대한산부회지 제45권 제6호 2002
Vol. 45 No. 6 June 2002

정상임신, 전자간증 및 태아 성장 발육장애 태반에서의 Apoptosis 비교

계명대학교 의과대학 산부인과학교실
김종인 · 배정만

=ABSTRACT=

Comparison of Placental Apoptosis in Normal Pregnancy, Preeclampsia and Intrauterine Growth Restriction

Jong In Kim, M.D., Jung Man Bae, M.D.
Department of Obstetrics and Gynecology School of Medicine, Keimyung University

Objective : Aims of this study were to conclusively demonstrate apoptosis in the human placenta and to compare of placental apoptosis in normal pregnancy, preeclampsia and intrauterine growth restriction.

Methods : Placental samples obtained from 30 term, normal pregnancy, 30 pregnancies complicated intrauterine growth restriction, 30 pregnancies complicated preclampsia.

The definition used to identify intrauterine growth restriction depends on fetal body weight ratio less than 10 percentile by ultrasonography. The definition used to identify preeclampsia depend on ACOG criteria. Light microscopy and polyclonal antibodies of Fas, Fas ligand, Bax, Bcl-2 were used to identify apoptosis.

Results : Apoptosis was conclusively demonstrated within placental tissue. Results of immunohistochemical analysis of Fas in the trophoblast of normal pregnancy, pregnancy induced hypertension and intrauterine growth restriction were negative of 86.7%, 26.7% and 13.3% respectively.

Results of immunohistochemical analysis of Fas lgand in the trophoblast of normal pregnancy, pregnancy induced hypertension and intrauterine growth restriction were diffuse positive of 53.3%, 16.7% and 6.7% respectively.

Results of immunohistochemical analysis of Bcl-2 in the trophoblast of normal pregnancy, pregnancy induced hypertension and intrauterine growth restriction were diffusely positive of 90.0%, 76.7% and 66.7% respectively. Results of immunohistochemical analysis of Bax in the trophoblast of normal pregnancy, preeclampsia and intrauterine growth restriction were diffuse positive of 40.0%, 40.0% and 50.0% respectively.

Conclusion : Apoptosis and altered expression of Bcl-2 in trophoblast were conclusively demonstrated within placental tissue, suggesting that it may play a role in the normal development and aging of the placenta. Placental apoptosis and altered expression of Fas and Fas ligand in trophoblast might influence pathogenesis or pathophysiologic mechanism of preeclamsia and intrauterine growth restriction.

Key Words : Apoptosis, normal pregnancy, preeclampsia and intrauterine growth restriction

세포고사 (apoptosis)란 세포 분열과 함께 조직 내에서 세포의 수를 조절하며, 세포 사멸에 관계하는 현상으로서, 생리적 혹은 병적인 일련의 생물학적 과정으로 나타나는 것으로 알려져 있으며, Kerr 등 (1972)에 의하여 처음으로 예정된 세포사의 과정이 기술되었다.[1] 세포고사는 괴사와 달리 세포의 내부 기전에 의존하는 세포사의 능동적 형태이며, 또한 독성 성분의 유리없이 대식세포에 의해 정상적인 세포의 인지, 흡수, 분해가 일어나고, 일반적인 조직학적인 인식 1-2시간 전에 세포고사 세포의 인지, 흡수, 분해된다.[2,3] 세포고사는 핵 이질염색질의 농축이 핵막에 근접하여 반달형의 형태로 있다가, 하나 혹은 여러 개의 농축체로 변화된 후 다양한 대식세포에

접수일 : 2002. 3. 11.
주관책임자 : 김종인

의하여 소화된다. 이때 전자현미경에 의하여 쉽게 관찰되며 세포고사를 정확하게 확인할 수가 있다.[4] 조직내 절대적인 세포고사 세포 수의 분명한 변화가 중요한 의미를 가지며, 만약 세포 고사 세포의 제거시간이 1시간이고, 세포의 0.5%가 세포고사의 형태를 보이면, 48시간 내에 세포의 25%가 제거된다.[5] 인간에 있어서 세포고사의 분자기전은 복잡하며, 여러 가지의 신호전달경로에 의해서 일어난다. Fas 배위자 (ligand)나 Fas 수용체 (receptor)와 같은 면역이 매개된 세포 외의 배위자 및 수용체, Bcl-2 family와 같은 내생적인 (endogeneous) 사망의 신호를 들 수 있다. 그리고 B 세포 림프종에서 분리되어, 세포고사를 억제하고 종양형성 (oncogenesis)에 참여하는 Bcl-2 계열의 유전자들은 세포고사를 자극하는 Bax와 세포 고사를 억제하는 Bcl-2와 Bcl-x 등이 있다.[6] 인간의 임신에서 Bcl-2는 임신 전 기간을 통하여 융모막 융모의 영양막 세포 (trophoblast)에 면역학적으로 존재하며, 임신주기의 진행에 따라 감소하는, 정상적인 태반노화에 관여하는 것으로 보고되고 있다.[7,8]

Fas는 림프구와 영양 배엽 등이 포함된 많은 세포에서 발현되며, Fas 배위자는 tumor necrosis factor계열 속하며, 세포고사를 유도하기 위하여 Fas 수용체에 작용한다.[9] Fas 배위자는 특별한 면역이 존재하는 눈의 전방체와 고환의 Sertoli 세포 등과 전 임신기간 동안 인간의 영양 배엽에서 발현되며,[10] Fas에 관계되는 림프구를 활성화하여 세포고사를 촉진하는 것으로 알려져 있다.

