

Original Article **TSH, FT4 검사의 Two-point Calibration Curve  
적용의 유용성 평가**

서울아산병원 핵의학과  
박혜미 · 유선희 · 이선호 · 김년옥

**Utility Evaluation of Two-point Calibration Curve applied for  
TSH, FT4 Tests**

Hye-Mi Park, Seon-Hee Yoo, Seon-Ho Lee and Nyun-Ok Kim  
*Department of Nuclear Medicine, ASAN Medical Center, Seoul, Korea*

<b>Purpose</b>	The ASAN Medical Center, Nuclear Medicine performs TSH (Thyroid stimulating hormone) and FT4 (Free Thyroxine) tests 8 times per day. Accordingly, 70~80 kit tubes are consumed every day for the measurements and the time consumed for reagent dispensing averages over 170 seconds, where the TAT (turnaround time) may be effected when the number of test samples is larger than expected. Therefore, the following test was conducted with the purpose to reduce the number of kit tubes consumed, and reduce the time for reagent dispensing.
<b>Materials and Methods</b>	The test is based on applying the same reagent for tests where the number of samples is 30 or less. The test for TSH was conducted 9 times from July 1 <sup>st</sup> 2015 to July 10 <sup>th</sup> 2015. The test for FT4 was conducted 4 times from June 18 <sup>th</sup> 2015 to June 22 <sup>nd</sup> , 2015. Standard Solution No.2 (0.153 uU/mL) and No.5 (4.96 uU/mL) was selected as the two-point standards for the TSH test, and Standard Solution No.3 (0.777 ng/dL) and No.4 (2.044 ng/dL) was selected as the two-point standards for the FT4 test. 38 test samples were subject to correlation analysis.
<b>Results</b>	For TSH, the result of the normal test shows ranges of 0.20~0.37 uU/mL for Control1, 0.53~0.71 uU/mL for Control2, and 6.77~7.94uU/mL for Control3, while the result of two-point calibration curve test shows ranges of 0.18~0.27 uU/mL for Control1, 0.53~0.71 uU/mL for Control2, and 7.30~8.52 uU/mL for Control3. For FT4, the result of the normal test shows ranges of 0.85~0.94 ng/dL for Control1 and 4.23~4.57 ng/dL for Control2, while the result of two-point calibration curve test shows ranges of 0.61~0.75 ng/dL for Control1 and 3.88~5.71 ng/dL for Control2. For TSH, the CV% of the normal test for Control1, Control2 and Control3 are 10.5, 3.3 and 3.6 respectively, while the CV% of the two-point calibration curve test for Control1 and Control1 are 12.4, 8.2 and 5.1 respectively. The result shows an outstanding correlation of TSH: $y = 0.9985x - 0.0459$ $R^2 = 0.9986$ . For FT4, the CV% of the normal test for Control1 and Control2 are 0.70 and 0.71 respectively, while the CV% of the two-point calibration curve test for Control1 and Control1 are 8.7 and 16.2 respectively. The result shows an outstanding correlation of FT4: $y = 1.2674x - 0.1133$ $R^2 = 0.9824$
<b>Conclusion</b>	The two-point calibration curve can be efficiently applied for TSH in cases where the number of test samples is not large, since the number of samples to be re-tested increases when the result is abnormal from the calibration curve. The two-point calibration curve test should not be applied for FT4 where the results do not consistently comply with the quality assessment range. Depending on how the two-point calibration curve is applied, up to 5 test tubes can be conserved per test, and the reduced time for reagent dispensing is anticipated to have a positive effect on the TAT (turnaround time).
<b>Key Words</b>	TSH, FT4, Two-point calibration curve, TAT (turnaround time).

서론

• Received: September 26, 2016 Accepted: October 6, 2016  
• Corresponding author : **Hye Mi Park**  
Address for correspondence : Department of Nuclear Medicine,  
Asan Medical Center, 88, Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul  
05505, Korea  
Tel : +82-2-3010-4563  
Fax : +82-2-3010-4588  
E-mail : sweet7775@naver.com

TSH는 뇌하수체 전엽  $\beta$  세포에서 분비되며 이것을 조절하는 것은 주로 시상하부의 TSH releasing hormone (TRH)과 갑상선 hormone의 혈중 농도에 의한 feedback 기전이다. 즉 TRH에 의한 TSH의 분비자극, 또한 TSH는 갑상선 hormone

(T3, T4)의 생성, 분비를 자극하는 동시에 갑상선의 성장 발육을 촉진한다.

