

영양막세포에서의 C-reactive protein 조절 microRNA-150과 microRNA-424 발현 분석

Expressions of MicroRNA-150 and MicroRNA-424 Targeted to C-reactive Protein in Trophoblast Cell Line

김희성

단국대학교 의과대학 제일병원 진단검사의학과

Hee Sung Kim(praylake7@gmail.com)

요약

임신 초기 염증으로 인한 영양막세포의 기능 이상은 C-reactive protein (CRP)의 발현을 증가시켜 산모와 태아의 상호작용에 영향을 미침으로써, 조산 및 자간전증 등을 유발한다. 그러나, CRP 발현 조절과 관련된 생체표지자 발굴 및 개발은 미흡한 실정이다. 본 연구는 염증이 유발된 영양막세포에서 증가된 CRP 발현과 관련된 miRNA를 발굴 및 그 발현을 분석함으로써, miRNA를 통해 영양막세포 염증 조절 기전에 관여하는 생체표지자를 밝히고자 한다. miRNA 데이터베이스(miRNA, TargetScan, MicroCosm)에서 공통적으로 CRP 유전자 발현을 조절할 것으로 예측되는 miR-7, miR-150, miR-186, 그리고 miR-424를 선별하여 HTR-8/SVneo에 LPS (20ng/mL)를 처리하여 in vitro 상에서 염증 반응을 유도하였다. 각각의 miRNAs의 발현을 qRT-PCR 방법으로 비교 분석하였다. 그 결과, LPS 처리된 영양막세포에서 CRP의 발현은 유의성 있게 증가되었다($p < 0.001$). miR-150와 miR-424는 발현이 유의성 있게 감소됨을 확인하였다($p < 0.001$). 따라서, 염증이 유도된 영양막세포에서의 CRP 발현을 조절하는 기전에 miR-150와 miR-424가 관여하는 것 의미하며, 향후 염증성 산과질환의 산전 진단에 유용한 자료로 사용될 것으로 사료된다.

■ 중심어 : | 영양막세포 | C-반응성단백 | miRNA |

Abstract

Abnormalities of trophoblast due to early inflammation in pregnancy increase the expression of CRP and affect maternal-fetal interactions, leading to preterm birth and preeclampsia. However, biomarkers related to the regulation of CRP expression have not been found. In this study, miRNA associated with increased expression of CRP was identified and their expression was analyzed to reveal biomarkers involved in the regulation mechanism of trophoblast inflammation through miRNAs. miRNAs that were predicted to regulate CRP gene expression in miRNA databases (miRNA, TargetScan, MicroCosm) were screened and HTR-8/SVneo cell lines were treated with LPS (20 ng/mL) to induce inflammatory responses in vitro, with selected miR-7, miR-150, miR-186 and miR-424. The expression was analyzed by qRT-PCR. As a result, expression of CRP was significantly increased in LPS-treated trophoblast ($p < 0.001$) and miR-150 and miR-424 expression were significantly decreased ($p < 0.001$). Thus, miR-150 and miR-424 are involved in the regulation of CRP expression in inflammatory-induced trophoblast and may be useful for the prenatal diagnosis of inflammatory obstetric diseases.

■ keyword : | Trophoblast | C-reactive Protein | miRNA |

I. 서론

태반은 영양막세포, 탈락세포, 내피세포, 그리고 중간엽세포로 구성되어 있다. 영양막세포는 배반포의 영양의 배양으로부터 기원하며 태반에서 발견되는 주요한 세포로서 태반의 가스교환, 영양, 폐기물 제거, 내분비 기능 및 태아 발육에 대한 면역학적 지지에 있어 중추적인 역할을 담당한다[1]. 영양막세포는 임신초기에 합포체영양막에서 나선형 동맥의 형질전환 및 세포영양막의 분화를 통해 모체의 자궁벽 내막세포를 침윤함으로써, 착상을 유지하게 된다[2][3]. 이러한 임신 초기 착상 단계 및 정상적인 임신 기간 동안 저산소증과 같은 환경적인 요인과 다양한 사이토카인들의 변화는 영양막세포의 침윤 활성을 엄격하게 조절한다[4][5]. 만일, 임신 초기 영양막세포의 자궁벽 내막세포로의 침윤이 충분히 유발되지 않는 경우 임신 유지가 어려울 뿐 아니라 자간전증과 같은 고위험 산과질환으로 이어지는 것으로 알려져 있다[6].

C-반응성 단백(C-reactive protein, CRP)은 간에서 합성되어 순환계로 방출되는 급성 반응 물질이다[7]. 급성 염증 상태에서 혈청 내 CRP의 농도는 증가하는데, 생물학적 환경에 따라 전염증성 및 항염증성 효과를 나타내며 염증성 자극으로부터 숙주를 보호하는 다양한 기능을 가지고 있다[8].

