS	1 (33.3)	19 (34.5)	NS
Apgarscore at 1 min	6.6±1.6	7.0±1.6	NS	6.7±1.6	7.0±1.7	NS	5.0±0.8	6.8±1.6	0.016
Apgarscore at 5 min	8.2±1.1	8.5±0.9	NS	8.2±1.0	8.8±0.4	NS	7.8±0.5	8.3±1.0	NS
RDS	9 (40.9)	8 (13.3)	0.012	2 (40)	15 (19.5)	NS	4 (100)	13 (16.7)	0.001
BPD36 (+)	1 (4.5)	3 (5.0)	NS	1 (20)	3 (3.9)	NS	4 (100)	3 (3.8)	0.001
PDA	4 (18.2)	4 (6.7)	NS	2 (40)	6 (7.8)	NS	1 (25)	7 (9.0)	NS
PVL	2 (9.1)	1 (1.7)	NS	0 (0)	3 (3.9)	NS	0 (0)	3 (3.8)	NS

Abbreviation: CA, chorioamnionitis; FN, funisitis; BPD, bronchopulmonary dysplasia

*No NEC, sepsis, pneumothorax, pulmonary hemorrhage, severe intraventricular hemorrhage (grade III or IV) and PDA requiring an operative correction were reported.

[†]Mann-Whitney U test or Fisher's exact test.

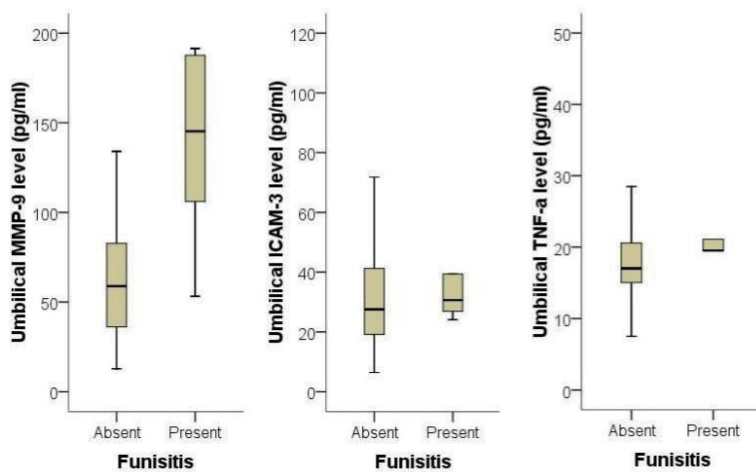


Fig. 1. Comparison of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), intercellular adhesion molecule-3 (ICAM-3) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) level in umbilical cord blood according to the presence or absence of funisitis. Infants from mother with funisitis had a significantly higher level of MMP-9 than those without funisitis ($P=0.007$).

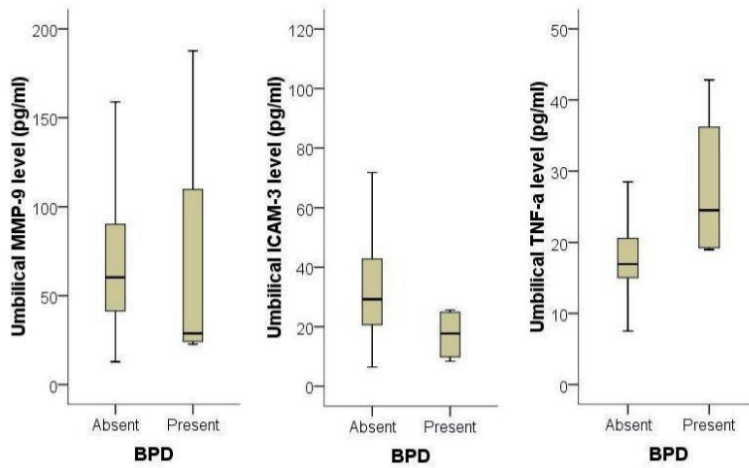


Fig. 2. Comparison of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), intercellular adhesion molecule-3 (ICAM-3) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) level in umbilical cord blood according to the presence or absence of bronchopulmonary dysplasia (BPD). Infants with BPD had a significantly higher level of TNF- α than those without funisitis ($P=0.030$). Although the median level of ICAM-3 in infants with BPD was lower than those without BPD, there was no statistical significance when the gestational age was adjusted as a cofounding factor.

