Nucl Med Mol Imaging
Vol. 43, No. 4, Aug 2009

Original Article

핵의학 체외 검사에서 자동분주기를 이용한 Random Assay 가능성평가

서울대학교병원운영 서울특별시보라매병원 핵의학과[1], 서울대학교 의과대학 핵의학교실[2]
문승환[2] · 이호영[1] · 신선영[1] · 민경선[1] · 이현주[1] · 장수진[2] · 강지연[2] · 이동수[2] · 정준기[2] · 이명철[2]

Comparison of Batch Assay and Random Assay Using Automatic Dispenser in Radioimmunoassay

Seung Hwan Moon, M.D.[2], Ho-Young Lee, M.D.[1], Sun Young Shin, M.T.[1], Gyeong Sun Min, M.T.[1], Hyun Joo Lee, M.T.[1], Su Jin Jang, M.D.[2], ji Yeon Kang, M.D.[2], Dong Soo Lee, M.D.[2], June Key Chung, M.D.[2], and Myung Chul Lee, M.D.[2]

Department of Nuclear Medicine, [1]Seoul Metropolitan Government Seoul National University Boramae Medical Center and [2]Seoul National University college of Medicine and, Seoul, Korea

Purpose: Radioimmunoassay (RIA) was usually performed by the batch assay. To improve the efficiency of RIA without increase of the cost and time, random assay could be a choice. We investigated the possibility of the random assay using automatic dispenser by assessing the agreement between batch assay and random assay. **Materials and Methods:** The experiments were performed with four items; Triiodothyronine (T3), free thyroxine (fT4), Prostate specific antigen (PSA), Carcinoembryonic antigen (CEA). In each item, the sera of twenty patients, the standard, and the control samples were used. The measurements were done 4 times with 3 hour time intervals by random assay and batch assay. The coefficient of variation (CV) of the standard samples and patients' data in T3, fT4, PSA, and CEA were assessed. ICC (Intraclass correlation coefficient) and coefficient of correlation were measured to assessing the agreement between two methods. **Results:** The CVs (%) of T3, fT4, PSA, and CEA measured by batch assay were 3.2±1.7%, 3.9±2.1%, 7.1±6.2%, 11.2±7.2%. The CVs by random assay were 2.1±1.7%, 4.8±3.1%, 3.6±4.8%, and 7.4±6.2%. The ICC between the batch assay and random assay were 0.9968 (T3), 0.9973 (fT4), 0.9996 (PSA), and 0.9901 (CEA). The coefficient of correlation between the batch assay and random assay were 0.9924(T3), 0.9974 (fT4), 0.9994 (PSA), and 0.9989 (CEA) ($p<0.05$). **Conclusion:** The results of random assay showed strong agreement with the batch assay in a day. These results suggest that random assay using automatic dispenser could be used in radioimmunoassay. (Nucl Med Mol Imaging 2009;43(4):323-329)

Key Words: Radioimmunoassay, batch assay, random assay, standard curve, coefficient of variation, intraclass correlation coefficient

서 론

1959년 Berson과 Yalow가 최초로 인슐린 측정에 이용한 방사면역측정법(Radioimmunoassay, RIA)은 측정물질을 항원으로 하여 이에 대한 항체와 방사성핵종으로 표지한 항원을 반응시킨 후 결합분획과 유리분획을 분리하여 계측값을 얻고 이 값을 표준곡선(standard curve)에 대응시켜 측정물질의 농도를 알아내는 방법이다.[1-4] 이러한 방법으로 시작된 방사면역측정법은 이후 비경합방식의 면역방사계수측정법(Immunoradiometric assay, IRMA)이 개발되어 임상적으로 널리 이용되어 왔다.[5,6] 이러한 방사면역측정법은 높은 예민도와 특이도를 가진 검사법으로 미량의 호르몬, 종양 표지자 등의 혈장내 농도를 정확히 측정함으로써 각종 질병의 진단과 치료 반응을 평가, 판정하고 예후를 판단하는데 많은 도움을 주어 다양한 의학 분야에서 많이 사용되어 왔으며, 핵의학 체외검사를 성립시키고 발전시키는데 근간이 된 검사법이다.

• **Received**: 2009. 5. 20. • **Revised**: 2009. 7. 10.
• **Accepted**: 2009. 7. 13.
• Address for reprints: Ho-Young Lee, M.D., Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital Boramae Medical Center, 39 Boramae-gil, Dongjak-gu, Seoul 156-707 Korea
Tel: 82-2-870-2581, Fax: 82-2-831-2826
E-mail: debobkr@gmail.com

