ORIGINAL ARTICLE
Korean J Obstet Gynecol 2011;54:26-36
doi: 10.5468/KJOG.2011.54.1.26
pISSN 2233-5188 · eISSN 2233-5196

KOREAN JOURNAL OF OBSTETRICS & GYNECOLOGY

MATERNAL SERUM LEVELS OF C-REACTIVE PROTEIN AND PLACENTAL LEVELS OF IL-6, LIPID PEROXIDE, AND PROTEIN CARBONYL IN PRETERM BIRTH ACCORDING TO HISTOLOGIC CHORIOAMNIONITIS

Dae-Seok Yoon, MD[1], Yoon Ha Kim, MD[1], Chul Hong Kim, MD[1], Moon Kyoung Cho, MD[1], Jong Woon Kim, MD[1], Hye Yon Cho, MD[1], Seok Mo Kim, MD[1], Woo Dae Kang, MD[1], Ki Ho Lee, MD[2], Tae-Bok Song, MD[1]

[1]Department of Obstetrics and Gynecology, Chonnam National University Medical School, Gwangju;
[2]Department of Obstetrics and Gynecology, Seonam University College of Medicine, Namwon, Korea

Objective
To evaluate predictive value of maternal serum white blood cells (WBCs), C-reactive protein (CRP) levels, placental interleukin-6 (IL-6), lipid peroxide, and protein carbonyl levels in preterm birth according to histologic chorioamnionitis (HCA).

Methods
This cohort study included 45 cases of preterm delivery with preterm labor and intact membranes (preterm labor [PTL] group; n=16) and preterm premature rupture of membranes (preterm premature rupture of membranes [PPROM] group; n=29). Blood samples at admission and placental sample at postpartum were collected. HCA was diagnosed in the presence of neutrophils infiltration into the subamnionic space.

Results
The incidence of HCA was significantly higher in PPROM group than PTL group. Maternal serum WBC and CRP levels at admission, and placental IL-6, lipid peroxide, and protein carbonyl levels in HCA group were significantly higher than group without HCA. Maternal serum CRP levels at admission, and placental IL-6, lipid peroxide, and protein carbonyl levels of PPROM group with HCA were significantly higher than PPROM group without HCA. Maternal serum CRP levels at admission of 7 days and more latency period (n=14) were significantly lowered than those of less than 7 days latency period (n=15). The cut-off points of CRP determined with the receiver operating characteristic curves was 0.875 mg/dL. Perinatal morbidity such as respiratory distress syndrome, intraventricular hemorrhage, pneumonia in HCA group was significantly higher than group without HCA.

Conclusion
Maternal serum CRP on admission may be possible a predictor for duration of the latency period in PPROM.

Keywords: Preterm birth, Histologic chorioamnionitis, C-reactive protein, Lipid peroxides, Protein carbonyls

조기 분만은 임신 37주 이전에 태아를 분만하는 것으로 우리나라에서는 최근에 매년 약 5만 명의 신생아가 조기 분만하는 것으로 추산되고 있고, 발생률은 지속적으로 증가하고 있다[1]. 이는 전체 분만의 약 4–8%에 해당하며, 조기 분만으로 인한 저체중아는 신생아 호흡곤란 증후군, 폐렴, 기관지–폐 이형성증, 패혈증, 뇌실 내 출혈 및 괴사성 장염과 같은 조산아 합병증과 주산기 사망 원인의 70% 이상에서 연관이 있다[2].

조기 분만의 대부분을 차지하는 원인은 조기 진통(preterm labor)과 만삭 전 조기양막파열(preterm premature rupture of membranes)이다. 따라서 주산기 이환율과 사망률을 줄이기 위해서는 조기 진통과 만삭

Received: 2010. 11. 5. Accepted: 2010. 12. 14.
Corresponding author: Yoon Ha Kim, MD, PhD
Department of Obstetrics and Gynecology,
Chonnam National University Medical School, 8 Hag-dong, Dong-gu, Gwangju 501-190, Korea
Tel: +82-62-220-6375 Fax: +82-62-227-1637
E-mail: kimyh@chonnam.ac.kr

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 © 2011. Korean Society of Obstetrics and Gynecology

전 조기양막파열을 적절히 치료하고 예방하는 것이 중요하지만, 그 원인과 발생기전은 매우 다양하며 아직까지 명확하게 밝혀지고 있지 않다. 다만 조기 분만의 원인으로 자궁 내 감염(intrauterine infection)이 연관되어 있다고 알려져 있다[3].

자궁 내 감염은 조기 분만의 원인이며 태아의 감염을 일으켜 태아패혈증의 위험인자로 알려져 있다. 따라서 자궁 내 감염을 조기에 적절히 진단함으로써 태아와 산모의 합병증을 줄일 수 있다[4]. 제대에서의 염증성 반응은 융모나 양막에서의 염증 세포의 발견과 비교해서 좀 더 신뢰할만한 태아의 감염 소견이다[5]. 제대염(funisitis)은 양수 내 감염, 선천성 신생아 패혈증 및 태아감염과 관련되어 있다[6].

자궁 내 감염은 인터류킨(interleukin [IL])-6와 같은 염증성 사이토카인(cytokine)의 생성 및 분비를 촉진시킨다[7-9]. IL-6는 분자량 26 kDa의 당단백으로 여러 다른 세포에 작용하는 pleotropic cytokine이며 단핵구 식세포(mononuclear phagocyte), 내피세포(endothelial cell), 섬유아 세포(fibroblast), 탈락막(decidua), 융모막(chorion), 양막(amnion) 및 영양막(trophoblastic cell)에 의해서 생성된다. 이는 체내의 염증반응에 대한 매개체 역할을 하며 다른 사이토카인 및 프로스타글란딘(prostaglandin)과 함께 고열을 유발한다. 자궁 내 감염이 있는 조기진통 임신부의 양수에서 IL-6의 증가 소견이 발견된다[10]. 이러한 염증성 반응은 또한 체내에서 산화 유리기를 생성하게 되며, 지질과산화반응을 일으킨다. 산화 유리기는 산화적 스트레스를 더욱 악화시키고 결국 양막을 구성하는 교원질을 분해하는 효소의 생성을 증가시켜 양막에 손상을 준다[11]. 단백질 활성 산소종에 노출되면 여러 가지 변화가 일어나며 특히 라이신(lysine), 아르지닌(arginine) 및 프롤린(proline)기는 카르보닐(carbonyl)기를 형성한다[12]. 단백질의 아미노산에서 카르보닐기의 형성은 단백산화변화의 지표로서, 이를 측정함으로써 산화변화의 정도를 나타낼 수 있다[13].

융모양막염은 산과적으로 매우 흔한 질환이며, 신생아의 주산기 합병증 및 신생아 사망의 선행요인으로 작용할 수 있다. 양막과 양수의 감염은 여러 가지 세균들에 의해 야기되며, 조기진통과 조기양막파열의 일부를 이러한 기전으로 설명할 수 있다. 분만 후 태반에서의 조직학적 검사에서 조직학적 융모양막염(histologic chorioamnionitis)은 흔한 소견으로 조기양막파열의 경우 자주 관찰된다. 이는 신생아의 심각한 합병증인 신생아 패혈증, 기관지 폐이형성증, 뇌실주위 백질연화증, 뇌성마비 및 신생아 사망과 밀접한 상관관계를 보이는 것으로 알려져 있다[14-16]. 하지만 조직학적 융모양막염은 분만 후 태반에 대한 조직학적 검사가 시행된 후에 진단되기 때문에 임신 중이나 분만 후 신생아에 대해 조기에 적절히 치료하는 데 도움이 되지 않는다.

