https://doi.org/10.15263/jlmqa.2019.41.4.207

ORIGINAL ARTICLE

임상검사와 정도관리

Laboratory Medicine and Quality Assurance

Performance Evaluation of the Total Prostate-Specific Antigen (PSA), Free PSA, and [−2]proPSA Assay for Calculation of the Prostate Health Index Using the UniCel DxI 800 Analyzer

Won-Kyu Choi, Hyun-Ki Kim, Woochang Lee, Sail Chun, and Won-Ki Min

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Prostate-specific antigen (PSA) is widely used as a tumor marker of prostate cancer, but it is not specific for cancer. Numerous efforts have been made to find another tumor marker that can replace PSA. Recently, the Prostate Health Index (PHI) has been introduced, which shows higher diagnostic performance for prostate cancer than PSA. In this study, we evaluated the performance of the UniCel DxI 800 (Beckman Coulter, USA) for quantitative measurement of total PSA (tPSA), free PSA (fPSA), and [-2]proPSA used for calculating the PHI.

Methods: The precision, linearity, and limit of detection of the three items, as well as the correlation between the UniCel DxI 800 (Beckman, USA) and a comparable instrument in the Asan Medical Center, the Alinity i (Abbott, USA), were evaluated in accordance with the Clinical Laboratory Standards Institute guidelines.

Results: The total coefficient of variation for the three items was less than 5%. Linearity was observed for each manufacturer-claimed analytical measurement range, with R^2=0.99. The claimed limit of blank and limit of detection were verified. The results of the UniCel DxI 800 showed good correlation with those of the Alinity i (tPSA, *r*=0.995; fPSA, *r*=0.994).

Conclusions: The UniCel DxI 800 showed good analytical performance. Therefore, it will be useful to use the UniCel DxI 800 in the clinical laboratory to measure the diagnostic markers of prostate cancer.

(Lab Med Qual Assur 2019;41:207-213)

Key Words: Prostate Health Index, Prostate-specific antigen, Free prostate-specific antigen, [-2]Pro-prostate-specific antigen

Corresponding author:
Woochang Lee
Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, 88 Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 05505, Korea
Tel: +82-2-3010-4516
Fax: +82-2-478-0884
E-mail: wlee1@amc.seoul.kr

pISSN: 2384-2458
eISSN: 2288-7261

Received October 14, 2019, **Revision received** November 4, 2019, **Accepted** November 14, 2019

서론

전립선암은 전 세계적으로 남성에게서 2번째로 흔하게 진단되며 암으로 인한 사망원인 중 5번째로 흔한 암이며[1], 한국에서도 2009년까지 전립선암의 연령표준화발생률이 매년 지속적으로 증가하여 현재 4번째로 많이 발생하는 암종이다[2]. 전립선암의 진단을 위해 전립선 특이항원(prostate-specific antigen, PSA)과 직장수지검사(digital rectal examination, DRE)로 이루어진 선별검사와 생검을 통한 확진검사를 시행하고 있다. PSA는 분자량 34,000의 당단백으로, 전립선의 상피세포에서 주로 생성되어 고농도로 정액 내에 분비되지만 일반적으로 혈중에도 4 ng/mL 이내의 소량으로도 존재한다[3]. 전립선암이 있을 경우 PSA의 분비가 증가하기 때문에 암의 진단표지자로 널리 사용되고 있는데, 이는 초기 진단에 도움을 주어 암으로 인한 사망률을 낮추는 데 도움을 주었다[4]. 하지만 PSA는 전립선비대증, 전립선염과 같은 양성질환과 연령에 따라서도 분비가 증가해 전립선암에 특이적이지 않다. 전립선암의 선별검사로 PSA를 이용하면 암이 아닌 경우에도 비특이적으로 증가한 PSA로 인해 불필요한 생검이 증가할 수 있다[5]. 또한 전립선암을 예측할 수 있는 PSA의 정확한 진단적

기준치가 없어 일반적 참고범위 상한인 4 ng/mL 이하의 PSA 수치를 보인 남성의 15%에서 전립선암이 발견되기도 한다[6].

