

Original Article

Estradiol 검사 시 방사성 추적자의 희석시간에 대한 고찰

전북대학교병원 핵의학과

이혜연 · 서한경 · 장이선 · 김희정

The Study on the Dilution Time of Radioactive Tracer in Estradiol Measurement

Hae Yeon Lee, Han Kyung Seo, Yi Sun Jang and Hee Jeoung Kim

Department of Nuclear Medicine, Chonbuk National University Hospital, Jeonju, Korea

Purpose Estradiol (E2) is a steroid hormone mainly produced in women and is a useful indicator for diagnosis of gynecological diseases, menstrual cycle, menopause, and precocious puberty. E2 measurement is performed by diluting the ¹²⁵I radioactive tracer and tracer buffer in the kit. However, It was not precisely specified when the period of tracer is available after activating. The purpose of this study was to determine the appropriate dilution time based on the measurement value with dilution time.

Materials and Methods From December 2016 to February 2017, 60 E2 samples with concentrations ranging from 8 to 4577 pg/mL were divided into low, medium, and high concentrations. Dilution of the ¹²⁵I tracer was performed on a 230 RPM agitator for 30 minutes, 1 hour 30 minutes, and 2 hours 30 minutes, respectively. 24 hour dilution was gently shaken and refrigerated. To verify the difference and significance of the results according to the dilution time, a test of normality was performed using SPSS 18.0 and analyzed by Kruskal-Wallis test. The measured value according to the dilution time was compared with the interquartile range of the absolute error.

Results The results of Kruskal-Wallis test were not significant ($P>0.05$). Measurement results are showed as interquartile range of absolute error. At low concentration, it is 0.052 between 1 hour 30 minutes and 2 hours 30 minutes, and 0.105 between 30 minutes and 1 hour 30 minutes. At medium concentration, 0.062 between 30 minutes and 1 hour 30 minutes, and 0.038 between 1 hour 30 minutes and 2 hours 30 minutes. At high concentration, it is 0.029 between 1 hour 30 minutes and 2 hours 30 minutes, and 0.06 between 2 hours 30 minutes and 24 hours.

Conclusion There were no statistically significant differences. However, the change in the measured value is the smallest between 1 hour and 30 minutes to 2 hours and 30 minutes. Therefore, we recommend diluting time between 1 hour 30 minutes and 2 hours 30 minutes.

Key Words Estradiol, Radioactive tracer, Dilution time

서 론

에스트로젠은 여성의 2차 성장, 생식 기능, 생리주기 조절,

임신유지에 관여하는 호르몬이다¹⁾. 생체에는 Estrone (E₁), Estradiol (E₂), Estriol (E₃) 등이 존재하지만 E₂가 가장 생물활성이 강하므로 측정된다²⁾.

E₂는 여성의 생리주기 중 배란 전 난포 성숙 및 난포반응의 지표를 제공하고, 임신 초기 및 배란, 황체에 증가한다. 이 뿐만 아니라 뼈, 피부, 동맥, 뇌, 생식 조직 및 과정에도 영향을 미친다^{3,4)}. 이처럼 여성의 생식 기능 외에도 많은 부분에서 중요한 호르몬이다. 최근 많은 중년여성들에게 폐경에 대한 관심이 많아지고 신체의 종합적인 기능 평가로 중요한 검사이기

· Received: September 29, 2017 Accepted: October 20, 2017
· Corresponding Author: **Hae Yeon Lee**
· Address for correspondence : Department of Nuclear Medicine, Chonbuk National University Hospital, 634-18 Keumam-dong Duckjin-gu, Jeonju, 561-712, Korea
Tel: +82-63-250-1171, Fax: +82-63-250-1588
E-mail: 23248@cuh.co.kr

에 정확한 검사과정이 이루어져야한다.

현재 E₂의 측정은 방사면역측정법(Radioimmunoassay, RIA)을 이용한다. E₂ 측정 시, 방사성 추적자는 추적자 원액과 추적자 완충액으로 재구성한 후 측정에 사용되어진다. 그러나 방사성 추적자가 재구성되는 시간이 정확히 명시되어 있지 않아 두 용액의 희석시간에 따른 정도관리결과 값의 차이가 있어 검사의 재현성에 문제가 있었다. 따라서 본 연구에서는 방사성 추적자와 완충액의 희석시간을 4개로 나누어 각각 측정하고 측정된 결과 값의 차이를 비교하여 적절한 희석 시간을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 측정 대상

2016년 12월부터 2017년 2월까지 본원 체외검사실에 의뢰된 E2 혈청 검체 중 8-4577 pg/mL 의 농도를 가진 60개의 검체를 대상으로 하였다.