의 사용이 보다 빈번하였다. 또한 제대염을 동반한 산모에서 출생한 조산아는 그렇지 않은 군에 비하여 재태연령이 통계적으로 의미 있게 작았다. 그러나 출생체중, 신생아 호흡 곤란 증후군, BPD, 뇌실 주위 백질연화증은 두 군간의 의미 있는 차이가 없었다.

다음은 용모양막염 또는 제대염 유무에 따른 조산아의 제대혈 내 TNF- α , MMP-9, ICAM-3의 측정치를 상호 비교하였다(Fig. 1). 먼저 용모양막염의 유무에 따른 구분에서는 제대혈 내 TNF- α , MMP-9, ICAM-3의 농도에 상호 유의한 차이가 없었다($P=0.623$ for TNF- α , $P=0.402$ for MMP-9, $P=0.612$ for ICAM-3). 그러나 제대염의 유무에 따른 구분에서는 제대혈 내 MMP-9의 농도가 제대염이 있었던 군에서 그렇지 않은 군에 비하여 유의하게 증가되어 있었다(137.72 ± 58.26 vs 65.29 ± 36.62 pg/mL, $P=0.007$). 제대혈 내 ICAM-3, TNF- α 농도는 제대염 유무에 따른 유의한 차이가 없었다($P=0.373$ for ICAM-3, $P=0.168$ for TNF- α).

조산아의 BPD 여부에 따라 제대혈 내 TNF- α , MMP-9, ICAM-3의 측정치를 상호 비교하였다(Fig. 2). 그 결과, 제대혈 내 TNF- α 농도는 BPD가 발생하였던 군에서 그

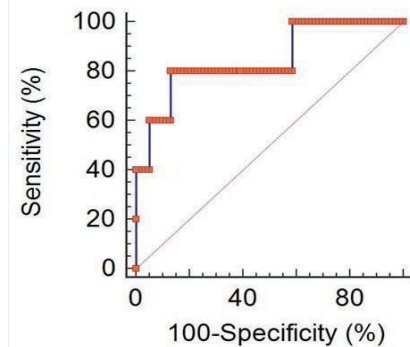


Fig. 3. Receiver operating characteristic curves for identification of the presence of funisitis. Area under the curve for umbilical matrix metalloproteinase-9 level: 0.847 (95% confidence interval: 0.750-0.917, $P=0.0019$).

렇지 않은 군에 비하여 유의하게 증가되어 있었다(27.71 ± 11.17 vs. 18.28 ± 5.60 , $P=0.030$). 제대혈 내 ICAM-3의 농도는 BPD가 발생하였던 군에서 그렇지 않은 군에 비하여 유의하게 감소되어 있었다. 그러나 ICAM-3의 농도는 재태연령과 높은 연관성을 가지고 있었으므로($P=0.001$), 이를 보정하였더니 통계적 유의성은 없어졌다. MMP-9의 농도 역시 BPD의 발생 여부와 연관성이 없었다($P=0.251$).

다음은 제대혈 내 TNF- α , MMP-9, ICAM-3 농도의 상호 연관성에 대해 조사하였다. 그 결과, MMP-9과 ICAM-3 농도 사이에는 밀접한 연관성이 있는 반면 ($P=0.0001$), MMP-9과 TNF- α , 그리고 ICAM-3와 TNF- α 농도 사이에는 통계적으로 유의한 연관성이 없었다 ($P=0.850$ for MMP-9 vs. TNF- α , $P=0.779$ ICAM-3 vs TNF- α).