정상적인 임신상태는 유전적인 요인, 영양성분 같은 환경적인 영향, 염증이거나 저산소증과 같은 물리적인 요인들로 인해 조절된다[9]. 일반적으로, 임신 기간 동안 태아에 대한 모체에서의 면역 거부 반응은 태반 내 발현되는 다양한 면역억제 및 면역관용 시스템의 균형에 의해 임신이 유지된다. 하지만, 모체 내의 CRP 발현은 정상 임신과 비정상 임신기간 동안 면역 반응에 따른 태반의 염증 반응을 촉진하는 역할을 함으로써, 정상적인 태아와 태반 발달에 영향을 주어 정상적인 임신 유지에 어려움을 초래한다[10]. 태반 및 양막 내 감염, 그리고 중증도의 자간전증은 조산의 원인 가운데 중요한 비율을 차지하고 있으며, 모체와 태아의 다양한 염증 반응과 관련되어 있다[11][12]. 특히, 자간전증과 양막 내 감염에서 산모의 혈청 CRP 농도의 상승은 보고되었고, 질병의 중증도와 양의 상관관계가 있었다[13-15]. 또한, 유산과 자간전증 같은 비정상적 임신은 태반의 비정상적인 위치와도

관련되어 있으며[16][17], 유산 및 조산에서 합포체영양막의 CRP 농도는 임신초기 모체 내 혈액을 통해 알 수 있다[10]. 따라서, 임신 기간 동안 산모의 혈액 및 태반 내 증가된 CRP 농도는 조산 등과 같은 고위험 산과질환을 유발하는 것으로 알려져 있다.

MicroRNA (miRNA)는 최대 22 개 전후의 뉴클레오타이드 길이를 갖는 작은 내인성 비암호화 RNA이다. 이 분자들은 전령 RNA (mRNA)를 표적으로 3'-비번역부위(3'-UTR)에 결합함으로써, 특정 mRNA 분해 또는 번역억제를 통해 전사 후 수준에서 유전자 발현을 감소시킴으로써, 유전자의 발현을 후성학적으로 조절할 수 있다[18][19]. 특히, 하나의 mRNA 서열은 다중 miRNA에 의해 표적화 될 수 있으며, 하나의 miRNA는 다중 mRNA 표적을 갖는다[20]. 따라서, 하나의 miRNA 발현 변화는 여러 종류의 유전자 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다. 또한, miRNA는 발암 유전자와 종양 억제 유전자를 포함한 특정 표적 유전자에 따라 세포 발달, 증식, 분화, 세포 사멸, 신호 전달, 종양 형성 및 암 진행을 비롯한 수많은 세포 기능을 선택적이고, 단계 특이적으로 표적된 유전자의 발현을 조절한다[21][22]. 이러한 특징으로, 최근 miRNA는 잠재적인 예후 및 진단 생체표지자 뿐만 아니라 다양한 종양 질환의 치료를 위한 치료 표적으로서 개발되고 기대감이 증가되고 있다[23][24]. miRNA는 2008 년에 처음 기술되었으며 이후 79 개 이상의 miRNA가 전립선, 폐, 유방, 결장, 난소, 식도, 흑색종 및 위암을 포함한 여러 종양의 혈장 또는 혈청 생체표지자로 보고되었다[25][26]. 최근, 태반 특이적 miRNA가 영양막세포에서 발현되고, 세포 기능과 스트레스 적응을 조절하는 역할을 하는 500개 이상의 miRNA가 발견되었다[27][28]. 이러한 태반 특이적 miRNA 발현으로 인해 영양막세포의 증식, 세포사멸사, 이주, 침윤, 그리고 혈관형성과 같은 정상적인 임신상태를 조절한다[9].

영양막세포의 염증으로 인한 비정상적인 임신상태는 CRP농도 상승이 동반된다. 하지만, CRP의 비특이적인 특성으로 인해 영양막세포의 염증을 확인하기에는 많은 어려움이 있으며, 산과질환에 특이적인 진단마커의 부재로 인해 조산의 진단을 내리기는 쉽지 않은 상황이다. 따라서, 본 연구에서는 영양막세포의 염증유도 배양 조건에서 CRP 발현 및 CRP 발현 조절이 가능한 miRNA를

