

태아 성장에 있어 제대혈액과 모체혈액 렙틴

가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원 산부인과
이희중 · 김기홍 · 류상우 · 박동춘 · 김재훈 · 권동진
김사진 · 유영옥 · 김대훈

=ABSTRACT=

A Study on the Leptin Concentrations in Maternal and Cord Blood

Hee Joong Lee, M.D., Gi Hong Kim, M.D., Sang Woo Rhu, M.D.,
Dong Choon Park, M.D., Jae Hoon Kim, M.D., Dong Jin Kwon, M.D.,
Sa Jin Kim, M.D., Young Ok Lew, M.D., Dae Hoon Kim, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, Saint Vincent's Hospital,
The Catholic University of Korea, Suwon, Korea*

Objective : In this study, We investigated the circulating level of leptin in the maternal and cord serum to estimate the effect of leptin on the fetal growth.

Methods : In full-term pregnancy, right after delivery, we calculated the concentration of leptin in the maternal and cord serum by using an immunoassay. We studied the relation between these value, the maternal BMI at the time of delivery, the neonatal body weight.

Results : At the time of delivery, mean concentration of maternal leptin and cord leptin showed 335.7 pg/ml and 118.3 pg/ml and there was no statistical significance between them. Mean concentration of maternal leptin has positive relation with maternal body weight. but not to neonatal weight. Mean concentration of cord serum leptin has a positive relation with neonatal weight. There was a correlation between the maternal BMI and the neonatal weight at the time of delivery. We evaluated the mean leptin level of neonates of two different sexes, that difference did not show a statistically significant level.

Conclusion : In this study, no correlation was found between concentration of maternal leptin and cord leptin. These data suggested that the cord serum leptin has a positive relation with fetal growth independantly, regardless of maternal leptin and maternal BMI.

Key Words : Leptin, Maternal serum, Cord blood

인간 비만 유전자 생성물인 렙틴은 비만 수용체로 인간 비만 연구에서 중요한 주제이다. 복잡한 대사 과정을 조절하는 식욕과 에너지 소비에 있어서 렙틴은 또한 태아 성장과 정상 임신 시에 발달을 조절하는 것으로 알려져 있다.^{1,4} 렙틴은 146개의 아미노산으로 이루어진 단백질 호르몬으로 비만 유전자에 의해 지방세포에서 분비된다. 지방세포에서 생산된 렙틴은 시상하부 수용체를 통하여 음식물의 섭취와 에너지 소비, 열량 생성 등에 영향을 미쳐 체지방을 일정하게 유지시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.^{5,6}

임신 시 렙틴 역할에 대해서 충분히 연구된 바 없으

나, 혈중 산모 렙틴 농도는 비 임신 군에 비해 높으며 특히 임신 제 2, 3분기에 높은 것으로 알려져 있고 분만 후 급속히 감소하는 것으로 알려져 있다. 증가된 렙틴 농도가 정상적으로 임신부에 작용하면 에너지 소비를 증가시키고 식욕을 감소시켜 태아 건강 상태에 영향을 줄 수 있으나 산모에서는 렙틴에 대한 반응성이 감소하여 이와 같은 현상이 일어나지 않는 저항성이 있다.^{7,8} 또한 렙틴은 체내 지방 세포 뿐만 아니라 비 지방 세포인 태반의 영양막 세포와 양막 세포에서도 만들어진다고 알려져 있다.^{9,10}

이와 같이 산모에서 렙틴의 역할과 기능은 정상인과

달리 작용하는 것으로 알려져 있으나, 제대 혈액과 산모 혈청과의 상호 관계 및 조절에 대한 정확한 설명을 얻는 실정이다. 따라서 제대혈액과 산모 혈청과의 상호관계 및 태아 성장 발육에 미치는 영향에 대한 연구가 필요하다. 본 연구에서는 제대 혈의 렙틴과 산모 말초혈액의 렙틴을 측정하여 산모 체중과의 연관성을 규명하고 이를 산모의 특성에 따라 비교함으로써 렙틴의 상호작용을 알아보고자 한다.

연구 대상 및 방법

본 연구는 2003년 1월부터 2003년 6월까지 가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원 산부인과에서 분만한 39명의 만삭 산모를 대상으로 하였다. 이들은 신전관리 동안 임신관련 합병증이나 기타 질환을 갖고 있지 않는 산모군을 대상으로 하였다. 산모혈액은 분만 중인 분만대에서 대략 10 ml의 양을 채취하였으며, 제대 혈액은 태반 만출 전에 제대정맥을 분리하여 채취하였다.