불필요한 검사로 인한 부작용을 낮추면서 전립선암을 특이적으로 진단하기 위해 PSA를 대체할 수 있는 진단표지자를 찾기 위한 많은 연구들이 있었고 근래 들어 PSA의 동형 단백질에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. PSA는 혈액 속에서 단백분해효소 억제제와 복합체를 이룬 복합형(complex form, complex PSA)과 그렇지 않은 유리형(free form, fPSA)으로 존재하며 유리형은 proPSA, benign PSA, intact PSA로 분류할 수 있다. Total PSA (tPSA) 검사는 혈액 내 복합형과 유리형의 합을 측정하는 것으로 전립선암을 선별하기 위해 가장 흔하게 이용되는 검사이며, fPSA 검사는 PSA의 유리형만 측정한다. fPSA의 tPSA에 대한 분율(% free PSA, %fPSA)이 전립선에 악성질환이 있을 경우 감소하고 양성질환이 있을 경우 증가한다고 알려져 있다. ProPSA는 다시 아미노산의 결합형태에 따라 [-7]proPSA, [-5]proPSA, [-2]proPSA (p2PSA) 등으로 구별할 수 있으며, 이 중 p2PSA가 가장 안정한 형태이며 전립선암에 특이적이다[7-9]. College of American Pathologists에서 시행한 2019년 1차 외부정도관리프로그램에 따르면 tPSA의 측정을 위해 사용한 제조사별 검사장비의 빈도는 Siemens (27.20%), Roche (23.75%), Beckman Coulter (21.12%), Abbott (18.4%) 순이고, fPSA 측정을 위해 사용한 제조사별 검사장비의 빈도는 Roche (31.40%), Beckman Coulter (29.05%), Abbott (22.74%), Siemens (16.81%) 순이다. 대한임상검사정도관리협회에서 시행한 2019년 1차 신빙도조사에 따르면 PSA 측정을 위해 사용한 제조사별 검사장비의 빈도는 Roche (45.50%), Abbott (27.70%), Siemens (14.21%), Beckman Coulter (7.74%) 순이다.

최근에는 전립선암에 대해 더 높은 진단적 성능을 보여주는 Prostate Health Index (PHI)가 개발됐는데, tPSA, fPSA, 그리고 p2PSA를 측정해 수치를 구한다($PHI=p2PSA/fPSA \times \sqrt{tPSA}$). PHI는 50대 이상 남성에서 정상소견의 DRE와 4-10 ng/mL의 PSA 수치를 보일 때 생검을 시행하기 전 전립선암을 예측할 수 있는 검사이고[10], 2012년 미국 Food and Drug Administration (FDA)에 승인된 이후로 현재 50여 개국가에서 이용되고 있다[7]. 본 연구에서는 tPSA, fPSA, 그리고 p2PSA을 정량적으로 측정할 수 있는 UniCel DxI 800 (Beckman Coulter, Brea, CA, USA)을 대상으로 정밀도, 직선성, 검출한계 및 상관성 등의 수행능을 평가하였다.

재료 및 방법

1. 대상

상관성 평가를 위해 2018년 11월부터 2018년 12월까지 기존에 서울아산병원 검사실에서 사용하고 있는 장비이며 국내에서 흔히 사용되고 있는 장비 중 하나인 Alinity i (Abbott, Chicago, IL, USA)로 tPSA와 fPSA 검사가 의뢰되었던 검체 중에서 측정값이 임상적으로 중요한 농도범위 내에 충분히 분포하는 123개의 잔여 혈청 검체를 사용하였으며, 검사 시행 전까지 -70℃ 이하에서 냉동보관을 하였다. 본 연구는 서울아산병원 임상시험심사위원회(institutional review board)의 심의면제를 받았다(S2019-2043-0001).

