

Microparticle Enzyme Immunoassay(IM^{Rx}, Abbott)를 이용한 혈청 Thyrotropin(TSH)의 측정

이화여자대학교 의과대학 병리학교실

홍 기 숙

= Abstract =

Evaluation of Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA)(IM^{Rx}, Abbott) in the Determination of Serum Thyrotropin (TSH)

Ki Sook Hong

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University

Microparticle enzyme immunoassay (MEIA) for thyrotropin (TSH) was evaluated and results were compared with those of immunoradiometric assay (IRMA) procedure. Coefficient of variations of within day precision was 3.8-9.6% and those of between day precision was 3.6-17.2%. Correlation between the MEIA(Y) and two site IRMA(X) was excellent ($Y=1.0445X-0.1538$, $r=0.9948$). The sensitivity of the assay (mean \pm 2 SD of the zero standard) was 0.0158 μ IU/ml. The concentration measured in 497 healthy subjects were ranged from 0.2-3 μ IU/ml (mean 1.37 μ IU/ml, SD 0.59).

Conclusively, MEIA is more fully automated than IRMA, well correlated with IRMA, can be reliable method for screening test of thyroid function.

서 론

혈청 TSH 측정은 갑상선기능의 평가에 가장 좋은 검사로 전통적으로 방사면역측정법에 의해 검사되어 왔으나 예민도 및 특이도면에서 떨어지고 동위원소사용상의 문제가 있다. 1984년 이래로 예민도가 높은 TSH 검사방법이 개발되어 euthyroidism 과 thyrotoxicosis 의 혈청 TSH 치를 구별할 수 있게 되었으며¹⁻³⁾ 이 방법들은 표지 부착 방법에 따라 radiometric¹⁾²⁾⁴⁾, 화학발광측정법³⁾⁵⁻⁷⁾, 형광면역측정법⁸⁾, 효소면역측정법⁹⁾¹⁰⁾ 등으로 분류되어 있다. 이들 측정법들은 많은 회사로부터 상품화되고 있

으며 immunometric technology를 사용하고 있어서 종래의 방사면역측정법보다 10 배나 예민하다. 또한 최근에는 2세대방법 보다 10 배 예민한 3세대 검사방법이 개발되어³⁾ TRH검사를 할 필요가 없게 되었다²⁾³⁾.

이에 저자는 최근에 개발된 효소면역측정법의 일종인 microparticle enzymeimmunoassay (MEIA) (IM^{Rx} system, Abbott Lab, USA)의 정밀도, immunoradiometric assay (IRMA) 와의 상관관계, 예민도, 정상치 산정, 임상적 유용성을 검토하여 아래의 성적을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

연구재료 및 방법

1. 연구재료

MEIA 법과 IRMA 법의 비교를 위해 1992년 이화대학병원에 내원하여 갑상선 홀몬검사가 의뢰된 환자 101 명을 대상으로 하였으며, 정상치 산정은 본원 건강검진센터에 내원한 건강검진자중 혈청 T3 및 T4 치가 정상범위인 497 명을 대상으로 하였다.

본방법의 갑상선기능을 판별할 수 있는 능력을 보기위해 TSH와 동시에 T3, T4검사를 시행한 환자들중 euthyroid 100명, hypothyroid 43명, hyperthyroid 20명을 선택하였다.

2. 검사방법

Microparticle enzyme immunoassay(MEIA)(IM^Rx system, Abbott Lab, USA)는 ultrasensitive hTSH kit를 사용하고 주요시약은 anti-TSH(mouse, monoclonal coated microparticle, anti-TSH(goat) : alkaline phosphatase conjugate, 4-methylumbelliferyl phosphate, mode 1 calibrator in processed in porcine serum 등이다. 검체주입후에는 완전 자동화된 과정으로 진행되어 sandwich assay 로 최종적으로

발현되는 fluorescence rate product 를 MEIA assembly 에 의하여 448 nm 에서 측정한다.