모든 임신의 7-8%에서 발병하는 전자간증은 모체와 태아의 유병율 및 이환율의 주원인으로 알려져 있으나, 그 원인은 아직 규명되지 않고 있다.[11] 또한 전자간증이 동반된 임신의 30% 정도에서 태아의 성장 발육 장애가 나타나는 것으로 보고되고 있다.[12] 전자간증의 태반 생검 조직에서 세포간 영양세포막의 침윤이 얕고, 내 혈관계 침윤이 거의 없는 소견을 보여 주고있다.[13,14]

태아 소실, 태아가사, 태변 흡입, 신생아 저혈당, 저 체온 등이 증가되어 신생아의 유병율과 이환율이 정상보다 많이 증가되는 태아 성장 발육 장애는 3-10%에서 발생하며,[15] 임상적인 비정상적 소견이 있으면서, 초음파 검사상 예상되는 태아의 체중이 10 백분위수 이하인 경우로 정의된다.[16] 세포고사는 저산소증의 경우에 의해서도 유발된다.[2] 태반 내 순환이 감소되어 나타나는 전자간증과 태아 성장 발육 장애의 경우 나타나는 세포고사가 저산소증에 의한 것으로 설명되나, 그 원인은 확실치 않다. 동물 실험에서 nitric oxide와 내피세포에서 유리되는 혈관 확장물질의 만성적인 감소가 태아 체중 감소를 유발하며,[17] 비정상적인 면역의 활성 및 비정상적인 태반 소견이 태아 성장 발육 장애의 병태 생리학적인 원인으로 보고되고 있다.[18,19] 태아 성장 발육 장애가 동반된 태반은 정상적인 태반보다 크기는 작고,[5,20,21] 세포의 수가 감소했을 것으로 추정되며, 따라서 태아 성장 발육장애가 동반된 태반에서 세포 고사의 과정이 더 많이 발생한다는 가설이 설정된다.

본 연구의 목적은 정상임신, 전자간증 및 태아 성장 발육장애의 태반에서 세포고사 면역 조절인자인 Fas 배위자, Fas, Bcl-2 등의 태반 내 발현을 비교하여, 전자간증과 태아 성장 발육장애시의 병태 생리적 원인 규명을 하는데 있다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

2001년 1월 1일부터 2001년 8월 30일까지 계명대학교 의과대학 산부인과교실에 제왕절개 및 유도분만을 위해 내원한 임신부 중에서 각각 30명의 태아 성장 발육장애, 전자간증 및 정상임신부를 대상으로 분만 직후 배출된 태반에서 모체와 태아측이 근접한 제대의 기시부 근처에 태반조직을 2×2×2 cm의 크기로 채취하였다. 전자간증은 수축기 및 확장기 혈압이 140/90 mmHg 이상으로, 24시간 단백뇨가 300 mg 이상이거나, 일반적인 뇨검사상 지속적으로 30 mg/dL (1+ urinary stick)인 경우로 정의하였으며, 태아 성장발육장애는 임상적인 비정상적 소견이 있으면서, 초음파 검사상 예상되는 태아의 체중이 10 백분위수 이하인 경우로 정의하였다. 임상적인 통계는 일반적인 임신부 기록부를 통하여 작성하였으며, 또한 흡연, 약물의 사용, 만성 고혈압의 기왕력, 심질환, 대사성 질환, 지질대사의 이상 기왕력이 있는 경우는 연구에서 제외하였다. 비교는 Chi-square test를 시행하여 결과는 mean±SD 표현하였고, 통계적인 유의성의 판정은 $p<0.05$를 기준으로 하였다.

2. Fas, Fas 배위자, Bcl-2 및 Bax의 발현에 대한 면역조직화학염색

Fas, Fas 배위자, Bcl-2 및 Bax의 발현을 위해 분만 직후 채취한 태반은 포르마린이 있는 시험관에 넣어 검사시까지 -80℃에 고정하였다. 면역조직화학적 관찰을 위하여 각각 30예의 정상임신, 태아 성장 발육장애 및 전자간증의 태반조직을 파라핀으로 포매한 후 5 μm 두께로 박절한 다음 유리슬라이드에 부착시키고 60℃에서 1시간 동안 방치한 후 xylene과 계열에탄올로 탈 파라핀 및 함수를 하였다. 내인성 효소의 차단을 위해 메탄올과 30% H_2O_2를 9:1로 혼합한 용액에 30분간 실온에서 방치한 후 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.2)로 수세하였다. 그 후 포르말린 고정으로 조직내 감추어진 항원을 들 내기 위해 1% zinc sulfate 용액에 담근 뒤 microwave 오븐을 이용하여 10분간 3회 가열하였다. 실온에서 20

분 가량 식힌 후 1% 정상 마혈청 (normal horse serum, Vectastain kit, USA)으로 37℃에서 30분간 둔 후 1:50으로 희석된 20 μL의 Fas, Fas 배위자, Bcl-2 및 Bax에 대한 일차항체들 (Table 1)을 조직 절편 위에 놓고 coverslip을 덮은 다음 37℃에서 2시간 반응시켰다.

PBS로 세척 후 이차항체 (biotinylated anti-mouse IgG, Vectastain Elite kit, USA)를 가하여 37℃에서 30분간 둔 후 PBS로 수세하였다. Avidin-biotin peroxidase complex (Vector, USA)을 1:200으로 조직 절편 위에 적당량 놓은 후 37℃에서 30분간 반응시킨 다음 PBS로 수세하고 DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)-H_2O_2용액으로 10-20분간 실온에서 발색시키고 Meyer's hematoxylin으로 대조염색을 실시한 후 관찰하였다.

Fas, Fas 배위자 및 Bax에 대한 양성 대조군으로는 편도선 조직을 사용하였고 Bcl-2에 대한 양성 대조군으로는 사전 실험에 의해 각각의 일차 항체들의 발현이 증명된 여포성 림프종 조직을 사용하였으며 음성 대조군은 일차항체 대신 PBS을 사용하여 위의 동일한 과정에 의해 염색을 시행하였다.

결과의 판독은 전체 영양막세포에서 5% 미만으로 염색되면 음성, 5-50% 사이에서 염색되면 국소성 발현, 50% 이상에서 염색되면 미만성 발현으로 판정하였다.

Table 1. Isotype, Dilution, Source and Antigen Retrieval Method of Primary Antibodies for Immunohistochemistry

Reagent/ Concentration	Type	Source	Antigen retrieval method
Fas (clone sc-715) 1:50	Polyclonal	Santa Cruz, Santa Cruz, CA, USA	Microwave
Fas ligand (clone sc-834) 1:50	Polyclonal	Santa Cruz, Santa Cruz, CA, USA	Microwave
Bax (rabbit anti-human) 1:50	Polyclonal	DAKO, Carpinteria CA, USA	Microwave
Bcl-2 (mouse anti-human) 1:50	IgG1 mAb	DAKO, Carpinteria CA, USA	Microwave

성 적

1. 임상적인 결과

세 군간의 임상적인 소견은 큰 차이는 없었으나 전자간증군에서 태아의 체중이 2,409±1,095 gm, 태아 성장 발육장애군의 태아의 체중이 2,409±1,095 gm으로 정상군의 3,280±274 gm에 비하여 유의하게 작았다 ($p<0.05$, Table 2).