2. 검사방법

UniCel DxI 800 장비로 Access Hybritech PSA (Beckman Coulter), Access Hybritech free PSA (Beckman Coulter)와 Access Hybritech p2PSA (Beckman Coulter) 시약을 이용해 tPSA, fPSA, p2PSA를 측정하였다. Alinity i 장비로 Alinity i Total PSA (Abbott)와 Alinity i Free PSA (Abbott) 시약을 이용해 tPSA, fPSA를 측정하였다.

3. 정밀도

정밀도(precision) 평가는 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP05-A3에 따라 저농도, 중간농도, 고농도의 상품화된 정도관리물질인 Liquicheck Tumor Marker Control (Bio-Rad Laboratories, Irvine, CA, USA), Access Hybritech p2PSA Quality Conrtol (Beckman Coulter)을 20일 동안 매일 2번, 검사마다 2번씩 반복 측정하여 수행하였다[11]. 측정된 값으로 농도에 따라 평균, 반복정밀도(repeatability) 및 검사실 내 정밀도(within-laboratory precision) 변이계수를 계산하였다.

4. 직선성

직선성(linearity) 평가는 CLSI EP06-A에 따라 제조사가 제시하는 측정가능범위(tPSA, 0.008-150.0 ng/mL; fPSA, 0.005-20.0 ng/mL; p2PSA, 0.69-5,000.0 pg/mL)를 고려해 각 항목의 Access Hybritech Calibrators 중 최고농도물질(tPSA, 150 ng/mL; fPSA, 20 ng/mL; p2PSA, 5,000 pg/mL)을 저농도부터 고농도까지 다섯 가지 농도로 계대 희석한 후 각각 4번씩 반복 측정하여 수행하였다. 5개 농도별로 측정된 값의 평균과 기대값을 비교하였다[12].

Table 1. Precision profile of the UniCel DxI 800

Analyte (unit)	Level	Mean	Coefficients of variation (%)	
			Repeatability	Within-laboratory precision
Total PSA (ng/mL)	Low	0.147	3.3	3.5
	Middle	3.619	2.5	2.8
	High	16.154	2.2	2.6
Free PSA (ng/mL)	Low	0.162	3.5	4.2
	Middle	4.045	2.5	3.4
	High	16.787	2.5	3.2
[−2]ProPSA (pg/mL)	Low	20.788	3.8	4.7
	Middle	185.993	3.5	4.2
	High	1,014.825	3.9	4.3

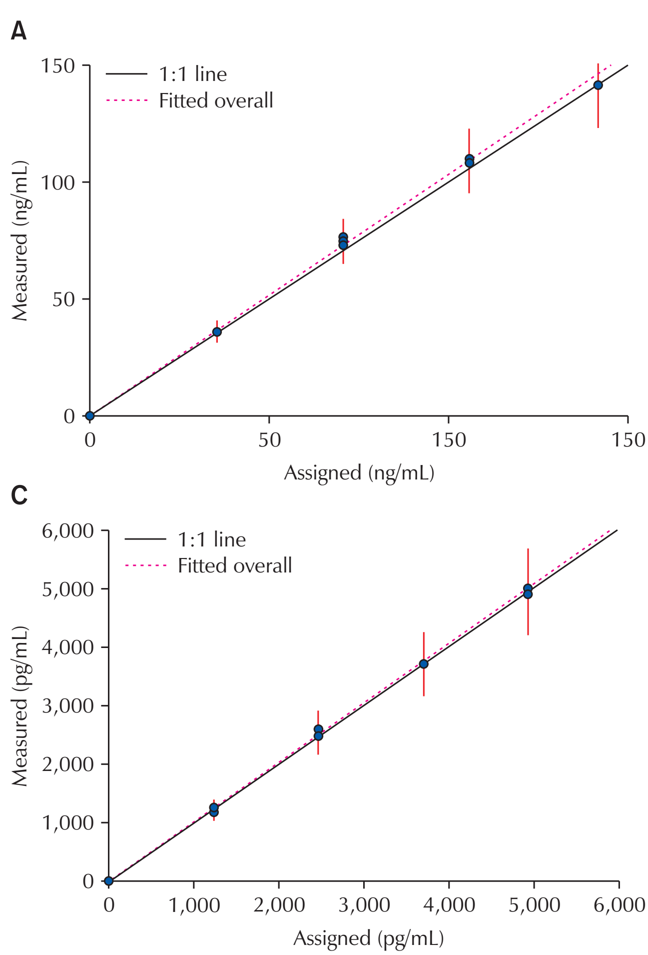
Abbreviation: PSA, prostate-specific antigen.

