

# ASSOCIATION OF ANGIOGENIN AND INTERLEUKIN-6 LEVELS IN CERVICAL DISCHARGE DURING EARLY PREGNANCY, TOGETHER WITH ITS OUTCOME

Min-Kyung Hyun, MD, Bok-Kyung Jung, MS, Jae-Yoon Shim, MD, Hye-Sung Won, MD, Pil Ryang Lee, MD, Ahm Kim, MD

Department of Obstetrics and Gynecology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

## Objective

To investigate the association between the cervical angiogenin and interleukin-6 levels and its outcome during early pregnancy.

## Methods

One hundred and seventy-five pregnant women were included consecutively at the time of their first prenatal visit after less than 10 weeks of gestation. The gestational age was calculated according to their menstrual history and/or ultrasonography. We measured the cervical angiogenin and interleukin-6 levels using ELISA kits. We also measured the maternal serum progesterone concentrations using radioimmunoassay. Spontaneous abortion was defined as when a pregnancy ended spontaneously within 20 weeks of gestation. If an index pregnancy lasted longer than 20 weeks of gestation, it was regarded as showing a normal pregnancy outcome.

## Results

Fifty-four pregnancies were excluded because of an incomplete study ( $n=36$ ) or follow-up loss ( $n=18$ ). Of the remaining 121 pregnancies, spontaneous abortion occurred in 10 pregnancies (8.3%) in which there were no significant gestational age-dependent changes in the maternal serum progesterone, cervical angiogenin, and interleukin-6 levels. The maternal serum progesterone, cervical angiogenin, and interleukin-6 levels were not significantly different between the spontaneous abortion group and the normal control group. However, the cervical angiogenin level was significantly decreased in the groups with discordant gestational age and spontaneous abortion compared to the group with concordant gestational age (median, 798.0 pg/mL vs. 723.4 pg/mL vs. 1039.8 pg/mL; inter-quartile range, 222.8-1054.7 pg/mL vs. 257.1-1213.3 pg/mL vs. 480.4-1534.4 pg/mL) ( $P<0.041$ ).

## Conclusion

First trimester cervical angiogenin measurement may be valuable for predicting the early pregnancy outcome.

**Keywords:** Angiogenesis; Interleukin-6; Cervical discharge; Early pregnancy; Pregnancy outcome

절박유산은 전체 임신의 25%에서 합병되는데, 임신 초기에 질출혈을 경험한 임신부의 약 1/2은 유산이 된다[1]. 임신 초기의 질출혈은 조산, 저출생체중아, 또는 주산기 사망의 위험도를 증가시킨다[2,3]. 그러므로 절박유산에서 향후 임신이 잘 유지될지 미리 예측하는 것은 합병증의 예방과 불안감이 높아진 임신부에 대한 산전 상담에서 매우 중요하다. 이에 대해 현재까지는 질초음파검사, 연속적인 모체 혈청 융모생식샘자극호르몬(human chorionic gonadotropin, hCG) 농도 측정, 또는 모체 혈청 progesterone 측정을 단독 또는 병용하여 해당 임신의 예후를 예측해 보고자 하고 있다[4-6]. 그러나 이들 방법은 제한점이 있는데, 초음파검사는 자궁내의 현재 상태만을 보여주고 있어서 미래에 대한 예측 능력이 낮다. 연속적인 모체혈청 hCG 측정은 시간이 많이 소요되고 정

Received: 2011. 4.20. Accepted: 2011. 5.12.

Corresponding author: Pil Ryang Lee, MD

Department of Obstetrics and Gynecology, Asan Medical Center,  
University of Ulsan College of Medicine, 88 Olympic-ro 43-gil,  
Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea

Tel: +82-2-3010-3638, Fax: +82-2-3010-6944

E-mail: prlee@amc.seoul.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

상 임신이어도 농도 차이가 많다. 또한, 모체 혈청내 progesterone 단일 측정은 초기임신 예후에 대해 비교적 높은 민감도(77~88%)와 특이도(80~88%)를 보여 주지만, 보고된 연구들이 대상군의 선정 방법에 제한 점이 있어 그 결과를 임신에 적용하기가 쉽지 않다[5,6]. 또한 임신 초기의 모체 혈청 progesterone은 난소의 황체에서 주로 합성되어 혈액으로 유입된 것이므로 자궁-태반 접착면에서의 변화를 직접적으로 반영하는 것은 아니다.

자연유산은 그 발생 원인은 다양할 수 있지만 궁극적으로 자궁-태반 접착면의 파열(disruption)이라는 최종과정을 거친다. 따라서 이러한 변화와 관련된 물질의 농도 변화를 자궁-태반 접착면에서 측정할 수 있다면 초기임신 예후 예측에 활용해 볼 수도 있을 것이다.

Angiogenin은 분자량이 14 KD인 당화되지 않은 단일사슬 폴리펩티드로서, 강력한 신생혈관증식에 관여하는 물질이다[7,8]. 주로 간세포에서 생성되나, 그 외 표피세포, 섬유아세포, 또는 말초혈액세포에서도 생성된다[9,10]. 임신중에는 양수, 태반과 모체 혈청에서 검출된다[11,12]. Angiogenin은 태반을 포함한 여러 조직에서 허혈성괴사가 있으면 그 생성 정도에 변화가 나타나며, 영양막의 침윤과 태반의 발달에도 관여한다[13,14]. 임신 초기에 태반조직의 저산소증이나 허혈성 손상의 발생과 angiogenin의 생성과의 선후 관계는 명확히 밝혀져 있지 않다.