Immunoradiometric assay (IRMA) 법에 의한 TSH측정은 Coat-A-count TSH IRMA(DPC, USA) 를 이용하였고 주요시약은 ¹²⁵I labeled goat anti-TSH polyclonal Ab 와 polystyrene tube wall에 murine monoclonal Ab 를 부착시킨 solid phase immunoradiometric assay 를 사용하고 sandwich assay 법이며, gamma counter 로 count 하고 검량선을 이용해서 TSH 농도를 구하였다.

결 과

1. 정밀도

저농도, 중간농도, 고농도의 관리혈청을 이용하여 구한 검사일내 정밀도는 3.8%부터 9.6%를 보이며,

Table 1. Within day & between day precision of TSH assay by microparticle enzymeimmunoassay

TSH μIU/ml	Within day		Between day	
	M±SD	CV(%)	M±SD	CV(%)
0.12-0.38	0.31±0.03	9.6	0.29±0.05	17.2
4.5 -7.5	6.01±0.23	3.8	6.07±0.22	3.6
35 -65	50.29±2.32	4.6	49.31±1.94	3.9

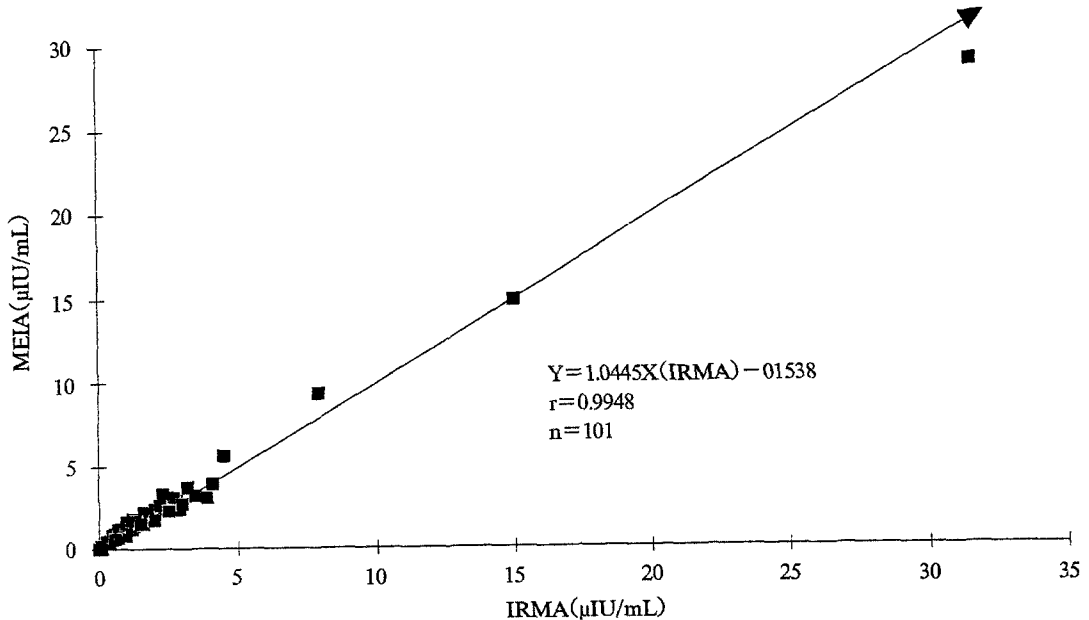


Fig. 1. Correlation between MEIA and IRMA.

3가지 농도의 관리혈청을 각각 15일간 측정하여 관찰한 검사일간 정밀도는 3.6%부터 17.2%를 나타내었다 (Table 1).

2. MEIA 와 IRMA 의 상관관계

101 검체를 MEIA 법과 IRMA 방법으로 각각 측정하여 그 결과를 비교하였다. 상관관계는 Y (MEIA) = $1.0445X$ (IRMA) - 0.1538 이었으며, 상관계수는 $r=0.9948$ 로 매우 우수하였다(Fig. 1).