5. 검출한계

검출한계(detection limit)는 CLSI EP17-A2에 따라 limit of blank (LoB)와 limit of detection (LoD)을 검증하였다. LoB 검증을 위해 공백 검체를 20회 측정 후 측정값이 제조사에서 제시한 LoB (tPSA, 0.004 ng/mL; fPSA, 0.0006 ng/mL; p2PSA, 0.50 pg/mL)보다 낮은 검체의 비율이 85% (95% 신뢰구간) 미만인지 확인하였다. LoD의 검증을 위해 각 항목별로 123명의 환자 잔여 검체 중에서 가장 낮은 농도 검체를 20회 측정 후 측정값이 제조사에서 제시한 LoB보다 높은 검체의 비율이 최소 85% (95% 신뢰구간) 이상인지 확인하였다[13].

6. 상관성

상관성(comparison) 평가는 CLSI EP09-A3에 따라 기존 사용장비인 Alinity i와 평가장비인 UniCel DxI 800에 123개의 환자 검체를 이용해 tPSA, fPSA를 각각 2번씩 반복 측정하여 수행하였다[14]. p2PSA은 UniCel Dxl 800 장비에서만



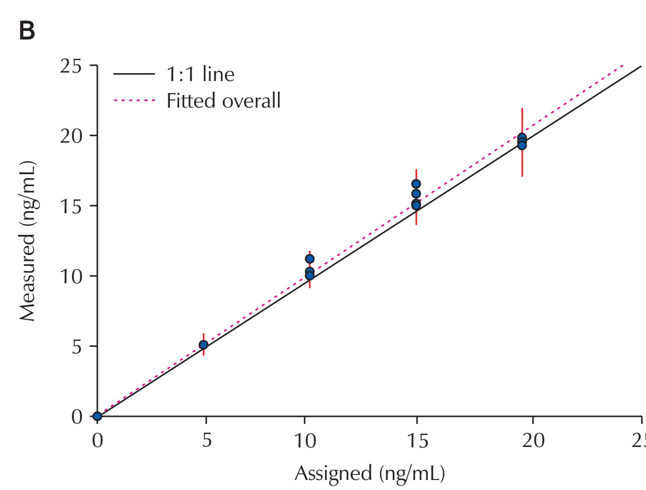


Fig. 1. Linearity of total PSA, free PSA, and [-2]proPSA measured by UniCel Dxi 800. (A) Total PSA. (B) Free PSA. (C) [-2] ProPSA. Abbreviation: PSA, prostate-specific antigen.

시행되는 검사항목이어서 Alinity i 장비와 상관성 평가를 진행하지 못했다. 장비별 측정된 값의 상관성을 알아보기 위해 Deming 회귀분석과 Bland-Altman plot을 이용하였다. 상관계수(coefficient of correlation, r)가 0.975 이상인 경우 상관성이 있다고 판단하였다.

7. 통계분석

통계분석을 위해 EP Evaluator Release 10 (David G. Rhoade, Kennett Square, PA, USA)와 Microsoft office Excel 2016 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) 소프트웨어를 이용하였다.