사람 태반은 interleukin (IL)-6, IL-1, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 그리고 transforming growth factor- $\beta$ 를 생산한다[15-18]. 정상 영양막에서는 IL-1과 TNF- $\alpha$ 의 자극으로 IL-6의 분비가 촉진되고, 그에 따라 hCG의 분비가 자극된다[19]. 영양막에서 hCG가 정상적으로 분비되는 것은 임신 유지에 필수적이다. 따라서 유산의 징후가 있는 경우처럼 이 과정의 이상이 초래되는 경우에는 이들 시토카인(cytokine)의 분비 변화가 나타날 것이다. 또 다른 가능성으로는 면역학적 변화에 따른 유산 가능성이다. 초기임신 유지에는 동종이식체인 배아 또는 태아에 대한 모체의 면역학적 반응이 매우 중요하다는 사실은 잘 알려져 있다. 저자들은 자연유산된 임신군에서 정상 임신군보다 영양막(trophoblast)의 세포자멸사(apoptosis)가 유의하게 증가한 것을 관찰하였다[20]. 이런 점들은 자연유산이 될 것으로 예상되는 임신에서는 자궁-태반 접착면에서 세포 분비기능과 면역반응의 변화가 일어나는 것임을 시사한다.

아직까지 전 세계적으로 임신 초기에 자궁경부 분비물 내의 angiogenin과 IL-6 농도를 측정하여 초기임신의 예후를 알아보려는 연구는 없었다. 자연유산은 궁극적으로 자궁-태반 접착면의 분리가 발생하는 것이다. 그 결과, 유산 발생에 면역적 요인이나 혈관생성인자와 관련된 화학적 변화들 중 어떤 것이 원인으로 작용하였던 간에 자궁경부 분비물 내에 이 물질(들)이 나타날 것이다. 이에 본 연구는 임신 10주 이내에 처음 산부인과를 방문한 임신부를 대상으로 자궁경부 질분비물내 angiogenin과 IL-6 농도를 측정하고, 해당 임신의 경과를 확인하여 이들 물질들의 농도와 초기임신의 예후가 관련성이 있는지 확인하고자 하였다.

## 연구대상 및 방법

### 1. 대상군의 선정

2001년 1월부터 2001년 12월까지 전향적으로 임신 10주 이전에 연속적으로 서울아산병원 산부인과를 방문한 단태임신부를 대상으로 하였다. 불완전유산, 완전유산, 계류유산, 자궁외임신, 태아기형 또는 염색체 이상, 그리고 모체 만성고혈압과 당뇨병은 대상에서 제외하였다. 대상군에 대해 초음파검사를 시행하여 최종월경일(last menstrual period)을 기준으로 한 임신주수와 초음파검사에 의한 임신주수의 차이가 7일 이내인 경우에는 최종월경일을 기준으로 한 임신주수를 채택하고, 7일 이상인 경우에는 초음파검사를 통한 임신주수를 택하였다. 모든 대상 임신부의 임신 경과를 추적하여 자연유산된 군과 정상 임신 경과를 보인 군으로 분류하여 서로 비교하였다. 정상 임신 경과를 보인 군은 임신 20주 이상 임신을 유지한 경우로 정의하였다. 본 연구는 서울아산병원 임상연구심의위원회의 승인을 받았으며 대상 임신부 모두에게 임상연구 진행에 대해 설명 후 자발적인 동의서를 받았다.

### 2. 초음파검사 및 모체 혈청 $\beta$ -hCG 및 progesterone 농도의 측정

모든 임신부에 대해 질초음파검사를 시행하여 자궁내임신 및 태아 생존 유무를 확인하고 정둔장(crown-rump length)을 측정하였다. 재태낭의 크기 및 위치, 난황의 크기, 융모막하출혈 유무, 그리고 태아 심장박동수를 측정하였다. 적응증이 되는 경우에는 초음파검사를 반복하였다. 모체 혈청  $\beta$ -hCG 및 progesterone 농도의 측정은 임신부가 처음 외래를 방문할 때에 병원 내 핵의학과 검사 기기를 이용하여 radioimmunoassay로 측정하였다.

### 3. 자궁경부 분비물의 채취

임신부가 처음 외래를 방문할 때에 채취하였다. 질경을 통해 노출된 자궁경부의 외구를 마른 솜으로 닦아낸 후에 dacron polyester fiber swab을 자궁경관 내로 삽입하여 10초 정도 그대로 두어 면봉이 분비물에 충분히 적셔지게 하였다. 면봉을 즉시 sample buffer (1% bovine serum albumin in Tris buffer with 5 mmol/L EDTA, 0.5 TIU aprotinin, 5 mmol/L phenylmethylsulfonyl fluoride) 1 mL이 담긴 polypropylene conical tube에 넣어 4°C에 48시간 보관하였다가 용액만 1 mL을 채취하여 측정할 때까지 -70°C에 보관하였다.

### 4. Angiogenin 농도 측정

정량적인 sandwich enzyme immunoassay 방식인 Quantikine ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 사용하였다. 측정 방법은 diluents assay RD1A 50  $\mu$ L를 microtube에 담고, 자궁경관 분비물에서 얻은 부유액 200  $\mu$ L를 첨가한 후 1시간 동안 두었다. 세척용 완충액을 이용하여 세척과 incubation을 3회 반복하였다. Angiogenin conjugate 200  $\mu$ L을 첨가 후 실온에 1시간을 두었다. Substrate 용액 200  $\mu$ L을 첨가한 후 암실에서 20분간 incubation하였다. 마지막으로 50  $\mu$ L stop solution을 추가한 후 30분 이내에 450 nm에서 판독하였다. 측정에 사

용한 angiogenin 항체는 다른 시토킨에 반응하지 않고 angiogenin에만 특이적으로 반응하는 것을 사용하였다. Kit의 통상 측정 범위는 78.1–5,000 pg/mL이고, 최저 측정 농도는 6 pg/mL이었다.