2. 실험재료 및 방법

측정에 사용된 키트는 RIA ESTRADIOL (Beckman Coulter, Czech Republic)이며, 키트 내 매뉴얼에 따라 방사성 추적자 원액 1 mL 과 추적자 완충액 54 mL 을 55배 희석하였다(Fig. 1).

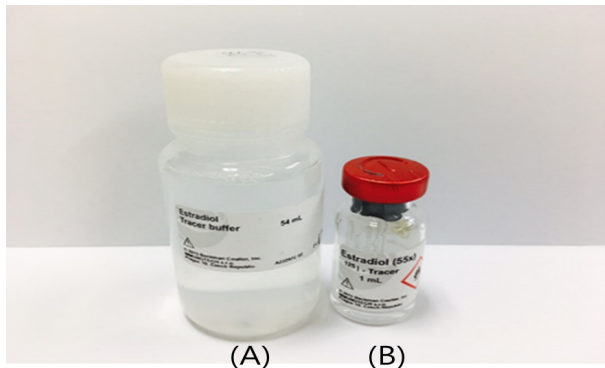


Fig. 1. Tracer Buffer(A) and ¹²⁵I Tracer(B) were used for E₂ measurement.

희석은 각각 230 RPM으로 SH30 교반기(FINEPCR, Korea)에서 30분, 1시간 30분, 2시간 30분 실시하였고, 24시간 희석은 가볍게 흔들어서 냉장 보관하였다. 농도 측정은 E₂ 항체로 코팅된 튜브에 검체와 방사성 추적자를 혼합하여 3시간 방

응시킨 후 감마카운터 1470 Wallac (Perkin Elmer, Finland)으로 측정하였다.

3. 분석 방법

60개 검체의 측정결과를 저, 중, 고농도로 각각 20개씩 나누어 분석하였다. 저농도는 8~50 pg/mL, 중농도는 51~200 pg/mL, 고농도는 201~4577 pg/mL로 하였다. 측정된 결과는 SPSS 18.0을 사용하여 Kruskal Wallis 검정을 실시하였고, P<0.05를 통계적으로 유의하다고 정의하였다. 희석시간에 따른 결과 차이의 분포를 보기위하여 Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, USA)을 사용하여 희석시간대 별로 측정된 결과 값을 절대 오차의 사분위수 범위로 나타내었다.

결 과

60개의 검체를 대상으로 방사성 추적자의 희석시간을 다르게 하여 측정한 결과 값이다(Table 1).

Table 1. The results of E₂ measurement according to concentration and dilution time

저농도	30분	1시간 30분	2시간 30분	24시간
	pg/mL			
1	11.27	10.55	11.78	15.25
2	13.19	13.31	13.53	13.15
3	8.53	14.45	13.24	19.72
4	12.59	15.49	14.75	14.70
5	15.91	14.79	15.23	15.13
6	15.61	16.01	16.60	15.17
7	13.68	16.59	16.89	18.41
8	17.54	18.41	18.44	14.34
9	21.20	16.52	20.55	20.68
10	21.48	19.24	19.09	21.47
11	20.90	18.61	22.93	19.31
12	22.35	18.80	17.96	22.69
13	21.13	22.46	21.65	23.69
14	32.01	23.29	24.67	22.19
15	31.72	28.76	23.64	25.98
16	30.03	29.29	24.56	28.12
17	36.36	26.96	29.75	32.82
18	35.46	30.29	32.16	36.44
19	44.89	38.88	39.75	45.53
20	44.82	45.77	45.69	47.66

중농도	30분	1시간 30분	2시간 30분	24시간
	pg/mL			
1	21.55	53.36	46.60	53.59
2	64.68	39.24	45.87	40.59
3	50.06	48.38	45.56	50.51
4	71.19	62.68	67.71	50.91
5	73.21	61.13	57.74	64.16
6	96.68	71.39	67.24	58.06
7	81.49	73.51	84.79	69.48
8	88.51	76.93	84.86	80.78
9	90.61	79.60	79.98	82.22
10	89.24	86.25	91.16	88.61
11	95.98	89.26	94.09	80.47
12	105.00	84.56	93.38	87.25
13	99.12	84.66	101.80	94.41
14	94.26	93.18	108.84	85.85
15	108.09	98.35	102.90	102.09
16	118.47	114.52	117.22	107.40
17	114.51	98.23	118.86	128.71
18	152.93	158.30	155.45	162.91
19	162.84	173.30	179.87	195.31
20	174.37	175.34	156.63	205.77

