

갑상선 자가항체 검사를 위한 입자 응집법과 ELISA법의 비교

Comparison of Particle Agglutination Assay and ELISA for Anti-thyroid Autoantibodies

신경수 · 전래희 · 김신규

Kyoung Soo Shin, La-He Jearn, Think-You Kim

한양대학교 의과대학 진단검사의학교실

Department of Laboratory Medicine, Hanyang University Medical Center, Seoul, Korea

Background: Measurements of serum anti-thyroglobulin antibody (anti-Tg) and anti-thyroid peroxidase antibody (anti-TPO) are important for the diagnosis of autoimmune thyroid diseases. Although ELISA is most commonly used for the detection of anti-thyroid autoantibodies, other methods like particle agglutination assay (PA) or radioimmunoassay (RIA) are still being used in clinical laboratories. There are few studies about the comparison between PA and ELISA, and we evaluated the validity of these assays in this study.

Methods: We have used three methods, PA (Fujirebio Inc.), ELISA-1 (Zeus Scientific Inc.), and ELISA-2 (Orgentec Diagnostika) for the measurements of titers or concentrations of anti-thyroid autoantibodies. A total of 212 patients belonging to six different disease groups were tested: 40 patients for anti-Tg only, 64 for anti-TPO (or anti-microsome) only, and 108 for both antibodies. All test results were compared with each other in six disease groups.

Results: Concordance of positive or negative results was obtained in 78.5-97.3% of the samples tested, and positive rates of three methods were similar in autoimmune thyroid disease group. In the comparable concentration range, the correlation coefficients were 0.328-0.820 between the two ELISAs or between ELISA and PA.

Conclusions: Positive or negative decisions by three assay systems have high concordance rates, and antibody levels measured by three methods correlate well in the comparable concentration range. The ELISA-1 shows less non-specific reactions, better discrimination in low level of autoantibodies, and the highest positive rate in autoimmune thyroid disease group.

Key Words: Anti-thyroglobulin antibody, Anti-thyroid peroxidase antibody, Particle agglutination assay, ELISA

서론

자가면역성 갑상선 질환은 대표적인 자가면역질환의 하나이다 [1]. 이 질병은 여러 가지 자가항체와 관련이 있으며, 이 자가항체들

이 질병의 발생이나 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 여겨지고 있다[2, 3]. 따라서 이러한 자가항체를 검출해 내는 것은 질병의 진단, 치료, 그리고 예후를 평가하는데 매우 유용하다[4]. 현재 자가면역성 갑상선 질환에 관하여 임상적으로 유용한 자가항체로는 anti-thyroid peroxidase antibody (anti-TPO), anti-thyroglobulin antibody (anti-Tg), 그리고 anti-thyroid stimulating hormone receptor antibody (anti-TSHR)가 있는데, 이 중 anti-TPO와 anti-Tg는 그레이브스병과 하시모토병의 진단에 사용되는 임상적으로 매우 중요한 자가항체이다[5].

이러한 자가항체를 검출하는 방법으로 초기에는 간접 면역형광 현미경법이 사용되었다[6]. 이 방법은 사람이나 원숭이의 갑상선 동결 조직을 기질로 사용하는 것으로 필요한 조직을 충분히 공급하기 어려운 점이 있었다. 수동적혈구응집법이 개발되었고 이를 응용한 입자응집법(particle agglutination, PA)이 소개되면서 다량의 검사를 간편하게 수행할 수 있는 검사법이 상용화되었다[7]. 이

Corresponding author: La-He Jearn

Department of Laboratory Medicine, College of Medicine, Hanyang University, 17 Haengdang-dong, Seongdong-gu, Seoul 133-792, Korea
Tel: +82-2-2290-8978, Fax: +82-2-2298-1735
E-mail: lhchun@hanyang.ac.kr

Received: May 17, 2010

Revision received: September 3, 2010

Accepted: September 6, 2010

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2011, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

후 방사선면역법이 도입되어 많은 검사실에서 이용되었으나 최근에는 자동화가 가능하고 검사시간이 빠른 효소결합면역흡착법 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)이 보편화되었다[8]. 그러나 각각의 검사실마다 의뢰되는 검사건수, 검사실의 인력 및 장비 확보 등의 여러 가지 처한 상황이 다르므로 각 검사실 실정에 맞는 다양한 갑상선 자가항체 검사법을 사용하고 있다[9].

지금까지 이들 각 검사법 간의 비교에 대한 연구는 드물어 일부 방사선면역법과 효소결합면역흡착법에 대한 비교 연구를 제외하고는 발표된 논문이 매우 적으며[10-12], 특히 갑상선 질환의 진단을 위한 입자응집법과 효소결합면역흡착법을 비교한 자료는 드물다. 따라서 본 연구에서는 입자응집법과 두 가지의 효소결합면역흡착법에 대하여 판정의 일치율, 질환군별 양성률 등을 서로 비교하여 이들 검사법의 임상적 유용성을 평가해 보았다.

대상 및 방법

1. 대상

2009년 6월부터 10월까지 갑상선 자가항체 검사를 위해 의뢰된 환자의 검체 중 총 212개의 검체를 대상으로 하였다. 환자들의 나이는 20세부터 86세까지 분포하였고 평균연령은 44.9세였으며, 여자가 152명, 남자가 60명이었다. anti-Tg 혹은 anti-TPO (or anti-microsome) 검사만을 시행한 환자는 각각 40명, 64명이었으며, 두 가지 검사를 모두 시행한 환자는 108명이었다. 환자로부터 정맥혈을 채취한 후 원심분리를 하여 얻은 혈청을 사용하였고, 영하 70도에 보관하였다가 동시에 해동하여 검사를 시행하였다. 각 검사법의 진단적 유용성을 확인하기 위해 환자를 갑상선 관련질환 4군과 비갑상선 관련질환 2군의 총 6군으로 나누어 그 결과를 비교하였다 (Table 1).