## 5. IL-6 농도 측정

정량적인 sandwich enzyme immunoassay 방식인 Amersham ELISA kit (Buckinghamshire, UK)를 사용하였다. 측정 방법은 사람 IL-6에 대한 biotinylated 항체를 microtube에 50 µL를 넣고 50 µL의 자궁경관 분비물에서 얻은 부유액을 첨가한 후 2시간 동안 두었다가 3회 세척하였다. 그 후 희석된 streptavidin-HRP 용액 100 µL를 추가한 후에 실온에서 30분간 incubation하였다. 세척을 3회 반복한 후에 미리 혼합된 TMB substrate 용액 100 µL를 추가한 후 실온에 30분 동안 그대로 두었다. 마지막으로 100 µL stop solution을 추가한 후 microplate 판독기를 이용하여 450 nm에서 판독하였다. 측정에 사용한 IL-6 항체는 사람의 다른 시토킨에 반응하지 않고 천연 및 합성 인간 IL-6에만 특이적으로 반응하는 것을 사용하였다. Kit의 통상 측정 범위는 10–400 pg/mL이고, 최저 측정 농도는 1 pg/mL이었다.

## 6. 통계분석

연속변수에 대한 비교는 Student *t*-test, Mann-Whitney *U* test, 또는 Kruskal-Wallis test를 적절히 이용하였으며, 구간변수의 비교는 Chi-square test 또는 Fisher's exact test를 적절히 사용하였다. 각 물질의 임신주수에 따른 농도 변화 유무를 확인하기 위해 선형회귀분석을 시행하였다.  $P < 0.05$ 를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였고, 통계처리를 위해 SPSS ver. 18 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다.

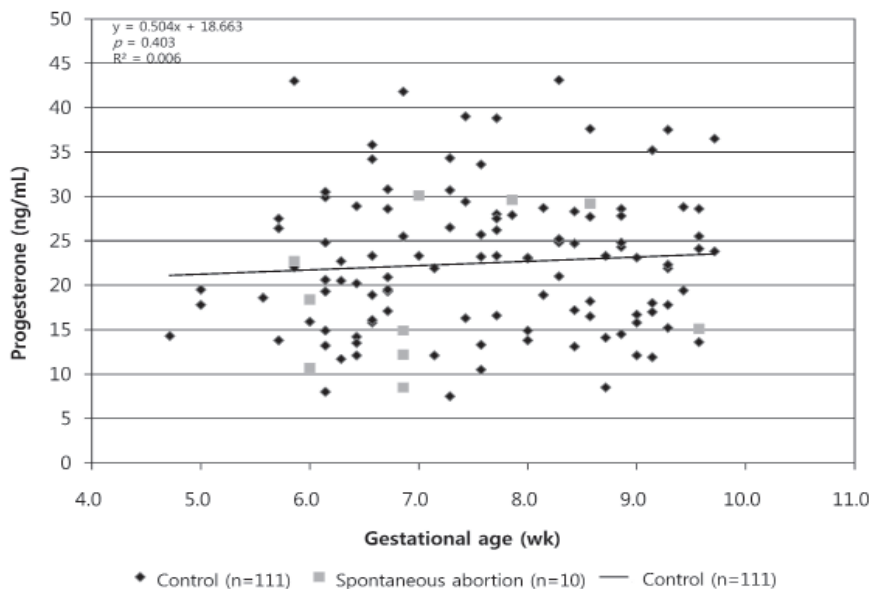
## 결 과

연구 기간 중 총 175명의 단태임신부가 등록되었다. 이 중 추적관찰이 되지 못한 18명과 모체의 체내 농도를 측정하고자 했던 angiogenin, IL-6, 또는 progesterone 중 한 가지라도 측정이 이루어지지 못한 36명을 제외한 121명의 임신부를 대상으로 하였다. 이 중 임신 20주 이전에 자연유산된 임신부는 10명(8.3%)이었다. 최종월경일을 기준으로 한 임신주수가 초음파검사를 기준으로 한 임신주수보다 7일 이상 차이가 나는 경우에는 최종 임신주수는 초음파검사 결과를 기준으로 보정하였다.

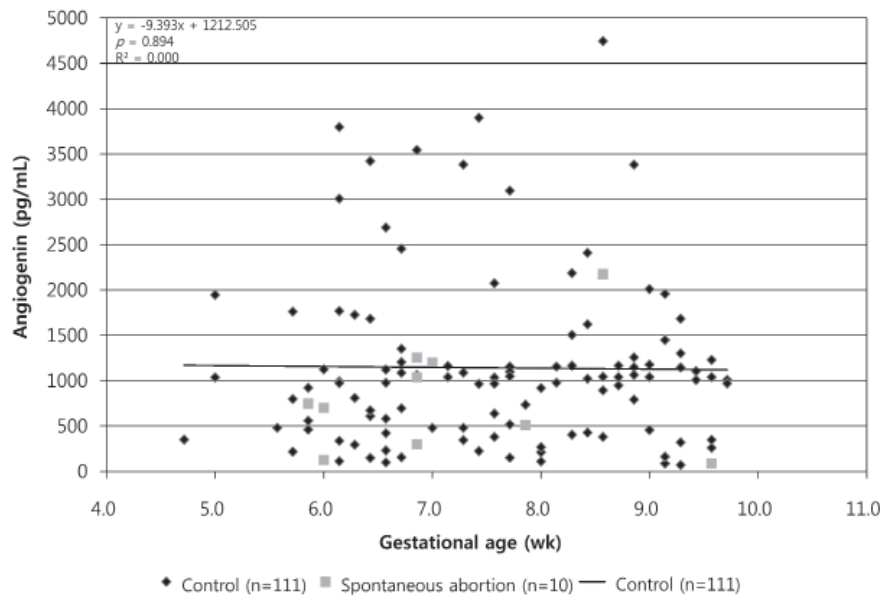
먼저 검체를 채취할 때의 임신주수가 각 군 사이의 progesterone, angiogenin, 그리고 IL-6 농도 비교에 영향을 미치는지 알아보기 위해 초음파검사 결과로 임신주수를 보정한 대조군 111명에 대해 임신주수에 따른 각 물질의 농도 변화를 선형회귀분석으로 알아보았다(Figs. 1–3). 그림과 같이 모체 혈청 progesterone 농도, 자궁경부 분비물내 angiogenin과 IL-6 농도는 임신주에 따른 유의한 변화를 보이지 않았다.