방사면역측정법은 높은 예민도 및 특이도와 같은 우수한 장점에도 불구하고 방사성동위원소를 이용하는 검사법으로 인한 규제와 같은 제한점이 있다. 방사면역측정법을 비롯하여 방사성동위원소를 사용하는 체외 검사는 batch assay가 일반화되어 있다. Batch assay는 검체 검사를 실시하기 위하여 측정 시 마다 농도별 표준용액을 이용하여 표준곡선을 획득한 후 이 표준곡선을 이용하여 결과를 산출 하는 방법이다.[7] Batch assay를 이용하면 매번 새로이 표준곡선을 획득하기 때문에 검사할 때 마다 생길 수 있는 동위원소의 반감기, 반응시간, 검사자, 반응 조건에 따른 오차를 최소화 하여 보다 정밀한 검사 결과를 얻을 수 있는 장점이 있다. 반면에, batch assay는 매번 표준곡선을 구해야 하기 때문에 그러한 특성으로 인하여 검체를 어느 정도 모아서 시행해야 하는 단점이 있다. 또한, 이러한 단점 때문에 빠른 결과보고를 원하는 오늘날의 의료 현장의 요구를 충족시키기에는 불리하다. Batch assay와는 달리 random assay 방법은 표준곡선을 1회 획득하여 이 표준곡선을 그 이후에 일정기간 계속 이용하는 방식이다. 이러한 방법은 검사를 수시로 시행할 수 있는 장점이 있다. 다만 batch assay에 비하여 측정 시 마다 검사 조건의 차이가 있을 경우 정밀도에서 차이가 있을 수 있는 단점이 있다. 따라서, 정밀한 random assay의 전제 조건은 다른 검사 조건들의 세밀한 정도관리를 통해 그로 인한 변화를 최소화 해야 한다는 점이다.

핵의학 분야와 달리 진단검사의학 분야에서는 선행 표준곡선을 이용하여 검사가 수시로 시행되는 random assay를 기본으로 이용하고 있다. 이러한 검사 방식의 차이가 당일 진료를 위한 빠른 검사 결과 보고를 요구하는 오늘날의 의료현실적 요구에 방사면역측정법이 대응하는데 있어서는 불리하게 작용하게 된다. Batch assay는 일정량의 검체를 모아서 진행하기 때문에 수시로 검사를 진행할 수 있는 random assay에 비해서 환자 개개인의 검사결과 보고가 늦어지게 된다. 빠른 결과보고를 위해 소량의 검체만을 모아 검사를 진행 시킬 수도 있으나, 전체적인 batch assay의 횟수가 증가하게 되고 표준 곡선을 얻는데 소모되는 비용과 검사 소요 시간이 증가하게 된다. 방사면역측정법에서 검사의 정확도는 이전 수준으로 유지하면서 random assay 적용이 가능하다면 비용과 시간에 대한 효율성을 증가 시킬 수 있을 것이다.

본 연구에서는 환자 검체, 표준 용액, 및 대조용액을 batch assay와 자동분주기를 이용한random assay 두 가지 방법으로 각각 측정한 후 분석하여 두 방법간에 일치도 여부를 평가함으로써 방사면역측정법 및 면역방사계수측정법에서의 자동분주기를 이용한 random assay 적용 가능성을 조사하였다.

대상 및 방법

1. 대상

Triiodothyronine (T3), free thyroxine (fT4), Prostate specific antigen (PSA), Carcinoembryonic antigen (CEA)의 검사를 위해 서울대학교병원운영 서울특별시립 보라매병원 핵의학과에 의뢰된 총 80명의 환자 검체, 각 검사별 20명의 환자 검체를 이용하였다.

2. 방법

검사시 마다 얻는 표준곡선들의 차이를 평가하기 위하여 표준 용액을 이용하여 0시간, 3시간, 6시간, 9시간 간격으로 표준곡선을 얻어서 분당계수값(counter per minute, cpm)을 비교하였다. 각각의 검사항목에서 표준 곡선을 검증하기 위해 저, 중, 고 농도의 대조용액 (Biorad control sample)을 이용하였다. 각 검사별 20명의 환자 혈장 검체를 이용하여 Triiodothyronine (T3), free thyroxine (fT4), Prostate specific antigen (PSA), Carcinoembryonic antigen (CEA)를 batch assay법과 random assay법을 이용하여 각각 4회 측정하였다. PSA, CEA 측정을 위해서는 면역방사계수측정법 kit(immnunotech, Chech, Praque)를 이용하였고, T3, fT4의 측정을 위해서는 방사면역측정법 kit(immnunotech, Chech, Praque)를 이용하였다. 각각의 검사는 3시간 간격으로 4회 측정하였다. 검사의 시행은 kit 내의 설명서의 권고사항에 따라 실시하였다.