3. 예민도

Kit 에 제공된 zero 표준물질을 10 회 반복측정한 후 평균과 표준편차를 구하여 평균 +2X 표준편차를 최저검출 한계로 정하였고¹¹⁻¹³⁾ 본검사법의 예민도는 0.0158 μ IU/ml 이었다.

4. 정상치 산정

본원 건강검진센터에 내원한 검진자중 T3, T4, TSH 가 모두 정상범위에 있는 497 명의 TSH 측정치의 분포는 비정규분포 (left skewness) 를 나타내었다. 이분포의 95%에 해당하는 수치는 0.2~3 μ IU/ml 이었다(Fig. 2).

5. 갑상선기능의 감별능력

Hyperthyroidism 환자 20명, euthyroidism 환자

100명, hypothyroidism 환자 43명의 TSH 값의 평균과 표준편차는 다음과 같다(Table 2). Hyperthyroidism 20명 모두에서 정상하한치보다 낮고, euthyroidism 100명중 3명에서 0.1 μ IU/ml을 보여 97%에서 정상범위안에 들었으며 hypothyroidism 은 20 μ IU/ml 이상의 높은 값을 나타내어 확실하게 구분할 수 있었다.

고 찰

혈청 TSH 농도는 갑상선 기능검사의 진단에 가장 유용한 검사로서 종래 많이 사용하던 전통적인 경합적 방사면역측정법은 정상치이하의 TSH 농도에서 부정확하고 예민하지 못하므로 hyperthyroidism 뿐만아니라 euthyroidism 의 20%이상을 검출하지 못한다고 하여¹⁰⁾ 비경합적 two site 방법의

Table 2. TSH concentration according to thyroid function

TSH μ IU/ml	Hyper-thyroidism (n=20)	Eu-thyroidism (n=100)	Hypo-thyroidism (n=43)
Mean	0.006	1.4	94.6
SD	0.012	0.81	111.95

Frequency

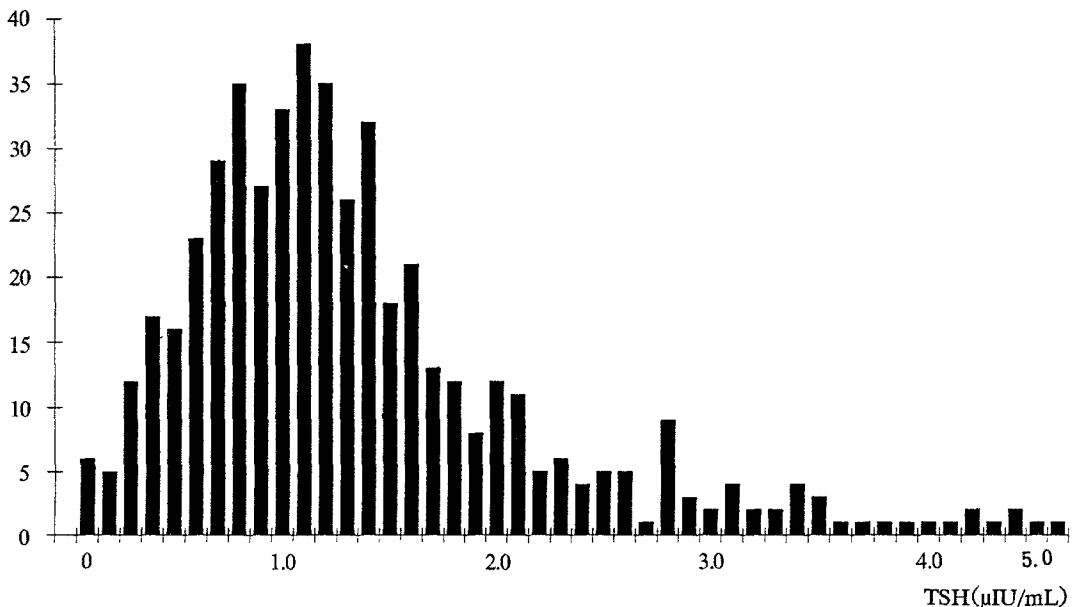


Fig. 2. Normal frequency distribution of TSH.