발굴하고, CRP 발현 조절 후보 miRNA의 발현을 qRT-PCR 방법으로 검증함으로써, 선별된 miRNA의 염증성과의 관련성을 규명하여 산전 진단 과정에서 염증성 진단마커로서 활용 가능성을 제시하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. miRNA 유전자 데이터베이스 검색

miRNA의 데이터베이스 검색 사이트인 mirna (<http://www.microrna.org>) TargetScan (<http://www.targetscan.org>), MicroCosm (<http://www.ebi.ac.uk/enrightsrvc/microcosm/htdocs/targets/>)을 통해 염증과 관련된 CRP 표적 miRNA를 선정하였다[29]. TargetScan은 각 miRNA의 종자영역과 일치하는 보존된 8mer, 7mer 및 6mer 위치를 검색하여 miRNA의 생물학적 표적을 예측하는데 널리 사용되는 데이터베이스이며, 중복을 조절할 수 있는 miRNA와 miRNA 유전자 쌍은 TargetScan이 차단하는 특성을 지니고 있다[30][31]. 각각의 데이터베이스에서 후보군을 선정하였고, 공통적으로 선정된 4개의 miR-7, miR-150, miR-186, miR-424를 선정하였다.

2. 영양막세포주 및 배양 및 LPS 처리 방법

SV40 큰 T항원을 가진 임신 초기 태반 조직 내 세포 영양막에서 분리 배양 및 확립된 HTR-8/SVneo 세포주는 Charles H. Graham 박사(Queen's University, Kingston, Ontario, Canada)에 의해 제공되었다[32]. HTR-8/SVneo 세포를 5% FBS (Gibco), 100 U/mL 페니실린/스트렙토마이신(Gibco)이 보충된 Roswell Park Memorial Institute 1640 배지(RPMI-1640)(Gibco)에서 5% CO₂를 포함하는 습한 환경의 배양기에서 37°C에서 배양하였다. 또한, 영양막세포 염증을 유도하기 위해 배양된 세포를 100mm 배양 접시에 1x10⁶씩 분주하여 lipopolysaccharide (LPS, Sigma)를 첨가한 배양액으로 배양하였다. 20ng/mL의 LPS 농도로 첨가한 배양 배지는 5% FBS, 1% Pen-Strep 을 함유한 RPMI-1640에서 24시간동안 배양하였다. 24시간 후 Trypsin과 Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS, Hyc

lone)을 사용하여 세포를 수확하였다.

3. RNA 추출 및 qRT-PCR 방법

대조군과 LPS 처리군에서 miRNA의 발현을 확인하기 위해 qRT-PCR를 진행하였다. 수확한 세포는 Trizol (15596-026, Invitrogen)을 이용하여 Total RNA를 추출하였다. Chloroform (C-2432-500, Sigma-Aldrich)과 Isopropanol (K38712034 824, merck)를 이용하여 RNA를 추출하였다. 추출된 RNA의 농도측정은 NanoDrop-1000 (Thermo scientific)을 사용하였다. Total RNA의 농도는 500ng-2mg로 50mM oligo dT (20mer)(bioneer), 10mM dNTP mix (SDN12-10Bh, So lgent)는 각 0.5ul, 나머지 DEPC를 섞어 10ul을 만들어 65°C에서 5분 반응 후 4°C에서 1분 반응시켰다. 반응시킨 후 5X first-strand buffer (Y02321, Invitrogen)는 2ul, 0.1M DTT (Y00147, Invitrogen), RNase-out (100000840, Invitrogen), superscript III RT (56575, Invitrogen)는 각 0.5ul를 넣어 50°C에서 1시간, 72°C 15분, 4°C에서 reverse transcription 과정을 완료하여 cDNA를 만들었다. cDNA는 1ul, 10pmol primer는 각 0.5ul, FastStart Universal SYBR Green Master (Rox)(SYBG; 04913914001, Roche applied science)는 12.5ul, DEPC는 10.5ul를 섞어 95°C에서 5분 진행하여 1cycle당 95°C 5초, 60°C 30초로 40cycle을 진행하였다. Primer에는 CRP와 18S를 사용하여 Ct값을 통해 표적 하는 유전자의 관련성을 확인하였다. CRP 증폭 염기서열은 F: 5'-GTGTTTCCCAAAGAGTCCGATACT-3, R: 5'-CCACGGGTCGAGGACAGTT-3'로, Internal control 유전자인 18S의 증폭염기서열은 F: 5'-GTAA CCGTTGAACCCATT-3', R: 5'-CCATCCAATC GGTAGTAGCG-3'로 증폭하였다.