자연유산된 10명과 임신 20주 이후까지 임신을 유지한 대조군 111명의 임신부 연령, 검체 채취할 때의 임신주수, 경산부의 빈도, 자연유산 과거력, 그리고 현 임신중 질출혈 또는 초음파검사서서 용모막하혈종의 발견 빈도는 모두 서로 유의한 차이가 없었다(Table 1). 또한 두 군 사이에 모체 혈청 progesterone 농도, 자궁경부 분비물내 angiogenin 및 IL-6 농도도 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

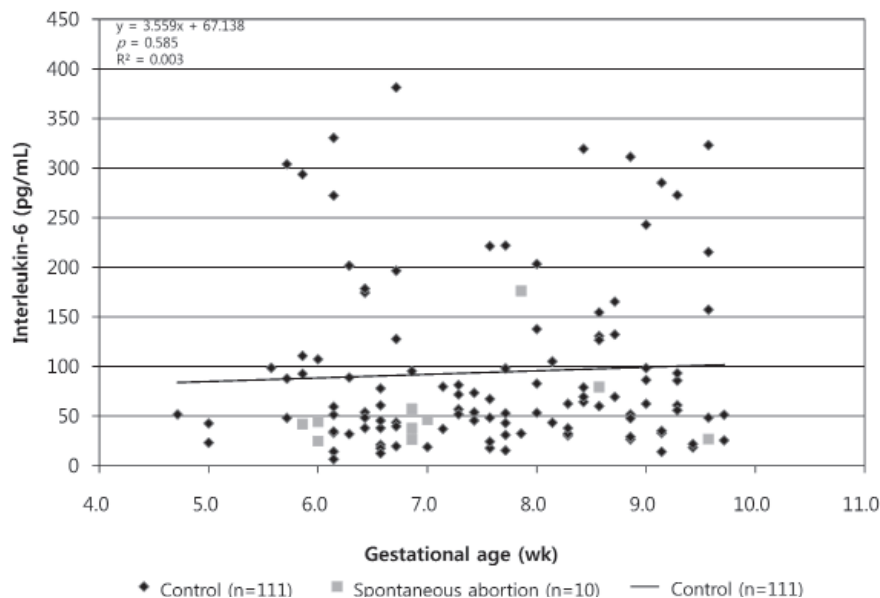
대조군 111명을 다시 최종월경일을 기준으로 한 임신주수가 초음파검사 결과를 기준으로 한 임신주수보다 6일 이상 많은 경우를 임신주수 불일치군(25명)으로 하고, 6일보다 적은 경우를 일치군(86명)으로 하여 임신부의 특성 및 모체 혈청 progesterone과 자궁경부 분비물내 angiogenin과 IL-6 농도를 서로 비교하였다(Tables 3, 4). 두 군 사이에 임신부 연령, 경산부의 빈도, 자연유산 과거력, 그리고 현 임신중 질출혈 또는 초음파검사서서 용모막하혈종의 발견 빈도는 서로 유의한 차



**Fig. 1.** Scattergram of maternal serum progesterone levels in normal (◆; n=111) and spontaneous abortion group (■; n=10). Note the values of spontaneous abortion group are scattered evenly up and below the gestational age-related trend line for the values of normal group.



**Fig. 2.** Scattergram of cervical angiogenin levels in normal (◆; n=111) and spontaneous abortion group (■; n=10). Note the most values of spontaneous abortion group are scattered below the gestational age-related trend line for the values of normal group.



**Fig. 3.** Scattergram of cervical interleukin-6 levels in normal (◆; n=111) and spontaneous abortion group (■; n=10). Note the most values of spontaneous abortion group are scattered below the gestational age-related trend line for the values of normal group.

이가 없었으나, 임신주수 불일치군에서 검체를 채취할 때의 임신주수가 일치군에 비해 유의하게 적었다( $6.7 \pm 1.0$ 주 대  $7.8 \pm 1.2$ 주) ( $P < 0.001$ ). 모체 혈청 progesterone 농도는 두 군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았으나, 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도는 임신주수 일치군에서 불일치군보다 유의하게 높았다( $P = 0.018$ ). 자궁경부 분비물내 IL-6 농도도 임신주수 일치군에서 불일치군보다 높게 측정되는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다( $P = 0.06$ ). 다음으로 정상임신 경과를 보인 군을 임신주수 일치군과 불일치군으로 분류하고 이들과 자연유산군을 포함한 세 군에 대해 모체 혈청 progesterone과 자궁경부 분비물내 angiogenin과 IL-6 농도를 서로 비교하였는데, 모체 혈청 progesterone

농도는 각 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았으나, 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도는 세 군 간에 유의한 차이를 보였으며( $P = 0.041$ ), 자궁경부 분비물내 IL-6 농도는 각 군 간에 차이를 보이는 경향을 보였다( $P = 0.059$ ) (Table 5).