모든 검체 및 시약의 분주는 자동분주기(Freedom Evo clinical, Tecan, North Carolina, USA)를 이용하였다. 각 검체는 감마 카운터(Cobra II, Packard, IL, USA)를 이용하여 1분간 각 튜브의 방사능량 과 첨가한 총 방사능량을 측정하였다. 세척은 증류수를 이용하여 3회 하였다. 각각의 검사에서 각 표준검체와 검체의 결합률을 계산하고, X축을 표준액의 농도로, Y축을 표준액의 결합률로 하여 반지수(semi-log) 그래프를 얻은 후 검체의 결합율에 해당하는 농도값을 읽었다. 측정은 매 측정마다 새로운 표준 곡선을 얻고 이를 사용하여 농도를 계산하는 batch assay와 처음 검사 시 측정한 표준 곡선을 이용하여 계산하는 random assay 두 가지 방식으로 이루어 졌다. I-125의 반감기가 60.14일이다. 따라서 1일내 측정하는데 있어서 I-125의 반감기로 인한 영향은 무시하였다.

Table 1. Intra-Assay Precision of Standard Curve Using Control Samples

	T3[a]			fT4[b]			PSA[c]			CEA[d]		
	Mean	S.D.	C.V.[e] (%)	mean	S.D.	C.V.[e] (%)	mean	S.D.	C.V.[e] (%)	mean	S.D.	C.V.[e] (%)
Control 1 (n=5)	86.2	3.1	3.6	0.8	0.03	4.5	1.0	0.04	3.9	1.2	0.06	5.0
Control 2 (n=5)	154.6	4.0	2.6	1.9	0.02.	1.1	3.0	0.09	3.1	22.5	1.1	4.8
Control 3 (n=5)	283.8	2.5	0.9	4.2	0.05	1.3	18.7	0.2	1.2	46.1	3.5	7.6

[a]T3 : triiodothyronine, [b]fT4 : free thyroxine, [c]PSA : prostate specific antigen, [d]CEA : carcinoembryonic antigen, [e]C.V. : coefficient of variation

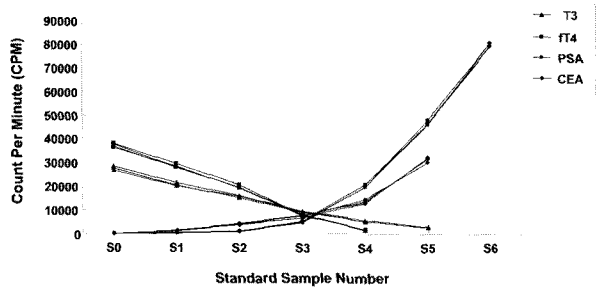

Figure 1. No significant difference is noted among the standard curves.

1) 표준 곡선의 측정 내 정밀도 및 측정 간 정밀도 측정

표준곡선의 측정 방식에 따른 차이를 평가하기 위하여 측정 내 정밀도(intra-assay precision)와 측정 간 정밀도(inter-assay precision)을 측정하였다. 표준곡선의 측정 내 정밀도를 측정하기 위하여 각 검사별 저, 중, 고농도의 대조용액을 이용하여 5회 측정하고 이를 Friedman test를 이용하여 비교하였다. 표준곡선의 측정 간 정밀도를 평가하기 위하여 각 검사별 저, 중, 고농도의 대조 용액을 이용하여 batch assay와 random assay로 각각 4회 측정하였다. 측정한 값을 바탕으로 평균, 표준편차, 변이계수를(coefficient of variation, C.V.) 구하여 Wilcoxon test를 이용하여 assay 방법에 따른 차이를 비교하였다. 또한 4회 표준 곡선을 구하기 위해 측정한 농도별 표준용액의 계수를 구하여 표준용액의 분당계수값을 측정하고 Friedman test를 이용하여 비교하였다.

2) 환자 검체를 이용한 Batch Assay와 Random Assay의 일치도 평가

두 검사법간에 일치도를 평가하기 위한 신뢰성 지표(Index of reliability)로 급내상관계수(Intraclass correlation coefficient, ICC)를 계산하였다. Batch assay로 측정한 환자 검체의 농도값과 random assay로 측정한 검체의 농도값의 평균과 차이를 가지고 산점도를 측정하여 일치도 평가의 적절성을 평가한 후 일치도 평가를 시행하였다.[8,9] 이 와 별도로 두 측정값 사이에 상관계수 역시 계산하였다. 통계 프로그램은 SPSS 16.0 for windows를 이용 하였다.

3) 통계적 방법

Batch assay와 random assay간의 값을 비교 평가하기 위하여 Wilcoxon test를 이용하였다. 측정 간 및 측정 내 정밀도를 비교하기 위하여 Friedman test를 이용하였다. 통계적 유의 수준은 p=0.05로 하였다. 통계적 분석을 위하여 SPSS 16.0 for windows를 이용하였다.

결 과

1. 검사 항목별 표준곡선의 측정 간 및 측정 내 정밀도 평가

T3, fT4, PSA, CEA 검사항목마다 3시간 간격으로 4회 표준곡선을 얻기 위해 측정한 표준용액의 분당계수값을 측정 간에 비교하였다. 모든 검사항목에서 표준 용액의 분당계수값은 측정 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Fig. 1).