4. 통계분석

각 실험은 3회 반복 실험을 진행하였고, 결과 값에 평균치 ± error bar를 구하여 나타내었다. 유의성은 Student's t-test로 분석하여 p-value가 0.05미만 일 경우 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

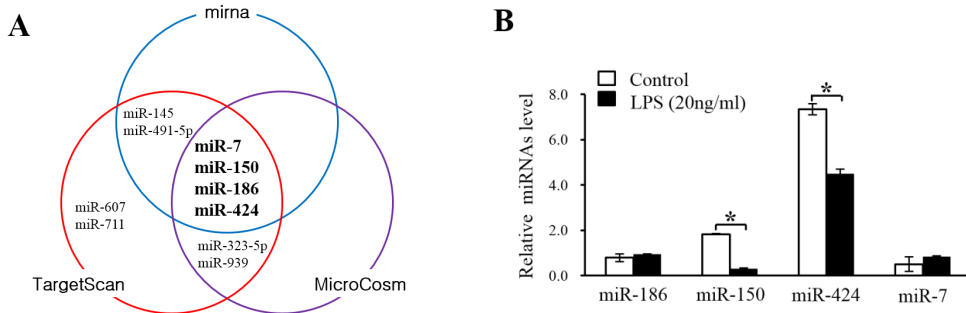


그림 1. 염증성 인자인 CRP 표적 miRNA 데이터베이스 유전자 양상. (A) 3개의 데이터베이스를 통한 후보 miRNA유전자 검색, (B) 표적 유전자에서 LPS 처리에 따른 miRNA의 조절양상

III. 결과

영양막세포의 염증과 관련된 CRP에 대한 표적 miRNA를 3개의 데이터베이스에서 확인한 결과, mirna에서는 miR-7, miR-145, miR-150, miR-186, miR-424, miR-491-5p의 후보유전자를 확인하였고, TargetScan에서는 miR-7, miR-145, miR-150, miR-186, miR-323-5p, miR-424, miR-491-5p, miR-607, miR-711, miR-939, MicroCosm에서는 miR-7, miR-150, miR-186, miR-323-5p, miR-424, miR-939를 확인하였다. 3개의 데이터베이스에서 공통적으로 발견되는 miRNA는 miR-7, miR-150, miR-186, miR-424였음을 확인하였다(그림 1(A)).

3개의 데이터베이스에서 영양막세포의 염증과 관련된 후보 유전자를 선별하였고, 표적 miRNA유전자 miR-7, miR-150, miR-186, miR-424와 CRP조절에 따른 발현양상을 qRT-PCR를 통해 확인 및 검증하였다. 정상적인 상태에서 영양막세포 내 CRP 발현을 확인하였다(data not shown). LPS 20 ng/mL 처리한 군에서 대조군 대비 miRNA의 비율은 miR-150에서 5.90배, miR-424에서 1.63배 감소하는 등 통계적으로 유의성 있게 감소되는 것을 확인하였다(그림 1) $p < 0.001$ (B)). 그러나, miR-7과 miR-186은 LPS를 처리한 군이 대조군과 차이를 보이지 않았다.

IV. 토의 및 제언

영양막세포의 이상 징후를 감지하는 것은 정상적인 임신유지를 위해 중요하다. 영양막세포는 태반에서 발견되는 주요한 세포로 태반의 가스교환, 영양, 폐기물 제거, 내분비 기능 및 태아 발육에 대한 면역학적 지지에 있어 중추적인 역할을 담당한다[1]. 임신 초기 영양막세포의 염증으로 인해 이러한 기능부재가 발생하면, 전자간증, 조산, 산모와 태아의 상호작용에서 미치는 위험성은 증가한다[11][12]. 영양막세포의 염증은 CRP의 상승을 이끈다[7]. 정상적인 임신 중에서도 나이가 높을수록, BMI가 높을수록, 자궁내막증이 있으면 CRP가 정상 기준보다 상승할 수 있다[33]. 하지만, 임신 중 CRP 수치는 전자간증[34], 용모양막염[35], 조기 진통[36]이 있는 여성에서 증가한다. 이러한 임신 초기 염증에서 CRP는 믿을 수 있는 지표이고, CRP 수치가 어떤 원인으로 나타나는지는 명확하지 않지만, 영양막세포와 대식세포, 활성화된 핵구와 같은 면역세포들이 서로 기능적인 상호작용에 의해 생산되는 IL-6로 인해 생성될 가능성이 있다[33].