제대혈 내 MMP-9과 제대염에 대한 ROC curve 분석을 시행하였다(Fig. 3). 제대염 예측을 위한 제대혈 내 MMP-9 농도의 최적의 결정치는 99.42 pg/mL였고, 이때 민감도 80.0% (95% CI, 28.4-99.5), 특이도 87.0% (95% CI, 77.4-93.6), 양성예측도 28.6% (95% CI, 8.4-58.1) 음성 예측도 98.5% (95% CI, 92.1-100.0)였다. ROC 곡선 아래 면적은 0.847 (SE 0.112; 95% CI, 0.750-0.917)의 값을 보여서 변별력이 높은 검사임을 알 수 있었다.

고 찰

본 연구는 염증성 매개물질 가운데 하나인 TNF- α , MMP-9, ICAM-3가 제대염과 같은 자궁 내 염증과 관련이 있는지, 그리고 조산아의 주요 이환율 가운데 하나인 BPD와 연관성을 가지는지 살펴보고자 한 것이다. 분석 결과에서 나타난 바와 같이, 제대혈 내 MMP-9의 농도는 제대염과 밀접한 연관성을 가지고 있었다. 그리고 높은 정확성과 예측도를 가지고 있었다.

Matrix metalloproteinase는 IL-6, IL-8, TNF- α 등과 같은 염증전(pro-inflammatory) 사이토카인에 반응하여 탈락막, 태아막, 양수 등에서 분비되는 아연-의존성 효소계 물질로서, 혈관형성, 세포이동, 골발달 등의 정상적인 생리적 과정에서 세포외기질의 분해(breakdown)에 관여하며, 자궁 내에서는 양막 및 융모막의 세포외기질의 분해로 인하여 조산에 중요한 구실을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁷ Matrix metalloproteinase 중에서도 MMP-2, MMP-9은 양막과열에, 그리고 MMP-8은 양막 내 염증 기전에 관여하는 것으로 알려져 있다.^{12,18-20} 그런데 일부 연구에서 MMP-9 역시 자궁 내 염증이나 신생아 이환율

과 연관이 있다고 보고하고 있다. Fukunaga 등²¹은 제대연령 30주 미만의 조산아를 대상으로 제대혈 내 MMP-9의 농도를 측정하였더니 용모양막염과 유의한 연관성이 있었다고 보고하였고, Oh 등²²은 양수 내 MMP-9 농도의 측정은 양막강 내 감염을 진단하는데 있어 양수의 IL-6나 산모 혈청의 C-반응 단백보다 그 가치가 높다고 하였다. 본 논문의 결과가 기존의 문헌과 다른 점은, 제대혈 내 MMP-9의 증가는 용모양막염보다는 제대염과 연관성이 높았다는 것이다.

제대혈 내 염증성 매개물질의 증가가 용모양막염보다는 제대염과 관련이 있다는 과거 연구는 다수 있다. 그러나 MMP-9의 역할에 대하여 기술한 과거의 문헌들은 주로 조기 진통과의 관련성에 대한 연구였고, 연구대상이 된 검체는 산모의 혈액, 소변, 양수 등이 대부분이었다.²³⁻²⁵ 따라서 제대혈 내 MMP-9과 제대염의 관계를 연구한 다른 문헌이 거의 없는 실정이며, 다만, Leviton 등²⁶의 문헌에서 태아염증반응에 노출된 조산아는 출생 후에도 지속적인 염증반응을 보이는데 이 때 조산아 혈액 내 ICAM-3, MMP-9이 관련이 있었다고 보고하고 있는 정도이다. 따라서 본 연구에서는 MMP-9 역시 태아염증반응에 있어서 주요 염증성 매개물질로서 어떤 역할을 할 수 있음을 시사하는 결과를 보여주고 있다고 판단된다.

