□ 심포지움 □

갑상선기능검사에서의 In-Vitro Test

In-Vitro Test in Thyroid Function Test

가톨릭의과대학 내과학교실

金　東　集

일반적으로 어떤 기관의 질환에서 병태생리가 확실한 경우에는 이 기관의 기능상 이상이 나타날 때 진단 및 감별진단에 있어 여러가지의 검사방법이 필요하지 않다. 반면 병태생리가 확실하지 않을 때는 명확하게 진단을 내리기에는 단순한 검사방법으로는 곤란하거나 때로는 거의 불가능할 때도 있다. 갑상선의 질환에 있어 우리가 알고 있는 병태생리는 확실하지가 않기 때문에 현재 이용되고 있는 갑상선기능검사법도 여러종류가 있고 검사방법에도 어려움이 있으며 이런 모든 검사방법에도 불구하고 확실한 진단을 내리기엔 때로 어려움이 있다. 일반적으로 흔히 사용되는 갑상선기능검사는 Table-1과 같다. 위의 기능검사중 In-Vitro Test로서 가장 문제가 되는 것은 홀몬의 assay다. In-Vitro Test에서 사용되는 방법들은 Table-2와 같은 것 들이 있다.

정상상태에서는 갑상선기능은 다른 홀몬분비 기관과 같이 negative feed-back 기전의 영향을 받는다. pituitary glaud에서 분비되는 TSH의 자극에 의해 갑상선홀몬의 분비가 증가되고 혈중으로 분비된 T_3, T_4는 pituitary gland의 분비를 억제시키는 작용을 갖는다. TSH의 분비를 조절하는 기전은 확실히 알려져 있지는 않지만 hypothalamus 상부의 작용을 받으며 갑상선홀몬과도 어떤 연관을 갖고 있을 것으로 추측된다. 이외에도 갑상선 자체 내에서 autoregulating하는 기전이 존재한다는 것도 알려져 있다(Fig. 1).

갑상선 자체의 이상은 없으나, pituitary gland의 이상으로 인해 TSH분비가 저하될 때는 TSH의 자극이 저하되므로 갑상선 홀몬의 분비가 저하되고 갑상선기능저하증이 발생한다. 이런 기능저하증을 tropopryvic hypothyroidism이라 한다. 반면 갑상선 자체의 이상으로 홀몬분비가 저하 될 때는 혈중 갑상선홀몬의 저하로 pituitary glaud가 자극을 받아 TSH의 분비가 증가한다. 갑상선기능항진증의 원인이 pituitary gland의 종양등으로 TSH분비가 증가된 경우가 아니고 LATS 등의 자극이나 autonomous한 기능을 갖는 갑상

Table 1. Commonly employed laboratory tests of thyroid hormone economy

1. Direct Tests of Thyroid Function
   Thyroid uptake of I^{131}, RAIU
2. Tests Related to the Concentration and Binding of the Thyroid Hormones in Blood
   Measurements of Hormone Concentration
   Serum T_4 concentration by competitive protein binding(displacement) analysis, T_4(D)
   Serum T_3 concentration by radioimmunoassay, T_3(RIA)
   Serum protein-bound iodine, PBI
   Measurements of Hormone Binding
   Percent free T_4, $\%FT_4$
   Resin T_3 uptake *in vitro*, RT_3U
   Free T_4 concentration, FT_4
   Free T_4 index T-RT_3 index
3. Tests that assess the metabolic Impact of the Thyroid hormone
   Basal metabolic rate BMR
   Serum cholesterol concentration
   Achilles reflex time
4. Tests that Assess the Mechanisms for Regulating Thyroid Function
   Thyroid suppression test
   TSH-stimulation test
   Serum TSH concentration
   TRH-stimulation test
5. Miscellaneous Tests
   External scintiscanning
   Tests for thyroid autoantibodies

Table 2. In vitro study

1. Competitive Protein binding assay
2. Binding Capacity of nonspecific Protein
3. Isotope dilution and derivative method
4. Activation analysis
5. Radioimmunoassay
6. Radioenzymeassay
7. Radioreceptorassay