결과

1. 정밀도

각 검사항목별 평균, 반복정밀도 및 검사실 내 정밀도 변이계수를 Table 1에 요약하였다. tPSA의 농도별 검사실 내 정밀도 변이계수는 3.5%, 2.8%, 2.6%이었고, fPSA의 농도별 검사실 내 정밀도 변이계수는 4.2%, 3.4%, 3.2%이었고, p2PSA의 검사실 내 정밀도 변이계수는 4.7%, 4.2%, 4.3%이었다.

2. 직선성

각 검사항목별 제조사의 측정가능범위의 농도구간에서 일차 선형이었고 결정계수(coefficient of determination, R^2)는 0.99 이상으로 직선성을 나타내었다(Fig. 1).

3. 검출한계

LoB 검증을 위한 각 항목별 20개의 공백 검체의 결과치(tPSA, 0.0022 ng/mL; fPSA, 0.0000 ng/mL; p2PSA, 0.3016 pg/mL)는 모두 제조사에서 제시한 LoB보다 낮았다. LoD 검증을 위한 각 항목별 20개의 환자 검체의 결과치(tPSA, 0.0147 ng/mL; fPSA, 0.0753 ng/mL; p2PSA, 2.1855 pg/mL)는 모두 제조사에서 제시한 LoB보다 높았다.