본 연구에서 조산아의 BPD 발생과 제대혈 내 MMP-9은 의미 있는 연관성이 없었고, ICAM-3 역시 제대연령을 보정하였을 때 그 유의성이 사라졌다. MMP-9과 BPD 발생의 연관성을 조사한 과거의 문헌은 여럿 있으나 연구자마다 조금씩 다른 결과를 보고하고 있다. Curley 등²⁷은 생후 7일 이하의 조산아에서 기관지폐포 세척액 내 MMP-9 농도를 측정하였더니 용모양막염과 연관이 있었고, 용모양막염 군의 조산아에서 BPD의 빈도가 상대적으로 높았으므로 MMP-9이 BPD의 병리기전에 관여할 것이라고 보았다. 그러나 Fukunaga 등²¹은 MMP-9 단독보다는 오히려 MMP-9/TIMP-1의 비가 BPD 발생과 관련이 있다고 하였고, Cederqvist 등²⁸은 MMP-8은 BPD군에서 유의하게 증가되어 있으나 MMP-9은 별다른 차이가 없었다고 보고하고 있다. 이처럼 자궁 내 염증과 밀접한 연관성이 있는 MMP-9이 주요 신생아 이환율 가운데 하나인 BPD와

관련이 있는 가에 대한 의문에 대해서는 대부분의 연구에서 아직까지 부정적이다.^{29,30} 따라서 향후 보다 많은 연구자에 의한 추가적인 연구가 진행되기를 기대한다.

내피성 부착 분자(endothelial adhesion molecule)는 혈관 내 백혈구가 염증이 있는 위치로 이동하는데 아주 중요한 구실을 하는데, 이 가운데 세포간 부착 분자(intercellular adhesion molecule)는 IL-6, IL-8, TNF- α 와 같은 염증성 사이토카인에 의하여 상향조절(upregulation)되어 백혈구 표면에 있는 leukocyte function antigen-1 (LFA-1)과 결합하는 일을 담당한다.³¹ 도메인의 구조에 따라 ICAM-1에서 -5까지 5종이 존재하며, ICAM-1 이 림프구나 내피세포 등의 많은 세포 형태에 존재하는 반면,³² ICAM-3는 백혈구에만 존재하면서 염증반응으로 인한 LFA-1 매개 T세포간 작용에 있어 LFA-1의 형태학적 변화를 유도함으로써 ICAM-1의 부착 및 신호전달을 공고히 하는 역할을 한다.³³ 자궁 내 염증과 세포간 부착 분자와의 연관성을 조사한 이전 연구들은 주로 ICAM-1에 집중되어 있고 ICAM-3는 관련 문헌이 거의 없다.³⁴⁻³⁶ ICAM과 BPD간의 연관성에 대한 연구 역시 상황은 비슷하다. Kojima 등³⁷이 기관지 흡입액 내 ICAM-1의 농도가 증가되어 있는 조산아는 향후 BPD로 이환될 수 있는 확률이 높다고 발표한 이후, 몇몇 일부 연구에서 조산아의 혈액 또는 제대혈 내 ICAM-1 농도의 증가와 BPD 발생이 연관되어 있음을 보고하였다. 그러나 현재까지 ICAM-3와 BPD간의 연구는 거의 없는 실정이다. 비록 본 연구에서 제대혈 내 ICAM-3의 농도가 제대염이나 BPD와 별다른 유의성이 없는 것으로 나타났지만, 향후 제대혈 내 ICAM-3와 자궁 내 염증 및 신생아 이환율에 대하여 추가적이고 지속적인 연구와 관심이 필요하다고 판단된다.

본 연구는 다음과 같은 이유로 몇 가지 제한점을 가진다. 우선 조사대상에 포함된 조산아는 조사 기간 중 출생한 전체 조산아의 35.5%에 불과하였고 주로 제왕절개술에 의하여 출생하였으므로 선택오차가 있을 수 있다. 따라서 본 연구에서의 결과를 모집단에 확대하여 적용하기에 다소 제한적일 수 있다. 둘째, 조사 대상 가운데 신생아 패혈증, 괴사성 장염, 수술적 교정이 필요한 동맥관 개존이 있었던 환자가 없었고 제대염, BPD, 뇌실 주위 백색연화증 등의 주요