T3, fT4, PSA, CEA 검사항목마다 표준곡선의 측정 내 정밀도 검사를 위하여 저, 중, 고농도별 대조용액을 5회 측정하여 변이계수를 얻었다. T3는 저, 중, 고농도별 변이계수가 3.6%, 2.6%, 0.9%였다. fT4는 저, 중, 고농도별 대조용액의 변이계수는 4.5%, 1.1%, 1.3%였다. PSA는 3.9%, 3.1%, 1.2%였다. CEA 대조용액의 저, 중, 고농도별 측정 내 변이계수는 5.0%, 4.8%, 7.6%였다(Table 1).

2. 검사 항목별 측정방법에 따른 대조용액을 이용한 표준곡선의 측정 간 정밀도 평가

4 가지 검사항목 마다 batch assay와 자동분주기를 이용한 random assay로 4회 측정하여 얻은 저, 중, 고농도의 대조 용액의 농도를 이용하여 두 검사방법간에 값을 비교하고 평균, 표준편차, 변이계수를 구하였다. 각각의 검사항목 모두에서 두 검사 방법간에 측정된 저, 중, 고농도의 대조용

Table 2. Comparison of Inter-Assay precision of Standard Curve Using Control Samples between Batch Assay and Random Assay

		Control 1 (n=4)				Control 2 (n=4)				Control 3 (n=4)			
		mean	S.D.	C.V.[e] (%)	p-value	mean	S.D.	C.V.[e] (%)	p-value	Mean	S.D.	C.V.[e] (%)	p-value
T3[a]	Batch	89.3	7.1	7.9	0.285	160.8	8.3	5.2	0.655	299.8	13.5	4.5	1.000
	Random	86.3	11.8	13.7		159.0	13.6	8.6		297.5	23.9	8.1	
fT4[b]	Batch	0.9	0.05	5.7	0.180	1.9	0.09	5.0	0.593	4.4	0.33	7.6	0.593
	Random	0.8	0.12	15.0		1.9	0.07	3.6		4.3	0.3	6.4	
PSA[c]	Batch	0.9	0.06	6.7	0.109	2.9	0.18	6.3	0.109	18.8	0.68	3.6	0.285
	Random	1.1	0.13	12.6		3.1	0.13	4.2		19.1	0.15	0.8	
CEA[d]	Batch	1.2	0.15	13.2	0.593	14.2	1.01	7.1	1.000	46.6	4.97	10.7	0.285
	Random	1.1	0.09	8.4		14.7	1.23	8.4		45.3	4.8	10.6	

[a]T3 : triiodothyronine, [b]fT4 : free thyroxine, [c]PSA : prostate specific antigen, [d]CEA : carcinoembryonic antigen, [e]C.V. : coefficient of variation

Table 3. Coefficients of Variation (C.V.) of the Patients' Samples (Batch Assay Vs Random Assay)

	Batch Assay C.V.[e] (%)		Random Assay C.V.[e] (%)		p-value
	Mean	S.D	Mean	S.D	
T3[a]	3.2	1.7	2.1	1.7	0.26
fT4[b]	3.9	2.1	4.8	3.1	0.68
PSA[c]	7.1	6.2	3.6	4.8	0.55
CEA[d]	11.2	7.2	7.4	6.2	0.01*

[a]T3 : triiodothyronine, [b]fT4 : free thyroxine, [c]PSA : prostate specific antigen, [d]CEA : carcinoembryonic antigen, [e]C.V. : coefficient of variation

Table 4. Result of Assessing Agreement between Batch Assay and Random Assay in 20 Patients' Samples per Each Item

ITEM	Paired t-test (P-value)	ICC[e]	95% Confidence interval
T3[a]	0.72	0.9968	0.9929 to 0.9986
fT4[b]	0.54	0.9973	0.9961 to 0.9989
PSA[c]	0.79	0.9996	0.9994 to 0.9997
CEA[d]	0.46	0.9901	0.9797 to 0.9952

[a]T3 : triiodothyronine, [b]fT4 : free thyroxine, [c]PSA : prostate specific antigen, [d]CEA : carcinoembryonic antigen, [e]ICC: Intraclass correlation coefficient

액의 농도는 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 2).

3. 환자 검체를 이용한 Batch Assay와 자동분주기를 이용한 Random Assay 일치도 평가

각 검사항목별 20명의 환자 검체에서 T3, fT4, PSA, CEA의 네 가지 검사항목을 측정하였을 때 측정 간 변이계수의 평균과 표준편차 값은 batch assay로 시행했을 때 각각 3.2±1.7% (T3), 3.9±2.1% (fT4), 7.1±6.2% (PSA), 11.2±7.2% (CEA)였고, 자동분주기를 이용한 random assay로 측정하였을 때는 2.7±1.7% (T3), 4.8±3.1% (fT4), 3.6±4.8% (PSA), 7.4±6.2 (CEA)였다. Batch assay로 측정한 CEA의 경우 변이계수가 11.2±7.2%로 그 평균값이 10% 이상으로 높게 나타났으나 자동분주기를 이용한 random assay로 측정한 경우에는 7.4±6.2%로 그 평균값이 10% 이하로 나왔다. fT4의 경우를 제외한 세 가지 검사 항목 모두에서 자동분주기를 이용한 random assay가 보다 낮은 변이계수를 보였다(Table 3).

