

Alpha-fetoprotein 측정용 국산 방사면역측정법 시약의 평가

아산재단 강릉병원, 서울중앙병원 울산대학교 의과대학 핵의학과¹

원경숙 · 류진숙¹ · 문대혁¹ · 이희경¹

The Evaluation of Domestic Immunoradiometric Assay Kit for Alpha-fetoprotein

Kyoung Sook Won, M.D., Jin-Sook Ryu, M.D.,¹ Dae Hyuk Moon, M.D.¹ and Hee Kyung Lee, M.D.¹

Department of Nuclear Medicine, Asan Kangnung Hospital, Kangnung Korea; and Department of Nuclear Medicine, Asan Medical Center,¹ University of Ulsan, Seoul, Korea

Abstract

Purpose: Although α -fetoprotein is one of the most commonly used tumor markers in Korea, most of the radioimmunoassay kits for α -fetoprotein have been imported from foreign countries. The purpose of this study was to evaluate the performance of a recently developed domestic immunoradiometric kit for α -fetoprotein (Riakey AFP IRMA CT^R, Sin-Jin Medics, Seoul, Korea). **Materials and Methods:** We evaluated intra- and inter-assay precision, recovery rate, parallelism, and sensitivity of serum α -fetoprotein measurement using Riakey AFP IRMA CT^R kit. The values of α -fetoprotein measured by Riakey AFP IRMA CT^R kit were compared with those measured by two foreign commercial kits (α -fetoproteina of Radim and α -feto.riabead of Abbott). **Results:** Intra-assay coefficients of variation on three different levels were 5.3% for 18.9 ng/ml, 3.4% for 133 ng/ml and 1.6% for 330 ng/ml. Inter-assay coefficients of variation were 9.7% for 20.9 ng/ml, 3.2% for 137 ng/ml and 4.1% for 330 ng/ml respectively. Recovery rate tests on all three different levels showed within $100 \pm 10\%$. Parallelism was also good and the sensitivity was 0.63 ng/ml. There was strong correlation between the measurement of α -fetoprotein by Riakey AFP IRMA CT^R and that by two foreign commercial kits($r=0.98$). **Conclusion:** The first Korean domestic immunoradiometric kit for α -fetoprotein, Riakey AFP IRMA CT^R, performed well for clinical use. (Korean J Nucl Med 2000;34:353-9)

Key Words: Alpha-fetoprotein, Domestic, Immunoradiometric assay

서 론

혈청 내의 농도를 측정함으로써 암의 진단과 치

료 반응을 판정하고 예후를 판단하는데 도움을 주는데 임상적으로 널리 쓰이고 있는 여러 가지 종양 표지자(tumor marker) 중 alpha-fetoprotein(이하 α -FP으로 약함)은 암태아성 단백질(oncofetal protein)의 일종으로 현재 우리 나라에서 가장 많이 이용되고 있는 종양표지자이다. α -FP은 1944년 Pederson¹⁾이 소의 태아 혈청에서 태아에 특이한 혈청을 최초로 발견하고 이후 α -FP이 종양관련 태아단백임이 증명되었으며, 1971년에 Ruoslahti 등에 의해 사람 α -FP을 정제하여 이의 정량적 측정을 위한 방

Received July 11, 2000; revision accepted Aug 16, 2000
Corresponding Author: Kyoung Sook Won, M.D., Department of Nuclear Medicine, Asan Kangnung Hospital, 415 Bangdong-Ri, Sacheon-Myun, Kangnung 210-711, Korea
Tel: 82-391-610-3505, Fax: 82-391-610-3506
E-mail: kswon@knh.co.kr

사면역측정법이 개발되면서부터 본격적으로 임상에 이용되기 시작하였다.²⁻⁵⁾ α -FP은 현재 간암과 생식세포(germ cell)종양의 진단과 경과관찰에 주로 이용되며, 또한 최근에는 임신여성의 혈청 α -FP 측정으로 태아의 선천성 기형의 조기진단에도 이용되고 있다. 특히, 간염과 간암의 발생률이 높은 우리나라에서는 간암의 조기 진단과 치료 경과를 추적하는데 있어서 필수적으로 이용되고 있는 검사이다. 병원과 임상검사센터의 자료를 토대로 1999년 한해동안의 국내 α -FP 검사 건수를 추정해보았을 때, 총 2,160,000건으로 추정되며, 이 중 방사면역측정법을 이용한 검사 건수는 900,000건 정도로 추정된다.