ultrasensitive 또는 supersensitive immunometric assay (IMA) 방법으로 점차 대체되어가고 있다. Sensitive TSH IMA 에는 IRMA 방법과 더불어 화학 발광면역분석법³⁾⁵⁻⁷⁾, 형광면역분석법⁶⁾⁸⁾, 효소면역측정법¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾ 등이 개발되었고 이들의 정밀도 및 방사면역측정법과의 상관성은 매우 좋은 것으로 나타났다. 1990년대 면역분석법의 주경향은 표지물질로 효소가 35%로 가장 많은 부분을 차지하고 있고 방사성물질이 25%, 형광물질이 15%, 화학 발광물질이 5%를 이루고 있으며¹⁶⁻¹⁹⁾, 방사면역검사법은 예민도와 특이도의 우수성으로 인하여 매우 유용하게 사용되어 왔으나 방사성동위원소의 짧은 수명, 사용면허문제, 폐기물 처리등의 문제로 인한 단점을 가지고 있어 이를 대체할 수 있는 방법의 강구가 필요한 상황에 있다.

본 연구에서 사용한 IM^{Rx} system²⁰⁾의 microparticle enzyme immunoassay (MEIA) 방법은 solid phase로서 0.46 μ m 의 microparticle 을 사용해서 종래 사용하던 bead 보다 표면적이 5배 증가함으로써 반응시간을 30~40분으로 단축시킬 수 있다. 또한 separation system 으로 glass fiber matrix 를 사용해서 항원-항체 결합물질이 비가역적으로 fiber matrix에 결합되어 이 과정이 3초 이내로 매우 빠르며 효과적으로 이루어진다. 기질로서는 4-methylumbelliferyl phosphate 를 사용하여 검출한계를 IRMA법과 같도록 만들어서 단순한 효소면역법보다 100~1000배 예민도를 증가 시켰다. 4-methylumbelliferyl은 alkaline phosphatase 효소에 의하여 4-methylumbelliferone 으로 변해서 형광을 내며 이를 448 nm 에서 emission rate 를 측정하여 검량선에서 검체속의 TSH 농도를 구한다.

Pilo등¹²⁾에 의한 1990년 TSH 검사 외부정도관리 평가에 의하면 low normal 과 subnormal hormone치 사이를 구별하는 능력을 조사하기 위해 가장 흔히 사용되는 kit 5개를 사용하여 검사하였다. 검사간 정밀도는 0.8 μ IU/ml 이상의 정상범위에서는 9~13% 로 비교적 좋았으나 0.2 μ IU/ml 이하에서는 30~40% 로 더좋은 정밀도를 보이는 TSH 측정법이 필요하다고 하였다²¹⁾. 본 연구에서 사용한 IM^{Rx} hTSH ultrasensitive 방법의 사용으로는 TSH치가 0.12~0.38 μ IU/ml 범위에서의 검사간 정밀도는 19.6%로서 오²²⁾에 의한 0.27 μ IU/ml에

서의 11.1% 보다는 높으나 기능적 예민도 정의¹²⁾는 만족하고 있다. 국내에서 보고한 기기들을 보면 fluorometric immunoassay system (Stratus, Baxter, USA)²³⁾, Enzymun system (ES-300, Boehringer Mannheim, Germany)²⁴⁾, Chemiluminescence Enzyme immunometric assay (Amerlite, Amersham, U.K)⁵⁾, MEIA(IM^{Rx} system, Abbott, USA)²²⁾ 등이 있으며 검사간 및 검사일내 정밀도로 10% 내외를 보고하고 있다. 본 연구에서 검사간 정밀도가 높은 이유는 낮은 농도의 TSH 농도를 검사했기 때문이라 생각된다.