2. 광학 현미경 소견

정상임신, 전자간증 및 태아 성장 발육장애의 태반에서 조직학적인 차이를 관찰할 수 없었다 (Fig. 1).

Table 2. Clinical Characteristics

	Normal pregnancy	IUGR	PIH	P
Case number	30	30	30	
Age	31.7±4.1	31.06±4.6	29.2±3.2	NS
Parity (primi)	6/24 (20%)	15/30 (50%)	20/10 (66.7%)	NS
Gestational age (weeks)	38.5±2.3	36.1±1.2	35.2±1.1	NS
SBP (mmHg)	115.4±8.9	120.16±25.4	152.1±21.4	NS
DBP (mmHg)	73.6±7.9	79.6±15.4	91.8±11.7	NS
Hb (g/dL)	11.2±4.8	11.1±1.7	11.4±1.5	NS
Hct (%)	33.9±3.6	33.7±4.5	34.9±4.1	NS
Platelet (/mm^3)	231,000±51,500	236,000±59,700	181,000±58,930	NS
Body weight (g)	3,280±274	2,108±663	2,409±1,095	.005
Sex (male)	17/13 (56/7%)	17/13 (56.7%)	14/16 (46.7%)	NS
1 AS	7.8±0.34	7.03±1.6	6.26±2.8	NS
5 AS	8.9±0.3	8.1±1.8	7.1±3.2	NS
Cesarean birth/delivery	12/18 (40%)	21/9 (70%)	15/15 (50%)	NS

PIH: Pregnancy induced hypertension; IUGR: Intrauterine growth restriction;
SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure;
Hb: Hemoglobin; Hct: Hematocrit; AS: Apgar score.

3. Fas 단백의 발현

면역조직화학 염색을 이용하여 세포고사 관련 단백질 발현을 영양막 세포에서 조사한 결과 Fas 단백의 발현은 정상임신의 경우 26예 (86.7%)에서 음성, 4예 (13.3%)에서 국소성 발현을 볼 수 있었고 미만성 발현은 관찰되지 않았다. 그러나 전자간증 및 태아 성장 발육장애에서는 각각 14예 (46.7%), 15예 (50.0%)의 국소성 발현과 8예 (26.6%), 11예 (36.7%)의 미만성 발현을 보여 정상임신에 비해 Fas 단백의 발현이 증가하는 양상을 보였다 (Table 3, Fig. 2).

Table 3. Results of Immunohistochemical Analysis of Fas in Trophoblasts of Normal Pregnancy, Pregnancy Induced Hypertension and Intrauterine Growth Restriction

Samples (n)	Negative (%)	Focal/scattered positive (%)	Diffuse positive (%)
Normal pregnancy (30)	26 (86.7)	4 (13.3)	0 (0)
PIH (30)	8 (26.7)	14 (46.7)	8 (26.6)
IUGR (30)	4 (13.3)	15 (50.0)	11 (36.7)

PIH: Pregnancy induced hypertension; IUGR: Intrauterine growth restriction;
Negative: <5% immunoreactive for trophoblasts;
Focal/scattered positive.: 5-50% immunoreactive for trophoblasts;
Diffuse positive: >50% immunoreactive for trophoblasts.

4. Fas 배위자 단백의 발현:

Fas 배위자 단백의 발현은 정상임신에서 미만성 발현이 16예 (53.3%), 국소성 발현이 9예 (30.0%)가 관찰되었고 전자간증에서는 미만성 발현 5예 (16.7%)와 국소성 발현 18예 (60%), 자궁내 태아 성장 발육장애는 2예 (6.7%)의 미만성 발현과 20예 (66.7%)의 국소성 발현이 관찰되어 정상임신에 비해 국소성 발현은 증가하고 미만성 발현이 감소하는 경향을 보였다 (Table 4, Fig. 3). 또한 Fas 배위자 단백의 발현은 Fas 단백에 비해 발현의 강도 (intensity)가 미약하였다.

Table 4. Results of Immunohistochemical Analysis of Fas Ligand in Trophoblasts of Normal Pregnancy, Pregnancy Induced Hypertension and Intrauterine Growth Restriction

Samples (n)	Negative (%)	Focal/scattered positive (%)	Diffuse positive (%)
Normal pregnancy (30)	5 (16.7)	9 (30.0)	16 (53.3)
PIH (30)	7 (23.3)	18 (60.0)	5 (16.7)
IUGR (30)	8 (26.6)	20 (66.7)	2 (6.7)

PIH: Pregnancy induced hypertension; IUGR: Intrauterine growth restriction;
Negative: <5% immunoreactive for trophoblasts;
Focal/scattered positive: 5-50% immunoreactive for trophoblasts;
Diffuse positive: >50% immunoreactive for trophoblasts.