한편 갑상선에서 분비되는 T3나 T4는 역으로 뇌하수체의 TSH 분비세포의 기능을 억제하여 TSH 분비를 감소시킨다 (negative feedback system). T3, T4는 시상하부에 작용하여 TRH 분비도 억제한다. 따라서 혈중 TSH는 이와 같이 시상하부, 뇌하수체, 갑상선계의 조절기전이 정상적으로 작용하는지 여부를 아주 민감하게 보이므로 임상에서 중요한 검사이다.<sup>1)</sup>

혈중 TSH가 증가하고 FT4 (free thyroxine) 가 감소된 경우는 원발성 갑상선 기능저하증을 의미하며 FT4가 정상인 경우는 잠재성 갑상선 기능저하증을 고려할 수 있다. 미만성 갑상선 종대가 있고 혈중 항갑상선종 microsome 항체 양성인 경우는 Hashimoto병이라고 진단할 수 있다.

T4의 99.5%는 가역적으로 운반 단백질과 결합하고 결합하지 않은 나머지 FT4는 자유로이 순환하며 대사에 활성적이고, T3의 전구체로 작용한다. FT4는 T4 분비와 대사에 상관적이다. 갑상선 항진증 또는 기능 부전증에서 FT4는 T4 변화와 평행한다. FT4 측정은 T4 Binding Protein(특히 TBG)이 변하는 상황(임신, Steroid요법 등)에서는 전체 T4가 변동하는데 비하여 FT4는 변하지 않으므로 임상에서 혈청 TSH, FT4는 중요한 의의가 있다.<sup>1)2)</sup>

본원에서는 갑상선 기능검사 중 하나인 TSH와 FT4 검사를 현재 방사면역측정법을 이용하여 검사하는 방법과 형광면역분석법을 이용하여 검사하는 방법 두가지로 나뉜다. 본원의 혈청 TSH, FT4 측정은 RIA법을 이용하여 검사키트 (TSH kit, DIASORIN and FT4 kit, BECKMANCOULTER)내 설명서의 권고사항을 준수하여 실시하였을 경우 1시간의 반응시간이 소모된다. 전 처리 시간과 RIA mat 280 장비 (BYK-SANGTEC DIAGNOSTICS, Germany)에서의 pipetting 시간을 고려한다면 더 많은 시간이 요구된다. 이로 인해 진단검사의학과의 형광면역분석방법에 비해 시간적인 측면에서 경쟁력이 떨어지는 실정이다.

현재 검사실에서는 RIA mat 280 장비(BYK-SANGTEC DIAGNOSTICS, Germany)를 이용하여 하루 8회의 TSH, FT4 검사를 실시 하고 있으며 TSH검사를 기준으로 검사 1회 당 standard 및 control 분주에 10개의 test tube가 소비되고 시약 분주에는 약 3분 20초가 소모 된다.

Two-point calibration curve법은 사용 장비에 참고치의 최저 부근 값과 최고 부근 값을 기준으로 하여 가장 근접한 Standard solution을 Two-point 농도로 설정 후 시행하면 설정된 Standard solution만 pipetting 하고 나머지는 전 검사

Standard solution의 계측 수치를 적용해 표준곡선을 나타내는 방법이다. 이에 Two-point calibration curve 법의 유용성 평가를 통해 시약분주 시간 절약과 검사 Kit 사용 절감에 대한 기대효과를 확인해 보고자 한다.

## 대상 및 방법

본원에 내원한 환자 중 TSH, FT4 검사 처방의 검체 수가 30개 이내일 때 외부요인의 영향을 최소화 하기 위해 동일 장비(RIA mat 280, BYK-SANGTEC DIAGNOSTICS, Germany)와 동일 시약을 사용하는 조건으로 Two-point calibration curve 법 실험을 진행 하였다.

TSH는 2015년 7월 1일부터 7월 10일까지 10일 간 총 9회의 실험을 실시 하였고 FT4는 2015년 6월 18일부터 6월 22일까지 5일동안 총 4회의 실험을 실시하였다. Two-point 농도로 TSH는 2번(0.153 uU/mL)과 5번(4.96 uU/mL)을 설정하였고 FT4는 Standard solution 3번(0.777 ng/dL)과 4번(2.044 ng/dL)으로 설정하였다. 상관성은 검체 38개를 대상으로 확인하였다.