현재 영양막세포의 상태를 밝힐 수 있는 생체표지자는 제한적인 점이 있다. 현재 영양막세포관련 생체표지자는 cytokeratin 7 (KRT7), HLA-G, hCG가 알려져 있다. 영양막세포는 태반 내 상피세포이기 때문에 KRT7[37]이 생체표지자로 제안되었지만, 다른 많은 상피세포도 KRT7 양성을 보이고, HLA-G[38]은 용모성 세포영양막(villous cytotrophoblast, VCT)이 아닌 용모외 세포영양막(extravillous cytotrophoblast, EVT)로 제한되는데, EVT는 하위 집단을 식별하는 데만 사용되고, 항체와 프라이머의 교차 반응성은 문제가 된다. hCG[39]는 뇌하수체와 종양의 범위에서 분비되고, 체외에서 분화를 연구하는데 유용하지만 영양막세포의 생체

표지자로서는 부적합하다. 따라서, 위에서 언급한 영양막 세포의 상태를 나타내는 유용한 생체표지자가 필요하다.

miRNA는 유용한 생체표지자가 될 수 있다. 데이터베이스에서 선택한 본 연구에서 제시하는 4가지 miRNA는 영양막세포의 염증과 관련된 기존의 연구는 찾아볼 수 없었으며, 영양막세포와 염증과의 관계를 조절하는 miRNA를 밝히는 최초의 연구이다. 태반에는 수많은 miRNA를 생성하여 착상, 유지 등 임신기간 동안 중요한 역할을 담당한다[40]. miRNA는 영양막세포에서도 확인되었고 대부분 염색체 14번(14q32.2), 19번(19q13.41)에 있는 두 개의 가장 큰 결합체에서 유래된다[41]. 영양막세포와 관련된 miR-155는 영양막세포의 침윤을 억제하고 자간전증과 관련이 있으며, IL-17A 경로와 관련되어 있고, miR-210은 자간전증과 관련되어 있으며 STAT6/IL-4 경로와 관련되어 있다[42][43]. 이전 연구에서 태반의 염증과 관련되어 let-7은 NF-kB, IL-6을 저하시키고, miR-181a는 TGF-Beta를 억제하고, mir-148/152 패밀리는 내재 면역을 저하시킨다고 보고 되어 있다[9].

miR-150은 정상조혈작용과 혈액종양에 관여하고, 주로 림프절과 비장에서 발현되는 유전자로 알려져 있다. B 세포, T 세포의 분화를 통제하거나, B세포의 성숙과정에서 pro-B에서 pre-B세포로의 전환을 억제하고, 림프구 발달을 조절하는 전사인자인 C-MYB, FLT3, CBL, EGR2, AKT2, DKC1을 표적으로 한다고 알려져 있다 [44-47]. 림프계 혈액 세포는 혈장 내 높은 안정성, 질병과의 연관성, 민감한 측정이 용이하고 백혈구 수와 밀접하게 관련되어 있기 때문에 miR-150은 수많은 암 연구에서 연구되어 왔다[25][48]. Luo 등은 miR-150은 IL-6, IL-10, MCP-1 및 TNF- α 를 비롯한 사이토카인과 같은 염증반응과 밀접하게 관련되어 있다고 하였다[49].

miR-424는 miR-93, miR-205, miR-224, miR-335, miR-451, miR-491과 함께 저산소환경에 영양막세포가 초기 노출될 때 발현되는 7개의 miRNA 중 하나이다[50]. miRNA-424는 태아 성장 제한과 관련되어 있으며, 혈관 신생과 관련된 세포에서 증가되고, 저산소 상태는 miR-424 발현을 유도하며, 태반에서의 혈관 손상이나 부적절한 혈관 발달이 태반기능 부전으로 이어질 수 있다[50][51]. 염증반응과 관련하여 IL-1 β ,

IL-6, TNF- α 은 억제하고, IL-4, IL-10은 상승시킨다 [52].

영양막세포에서 염증성 인자인 CRP 발현과 CRP 발현 조절 후 miRNA 의 조절관계를 qRT-PCR로 검증한 결과, LPS 처리로 인해 유발된 염증모델에서 miR-150, miR-424가 저하되는 것이 명확하게 나타났다. 따라서, 영양막세포의 염증과 관련된 CRP를 조절하는 기전에 본 연구에서 선별한 4가지 miRNA 가운데 반응성을 보인 miR-150과 miR-424가 관여할 것으로 사료된다. 향후 연구에서는 클로닝을 통해 후보 miRNA의 발현과 매칭이 되는지, 실제적으로 영양막세포의 기능에 영향을 미치는지에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- [1] R. B. Donker, J. F. Mouillet, T. Chu, C. A. Hubel, D. B. Stolz, A. E. Morelli, and Y. Sadovsky, "The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes," *Mol Hum Reprod*, Vol.18, No.8, pp.417-424, 2012.
- [2] E. R. Norwitz, "Defective implantation and placentation: laying the blueprint for pregnancy complications," *Reprod Biomed Online*, Vol.14, No.1, pp.101-109, 2007.
- [3] L. Ji, J. Brkic, M. Liu, G. Fu, C. Peng, and Y. L. Wang, "Placental trophoblast cell differentiation: physiological regulation and pathological relevance to preeclampsia," *Mol Aspects Med*, Vol.34, No.5, pp.981-1023, 2013.
- [4] M. Halasz and J. Szekeres-Bartho, "The role of progesterone in implantation and trophoblast invasion," *J Reprod Immunol*, Vol.97, No.1, pp.43-50, 2013.
- [5] O. Genbacev, R. Joslin, C. H. Damsky, B. M. Polliotti, and S. J. Fisher, "Hypoxia alters early gestation human cytotrophoblast differentiation/ invasion in vitro and models the placental defects that occur in preeclampsia," *J Clin Invest*, Vol.97, No.2, pp.540-550, 1996.