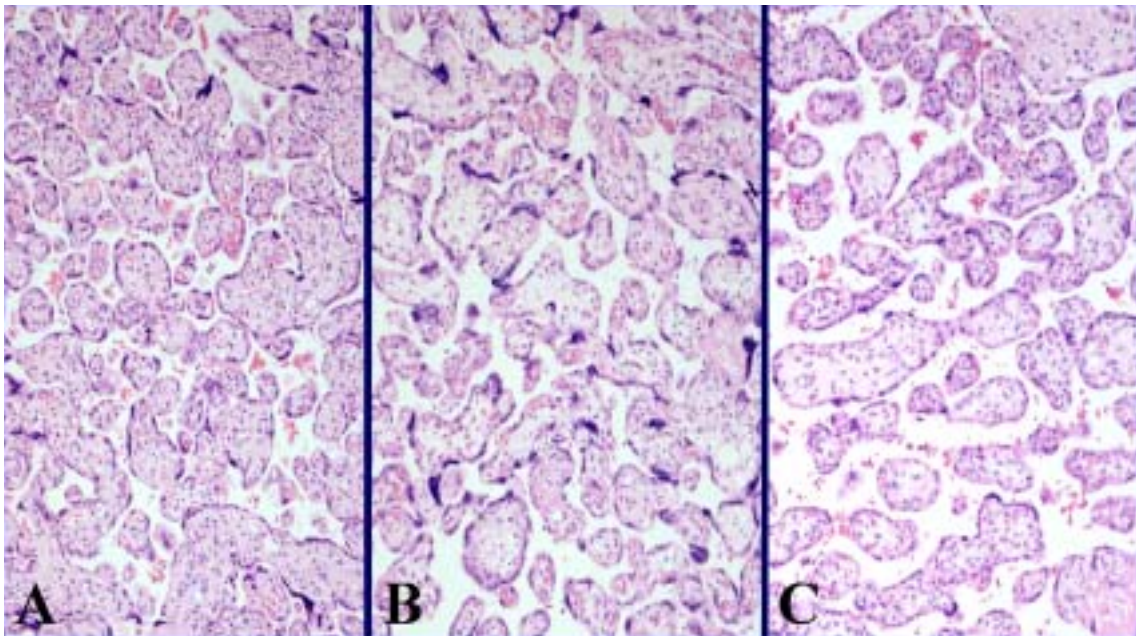

Fig. 1. Microscopic findings show normal pregnancy (A), pregnancy induced hypertension (B) and Intrauterine growth restriction (C) (H & E, original magnification ×100).

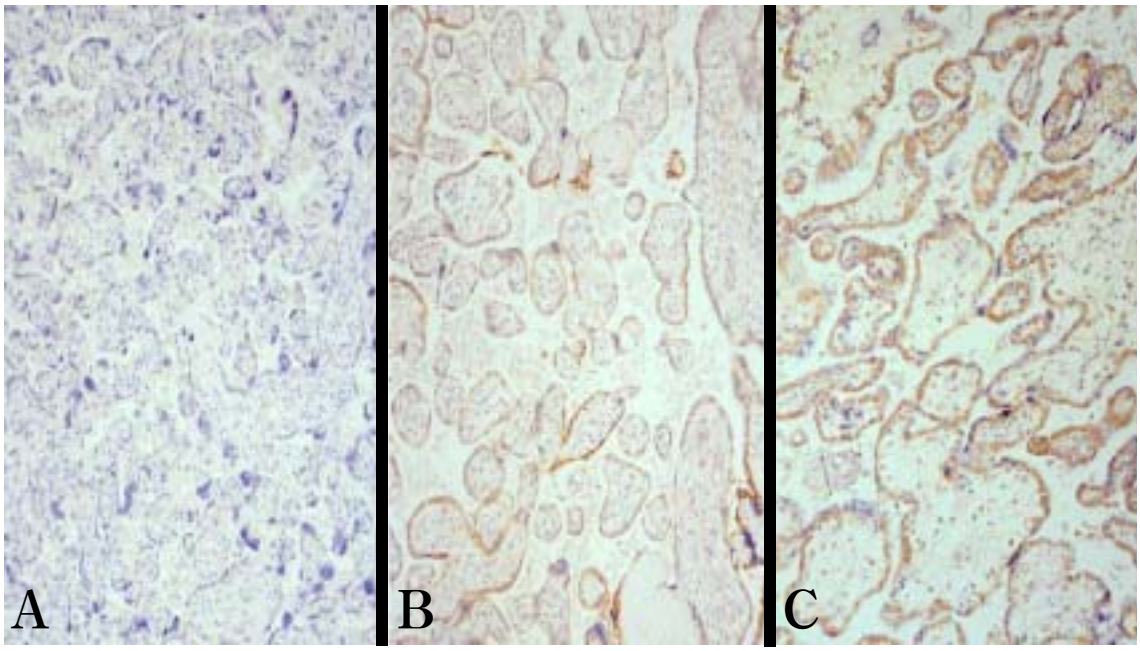

Fig. 2. Immunohistochemical analysis of Fas showing (A) negative in normal pregnancy, (B) focal/scattered immunoreactive in pregnancy induced hypertension and (C) diffuse immunoreactive in intrauterine growth restriction. Trophoblastic staining is present (ABC method, A-C, original magnification ×100).

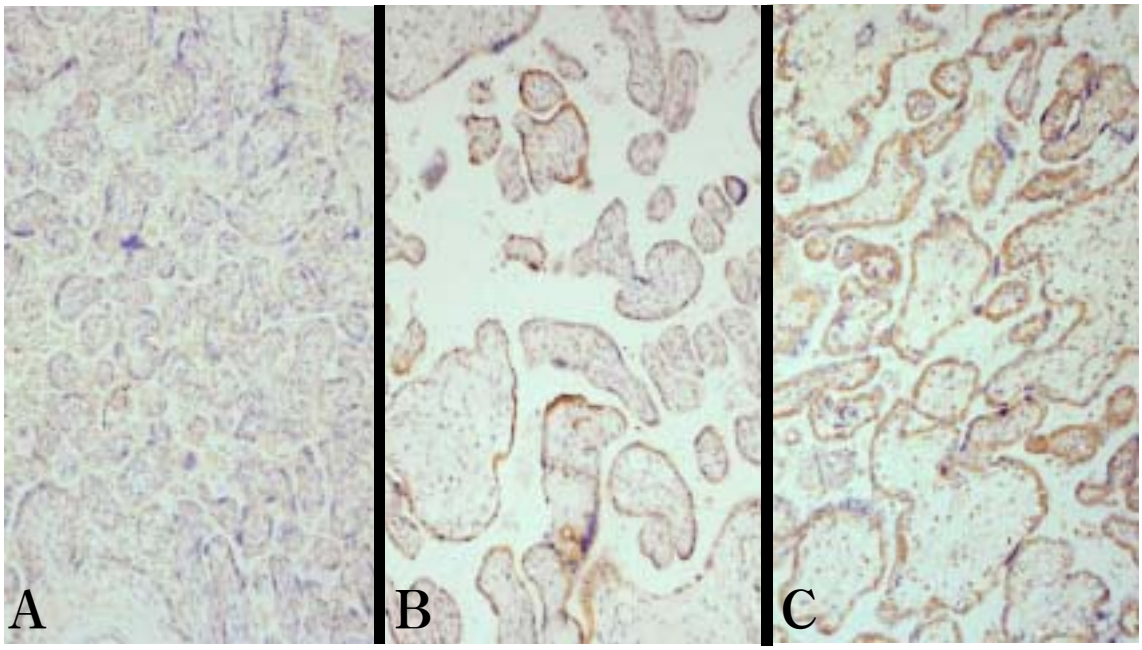

Fig. 3. Immunohistochemical analysis of Fas Ligand showing (A) negative in intrauterine growth restriction, (B) focal/scattered immunoreactive in pregnancy induced hypertension and (C) diffuse immunoreactive in normal pregnancy. Trophoblastic staining is present (ABC method, A-C, original magnification ×100).