Batch assay와 자동분주기를 이용한 random assay는 서로 높은 일치도를 보였다. Batch assay로 측정한 값과 자동분주기를 이용한 random assay로 측정한 값을 paired t-test 하여 비교 하였을 때 p-value는 T3, fT4, PSA, CEA 각각 0.72, 0.54, 0.79, 0.46로 계산되어 양측 측정값 사이에 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

측정한 급내상관계수(Intraclass correlation coefficient)는 T3, fT4, PSA, CEA 각각 0.9968, 0.9973, 0.9996, 0.9901였다(Table 4). Batch assay로 측정한 값과 random assay로 측정한 값 사이에 상관계수(R^2)는 T3, fT4, PSA, CEA 각각 0.9924, 0.9974, 0.9994, 0.9989, $p<0.005$로 모두 강한 상관관계를 보였다(Fig. 2).

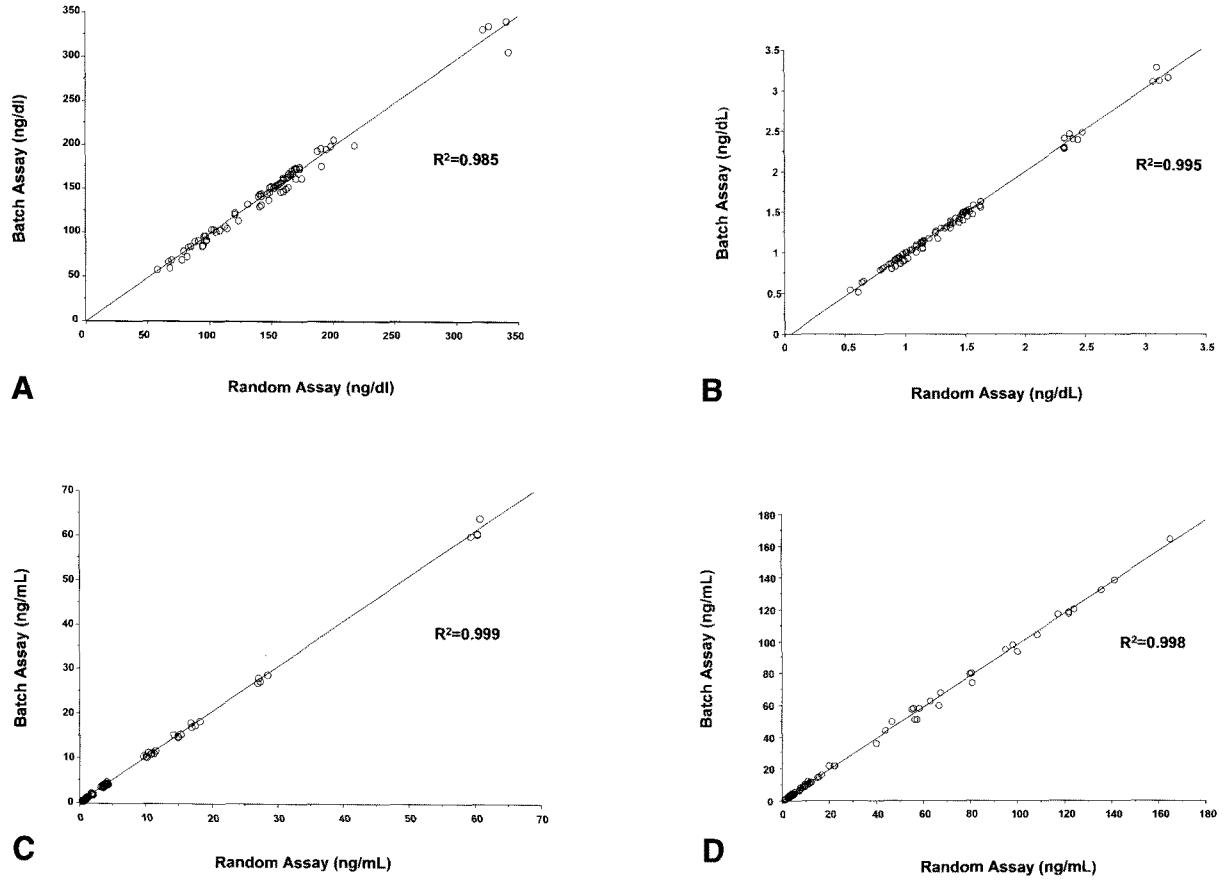

Figure 2. The strong correlation is observed between the results of batch assay and random assay in A) T3, B) fT4, C) PSA, and D) CEA (T_3; R^2=0.985, y=0.993x-1.427, p<0.005, fT4; R^2=0.995 y=1.024x-0.053, PSA; R^2=0.999, y=1.013x+0.148, p<0.005, CEA; R^2=0.998, y=0.978x+0.197, p<0.05).