- [6] B. M. Sibai, "Thrombophilia and severe preeclampsia: time to screen and treat in future pregnancies?," *Hypertension*, Vol.46, No.6, pp.1252-1253, 2005.
- [7] I. Kushner and G. Feldmann, "Control of the acute phase response. Demonstration of C-reactive protein synthesis and secretion by hepatocytes during acute inflammation in the rabbit," *J Exp Med*, Vol.148, No.2, pp.466-477, 1978.
- [8] S. Black, I. Kushner, and D. Samols, "C-reactive protein," *Journal of Biological Chemistry*, Vol.279, No.47, pp.48487-48490, 2004.
- [9] M. Cai, G. K. Kolluru, and A. Ahmed, "Small Molecule, Big Prospects: MicroRNA in Pregnancy and Its Complications," *J Pregnancy*, Vol.2017, p.6972732, 2017.
- [10] E. N. Kim, B. H. Yoon, E. J. Jeon, J. B. Lee, J. S. Hong, J. Y. Lee, D. Hwang, K. C. Kim, J. S. Kim, and C. J. Kim, "Placental deposition of C-reactive protein is a common feature of human pregnancy," *Placenta*, Vol.36, No.6, pp.704-707, 2015.
- [11] C. W. Redman, G. P. Sacks, and I. L. Sargent, "Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy," *Am J Obstet Gynecol*, Vol.180, No.2, Pt.1, pp.499-506, 1999.
- [12] M. T. Gervasi, T. Chaiworapongsa, P. Pacora, N. Naccasha, B. H. Yoon, E. Maymon, and R. Romero, "Phenotypic and metabolic characteristics of monocytes and granulocytes in preeclampsia," *Am J Obstet Gynecol*, Vol.185, No.4, pp.792-797, 2001.
- [13] C. W. Park, B. H. Yoon, J. S. Park, and J. K. Jun, "An elevated maternal serum C-reactive protein in the context of intra-amniotic inflammation is an indicator that the development of amnionitis, an intense fetal and AF inflammatory response are likely in patients with preterm labor: clinical implications," *J Matern Fetal Neonatal Med*, Vol.26, No.9, pp.847-853, 2013.
- [14] R. A. Howman, A. K. Charles, A. Jacques, D. A. Doherty, K. Simmer, T. Strunk, P. C. Richmond, C. H. Cole, and D. P. Burgner, "Inflammatory and haematological markers in the maternal, umbilical cord and infant circulation in histological chorioamnionitis," *PLoS One*, Vol.7, No.12, p.e51836, 2012.
- [15] F. Mirzaie, F. Rahimi-Shorbaf, and A. H. Kazeronie, "Association of maternal serum C-reactive protein levels with severity of preeclampsia," *Acta Medica Iranica*, pp.293-296, 2009.
- [16] I. Brosens, R. Pijnenborg, L. Vercruyssen, and R. Romero, "The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation," *Am J Obstet Gynecol*, Vol.204, No.3, pp.193-201, 2011.
- [17] R. Romero, J. P. Kusanovic, T. Chaiworapongsa, and S. S. Hassan, "Placental bed disorders in preterm labor, preterm PROM, spontaneous abortion and abruptio placentae," *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, Vol.25, No.3, pp.313-327, 2011.
- [18] S. Lee and S. Vasudevan, "Post-transcriptional stimulation of gene expression by microRNAs," *Adv Exp Med Biol*, Vol.768, pp.97-126, 2013.
- [19] D. P. Bartel, "MicroRNAs: target recognition and regulatory functions," *Cell*, Vol.136, No.2, pp.215-233, 2009.
- [20] P. Zhou, W. Xu, X. Peng, Z. Luo, Q. Xing, X. Chen, C. Hou, W. Liang, J. Zhou, X. Wu, Z. Songyang, and S. Jiang, "Large-scale screens of miRNA-mRNA interactions unveiled that the 3'UTR of a gene is targeted by multiple miRNAs," *PLoS One*, Vol.8, No.7, p.e68204, 2013.
- [21] Y. Huang, X. J. Shen, Q. Zou, S. P. Wang, S. M. Tang, and G. Z. Zhang, "Biological functions of microRNAs: a review," *J Physiol Biochem*, Vol.67, No.1, pp.129-139, 2011.
- [22] M. S. Ebert and P. A. Sharp, "Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes," *Cell*, Vol.149, No.3,