채취된 혈액은 항응고제를 사용하여 혈액 분리 후, 30분내로 원심 분리하여 혈장을 분리하였으며 분리된 혈장은 바로 실험실로 보내져 측정하거나 -70℃ 냉동실에 보관하여 후에 측정하였다. 렙틴의 농도 측정은 human leptin immunoassay (Quantikine)을 사용하여 정량분석하였다. 검체 처리에서 혈장은 Calibrator Diluent RD5P (1x) 100배로 희석하였다. 모든 시약과 검체는 실험 시작 30분전에 실온에 방치하였다. 과정은 각 Well에 Assay Diluent RD1-19 100 uL와 Standard, 검체 100 uL 분주한 후 봉합하여 실온에서 2시간 숙성하였다. 이후 Wash buffer 400 uL로 4회 세척하고 마지막 세척이 끝난 후에는 깨끗한 타월에 뒤집어서 내용물을 완전히 털어냈다. 각 Well에 렙틴 conjugate 200 uL 분주 후 봉합하여 실온에서 1시간 숙성하고 Wash buffer 400 uL로 4회 세척하였다. 기질액 200 uL 분주하고, 30분간은 실온에서 숙성하고, 고정액 50 uL 분주하여 30분 내에 450 nm에서 OD 값을 측정하였다. 이때 파선 교정이 가능하면 540 nm나 570 nm로 설정하였으며 가능하지 않으면, 540 nm 혹은 570 nm에서의 OD 값을 구한 후 450 nm에서 빼주어 광학 불투수성을 보정하였다.

통계학적 분석은 자료들을 평균, 표준편차로 표시하였으며 상호연관 관계는 상관관계검정을 시행하였다. 각 군들 간의 평균 렙틴 농도는 Student' t-test를 사용하였다. 독립변수와 렙틴 농도간의 상관관계는 피어슨 상관 계수를 사용하여 분석하였다. 유의 수준은 0.05로 하였다.

결 과

대상 환자군의 평균 연령은 30.2세였으며 분만 시 평균 주수는 38.9주였다. 출생시 신생아 평균 체중은 3.42 kg이었고 모체 체중의 평균은 70.3 kg 이었다. 또한 계산한 모체 체질량지수는 평균 27.1이었다. 만삭 산모 분만 시 채취한 평균 모체 렙틴 치와 신생아 렙틴 치는 각각 335.7±226.6 pg/ml, 118.3±98.3 pg/ml 이었다. 두 측정치 간의 연관관계는 통계학적 의미는 없었다.

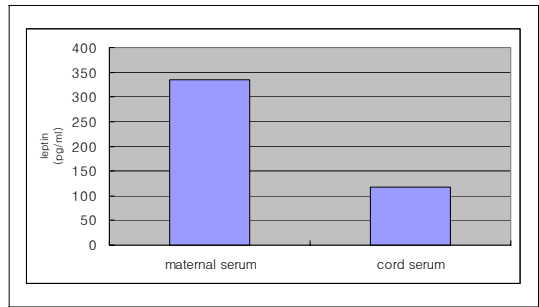


Fig. 1. Leptin level in maternal and cord serum.

또한 모체 체중과 모체 렙틴과도 유의확률 0.021로 통계적 연관관계가 있었다.

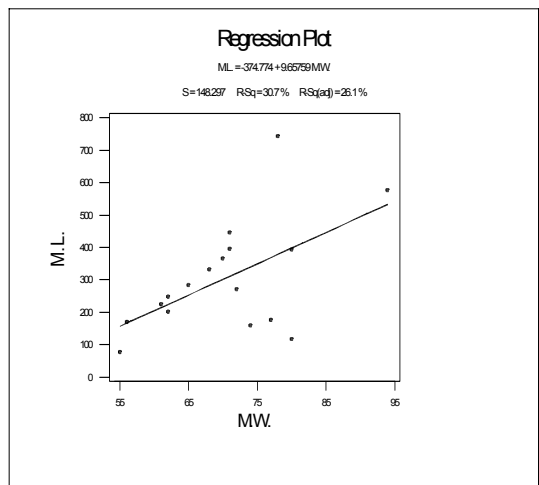


Fig. 2. Relationship between maternal serum leptin concentration and maternal weight.