## 고찰

임신 초기, 태아 모체간 계면(feto-maternal interface)의 신혈관형성(angiogenesis)은 정상적인 배아(embryo)의 자궁내착상 및 성장발육

에 필수적이며, 태반용모내의 혈관망 형성을 조절하는 과정이 부적절한 결과로 태반관류(placental perfusion)의 감소가 있는 경우에는 불량한 임신예후와 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 신혈관형성은 acidic fibroblast growth factor, basic fibroblast growth factor, transformation growth factor, angiogenin에 의해 유도되는데 이들 일련의 인자는 신혈관형성인자(angiogenic factor)로 통칭된다[21,22]. 신혈관형성인자들이 태반내에 많이 존재하고 있어 영양배엽세포를 조절

할 뿐 아니라 태반기저부를 공급하는 나선동맥과 태반자체에서의 혈관형성을 자극하는데 관여하는 것으로 알려져 있다[23].

신혈관형성인자 중 사람의 결장암 세포주인 HT-29세포주의 세포배양액에서 최초로 분리 보고된 angiogenin은 123개의 amino acid로 구성되어 있으며 토끼의 각막, 닭의 용모영양막, 관절반달 등에 새로운 혈관을 형성하는 강력한 신혈관형성인자로 보고되어 있다[24].

IL-6는 감염이나 조직 손상에 대한 숙주의 반응을 중계하는 물질로서 23–30 kDa 크기의 일군 인산화 당단백질(phosphoglycoprotein)과 43–45 kD 크기의 복합체로 구성되어 있고 단일 유전자인 7p21에 위치한다. IL-6를 분비할 수 있는 세포에는 단핵 세포, 대식 세포, 내피 세포, 섬유아세포, 자궁 내막 간질 세포, 영양모세포 등이 있다[15]. IL-6는 IL-1, TNF- $\alpha$  등과 더불어 정상적인 태반 영양배엽세포의 free  $\beta$ -hCG 분비에 관여한다고 알려져 있다[25].

본 연구는 자궁경부 분비물내 angiogenin과 IL-6 농도를 측정하여 초기임신 예후와의 관련성을 알아본 것으로 이에 대한 연구는 아직 전 세계적으로 보고된 바 없다. 본 연구를 위하여 저자들은 임신 10주 이전에 산부인과를 처음 방문한 임신부를 대상으로 임신 결과에 따라 세 군으로 분류하였다. 즉, 임신 20주 이후까지 임신을 유지한 임신부에 대해 최종월경일과 초음파검사를 통한 임신주수가 서로 6일 미만으로 일치하는 군(임신주수 일치군)과 6일 이상 차이가 나는 군(임신주수 불일치군)으로 나누고, 임신 20주 이내에 자연유산된 군은 따로 분류하였다. 본 연구에서 임신 20주 이후까지 임신을 유지한 111명의 임신부를 임신주수 일치 여부에 따라 두 군으로 분류한 이유는 초기임신에서

**Table 1.** Patient characteristics

Variables	Control (n=111)	Spontaneous abortion (n=10)	P-value
Maternal age (yr)	30.5 $\pm$ 3.3	31.5 $\pm$ 3.4	0.380 <sup>a</sup>
GA at sampling (wk)	7.6 $\pm$ 1.3	7.2 $\pm$ 1.2	0.304 <sup>a</sup>
Parous women	60 (54.1)	7 (70.0)	0.509 <sup>b</sup>
History of spontaneous abortion	23 (20.7)	2 (20.0)	1.000 <sup>b</sup>
Vaginal bleeding	30 (27.0)	6 (60.0)	0.063 <sup>b</sup>
Sonographic subchorionic hematoma	21 (18.9)	2 (20.0)	1.000 <sup>b</sup>

Data are presented as mean $\pm$ standard deviation or n (%).

GA, gestational age.

<sup>a</sup>By Mann-Whitney *U* test.

<sup>b</sup>By Fisher's exact test.

**Table 2.** Maternal serum progesterone and cervical angiogenin and interleukin-6 levels<sup>a</sup> in normal and spontaneous abortion group

Variables	Control (n=111)	Spontaneous abortion (n=10)	P-value <sup>b</sup>
Progesterone (ng/mL)	22.3 (16.1-27.8)	16.8 (11.8-29.3)	0.272
Angiogenin (pg/mL)	1009.7 (459.9-1256.8)	723.4 (257.1-1213.3)	0.340
Interleukin-6 (pg/mL)	60.0 (37.1-110.7)	43.3 (26.8-62.8)	0.132

<sup>a</sup>Data are presented as median and inter-quartile range.

<sup>b</sup>Statistical analysis was done by Mann-Whitney *U* test.

**Table 3.** Clinical characteristics of control group stratified by discordancy<sup>a</sup> in gestational age calculated by menstrual period versus ultrasonography

Variables	Concordant (n=86)	Discordant (n=25)	P-value
Maternal age (yr) <sup>b</sup>	30.1 $\pm$ 3.3	31.7 $\pm$ 3.0	0.025 <sup>c</sup>
GA at sampling (wk) <sup>b</sup>	7.8 $\pm$ 1.2	6.7 $\pm$ 1.0	<0.001 <sup>c</sup>
Parous women (%)	46 (53.5)	14 (56.0)	1.000 <sup>d</sup>
History of spontaneous abortion (%)	17 (19.8)	6 (24.0)	0.780 <sup>d</sup>
Vaginal bleeding (%)	24 (27.9)	6 (24.0)	0.802 <sup>d</sup>
Sonographic subchorionic hematoma (%)	17 (19.8)	4 (16.0)	0.779 <sup>d</sup>

GA, gestational age.