C-반응성 단백질(C-reactive protein, CRP)는 간에서 분비되는 급성기 단백질로서 염증반응이 있을 때 증가하며, 감염에 특이적이지는 않지만 많은 염증성, 감염, 악성질환의 표식자로 이용되고 있다. 증상이 없는 임상적 융모양막염의 조기 진단에서 C-반응성 단백질의 유용성에 대해서는 논란이 있다[17].

본 연구는 조기 분만한 산모에서 입원 시 임신부 혈액 백혈구, 혈청 내 C-반응성 단백질과 태반 내 염증성 사이토카인, 지질과산화물 및 단백산화물을 측정하여 분만 후 양막파열 유무와 조직학적 융모양막염 유무에 따른 측정값을 비교하고, 조기 분만의 병태생리 및 신생아 이환율과 어떠한 연관관계가 있는지를 알아보고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본 연구는 전남대학교병원에 내원한 임신부를 대상으로 하여, 임신주수 37주 이전에 분만한 경우에서, 양막파열 없이 조기진통으로 분만한 조기분만군 16명, 만삭 전 조기양막파열이 있어 분만한 양막파열군 29명을 대상으로 하였다(Fig. 1).

임신주수의 결정은 월경력이 규칙적인 경우 최종 월경 초일을 기준으로 하였고, 월경력이 불규칙하거나 최종월경초일이 확실하지 않은 경우는 임신 초기의 임신반응검사, 초음파 소견, 또는 임상적 검사소견을 기초로 산정하였다. 만삭 전 조기양막파열은 임신 37주 이전에 진통 전 양막이 파열된 경우로 정의하였다. 양막의 파열은 질강 내 양수의 확인과 nitrazine 용지의 반응, 자궁경부점액의 양치화 검사법(fering test)을 이용하였다.

2. 방법

1) 임신부 혈액 백혈구와 혈청 내 고감도 C-반응성 단백질 측정

입원 직후 상완정맥에서 정맥혈을 채취하여 백혈구와 C-반응성 단백질을 측정하였다. 혈청 고감도 C-반응성 단백질(high sensiivity [hs]-CRP)은 CRP-Latex (II) X2 (Denka-Seiken, Tokyo, Japan) 시약과 Advia 1650 (Bayer, Tarrytown, NY, USA) 기계를 이용하여 라텍스 응집법(latex agglutination)으로 측정하였는데, 측정 가능 범위는 0.01-32 mg/dL였으며 참고치는 0.3 이하였다. 항 CRP항체를 흡착시킨 라텍스 입자와 검체를 반응시키면 검체 중의 C-반응성 단백질과 라텍스 입자

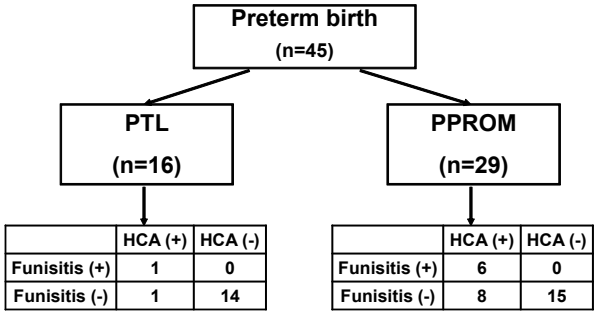

Fig. 1. Flowsheet of patient enrollment. PTL, preterm labor with intact membranes; PPROM, preterm premature rupture of membranes; HCA, histologic chorioamnionitis.

에 흡착된 항체가 항원항체 반응을 일으켜 라텍스 입자가 응집한다. 이 응집반응을 파장 572 nm의 흡광도 변화로써 보았을 때, 그 변화량은 검체 중의 C-반응성 단백질 농도에 비례하므로 농도를 알고 있는 표준을 이용해서 검량선을 작성하여 검체 중의 C-반응성 단백질 농도를 구하였다.

2) 태반조직 균질액 채취

분만 직후 태반조직(2 g)을 채취하여 바로 액화질소에 냉동시켜서 -70℃에서 보관하였다. 냉동된 태반조직을 해동시키고, pH 7.4의 0.15 M KCl을 포함하는 potassium phosphate buffer 2배 용량에 넣고 4℃에서 Teflon-glass 균질화기를 이용하여 균질화시킨 다음 3,000×g, 4℃에서 10분간 원심하여 그 상층액을 태반조직 균질액으로 사용하였다.

3) IL-6 측정

IL-6은 태반조직 균질액에서 사이토카인 측정용 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 microplate에 표준액과 검체를 넣어, IL-6와 결합시켜 고정화된 항체로 만들었다. 그 후에 세정 과정을 통하여 비결합된 물질을 제거하였고 IL-6에 특이적인 효소 결합 다클론 항체를 각 well에 첨가하였다. 이후 비결합된 항체-효소를 제거한 후 발색 정지액을 넣고 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 농도를 구하였다.

4) 지질과산화물 측정

Ohkawa 등[18]이 기술한 방법을 이용하였다. 즉, 샘플 1 mL를 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.1 mL, 20% sodium acetate (pH 3.5)에 녹인 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 0.5 mL와 증류수 0.15 mL와 섞고 95℃에서 1시간 가열한 다음 식히고 2.5 mL의 n-butanol/pyridine (15:1, v/v)과 0.5 mL의 증류수를 가하여 진탕한다. 이를 3,000×g에서 10 분간 원심한 후 상청액을 취하여 532 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

5) 단백질의 carbonyl기 함량 측정

단백량이 1 mg인 시료를 각각 두 개의 원추형 원심관에 넣고 동일용량의 20% trichloracetic acid (TCA)를 가하여 단백질을 침전시켰다. 한 부분의 단백질에는 2N HCl을 가하고 다른 부분의 단백질에는 0.2% 2,4-Dinitrophenylhydrazine를 포함하는 2 N HCl을 가한 다음 실온에서 1시간 동안 부치하였다. 부치 후 10% TCA로 단백질을 다시 침전시키고 이를 ethanol: ethyl acetate (1:1, v/v)혼합액으로 두 번 씻은 다음 20 mM sodium phosphage (pH 6.5)를 포함하는 6 M guanidine- HCl에 녹이고 두 표본의 스펙트럼 차이(difference spectrum)를 구하였다. 단백질의 carbonyl기 함량은 nmol/mg protein으로 나타내었으며 파장 360-390 nm 사이에서 나타나는 흡광봉으로부터 지방족 hydrazone 화합물들의 평균 분자흡광계수를 21.0/mmol/cm로 삼아 산출하였다[19].

6) 태반의 조직학적 검사

태반에 대한 육안 검색은 통상적인 방식에 의해 이루어졌다. 태반의 크기와 색깔 변화 등의 이상 소견을 기술하고, 각각 탯줄에 대해 3개의 절편, 말은 양막(amnion role) 1개 절편, 태반실질 2개 절편을 포함하는 네 개의 슬라이드가 제작되었다. 조직절편을 hematoxylin과 eosin으로 염색하였으며, 제작된 모든 슬라이드는 IL-6 등에 대한 사전정보 없이 2명의 병리의사가 판독하였으며, 진단이 일치하지 않은 예는 토론 후 결정하였다. 양막 밑 공간에 백혈구들이 침착되어 있으며 조직학적 융모양막염이라 진단하였고, 제대와 제대정맥 벽 쪽으로 백혈구들이 삼출되어 있으면 조직학적 제대염으로 진단하였다(Fig. 2).