ML: maternal leptin
MW: maternal weight

반면에 모체체중과 신생아 렙틴과의 관계는 통계적 연관 관계가 없었다. 또한 측정된 렙틴과 분만 시의 모체 체질량 지수와의 관계도 유의 확률 0.535로 통계적으로 의미 있는 관계는 아니었다. 모체 체질량 지수와 모체 렙틴, 태아 렙틴과의 연관 관계는 통계적 의미가 없

었다. 그러나 모체 체질량 지수와 태아 무게사이의 유의 수준 0.034로 통계적 의미를 보였다.

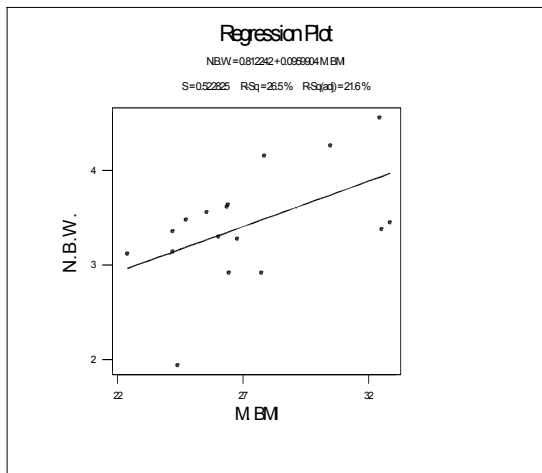


Fig. 3. Relationship between maternal BMI and neonatal birthweight.

M.B.M: maternal body mass index
 N.B.W: newborn birth weight

또한 분만 시 모체 체중과 신생아 무게와의 관계는 유의 확률 0.032로 통계적으로 의미가 있었다. 피어슨 상관 계수를 이용하여 분석한 제대 혈의 렙틴 치와 신생아의 체중과의 관계는 통계학적으로 의미 있는 양성관계에 있었다.

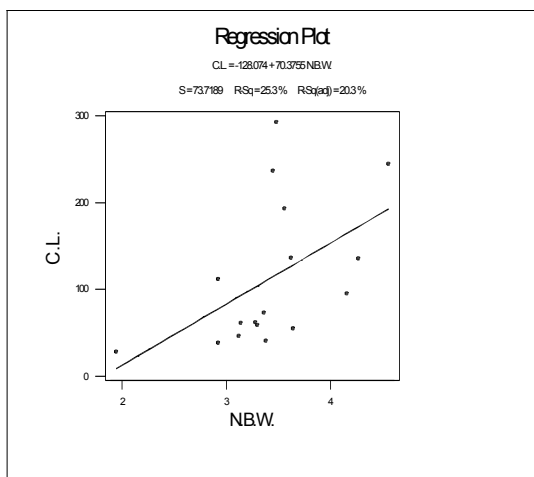


Fig. 4. Relationship between cord serum leptin concentration and neonatal birthweight.

C.L: cord serum leptin
 N.B.W: newborn birth weight

그러나 신생아 렙틴과 모체 체중과의 통계적 연관 관계는 없었다. 모체 혈청 렙틴 치와 신생아의 체중과의 관계는 유의확률 0.596으로 통계적으로 의미 있는 관계는 아니었다. 그리고 신생아의 성별에 따른 제대 혈 렙틴 농도를 비교하였는데 여아의 측정치가 약간 높았으나 통계적인 의미는 없었다. 여아를 분만한 산모 혈액 렙틴 치와 남아를 분만한 산모와 비교해 보니 두 군 간의 통계적 의미도 없었다.

고 찰

렙틴은 비만 유전자 조절 하에 지방 세포에서 형성되어 체지방과 에너지 소모를 조절하는 단백질 호르몬으로 알려져 있으며 지방세포에서만 분비되는 것으로 생각되던 렙틴이 임신 중에는 비 지방세포인 태반의 영양막 세포에서도 생성이 보고되고 있다. 정상인에서는 체지방 분포 양과 비례하며, 체질량 지수와 연관성이 보고되어 왔으나, 산모에서 말초 혈액내 렙틴 농도는 정상인과 비교하여 증가되어 있고, 체질량 지수와 연관성은 상반된 견해가 있다.¹¹⁻¹³