- pp.515-524, 2012.
- [23] A. Markou, Y. Liang, and E. Lianidou, "Prognostic, therapeutic and diagnostic potential of microRNAs in non-small cell lung cancer," *Clin Chem Lab Med*, Vol.49, No.10, pp.1591-1603, 2011.
- [24] L. Mulrane, R. Klinger, S. F. McGee, W. M. Gallagher, and D. P. O'Connor, "microRNAs: a new class of breast cancer biomarkers," *Expert Rev Mol Diagn*, Vol.14, No.3, pp.347-363, 2014.
- [25] C. C. Pritchard, E. Kroh, B. Wood, J. D. Arroyo, K. J. Dougherty, M. M. Miyaji, J. F. Tait, and M. Tewari, "Blood cell origin of circulating microRNAs: a cautionary note for cancer biomarker studies," *Cancer Prev Res (Phila)*, Vol.5, No.3, pp.492-497, 2012.
- [26] H. Schwarzenbach, N. Nishida, G. A. Calin, and K. Pantel, "Clinical relevance of circulating cell-free microRNAs in cancer," *Nat Rev Clin Oncol*, Vol.11, No.3, pp.145-156, 2014.
- [27] S. S. Luo, O. Ishibashi, G. Ishikawa, T. Ishikawa, A. Katayama, T. Mishima, T. Takizawa, T. Shigihara, T. Goto, A. Izumi, A. Ohkuchi, S. Matsubara, T. Takeshita, and T. Takizawa, "Human villous trophoblasts express and secrete placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes," *Biol Reprod*, Vol.81, No.4, pp.717-729, 2009.
- [28] D. M. Morales-Prieto, S. Ospina-Prieto, A. Schmidt, W. Chaiwangyen, and U. R. Markert. "Elsevier Trophoblast Research Award Lecture: origin, evolution and future of placenta miRNAs," *Placenta* Vol.35, pp.S39-45, 2014.
- [29] P. Sethupathy, M. Megraw, and A. G. Hatzigeorgiou, "A guide through present computational approaches for the identification of mammalian microRNA targets," *Nature Methods*, Vol.3, No.11, pp.881-886, 2006.
- [30] V. Agarwal, G. W. Bell, J. W. Nam, and D. P. Bartel, "Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs," *Elife*, Vol.4, 2015.
- [31] B. P. Lewis, C. B. Burge, and D. P. Bartel, "Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets," *Cell*, Vol.120, No.1, pp.15-20, 2005.
- [32] C. H. Graham, T. S. Hawley, R. G. Hawley, J. R. MacDougall, R. S. Kerbel, N. Khoo, and P. K. Lala, "Establishment and characterization of first trimester human trophoblast cells with extended lifespan," *Exp Cell Res*, Vol.206, No.2, pp.204-211, 1993.
- [33] G. Sacks, L. Seyani, S. Lavery, and G. Trew, "Maternal C-reactive protein levels are raised at 4 weeks gestation," *Human reproduction*, Vol.19, No.4, pp.1025-1030, 2004.
- [34] E. Teran, C. Escudero, W. Moya, M. Flores, P. Vallance, and P. Lopez-Jaramillo, "Elevated C-reactive protein and pro-inflammatory cytokines in Andean women with pre-eclampsia," *Int J Gynaecol Obstet*, Vol.75, No.3, pp.243-249, 2001.
- [35] B. H. Yoon, J. K. Jun, K. H. Park, H. C. Syn, R. Gomez, and R. Romero, "Serum C-reactive protein, white blood cell count, and amniotic fluid white blood cell count in women with preterm premature rupture of membranes," *Obstet Gynecol*, Vol.88, No.6, pp.1034-1040, 1996.
- [36] G. B. Hvilsom, P. Thorsen, B. Jeune, and L. S. Bakketeig, "C-reactive protein: a serological marker for preterm delivery?," *Acta Obstet Gynecol Scand*, Vol.81, No.5, pp.424-429, 2002.
- [37] F. Ramaekers, A. Huysmans, G. Schaart, O. Moesker, and P. Vooijs, "Tissue distribution of keratin 7 as monitored by a monoclonal antibody," *Exp Cell Res*, Vol.170, No.1, pp.235-249, 1987.
- [38] R. Apps, L. Gardner, and A. Moffett, "A critical look at HLA-G," *Trends Immunol*, Vol.29, No.7, pp.313-321, 2008.
- [39] L. A. Cole, "Hyperglycosylated hCG, a review," *Placenta*, Vol.31, No.8, pp.653-664, 2010.
- [40] A. Chakrabarty, S. Tranguch, T. Daikoku, K. Jensen, H. Furneaux, and S. K. Dey, "MicroRNA regulation of cyclooxygenase-2 during embryo