5. Bcl-2 단백의 발현

Bcl-2 단백의 발현은 정상임신에서 미만성 발현이 27예 (90.0%), 국소성 발현이 3예 (10.0%)에서 관찰되었으며 전자간증은 미만성 발현이 23예 (76.7%), 국소성 발현이 6예 (20.0%)이었고 자궁내 태아 성장 발육장애에서는 미만성 발현 20예 (66.7%), 국소성 발현 10예 (33.3%)가 관찰되었다 (Table 5, Fig. 4).

Table 5. Results of Immunohistochemical Analysis of Bcl-2 in Trophoblasts of Normal Pregnancy, Pregnancy Induced Hypertension and Intrauterine Growth Restriction

Samples (n)	Negative (%)	Focal/scattered positive (%)	Diffuse positive (%)
Normal pregnancy (30)	0 (0)	3 (10.0)	27 (90.0)
PIH (30)	1 (3.3)	6 (20.0)	23 (76.7)
IUGR (30)	0 (0)	10 (33.3)	20 (66.7)

PIH: Pregnancy induced hypertension; IUGR: Intrauterine growth restriction;
Negative: <5% immunoreactive for trophoblasts;
Focal/scattered positive: 5-50% immunoreactive for trophoblasts;
Diffuse positive: >50% immunoreactive for trophoblasts.

6. Bax 단백의 발현

Bax 단백의 발현은 정상임신, 전자간증 및 자궁내 태아 성장 발육장애에서 각각 국소성 발현 16예 (53.3%), 미만성 발현 12예 (40.0%)와 국소성 발현 14예 (46.7%), 미만성 발현 12예 (40.0%) 및 국소성 발현 12예 (40.0%), 미만성 발현 15예 (50.0%)가 관찰되어 비슷한 발현 양상을 보였다 (Table 6, Fig. 5).

Table 6. Results of Immunohistochemical Analysis of Bax in Trophoblasts of Normal Pregnancy, Pregnancy Induced Hypertension and Intrauterine Growth Restriction

Samples (n)	Negative (%)	Focal/scattered positive (%)	Diffuse positive (%)
Normal pregnancy (30)	2 (6.7)	16 (53.3)	12 (40.0)
PIH (30)	4 (13.3)	14 (46.7)	12 (40.0)
IUGR (30)	3 (10.0)	12 (40.0)	15 (50.0)

PIH: Pregnancy induced hypertension; IUGR: Intrauterine growth restriction;
Negative: <5% immunoreactive for trophoblasts;
Focal/scattered positive: 5-50% immunoreactive for trophoblasts;
Diffuse positive: >50% immunoreactive for trophoblasts.

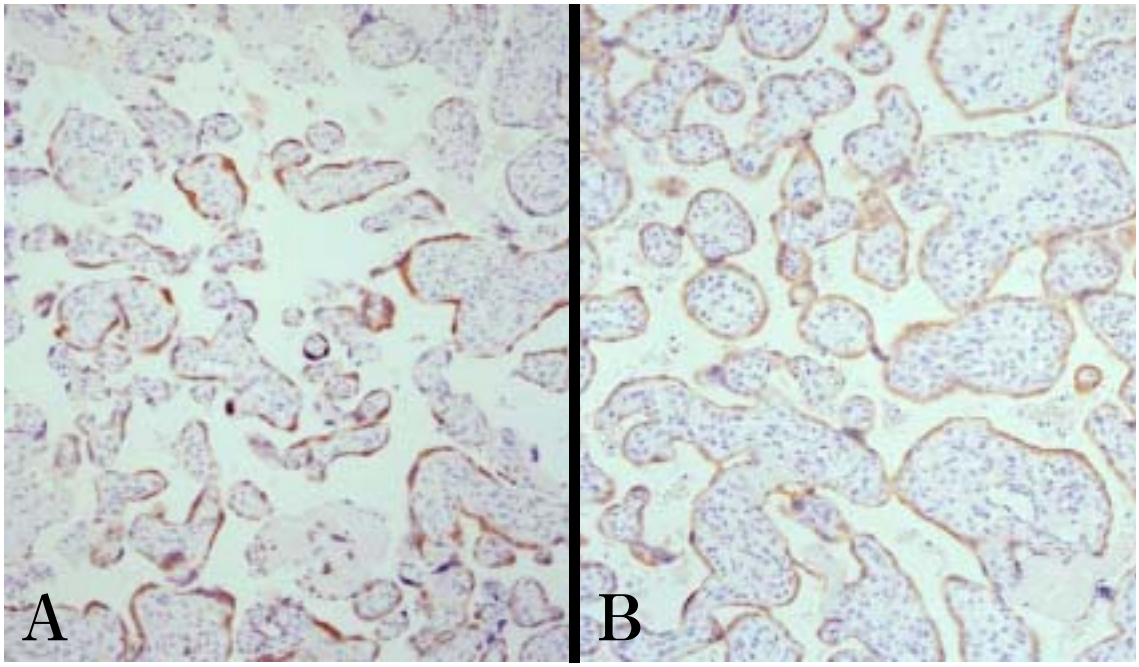

Fig. 4. Immunohistochemical analysis of Bcl-2 showing (A) focal/scattered immunoreactive in intrauterine growth restriction and (B) diffuse immunoreactive in pregnancy induced hypertension. Trophoblastic staining is present (ABC method, A-B, original magnification × 100).