2. 검사법 간의 비교(Method comparison) 및 결과 해석

입자응집법과 두 가지 효소결합면역흡착검사법을 사용하여 환자로부터 채취한 혈청에서 anti-Tg, anti-TPO (or anti-microsome)

를 측정하였다. 검사는 제조사의 지침에 따라 시행하였다.

입자응집법(PA)은 Serodia-ATG, Serodia-AMC (Fujirebio Inc., Tokyo, Japan) 제품을 이용하였다. 항원 전달체(carrier)로 젤라틴 입자를 이용하는 입자응집법으로서, 효소결합면역흡착법과 달리 갑상선 과산화효소(thyroid peroxidase, TPO)가 주성분인 갑상선 미세소체(thyroid microsome)를 항원으로 이용한다. 최초 환자의 혈청과 희석용액을 섞어 1:100으로 희석한 후, 4배씩 단계별 희석하여 1:204,800까지 희석한다. 이렇게 희석된 검체가 들어 있는 microwell에 갑상선 미세소체 또는 갑상선글로불린(thyroglobulin, Tg)에 감작된 젤라틴 입자를 첨가하여 잘 혼합한 후 수평한 곳에 놓아 응집여부를 관찰하였다. 3시간 후 1차 판정, 24시간 후 최종 판정을 시행하였다. 응집이 일어난 것 중 가장 낮은 역가(titer)를 확인하였고 그 값이 1:100 이상이면 양성으로 판정하였다.

효소결합면역흡착법-1 (ELISA-1)은 TPO, Tg IgG ELISA test system (Zeus Scientific Inc., Raritan, NJ, USA) 제품을 이용하였다. 잘 정제된 사람 갑상선글로불린 혹은 갑상선 과산화효소가 부착되어 있는 microwell에 미리 준비된 환자의 검체를 100 µL씩 분주한 후 실온에서 25분간 반응시킨다. 세척용액 300-350 µL로 5회 세척한 후 horseradish peroxidase (HRP)가 결합된 anti-human IgG 100 µL를 첨가하여 실온에서 15분간 반응시킨다. 다시 세척용액으로 5회 세척하여 비결합 글로불린들을 제거한 후 tetramethylbenzidine (TMB) 100 µL를 첨가하여 발색 반응을 일으킨다. 15분 후 정지액 50 µL를 첨가하여 반응을 정지시키고 발색정도를 측정하였다. 측정장비로 Triturus (Diagnostic Grifols S.A., Barcelona, Spain)를 사용하여 450 nm에서 광학적으로 측정하였다. Anti-Tg검사의 경우는 world health organization (WHO)의 Medical Research Council (MRC) 65/093을, anti-TPO검사의 경우는 MRC 66/387을 이용하여 표준곡선(standard curve)을 구하였으며, 결과 판정은 제조사의 지침에 따라 anti-Tg는 80 IU/mL, anti-TPO는 30 IU/mL 이상을 양성으로 판정하였다.

효소결합면역흡착법-2 (ELISA-2)는 Anti-TG, Anti-TPO (Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Germany) 제품을 사용하였다. 효소결합면역흡착법-1과 같은 순서로 검사를 시행하였다. 사람 갑상선글로불린 혹은 갑상선 과산화효소가 부착되어 있는 microwell에 미리 준비된 환자의 검체를 100 µL씩 분주한 후 실온에서 30분간 반응시킨다. 세척용액 300 µL로 3회 세척한 후 HRP가 결합된 anti-human IgG 100 µL를 첨가하여 실온에서 15분간 반응시킨다. 다시 세척용액으로 3회 세척한 후 TMB 100 µL를 첨가하여 발색 반응을 일으킨다. 15분 후 정지액 50 µL를 첨가하여 반응을 중지시키고 발색정도를 Triturus (Diagnostic Grifols S.A., Barcelona, Spain)를 사용하여 450 nm에서 광학적으로 측정하였다. 표준곡선은 효소결합면역흡착법-1과 같은 방법으로 구하였으며, 결과 판정은 제

Table 1. Clinical informations in six disease groups

Disease groups	N	Clinical diagnosis
I Autoimmune thyroid diseases	61	Hashimoto's thyroiditis, Graves disease
II Hyper-/hypothyroidism	34	Hyperthyroidism, hypothyroidism
III Nontoxic goiter	25	Diffuse goiter, nodular goiter
IV Thyroid cancer	19	
V Other autoimmune diseases	31	SLE, RA, SSs, etc.
VI Various other conditions	42	DM, GERD, pneumonia, etc.
Total	212	

Abbreviations: SLE, systemic lupus erythematosus; RA, rheumatoid arthritis; SSs, systemic sclerosis; DM, diabetic mellitus; GERD, gastroesophageal reflux disease.

조사의 지침에 따라 anti-Tg에서 150 IU/mL, anti-TPO에서 75 IU/mL 이상을 양성으로 판정하였다.

3. 통계

검사 결과에 대한 통계학적 분석은 SPSS (version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 상관관계분석 및 correlation coefficient를 구하였으며, MS Excel (Microsoft corp., Redmond, WA, USA)를 이용하여 검사법 간의 일치율과 질환군별 양성률을 구하였다.