RIA 법 또는 IRMA 법과의 상관관계는 화학발광효소면역측정법과는 0.978⁵⁾, 0.98⁷⁾, MEIA법과는 0.9958²²⁾, 형광면역측정법에서는 0.95²³⁾, Enzymun system 에서는 0.993²⁴⁾, enzyme amplified EIA 에 의하면 0.922¹⁰⁾, 0.99⁹⁾ 등으로 좋은 상관을 보이고 있었고 본검사법에서도 0.9948 로 좋은 상관을 보이고 있다.

전통적인 경합적 방사면역측정법의 예민도가 0.6~1.0 μ IU/ml 인데 반해 IMA 는 최소검출한계가 0.1 μ IU/ml 이하로서²⁾ 방사면역측정법보다 10 배 이상 예민하여 정상과 subnormal 사이를 검출할 수 있는 방법이다¹⁰⁻¹²⁾¹⁴⁾. Klec 와 Hay 에 의해 1984년 이래의 sensitive TSH kit의 분석을 한 결과 검출한계는 0.02~0.6 μ IU/ml 로 다양하였다¹⁾. 아주 최근에 3세대 TSH 검사로 0.005 μ IU/ml 이하를 검사할 수 있어 TRH 검사를 불필요하게 만들었다. Pilo 등¹²⁾에 의하면 첫번째 3세대 TSH 면역측정법으로서 0.02 μ IU/ml의 예민도를 보고하고 있으며 이는 2세대 TSH면역측정법보다 10배정도 더 예민하다. Hershman(1988)²⁾에 의하면 hyperthyroid 환자에서 평균 TSH 는 0.05~0.17 μ IU/ml라고 하였으며 이상적으로 이 범위 이하의 TSH치를 검출할 수 있어야만한다고 하였다. Papanastasiou-Diamandi 등⁹⁾에 의하면 0.013 을, Clark 등¹⁰⁾에 의하면 최저검출한계가 0.037 을, ES-300²⁴⁾에서는 검출한계 0.07 등이며, 오²²⁾에 의하면 검출한계 0.00 을 보고하고 있으며, 본 연구에서는 예민도는 0.0158로서 3 세대에 해당하는 매우 예민도가 높은 검사로 판단된다. 그러나 결과가 기계에 의해 소수 둘째 자리까지만 나오므로 0.00이 나올 때는 0.01미만이라고 써주는 것이 바람직하다.

정상치는 약간씩의 차이는 있지만 0.4~5.0 $\mu\text{IU/ml}$ 정도로 비슷하게 보고하고⁴⁾⁶⁾¹⁰⁾²²⁾ 있으며, 정상인의 하한 2.5 퍼센타일은 0.2~0.6 $\mu\text{IU/ml}$ 이며 0.4 $\mu\text{IU/ml}$ 이 가장 흔하였다¹⁰⁾. 송 등²⁴⁾은 정상 하한치를 0.25 $\mu\text{IU/ml}$ 로 오²²⁾는 0.4 $\mu\text{IU/ml}$ 을 보고하고 있다. 본연구에서는 497명의 건강검진자의 TSH값이 평균은 1.37 $\mu\text{IU/ml}$ 표준편차는 0.59로서 정상범위는 0.2~3 $\mu\text{IU/ml}$ 이었다.

Sensitive TSH 측정의 몇가지 기준¹⁾의 따라 본 검사를 검토해볼때 본 검사의 측정예민도는 0.0158 이고 정상하한치는 0.2 이므로 겹침이 없으며 hyperthyroid 환자의 100%에서 정상범위이하를 보이고 있으며 100 명의 euthyroid 중 97%에서 basal TSH검사치가 정상범위내에 들어가므로 판별력이 뛰어난 sensitive TSH 의 기준에 잘 일치되고 있다.