그러나, 그동안 α -FP를 포함하여 방사면역측정 검사에 소요되는 거의 전량의 진단 시약 키트는 외국 업체로부터 수입하는 것에 의존하고 있는 실정이었다. 한국의 제외 진단 시장을 조사한 한 자료에 의하면 방사면역측정 진단 시약을 수입하기 위하여 1996년 한해 총 4,485,500 USD가 소요되었다.⁶⁾ 1997년의 아시아 경제 위기 전까지 면역 혈청 검사 건수는 지속적으로 매년 증가하고 있었으나, 원자력 연구소에서 T₃, T₄ 등 일부 몇몇 국산 시약이 개발 생산되어 미미한 시장 점유율을 보였을 뿐 그나마 사용실적 미비로 1996년부터 생산중단된 상태이다. 결국, 1997년 IMF 관리 체제라는 경제위기에서 환율 폭등으로 방사면역측정법용 진단시약을 전부 수입에 의존하고 있던 우리나라 핵의학 검사실의 경우 한동안 진단시약의 수급에 큰 어려움을 겪었다. 이러던 차에 신진 메덱스사에서 α -FP 측정용 국산 방사면역측정법용 검사 시약을 연구 개발하였으며, 국산 키트 생산은 매우 고무적인 일이다. 따라서, 저자들은 새로 국내에서 개발 생산된 α -FP 측정용 시약의 진단적 성능을 평가하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

방사면역측정법 시약(Riakey AFP IRMA CT^R, Sin-Jin Medics, Seoul, Korea)을 이용한 α -FP의 측정 검사의 정밀도(precision), 회수율(recovery rate), 평행성(parallelism), 민감도(sensitivity)를 평

가하였고, 175명의 환자 혈청 검체를 기존의 임상에서 사용하던 수입 방사면역측정법 시약에 의한 측정값과 비교하였다. α -FP의 측정은 키트 내의 설명서의 권고사항을 준수하여 실시하였으며 방법을 요약하면 다음과 같다. 항체를 입힌 튜브에 키트 내에 있는 검체 희석액 200 μ l씩을 넣고 각 농도의 표준액과 검체 그리고 정도관리 혈청을 각각의 튜브에 25 μ l씩 넣어 실온에서 1시간동안 약 200 rpm으로 혼합 반응시킨다. 모든 튜브의 용액을 주의하여 흡입하고 증류수 2 ml을 넣고 흡입하여 세척 과정을 2회 반복하였다. 이후 모든 튜브에 I-125 표지 항체액 200 μ l씩을 넣고 실온에서 1시간동안 약 200 rpm으로 혼합 반응시키고 다시 2회 증류수로 세척하였다. 감마 카운터(Cobra quantum, Packard, Connecticut, USA)에서 1분간 각 튜브의 방사능량과 첨가한 총 방사능량을 측정하였다. 환자 검체 및 시약의 분주는 microlab AT2 plus (Hamilton, Nevada, USA)를 이용하였고, 그밖의 정밀도 등의 검사는 micropipette set (Eppendorf, Hamburg, Germany)을 사용하였다. 세척은 Tube washer TW-50N (Biotec, Tokyo, Japan)을 이용하였다. 각 표준액과 검체의 결합률을 계산하고, X축을 표준액의 농도로, Y축을 표준액의 결합률로 하여 반지수(semi-log)그래프를 얻은 후 검체의 결합률에 해당하는 농도값을 읽었다.

1. 정밀도

측정 내 정밀도(intraassay precision)는 저, 중, 고 세 준위의 혈청을 각각 10개의 튜브(tube)에 분주하여 한 배치에서 실험하고, 측정값의 평균, 표준편차, 변이계수를 계산하였다. 측정간 정밀도는 세 준위의 혈청을 하루간격으로 5일에 걸쳐 5회 검사하여 측정값의 평균, 표준편차, 변이계수를 계산하였다.