고 찰

이번 연구에서 자동분주기를 이용한 random assay를 방사면역측정법 및 면역방사계수측정법에 적용하였을 때 기존의 batch assay와 높은 일치도와 강한 상관관계를 보임을 확인하였다. 이는 자동분주기를 이용한 random assay 방식을 실제 핵의학 체외 검사실에서 방사면역측정법과 면역방사계수측정법에 적용하여도 무리가 없다는 것을 나타낸다. 국내에 도입된 후 지속적으로 사용이 증가하던 방사면역측정법은 1990년대부터 효소면역측정법의 도입으로 증가세가 둔화되었다.[10] 이러한 현상의 원인에는 여러 요인이 있겠으나, 그 중 한가지는 당일 진료를 위한 빠른 검사 결과 보고와 정확한 검사결과를 체외검사 분야에 요구하는 오늘날의 진료현실에서 찾을 수 있다. 진단검사의학 분야에서는 이러한 현실적인 요구에 발맞추어 장비개발을 통한 자동화, 단시간에 반응하고 측정할 수 있는 kit의 개발 등의 방법으로 대응하고 있었다. 핵의학 체외검사법 역시 빠른 결과 보고 및 시간과 비용의 효율성 증대를 위한 개선이 이루어져야 한다. 이러한 개선책의 한 가지가 검사의 정밀도와 정확도를 저해하지 않는 범위에서 검사 방법을 간소화 하는 것이다. 방사선동위원소를 사용하는 검사는 매 측정마다 표준용액을 이용하여 표준곡선을 구하고, 이 표준곡선에 대비하여 결과를 산출하는 batch assay 방식이 일반화되어 있다. 이러한 batch assay 방법은 측정 시 마다 표준곡선을 구하기 때문에 측정간에 발생할 수 있는 검사자간의 차이, 실험 조건간의 차이로 인한 변화를 최소화한다. 그러나, batch assay의 검사 횟수가 증가함에 따라, 표준곡선을 그리는데 소모되는 비용과 시간이 증가하기 때문에 검체를 일정량 모아서 검사를 시행하게 된다. 하지만 진단검사의학 분야에서 시행되는 검사는 previous standard curve를 이용하여 검사를 진행하기 때문에 일정량 이상의 검체가 모일 때까지 기다릴 필요 없이 검사를 수시로 진행할 수 있는 장점이 있다.

random assay의 경우 선행 표준 곡선을 이용하기 때문

에 batch assay에 비하여 실험간에 발생할 수 있는 여러 변수의 영향을 더 많이 받을 수 있다. 따라서 random assay를 핵의학 체외 검사 분야에 적용하기 위해서 여러 변수의 통제가 중요하다. 실험에 영향을 줄 수 있는 여러 변수 중에 동위원소의 반감기가 문제가 될 수 있으나 이를 해결할 수 있는 방법으로는 계측장비의 발달로 반감기에 대한 보정 프로그램을 활용하여 이전에 작성된 표준곡선에 반감기 보정이 가능하다. 하지만, 반감기에 대한 보정이 없더라도 방사면역측정법에 주로 사용되는 I^{125}의 60.2일이라는 긴 반감기를 고려한다면 12시간 이내의 경우에는 반감기가 분당계수율에 미치는 최대 영향이 1% 미만이기 때문에 실제 검체 농도 측정에 미치는 영향이 미미 할 것으로 예상되어 1일 이내에서는 특별한 보정 프로그램 없이도 적용가능할 것으로 생각한다. 1일간의 검사에 있어서 동위원소의 반감기로 인한 영향 보다는 측정 시 마다 수작업으로 하기 때문에 발생할 수 있는 검사자간의 차이, 검사 반응 시간의 차이 등의 검사 실행에 있어서의 차이가 결과에 더 큰 영향을 미칠 것으로 생각된다. 특히 방사면역측정법이나 면역방사계수법은 대부분 수작업으로 시행하기 때문에 검사 실행에 있어서의 차이를 잘 조절해야 한다. 본 연구에서는 그러한 차이를 조절할 수 있는 방법으로 동시에 여러 검체를 분주할 수 있는 자동분주기를 이용하였다. 자동분주기를 이용함으로써 검사시 마다 검사에 미치는 변수의 차이를 최소화하였다.