결 과

1. 양성 혹은 음성 판정에 대한 검사법 사이의 일치율

세 가지 검사 결과에서 도출된 양성 혹은 음성 판정에 대하여 각 검사법 간의 일치율을 구하였다(Table 2). 세 가지 검사법에서 모두 같은 판정을 보이는 것은 anti-Tg검사서 85.1% (126/148)이었으며, anti-TPO검사(or anti-microsome)에서는 78.5% (135/172)였다. 세 가지 검사법 중 두 가지에서만 일치하는 것은 anti-Tg검사의 경우 입자응집법과 효소결합면역흡착법-1에서 97.3% (144/148), 입자응집법과 효소결합면역흡착법-2에서 87.8% (130/148), 효소결합면역흡착법-1과 효소결합면역흡착법-2에서 86.4% (128/148)이었다. anti-TPO검사에 대한 일치율은 입자응집법과 효소결합면역

흡착법-1에서 80.8% (139/172), 입자응집법과 효소결합면역흡착법-2에서 77.9% (134/172), 효소결합면역흡착법-1과 효소결합면역흡착법-2에서 83.7% (144/172)이었다.

2. 입자응집법과 효소결합면역흡착법 사이의 일치율

입자응집법의 각 단계별 항체 역가에 대해 효소결합면역흡착법에 의한 판정결과와 그 일치율을 구하여 비교해 보았다(Table 3). 음성 판정에 대한 일치율은 입자응집법과 효소결합면역흡착법-1의 경우 anti-Tg검사서 81.1%, anti-TPO검사서 90.9%였으며, 입자응집법과 효소결합면역흡착법-2에서는 모두 100%였다. 음성 판정에 대한 일치율이 매우 높은 데 비해 양성판정에 대한 일치율은 입자응집법의 역가에 따라 변동이 매우 심했다. 전반적으로 입자응집법의 낮은 역가에서 일치율이 매우 낮았으며 높은 역가로 갈수록 일치율이 증가하는 양상이었다. 그리고 검사종목에 따른 일치율에서도 차이를 보였는데, anti-Tg검사에 대한 양성판정의 일치율은 입자응집법의 역가가 1:1,600부터 모두 100%를 보인 반면 anti-TPO검사에 대한 양성판정의 일치율은 대부분의 구간에서 anti-Tg검사보다 낮았다. 특히 anti-TPO검사의 경우 입자응집법의 낮은 역가에서는 매우 낮은 일치율을 보였는데, 1:100의 역가에서는 입자응집법과 효소결합면역흡착법-1의 일치율이 0%였으며, 입자응집법과 효소결합면역흡착법-2의 경우에서도 1:400 이하의 역가에서는 일치율이 15% 미만이었다.

Table 2. Concordance of positive or negative decisions among three different autoantibody tests

	N (%) of concordant decisions	
	Anti-Tg (N=148)	Anti-TPO (N=172)
Concordance among 3 tests	126 (85.1)	135 (78.5)
Concordance between 2 tests		
PA and ELISA-1	144 (97.3)	139 (80.8)
PA and ELISA-2	130 (87.8)	134 (77.9)
ELISA-1 and ELISA-2	128 (86.4)	144 (83.7)

Abbreviations: anti-Tg, anti-thyroglobulin antibody; anti-TPO, anti-thyroid peroxidase antibody; PA, particle agglutination assay.

3. 질환군별 각 검사법의 비교

6개의 질환군별로 각 검사에서 양성 판정을 받은 환자의 비율을 비교하여 보았다(Fig. 1). 모든 검사법에 대해 자가면역성 갑상선 질환군(제1군)이 가장 높은 양성 판정률을 보였다. 기타 자가면역 질환군(제5군)에서의 양성률이 다른 질환군에 비해 높았는데, 특히 입자응집법의 경우는 anti-Tg검사서 100% (22/22), anti-TPO검사서 96.8% (30/31)로 효소결합면역흡착법보다 상대적으로 매우 높은 양성 판정률을 나타냈다.

Table 3. Concordance of positive or negative decisions between particle agglutination assay and ELISA

PA	Anti-Tg						Anti-TPO					
	ELISA-1			ELISA-2			ELISA-1			ELISA-2		
	+	-	Concordance (%)	+	-	Concordance (%)	+	-	Concordance (%)	+	-	Concordance (%)
-	3	34	81.1	0	37	100	1	10	90.9	0	11	100
1:100	23	1	95.8	16	8	66.7	0	17	0	2	15	13.3
1:400	31	0	100	21	10	67.7	9	8	52.9	2	15	11.8
1:1,600	26	0	100	26	0	100	26	4	86.7	24	6	80.0
1:6,400	12	0	100	12	0	100	37	2	94.8	37	2	94.9
≥ 1:25,600	18	0	100	18	0	100	57	1	98.3	58	0	100

Abbreviations: See Table 2.

