

Original Article

## AFP 검사방법 단축에 관한 고찰

분당서울대병원 핵의학과  
문기춘 · 권원현 · 김정인 · 이인원

### Simplification of One Step Immunotech AFP Test

Ki Choon Moon, Won Hyun Kwon, Jung In Kim and In Won Lee

Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam, Korea

**Purpose:** The Immunotech AFP is a widely used test in 14 hospitals(RIA QC establishments: 46) as a liver tumor marker. Normally, the test takes 45 minutes including complicated 2 step method. We evaluated the possibility of 1 step method and suitable test time. **Materials and Methods:** Samples of 31 patients in SNUBH were used as subject. We evaluated the sensitivity, intra and inter assay precision, recovery rate, linearity between 1 step and 2 step method (45 min. and 60 min.). **Results:** Both of 45 minutes and 60 minutes test showed 0.1 ng/mL sensitivity. In 45 minutes test, the intra assay coefficients of variation were 3.05%, 3.43%, 1.68%. Also, inter assay coefficients of variation were 3.91%, 2.38%, 0.82%. In 60 minutes test, the intra assay were 5.00%, 3.69%, 1.97%, inter assay were 3.14%, 3.71%, 1.85%. The correlation coefficient of each 2 step and 1 step (45 min.), 2 step and 1 step(60 min.), 1 step (45 min.) and 1 step (60 min.) were  $y=0.9293x+2.7356$  ( $R^2=0.9999$ ),  $y=0.9193x+4.1002$  ( $R^2=0.9993$ ),  $y=0.9894x+1.3805$  ( $R^2=0.9997$ ). **Conclusion:** Compared 1step method to 2 step method, both method showed very reasonable precision, recovery rate and correlation coefficient. Also, 1 step method(45 min.) of correlation coefficient ( $R^2$ ) was 0.999. We suggest that 1 step method test can reduce the test time and is useful for AFP test. (Korean J Nucl Med Technol 2013;17(1):80-84)

**Key Words :** Precision, Recovery rate, Correlation coefficient

## 서 론

AFP는 간암의 종양표지자로서 태아의 간 및 난황낭에서 생산되는 태아성 단백질이다. 비정상 상피종에서 증가하며 hCG, LDH와 함께 고환암에 특이성이 높고 그 외 난소암, 자궁내막암, 자궁경부암, 췌장암, 위암, 대장암 등에서 상승한다. 본원에서 검사하는 Immunotech사의 AFP 시약은 2 step법으로서 검사가 다소 번거로운 단점이 있기에 1 step 법으로 간소화 할 수 있는지, 간소화 할 수 있다면 최적의 시간은 몇 분인지 알아보려고 한다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험대상

분당서울대학교병원 핵의학과에 의뢰된 총 31명의 환자 검체를 이용하였다.

### 2. 검사기기 및 대상시약

Immunotech사의 AFP IRMA kit를 사용하였고 검체는 감마카운터(Cobra II)를 이용하여 1분간 측정하였다. 검체 분주는 TECAN사의 Freedom Evo로 자동분주 하였다.

### 3. 검사방법

#### 1) 본법

① AFP 항체가 피복된 시험관에 표준액, 관리혈청, 검체

• Received: February 5, 2013. Accepted: February 28, 2013.  
• Corresponding author : **Ki Choon Moon**  
Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Gumi-ro, Bundang-gu, Seongnam 463-707, Korea  
Tel: +82-31-787-2952, Fax: +82-31-787-4018  
E-mail: sonatamoon@snuhb.org

를 각각 50ul씩 분주 한다.

- ② Phosphate Buffer 150ul를 각 시험관에 분주한다.
- ③ 실온에서 15분 동안 반응시킨다(shaking >280 rpm).
- ④ 흡인 후 세척액으로 3~4회 세척한다.
- ⑤ Tracer 200ul를 각 시험관에 분주하고 실온에서 30분 동안 반응시킨다.
- ⑥ 흡인 후 세척하고 감마선 계측기로 1분 동안 계측한다.