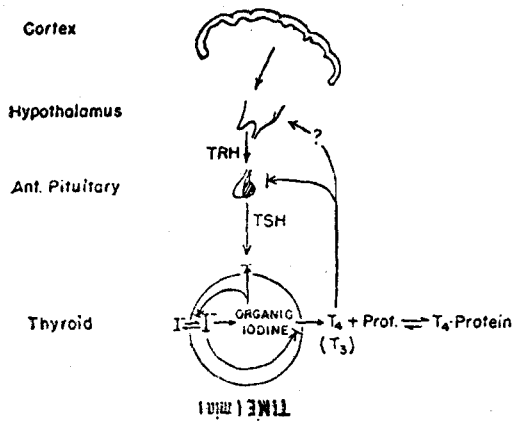

Fig. 1. Diagram of the factors that regulate thyroid function. Thyroid hormones (T_4 and T_3) in the pituitary, as reflected by their unbound concentrations in blood inhibit secretion of thyroid stimulating hormone(TSH) The TSH releasing hormone(TRH) sets the threshold in the pituitary at which this negative feedback occurs. Factors regulating the secretion of TRH are uncertain but may include influences from higher centers and a stimulatory effect of the thyroid hormones Autoregulatory control of thyroid function is also shown. High concentrations of intrathyroid iodide decrease the rate of release of thyroid iodine. In addition the magnitude of the organic iodine pool inversely influences the iodide transport mechanism and the response to TSH.

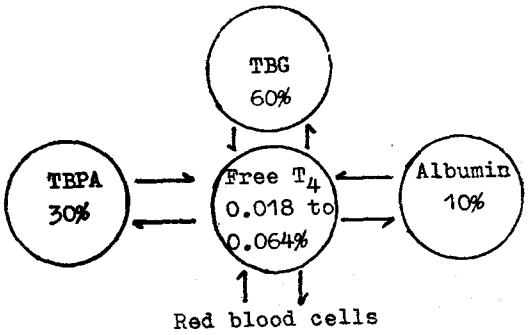

Fig. 2. Interrelationships between thyroid hormones and plasma proteins.

선의 증양등에 의할 때는 혈중 갑상선홀몬의 증가로 TSH의 분비가 저하되며 원발성기능저하증과는 반대로 TRH에 대한 TSH분비의 정도도 감소한다. 따라서 TSH의 혈중농도, TRH에 대한 TSH분비반응, 및 혈중 T_3, T_4를 측정하면 기능의 상태 및 원인 등을 알아 낼 수 있다.

갑상선에서 분비되어 혈중으로 들어간 홀몬은 거의 대부분이 TBG, TBPA, albumin과 결합되고 극소량이 RBC와 결합된다. 혈중에서 유리상태로 존재하는 양은 극히 소량으로 전체 혈중 갑상선홀몬의 0.018~0.064% 정도이다(Fig. 2). 그러나 갑상선기능의 임상적 상태와 직접적 관련을 갖는 것은 이 미량의 유리형태의 홀몬의 양이다.

혈중 갑상선홀몬의 농도를 측정하는 방법에는 여러 가지가 있다(Table 3). 초창기에는 갑상선홀몬에 붙어

Table 3. Tests of circulating levels of thyroid hormones

Coerrct name	Abbreviation	Actually measured	Units	Source of confusion
Protein-bound iodine	PBI	Iodine	ug%	
Thyroxine iodine(column)	T_4I	Iodine	ug%	Usually called T_4, but is actually T_4I
Thyroxine(Murphy-Pattee)	T_4	T_4	ug%	Normal range higher than PBI
Thyroxine iodine(M-P)	T_4I	T_4	ug%	T_4 is measured, converted to T_4I by multiplication by 0.65
Triiodothyronine	T_3	T_3	ug%	NOT same as T_3 resin uptake
Triiodothyronine iodine	T_3I	T_3	ug%	T_3 is measured, corrected to T_3I by multiplication by 0.58
Absolute free thyroxine	AFT_4	T_4XFT_4F	ug%	Confused with FT_4F
Percent free thyroxine	$\%FT_4$	FT_4X100	%	Confused with AFT_4
T_3 resin uptake	T_3	Complex	%	Usually called T_3 test