4. 상관성

기존 장비인 Alinity i와 상관성 평가에서 tPSA와 fPSA의

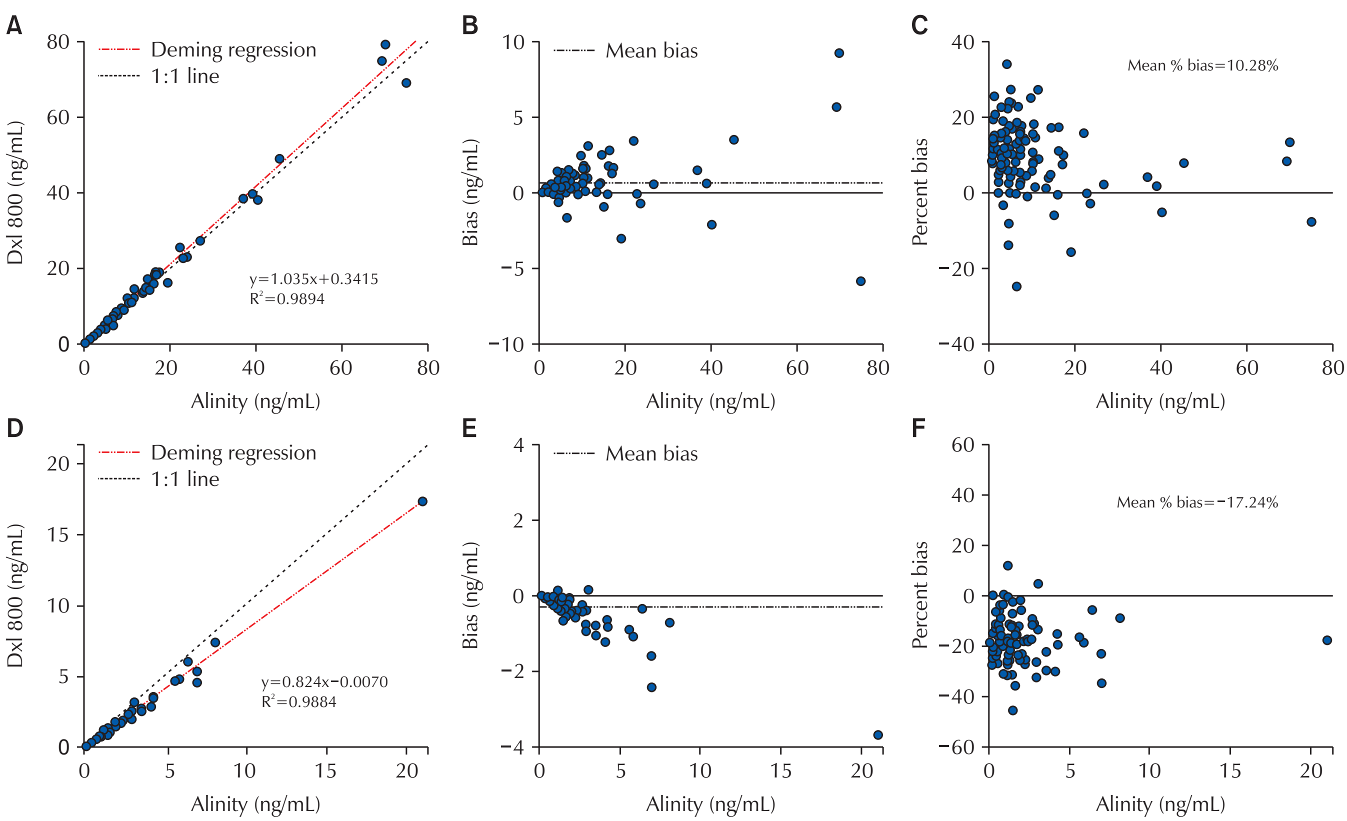


Fig. 2. Comparison of UniCel DxI 800 and Alinity i. Scatter plot, bias plot, and percent bias plot for each analyte are shown. (A–C) Total PSA. (D–F) Free PSA. Abbreviation: PSA, prostate-specific antigen.

상관계수는 각각 0.995, 0.994로 0.975 이상의 좋은 상관성을 보여주었다. 기존 장비와 UniCel DxI 800 사이에서 tPSA와 fPSA의 평균 %바이어스는 각각 10.28%, −17.24%이었다 (Fig. 2).

고찰

본 연구는 전립선암의 진단과 위험도 예측에 도움이 되는 PHI를 산출할 때 필요한 요소인 PSA, fPSA, p2PSA를 측정하여 UniCel DxI 800의 수행능을 평가하였다. 정밀도 평가에서 각 항목의 모든 농도의 검사실 내 정밀도 변이계수가 5% 미만이었다. 이는 National Academy of Clinical Biochemistry에서 권장하는 종양표지자검사의 정밀도 허용기준을 만족했다. 직선성 평가에서 측정가능범위 내에서 직선성을 확인했다. LoB와 LoD에 대한 평가에서 CLSI 지침의 조건을 만족하였다. 기존 장비인 Alinity i와 비교한 상관성 평가에서 tPSA와 fPSA는 평가기준을 만족시켰으나 UniCel DxI 800에서 tPSA는 평균 %바이어스가 10.28%로 기존 장비보다 높게 측정되고 fPSA는 평균 %바이어스가 −17.24%로 낮게 측정되는 경향을 보였다. 이는 검체 측정을 위해 각 검사장비에 사용한 보정물질(calibrator) 종류의 차이로 해석할 수 있다. 세계보건기구(World Health Organization, WHO) 보정물질을 사용할 경우 Hybritech 보정물질을 사용할 때보다 tPSA가 약 20% 낮게 측정된다고 알려져 있다[15-17]. 이번 연구에서 tPSA와 fPSA의 측정을 위해 UniCel DxI에 Hybritech 보정물질을 사용했고 Alinity i에 WHO 보정물질을 사용했기 때문에 UniCel DxI 800 장비에서 tPSA가 10.28% 낮게 측정되었을 것으로 추정된다.