2. 회수율

회수율 검사는 저, 중, 고 세가지 농도의 혈청에 각각 시약 내 표준용액 10 ng/ml, 70 ng/ml, 250 ng/ml을 1:1로 섞은 후 검사하여, 측정값/기대값 \times 100%로 나타냈다.

3. 평행성

평행성 검사는 세 개의 고농도 검체를 각각 2, 4, 8, 10, 20, 100배 희석하여 한번에 검사한 다음 기대값을 X축, 관찰값을 Y축에 표시하여 수직을 구하였다.

4. 민감도

표준용액 0 ng/ml을 10회 측정하여 계수치의 평균과 표준편차를 구하고, 평균+2 표준편차에 해당하는 값을 측정가능한 최소농도로 보고 이를 민감도로 정의하였다.

5. 다른 IRMA 키트로 측정된 값과의 비교

175명의 환자 혈청의 α -FP를 Riakey AFP IRMA CT^R 시약으로 측정된 값을 다른 두 개의 수입시약(alpha fetoproteina^R, Radim, Roma, Italia; α -feto.riabead^R, Abbott, Germany)을 사용하여 각각의 키트 설명서에 제시된 방법으로 측정된 값과 비교하여 상관계수를 구하였다.

결 과

검사의 정밀도에 대한 평가 결과를 Table 1과

Table 2에 나타내었으며, 측정 내 변이계수는 모든 농도에서 6% 이내에 측정간 변이계수는 10% 이내였다. 회수율 검사 결과는 저, 중, 고의 세농도에서 모두 92.1~105%를 보였다(Table 3). 평행성 검사에서 구한 측정값과 기대값의 관계식은 세 검체에서 모두 R²=0.99로 우수하였다(Fig. 1). 민감도 정의에 의한 측정가능한 최소농도는 0.63 ng/ml 이었다.

175명의 환자 검체를 Riakey AFP IRMA CT^R와 Radim의 α fetoproteina^R로 측정하여 비교하였을 때 상관계수는 0.98이었고, Riakey AFP IRMA CT^R와 Abbott의 α -feto.riabead^R로 측정하여 비교하였을 때도 상관계수 0.98로 모두 강한 상관관계를 보였다(Fig. 2).

고 찰

이상의 결과는 α -FP 측정하기 위하여 새로 국내에서 개발된 방사면역측정법용 시약인 Riakey AFP IRMA CT^R의 전반적인 키트의 성능이 임상 적용 가능한 범위의 측정 정밀도를 보이면서, 우수한 회수율과 평행성 검사 성적과 기존에 사용되던 키트들로 측정된 값과 강한 상관관계를 보여서 종양표지자 측정용으로 적절히 임상에 적용할 수 있음을 나타낸다.

Table 1. Intra-assay Precision of Riakey AFP IRMA CT^R

Serum	Mean \pm S.D. (ng/ml)	C.V. (%)	Replicates (No.)
a	18.9 \pm 1.02	5.3	10
b	133 \pm 4.64	3.4	10
c	332 \pm 5.41	1.6	10

a, b and c indicate pooled serums.

Table 2. Inter-assay Precision of Riakey AFP IRMA CT^R

Serum	Mean \pm S.D. (ng/ml)	C.V. (%)	Replicates (No.)
a	20.9 \pm 2.04	9.7	5
b	137 \pm 4.45	3.2	5
c	330 \pm 3.23	4.1	5

a, b and c indicate pooled serums.

Table 3. Recovery Test Results of Riakey AFP IRMA CT^R

Concentration of α -FP (ng/ml)	Added (ng/ml)	Expected (ng/ml)	Measured (ng/ml)	Recovery rate (%)
a	10	27.6	28.2	102
17.6	70	87.6	92.0	105
	250	267	270	101
b	10	115	119	103
105	70	175	166	95.0
	250	355	372	105
c	10	255	248	97.3
245	70	315	290	92.1
	250	495	488	98.6

a, b and c indicate pooled serums.