FT_4F=free thyroxine fraction=fraction dialyzable at equilibrium

있는 iodine을 생화학적 방법으로 측정하여 홀몬의 양을 간접적으로 보는 방법이 이용되었었다(PBI, BEI). 그러나 이방법은 홀몬 자체의 농도이외에 여러 상태에 의해 영향을 받을 수 있어 실제적인 홀몬의 분비상태를 정확히 반영하지 못할 뿐만 아니라 검사방법이 번잡하며 특수한 검사시설이 있는 검사실이 필요하다는 단점이 있다. 혈중 TBG는 갑상선홀몬과 결합된 형태로 존재하는 것과 유리형태로 존재하는 것이 있으며 유리형태로 존재하는 양이 binding capacity를 나타낸다. 혈중 갑상선홀몬의 양이 증가하면 결합형이 증가하여 binding capacity가 감소하고 홀몬의 양이 감소하면 유리형이 증가하여 binding capacity가 증가한다. 이것을 이용하여 간접적으로 홀몬의 농도를 측정할 수 있다. 그러나, TBG는 여러가지 질환 및 약물에 의해 영향을 받기 쉽기 때문에 이런 경우에는 실제의 갑상선홀몬의 상태를 반영하지 못한다(Table 4). 1964년 Yallow와 Berson이 radioimmunoassay를 임상에 이용하면서 부터 T_4, T_3를 RIA로 측정하는 방법이 개발되었다.

갑상선홀몬의 분비는 위에서 말한 바와 같이 hypothalamus-pituitary-thyroid간의 관련을 갖고 있다. 이 각각의 level에서의 관련을 볼 수 있는 검사방법에는 여러가지 다른 방법이 있다(Table 5). 즉 pituitary와 thyroid glaud와의 관련을 보는 데는 T_3 suppression Test, TSH RIA 및 TSH stimulation test등이 있다

TBG의 binding capacity의 증감에 의해 간접적으로 thyroid hormone의 증감을 보는 방법으로 T_3 resin uptake test가 있다. 환자의 혈액에 일정양의 radioactive T_3를 넣으면 혈액내에 존재하는 유리형태의 TBG와 결합하여 TBG의 binding capacity를 채우고 남은 RAT_3는 free form으로 존재하게 된다. 이 유리형태로 존재하는 RAT_3를 secondary binding sulstance로 추출하여 측정하면 환자의 binding capacity를 알 수 있다. 갑상선기능항진증이 있는 경우에는 혈중 홀몬의 증가로 TBG의 binding capacity가 감소되어 secondary binding substance로 추출되는 RAT_3의 양이 정상보다 증가하게 된다. 그러나 T_3RU는 위에서 말한 바와 같이 TBG의 binding capacity가 갑상선과 관련이 없는 상태에서도 변화할 수 있기 때문에 갑상선기능상태를 정확히 반영한다고 할 수가 없다(Table 6). 즉, androgn, anabolic steroid, salicylate, 및 dilantin 등을 사용하고 있는 환자에서는 갑상선기능항진증이 없는 데도 불구하고 T_3RU는 증가 되는 것을 볼 수 있다. 따라서 T_3RU는 이외의 다른 기능검사(T_4, PBI, FT_4 etc.)의 결과를 같이 보아야 갑상선기능상태의 진단에 도움이 된다(Table 7). T_3RU가 증가되어 있고 total T_4, PBI 및 free T_4가 증가 되어 있는 경우에는 갑상선기능항진증의 진단을 내릴 수 있다. T_3RU에 사용되는 secondary binding substan는 resin이지만 이외 RBC, coated charcoal, sephadex 및 gel diffusion등을 이용하기도 한다.