3. 통계분석

검사수치는 평균±표준오차로 표시하였으며, 유의성 검증에는 SPSS ver. 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)에 의한 Mann-Whitney U test를 사용하였고 P<0.05인 경우를 통계학적으로 의의가 있다고 하였다.

결 과

1. 대상 환자의 임상적 특징

양막파열이 없었던 군과 있었던 군 간의 임신부 나이, 분만력, 제왕절개분만, 분만 시 임신주수, 분만 체중, 아프가 점수 및 입원-분만 간격은 두 군 간에 유의한 차가 없었으나, 양막파열이 있었던 군에서 조직학적 융모양막염 진단율이 48.2% (14/29)로, 없었던 군에서의 12.5% (2/16)보다 유의하게 높았다(Table 1).

조직학적 융모양막염이 없었던 군과 있었던 군 간의 임신부 나이, 분만력, 제왕절개분만, 분만 시 임신주수, 분만 체중, 아프가 점수 및 입원-분만 간격은 두 군 간에 유의한 차가 없었으나, 융모양막염이 있었던 군에서 조기양막파열 발생률이 87.5% (14/16)로, 없었던 군에서의 48.3% (14/29)보다 유의하게 높았다(Table 2).

신생아 이환율은 조직학적 융모양막염이 있는 군에서 없는 군보다 신생아 호흡곤란증후군, 뇌실 내 출혈, 폐렴 등의 주산기 이환율이 높았다(Table 3).

2. 조기 분만군과 양막파열군

1) 입원 시 임신부 혈액 백혈구와 혈청 내 C-반응성 단백질

조기분만군(16예)과 양막파열군(29예)의 입원 시 임신부 혈액 백혈구 측정치는 12,675.0±990.7/L 13,358.6±1,010.3/L, 혈청 내 C-반응성 단백질 측정치는 각각 1.2±0.4 mg/dL와 1.8±0.4 mg/dL로 두 군 간에 유의한 차가 없었다.

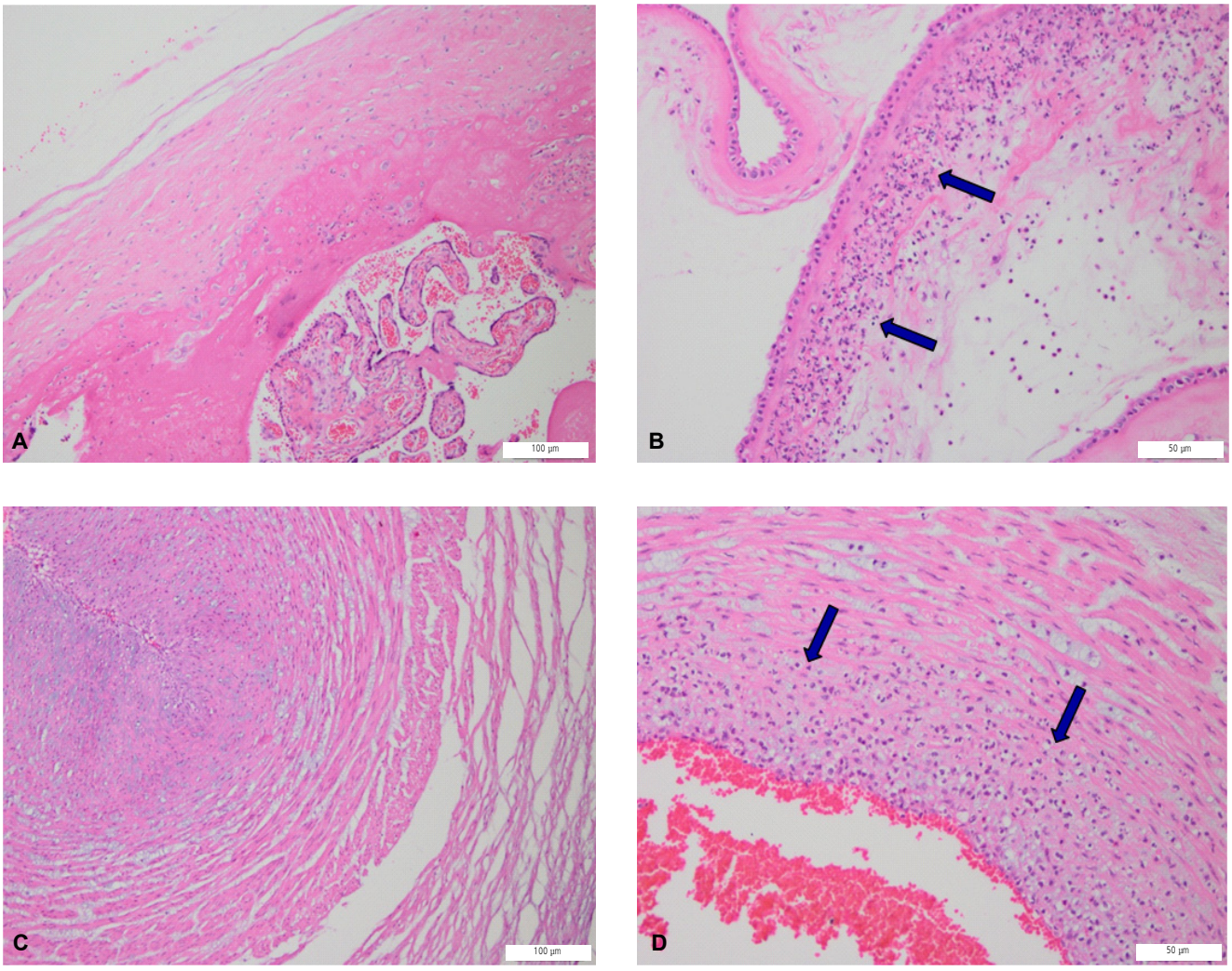

Fig. 2. Histologic findings of normal chorioamnion, acute chorioamnionitis, normal umbilical cord and acute funisitis. (A) Normal amnion; single layer of epithelial cells and underlying connective tissue. (B) Acute chorioamnionitis; neutrophils accumulation in the subamnionic space (arrow). (C) Normal venous wall of the umbilical cord. (D) Acute funisitis; neutrophils exudation into the venous wall (arrow). (H&E, ×200).

2) 태반 내 IL-6, 지질과산화도 및 단백산화도

조기분만군(16예)과 양막파열군(29예)의 태반 내 IL-6 측정치는 115.8±51.0 ng/mL와 251.1±49.1 ng/mL, 지질과산화도는 51.8±8.9 nmol/mg protein과 51.0±2.7 nmol/mg protein, 단백산화도는 12.2±1.0 nmol/mg protein과 12.6±0.5 nmol/mg protein으로 두 군 간에 유의한 차가 없었다.

3. 조직학적 융모양막염이 있는 군과 없는 군

1) 입원 시 임신부 혈액 백혈구와 혈청 내 C-반응성 단백질

조직학적 융모양막염이 있는 군(16예)과 없는 군(29예)에서 입원 시 임신부 혈액 백혈구 측정치는 15,550.0±1,641.3/L와 11,723.3±564.8/L, 혈청 내 C-반응성 단백질 측정치는 3.18±0.66 mg/dL와 0.62±0.07 mg/dL로 조직학적 융모양막염이 있는 군에서 모두 유의하게 높았다(P<0.01, P<0.01) (Fig. 3A, 3B).