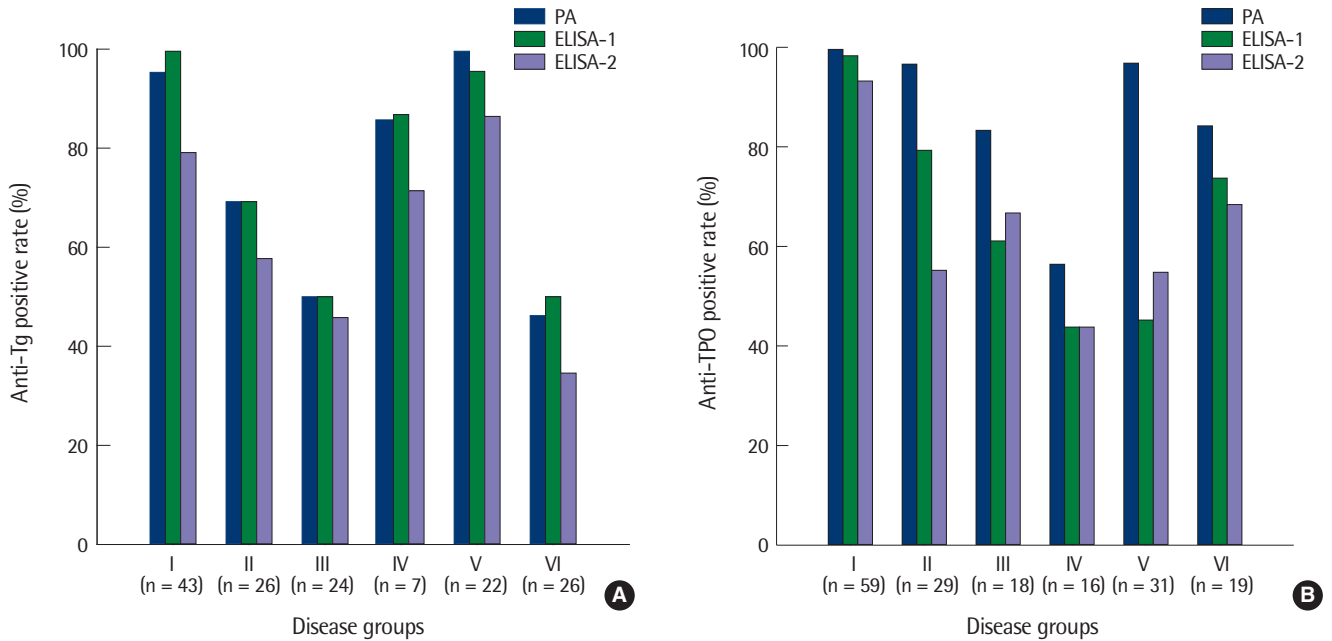


Fig. 1. Comparison of positive rates of anti-Tg (A) and anti-TPO (B) by PA and two ELISAs in six disease groups. Abbreviations: anti-Tg, anti-thyroglobulin antibody; anti-TPO, anti-thyroid peroxidase antibody; PA, particle agglutination assay.

4. 검사법 사이의 상관관계

각 검사법 사이의 상관관계를 분석하고 상관관계계수를 구하였다(Fig. 2). 입자응집법과 효소결합면역흡착법 결과의 단위가 서로 다르고, 두 가지 효소결합면역흡착법의 측정가능범위도 서로 달라 측정결과값에 대하여 일부 구간에서만 비교 가능하였다. 입자응집법과 효소결합면역흡착법을 비교한 그래프에서는 입자응집법의 역가가 1:100부터 1:6,400에 대한 효소결합면역흡착법 값의 상관관계를 구하였고, 두 효소결합면역흡착법 간의 비교에서는 효소결합면역흡착법-1의 anti-Tg검사는 0-400 IU/mL, anti-TPO검사는 0-160 IU/mL의 범위에서 상관관계를 분석하였다(Fig. 3). Anti-Tg검사의 경우 효소결합면역흡착법-1과 효소결합면역흡착법-2에서 가장 높은 상관관계를 보였으며($r=0.785, P<0.001$), 입자응집법과 효소결합면역흡착법-2 ($r=0.637, P<0.001$), 입자응집법과 효소결합면역흡착법-1 ($r=0.328, P<0.001$) 순이었다. Anti-TPO검사의 상관관계는 높은 순서대로 입자응집법과 효소결합면역흡착법-2 ($r=0.820, P<0.001$), 효소결합면역흡착법-1과 효소결합면역흡착법-2 ($r=0.680, P<0.001$), 입자응집법과 효소결합면역흡착법-1 ($r=0.422, P<0.001$)이었다.

고 찰

갑상선 자가항체 검사는 자가면역성 갑상선 질환의 진단에 매우 유용한 검사이다. 대표적인 자가면역성 갑상선 질환의 하나인 하시모토병 환자의 약 80% 이상에서 anti-TPO와 anti-Tg가 증가되어

있으며, 그레이브스병 환자의 85%에서 anti-TPO가 증가되며 약 50% 이상에서 anti-Tg도 증가하는 것으로 알려져 있다[8, 13, 14]. 그리고 이 자가항체들은 자가면역성 갑상선 질환뿐만 아니라 기타 여러 가지 갑상선 질환에서도 증가될 수 있으며, 전신성홍반성루푸스나 류마티스관절염과 같은 자가면역질환과도 연관성이 있는 것으로 보고되었다[15, 16].

갑상선 자가항체에 대한 검사가 도입되는 초기에는 사람이나 쥐의 갑상선 조직에 환자의 항체를 결합시켜 이를 확인하는 면역형광법이 주로 사용되었다. 그러나 이 방법은 매 검사마다 갑상선 조직이 필요하므로 같은 상태의 갑상선 조직을 공급하는데 한계가 있어서 대량의 검사를 시행하기에는 부적합하다. 이후 특정 항체에 대한 항원을 정제하여 이를 검사에 이용하는 방법이 도입되면서 수동적혈구응집법, 방사면역법, 효소면역법 등이 개발되었고, 갑상선 미세소체에 대한 항원이 갑상선 과산화효소로 밝혀짐에 따라 민감도와 특이도가 향상된 검사법으로 발전하였다[17]. 특히 갑상선 과산화효소의 경우 유전자 재조합기술을 이용해 같은 조건의 순수한 항원을 대량으로 공급할 수 있게 되었다[18].