혈청 PSA는 전립선의 특이적인 진단표지자로 진단이나 치료효과의 판정, 경과관찰에 이용되고 있다. 하지만 혈청 PSA는 전립선암에 특이적이지 않아 이를 대체할 수 있는 여러 검사들을 개발하고 있다. 현재까지 개발된 검사법 중에서 미국 FDA의 승인을 받은 검사법으로 PHI와 prostate cancer antigen 3 (PCA3, 또는 differential display code 3)가 있다. PCA3는 전립선암이 있을 경우 발현이 증가하는 특징이 있어 소변 검체에서 PCA3 score (ratio of PCA3 RNA to PSA RNA)를 측정하여 전립선암 진단에 이용할 수 있다[3,7,8]. 하지만 PCA3는 초기 진단보다 주로 생검결과가 음성일 경우 생검의 재검 여부를 결정하는 데 이용하고 있어 전립선암의 초기 진단을 하는 데 있어 유용성이 떨어진다[18]. PHI는 PSA나 %fPSA보다 전립선암에 대한 특이도가 높아 질병을 감별할 때 도움이 되어 불필요한 생검을 줄이고 과도한 치료로 인한 유해를 줄일 수 있다[5,19-21]. 또한 고위험도의 전립선암(Gleason score ≥7)일 경우 PHI의 수치가 증가해 치료가 반드시 필요한 환자를 놓치는 경우를 줄일 수 있다[22-25]. 한국인의 전립선암 발생률은 미국보다 낮지만 지속적으로 증가한 양상을 보였다. 또한 생검결과에서 미분화된 고위험도 양상을 보이거나 사망률이 높은 예후가 안 좋은 특성을 보인다[26,27]. 최근 한국인을 대상으로 한 연구에서 기존 결과와 같이 PHI가 전립선암의 감별과 위험도 예측에 도움이 될 수 있다는 보고가 있다[28]. 이러한 PHI의 임상적 유용성을 고려한다면 PHI 산출을 위한 tPSA, fPSA, p2PSA의 정확한 측정이 중요하다고 할 수 있다.

결론적으로, UniCel DxI 800를 이용한 tPSA, fPSA, p2PSA 측정은 우수한 정밀도와 직선성을 보였고, tPSA와 fPSA는 상관성 기준을 만족하였다. 하지만 tPSA와 fPSA는 각 검사장비에 서로 다른 보정물질의 사용으로 인한 결과값의 차이가 있기 때문에 측정방법의 일치화가 필요하다. 따라서 전립선암의 진단표지자를 측정하기 위한 임상검사실에서 UniCel DxI 800를 유용하게 사용할 수 있을 것이라 생각한다.

REFERENCES

1. Rawla P. Epidemiology of prostate cancer. World J Oncol 2019;10:63-89.
2. Jung KW, Won YJ, Kong HJ, Lee ES. Cancer statistics in Korea: incidence, mortality, survival, and prevalence in 2016. Cancer Res Treat 2019;51:417-30.
3. Romero Otero J, Garcia Gomez B, Campos Juanatey F, Touijer KA. Prostate cancer biomarkers: an update. Urol Oncol 2014;32:252-60.
4. Schroder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, et al. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. N Engl J Med 2012;366:981-90.
5. US Preventive Services Task Force, Grossman DC, Curry SJ, Owens DK, Bibbins-Domingo K, Caughey AB, et al. Screening for prostate cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. JAMA 2018;319:1901-13.
6. Thompson IM Jr, Goodman PJ, Tangen CM, Parnes HL, Minasian LM, Godley PA, et al. Long-term survival of participants in the prostate cancer prevention trial. N Engl J Med 2013;369:603-10.
7. Hatakeyama S, Yoneyama T, Tobisawa Y, Ohyama C.