2) 태반 내 IL-6, 지질과산화도 및 단백산화도

조직학적 융모양막염이 있는 군과 없는 군에서 태반 내 IL-6 측정치는 443.5±73.2 ng/mL와 70.3±7.4 ng/mL, 지질과산화도는 65.8±8.5 nmol/mg protein과 43.3±1.8 nmol/mg protein, 단백산화도는 13.9±0.9 nmol/mg protein과 11.6±0.5 nmol/mg protein으로 조직학적 융모양막염이 있는 군에서 모두 유의하게 높았다(P<0.01, P<0.01, P<0.05) (Fig. 3C-3E).

Table 1. Characteristics and outcomes of preterm birth according to rupture of membranes

Characteristic	PTL (n=16)	PPROM (n=29)	*P*-value
Maternal age (yr)	30.8±1.0	30.1±0.9	NS
Nulliparity	4 (25.0)	18 (62.1)	NS
Chorioamnionitis	2 (12.5)	14 (48.3)	<0.05
Cesarean delivery	5 (31.3)	8 (27.6)	NS
Gestational age at birth (wk)	32.5±0.7	31.9±0.7	NS
Birth weight (g)	1,810±191	1,780±96	NS
Apgar score<7			
1-min	2 (12.5)	6 (28.6)	NS
5-min	0 (0)	0 (0)	NS
Admission to delivery interval (day, range)	10.9±2.94 (0-31)	8.4±1.74 (0-30)	NS

Values are presented as mean±standard error or number (%).
PTL, preterm labor group; PPROM, prterm premature rupture of membranes group; NS, not significant.

Table 2. Characteristics and outcomes of preterm birth according to histologic chorioamnionitis

Characteristic	Absent (n=29)	Present (n=16)	*P*-value
Maternal age (yr)	30.4±0.6	30.2±1.4	NS
Nulliparity	14 (48.3)	8 (50.0)	NS
Premature rupture of membranes	14 (48.3)	14 (87.5)	<0.01
Cesarean delivery	9 (31.0)	4 (25.0)	NS
Gestational age at birth (wk)	31.8±0.4	30.4±1.0	NS
Birth weight (g)	1,806±102	1,731±132	NS
Apgar score<7			
1-min	3 (10.3)	5 (31.3)	NS
5-min	0 (0)	0 (0)	NS
Admission to delivery interval (day, range)	10.4±2.0 (0-31)	8.9±1.8 (0-22)	NS

Values are presented as mean±standard error or number (%).
NS, not significant.

Table 3. Neonatal morbidity according to histologic chorioamnionitis

	Histologic chorioamnionitis		*P*-value
	Absent (n=29)	Present (n=16)	
Respiratory distress syndrome	5 (17.2)	9 (56.3)	<0.05
Suspected sepsis	0 (0)	0 (0)	NS
Intraventricular hemorrhage	0 (0)	5 (31.3)	<0.01
Necrotizing enterocolitis	0 (0)	1 (6.3)	NS
Bronchopulmonary dysplasia	2 (6.9)	4 (25.0)	NS
Pneumonia	2 (6.9)	5 (31.3)	<0.05

Values are presented as number (%).
NS, not significant.

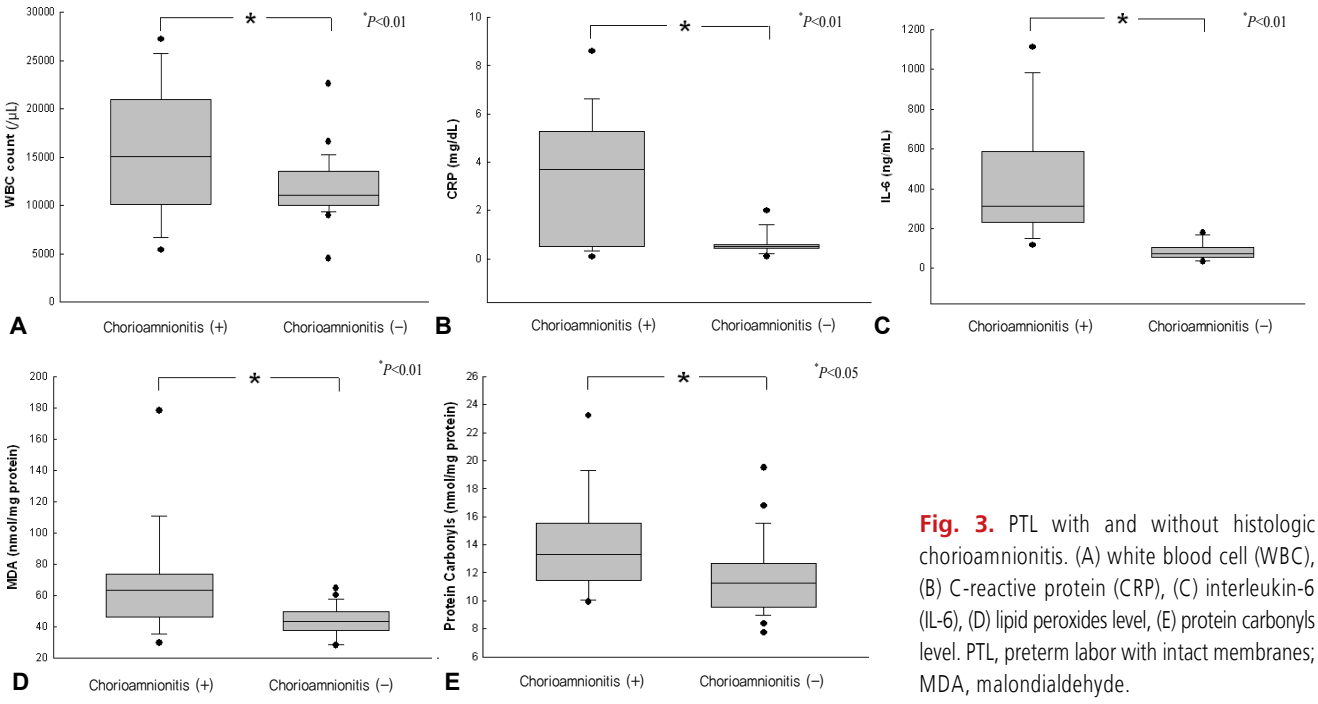

Fig. 3. PTL with and without histologic chorioamnionitis. (A) white blood cell (WBC), (B) C-reactive protein (CRP), (C) interleukin-6 (IL-6), (D) lipid peroxides level, (E) protein carbonyls level. PTL, preterm labor with intact membranes; MDA, malondialdehyde.