<sup>a</sup>Discordancy is defined if the gestational age calculated by ultrasonography is 6 days or less than the gestational age by last menstrual period.

<sup>b</sup>Data are presented as mean $\pm$ standard deviation.

<sup>c</sup>By Mann-Whitney *U* test.

<sup>d</sup>By Fisher's exact test.



**Table 4.** Maternal serum progesterone and cervical angiogenin and interleukin-6 levels<sup>a</sup> in the control group stratified by discordancy<sup>b</sup> in gestational age calculated by menstrual period versus ultrasonography

Variables	Concordant (n=86)	Discordant (n=25)	P-value <sup>c</sup>
Progesterone (ng/mL)	22.6 (16.6-26.3)	21.9 (14.9-30.7)	0.688
Angiogenin (pg/mL)	1039.8 (480.4-1534.4)	798.0 (222.8-1054.7)	0.018
Interleukin-6 (pg/mL)	65.7 (36.1-133.6)	48.3 (36.5-75.6)	0.060

<sup>a</sup>Data are presented as median and inter-quartile range.<sup>b</sup>Discordancy is defined if the gestational age calculated by ultrasonography is 6 days or less than the gestational age by last menstrual period.<sup>c</sup>Statistical analysis was done by Mann-Whitney *U* test.**Table 5.** Maternal serum progesterone and cervical angiogenin and interleukin-6 levels<sup>a</sup> in the concordant and discordant control groups stratified by discordancy<sup>b</sup> in gestational age calculated by menstrual period versus ultrasonography and spontaneous abortion group

Variables	Concordant (n=86)	Discordant (n=25)	Spontaneous abortion (n=10)	P-value <sup>c</sup>
Progesterone (ng/mL)	22.6 (16.6-26.3)	21.9 (14.9-30.7)	16.8 (11.8-29.3)	0.499
Angiogenin (pg/mL)	1039.8 (480.4-1534.4)	798.0 (222.8-1054.7)	723.4 (257.1-1213.3)	0.041
Interleukin-6 (pg/mL)	65.7 (36.1-133.6)	48.3 (36.5-75.6)	43.3 (26.8-62.8)	0.059

<sup>a</sup>Data are presented as median and inter-quartile range.<sup>b</sup>Discordancy is defined if the gestational age calculated by ultrasonography is 6 days or less than the gestational age by last menstrual period.<sup>c</sup>Statistical analysis was done by Kruskal-Wallis test.

angiogenin 또는 IL-6의 발현 여부에 따라 같은 임신주수라고 해도 태반조작과 태아의 발달 속도에 차이가 있고, 그에 따라 초음파검사에서 태아의 확인시기가 차이가 날 수 있다고 가정하였기 때문이다. 또한 저자들은 자연유산의 경우에는 혈관형성의 장애로 인해 최종적으로 자궁-태반접촉면의 분리가 오게 되는데, 이 병인론에 자궁-태반접촉면에서의 angiogenin과 IL-6의 합성 장애가 있을 것으로 가정하였다.

저자들은 자연유산군을 임신 20주 이후까지 임신을 유지한 111명의 정상임신군, 그리고 이들 정상임신군 중 임신주수 일치군만을 선택한 대조군과의 임신 경과를 비교하였다. 결과에서 본 연구는 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도가 자연유산군에서 임신주수 일치 정상임신 대조군과 비교하여 유의하게 감소한 것을 관찰하였다. 초기임신주수 변화에 따른 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도를 측정하는 연구는 아직 보고된 바 없다. Hayashi 등[26]은 임신중 모체혈청 angiogenin 농도를 측정하였는데, 임신 15주까지는 감소하다가 이후 점차 증가한다고 하였다. 또한 이들은 정상임신과 절박조기진통 임신 사이에 혈청 angiogenin 농도의 유의한 차이는 없다고 하였다. 본 연구에서는 임신 10주까지 자궁경부 분비물내 angiogenin과 IL-6 농도가 임신주수 변화에 따른 차이를 보이지 않았다. 이는 앞서 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도가 자연유산군에서 임신주수 일치 정상임신 대조군과 비교하여 유의하게 감소한 것이 자궁-태반접촉면에서 angiogenin의 합성 또는 분비 장애가 발생했기 때문으로 추측할 수 있는 결과이다.

Angiogenin은 조직의 허혈에 의해 합성이 촉진되며, 그에 따라 신생혈관 형성에 관여하게 된다[12-14]. 본 연구에서 정상임신 경과를 보인 군에서 임신주수 불일치군에서 임신주수 일치군보다 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도가 유의하게 낮게 측정된 것은 임신부마다 조직의 허혈 발생 정도, 또는 허혈에 의한 angiogenin 합성 및 분비의 자극 등

이 체질적으로 차이가 있음을 암시하는 것이다. 결국 angiogenin의 합성 및 분비의 지연이 있을 때에 착상 전후 수정된 난자 및 초기 배아 또는 태아가 이에 대해 어떤 반응을 보이는가에 따라 임신은 계속 유지되거나 유산이 되기도 할 것이다. 본 연구에서 자연유산군과 정상임신 경과를 보인 임신주수 불일치군 사이에 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도가 비슷한 것은 위의 가정을 간접적으로 지지하는 결과이다. 한편, angiogenin은 임신 전 기간에 걸쳐 계속 합성되어 분비되므로 그에 따라 임신 경과는 초기임신뿐만 아니라 중기 또는 말기에도 영향을 받게 될 것이다.