임신 시에 증가된 지방 량은 임신 중 증가된 렙틴 양과 관련 있으며, 체내 지방량 및 체질량 지수와도 비례한다는 보고가 있다.¹⁴⁻¹⁶ 반대로 임신 시 렙틴 농도는 산모의 체질량 지수와 연관성이 없으며, 체내 높은 농도와 반응성의 감소를 나타내는 즉 렙틴의 저항성을 나타내는데, 이는 렙틴의 체내 조절이 비 임신부 여성과 다르게 조절되고 있다는 증거이다.^{17,18} 그러나 일부 보고에 의하면 산모 체중과 체질량 지수와 유의 있는 증가를 보여주는데 이는 산모 혈액의 렙틴 농도는 산모의 체질량 지수나 체중과 통계학적인 연관성은 없지만, 일정한 정도 영향을 받고 있음을 보여주는 것이다.^{19,20} 산모 혈액의 렙틴 농도가 높은 또 다른 이유로, 보고에 의하면, 인슐린 저항성을 들 수 있는데, 이는 과인슐린 혈증이나 인슐린 저항성은 증가된 렙틴 농도와 관련 있으며, 특히 임신 중에는 인슐린 저항성을 관찰할 수 있으며 이는 임신 후반기로 갈수록 증가한다고 알려져 있다.^{21,22} 따라서 이러한 인슐린 저항성은 임신 시 산모 특징으로 증가된 인슐린 저항성이 상승된 렙틴 농도의 원인이 될 수 있을 것이다.

임신시 렙틴 생성은 지방 세포에 국한되지 않고 다른 부위에서도 생성되는데 대표적인 생성 부위는 태반의 영양 세포이다.^{22,23} 임신성 용모성 질환에서 영양세포가 증식하는 경우, 혈액 내 렙틴 농도가 증가하며, 항암 치료 시는 감소됨이 관찰된다는 보고가 있다. 또 태아 지방 조직 보다는 태반 가능성이 높다는 의미로 제대 정맥 렙틴 농도가 제대 동맥보다 높다는 보고도 있으며, 태반

용도의 합포체 영양세포 세포질에서 인간 렙틴 mRNA를 확인한 사실도 있다. 이러한 사실들은 태반에서 렙틴이 생성된다는 증거가 될 수 있다.^{25,29}

이번 실험 결과는 모체 혈액 렙틴 치와 태아 제대 렙틴 치와는 통계적으로 의미있는 상관관계가 없었다. 이러한 결과는 렙틴의 분자량이 16,000 daltons로 단순 확산으로 태반장벽을 통과하지 못하여 제대 렙틴이 모체 렙틴의 영향을 받을 수 없기 때문인 것 같다. 보고에 의하면 태반 기능 부전을 동반하는 임신 성 고혈압 군에서 태아로 가는 혈류량도 감소한다는 사실에 근거하여, 임신 성 고혈압군의 제대 렙틴 농도 감소를 보고하였는데 이는 태반에서 렙틴 생성 감소에 의한다고 생각되며 태반에서 렙틴 생성의 새로운 근거가 될 수 있다.^{30,31} 또 정상 산모 군에서 산모 혈액의 렙틴 농도가 증가함에도 불구하고, 제대혈의 렙틴 농도는 감소함을 보여주는 불일치는 산모와 태아의 렙틴은 상호 연관성 없이 독립적으로 조절되고 있다는 것을 보여준다. 또한 일부보고는 제대 렙틴이 태아의 지방조직에 의해서만 유래되기 때문에 동맥, 정맥 제대 혈 렙틴의 차이는 없다고 보고하기도 한다. 태반에서 생성되어 산모혈액 렙틴과 독립적으로 조절되는 제대혈 렙틴의 또 다른 특징은 태아 성장과 관련된 역할이다. 비만한 성인에서 증가되어 있는 렙틴과 유사하게 태아의 체중과 렙틴 농도의 상관성이 알려져 있고, 지방량이 많은 거대아에서 특히 관련이 있음이 보고되어 있다.^{32,33}

정상 산모 군에서 제대 렙틴 농도와 태아 체중과의 밀접한 관련성을 관찰한 보고는 렙틴이 태반에서 생성되고 태아 체중과 연관 관계를 설명할 수 있고, 렙틴이 태아의 지방 량을 반영한다 기보다는 태반에서 기원하는 성장인자의 가능성이 많다고 생각된다.³⁴ 이상과 같은 결과로, 제대 혈 렙틴은 산모의 렙틴과 무관하게 독립적으로 태아 성장에 관여하는 태반 기원의 성장 인자로 사료된다.