TSH 측정법의 선택은 방법상의 단순성, 소량의 검체량, 안전하고 예민한 검출장치, 간편한 결과 출력장치, 낮은 검사단가등이 영향을 미친다고 하였다²⁾¹⁶⁾²⁰⁾²⁴⁾²⁵⁾. 이에 맞추어 볼때 본 IM^{Rx} 를 이용한 MEIA 법은 검체만 넣어주면 로봇트팔에 의해 자동으로 검체분주, incubation, separation, reading 등이 되어 결과가 나오며, 하루의 검체가 20 건 정도의 경우 전체 검사 시간이 30~40 분 정도이며, 한번 calibration 해 놓으면 2 주이상 안정성을 보이고, single 로 측정할 수 있어서 경제적이며, 방사면역측정법과의 상관관계가 우수하므로 임상검사실에서 유용하게 사용될 수 있을 것이다.

결 론

혈청 TSH 농도는 갑상선 기능의 진단에 유용한 검사로서 새로운 효소면역측정법인 MEIA 방법을 이용한 자동효소면역검사기인 IM^{Rx} (Abbott, USA) 를 이용해서 TSH 치를 측정하고 그 정밀도, 예민도 및 IRMA 와의 상관관계를 알아보았으며 497 명의 건강검진자에 대한 TSH 정상치를 산정하고 갑상선기능을 구분할 수 있는 능력을 검토하였다.

1) MEIA 법에의해 저농도, 중간농도, 고농도의 검사일내 정밀도는 9.6, 3.8, 4.6 % 이었고, 검사일간 정밀도는 17.2, 3.6, 3.9 % 이었다.

2) MEIA 법과 IRMA 법과의 상관관계는 Y

(MEIA)=1.0445X (IRMA)-0.1538 이었고 상관계수는 $r=0.9948$ 이었다.

3) MEIA법에 의한 예민도는 0.0158 $\mu\text{IU/ml}$ 이었다.

4) 497 명의 건강검진자의 TSH 측정치는 비정규분포를 나타내었으며 정상치의 범위는 0.3~3 $\mu\text{IU/ml}$ 이었다.

5) 갑상선기능의 감별능력중 hyperthyroid상태와 euthyroid상태를 명확하게 구분할 수 있었다.

이상의 결과를 종합할때 우수한 정밀도, IRMA 와의 좋은 상관성, 예민도와 더불어 전과정의 자동화, 검사시간의 단축 등으로 임상검사실에서 유용하게 사용할 수 있는 예민한 TSH 검사법이라 판단된다.

References

- 1) Klee GG, Hay ID : *Assessment of sensitive thyrotropin assays for an expanded role in thyroid function testing : proposed criteria for analytic performance and clinical utility. J Clin Endocrinol & Metab* 1987 ; 64 : 461-471
- 2) Hershman JM, Pekary AE, Smith VP, et al. : *Evaluation of five high-sensitivity american thyrotropin assays. Mayo Clin Proc* 1988 ; 63 : 1133-1139
- 3) Spencer CA, LoPresti JS, Patel A, et al. : *Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement. J Clin Endocrinol Metab* 1990 ; 70 : 453-460
- 4) Helenius T, Tikansoja S : *A sensitive and practical immunoradiometric assay of thyrotropin. Clin Chem* 1986 ; 32 : 514-518
- 5) 이체훈 · 김환권 · 김진규 : 화학발광효소면역 측정법 (Chemiluminescence enzymeimmunoassay) 을 이용한 Human thyrotropin (TSH) 의 측정. 임상병리와 정도관리 1989 ; 11 : 105-109
- 6) Sgoutos DS, Barton EG, Hammarstrom M, et al. : *Four sensitive thyrotropin assay critically evaluated and compared. Clin Chem* 1989 ; 35 : 1785-1789
- 7) Ross DS, Ardisson LJ, Meskell MJ : *Measurement of thyrotropin in clinical and subclinical hyperthyroidism using a new chemiluminescent assay. J Clin Endocrinol Metab* 1989 ; 69 : 684-688
- 8) Rugg JA, Flaa CW, Dawson SR, et al. : *Automated*