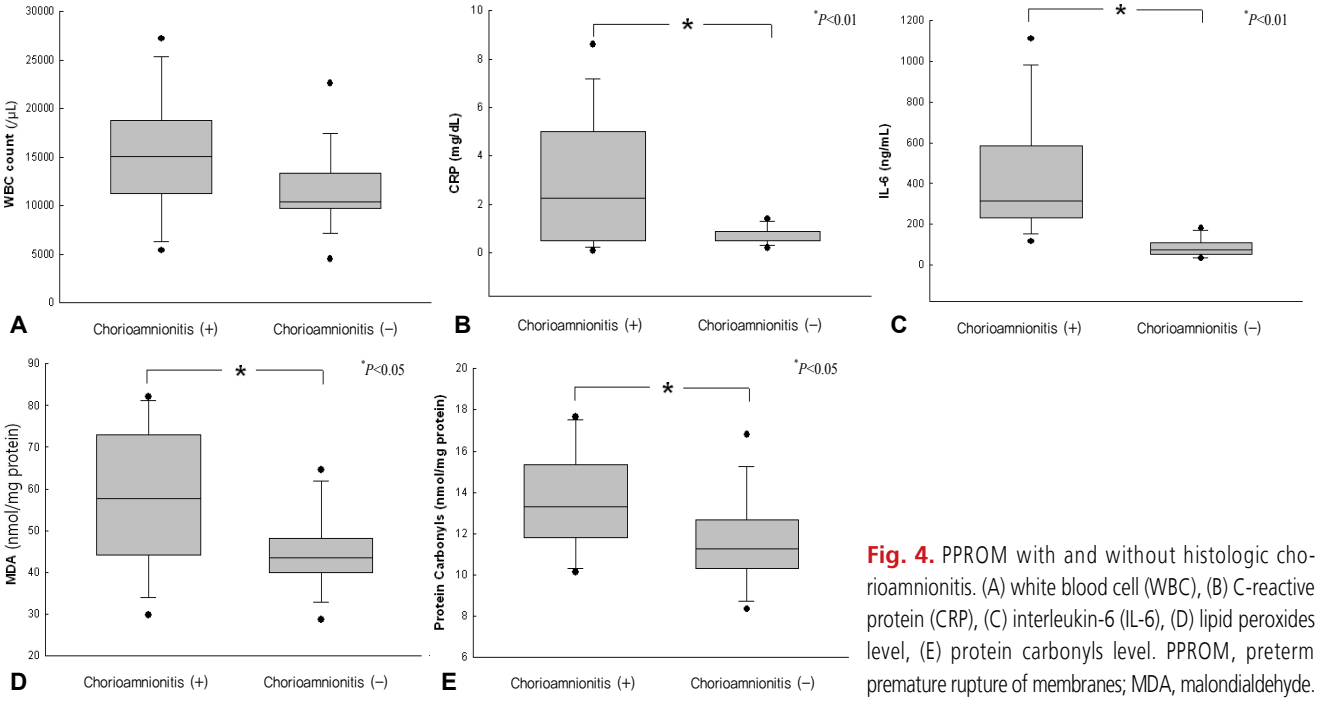

Fig. 4. PPROM with and without histologic chorioamnionitis. (A) white blood cell (WBC), (B) C-reactive protein (CRP), (C) interleukin-6 (IL-6), (D) lipid peroxides level, (E) protein carbonyls level. PPROM, preterm premature rupture of membranes; MDA, malondialdehyde.

4. 양막파열군에서 조직학적 융모양막염이 있는 군과 없는 군

1) 입원 시 임신부 혈액 백혈구와 혈청 내 C-반응성 단백질

양막파열군에서 조직학적 융모양막염이 있는(14예) 군과 없는(15예) 군의 입원 시 임신부 혈액 백혈구 측정치는 15,314.3±1,683.0/L와 11,533.3±999.3/L로 두 군 간에 유의한 차가 없었다. 조직학적 융모양막염이 있는 양막파열군의 입원 시 혈청 내 C-반응성 단백질 측정치는 2.9±0.7 mg/dL로 조직학적 융모양막염이 없는 양막파열군의

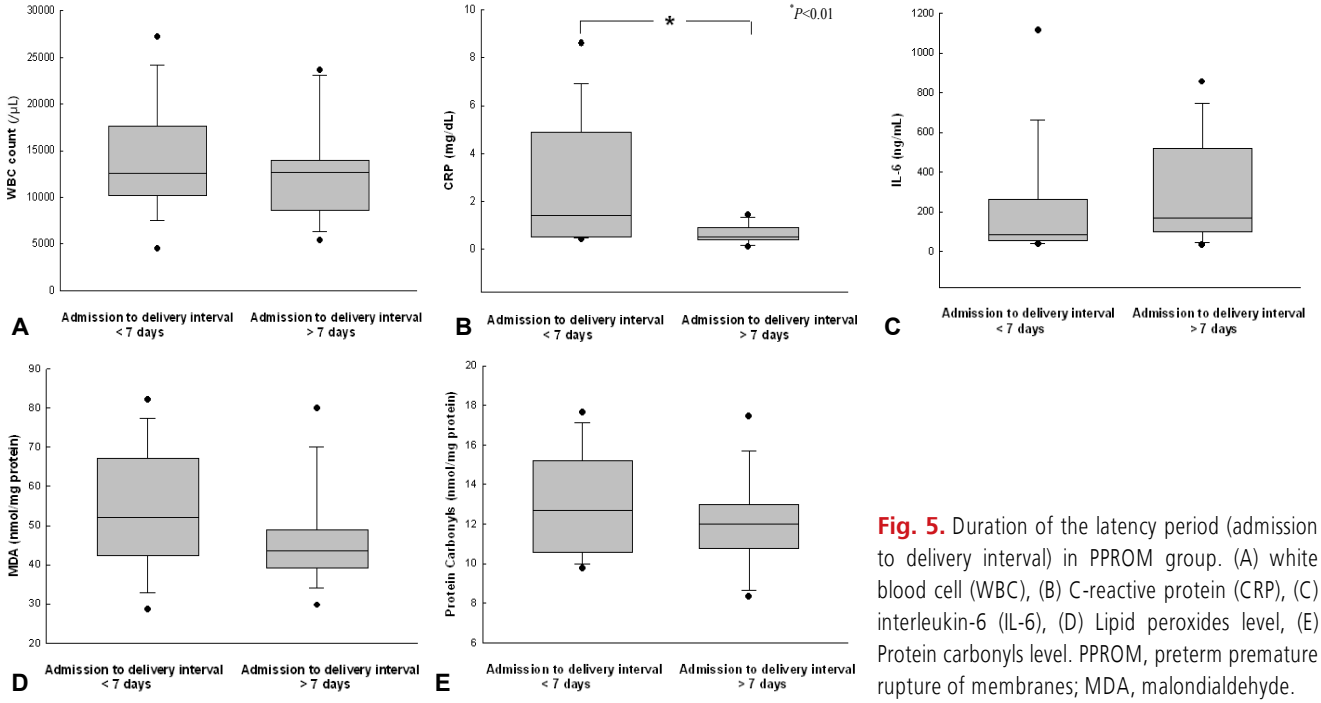

Fig. 5. Duration of the latency period (admission to delivery interval) in PPROM group. (A) white blood cell (WBC), (B) C-reactive protein (CRP), (C) interleukin-6 (IL-6), (D) Lipid peroxides level, (E) Protein carbonyls level. PPROM, preterm premature rupture of membranes; MDA, malondialdehyde.

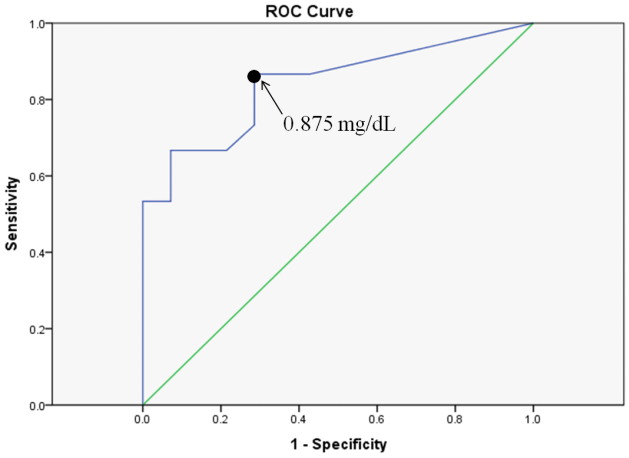

Fig. 6. Receiver operating characteristic curve for C-reactive protein in maternal serum on admission in predicting duration of the latency period in PPROM group. The cutoff levels of C-reactive protein for prediction of 7 days and more is 0.875 mg/dL (area under the curve, 0.840; standard error, 0.0742; z=4.587; P<0.01). PPROM, preterm premature rupture of membranes; ROC, receiver operating characteristic.