현재 많은 검사실에서 효소면역방법의 하나인 효소결합면역흡착법이 보편화되었지만, 입자응집법과 같은 기존의 검사들도 여전히 사용되고 있다. 입자응집법은 특별한 검출 장비가 필요치 않고 사람이 눈으로 직접 응집여부를 쉽게 확인할 수 있어 널리 사용되었다. 장비 구입 등의 초기 투자 비용이 적고, 검사 절차가 복잡하지 않아 가용한 인원만 있으면 간단한 교육으로도 검사가 이루어질 수 있다. 그리고 높은 희석배수까지 검출이 가능하여 고농도의

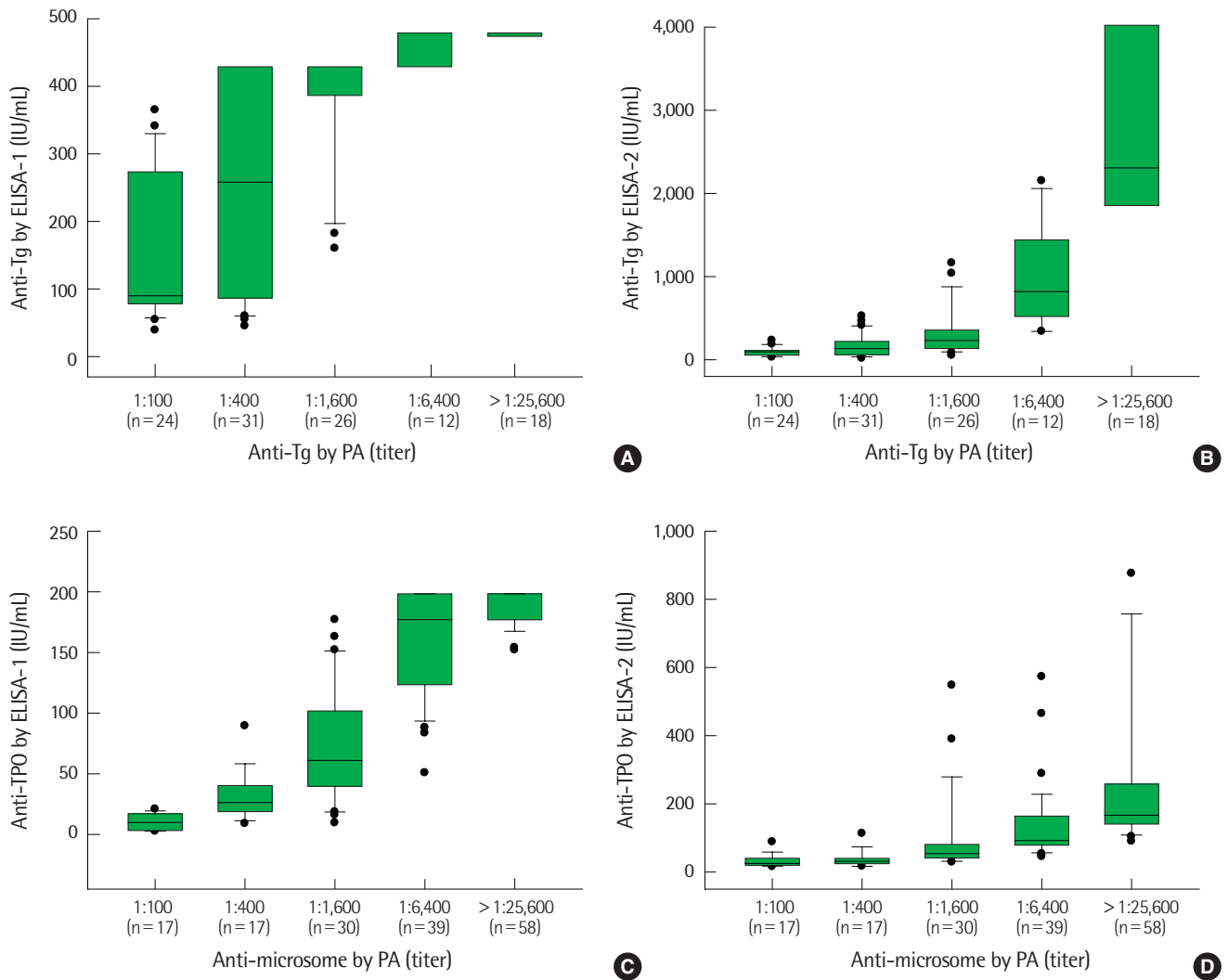


Fig. 2. Comparison of measurements of anti-Tg (A and B) and anti-TPO (C and D) by PA and two ELISAs. Abbreviations: See Fig. 1.

갑상선 자가항체에 대해서도 농도의 추측이 가능하다.

그러나 입자응집법은 검사 결과를 확인할 때까지 24시간 이상이 소요되며, 자가 항체의 정량이 불가능하고, 결과판독을 검사자의 눈으로 확인하므로 검사자 간에 판정이 다를 수 있다는 것이 단점이다. 또한 갑상선 미세소체를 항원으로 사용하기 때문에 정제 과정에서 일부 갑상선글로불린 등이 섞여 들어가 비특이적인 응집에 의한 위양성의 가능성이 높다는 문제도 있다. 본 연구에서도 입자응집법과 효소결합면역흡착법의 판정일치율에서 anti-Tg검사보다 anti-TPO검사의 일치율이 낮았는데, 이는 비특이적인 결합에 의한 위양성의 가능성이 높다고 생각할 수 있다.