- quantification of thyrotropin by radial partition immunoassay. *Clin Chem* 1988 : 34 : 118-122
- 9) Papanastasiou-Diamandi A, Christopoulos TK, Diamandis EP : *Ultrasensitive thyrotropin immunoassay based on enzymatically amplified time-resolved fluorescence with a terbium chelate*. *Clin Chem* 1992 : 38 : 545-548
 - 10) Clark PMS, Price CP : *Enzyme-amplified immunoassays : A new ultrasensitive assay of thyrotropin evaluated*. *Clin Chem* 1986 : 32 : 88-92
 - 11) Thonnart B, Messian O, Linhart NC, et al. : *Ten highly sensitive thyrotropin assays compared by receiver-operating characteristics curve analysis : results of a prospective multicenter study*. *Clin Chem* 1988 : 34 : 691-695
 - 12) Pilo A, Zucchell GC, Malvano R, et al. : *Interassay variability of immunometric methods for thyrotropin in an external quality assessment survey : Evidence that functional sensitivity is not always adequate for clinical decisions*. *Clin Chem* 1992 : 38 : 1345-1349
 - 13) McConway MG, Chapam RS, Beastall GH, et al. : *How sensitive are immunometric assays for thyrotropin ?*. *Clin Chem* 1989 : 35 : 289-291
 - 14) Kang J, Kaladas P, Chang C, et al. : *A highly sensitive immunoenzymometric assay involving "Common capture" particles and membrane filtration*. *Clin Chem* 1986 : 32 : 1682-1686
 - 15) Pekary AE, Turner LF, Hershman JM : *New immunoenzymatic assay for human thyrotropin compared with two radioimmunoassays*. *Clin Chem* 1986 : 32 : 511-514
 - 16) Gosling JP : *A decade of development in immunoassay methodology*. *Clin Chem* 1990 : 36 : 1408-1427
 - 17) Hemmila I : *Fluoroimmunoassays and immunofluorometric assays*. *Clin Chem* 1985 : 31 : 359-370
 - 18) Weeks I, Sturgess ML, Woodhead JS : *Chemiluminescence immunoassay : an overview*. *Clin Sci* 1986 : 403-408
 - 19) Desal RK, Deppe WM, Norman RJ, et al. : *The Simul TRAC™ FT4/TSH assays evaluated as a first line thyroid function test*. *Clin Chem* 1988 : 34 : 1488-1491
 - 20) Flore M, Mitchell J, Doan T, et al. : *The Abbott IMx™ Automated benchtop immunochemistry analyzer system*. *Clin Chem* 1988 : 34 : 1726-1732
 - 21) Piol A, Zucchelli GC, Chlesa MR, et al. : *Components of variance analysis of data produced in a national quality control survey of radioimmunoassays of thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin, prolactin and progesterone*. *Clin Chem* 1986 : 32 : 171-174
 - 22) 오덕자 : *Microparticle Enzyme Immunoassay를 이용한 Thyrotropin(TSH)의 측정. 임상병리와 정도관리* 1992 : 14 : 81-85
 - 23) 김수근 : *Stratus™에 의한 TSH, LH, FSH 측정. 임상병리와 정도관리* 1990 : 12 : 87-92
 - 24) 송경순 · 선영규 · 김혜련 외 : *자동효소면역측정기 Enzymun system^R(ES-300)에서 대한 평가. 대한임상병리학회지* 1992 : 12 : 7-11
 - 25) Nicoloff JT, Spencer CA : *The use and misuse of the sensitive thyrotropin assays*. *J Clin Endocrinol Metab* 1990 : 71 : 553-559