0.6±0.1 mg/dL에 비하여 유의하게 높았다(P<0.01), (Fig. 4A, 4B).

2) 태반 내 IL-6, 지질과산화도 및 단백산화도

양막파열군에서 조직학적 융모양막염이 있는 군과 없는 군의 태반 내 IL-6 측정치는 431.7±75.8 ng/mL와 82.6±11.3 ng/mL, 지질과산화도는 57.8±4.4 nmol/mg protein와 44.6±2.3 nmol/mg protein, 단백산화도는 13.5±0.6 nmol/mg protein과 11.6±0.6 nmol/mg protein으로 조직학적 융모양막염이 있는 양막파열군에서 모두 유의하게 높았다(P<0.01, P<0.05, P<0.05), (Fig. 4C–4E).

5. 양막파열군 중 임신 기간이 7일 이상 유지되었던 군과 7일 미만 유지되었던 군

1) 입원 시 임신부 혈액 백혈구와 혈청 내 C-반응성 단백질

7일 이상 유지되었던 군(14예)과 7일 미만 유지되었던 군(15예)의 입원 시 임신부 혈액 백혈구 측정치는 12,535.7±1,407.2/L, 14,126.7±1,463.9/L로 서로 간에 유의한 차가 없었다. 입원 시 혈청 내 C-반응성 단백질 측정치는 0.6±0.1 mg/dL과 2.8±0.7 mg/dL로 7일 이상 유지되었던 군에서 유의하게 낮았다(P<0.01) (Fig. 5A, 5B). 양막파열군에서 7일 이상 유지될 수 있는지 판단하는 C-반응성 단백질의 측정치의 cutoff 값을 Receiver operating characteristic curve를 이용하여 구한 결과 0.875 mg/dL의 결과를 얻었다(area under the curve, AUC; 0.840, P<0.01) (Fig. 6).

2) 태반 내 IL-6, 지질과산화도 및 단백산화도

7일 이상 유지되었던 군과 7일 미만 유지되었던 군의 태반 내 IL-6 측정치는 295.9±69.5 ng/mL와 209.3±69.5 ng/mL, 지질과산화도는 46.3±3.2 nmol/mg protein과 55.3±4.1 nmol/mg protein, 단백산화도는 12.0±0.6 nmol/mg protein과 13.0±0.7 nmol/mg protein

Table 4. Estimated values in histologic chorioamnionitis patients according to funisitis

		Funisitis		*P*-value
		Absent (n=9)	Present (n=7)	
Maternal serum on admission	WBC (/μL)	13,300.0±1,770.0	18,442.9±2,746.7	NS
	CRP (mg/dL)	3.0±1.0	3.4±0.9	NS
Placental tissue homogenates	IL-6 (ng/mL)	452.4±109.1	432.0±100.9	NS
	MDA (nmol/mg protein)	69.4±14.7	61.1±5.7	NS
	Carbonyls (nmol/mg protein)	14.3±1.4	13.4±1.0	NS

Values are presented as mean±standard error.
WBC, white blood cell; CRP, C-reactive protein; IL-6, interleukin-6; MDA, malonic dialdehyde; NS, not significant.

으로 두 군 간에 유의한 차가 없었다(Fig. 5C–5E).

6. 융모양막염이 있는 환자에서 제대염이 있는 군과 없는 군

1) 입원 시 임신부 혈액 백혈구와 혈청 내 C-반응성 단백질

제대염이 있는 군(7예)과 없는 군(9예)의 입원 시 임신부 혈액 백혈구 측정치는 1,8442.9±2,746.7/L와 13,300.0± 1,770.0/L, 혈청 내 C-반응성 단백질 측정치는 3.38±0.94 mg/dL와 3.03±0.97 mg/dL로 두 군 간에 유의한 차가 없었다.

2) 태반 내 IL-6, 지질과산화도 및 단백산화도

제대염이 있는 군과 없는 군의 태반 내 IL-6 측정치는 432.0±100.9 ng/mL와 452.4±109.1 ng/mL, 지질과산화도는 61.1±5.7 nmol/mg protein와 69.4±4.7 nmol/mg protein, 단백산화도는 413.4±1.0 nmol/mg protein과 14.3±1.4 nmol/mg protein으로 두 군 간에 유의한 차가 없었다(Table 4).

고 찰

사회경제적 여건의 개선과 의료수준의 향상에도 불구하고 조산아의 출생 빈도는 점차 증가하고 있다. 조기 분만은 우리나라를 비롯한 여러 선진국에서도 주산기 이환율 및 사망률의 가장 중요한 원인으로 기형을 제외한 주산기 사망률의 약 70%를 차지하고, 신경학적 이환율의 거의 절반을 차지하고 있으며 조산아에 대한 집중치료와 재활치료로 인해 조산아의 생존율은 증가하고 있으나, 조산에 따른 유병률, 뇌성마비, 장애아 등은 사회적, 경제적으로 큰 문제점으로 제기되고 있다[1].

본 연구결과는 만삭 전 조기양막파열로 입원한 임신부의 혈액에서 고감도 C-반응성 단백질 수치를 측정하여 0.875 mg/dL를 기준으로 하였을 때, 입원에서 분만까지 7일 이상 유지될 수 있는지 예측이 가능하여 측정치에 따라 입원 중 치료, 분만 중 및 신생아 치료에 도움을 줄 것으로 생각된다. 만삭 전 조기양막파열 환자에서의 분만까지의 기간 예측에 대한 최근의 연구에서 Melamed 등[20]은 임신 34주 미만의 만삭 전 조기양막파열 환자에서 입원 시 짧은 임신 주수, 양수과소증, 1 cm 이상의 자궁경부 개대, 태아발육제한 및 미산부 등이 48시간 미만에 분만할 가능성이 높다고 하였다. Gabriel 등[21]은 만삭 전 조기양막파열이 있어 입원한 환자에서 자궁경부 길이, 혈청 내 C-반응성 단백질을 측정하여 입원에서 분만까지의 기간과 비교하였다. 자궁경부 길이 25 mm를 기준으로 하였을 때 25 mm 이상인 그룹, 미만인 그룹에서 각각 10일, 5일이었고, C-반응성 단백질 측정치 2 mg/dL를 기준으로 하였을 때 2 mg/dL 이상인 그룹, 미만인 그룹에서 각각 10일, 3일로 유의한 차이를 보였다.

C-반응성 단백질은 염증성 질환 또는 체내 조직의 괴사와 같은 질환에서 현저하게 증가하는 혈장 단백질의 하나로 급성상 반응 물질의 대표적인 성분이며, 급성 염증성 병변 및 조직의 괴사 등이 있을 때 간에서 생성되는 글로불린으로 염증성 반응 후 48시간에 혈중 최고치에 달하여 감염진단의 지표로 활용되고 있다[19]. 따라서 C-반응성 단백질 측정은 염증성 질환의 존재 여부와 그 중증도 판정, 경과 관찰 및 예후 판정에 대단히 유용하다. 조기분만 산모에서 제대정맥 내 C-반응성 단백질은 조직학적 융모양막염이 있는 군에서 없는 군보다 유의하게 높아 임상적으로 빠른 시간 내에 신생아 염증성 이환을 예측할 수 있을 것으로 알려져 있다[22].