**2) 변법1**

- ① AFP 항체가 피복된 시험관에 표준액, 관리혈청, 검체를 각각 50ul씩 분주한다.
- ② Phosphate Buffer 150ul, Tracer 200ul를 각 시험관에 분주하고 실온에서 45분 동안 반응시킨다.
- ③ 흡인 후 세척액으로 3~4회 세척한다.
- ④ 감마선 계측기로 1분 동안 계측한다.

**3) 변법2**

- ① AFP 항체가 피복된 시험관에 표준액, 관리혈청, 검체를 각각 50ul씩 분주한다.
- ② Phosphate Buffer 150ul, Tracer 200ul를 각 시험관에 분주하고 실온에서 60분 동안 반응시킨다.
- ③ 흡인 후 세척액으로 3~4회 세척한다.
- ④ 감마선 계측기로 1분 동안 계측한다.

**4. 평가방법**

**1) 민감도**

표준액 0 IU/mL를 10회 측정하여 측정값 cpm의 평균값

+2SD cpm을 농도값으로 하여 민감도를 구하였다.

**2) 정밀도**

저, 중, 고농도의 검체를 사용하여 측정내정밀도, 측정간 정밀도 실험을 하였다.

**3) 회수율**

저, 중, 고농도의 검체에 각각 시약내 표준액을 1:1로 첨가하여 농도를 측정하였다. 회수율(%)=측정값/기대값×100

**4) 상관성시험**

본법과 변법으로 검사하고 상관계수와 회귀식을 구하였다.

**5) Hook effect**

후크현상이 일어나는지 알아보기 위해 고농도 검체를 희석하여 측정하였다.

**결 과**

**1. 민감도**

분석적 민감도는 0.1 IU/mL 였다.

**2. 정밀도**

측정내정밀도는 변법1에서 3.05%, 3.43%, 1.68% 변법2에서 3.91%, 2.38%, 0.82% 이었고 측정간정밀도는 변법1에서 5.00%, 3.69%, 1.97% 변법2에서 3.14%, 3.71%,

**Table 1. 정밀도(변법1)**

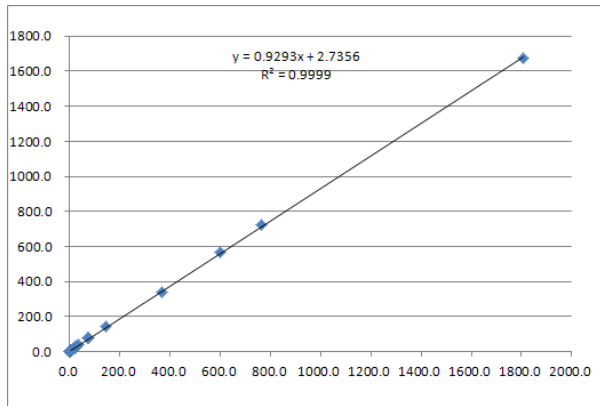
검사횟수	변법1 (45')					
	측정내 정밀도(Intra-assay)			측정간 정밀도(Inter-assay)		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
MEAN	6.3	39.8	82.8	6.1	42.8	88.6
SD	0.192	1.367	1.391	0.239	1.018	0.729
CV %	3.05	3.43	1.68	3.91	2.38	0.82

**Table 2. 정밀도(변법2)**

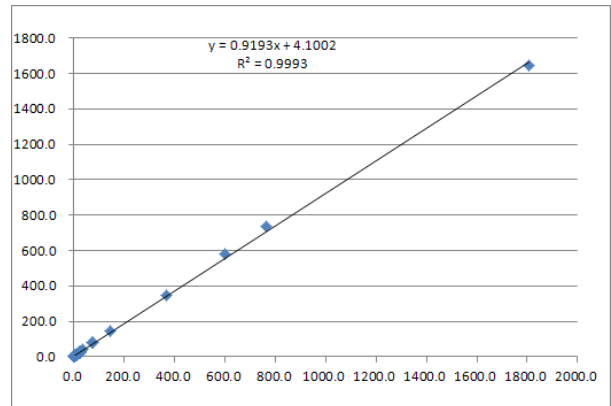
검사횟수	변법2 (60')					
	측정내 정밀도(Intra-assay)			측정간 정밀도(Inter-assay)		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
MEAN	6.1	39.4	82.5	6.6	39.6	85.3
SD	0.305	1.455	1.623	0.207	1.469	1.576
CV %	5.00	3.69	1.97	3.14	3.71	1.85