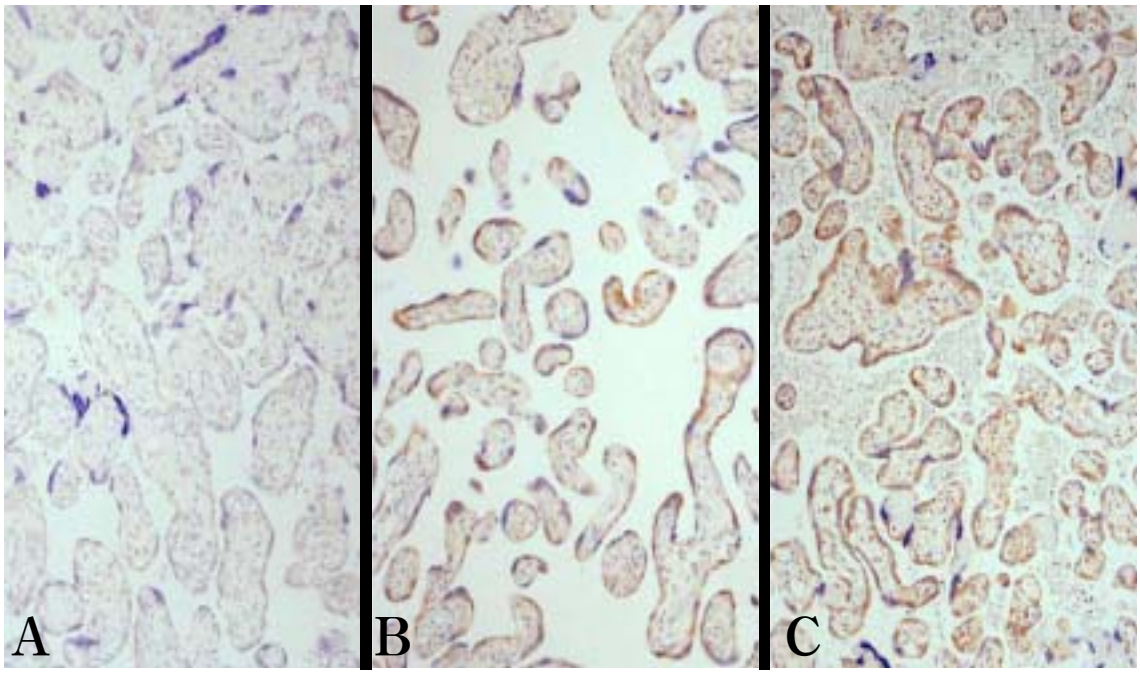

Fig. 5. Immunohistochemical analysis of Bax showing (A) negative in pregnancy induced hypertension, (B) focal/scattered immunoreactive in normal pregnancy and (C) diffuse immunoreactive in intrauterine growth restriction. Trophoblastic staining is present (ABC method, A-C, original magnification ×100).

고 찰

세포고사는 괴사와 달리 세포의 내부 기전에 의존하는 세포사의 능동적 형태로서 세포 분열과 함께 주어진 조직 내에서 세포의 수를 조절하며, 생리적 혹은 병적인 일련의 생물학적 과정으로 나타나는 것으로 알려져 있으며, Kerr 등 (1972)에 의하여 처음으로 예정된 세포 고사의 과정이 기술되었다.[1]

B 세포 림프종에서 분리되어, 세포 고사를 억제하고 종양형성에 참여하는 Bcl-2 계열의 유전자들은 세포 고사를 촉진하는 Bax와 세포 고사를 억제하는 Bcl-2와 Bcl-x 등이 있다.[6,22] Bcl-2 및 Bcl-2와 관련된 세포 형질 단백질들은 세포고사, 성장발달, 조직의 항상성, 병원체에 대한 방어에 대한 중요한 역할을 하며, 인간의 임신에서 Bcl-2는 임신 전 기간을 통하여 융모막 융모의 영양막세포에 면역학적으로 존재하며, 임신주기의 진행에 따라 감소하는 정상적인 태반 노화에 관여하는 것으로 보고되고 있다.[7,8]

Fas는 림프구와 영양 배엽 등이 포함된 많은 세포에서 발현되며, Fas 배위자는 tumor necrosis factor계열에 속하며, 세포고사를 유도하기 위하여 Fas 수용체에 작용한다.[9] Fas 배위자는 특별한 면역이 존재하는 눈의 전방체와 고환의 Sertoli cell 등과 전 임신 기간 동안 인간의 영양 배엽에서 발현되며,[10] Fas에 관계되는 임파구를 활성화하여 세포고사를 촉진하는 것으로 알려져 있으며, Fas 배위자의 발현은 특별한 면역기전이 있음을 의미한다.

세포고사는 태반의 생리적, 병태 생리적 기전에 중요한 역할을 하며 임신 전 기간 동안 일어나고,[23,24] 세포고사의 영양세포, 내피세포 및 기질세포에서도 발생하는 것으로 알려져 있다.[2]

세포 고사의 관찰법은 일반 현미경, 전자 현미경 및 terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate marker nick-end labeling staining 등이 있다.

본 연구에서는 광학현미경적 관찰에서 태반 내 세포고사를 정상임신, 전자간증, 태아 성장 발육장애의 모든 군에서 발견할 수 있었다. 그러나 임신 제 3 삼분기에서 임신 초기보다 태반내 세포고사의 빈도가 높다는 보고와,[25,26] 임신 제 3 삼분기의 태반 내 조직에서 Bcl-2의 발현이 감소된다는 보고에 비추어[8] 볼 때, Bcl-2의 주 역할이 세포고사의 억제임으로 Bcl-2 발현의 감소는 세포고사가 증가될 것을 의미한다. 본 연구에서는 임신 삼 삼분기에 Bcl-2 단백의 발현을 검사한 결과, 정상임신군에서 미만성 발현이 27예 (90.0%), 국소성 발현이 3예 (10.0%)에서 관찰되었으며 전자간증은 미만성 발현이 23예 (76.7%), 국소성 발현이 6예 (20.0%)이었고 태아 성장 발

육장애에서는 미만성 발현 20예 (66.7%), 국소성 발현 10예 (33.3%)의 결과를 보여, 전자간증군과 자궁내 태아 발육 장애군에서 정상임신군에 비하여 Bcl-2의 발현이 감소되는 것이 관찰되었다. 이는 전자간증군과 태아 성장 발육 장애군에서 세포고사가 더 많이 발생함을 의미하며, 이들 두 군에서 태반의 세포고사의 빈도가 증가하는 이유는 잘 알려져 있지 않지만, 세포고사의 빈도 증가가 전자간증과 자궁내 태아 성장 발육장애의 발병을 유발하는 병적인 과정이거나 원인의 한 요소로 사료된다.