본 연구에서는 조기 분만하였던 임신부에서 조직학적 융모양막염의 유무에 따라 분만 전 입원 시 임신부 혈액 백혈구와 혈청 내 C-반응성 단백질의 측정치가 유의한 차이를 보였다. 이러한 결과는 임신부 혈액 백혈구수와 혈청 내 C-반응성 단백질의 측정을 통해 양수 내의 염증성 변화를 쉽고 빠르게 적은 비용으로 예측하는 데 도움이 될 것이다. 임신부 혈액 백혈구수와 혈청 내 C-반응성 단백질이 증가한 임신부에게 항생제를 적절히 투여함으로써 임상적 융모양막염의 발생을 예방하고 이로 인한 신생아의 여러 합병증의 감소를 기대할 수 있는지에 대한 연구가 필요할 것이다.

양수파열이 없는 조기분만에서 조직학적 융모양막염의 진단율은 10–30%로 보고되고 있으며[23,24] 이는 본 연구의 12.5%와 유사한 결과이다. 양막파열이 있을 때 조직학적 융모양막염의 동반이 흔한 이유는 다음과 같이 알려져 있다. 태아의 막은 양막 및 융모막으로 이루어져 있다. 교원질은 양막의 강도를 유지시키며, 3중 나선 구조로 구성되어 있

는데, 각각의 나선 구조는 히드록시프롤린(hydroxyproline)과 히드록시리신(hydroxylysine)으로 연결되어 교원질의 강도를 유지시킨다. 주로 Type Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ 및 Ⅳ 교원질이 태아막을 구성하고 있는데, 조기양막파열은 교원질이 적거나 강도가 약한 곳에서 발생하며, 특히 Type Ⅲ 교원질의 감소가 조기양막파열과 관계가 있다고 하였다[25]. 이러한 교원질의 분해로 인한 조기양막파열은 matrix metalloproteinases (MMPs)–9와 연관이 있는데 항산화능의 상태에 따라 영향을 받으며, tumor necrosis factor (TNF)–α , IL–1, IL–6 등에 의해 태아막에서 활성화된다[26]. 염증성 변화가 먼저 발생하고 이로 인해 융모양막이 파열된다는 것이지만, 조기양막파열이 선행된 후 상승감염으로 융모양막염이 발생하였을 수도 있다. 본 연구에서는 조기양막파열은 융모양막염이 있었던 군에서 87.5%로, 없었던 군의 48.3% 보다 유의하게 많았다. Goepfert 등[27]은 조기진통이나 조기양막파열 임신부의 제대혈장에서 IL–6이 증가하며, 32주 이전에 분만한 신생아의 합병증 증가와 연관이 있다고 하였으며, Yoon 등[28]은 미숙아에서 대뇌 백질의 신생아 병변이 염증성 사이토카인으로 알려진 IL–6와 TNF–α가 연관이 있다고 보고하였다. 조기분만한 산모의 제대정맥혈장을 대상으로 한 기존의 연구에서 제대정맥혈장 내 IL–6, 지질과산화물이 조직학적 융모양막염이 진단되었던 산모에서 진단되지 않았던 산모보다 높았다[24]. 본 연구에서는 조직학적 융모양막염 유무에 따라 태반 내 IL–6가 유의하게 차이가 있음을 알 수 있었다. 향후 입원 시 임신부의 혈액 내 IL–6을 측정하여 융모양막염의 발생과 연관을 평가하여 융모양막염의 예측인자로서 IL–6의 유용성에 대한 연구가 필요하다. 또 태반 내 지질과산화물과 단백산화물이 조직학적 융모양막염이 있는 군이 없는 군보다 유의하게 높았는데, 이를 통해 태아혈액순환 내 산화제와 항산화제 사이의 불균형을 초래하여 주산기 이환율과 사망률에 영향을 줄 수 있을 것이다.

제대염은 태아의 염증성 반응을 나타내며, 태아염증증후군(fetal inflammatory response syndrome)의 조직학적 표지자이다[6,29]. 제대염이 심할 경우 자궁 내 감염, 조기분만 및 주산기 사망의 빈도가 높다[30]. 괴사성 제대염(necrotizing funisitis)은 선천성 폐렴, 신생아 패혈증, 뇌막염, 복막염 등과 연관이 있는 것으로 알려져 왔다[31]. 뇌실내 출혈은 제대염과 연관이 있으나 다른 태아인자나 태반과 연관이 없다고 하였다[32]. 제대정맥 혈장 내 IL–6가 증가되었을 때 제대염의 진단율이 높고, 낮을 때는 제대염이 드물었다. 또 IL–6가 증가되고 제대염이 있었던 신생아에서는 주산기 이환율이 높아 제대정맥혈장 내 IL–6로 신생아의 예후를 판단할 수 있다고 하였다[33]. 본 연구에서 제대염의 유무에 따른 IL–6의 차이는 없었다.

조직학적 융모양막염은 신생아의 합병증 등 예후와 밀접한 관계가 있다. 본 연구결과에서는 신생아 호흡곤란증후군, 뇌실 내 출혈, 폐렴 등이 조직학적 융모양막염이 있었던 군에서 없었던 군보다 유의하게 높게 발생하였다. 최근 연구에서는 조직학적 융모양막염이 있는 조산아의 경우 폐성숙이 촉진됨으로써 신생아 호흡곤란증후군의 빈도가 감소할 수 있으나 만성 폐질환으로의 진행을 야기한다는 보고가 있다[16,34,35]. 하지만 다른 연구에서는 조직학적 융모양막염이 만성 폐질환의 위험인자이지만 태아 폐성숙에 도움을 주는지에 대해서는 명확한 증거가 없다고 하였다[36]. 본 연구결과에서는 조직학적 융모양막염이 있는 군에서 신생아 호흡곤란증후군 발생 빈도가 높았고, 기관지–폐 이형성증 발생 빈도에는 차이가 없었다. 하지만 이들 질환과 조직학적 융모양막염의 연관관계에서는 아직 논란이 있으므로 향후 대규모의 연구가 필요할 것으로 생각된다. 뇌실 내 출혈, 폐렴 등은 조직학적 융모양막염이 있는 군에서 발생 빈도가 높아 주산기 예후에 영향을 주었을 것으로 생각된다.

결론적으로 만삭 전 조기양막파열군에서 입원 시 C–반응성 단백질 증가여부로 자궁 내 감염을 예견하여 주산기 임신부, 태아 및 신생아 관리의 발전에 큰 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

References

1. Kim JH. New strategies in the treatment of preterm delivery. Korean J Obstet Gynecol 2005;48:1605-12.
2. Guyer B, Strobino DM, Ventura SJ, MacDorman M, Martin JA. Annual summary of vital statistics-1995. Pediatrics 1996;98:1007-19.
3. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. N Engl J Med 2000;342:1500-7.
4. Romero R, Nores J, Mazor M, Sepulveda W, Oyarzun E, Parra M, et al. Microbial invasion of the amniotic cavity during term labor. Prevalence and clinical significance. J Reprod Med 1993;38:543-8.
5. McNamara MF, Wallis T, Qureshi F, Jacques SM, Gonik B. Determining the maternal and fetal cellular immunologic contributions in preterm deliveries with clinical or subclinical chorioamnionitis. Infect Dis Obstet Gynecol 1997;5:273-9.
6. 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.
7. Casey ML, Cox SM, Beutler B, Milewich L, MacDonald PC. Cachectin/tumor necrosis factor-alpha formation in human decidua. Potential role of cytokines in infection-induced preterm labor. J Clin Invest 1989;83:430-6.
8. Romero R, Avila C, Santhanam U, Sehgal PB. Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection. J Clin Invest 1990;85:1392-400.
9. Romero R, Brody DT, Oyarzun E, Mazor M, Wu YK, Hobbins JC, et al. Infection and labor. III. Interleukin-1: a signal for the onset of parturition. Am J Obstet Gynecol 1989;160:1117-23.