**Table 3.** 회수율

검체50 ul+Buffer150 ul+ Tracer 200ul -> 실온/45분 (변법1)				
기저값(ng/dl)	첨가량	기대값	측정값	회수율(%)
2.94		(기저값+첨가량)/2		(측정값/기대값)*100
2.94	3.3	3.120	2.9	92.95
2.94	14.5	8.720	8.3	95.18
2.94	37.3	20.120	20.7	102.88
9.8		(기저값+첨가량)/2		(측정값/기대값)*100
9.8	3.3	6.550	6.7	102.29
9.8	14.5	12.150	12.60	103.70
9.8	37.3	23.550	24.9	105.73
148		(기저값+첨가량)/2		(측정값/기대값)*100
148	3.3	75.650	83.1	109.85
148	14.5	81.250	90.7	111.63
148	37.3	92.650	103	111.17
검체50 ul+Buffer150 ul+ Tracer 200ul -> 실온/60분 (변법2)				
기저값(ng/dl)	첨가량	기대값	측정값	회수율(%)
2.94		(기저값+첨가량)/2		(측정값/기대값)*100
2.94	3.5	3.220	3.1	96.27
2.94	15.0	8.970	8.6	95.88
2.94	36.5	19.720	21.1	107.00
9.8		(기저값+첨가량)/2		(측정값/기대값)*100
9.8	3.5	6.650	6.9	103.76
9.8	15.0	12.400	12.30	99.19
9.8	36.5	23.150	25.2	108.86
148		(기저값+첨가량)/2		(측정값/기대값)*100
148	3.5	75.750	83.3	109.97
148	15.0	81.500	91.1	111.78
148	36.5	92.250	101.9	110.46



**Fig. 1.** 2 step / 1 step (45') 상관성.



**Fig. 2.** 2 step / 1 step (60') 상관성.

1.85%의 변이계수를(CV) 나타냈다(Table 1, 2).

**3. 회수율**

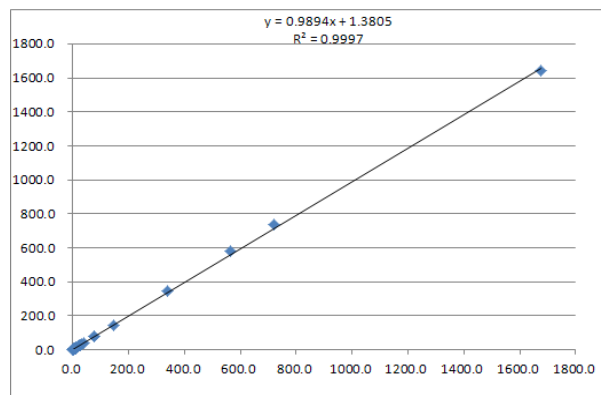
저, 중농도의 검체는 모두 100±10%의 회수율을 보였고 고농도는 변법1에서 111%, 변법2에서 112%의 회수율을 보였다(Table 3).

**4. 상관성시험**

본법과 변법1의 상관관계를 분석한 결과  $y=0.9293x+2.7356$ , 상관계수  $R^2=0.9999$ 이었고 변법2와의 상관관계는  $y=0.9193x+4.1002$  상관계수는  $R^2=0.9993$  이었다(Table 4) (Fig. 1, 2, 3).