이에 비해 방사면역법이나 효소결합면역흡착법은 정제된 항원을 이용하여 이전 검사법보다 높은 특이도를 갖게 되었고, 검사 시간이 짧고 자동화가 가능하여 대량의 검사를 수행할 수 있다는 점, 표준물질을 이용하여 표준화가 가능하다는 점이 장점이다.

anti-TPO검사에서 효소결합면역흡착법의 경우 WHO의 MRC (Medical Research Council) 66/387, anti-Tg검사에서는 MRC 65/093을 이용하여 표준화 작업이 이루어졌다. 그러나 방사면역법은 방사선 동위원소 취급 및 폐기물 처리 등의 문제점이 있고, 효소결합면역흡착법의 경우도 갑상선 과산화효소, 갑상선글로불린을 제조하는 과정에서 생산 방식이 다르므로 제조사에 따라 시약의 민감도와 특이도가 차이가 나며 적절한 참고치를 설정하는데 있어서 어려움이 있다. 따라서 환자 검체에 대해 각각 다른 제조사의 시약을 사용한 경우에 이를 서로 직접 비교하여도 측정값이 맞지 않을 수 있고, 치료한 후 모니터링 하는 과정에서 반복 검사를 시행할 경우에도 제조사가 달라질 경우 이를 판단의 근거로 삼을 수 없다.

본 연구에서는 두 가지 효소결합면역흡착법을 포함하여 총 세 가지의 갑상선 자가항체 검사법의 결과를 서로 비교하였는데, 대체로 검사법 사이의 높은 일치율을 보였다(Table 2). 그런데, 특이한

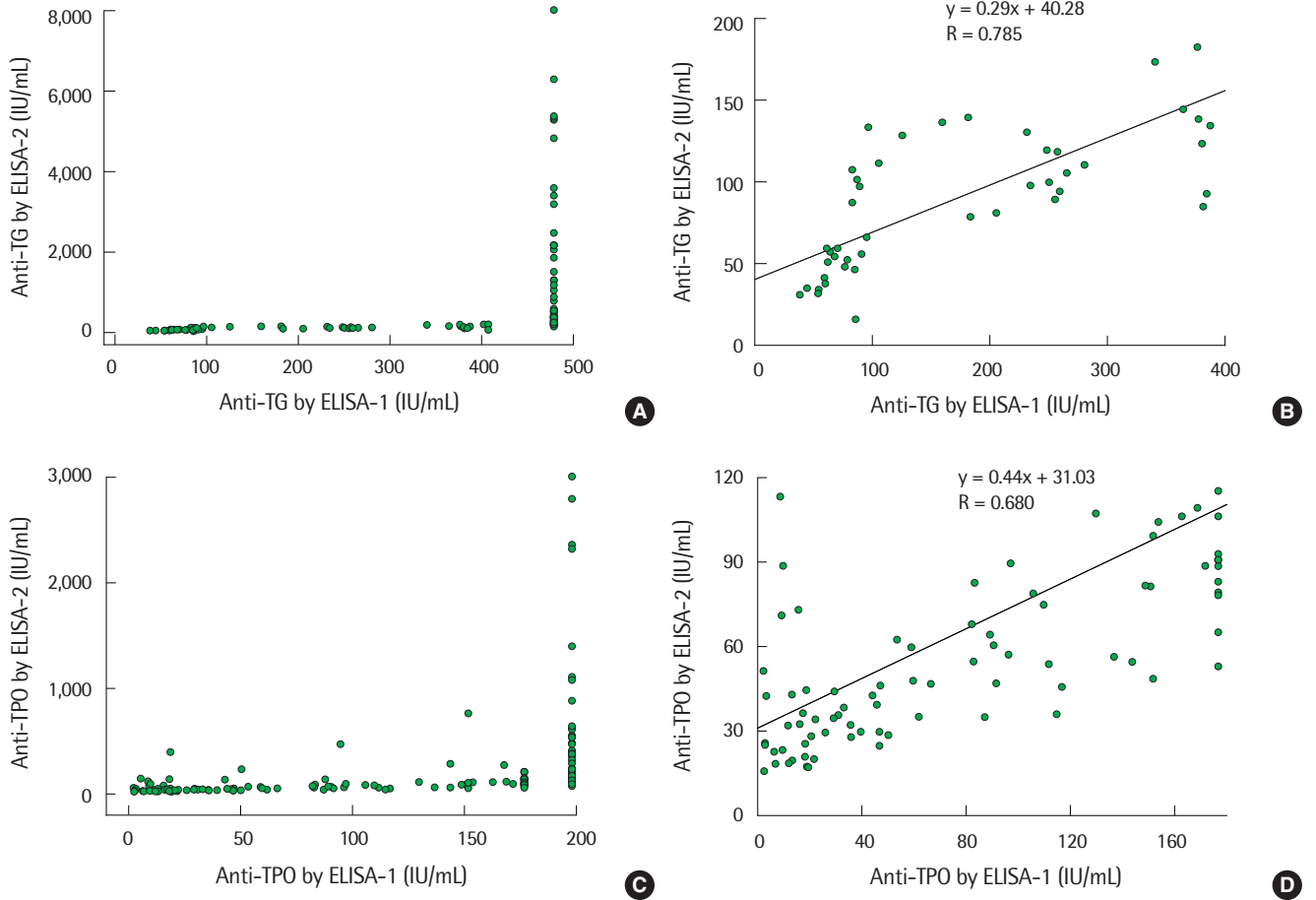


Fig. 3. Comparison of measurements of anti-Tg (A and B) and anti-TPO (C and D) by two different ELISAs. Results are plotted in the whole range (A and C) and in the comparable concentration range (B and D). Abbreviations: See Fig. 1.