신생아 질환의 유병률이 낮았던 관계로 이들 신생아 질환과 제대혈 내 염증성 매개물질의 농도 혹은 태반조직검사 결과 간의 연관성에 대한 통계적 유의성을 따지기에는 다소 부족한 면이 있다. 이러한 문제점들은 향후 보다 많은 수의 환자 수가 확보되거나 일정 유병률 이상의 집단을 대상으로 좀 더 체계적인 분류를 통하여 극복해야 하는 부분이라 판단한다. 또한 본 연구에서는 일반적으로 태아염증반응의 지표로 흔히 이용되는 양수 내 염증성 매개물질의 농도 및 양수배양검사 결과는 제시하지 않았다. 이는 대상 환자 가운데 양수가 채집된 환자의 수가 통계적 의의를 보여 주기에 많이 모자랐고, 통상적인 양수배양검사의 양성율이 지나치게 낮아서 자궁 내 감염을 증명하기에 신뢰성이 지나치게 떨어지기 때문이었다.³⁸ 그러나 이상과 같은 제한점에도 불구하고, 제대혈 내 MMP-9과 제대염 간의 통계 분석에 따른 결과 등은 그 유의성을 강조하기에 부족함이 없다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 제주대학교병원 연구비(2013-13)로 수행되었습니다.

References

- 1) Shim SS, Romero R, Hong JS, Park CW, Jun JK, Kim BI, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1339-45.
- 2) Romero R, Mazor M. Infection and preterm labor. *Clin Obstet Gynecol* 1988;31:553-84.
- 3) Gomez R, Romero R, Edwin SS, David C. Pathogenesis of preterm labor and preterm premature rupture of membranes associated with intraamniotic infection. *Infect Dis Clin North Am* 1997;11:135-76.
- 4) Arntzen KJ, Kjollesdal AM, Halgunset J, Vatten L, Austgulen R. Tnf, il-1, il-6, il-8 and soluble tnf receptors in relation to chorioamnionitis and premature labor. *J Perinat Med* 1998;26:17-26.
- 5) Saito S, Kasahara T, Kato Y, Ishihara Y, Ichijo M. Elevation of amniotic fluid interleukin 6 (il-6), il-8 and granulocyte