정상 영양막에서 합성되는 IL-6가 hCG의 분비를 자극하여 정상적인 임신을 유지한다는 이전의 연구 결과에 따라 본 연구는 자궁경부 내 IL-6 농도를 측정하여 임신 결과에 따른 비교를 하였다. 결과에서 자궁경부 분비물내 IL-6 농도는 자연유산군, 정상임신 경과를 보인 임신주수 일치군 및 불일치군 사이에 angiogenin의 경우와 비슷한 경향을 보였다. 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았지만 이는 본 연구의 한계점의 하나인 대상군 수의 부족에 기인할 것으로 추측되어, 추후 더 많은 대상군을 통한 전향적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

한편, 본 연구에서 모체 혈청 progesterone 농도 측정은 초기임신 경과와 유의한 관련성을 보여주지 못했는데, 이는 이전의 연구 결과들과 다소 차이가 있는 것이기는 하지만 이전의 연구들이 대상군의 선정과 관련한 연구방법상의 제한점이 있는 것이기 때문에 결론을 내리기에 더 많은 연구가 필요할 것으로 판단된다[5,6].

본 연구는 대상군 수가 적어서 결과 해석에 주의를 필요로 한다는 점 이외에도 몇 가지 제한점이 있다. 첫째, 자궁경부 분비물 채취 방법을 균일화하기 어려워 물질의 측정 농도가 실제 분비물내 농도를 제대로 반영하는지 검증하지 못했다. 둘째, 임신 20주 이후까지 정상 임신 경과

를 보인 임신주수 불일치군의 경우에 그 군의 구성이 다양한데 이에 대한 분류가 제대로 되지 않았다는 점이다. 즉, 임신주수 불일치를 보이는 원인은 임신부가 최종월경일과 월경주기를 제대로 기억하지 못해서일 수도 있고, 배란이 늦어지거나 초음파검사에서 발견 시기가 늦어져서일 수도 있으며, 실제로 angiogenin 또는 IL-6 분비 장애로 인해 늦게 임신이 확인되기 때문일 수도 있을 것이다. 이처럼 다양한 원인들에 의한 결과를 모두 초음파검사 한 가지에 의존함으로써 결과 해석이 부정확할 수 있다. 이러한 한계점에도 불구하고, 본 연구는 전 세계적으로 처음 자궁경부 분비물내 angiogenin과 IL-6 농도를 측정하여, 이를 초기임신 예후와 연관지어 분석하였다는 점에서 그 의미가 크다고 할 수 있다.

결론적으로, 본 연구에서 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도는 자연유산군과 정상 임신 경과를 보인 임신주수 불일치군에서 임신주수 일치군에 비해 감소하였는데, 이는 angiogenin이 초기임신 경과에 결정적 역할을 하고, 또한 예후 예측 표지자로서 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 판단되므로, 이를 뒷받침하기 위해서는 추후 더 많은 대상군을 통한 전향적 연구가 필요할 것이다.

## Acknowledgments

본 연구는 아산생명과학연구소 연구비 지원(#01-120)에 의한 것임.

## References

1. Scott JR. Early pregnancy loss. In: Scott JR, DiSaia PJ, Hammond CB, Spellacy WN, editors. Danforth's obstetrics and gynecology. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p.143-53.
2. Batzofin JH, Fielding WL, Friedman EA. Effect of vaginal bleeding in early pregnancy on outcome. Obstet Gynecol 1984;63:515-8.
3. Funderburk SJ, Guthrie D, Meldrum D. Outcome of pregnancies complicated by early vaginal bleeding. Br J Obstet Gynaecol 1980;87:100-5.
4. Fossum GT, Davajan V, Kletzky OA. Early detection of pregnancy with transvaginal ultrasound. Fertil Steril 1988;49:788-91.
5. al-Sebai MA, Kingsland CR, Diver M, Hipkin L, McFadyen IR. The role of a single progesterone measurement in the diagnosis of early pregnancy failure and the prognosis of fetal viability. Br J Obstet Gynaecol 1995;102:364-9.
6. Kim JI, Kim KJ, Hwang WJ, Han JS, Won HS, Lee PR, et al. The value of a single progesterone measurement in the predictor of early pregnancy failure and the prognosis of fetal viability. Korean J Perinatol 1996;7:304-8.
7. Strydom DJ, Fett JW, Lobb RR, Alderman EM, Bethune JL, Rioridan JF, et al. Amino acid sequence of human tumor derived angiogenin. Biochemistry 1985;24:5486-94.
8. Fett JW, Strydom DJ, Lobb RR, Alderman EM, Bethune JL, Rioridan JF, et al. Isolation and characterization of angiogenin, an angiogenic protein from human carcinoma cells. Biochemistry 1985;24:5480-6.
9. Weiner HL, Weiner LH, Swain JL. Tissue distribution and developmental expression of the messenger RNA encoding angiogenin. Science 1987;237:280-2.
10. Rybak SM, Fett JW, Yao QZ, Vallee BL. Angiogenin mRNA in human tumor and normal cells. Biochem Biophys Res Commun 1987;146:1240-8.
11. Spong CY, Ghidini A, Sherer DM, Pezzullo JC, Ossandon M, Eglington GS. Angiogenin: a marker for preterm delivery in mid-trimester amniotic fluid. Am J Obstet Gynecol 1997;176:415-8.
12. Kolben M, Bläser J, Ulm K, Schmitt M, Schneider KT, Tschesche H, et al. Angiogenin plasma levels during pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1997;176:37-41.
13. Zetter BR. Angiogenesis. State of the art. Chest 1988;93:159S-66S.
14. Spong CY, Ghidini A, Dildy GA, Loucks CA, Varner MW, Pezzullo JC. Elevated second-trimester maternal serum hCG: a marker of inadequate angiogenesis. Obstet Gynecol 1998;91:605-8.
15. Kameda T, Matsuzaki N, Sawai K, Okada T, Saji F, Matsuda T, et al. Production of interleukin-6 by normal human trophoblast. Placenta 1990;11:205-13.
16. Taniguchi T, Matsuzaki N, Kameda T, Shimoya K, Jo T, Saji F, et al. The enhanced production of placental interleukin-1 during labor and intrauterine infection. Am J Obstet Gynecol 1991;165:131-7.
17. Li Y, Matsuzaki N, Masuhiro K, Kameda T, Taniguchi T, Saji F, et al. Trophoblast-derived tumor necrosis factor- $\alpha$  induces release of human chorionic gonadotropin using interleukin-6 (IL-6) and IL-6-receptor-dependent system in the normal human trophoblasts. J Clin Endocrinol Metab 1992;74:184-91.
18. Matsuzaki N, Li Y, Masuhiro K, Jo T, Shimoya K, Taniguchi T, et al. Trophoblast-derived transforming growth factor- $\beta$  1 suppresses cytokine-induced, but not gonadotropin-releasing hormone-induced, release of human chorionic gonadotropin by normal human trophoblasts. J Clin Endocrinol Metab 1992;74:211-6.
19. Matsuzaki N, Shimoya K, Taniguchi T, Neki R, Okada T, Saji