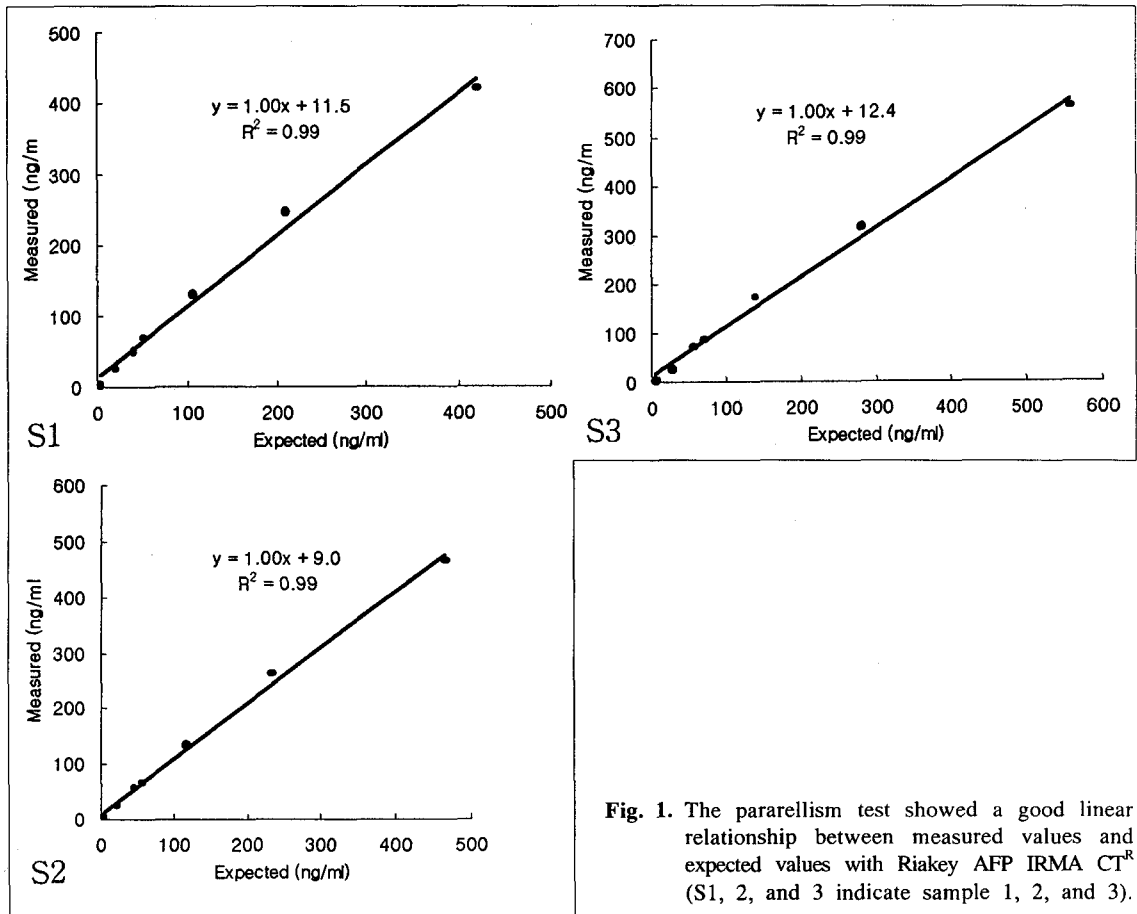


Fig. 1. The pararellism test showed a good linear relationship between measured values and expected values with Riakey AFP IRMA CT^R (S1, 2, and 3 indicate sample 1, 2, and 3).