**Table 4.** 상관성시험

No	2 step	1step (45')	1step (60')
1	1.0	1.2	0.8
2	1.8	2.0	1.7
3	1.7	2.1	1.6
4	2.5	2.9	2.5
5	2.9	3.7	3.2
6	4.3	4.9	4.7
7	5.1	5.5	5.3
8	5.4	6.0	5.8
9	6.0	6.2	6.1
10	9.3	10.4	9.7
11	10.1	10.5	10.3
12	9.7	10.0	10.8
13	11.5	12.8	12.5
14	11.5	11.8	12.1
15	20.4	21.3	21.4
16	24.2	26.6	27.2
17	21.0	20.6	21.0
18	25.3	26.1	25.3
19	25.6	27.0	27.1
20	29.1	30.7	30.9
21	76.2	78.1	78.5
22	144.1	147.5	145.4
23	370.0	340.0	344.0
24	765.0	722.0	735.0
25	1805.0	1675.0	1643.0
26	600.0	565.0	579.0
27	5.9	6.3	6.2
28	35.9	39.6	39.0
29	73.3	77.1	81.6



**Fig. 3.** 1 step (45') / 1 step (60') 상관성

**Table 5.** Hook effect (검체:serum)

검체	희석배수	측정값(45')	결과	측정값(60')	결과	결과(본법)
1	×10	72.2	722	73.5	735	765
2	×10	167.5	1675	164.3	1643	1805
3	×10	103.1	1031	78.2	782	>3500
	×100	>350	>35000	>350	>35000	>35000
4	×10	132.1	1321	110.8	1108	>3500
	×100	180.1	18011	143.1	14311	27090

### 5. Hook effect

2,000 IU/mL 미만의 검체에서는 후크효과가 나타나지 않았지만, 2,000 IU/mL을 넘는 고농도 검체에서는 후크효과가 나타났다(Table 5).

### 결론 및 고찰

변법1(1 step-45분)과 변법2(1 step-60분) 모두 실험결과 정밀도, 회수율, 상관성, 민감도 부분에서는 우수하였으나 Hook effect가 심하였다.

본법과 변법1의 상관관계는  $y=0.9293x+2.7356$  ( $R^2=0.9999$ ) 이었고 본법과 변법2와의 상관관계는  $y=0.9193x+4.1002$  ( $R^2=0.9993$ )으로 유의한 차이가 없음을 확인하였으나 Hook effect가 심하여 대체하여 사용하기에는 힘들 것으로 판단된다.

### 요 약

AFP검사에 있어서 본원은 Immunotech사의 시약을 사용하고 있고 방법은 2 step법(IRMA)이다. 본원 내원환자 31명의 샘플을 대상으로 다소 번거로운 2step법을 1step법으로 간소화 할 수 있는지 비교실험을 하였다. 본법, 변법1(1step 45분), 변법2(1step 60분)의 상관계수와 회귀식, 정밀도, 회수율, 민감도, Hook effect를 확인하였다.

저, 중, 고역가 검체의 측정내 정밀도는 변법1은 3.05%, 3.43%, 1.68% 변법2는 5.00%, 3.69%, 1.97% 측정간 정밀도는 변법 1은 3.91%, 2.38%, 0.82 % 변법2는 3.14%, 3.71%, 1.85% 였다. 분석적민감도는 0.1 IU/mL 였고 직선성은 우수하였다. 상관관계는 각각  $y=0.9293x+2.7356$  ( $R^2=0.9999$ ),  $y=0.9193x+4.1002$  ( $R^2=0.9993$ ) 이었다. 2,000 IU/mL 미만에서는 Hook effect가 나타나지 않았지만 고농도에서는 Hook effect가 나타났다. 이 비교실험을 종합해 보면 본법과 변법1, 변법2 모두 상관관계, 정밀도, 회수율, 민감도 등이 우수함을 알 수 있다. 하지만, 고농도에서 Hook effect가 나타나 완전히 대체해서 사용하기에는 문제가 있다고 사료

된다. 다만, 정상인이 거의 대부분인 건강검진검사에서는 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

### 참고문헌

1. 서일택. 임상 핵의학 검사기술학, 제3판. 고려의학 2002;333-335.
2. 고창순. 핵의학, 고려의학 1992;719.
3. 이현주, 장현영, 신선영, 김희선, 김태훈, 이호영. Coated tube를 사용한 CA19-9 측정용 IRMA 시약의 평가. Korean J Nucl Med Technol 2010;14:209-210.
4. 김진태, 이종필, 윤지영, 박종철, 김동민, 전병길. Microalbumin 검체의 희석배수에 따른 결과값 비교. Korean J Nucl Med Technol 2007;11:85-87.