- F, et al. Paracrine effect of trophoblast-derived cytokines on placental hCG secretion. In: Barnea ER, Check JH, Grudzinskas JG, Maruo T, editors. Implantation and early pregnancy in humans. New York: Parthenon Publishing; 1994. p.229.
20. Lee PY, Kim BH, Yoo HK, Won HS, Park EJ, Lee JH, et al. Altered trophoblastic apoptosis in early pregnancy losses. Korean J Obstet Gynecol 1999;42:1201-6.
21. Reynolds LP, Killilea SD, Redmer DA. Angiogenesis in the female reproductive system. FASEB J 1992;6:886-92.
22. Cockerill GW, Gamble JR, Vadas MA. Angiogenesis: models and modulators. Int Rev Cytol 1995;159:113-60.
23. Vuckovic M, Ponting J, Terman BI, Niketic V, Seif MW, Kumar S. Expression of the vascular endothelial growth factor receptor, KDR, in human placenta. J Anat 1996;188:361-6.
24. Fett JW, Strydom DJ, Lobb RR, Alderman EM, Vallee BL, Artym-iuk PJ, et al. Lysozyme: a major secretory product of a human colon carcinoma cell line. Biochemistry 1985;24:965-75.
25. Heyl PS, Miller W, Canick JA. Maternal serum screening for aneuploid pregnancy by alpha-fetoprotein, hCG, and unconjugated estriol. Obstet Gynecol 1990;76:1025-31.
26. Hayashi K, Yanagihara T, Hata T. Serum angiogenin levels during menstrual cycle and pregnancy. Gynecol Obstet Invest

### 초기임신에서 자궁경부 분비물내 angiogenin 및 interleukin-6 농도와 임신 경과와의 연관성

울산대학교 의과대학 서울아산병원 산부인과학교실  
현민경, 정복경, 심재윤, 원혜성, 이필량, 김 암

#### 목적

본 연구는 임신 10주 이내의 임신부를 대상으로 자궁경부 분비물내 angiogenin과 interleukin (IL)-6 농도를 측정하고, 해당 임신의 경과를 확인하여 이들 물질들의 농도와 초기임신의 예후가 관련성이 있는지 확인하고자 하였다.

#### 연구방법

2001년 1월부터 2001년 12월까지 전향적으로 임신 10주 이전에 연속적으로 서울아산병원 산부인과를 처음 방문한 단태임신부를 대상으로 모체 혈청  $\beta$ -hCG 및 progesterone 농도의 측정하였으며, 자궁경부 분비물을 채취하여 angiogenin과 IL-6의 농도를 ELISA kit를 이용하여 측정하였다. 또한 질초음파를 시행하여, 정둔장, 융모막하출혈 유무, 태아 심박동수 등을 측정하였다.

#### 결과

총 121명의 임신부를 대상으로 하였으며, 이 중 임신 20주 이전에 자연유산된 임신부는 10명(8.3%)이었다. 모체 혈청 progesterone 농도, 자궁경부 분비물내 angiogenin과 IL-6 농도는 임신주에 따른 유의한 변화를 보이지 않았다. 임신 20주 이후까지 임신을 유지한 임신부에 대해 최종월경일과 초음파검사를 통한 임신주수가 서로 6일 미만으로 일치하는 군과 6일 이상 차이가 나는 군으로 나누고, 임신 20주 이내에 자연유산된 군은 따로 분류하였다. 모체 혈청 progesterone 농도는 각 군 간의 유의한 차이를 보이지 않았으나, 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도는 유의한 차이를 보였으며( $P=0.041$ ), 자궁경부 분비물내 IL-6 농도는 각 군 간에 차이를 보이는 경향을 보였다( $P=0.059$ ).

#### 결론

Angiogenin이 초기임신 경과에 결정적 역할을 할 것이라 예상되며, 자궁경부 분비물내 angiogenin 농도는 예후 예측 표지자로서 중요한 역할을 할 수 있을 것이다.

**중심단어:** Angiogenin, Interleukin-6, 자궁경부 분비물, 초기임신, 임신경과