일반적으로 정밀도 허용범위에 대한 엄격한 한가지 기준은 없고 어느 정도 측정물질의 농도에 좌우된다.⁷⁻⁹⁾ 예를 들어 T₄ ($\mu\text{g/dL}$)는 측정 내 변이계수

가 5%, 측정간 변이계수가 10%를 넘지 않을 것을 권고하고, T₃ (ng/dL)는 측정 내, 측정간 변이계수가 각각 10%, 10~15%로 대략 T₄의 2배를 허용한

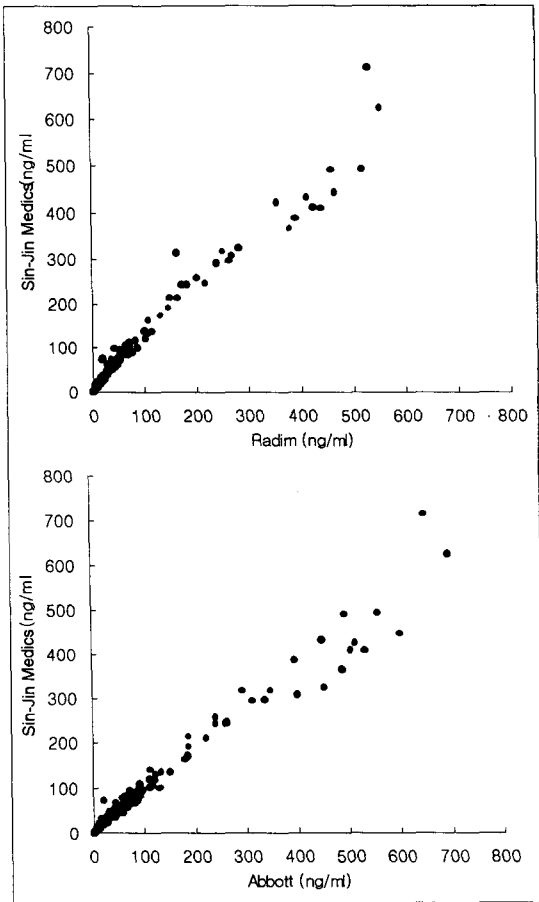


Fig. 2. The strong correlations were observed between α -FP (ng/ml) measured by riakey AFP IRMA CT^R of Sin-Jin Medics, α -fetoproteina^R of Radim and α -feto.riabead^R of Abbott in 175 cases ($r=0.98$).

다. 또한 검사에 따라 임상적인 측정값의 의미에 따라 저, 중, 고 농도범위에서 정밀도 허용기준이 달라질 수 있다. α -FP은 T3의 농도와 비슷한 범위를 가지므로 같은 정밀도 허용기준을 적용하였을 때 이번 연구에서 Riakey AFP IRMA CT^R의 측정 내 및 측정간 변이계수가 모두 10% 미만으로 비교적 우수한 정밀도를 보여주었다. 그러나, 다른 상업용 키트의 제품 설명서에 명시된 정밀도와 비교시 낮은 농도에서의 측정간 정밀도가 Radim사의 α -fetoproteina^R이 6.5%, Abbott사의 α -feto.riabead^R이 6.4%로 제시된 것에 비하여 9.7%로 약간 높게 나왔을 뿐으로 나머지 결과들은 5%미만의 우수한

정밀도를 나타냈다. α -FP는 간암 환자의 치료 경과를 모니터하는데 쓰이기 때문에 높은 값에서의 정밀도도 높은 것이 바람직하며, 정상 상한치를 일반적으로 20 ng/ml 정도로 여겨지고 있으므로 이 정도의 낮은 값에서도 높은 정확성과 정밀도를 보이는 것이 더 바람직하다고 할 것이다. 따라서 다른 검사 키트보다 우수성을 확보하기 위해서는 낮은 농도에서의 정밀도를 더 개선하기 위하여 키트의 개선도 요구되며, 임상 검사시에 검사자의 세심한 주의가 요구된다.

같은 검체를 각 키트로 얻은 평균값의 차이는 정확도를 반영한다. 동일검체는 다른 키트로 검사해도 측정값이 같아야하고, 차이가 있어도 최소한 키트간 정상범위의 차이를 벗어나지 않아야 한다.^{10,11)} 175명의 검체를 Riakey AFP IRMA CT^R로 측정된 값은 Radim사의 α fetoproteina^R로 측정된 값과 상관관계수 0.98, Abbott사의 α -feto.riabead^R로 측정된 값과 상관관계수는 0.98로 강한 상관관계를 보여 측정값이 거의 유사함을 알 수 있었다. 정확도는 회수를 검사로도 조사한다. 회수율 검사는 양을 아는 저, 중, 고 농도 용액을 측정하며, 측정물질은 첨가한 양을 알 수 있도록 순수한 형태로 구할 수 있어야 한다. 측정물질을 용해할 기질도 중요하며 일반적으로 키트 표준물질에 사용한 기질을 사용한다.^{12,13)} 이번 연구에서는 다른 검사로 값을 알고 있는 저중고 농도 검체에 세 가지 다른 농도의 표준 용액을 첨가하여 Riakey AFP IRMA CT^R의 회수율을 구하였는데 모두 90~110%의 허용범위를 만족시켰다.