그 동안 국내에서도 batch assay 대신하여 random assay를 활용하고자 조사한 연구가 있었으나 검사 항목이 제한되어 있었고 측정값 사이에 상관관계만을 조사하였다.[7] 또한, 모든 검사를 수작업으로 시행하였기에 연구 결과를 실제로 적용하는데 한계가 있다. 두 검사법의 측정값들 사이에 강한 상관관계가 있다는 것은 좋은 지표가 되기는 하겠으나 측정범위가 넓어지는 것만으로도 상관계수가 증가될 수 있으며 두 검사방법간에 재현성을 평가하는 신뢰성 지표로 사용하기는 한계가 있다.[8,9] 이번 연구에서는 급내상관계수(Intraclass correlation coefficient)를 측정하여 일치도를 평가하였고 실제 환자 검체를 대상으로 네 가지 검사 항목의 측정을 수행하여 연구의 신뢰도를 높이고 실제 임상 적용에도 무리가 없음을 확인하였다. 표준곡선 작성을 위한 분당계수율 측정의 신뢰성을 확인하기 위해 측정 간 및 측정 내 정밀도를 평가하였고 Friedman test가 분석에 이용되었다. Friedman test는 연관된 표본의 반복 측정을 분석하는데 사용되는 비모수 통계기법으로써 표본수가 작은 경우에 모집단 분포의 성격을 몰라도 간편하게 사용할 수 있으나 서열척도를 대상으로 하는 방법이며 상대적으로 비체계적이고 검증력이 충분히 강건하지 못할 수 있다는 한계점이 있다. 이런 한계점을 극복하기 위해서는 표본수를 충분히 늘려 분산분석을 사용하는 것이 이상적이지만 현실적인 제약이 있었다. 계산된 측정 간 및 측정 내 정밀도 평가는 전반적으로 용인할 수 있는 수준이었으나 저, 중, 고농도별 대조 용액을 5회 측정하여 얻은 변이계수가 CEA에서 5.0%, 4.8%, 7.6% 로 고농도에서 5% 를 넘는 결과가 나왔다. 검사의 재현성을 평가할 때 검사 대상 물질에 따라 차이가 있으나 일반적으로 자동화된 면역검사법의 경우 검사의 측정 내 변이 5% 이내, 측정 간 변이 10% 이내임을 증명하는 것이 일반적이다.[11-14] 이를 고려했을 때 측정의 정밀도에 의구심을 가질 수 있겠으나 일반적으로 측정 내 정밀도 평가를 위해 이루어지는 반복 측정수가 10회라는 점을 고려하면 5회 측정만으로 나온 이 결과를 가지고 단정하는 것은 무리가 있다. 환자 검체를 대상으로 한 측정에서 측정 간 변이계수(inter-assay precision)는 batch assay로 CEA를 측정하였을 때를 제외 하고는 그 평균값이 10%미만으로 나왔다. CEA의 경우 앞서 기술한 기준을 넘는 결과이긴 하지만 변이계수의 평균값이 11.2%로 권고값인 10%에 비해 많이 높지 않았고, 검사 키트에서 제시한 측정 간 변이계수 값의 기준(<14.3%) 미만이었기 때문에 이 결과로 인해 이번 연구의 측정에 대한 신뢰성이 문제 되지는 않을 것으로 생각된다. 두 측정방식 사이에 일치도 평가를 위해서 측정한 급내상관계수(Intraclass correlation coefficient)에서 모든 검사항목에서 두 방식간에 높은 일치도를 가지고 있음을 보여주었고 상관관계 또한 높은 상관계수를 보여서 자동분주기를 이용한 random assay를 batch assay 대신 사용할 수 있음을 제시하였다.

결론적으로 방사면역측정법 및 면역방사계수법에서 기존의 batch assay 방식과 자동분주기를 이용한 random assay 방식간에 높은 일치도를 보여, 체외 검사에서 자동분주기를 이용한 random assay 방식을 활용할 수 있을 것으로 기대한다.

요 약

목적: 방사면역측정법 및 면역방사계수법은 매 실험마다 표준용액을 넣고 표준곡선에 대비하여 결과를 산출하는 batch assay가 일반화되어 있다. 비용과 시간에 대한 효율성을 증가 시키기 위해서는 선행 표준 곡선을 이용하여 검사를 진행하는 random assay의 적용이 요구된다. 방사면역측정법 및 면역방사계수법에서 자동분주기를 이용한 random assay 적용 가능성을 평가 하기 위해 본 연구를 수