- colony stimulating factor (g-csf) in term and preterm parturition. *Cytokine* 1993;5:81-8.
- 6) Romero R, Mazor M, Sepulveda W, Avila C, Copeland D, Williams J. Tumor necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1576-87.
- 7) Tanaka Y, Narahara H, Takai N, Yoshimatsu J, Anai T, Miyakawa I. Interleukin-1beta and interleukin-8 in cervico-vaginal fluid during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:644-9.
- 8) Winkler M, Fischer DC, Hlubek M, van de Leur E, Haubeck HD, Rath W. Interleukin-1beta and interleukin-8 concentrations in the lower uterine segment during parturition at term. *Obstet Gynecol* 1998;91:945-9.
- 9) Tita AT, Andrews WW. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol* 2010;37:339-54.
- 10) Kim CJ, Yoon BH, Park SS, Kim MH, Chi JG. Acute funisitis of preterm but not term placentas is associated with severe fetal inflammatory response. *Hum Pathol* 2001;32:623-9.
- 11) Kashlan F, Smulian J, Shen-Schwarz S, Anwar M, Hiatt M, Hegyi T. Umbilical vein interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha plasma concentrations in the very preterm infant. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:238-43.
- 12) Andrys C, Drahosova M, Hornychova H, Tambor V, Musilova I, Tosner J, et al. Umbilical cord blood concentrations of il-6, il-8, and mmp-8 in pregnancy complicated by preterm premature rupture of the membranes and histological chorioamnionitis. *Neuro Endocrinol Lett* 2010;31:857-63.
- 13) Yoon BH, Romero R, Yang SH, Jun JK, Kim IO, Choi JH, et al. Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1433-40.
- 14) Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim M, Oh SY, Kim CJ, et al. The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1124-9.
- 15) Salafia CM, Weigl C, Silberman L. The prevalence and distribution of acute placental inflammation in uncomplicated term pregnancies. *Obstet Gynecol* 1989;73:383-9.
- 16) Kinsella JP, Greenough A, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet* 2006;367:1421-31.
- 17) Weiss A, Goldman S, Shalev E. The matrix metalloproteinases (mmps) in the decidua and fetal membranes. *Front Biosci* 2007;12:649-59.
- 18) Romero R, Espinoza J, Goncalves LF, Kusanovic JP, Friel L, Hassan S. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Semin Reprod Med* 2007;25:21-39.
- 19) Park CW, Yoon BH, Park JS, Jun JK. A fetal and an intra-amniotic inflammatory response is more severe in preterm labor than in preterm prom in the context of funisitis: Unexpected observation in human gestations. *PLoS One* 2013;8:e62521.
- 20) Park JS, Romero R, Yoon BH, Moon JB, Oh SY, Han SY, et al. The relationship between amniotic fluid matrix metalloproteinase-8 and funisitis. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:1156-61.
- 21) Fukunaga S, Ichiyama T, Maeba S, Okuda M, Nakata M, Sugino N, et al. Mmp-9 and timp-1 in the cord blood of premature infants developing bpd. *Pediatr Pulmonol* 2009; 44:267-72.
- 22) Oh KJ, Park KH, Kim SN, Jeong EH, Lee SY, Yoon HY. Predictive value of intra-amniotic and serum markers for inflammatory lesions of preterm placenta. *Placenta* 2011;32:732-6.
- 23) Makrakis E, Grigoriou O, Kouskouni E, Vitoratos N, Salamalekis E, Chatzoudi E, et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in plasma/serum and urine of women during term and threatened preterm labor: A clinical approach. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2003;14:170-6.
- 24) Koucky M, Germanova A, Kalousova M, Hill M, Cindrova-Davies T, Parizek A, et al. Low maternal serum matrix metalloproteinase (mmp)-2 concentrations are associated with preterm labor and fetal inflammatory response. *J Perinat Med* 2010;38:589-96.
- 25) Maymon E, Romero R, Pacora P, Gervasi MT, Gomez R, Edwin SS, et al. Evidence of in vivo differential bio-availability of the active forms of matrix metalloproteinases 9 and 2 in parturition, spontaneous rupture of membranes, and intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:887-94.
- 26) Leviton A, Hecht JL, Allred EN, Yamamoto H, Fichorova RN, Dammann O. Persistence after birth of systemic inflammation associated with umbilical cord inflammation. *J Reprod Immunol* 2011;90:235-43.
- 27) Curley AE, Sweet DG, Thornton CM, O'Hara MD, Chesshyre E, Pizzotti J, et al. Chorioamnionitis and increased neonatal lung lavage fluid matrix metalloproteinase-9 levels: Implications for antenatal origins of chronic lung disease. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:871-5.
- 28) Cederqvist K, Sorsa T, Tervahartiala T, Maisi P, Reunanen K, Lassus P, et al. Matrix metalloproteinases-2, -8, and -9 and timp-2 in tracheal aspirates from preterm infants with