## 결 과

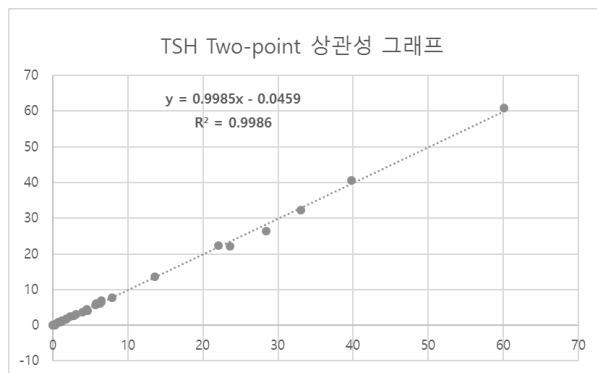
TSH 원법 실험에서의 control 측정범위는 control 1,2,3 각각 0.20~0.37, 0.53~0.71, 6.77~7.94 uU/mL였으며 Two-point calibration curve 법을 적용한 실험에서의 control 값은 control 1이 0.18~0.27, Control 2 는 0.53~0.71, Control 3는 7.30~8.52 uU/mL 값을 보였다. 측정기간 동안의 control 변이계수(CV%)를 계산했을 때 측정값이 낮은 control 1은 원법 실험(원법: 하루 8회의 평균값)에서 8.41%, Two-point calibration curve 법에서는 13.2 %, control2는 원법 실험과 Two-point calibration curve 법에서 각각 7.03 %, 8.69%의 결과를 보였으며 control 3는 원법 실험과 Two-point calibration curve 법에서 각각 3.19 %, 5.39 %를 보였다. 측정값이 낮은 control 1을 제외한 control 2 와 control 3는 변이계수가 10% 이내로 양호한 결과를 나타냈다 (Table 1) (Table 2). TSH검사의 상관성은  $y = 0.9985x - 0.0459$   $R^2 = 0.9986$ 로 우수 하였다 (Table 3) (Fig. 1).

**Table 1.** TSH CV% (None Two-point)

No.	Control 1	Control 2	Control 3
	(mean/day)	(mean/day)	(mean/day)
1	0.28	0.63	7.05
2	0.26	0.62	7.56
3	0.27	0.58	7.57
4	0.25	0.63	6.94
5	0.33	0.59	7.28
6	0.3	0.66	7.07
7	0.29	0.65	7.29
8	0.3	0.54	7.41
9	0.29	0.68	7.49
Mean	0.28	0.62	7.29
SD	0.024	0.043	0.232
CV%	8.41	7.03	3.19

**Table 2.** TSH CV% (Two -point)

No.	Control 1	Control 2	Control 3
	(mean/day)	(mean/day)	(mean/day)
1	0.19	0.57	7.59
2	0.27	0.65	7.61
3	0.23	0.65	8.52
4	0.24	0.62	8.31
5	0.2	0.57	7.74
6	0.23	0.71	7.54
7	0.18	0.61	7.3
8	0.2	0.62	8.05
9	0.24	0.53	7.39
Mean	0.22	0.61	7.78
SD	0.029	0.053	0.419
CV%	13.2	8.69	5.39



**Fig. 1.** TSH Two-point calibration curve correlation graph.

**Table 3.** TSH correlation result

no.	원법	Two-point
1	0.01	0.02
2	0.01	0.02
3	0.02	0.02
4	0.07	0.06
5	0.19	0.07
6	0.1	0.04
7	0.1	0.06
8	0.29	0.22
9	0.23	0.12
10	0.22	0.22
11	0.72	0.78
12	0.7	0.81
13	0.82	0.91
14	0.88	0.84
15	1.1	1.1
16	1.2	1.3
17	1.1	1.2
18	1.7	1.6
19	1.8	1.8
20	2.3	2.5
21	2.8	2.6
22	3.1	3
23	3.9	3.7
24	4.5	4.5
25	4.6	4
26	5.7	5.8
27	6.2	6.2
28	6.4	6.5
29	5.8	6.2
30	6.4	7
31	7.9	7.8
32	13.6	13.6
33	60.1	60.9
34	22	22.3
35	28.4	26.4
36	23.6	22.1
37	33	32.3
38	39.8	40.6