세포고사를 촉진하는 Bax 단백의 발현은 정상임신, 전자간증 및 태아 성장 발육장애에서 각각 국소성 발현 16예 (53.3%), 미만성 발현 12예 (40.0%)와 국소성 발현 14예 (46.7%), 미만성 발현 12예 (40.0%) 및 국소성 발현 12예 (40.0%), 미만성 발현 15예 (50.0%)가 관찰되어 비슷한 발현 양상을 보여 의미있는 결과는 없었다.

Fas와 Fas 배위자 체계는 특별한 면역이 존재하는 지역의 염증 세포의 고사에 영향을 주며, Fas는 여러 조직에 광범위하게 산재하고, Fas 배위자는 순환되는 림프구와 특별한 면역이 존재하는 조직에서만 발현된다.

Fas 배위자는 정상적으로 전 임신 기간동안 인간의 영양막세포에서 발현되며, 순환하는 T 세포를 활성화하여 세포고사로 유도한다.[10] 태반 내의 Fas 배위자 발현은 태아에 대한 면역 인식을 하지 못하는 동안, 영양막 세포가 자궁 근육 층 내로의 침윤을 하는데 중요한 역할을 하며, 모체의 순환하는 백혈구에 대한 세포고사를 유도하여 태아의 생존에 영향을 준다. 또한 Fas가 발현된 침투한 영양세포도 침윤의 정도에 제한은 있지만 Fas 배위자가 발현된 T 세포로 인하여 세포고사가 시작된다.

면역조직화학염색을 이용하여 세포고사 관련 단백질 발현을 영양막 세포에서 조사한 결과 Fas 단백의 발현은 정상임신의 경우 26예 (86.7%)에서 음성, 4예 (13.3%)에서 국소성 발현을 볼 수 있었고 미만성 발현은 관찰되지 않았다. 그러나 전자간증 및 태아 성장 발육장애에서는 각각 14예 (46.7%), 15예 (50.0%)의 국소성 발현과 8예 (26.6%), 11예 (36.7%)의 미만성 발현을 보여 정상임신에 비해 Fas 단백의 발현이 증가하는 양상을 보였다. Fas 배위자 단백의 발현은 정상임신에서 미만성 발현이 16예 (53.3%), 국소성 발현이 9예 (30.0%)가 관찰되었고 전자간증에서는 미만성 발현 5예 (16.7%)와 국소성 발현 18예 (60%), 자궁내 태아 성장 발육장애는 2예 (6.7%)의 미만성 발현과 20예 (66.7%)의 국소성 발현이 관찰되어 정상임신에 비해 발현이 감소하는 경향을 보였다. 또한 Fas 배위자 단백의 발현은 Fas 단백에 비해 발현의 강도가 미약하였다. 이는 Fas와 Fas 배위자 체계의 변화로 인한 결과로 생각되며, 전자간증의 병태 생리적 원인 중 태반내의 비정상 항원에 대한 모체 면역 체계의 변화에 기인한다는 학설[27]과 동일한 결과를 보여주고 있다. 세포고사는 저산소증에 의해서도 유발된다고 알려져 있어[2] 태반 내 순환이 감소되어 나타나는 전자간증과 태아 성장 발육장애의 경우 나타나는 세포고사가 저산소증이 원인일 것으로는 설명되어지나 확실치 않다.

본 연구는 정상임신, 전자간증 및 태아 성장 발육장애 태반에서의 세포고사 조절인자 인자인 Fas 배위자, Fas, Bcl-2 등의 태반 내 발현을 비교한 결과, 전자간증군과 태아 성장 발육장애군에서 Bcl-2 및 Fas 배위자 발현의 감소와 Fas 발현의 증가가 감소되어 세포고사가 더 많이 발생되는 것으로 생각되며, 이들 두 군에서 태반의 세포고사의 빈도가 증가하는 이유는 잘 알려져 있지 않지만, 이는 전자간증과 태아 성장 발육장애의 발병을 유발하는 병적인 과정이거나 원인의 한 요소로 사료된다.

- 참고문헌 -

1. Kerr IFR, Harmon BV: Definition and incidence of apoptosis: an historical perspective. In Tomei LD, Cope FO(Eds): Apoptosis: the molecular basis of programmed cell death. Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1991, pp5-29.
2. Kerr JFR, Wylie AH, Cume AR: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972; 26: 239-57.
3. Coles HSR, Burne IF, Raft MC: Large-scale normal cell death in the developing rat kidney and its reduction by epidermal growth factor. Development 1993; 118: 777-84.
4. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA: Identification of programmed cell death in situ via specific labelling of nuclear DNA fragmentation. J Cell Biol 1992; 119: 493-501.
5. Baker AJ, Mooney A, Hughes J, Lombardi D, Johnson RJ, Sayill J: Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferative nephritis. J Clin Invest 1994; 94: 2105-16.
6. Adams JM, Cory S: The Bcl-2 protein family; Arbiters of cell survival. Science 1998; 281: 1322-5.
7. Sakuragi N, Atsuo H, Coukos G: Differentiation dependent expression of the Bcl-2 protooncogene in the human trophoblast lineage. J Soc Gynecol Invest 1994; 1: 164-72.
8. Kim CJ, Choe YJ, Yoon BH, Kim CW, Chi JG: Patterns of Bcl-2 expression in the placenta. Pathol Res Pract 1995; 191: 1239-44.
9. Griffith TS, Burnner T, Flecher SM, Green DR, Ferguson TA: Fas ligand induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. Science 1995; 270: 1189-92.
10. Bamberger AM, Schulte HM, Thuneke I, Edrman I, Mamberger CM, Asa S: Expression of apoptosis inducing Fas ligand (FASL) in human first and third trimester placenta and choriocarcinoma cells. J Clin Endocrinol Metab 1997; 82: 3173-5.
11. Robert JM, Taylor RN, Friedman SA, Goldfien A: A new development in preeclampsia. In Dunlap W (Ed) Fetal medical review. London, Edward Arnold Publishers, 1990, pp 125-42.
12. Eskenazi B, Fenster L. Sydney S, Elkin EP: Fetal growth retardation in infants of multiparous and nulliparous women with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1993; 169: 1112-8.
13. Gerresten G, Huisjes H, Elema JD: Morpholoical changes of the spiral arteries in the placenta bed in relation to preeclampsia and fetal growth retardation. Br J Obstet Gynecol 1981; 88: 876-81.
14. Zhou Y, Damsky CH, Chiu K, Robert JM, Fisher SJ: Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. J Clin Invest 1993; 91: 950-60.
15. Divon MY, Hsu HW: Maternal and fetal blood flow velocity waveforms in intrauterine growth retardation. Clin Obstet Gynecol 1992; 35; 156-9.