Table 4. Factors that alter the value of TBG

1. Factors that increase TBG
   1. Pregnancy
   2. Neonatal state
   3. Estrogen and hyperestrogenic state
   4. Oral contraceptive
   5. Acute intermittent porphyria
   6. Infectious hepatitis
   7. X-linked dominent genetic determination
2. Factors that decrease TBG
   1. Androgenic or anabolic steroid
   2. Large dose of glucocorticoid
   3. Acromegaly
   4. Nephrotic syndrome
   5. Liver cirrhosis
   6. Major illness
   7. X-linked dominent genetic determination

혈중 T_4를 측정하는 데는 여러가지 방법이 있지만 가장 흔히 사용되는 것은 Murphy와 Pattee가 시작한 competative protein binding technique이다. 환자의 혈청에서 T_4를 추출하여 radioactive iodine으로 label된 일정량의 T_4와 TBG와의 결합에서 경합을 시킨다. TBG와의 결합에서 labeled T_4와 환자의 T_4는 서로 경합을 하여 일정한 비율로 결합하게 된다. 유리형태의 T_4를 추출한 후 여기에서 labeled T_4의 양을 측정하면 환자의 T_4의 값을 미리 구해진 standard curve에서 구할 수 있다. T_3도 영향을 줄 수 있으나 TBG와의 결합력이 약하기 때문에 T_3값이 상당히 증가하더라도 큰 차이를 나타내지 않는다. 유리형과 결합형의 분리는 gel diffusion등을 이용하나, 현재는 resin sponge(tetrasorb)를 많이 사용한다. CPB technique로 측정한 T_4와 RIA로 측정한 T_4는 큰차이가 없이 상관관계가 좋다.

혈중 T_3의 측정에도 CPB원리를 적용하여 측정하기도 하지만 T_4와는 달리 T_3 RIA보다 부정확하며 측정하기도 힘들다. 따라서 현재는 T_3의 측정에는 대부분

Table 5. Assessment of thyroid function at different levels

LEVEL	TEST
Pituitary-thyroid interrelationship	T_3 suppression test TSH immunoassay TSH stimulation
Accumulation of ^{131}I by thyroid and its distribution within gland	^{131}I uptake Thyroid scan
Concentration of circulating thyroid hormone	PBI, BEI, total T_4, and (indirectly) resin or red-cell T_3 uptake
Effect of thyroid hormone upon body	BMR, cholesterol, refle xrelaxation time

Table 6. Clinical states influencing results of the T_3 red cell or resin uptake test

Factors elevating the T_3 red cell or resin uptake
- Anticoagulants-dicumarol, heparin
- Nephrotic syndrome
- Severe liver disease
- Severe metastatic malignancy
- Severe pulmonary insufficiency with CO_2 retention
- Paroxysmal atrial arrhythmias
- Uremia
- Leukemia
- Polycythemia vera
- Myelomatosis
- Serve chronic infectious diseases
- Salicylate therapy
- Prednisone therapy

Factors lowering the T_3 red cell or resin uptake
- Pregnancy
- Estrogen therapy
- propylthiouracil in hyperthyroid therapy
- Iodine in hyperthyroidism
- Ovulatory suppressants

Table 7. T_3 Uptake test interpretation

I. Low T_3RU
1. With low levels of total T_4, PBI and FT_4: Decrease thyroxine formation(hypothyroidism)
2. With high levels of total T_4, PBI, and normal FT_4:
   a. Estrogen, Pregnancy, Liver cirrhosis
   b. Hereditary elevation of TBG
   c. Perphenazine

II. High T_3RU
1. With high value of total T_4, PBI and FT_4:
   a. High secretion of thyroxine (hyperthyroidism)
   b. Thyroid medication, Factitial hyperthyroidism
2. With low value of total T_4, PBI and normal FT_4:
   a. Androgen, Anabolic steroid
   b. Salicylate
   c. Dilantin

RIA 를 이용한다.

혈중 유리형의 T_4와 T_3를 측정할 수 있으면 이것이 갑상선기능상태의 가장 정확한 방법이 될 수 있으나 이방법은 시간이 걸리고 매우 힘들다. T_4와 T_3 RU 를 이용해서 free T_4 index 를 구하여 free T_4와의 상관관계를 보면 이 양자의 corelationship 이 좋은 것을 알 수 있다(Fig. 3). pregnancy 때는 TBG 의 증가로 T_3RU 는 감소하지만 total T_4도 증가하여 free T_4 index 는 정상범위에 있다.

rabbit 에 T_3-albumin complex 를 주사하면 anti-T_3 antiserum 을 얻을 수 있다. 이 antiserum 을 사용하여 T_3의 RIA 를 한다. RIA 로 측정한 T_3의 값은 종래 사용하던 것보다 더 정확하다. antiserum 과 결합된 것과 유리형으로 존재하는 것의 분리에는 double-antibody technique 를 이용한다.