10. Thomakos N, Daskalakis G, Papapanagiotou A, Papantoniou N, Mesogitis S, Antsaklis A. Amniotic fluid interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha at mid-trimester genetic amniocentesis: relationship to intra-amniotic microbial invasion and preterm delivery. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2010;148:147-51.
11. 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.
12. Connors N, Merrill D. Antioxidants for prevention of preterm delivery. Clin Obstet Gynecol 2004;47:822-32.
13. Levine RL, Williams JA, Stadtman ER, Shacter E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. Methods Enzymol 1994;233:346-57.
14. Murphy DJ, Sellers S, MacKenzie IZ, Yudkin PL, Johnson AM. Case-control study of antenatal and intrapartum risk factors for cerebral palsy in very preterm singleton babies. Lancet 1995;346:1449-54.
15. Pierce MR, Bancalari E. The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. Pediatr Pulmonol 1995;19:371-8.
16. Watterberg KL, Demers LM, Scott SM, Murphy S. Chorioamnionitis and early lung inflammation in infants in whom bronchopulmonary dysplasia develops. Pediatrics 1996;97:210-5.
17. Trochez-Martinez RD, Smith P, Lamont RF. Use of C-reactive protein as a predictor of chorioamnionitis in preterm prelabour rupture of membranes: a systematic review. BJOG 2007;114: 796-801.
18. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979;95: 351-8.
19. Oliver CN, Ahn BW, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. Age-related changes in oxidized proteins. J Biol Chem 1987; 262:5488-91.
20. Melamed N, Hadar E, Ben-Haroush A, Kaplan B, Yogev Y. Factors affecting the duration of the latency period in preterm premature rupture of membranes. J Matern Fetal Neonatal Med 2009;22:1051-6.
21. Gabriel R, Morille C, Drieux L, Bige V, Leymarie F, Quereux C. Prediction of the latency period by cervical ultrasonography in premature rupture of the membranes before term. Gynecol Obstet Fertil 2002;30:856-61.
22. Kang MS, Kim YH, Kim CH, Kim KM, Cho MK, Kim JW, et al. Changes of interleukin-6, C-reactive protein, and lipid peroxide levels in the umbilical venous plasma of preterm birth with or without chorioamnionitis. Korean J Perinatol 2007;18:352-61.
23. Mitchell MD, Dudley DJ, Edwin SS, Schiller SL. Interleukin-6 stimulates prostaglandin production by human amnion and decidual cells. Eur J Pharmacol 1991;192:189-91.
24. Romero R, Mazor M. Infection and preterm labor. Clin Obstet Gynecol 1988;31:553-84.
25. Woods JR Jr. Reactive oxygen species and preterm premature rupture of membranes-a review. Placenta 2001;22 Suppl A: S38-44.
26. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Role of tumor necrosis factor-alpha in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. Am J Obstet Gynecol 2002;187:1159-62.
27. Goepfert AR, Andrews WW, Carlo W, Ramsey PS, Cliver SP, Goldenberg RL, et al. Umbilical cord plasma interleukin-6 concentrations in preterm infants and risk of neonatal morbidity. Am J Obstet Gynecol 2004;191:1375-81.
28. Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Koo JN, Choe G, Syn HC, et al. High expression of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in periventricular leukomalacia. Am J Obstet Gynecol 1997;177: 406-11.
29. Pacora P, Chaiworapongsa T, Maymon E, Kim YM, Gomez R, Yoon BH, et al. Funisitis and chorionic vasculitis: the histological counterpart of the fetal inflammatory response syndrome. J Matern Fetal Neonatal Med 2002;11:18-25.
30. van Hoeven KH, Anyaegbunam A, Hochster H, Whitty JE, Distant J, Crawford C, et al. Clinical significance of increasing histologic severity of acute inflammation in the fetal membranes and umbilical cord. Pediatr Pathol Lab Med 1996;16:731-44.
31. Craver RD, Baldwin VJ. Necrotizing funisitis. Obstet Gynecol 1992;79:64-70.
32. Grafe MR. The correlation of prenatal brain damage with placental pathology. J Neuropathol Exp Neurol 1994;53:407-15.
33. Naccasha N, Hinson R, Montag A, Ismail M, Bentz L, Mittendorf R. Association between funisitis and elevated interleukin-6 in cord blood. Obstet Gynecol 2001;97:220-4.
34. Been JV, Zimmermann LJ. Histological chorioamnionitis and respiratory outcome in preterm infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2009;94:F218-25.
35. Shimoya K, Taniguchi T, Matsuzaki N, Moriyama A, Murata Y, Kitajima H, et al. Chorioamnionitis decreased incidence of respiratory distress syndrome by elevating fetal interleukin-6 serum concentration. Hum Reprod 2000;15:2234-40.
36. Zanardo V, Vedovato S, Cosmi E, Litta P, Cavallin F, Trevisanuto

D, et al. Preterm premature rupture of membranes, chorioamnion inflammatory scores and neonatal respiratory outcome. BJOG 2010;117:94-8.

= 국문초록 =

조기분만 시 조직학적 융모양막염 유무에 따른 혈청 C-반응성 단백질, 태반 내 interleukin-6, 지질과산화도 및 단백산화도

전남대학교 의과대학 산부인과학교실[1], 서남대학교 의과대학 산부인과학교실[2]

윤대석[1], 김윤하[1], 김철홍[1], 조문경[1], 김종운[1], 조혜연[1], 김석모[1], 강우대[1], 이기호[2], 송태복[1]

목적

조기분만 후 조직학적 융모양막염 유무에 따른 입원 시 임신부 혈액 백혈구, C-반응성 단백질과 태반 내 인터류킨-6 (interleukin-6, IL-6), 지질과산화도 및 단백산화도를 측정하여 비교하고 주산기 예후에 어떤 역할을 하는가 규명하고자 하였다.

연구방법

양막파열이 없는 조기분만 임부 16명(조기 분만군), 만삭 전 조기양막파열 임부 29명(양막파열군)에서 입원 시 정맥혈과 분만 시 융모양막과 태반조직을 채취하였다. 양막하 공간에 중성구 침착 소견이 있었을 때 조직학적 융모양막염으로 진단하였다.

결과

조직학적 융모양막염의 발생률은 양막파열군에서 조기 분만군보다 유의하게 높았다. 조직학적 융모양막염이 있는 군에서 없는 군보다 혈액 백혈구, 혈청 내 C-반응성 단백질 측정치와 태반 내 IL-6, 지질과산화도, 단백산화도 측정치가 모두 유의하게 높았다. 혈청 내 C-반응성 단백질 측정치와 태반 내 IL-6, 지질과산화도, 단백산화도 측정치는 조직학적 융모양막염이 있는 양막파열군에서 모두 유의하게 높았다. 혈청 내 C-반응성 단백질 측정치는 7일 이상 유지되었던 군에서 유의하게 낮았다. 양막파열군에서 7일 이상 유지될 수 있는지 판단하는 C-반응성 단백질의 측정치의 cutoff 값을 receiver operating characteristic curve를 이용하여 0.875 mg/dL의 결과를 얻었다. 조직학적 융모양막염이 있는 군에서 없는 군보다 신생아 호흡곤란증후군, 뇌실 내 출혈, 폐렴 등의 주산기 이환율이 높았다.

결론

입원 시 임부 혈청 내 C-반응성 단백질 증가는 만삭 전 조기양막파열 산모의 잠복기를 예측하는 인자로 사용이 가능하다.

중심단어: 조기분만, 조직학적 융모양막염, C-반응성 단백질, 지질과산화도, 단백산화도