점은 같은 검사원리를 가진 효소결합면역흡착법-1 (Zeus Scientific Inc.)과 효소결합면역흡착법-2 (Orgentec Diagnostika)의 일치율이 입자응집법과의 일치율보다 더 높을 것으로 예상하였으나, 오히려 anti-Tg검사에서 가장 낮은 값을 보였다. 두 효소결합면역흡착법 제품의 갑상선 과산화효소는 모두 유전자재조합 방식으로 생산된 것인데, 생산과정에서 두 갑상선 과산화효소 항원의 3차원적인 구조가 서로 달라 항체와의 결합능력에서 차이를 보일 수 있다.

그리고 두 효소결합면역흡착법 제품은 측정가능범위에서 큰 차이를 보였는데, 효소결합면역흡착법-1은 anti-Tg검사에서 20-500 IU/mL, anti-TPO검사에서 15-190 IU/mL로 그 범위가 작은 대신 낮은 농도의 자가항체를 구분해 줄 수 있으나 효소결합면역흡착법-2는 anti-Tg검사에서 50-9,000 IU/mL, anti-TPO검사에서 25-3,000 IU/mL로 효소결합면역흡착법-1에 비해 넓은 범위를 보였다. 한 연구에서 20년간의 추적검사를 통해, 양성 판정을 받을 만큼 높은 농도가 아닐지라도 측정 가능한 anti-TPO를 가진 환자에서 자가면역성 갑상선 질환의 발병률이 높았다는 결과를 보고했다[19]. 이를

고려해 볼 때, 갑상선 자가항체 검사를 임상적으로 이용할 때 낮은 농도의 자가항체를 구분해 주는 검사가 유용성이 크다고 할 수 있다.

질환군별 비교에서는 세 가지 검사법 모두 비슷한 결과를 보였으나, 자가면역성 갑상선 질환군에서의 양성판정률은 효소결합면역흡착법-2보다 입자응집법과 효소결합면역흡착법-1에서 상대적으로 더 높은 값을 나타냈다. 그리고 특히 입자응집법에서는 전신성홍반성루푸스나 류마티스관절염 등과 같은 기타 다른 자가면역 질환군에서의 양성률이 매우 높았는데, 대체로 1:400 이하의 상대적으로 낮은 역가를 보이는 경우가 많았다. 이는 기타 다른 자가항체에 의한 위양성일 가능성이 높아 임상적으로 혼란을 줄 수 있다.

본 연구의 제한점으로는 첫째, 검사 결과에 대하여 표준 검사법으로 확인할 수 없어 단순히 세 검사 결과의 일치율을 구했다는 것이며, 둘째, 단위체계가 다른 검사법 간의 결과를 정확하게 비교하기 어렵다는 문제가 있다. 본 연구에서 입자응집법은 결과값을 응집이 일어난 희석배수로 나타내고 효소결합면역흡착법은 IU/mL

로 표시하기 때문에 그 결과를 비교, 분석하기 어렵다. 셋째, 두 효소결합면역흡착법의 측정 가능 범위가 너무 커서 전 범위에 대한 상관관계를 확인할 수 없었다는 점이다. 예를 들어 효소결합면역흡착법-2에서 anti-TPO검사의 경우 검체 측정값이 33 IU/mL부터 >3,000 IU/mL까지 나타났지만, 효소결합면역흡착법-1에서 고농도 검체는 모두 >190 IU/mL의 값을 보였다. 이렇게 측정범위를 초과하는 검체의 경우 희석하여 검사한 후 희석배수만큼 곱하여 비교하는 것이 일반적인 방법이다. 그러나 항체 검사의 경우 비균질(heterogeneous) 상태이므로 높은 희석 배수일 경우 검사결과의 오류를 초래할 수 있으므로, 이를 고려하여 효소결합면역흡착법-1에서 추가적인 희석은 하지 않고 두 효소결합면역흡착법이 같은 조건하에서 검사된, 비교가능 범위 내의 결과를 이용하였다.

결론적으로 본 연구에서 사용한 세 가지 검사법의 결과는 78.5-97.3%의 일치율을 보였으며, 제한적이기는 하지만 일부 비교 가능한 구간에서 좋은 상관관계를 보임을 알 수 있었다. 본 연구에서 비교한 세 가지 방법 모두 각각의 장단점이 있었으나 질환군별 양성률을 비교해본 결과, 비특이적인 반응이 가장 적고, 낮은 농도의 자가항체들까지 측정이 가능하며, 자가면역성 갑상선질환군에서 가장 높은 양성률을 보인 효소결합면역흡착법-1 제품이 가장 유용할 것으로 판단된다.

요약

배경: Anti-Tg와 anti-TPO 항체 측정은 자가면역성 갑상선질환의 진단을 위한 매우 중요한 검사이다. 이 검사를 위해 현재 효소결합면역흡착법이 보편화되었으나 입자응집법, 방사면역측정법 등도 여전히 사용되고 있다. 이들 검사법들에 대한 비교 연구 중 입자응집법과 효소결합면역흡착법을 비교한 연구는 매우 적어, 본 연구를 통하여 이를 확인하였고 이들 검사법의 유용성을 평가해 보았다.