이 연구의 전제는 모체 렙틴이 신생아의 성장을 예측할 수 있으나 이고 그런 전제 하에 모체 렙틴과 태아체중이 조사되었다. 전제에 의하면 모체 렙틴과 모체 체질량 지수와의 연관성이 있다. 이는 임신 시 체중증가가 모체의 혈관 체적 량 증가, 물의 흡수량 증가, 지방세포의 증가, 에스트로겐, HCG, 렙틴의 생산과 관계가 있기 때문이다. 결과에 의하면 모체 렙틴과 신생아의 체중과의 연관관계는 없었다. 이는 렙틴이 모체의 체질량 지수와의 연관관계는 있으나 태아성장과의 연관성은 증명하지 못하는 것이다. 따라서 모체 렙틴이 모체 지방세포외에 태반에서 중요한 역할을 할 수 있기 때문에 모체 렙틴과 태아 체중과의 연관성은 좀더 연구되어야 한다. 또한 결과는 제대혈 렙틴과 신생아 체중과의 양성 연관성을 보고하고 있다. 이는 정상 임신에서 지방 세포 뿐

아니라 태반에서 유래된 렙틴에 의한 태아성장의 생리적 연관성을 생각할 수 있겠다.

- 참고문헌 -

1. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-32.
2. Campfield LA, Smith F, Guisez F, Devos R, Burn P. Recombinant mouse ob protein: evidence of a peripheral signal linking adiposity and central neural network. *Science* 1995; 269: 546-9.
3. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin; leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997; 3: 1029-33.
4. Macut D, micic D. Leptin and human reproduction. *Med preg* 1998; 51: 410-4.
5. Gura J. Obesity sheds its secrets. *Science* 1997; 751-3.
6. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature* 1995; 377: 530-2.
7. Mise H, Sagawa N, Matsumoto T, Yura S, Nanno H, Itoh H, et al. Augmented placental production of leptin in preeclampsia: possible involvement of placental hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3225-9.
8. Anim-Nyame N, Sooranna SR, Steer PJ, Johnson MR. Longitudinal analysis of maternal plasma leptin concentrations during normal pregnancy and preeclampsia. *Hum Reprod* 2000; 15: 2033-6.
9. Butte NF, Hopkinson JM, Nicolson MA. Leptin in human reproduction: serum leptin levels in pregnant and lactating women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 585-9.
10. Tomimatsu T, Yamaguchi M, Murakami T, Ogura K, Sakata M, Mitsuda N, et al. Increase of mouse leptin production by adipose tissue after midpregnancy; gestational profile of serum leptin concentration. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 240: 213-5.
11. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriaucium A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-5.
12. Barash IA, Cheung CC, Wegle DS, Ren H, Kabitting EB, Kuijer JL, et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 1996; 133: 3144-7.
13. Butte NF, Hopkinson JM, Nicolson MA. Leptin in human reproduction: serum leptin levels in pregnant and lactating women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 585-9.
14. Satter N, Greer LA, Pirwani I, Gibson J, Wallace M. Leptin levels in pregnancy: marker for fat accumulation and mobilization? *Acta Obstet Gynecol Scand* 1998; 77: 278-83.
15. Chehab FF. The reproductive side of leptin. *Nature Med* 1997; 3(9): 952-3.
16. Timothy J, Highman MS, Friedman JE, Lorraine P, Huston MS, William W, et al. Leptin level in maternal and cord serum. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 1010-5.
17. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Non-adipose tissue production of leptin: Leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nature Med* 1997; 3: 1029-33.
18. Schubring C, Keiss W, Englaro P, Rascher W, Dotsch J, Hanitsch S, et al. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. *J Clin Endocr Met* 1997; 82: 1642-4.
19. Satter N, Greer IA, Pirwani I, Gibson J, Wallace AM. Leptin levels in pregnancy marker for fat accumulation and mobilization? *Acta obstet Gynecol Scand* 1998; 77: 278-83.
20. Sowers JR, Sokol RJ, Standley PR, Kruger M, Mason BA, Sowers PS, et al. Insulin resistance and increased body mass index in women developing hypertension in pregnancy. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1996; 6: 141-6.
21. Zimmer P, Hodge A, Nicolson M, Staten M, de Cousten M, Moore J. Serum leptin concentration, obesity, and insulin action during pregnancy.