행하였다. **대상 및 방법:** Triiodothyronine (T3), free thyroxine (fT4), Prostate specific antigen (PSA), Carcinoembryonic antigen (CEA) 4가지 항목을 대상으로 하였으며 각 검사별 20명의 환자 검체를 이용하였다. 각 검사 항목별로 표준곡선을 얻기 위해 3시간 간격으로 4회 측정한 표준용액의 분당계수값(counter per minute, cpm)을 측정하였다. 이를 Friedman test를 이용하여 비교하여 검사 시 마다 얻는 표준 곡선간의 차이를 평가하였다. 각 검사별 저, 중, 고농도의 대조 용액을 이용하여 5회 측정하고 이를 Friedman test를 이용하여 비교하여 측정 내 정밀도를 평가하였다. 각 검사별 저, 중, 고농도의 대조용액을 batch assay와 자동분주기를 이용한 random assay로 3시간 간격으로 각각 4회 측정하였다. 측정값을 바탕으로 평균, 표준편차, 변이계수를 구하고 Wilcoxon test를 이용하여 비교하여 assay 방법에 따른 차이를 비교하였다. 두 assay간에 일치도(agreement)를 평가하기 위해 두 assay의 측정값 사이에 급내상관계수(Intraclass correlation coefficient, ICC)와 상관계수를 계산하였다. **결과:** 모든 검사항목에서 표준 용액의 분당계수값은 측정 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. T3, fT4, PSA, CEA 검사항목마다 측정한 저, 중, 고농도별 측정 내 변이계수는 T3(3.6%, 2.6%, 0.9%), fT4 (4.5%, 1.1%, 1.3%), PSA(3.9%, 3.1%, 1.2%), CEA(5.0%, 4.8%, 7.6%)였다. 검사 항목별 측정방법에 따른 대조 용액을 이용한 표준 곡선의 측정 간 정밀도 평가에서 두 검사 방법간에 유의한 차이가 없었다. 각 검사항목별로 20명의 환자 검체에서 측정한 측정 간 변이계수(inter-assay precision)의 평균과 표준편차 값은 batch assay로 시행했을 때 각각 3.2±1.7%, 3.9±2.1%, 7.1±6.2%, 11.2±7.2%였고 random assay로 측정하였을 때는 2.7±1.7%, 4.8±3.1%, 3.6±4.8%, 7.4±6.2였다. Batch assay와 random assay는 서로 높은 일치도를 보였다. 측정한 급내상관계수(Intraclass correlation coefficient)는 T3, fT4, PSA, CEA 각각 0.9968, 0.9973, 0.9996, 0.9901 였다. Batch assay로 측정한 값과 자동분주기를 이용한 random assay로 측정한 값 사이에 상관계수(R^2)는 T3, fT4, PSA, CEA 각각 0.9924, 0.9974, 0.9994, 0.9989($p<0.005$)로 모두 강한 상관관계를 보였다. **결론:** T3, fT4, PSA, CEA 4가지 항목의 방사면역측정법(Radioimmunoassay)에서 기존의 batch assay와 자동분주기를 이용한 random assay간에 일치도와 상관성이 높았다. 결론적으로 자동분주기를 이용한 random assay를 방사면역측정법 및 면역방사계수법에 적절히 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

References

1. Goldsmith SJ. Radioimmunoassay: review of basic principles. ***Semin Nucl Med*** 1975;5:125-52.
2. Edwards R. *Immunoassay. An introduction.* London: William Heinemann; 1985. p. 3.
3. Premachandra BN. A simple and rapid radioimmunoassay of triiodothyronine in unextracted serum. ***J Nucl Med*** 1976;17:411-6.
4. Premachandra BN, Ibrahim II. A simple and rapid thyroxine radioimmunoassy (T4-RIA) in unextracted human serum; a comparison of T4-RIA and T4 displacement assay, T4 (D), in normal and pathologic sera. ***Clin Chim Acta*** 1976;70:43-60.
5. Lindstedt G, Jacobsson A, Lundberg PA, Hedelin H, Pettersson S, Unsgaard B. Determination of prostate-specific antigen in serum by immunoradiometric assay. ***Clin Chem*** 1990;36:53-8.
6. Peters J, Schmidt-Gayk H, Peters B, Armbruster FP, Quentmeier A, Mathias D. Immunoradiometric assay of carcinoembryonic antigen with use of avidin-biotin labelling. ***Clin Chem*** 1989;35: 573-6.
7. 유선희, 임수연, 최재칠, 천준홍, 문형호, 정윤영. Previous and Template standard curve에 의한 결과 산출과 실제 측정치와의 비교분석. ***Korean J Nucl Med Technol*** 1999;4:98-106.
8. Bland JM, Altman, DG. Statistical methods for assessing agreement between two pairs of clinical measurement. ***Lancet*** 1986;1:307-10.
9. Altman DG, Bland JM. Measurement in medicine: the analysis of method comparision studies. ***Statistician*** 1983;32:307-17.
10. 김성훈. 방사선의 의료적 이용 - 핵의학의 현황. 동위원소회보 2003;18:28-35.
11. Bolton AE, Hunter WM. Radioimmunoassay and related method. In: Weir DM, Herzenberg LA, Black-well, editors. *Handbook of experimental immunology. vol. 1, Immunochemistry.* 4th ed. Oxford: Blackwell; 1986. p. 26.
12. Chard T. An introduction to immunoassay and related techniques. In: Burdon RH, van Knippedberg PH, editors. *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology.* 3rd ed. Amsterdam: Elsevier; 1987. p.1-236.
13. Won KS, Ryu JS, Moon DH, Lee HK. The evaluation of domestic immunoradiometric assay kit for alpha-fetoprotein. ***Korean J Nucl Med*** 2000;34:353-9.
14. Sturgeon C, Dati F. Quality requirements and control: EGTM recommendations. ***Anticancer Res*** 1999;19:2791-4.