16. Diket AL, Pierce MR, Munshi UK, Voelker CA, Elobyc-Childress S, Greenberg SS, Zhang XJ, Clark DA, Miller MJ: Nitric oxide inhibition causes intrauterine growth retardation and hind-limb disruptions in rats. Am J Obstet Gynecol 1994; 171: 1243-8.
17. Usher R, McLean F: Intrauterine growth of live-born Caucasian infants at seal level: standards obtained from measurements in 7 dimensions of infants born between 25 and 44 week's gestation. J Pediatr 1969; 74: 901-7.
18. Gabriel R, Alsat E, Evion-Brion D: Alteration of epidermal growth factor receptor in placental membranes of smokers: relationship with intrauterine growth retardation. Am J Obstet Gynecol 1994; 170: 1238-43.
19. Heyborne KD, McGregor JA, Henry G, Witkin SS, Abrams JS: Interleukin-10 in amniotic fluid at midtrimester: Immune activation and suppression in relation to fetal growth. Am J Obstet Gynecol 1994; 171: 55-61.
20. Teasdale F: Idiopathic intrauterine growth retardation: histomorphometry of the human placenta. Placenta 1984; 5: 83-92.
21. Shen Y: Stereological study of the placenta in intrauterine growth retardation with different ponderal index. Chinese J Obstet Gynecol 1992; 27: 351-4.
22. Hetts SW: To die or not to die: an overview of apoptosis and it's role in disease. JAMA 1998; 298: 300-7.
23. Amato P, Zwain I, Reed J, Yen SSC: Expression of Bcl-2 and Bax in human placenta [abstract]. J Soc Gynecol Invest 1996; 3(suppl): 226A.
24. Salafia CM, Mill IF, Ossandon M, Starzyk KA: Markers of regulation of apoptosis and cell proliferation in preterm and term placental villi [abstract]. J Soc Gvnecol Invest 1996; 3(suppl): 80A.
25. Smith SC, Barker PN, Symonds EM: Placental apoptosis in normal human pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1997a; 177: 57-65.
26. Smith SC, Barker PN, Symonds EM: Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 1997b; 177: 1395-401.
27. Dekker GA, Sibai BM: Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts. Am J Obstet Gynecol 1999; 179: 1359-75.

=국문초록=

서론 및 연구 대상 : 정상임신, 전자간증 및 태아 성장 발육장애의 태반에서 세포고사의 발현과 세포고사의 면역 조절인자인 Fas, Fas 배위자, Bcl-2 및 Bax의 태반 내 발현을 비교하기 위하여, 계명대학교 의과대학 산부인과교실에 제왕절개 및 유도분만을 위해 내원한 임신부 중에서 각각 30명의 태아 성장 발육장애, 전자간증 및 정상임신부의 태반을 대상으로 면역 조직화학염색을 시행하여 그 연관성을 조사하였다.

결과 : 전자간증군과 태아 성장 발육장애군에서 정상임신군에 비하여 Bcl-2의 발현이 감소되는 것으로 관찰되었으며, 이는 전자간증군과 태아 발육 장애군에서 세포고사가 더 많이 발생함을 의미하며, 이들 두 군에서 태반의 세포고사의 빈도가 증가하는 이유는 잘 알려져 있지 않지만, 세포고사의 빈도 증가는 전자간증과 태아 성장 발육장애의 발병을 유발하는 병적인 과정이거나, 원인의 한 요소로 사료된다. 세포고사를 촉진하는 Bax 단백의 발현은 비슷한 발현 양상을 보였다. Fas 단백의 발현은 전자간증 및 태아발육부전에서 정상임신에 비해 Fas 단백의 발현이 증가하는 양상을 보였다 (26.6% vs 36.7% vs 0%). Fas ligand 단백의 발현은 정상임신에 비해 감소하는 양상을 보였다 (53.3% vs 16.7% vs 6.7%). 또한 Fas ligand 단백의 발현은 Fas 단백에 비해 발현의 강도가 미약하였다.

결론 : 이는 Fas와 Fas 배위자 체계의 변화로 인한 결과로 생각되며, 전자간증의 병태 생리적 원인 중 태반내의 비정상 항원에 대한 모체 면역 체계의 변화에 기인한다는 학설과 동일한 결과를 보여주고 있다. 본 연구는 정상임신, 전자간증 및 태아 성장 발육장애 태반에서의 세포고사 조절인자인 Fas 배위자, Fas, Bcl-2 및 Bax의 태반 내 발현을 비교한 결과, 전자간증군과 자궁내 태아 성장 발육장애군에서의 세포고사가 더 많이 발생하며, 이들 두 군에서 태반의 세포고사의 빈도가 증가하는 이유는 잘 알려져 있지 않지만, 세포고사의 빈도 증가는 전자간증과 태아 성장 발육장애의 발병을 유발하는 병적인 과정이거나, 원인의 한 요소로 사료된다.

중심단어 **:** 태반내 Apoptosis, 정상임신, 전자간증, 태아성장, 발육장애