고농도	30분	1시간 30분	2시간 30분	24시간
	pg/mL			
1	187.11	177.69	187.12	201.27
2	181.48	176.74	199.02	202.82
3	210.23	179.68	180.29	201.65
4	213.01	189.20	216.00	227.51
5	234.02	243.40	251.06	251.88
6	303.60	337.35	283.37	316.32
7	344.97	358.91	358.87	383.85
8	375.32	405.50	396.64	407.79
9	659.57	610.83	684.64	570.25
10	945.57	786.26	868.02	733.44
11	1162.54	1107.38	1005.65	809.39
12	1267.57	1016.31	1077.56	852.65
13	1516.37	1351.55	1529.96	1089.15
14	2260.64	2227.42	2256.67	2482.31
15	2296.31	2158.54	2404.63	2599.65
16	2849.45	2797.36	3010.61	3199.07

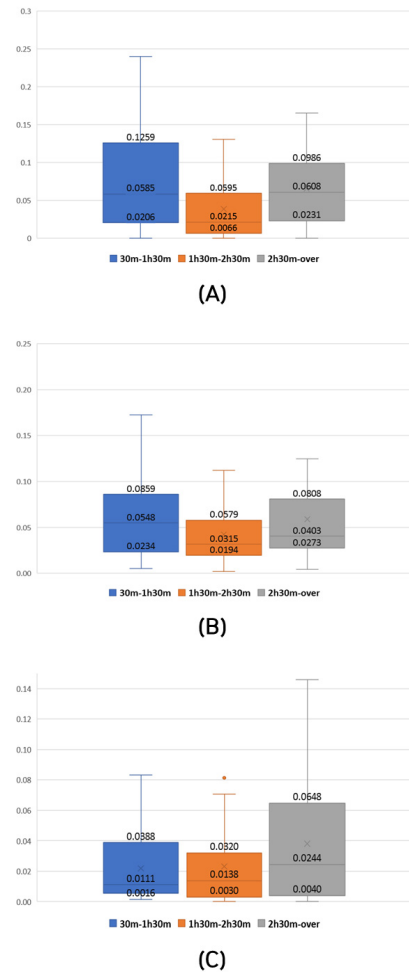


Fig. 2. This box plot is showed by absolute error with dilution time for low-level serum(A), medium-level serum(B) and high-level serum(C). (A) graph is 0,052 between 1 hour 30 minutes and 2 hours 30 minutes, and 0,105 between 30 minutes and 1 hour 30 minutes. (B) graph is 0,062 between 30 minutes and 1 hour 30 minutes, and 0,038 between 1 hour 30 minutes and 2 hours 30 minutes. (C) graph is 0,029 between 1 hour 30 minutes and 2 hours 30 minutes, and 0,06 between 2 hours 30 minutes and 24 hours.

Table 2. The interquartile range of absolute error according to concentration and dilution time

Interquartile range	저농도	중농도	고농도
30분 - 1시간30분	0.105	0.062	0.037
1시간30분 - 2시간30분	0.052	0.038	0.029
2시간30분 - 24시간	0.069	0.053	0.06

측정결과 저, 중, 고농도 모두 희석시간에 따른 결과 값 사이에 유의한 차이는 보이지 않았다($P>0.05$). 하지만 희석시간에 따라 미세한 차이를 보이는 결과 값이 있었다. 이에 측정결과 값 사이의 작은 차이를 알아 보기위해 절대오차를 구하여 Box

plot을 이용하여 나타내었다. 저농도는 30분과 1시간 30분 사이에 큰 차이를 나타냈고, 1시간 30분과 2시간 30분 사이에 가장 작은 차이를 나타냈다(Fig 2.A). 중농도는 30분과 1시간 30분 사이에 가장 큰 차이를 나타냈고, 1시간 30분과 2시간 30분에 가장 작은 차이를 나타냈다(Fig 2.B). 고농도는 1시간 30분과 2시간 30분 사이에 가장 차이가 작았고, 2시간 30분과 24시간 사이에 차이가 큼을 확인할 수 있었다(Fig. 2.C).

결론 및 고찰

핵의학 체외 검사실에서 정도관리는 검사실에서 시행하는 모든 검사에 대한 전반적인 수행능 평가의 의미를 가진다. 매 검사시 정도관리물질을 측정하고 결과값이 정도관리의 허용범위(22s, 10x 등)를 벗어나면 결과보고를 중지 조치하고 이전 정도관리 결과에 대해 확인하여야한다⁵⁾. 본 검사실에서는 공인된 정도관리물질을 구입하여 대부분의 항목에 사용하고 있으며 자체적으로 허용범위를 설정하여 내부정도관리를 실시한다. 그러나 검사실 내 E₂ 정도관리물질의 결과가 설정한 허용범위를 벗어나는 현상이 있었다. 이는 결과적으로 검사결과에 대한 신뢰도를 낮추게 된다.