평행성 검사는 고농도 검체의 희석곡선이 표준곡선과 평행하는지 그리고 표준곡선 전범위에 걸쳐 직선성이 있는지 보여준다. 평행성이 있다는 것은 희석혈청을 측정된 결과도 정확할 것임을 의미한다. 이번 연구에서 저자들은 세 개의 다른 고농도 검체를 희석한 후 측정된 값이 모두 평행성이 있음을 확인하였다. 평행성이 없는 것은 검체와 표준물질이 다른 양식으로 반응함을 시사한다. 검체에 간섭물질이 있거나 추적자가 손상되면 평행성이 없어진다. 평행성 검사가 간섭물질이 없는 것을 보증하지는 못하지만 상업용 키트에서 심각한 문제를 배

제하는데 유용하다.^{12,13)}

한편, 이번 연구에서는 로트(lot)간의 정밀도의 측정이 이루어지지 못했으며, 개방성 신경관 결손 증후군 등에 대한 산전 선별검사로서의 역할은 평가하지 않았다. 상업용 방사면역측정 키트로 임상에 활용되려면 대량으로 생산되는 키트들의 품질 관리가 이루어지고 생산 로트간의 정밀도도 우수하게 유지되어야만 할 것이다.

그동안 외국산 시약의 수입에 전부 의존하고 있는 우리 나라 핵의학 체외검사의 취약점을 해결하고자 많은 노력이 있어왔으나, 상업용 방사면역측정법 시약으로까지의 개발은 이번 신진 메디스사의 Riakey AFP IRMA CT^R가 처음이다. 특히, Riakey AFP IRMA CT^R는 튜브에 단세포균항체를 입힌 것으로 자동화설비를 이용한 방사면역측정 검사에 유리한 특성을 갖추고 있다. 방사면역측정 검사의 자동화를 통한 검사실의 효율 증대 또한 우리 핵의학 검사실의 당면 과제이다. 점차 증가하고 있는 검사량과 의료비의 증가, 그리고 국가 경쟁력을 제고할 때 우수한 국산 진단 시약 키트가 많이 생산되는 것이 필요한 시점에 왔다. α -FP 측정시약의 개발을 시발점으로 우수한 시약 개발을 위한 시약 업계와 학계의 연구 개발 노력이 경주되어야 할 것이다.

결론적으로 국산 방사면역측정법용 α -FP 측정시약인 Riakey AFP IRMA CT^R은 전반적인 키트의 성능이 우수하고 기존방법과 강한 상관관계를 보여, 종양표지자로서의 임상에 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

목적: 최근 국내에서 방사면역측정법용 α -FP 검사시약(Riakey AFP IRMA CT^R, Sin-Jin Medics, Seoul, Korea)이 개발되어 그 성능을 평가해 보고자 본 연구를 시행하였다. **대상 및 방법:** 검사방법은 시약 내 설명서의 권고사항을 준수하여 실시하였으며, 정밀도, 회수율, 평행성, 민감도에 대한 검사를 시행하였고, 다른 상업용 방사면역측정법용 α -FP 검사시약에 의한 측정값과의 상관관계를 조