- respiratory distress. *Pediatrics* 2001;108:686-92.
- 29) Sweet DG, Curley AE, Chesshyre E, Pizzotti J, Wilbourn MS, Halliday HL, et al. The role of matrix metalloproteinases -9 and -2 in development of neonatal chronic lung disease. *Acta Paediatr* 2004;93:791-6.
 - 30) Sadowsky DW, Adams KM, Gravett MG, Witkin SS, Novy MJ. Preterm labor is induced by intraamniotic infusions of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha but not by interleukin-6 or interleukin-8 in a nonhuman primate model. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:1578-89.
 - 31) Radi ZA, Kehrl ME, Jr., Ackermann MR. Cell adhesion molecules, leukocyte trafficking, and strategies to reduce leukocyte infiltration. *J Vet Intern Med* 2001;15:516-29.
 - 32) Dustin ML, Rothlein R, Bhan AK, Dinarello CA, Springer TA. Induction by il 1 and interferon-gamma: Tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule (icam-1). *J Immunol* 1986;137:245-54.
 - 33) Bleijs DA, Binnerts ME, van Vliet SJ, Figdor CG, van Kooyk Y. Low-affinity lfa-1/icam-3 interactions augment lfa-1/icam-1-mediated t cell adhesion and signaling by redistribution of lfa-1. *J Cell Sci* 2000;113 (Pt 3):391-400.
 - 34) Steinborn A, Sohn C, Scharf A, Geka F, Heger S, Kaufmann M. Serum intercellular adhesion molecule-1 levels and histologic chorioamnionitis. *Obstet Gynecol* 2000;95:671-6.
 - 35) D'Alquen D, Kramer BW, Seidenspinner S, Marx A, Berg D, Groneck P, et al. Activation of umbilical cord endothelial cells and fetal inflammatory response in preterm infants with chorioamnionitis and funisitis. *Pediatr Res* 2005;57:263-9.
 - 36) Mercer BM, Crouse DT, Goldenberg RL, Miodovnik M, Mapp DC, Meis PJ, et al. The antibiotic treatment of ppprom study: Systemic maternal and fetal markers and perinatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:145 e141-9.
 - 37) Kojima T, Sasai M, Kobayashi Y. Increased soluble icam-1 in tracheal aspirates of infants with bronchopulmonary dysplasia. *Lancet* 1993;342:1023-4.
 - 38) Watts DH, Krohn MA, Hillier SL, Eschenbach DA. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet Gynecol* 1992;79:351-7.

= 국 문 초 록 =

목적: 용모양막염, 제대염 등의 자궁 내 염증은 조산의 주된 요인이다. 과거 문헌에서 MMP-9, ICAM-1 등은 자궁 내 염증과 관련이 있다고 알려져 있지만, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), intercellular adhesion molecule-3 (ICAM-3)는 그 연관성이 아직까지 충분히 조사되어 있지 않은 상태이다. 저자들은 제대혈 내 tumor necrosis factor- α (TNF- α), MMP-9, ICAM-3의 농도가 용모양막염, 제대염, 그리고 기관지폐 형성 이상(bronchopulmonary dysplasia, BPD)와 연관이 있는지 조사하였다.

방법: 82쌍의 제대연령 35주 미만의 조산아와 그 산모를 조사 대상으로 하였다. 면역분석법을 이용하여 제대혈 내 TNF- α , MMP-9, ICAM-3의 농도를 측정하고, 그 결과를 태반조직검사 결과 및 조산아와 산모의 임상 자료와 비교 분석하였다.

결과: 제대혈 내 MMP-9의 농도는 제대염을 보였던 군에서 통계적으로 의미 있는 증가를 보였다($P=0.007$). 제대혈 내 TNF- α 의 농도는 BPD군에서 통계적으로 의미 있는 증가를 보였다($P=0.030$). 제대혈 내 ICAM-3의 농도는 BPD군에서 유의한 차이를 보였으나 제대연령을 보정하였을 때는 이러한 유의성이 사라졌다. 제대염 예측을 위한 ROC 곡선 분석에서 제대혈 내 MMP-9의 예측도는 0.847 (standard error, 0.112; 95% confidence interval, 0.750-0.917)이었고, 최적의 결정치는 99.42 pg/mL이었다.

결론: 제대혈 내 MMP-9농도의 측정은 조산아가 태아염증반응에 노출되었는지 예측할 수 있는 좋은 도구가 될 수 있을 것이라 판단된다. 향후 좀더 많은 수를 대상으로 자궁 내 염증과 신생아 이환율에 대한 보다 명확한 연관성 조사가 필요하다고 판단된다.

중심 단어: 제대혈, 용모양막염, 제대염, 기관지폐 형성 이상, 알파 종양괴사인자, 기질 금속단백질분해효소, 세포간유착 분자