현재 본원에서 이루어지는 E₂ 검사는 일주일에 두 번 시행하고 있으며, 검사 일정에 따라 하나의 키트를 모두 소모하지 못하고 남은 키트를 다음 검사일에 사용하게 된다. 이는 당일에 소모하지 못한 방사성 추적자와 추적자 완충액의 희석시간이 길어지게 된다. 그래서 희석시간에 따른 결과값의 차이가 있을 것이라 생각하고 희석시간을 다르게 하여 각각의 농도를 측정하여 비교해보았다. 그 결과 방사성 추적자 희석시간에 따른 결과값의 작은 차이가 있었고, 각 농도별로 1시간 30분에서 2시간 30분 동안 희석한 방사성 추적자를 사용하여 검사하였을 때 결과값의 차이가 가장 작았다. 그러나 통계적으로는 크게 차이가 없었다. 다만 이 실험은 소량의 검체를 대상으로 각 시간별로 한 번씩만 측정하였기 때문에 결과를 단정 짓기는 어렵다. 또한 방사성 추적자 원액이 휘발성 기질을 가진 에탄올로 이루어져있어 용액을 희석하는데 영향을 미치는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

E₂ 측정에 사용되는 키트 내 정확한 희석시간이 설정되어 있지 않으므로 검사실 내 E₂ 측정의 재현성을 높이기 위하여 각 검사실의 환경에 맞는 시간을 설정하여 측정하는 것이 바람직하다고 생각된다.

요 약

목적: Estradiol (E₂)은 주로 여성에서 생성되는 스테로이드 성 호르몬으로서 부인과 질환, 월경주기, 폐경, 소아의 성조숙 증 등의 진단에 유용한 지표이다. E₂ 농도 측정은 ¹²⁵I이 표지된 E₂ 항원을 키트 내 설명서에 따라 검사 전 ¹²⁵I 추적자 원액과 추적자 완충액을 희석하여 사용한다. 그러나 희석시간에 대해 정확히 명시되지 않았다. 본 연구에서는 희석시간에 따른 농도 변화를 바탕으로 적절한 희석시간을 알아보고자 하였다. 실험재료 및 방법: 2016년 12월부터 2017년 2월까지 본원에 의뢰된 E₂ 검체 중 8~4577 pg/mL의 농도를 가진 서로 다른 60개의 검체를 저, 중, 고농도로 나누었다. ¹²⁵I 추적자의 희석은 약 230 RPM 교반기에서 각각 30분, 1시간 30분, 2시간 30분 동안 실시하였고, 24시간 희석은 가볍게 흔들어서 냉장보관 하였다. 측정키트는 RIA ESTRADIOL (Beckman Coulter, Czech Republic)을 사용하였다. 희석시간에 따른 결과값의 차이 및 유의성 검증을 위하여 SPSS 18.0을 이용해 정규성 검정을 실시하여 Kruskal-Wallis 검정으로 분석하였고 각 시간대 별로 절대오차의 사분위수 범위를 구하여 분석하였다. 결과: 농도에 따라 저, 중, 고농도로 나누어 Kruskal-Wallis 검정으로 분석한 결과 각 농도별로 희석시간에 따른 유의한 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 각 시간대 별 절대 오차의 사분위수 범위는 저농도의 30분과 1시간 30분 사이에 0.105, 1시간 30분과 2시간 30분 사이에 0.052 이다. 중농도에서는 30분과 1시간 30분 사이에 0.062, 1시간 30분과 2시간 30분 사이에 0.038 이다. 고농도에서는 1시간 30분과 2시간 30분 사이에 0.029, 2시간 30분과 24시간 사이에 0.06 이다. 결론: 희석시간을 다르게 하여 측정된 결과값은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았지만, 희석시간대 별 절대오차의 사분위수 범위를 보아 1시간 30분에서 2시간 30분 희석하여 검사를 시행하는 것이 오차를 줄여 재현성을 높이는 적절한 희석시간이라고 생각된다.

참고문헌

1. Mark M.Kuchnir, Alan L.Rockwood, Jonas Bergquist, Marina Varshavsky, Willian L.Roberts, Bingfang Yue, et al. High-sensitivity tandem mass spectrometry assay for serum estrone and estradiol. *Am J Clin Pathol* 2008; 129:530-539.
2. 서일택. 핵의학 검사 기술학. 4판. 고려의학; 2010. p. 320-321.
3. Sherman BM, Korenman SG. Measurement of plasma LH,

FSH, estradiol and progesterone in disorders of the human menstrual cycle: the short luteal phase. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;28:89

4. Seymour Lieberman. Are the differences between estradiol and other estrogens, naturally occurring or synthetic, merely semantical. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;850-851
5. 김진규. 대한임상검사정도관리협회 국내 임상검사 정도 관리 가이드라인.