사하였다. **결과:** 측정 내 정밀도는 세 준위의 혈청을 각각 10개의 튜브에 분주한 후 한 배치에서 검사하였는데, 평균 18.9 ng/ml에서 변이계수 5.3%, 평균 133 ng/ml에서 3.4%, 평균 332 ng/ml에서 변이계수 1.6%였다. 측정간 정밀도는 세 준위의 혈청을 하루 간격으로 5회 측정하여, 평균 20.9 ng/ml에서 변이계수 9.7%, 평균 137 ng/ml에서 3.2%, 평균 330 ng/ml에서 변이계수 4.1%였다. 회수율은 저, 중, 고 세 가지 농도의 혈청에 각각 시약 내 표준용액 10, 70, 250 ng/ml을 1:1로 섞은 후 검사하여, 17.6 ng/ml에서 각각 102%, 105%, 101%, 105 ng/ml에서 각각 103%, 95%, 105%였고, 245 ng/ml에서 각각 97.3%, 92.1%, 98.6%이었다. 평행성 검사는 세 개의 고농도 검체를 각각 2, 4, 8, 10, 20, 100 배 희석하여 한번에 검사하였으며, 평행성 검사에서 계산한 수식은 각각 $y=0.98x-10.3$, $y=0.99x-8.32$, $y=0.98x-11.3$ 이었다. 민감도는 측정가능한 최소농도가 0.63 ng/ml이었다. 175명의 환자검체의 측정결과를 다른 시약들로 측정된 것과 비교하였을 때 강한 상관관계를 보였다($r=0.98$). **결론:** 이상의 결과로 α -FP 검사시약인 Riakey AFP IRMA CT^R은 임상에 적용할 수 있는 유용한 시약으로 판단된다.

감사의 글

이번 연구가 원만히 진행될 수 있도록 수고를 아끼지 않은 여인철, 김옥, 박혜순씨에게 감사드리며, 이 연구에서 사용한 Riakey AFP IRMA CT^R 키트는 신진메디스사로부터 무상으로 공급받았음을 밝힙니다.

참 고 문 헌

- 1) Pederson KO. Fetuin, a new globulin isolated from serum. *Nature (Lond.)* 1944;154:575.
- 2) Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins: Physical and chemical properties of human α -fetoprotein. *Int J Cancer* 1971;7:218-25.
- 3) Ruoslahti E, Seppala M, Pihko H, Vuopio P. Studies of carcino-fetal proteins. II. Biochemical

- comparison of α -fetoprotein from human fetuses and patients with hepatocellular cancer. *Int J Cancer* 1971;8:283-8.
- 4) Ruoslahti E, Seppala M. Studies of carcino-fetal proteins. III. Development of a radioimmunoassay for α -fetoprotein. Demonstration of α -fetoprotein in serum of healthy human adults. *Int J Cancer* 1971;8:374-83.
 - 5) Ruoslahti E, Seppala M. α -Fetoprotein in normal human serum. *Nature* 1972;235:161-2.
 - 6) Park H, Kim JQ. Market analysis and prospect for Korean in-vitro diagnosis. *Korean J Clin Pathol* 1998;18:293-8.
 - 7) Bolton AE, Hunter WM. Radioimmunoassay and related method. In: Weir DM, Herzenberg LA, Blackwell, editors. *Handbook of experimental immunology*. vol. 1, Immunochemistry. 4th ed. Oxford: Blackwell; 1986. p.26.1-26.56.
 - 8) Chard T. An introduction to immunoassay and related techniques. In: Burdon RH, van Knip-pedberg PH, editors. *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology*. vol. 6, part 2, 3rd ed. Amsterdam: Elsevier; 1987. p.1-236.
 - 9) Edwards R. Immunoassay. An introduction. London: William Heinemann; 1985.
 - 10) Nickoloff EL. Radioimmunoassay method selection. In: Rothfeld B, editor. *Nuclear medicine on vitro*. 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1983. p. 35-44.
 - 11) Skelly DS. Basic principles of radioimmunoassays. In: Rothfeld B, editor. *Nuclear medicine on vitro*. 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1983. p. 45-100.
 - 12) Thorell JI, Larson SM. Radioimmunoassay and related techniques. *Methodology and clinical applications*. Saint Louis: CV Mosby; 1978. p.3-103.
 - 13) 이동수, 손인. 방사면역측정법. In: 고창순 편저. *핵의학*. 2판. 서울특별시: 고려의학, 1997. p803-25.
-