- Diabetes 1985; 34: 380-9.
22. Widjaja A, Hofmann R, Bruhun J, von zur Muhlen A, Brabant G. Free and bound leptin levels during human pregnancy. *Gynecol Endocrinol* 2000; 14: 264-9.
 23. Helland IB, Reseland JE, Saugstad OD, Drevon CA. Leptin levels in pregnant women and newborn infants; gender differences and reduction during the neonatal period. *Pediatrics* 1998; 101: E12.
 24. Stein TP, Scholl TO, Schuller MD, Schoeder CM. Plasma leptin influences gestational weight gain and postpartum weight retention. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1236-40.
 25. Hassink SG, de Lancey E, Sheslow DV, Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, Considine RV, et al. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development? *Pediatrics* 1997; 100: E1.
 26. Chen X, Lin J, Hausman DB, Martin RJ, Dean RG, Hausman GJ. Alterations in fetal adipose tissue leptin expression correlate with the development of adipose tissue. *Biol Neonate* 2000; 78: 41-7.
 27. Yura S, Sagawa N, Mise H, Mori T, Masuzaki H, Owaga Y, et al. Q positive umbilical venous-arterial difference of leptin and its rapid decline after birth. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 926-30.
 28. Lepercq J, Cauzac M, Lahlou N, Timsit J, Girard J, Auwerx J, et al. Overexpression of placental leptin in diabetic pregnancy. *Diabetes* 1998; 47: 847-50.
 29. Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, Mercer JG. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Physiology* 1997; 94: 11073-8.
 30. Schbring C, Prohascka F, Prohaska A, Englaro P, Blum W, Itoh H, et al. Leptin concentrations in maternal serum and amniotic fluid during the second trimester: differential relation to fetal gender and maternal morphometry. *Eur J Obstet Gynecol Repr Biol* 1999; 86: 151-7.
 31. Kratzsch J, Hickel M, Kiess W. Leptin and pregnancy outcome. *Cur Op Obstet Gynecol* 2000; 12: 501-5.
 32. Lepercq J, Challier JC, Guerre-Millo M, Cauzac M, Vidal H, Hauguel-de Mouzon S. Prenatal leptin production: evidence that fetal adipose tissue produces leptin. *J Clin Endocrinol* 2001; 169: 465-76.
 33. Sooranna SR, Ward S, Bajoria R. Fetal leptin influences birth weight in twins with discordant growth. *Pediatr Res* 2001; 49: 667-72.
 34. McCartney JF, Misra DN, Roberts JM. Maternal plasma leptin is increased in preeclampsia and positively correlates with fetal cord concentration. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 731-6.

=국문초록=

목적 : 만삭 정상 산모에서 산모 혈액 및 제대 혈액에서 렙틴 치를 측정하고 이의 상호 연관성 및 산모의 체질량 지수, 태아 출생체중, 태아 성별 등과의 연관성을 규명하여 임신 중의 렙틴이 태아 성장에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

연구 방법 : 분만 직전 임신과 분만 합병증이 없는 정상 만삭 산모 39명을 대상으로 산모의 혈액 및 제대혈을 태아분만시 채취하여 이를 immunoassay 방법으로 렙틴 치를 측정하였다. 동시에 모체의 체질량 지수, 태아 체중 등을 측정하였다.

결과 : 정상 만삭 산모에서 평균 주수는 38.9주였으며 산모혈액의 평균 렙틴 농도는 335.7 pg/ml로 측정되고 제대혈액의 평균 렙틴 농도는 118.3 pg/ml 였다. 제대혈액의 렙틴 농도와 산모혈액의 렙틴 농도는 통계학적으로 연관관계는 없었으나 모체 체중과 모체 렙틴은 유의수준 0.021로 회귀 분석 상 연관관계가 있었고 태아 렙틴과 태아체중과의 관계도 의미 있는 연관성을 보였다. 그 외의 출생 시 성별에 따른 연관성 등은 차이는 보였으나 유의한 관계는 보이지 않았다.

결론 : 체중을 조절하는 것으로 알려진 호르몬인 렙틴은 모체 렙틴과 태아 렙틴과의 연관성에서 독립적인 관계를 유지하고 태아 체중 및 성장에서 산모의 혈장 렙틴과는 무관하게 독립적으로 제대혈 렙틴 치가 태아 성장을 반영하는 지표로 여겨진다.

중심단어 : 렙틴, 제대혈 렙틴, 태아체중