T_4RIA 에는 thyroglobulin 을 rabbit 에 주사하여 얻은 antiserum 을 사용한다. 이 antiserum 은 TBG, T-BPA 와도 결합할 수 있으므로 우선 ANS(anidinic sulfonic acid)와 salicylate 로 TBG 와 TBPA 가 결합되는 것을 방지한 후 T_4의 RIA 를 한다. T_4RIA 의 결과는 종래에 사용하던 CPB technique 와 별 차이가 없다.

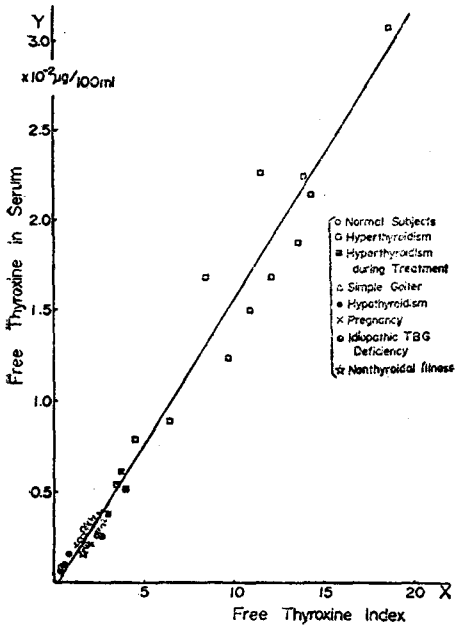

Fig. 3. In the study from which this figure was derived, serum T_4 concertration was estimated from measurements of the PBI The correlation between free T_4 concentration measured by dialysis and the free T_4 index is clearly demonstrated. Linearity of the relationship was achieved by calculating the free T_4 index as follows $PBI \times RT_3U/1\text{-}0.6\ RT_3U$. Note that values for both functions in circumstances in which TBG is altered are in the normal range(From Hamada S. Nakagawa, T., et al.: *J. Clin. Enopcr. 31:166*, 1970).

TSH의 RIA는 비교적 sensitive하며 specific하다. 혈중의 TSH농도측정도 갑상선기능검사에 큰 도움을 주지만 이것보다 TRH를 투여한 후의 TSH의 반응은 경한 갑상선기능저하증의 감별에 큰 도움이 된다 정상에서 TRH를 투여하면 어느 정도까지는 투여한 TRH 양에 관련되나 어느 level이상에서는 투여량과는 관련이 없다(Fig-4).

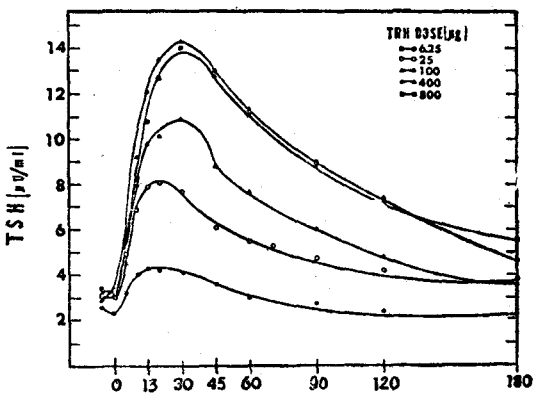

Fig. 4. Response of serum TSH concentration to intravenous TRH in the dosage shown in normal subjects.(Fronr Snoder, P.J., and Utiger, R.D.: *J. Clin. Endocr. 34:*380, 1972).

갑상선기능저하증에서 원발성인 경우에는 TSH의 농도도 증가하지만, TRH에 대한 TSH분비반응이 sensitive 해진 것을 볼 수 있고, pituitary gland의 이상이 있는 경우는 TRH에 대한 반응이 없는 것을 볼 수 있어 이 양자의 감별에도 TRH에 대한 TSH분비반응을 이용할 수 있다.

이상의 갑상선기능검사에서 in-vitro tert로 현재 많이 이용되고 있는 것이다.