Recent progress and perspectives on prostate cancer biomarkers. Int J Clin Oncol 2017;22:214-21.
8. Saini S. PSA and beyond: alternative prostate cancer biomarkers. Cell Oncol (Dordr) 2016;39:97-106.
9. Mikolajczyk SD, Catalona WJ, Evans CL, Linton HJ, Millar LS, Marker KM, et al. Proenzyme forms of prostate-specific antigen in serum improve the detection of prostate cancer. Clin Chem 2004;50:1017-25.
10. White J, Shenoy BV, Tutrone RF, Karsh LI, Saltzstein DR, Harmon WJ, et al. Clinical utility of the Prostate Health Index (PHI) for biopsy decision management in a large group urology practice setting. Prostate Cancer Prostatic Dis 2018;21:78-84.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline. 3rd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity performance of quantitative measurement procedures: a statistical approach; approved guideline: CLSI document EP06-A. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the detection capability for clinical laboratory measurement procedures; approved guideline: CLSI document EP17-A2. 2nd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples: approved guideline. 3rd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
15. Stephan C, Bangma C, Vignati G, Bartsch G, Lein M, Jung K, et al. 20-25% lower concentrations of total and free prostate-specific antigen (PSA) after calibration of PSA assays to the WHO reference materials: analysis of 1098 patients in four centers. Int J Biol Markers 2009;24:65-9.
16. Jansen FH, Roobol M, Bangma CH, van Schaik RH. Clinical impact of new prostate-specific antigen WHO standardization on biopsy rates and cancer detection. Clin Chem 2008;54:1999-2006.
17. Vignati G, Giovanelli L. Standardization of PSA measures: a reappraisal and an experience with WHO calibration of Beckman Coulter Access Hybritech total and free PSA. Int J Biol Markers 2007;22:295-301.
18. European Association of Urology. Oncology guidelines: prostate cancer. https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/ (Accessed September 10, 2019).
19. Lazzeri M, Abrate A, Lughezzani G, Gadda GM, Freschi M, Mistretta F, et al. Relationship of chronic histologic prostatic inflammation in biopsy specimens with serum isoform [-2]proPSA (p2PSA), %p2PSA, and prostate health index in men with a total prostate-specific antigen of 4-10 ng/ml and normal digital rectal examination. Urology 2014;83:606-12.
20. Lazzeri M, Haese A, Abrate A, de la Taille A, Redorta JP, McNicholas T, et al. Clinical performance of serum prostate-specific antigen isoform [-2]proPSA (p2PSA) and its derivatives, %p2PSA and the prostate health index (PHI), in men with a family history of prostate cancer: results from a multicentre European study, the PROMEtheuS project. BJU Int 2013;112:313-21.
21. Loeb S, Catalona WJ. The Prostate Health Index: a new test for the detection of prostate cancer. Ther Adv Urol 2014;6:74-7.
22. Loeb S, Sanda MG, Broyles DL, Shin SS, Bangma CH, Wei JT, et al. The prostate health index selectively identifies clinically significant prostate cancer. J Urol 2015;193:1163-9.
23. Loeb S, Shin SS, Broyles DL, Wei JT, Sanda M, Klee G, et al. Prostate Health Index improves multivariable risk prediction of aggressive prostate cancer. BJU Int 2017;120:61-8.
24. Sartori DA, Chan DW. Biomarkers in prostate cancer: what's new? Curr Opin Oncol 2014;26:259-64.
25. Veltri RW. Serum marker %[-2]proPSA and the Prostate Health Index improve diagnostic accuracy for clinically relevant prostate cancer. BJU Int 2016;117:12-3.
26. Kang DI, Chung JI, Ha HK, Min K, Yoon J, Kim W, et al. Korean prostate cancer patients have worse disease characteristics than their American counterparts. Asian Pac J Cancer Prev 2013;14:6913-7.
27. Chung E, Yang S, White L, Wood S, Nicol D. Lessons learnt in the management of primary invasive penile

cancer in an Australian tertiary referral centre: clinical outcomes with a minimum 48 months follow-up study. Korean J Urol 2015;56:125-30.
28. Park H, Lee SW, Song G, Kang TW, Jung JH, Chung HC, et al. Diagnostic performance of %[-2]proPSA and Prostate Health Index for prostate cancer: prospective, multi-institutional study. J Korean Med Sci 2018;33:e94.