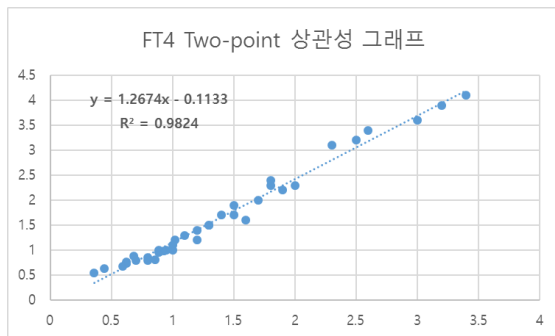
FT4 원법 실험에서의 control 측정범위가 control 1 이 0.85~0.94, control 2가 4.23~4.56 ng/dL 이며 Two-point calibration curve 법을 적용한 control 값은 control 1 이 0.75, 0.61, 0.72, 1.1 control 2 는 3.88, 5.71, 5.47, 4.81 ng/dL 였다. 또 측정된 농도 값으로 4일간의 FT4의 control 변이계수(CV%) 를 계산했을 때 원법 실험 (원법: 하루 8회의 평균값)에서의 control 1은 1.45 % 이며 control 2는 0.76%로 우수한 결과를 보였지만 Two-point calibration curve 법에서는 control1이 26.6%, control2가 16.4%로 원법 실험의 변이계수에 비해 큰 차이를 보였다 (Table 4) (Table 5). FT4검사의 상관성은  $y = 1.2674x - 0.1133$   $R^2 = 0.9824$ 로 우수 하였다(Table 6) (Fig.2).

**Table 4.** FT4 CV% (None Two-point)

No.	Control 1	Control 2
	(mean/day)	(mean/day)
1	0.88	4.37
2	0.89	4.45
3	0.9	4.4
4	0.87	4.42
Mean	0.88	4.41
SD	0.012	0.033
CV%	1.45	0.76

**Table 5.** FT4 CV% (Two -point)

No.	Control 1	Control 2
1	0.75	3.88
2	0.61	5.71
3	0.72	5.47
4	1.1 (3SD ↑)	4.81 (3SD ↑)
Mean	0.79	4.96
SD	0.212	0.818
CV%	26.6	16.4



**Fig. 2.** FT4 Two-point calibration curve correlation graph.

**Table 6.** FT4 correlation result

no.	원법	Two-point
1	0.44	0.63
2	0.62	0.74
3	0.62	0.77
4	0.59	0.67
5	0.8	0.8
6	0.7	0.79
7	0.68	0.88
8	0.36	0.55
9	0.95	1
10	0.89	1
11	0.89	0.99
12	0.93	0.99
13	1	1
14	0.86	0.81
15	0.8	0.85
16	0.89	0.96
17	1	1.1
18	1.02	1.2
19	1.2	1.4
20	1.1	1.3
21	1.3	1.5
22	1.4	1.7
23	1.5	1.7
24	1.6	1.6
25	1.9	2.2
26	1.2	1.2
27	1.5	1.9
28	1.3	1.5
29	1.8	2.3
30	1.8	2.4
31	2.5	3.2
32	1.7	2
33	2.3	3.1
34	2.6	3.4
35	2	2.3
36	3	3.6
37	3.4	4.1
38	3.2	3.9

## 결론 및 고찰

TSH 검사는 Two-point calibration curve 법에서 우수한 상관관계를 보였고 control 값의 변이계수(CV%) 또한 양호하게 나타났기 때문에 사용에 무리가 없을 것으로 보인다. 반면 FT4 검사는 Two-point calibration curve 법의 상관성 테스트에서 양호한 상관관계를 나타냈지만 정도관리Control 값이  $\pm 2SD$  범위를 빈번하게 벗어나는 양상을 보이므로 적용이 어려울 것으로 사료된다. Two-point calibration curve 법 적용 시 batch 별 최대 5개 test tube의 사용 절감 효과와 standard 및 control의 분주 시간 단축이 비용적인 측면과 시간적인 면에서 효율적이므로 현재 진단검사의학과에 상대적으로 경쟁력이 저조한 부분을 보완 해주는 역할을 하기 때문에 유용한 가치가 있을 것으로 보인다. 그러나 Two-point calibration curve 법을 검체 수가 많을 때 적용한다면 Calibration curve 이상시 재검 개수가 증가하게 됨으로 상황에 따라서는 비효율적으로 작용할 수 있다는 점을 인지해야 할 것이다.

추 후 RIA mat 280 장비(BYK-SANGTEC DIAGNOSTICS, Germany) 뿐만 아니라 다른 자동화 장비에서도 상관성 검사와 TAT 비교분석을 통해 Two-point Calibration curve 법의 적용 확대를 고려해 보는 것도 좋을 것으로 생각되며 이외에 추가적인 실험을 기반으로 더욱 신속하고 정확한 결과보고를 위한 방법을 여러가지 측면에서 모색하고 지속적인 관심을 갖는 자세가 핵의학 경쟁력 강화에 중요한 조력으로 작용하지 않을까 생각한다.

## REFERENCES

1. Clinical pathology file. Eui-Hak publishing, Third edition, 2000.
2. Laboratory of nuclear medicine. 청구 문화사, 2007.