방법: Anti-Tg검사를 시행한 40명, anti-TPO (or anti-microsome) 검사를 시행한 64명, 그리고 두 가지 검사를 모두 시행한 108명을 포함한 총 212명의 환자에 대하여 입자응집법(Fujirebio Inc.), 효소결합면역흡착법-1 (Zeus Scientific Inc.), 그리고 효소결합면역흡착법-2 (Orgentec Diagnostika)의 3가지 검사법으로 자가항체의 역가 또는 농도를 측정하였고, 6가지 질환군별로 판정 결과를 서로 비교하였다.

결과: 각 검사 결과에 대하여 양성 혹은 음성 판정의 일치율은 78.5-97.3%이었고, 자가면역성 갑상선질환군에서 양성률은 비슷하였다. 비교 가능한 일부 구간에서의 결과값을 분석한 결과 두 효소결합면역흡착법 또는 입자응집법과 효소결합면역흡착법 사이에 0.328-0.820의 상관관계계수를 보였다.

결론: 세 가지 검사법에 의한 양성 혹은 음성 판정결과는 높은 일

치율을 보였으며, 일부 비교 가능한 구간에 한하여 좋은 상관관계를 나타냈다. 효소결합면역흡착법-1이 비특이적인 반응이 가장 적고, 낮은 농도까지 측정이 가능하며, 자가면역성 갑상선질환군에서 가장 높은 양성률을 보였다.

참고문헌

- Weetman AP. New aspects of thyroid immunity. *Horm Res* 1997;48(S): S51-4.
- Pinchera A, Mariotti S, Vitti P, Marcocci C, Chiovato L, Fenzi G, et al. Thyroid autoantigens and their relevance in the pathogenesis of thyroid autoimmunity. *Biochimie* 1989;71:237-45.
- Naparstek Y and Plotz PH. The role of autoantibodies in autoimmune disease. *Annu Rev Immunol* 1993;11:79-104.
- Tozzoli R. The diagnostic role of autoantibodies in the prediction of organ-specific autoimmune disease. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:577-87.
- Sinclair D. Clinical and laboratory aspects of thyroid autoantibodies. *Ann Clin Biochem* 2006;43:173-83.
- Holborow EJ, Brown PC, Roitt IM, Doniach D. Cytoplasmic localization of "complement-fixing" auto-antigen in human thyroid epithelium. *Br J Exp Pathol* 1959;583-8.
- Cayzer I, Chalmers SR, Doniach D, Swana G. An evaluation of two new hemagglutination tests for the rapid diagnosis of autoimmune thyroid diseases. *J Clin Pathol* 1978;31:1147-51.
- Gilmour J, Brownlee Y, Foster P, Geekie C, Kelly P, Robertson S, et al. The quantitative measurement of autoantibodies to thyroglobulin and thyroid peroxidase by automated microparticle based immunoassays in Hashimoto's disease, Graves' disease and a follow-up study on post-partum thyroid disease. *Clin Lab* 2000;46:57-61.
- Sinclair D. Analytical aspects of thyroid antibodies estimation. *Autoimmunity* 2008;41:46-54.
- Engler H, Staub JJ, Althaus B, Ryff-deLèche A, Gerber H. Assessment of antithyroglobulin and antimicrosomal autoantibodies in patients with autoimmune thyroid disease: comparison of haemagglutination assay, enzyme-linked immunoassay and radioligand assay. *Clin Chim Acta* 1989;179:251-63.
- Groves CJ, Howells RD, Williams S, Darke C, Parkes AB. Primary standardization for the ELISA of serum thyroperoxidase and thyroglobulin antibodies and their prevalence in a normal Welsh population. *J Clin Lab Immunol* 1990;32:147-51.
- Engler H, Riesen WF, Keller B. Anti-thyroid peroxidase (anti-TPO) an-

- tibodies in thyroid diseases, non-thyroidal illness and controls. Clinical validity of a new commercial method for detection of anti-TPO (thyroid microsomal) autoantibodies. *Clin Chim Acta* 1994;225:123-36.
13. Feldt-Rasmussen U, Høier-Madsen M, Bech K, Blichert-Toft M, Bliddal H, Date J, et al. Anti-thyroid peroxidase antibodies in thyroid disorders and non-thyroid autoimmune diseases. *Autoimmunity* 1991;9:245-54.
 14. Lastrzebska-Bohaterewicz E, Wojciechowska W, Gardas A. Place of thyroglobulin antibodies assay in laboratory diagnostic of autoimmune thyroid diseases. *Endokrynol Pol* 2005;56:30-4.
 15. Foldes I and Levay A. Antibodies against thyroid gland peroxidase and thyroglobulin in various thyroid diseases. *Orv Hetil* 1994;135:1579-84.
 16. Konstadoulakis MM, Kroubouzos G, Tosca A, Piperigos G, Marafelia P, Konstadoulakis M, et al. Thyroid autoantibodies in the subsets of lupus erythematosus: correlation with other autoantibodies and thyroid function. *Thyroidology* 1993;5:1-7.
 17. Czarnocka B, Ruf J, Ferrand M, Carayon P, Lissitzky S. Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as the microsomal antigen involved in autoimmune thyroid diseases. *FEBS Lett* 1985;190:147-52.
 18. Hanbruck H, Mauch L, Cook NJ, Steffens U, Hunt N, Berthold H, et al. Expression of recombinant human thyroid peroxidase by the baculovirus system and its use in ELISA screening for diagnosis of autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity* 1993;15:275-84.
 19. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham survey. *Clin Endocrinol* 1995;43:55-68.