- implantation," Proc Natl Acad Sci U S A, Vol.104, No.38, pp.15144-15149, 2007.
- [41] M. Bidarimath, K. Khalaj, J. M. Wessels, and C. Tayade, "MicroRNAs, immune cells and pregnancy," Cell Mol Immunol, Vol.11, No.6, pp.538-547, 2014.
- [42] L. Gan, Z. Liu, M. Wei, Y. Chen, X. Yang, L. Chen, and X. Xiao, "MiR-210 and miR-155 as potential diagnostic markers for pre-eclampsia pregnancies," Medicine (Baltimore), Vol.96, No.28, p.e7515, 2017.
- [43] K. R. Bounds, V. L. Chiasson, L. J. Pan, S. Gupta, and P. Chatterjee, "MicroRNAs: new players in the pathobiology of preeclampsia," Frontiers in cardiovascular medicine, Vol.4, p.60, 2017.
- [44] S. Monticelli, K. M. Ansel, C. Xiao, N. D. Socci, A. M. Krichevsky, T. H. Thai, N. Rajewsky, D. S. Marks, C. Sander, K. Rajewsky, A. Rao, and K. S. Kosik, "MicroRNA profiling of the murine hematopoietic system," Genome Biol, Vol.6, No.8, p.R71, 2005.
- [45] B. Zhou, S. Wang, C. Mayr, D. P. Bartel, and H. F. Lodish, "miR-150, a microRNA expressed in mature B and T cells, blocks early B cell development when expressed prematurely," Proc Natl Acad Sci U S A, Vol.104, No.17, pp.7080-7085, 2007.
- [46] C. Xiao, D. P. Calado, G. Galler, T. H. Thai, H. C. Patterson, J. Wang, N. Rajewsky, T. P. Bender, and K. Rajewsky, "MiR-150 Controls B Cell Differentiation by Targeting the Transcription Factor c-Myb," Cell, Vol.165, No.4, p.1027, 2016.
- [47] Y. He, X. Jiang, and J. Chen, "The role of miR-150 in normal and malignant hematopoiesis," Oncogene, Vol.33, No.30, pp.3887-3893, 2014.
- [48] R. Garzon and C. M. Croce, "MicroRNAs in normal and malignant hematopoiesis," Curr Opin Hematol, Vol.15, No.4, pp.352-358, 2008.
- [49] N. Luo, W. Garvey, D. Wang, and Y. Fu, "MicroRNA-150 regulates lipid metabolism and inflammatory response," J Metab Syndr, Vol.2, No.2, 2013.
- [50] J. F. Mouillet, T. Chu, C. A. Hubel, D. M. Nelson, W. T. Parks, and Y. Sadovsky, "The levels of hypoxia-regulated microRNAs in plasma of pregnant women with fetal growth restriction," Placenta, Vol.31, No.9, pp.781-784, 2010.
- [51] G. Ghosh, I. V. Subramanian, N. Adhikari, X. Zhang, H. P. Joshi, D. Basi, Y. S. Chandrashekhar, J. L. Hall, S. Roy, Y. Zeng, and S. Ramakrishnan, "Hypoxia-induced microRNA -424 expression in human endothelial cells regulates HIF-alpha isoforms and promotes angiogenesis," J Clin Invest, Vol.120, No.11, pp.4141-4154, 2010.
- [52] K. Zhang, F. Song, X. Lu, W. Chen, C. Huang, L. Li, D. Liang, S. Cao, and H. Dai, "MicroRNA-322 inhibits inflammatory cytokine expression and promotes cell proliferation in LPS-stimulated murine macrophages by targeting NF- κ B1 (p50)," Bioscience reports, Vol.37, No.1, p.BSR20160239, 2017.

저자 소개

김희성(Hee Sung Kim)

정희원



- 2008년 8월 : 고려대학교 분자진단 생명공학과(이학석사)
- 2015년 8월 : 단국대학교 보건학과 (보건학박사)
- 2003년 2월 ~ 현재 : 단국대학교 의과대학 제일병원 진단검사의학과 주임

<관심분야> : 임상병리학, polymorphism, 분자진단, microRNA, 질량분석