

## 유리형(Free form) 전립선특이항원 측정의 임상적 의의

연세대학교 의과대학 원주의과대학\*, 이화여자대학교 의과대학 비뇨기과학교실\*\*

정병하·홍성준·성도환·마상열·송재만\*·정우식\*\*  
심봉석\*\*·최학룡\*\*·권성원\*\*

### =Abstract=

#### Clinical Significance of Measuring Free form of Prostate-Specific Antigen

Byung Ha Chung, Sung Joon Hong, Do Hwan Sung, Sang Yol Mah, Jae Mann Song\*,  
Woo Sik Chung\*\*, Bong Suk Shim\*\*, Hak Ryong Choi\*\* and Sung Won Kwon\*\*

From the Departments of Urology, Yonsei University College of Medicine, Wonju College of  
Medicine\*, Ewha Womans University\*\*, Wonju and Seoul, Korea

Prostate-specific antigen(PSA) in serum exists in several molecular forms that can be measured by immunodetectable assays; free PSA, PSA complexed to  $\alpha_1$ -antichymotrypsin and total PSA, which represents the sum of the free and complexed forms. We have determined the amount and ratio of these forms may be useful for increasing the ability of PSA to be used in distinguishing prostate cancer(PCa) from benign prostatic hyperplasia(BPH).

We evaluated 117 asymptomatic healthy male controls(mean age 55.8, range 50-71) with no clinical evidence of PCa, 125 men with symptomatic BPH(mean age 67.6, range 52-89) who underwent prostatic surgery(open prostatectomy or TURP) and 14 men with biopsy-proven, untreated PCa(mean age 71.3 range 54-86). Using ACS-PSA2 assay(Ciba-Corning), we measured the free PSA(F), total PSA(T) and free/total(F/T) ratio. The method utilized was monoclonal-polyclonal immunometric, chemiluminescent assay, using a standardized calibrator 90:10. We also performed total PSA measurement with Tandem-R PSA assay(Hybritech).

Correlation between ACS-PSA2 assay and Tandem-R PSA assay was excellent ( $r^2=0.93$ ). Receiver operating characteristics(ROC) analyses between them showed very similar performances. ROC analysis of free to total PSA ratio was more superior than that of free form PSA only. When all subjects were included, the ratio of free to total PSA in controls, BPH and PCa were 0.27, 0.24 and 0.07, respectively, which significantly differentiated between PCa and benign conditions( $p<0.01$ ). When the cut-off value (F/T) was set into 0.12, its diagnostic sensitivity and specificity were 86% and 84%, respectively.

These findings suggest that free to total PSA ratio may enhance the ability to distinguish benign histologic conditions from cancer.

**Key Words:** PSA,  $\alpha_1$ -antichymotrypsin, Free form of PSA, BPH, Prostate Cancer

### 서 론

전립선암의 선별검사중의 하나인 전립선 특이항원(Prostate Specific Antigen:PSA)의 측정은 전  
접수일자: 1996년 4월 10일

립선암을 조기에 진단하고, 치료후 효과판정이나 추적 검사에 매우 유용한 종양지표이나 전립선암에 특이하지는 않아서 전립선비대증, 전립선경색 그리고 전립선염등의 양성 전립선 질환에서도 상승될 수 있다. 즉 전립선비대증 환자의 약 40%에서 PSA의 상승이 관찰되며 전립선암의

**Table 1.** Frequency distributions of patient age at disease diagnosis, total PSA and proportion of free to total PSA by patient group

	Nomal Control No.(%)	BPH No.(%)	Cancer No.(%)
Total samples	117	125	14
Age(yr)			
50-54	58(50)	5( 4)	1( 7)
55-59	38(32)	12(10)	1( 7)
60-64	13(11)	27(21)	0( 0)
65-69	7( 6)	37(30)	3(21)
70-75	1( 1)	44(35)	9(65)
Total PSA(ng/ml)			
<4	116(99)	64(51)	0( 0)
4-10	1( 1)	38(30)	2(14)
>10	0( 0)	23(19)	12(86)
Free/Total PSA(%)			
<10	1( 1)	11( 9)	11(79)
10.1-15	8( 7)	20(16)	1( 7)
15.1-20	30(26)	23(18)	1( 7)
20.1-25	24(20)	27(20)	0( 0)
25.1-30	15(13)	34(27)	1( 7)
>30	39(33)	34(27)	0( 0)

경우에도 약 20%의 환자에서 PSA는 정상범위이다.<sup>1,3</sup> 따라서 조기 전립선암을 발견하는 종양치료로서의 민감도(sensitivity)나 특이도(specificity)가 만족스럽지 못하여 이를 개선하고자 하는 시도 즉 전립선 단위 용적에 대한 PSA농도를 이용한 PSAD<sup>4,6</sup>, 시간의 개념을 도입한 PSA Velocity<sup>7</sup> 그리고 Age specific reference range<sup>8</sup>등이 있다. 이와는 별도로 최근에 혈중에 존재하는 전립선 특이 항원에는 여러가지의 분자 형태(molecular forms)가 있음이 밝혀졌고 대표적인 것이 혈중의  $\alpha_1$ -antichymotrypsin과의 결합여부에 따라 결합형(complexed form 혹은 bound form)과 유리형(free form 혹은 unbound form)이 있다고 보고되었다.<sup>9</sup> 총 PSA(Total form)농도에 대한 유리형의 비율이 전립선비대증 환자와 전립선암 환자에서 현저히 다르며 이러한 비율의 차이에 따라서 이른바 전단의 경계선인 4-10ng/ml 인 경우에 전립선비대증과 전립선암의 구별이 용이하다는 주장이 있다.<sup>10</sup> 이에 저자들은 한국인의 전립선비대증 및 전립선암에서 혈청 PSA의 분자형태를 분리측정하고 임상적의의에 대하여 조사하고자 한다.

## 대상 및 방법

### 대상

1995년 7월부터 1995년 11월까지 연세의료원,

연세원주의과대학, 이화대학병원비뇨기과에서 혈액채취가 가능하였던 총 256명을 대상으로 하였다. 이들은 각각 정상대조군, 전립선비대증군, 전립선암군으로 구성되었다. 정상대조군은 40세 이상의 남자로 건강진단센타에 방문한 배뇨증상이 없는 117명이며 전립선비대증군은 심한 배뇨증상으로 비뇨기과에 내원하여 전립선비대증으로 진단받고 전립선에 대한 수술(경요도적 전립선 절제술 혹은 치골상부 전립선 절제술)을 시행한 125명이었다. 이들은 수술 직전에 혈액을 채취하였고 수술후 조직검사로 전립선 비대증을 확인하였다. 전립선암군은 내원전에 질병에 대하여 아무런 치료도 받지 않은 그리고 전립선 생검으로 조직학적 확진을 거친 전립선암 환자 14명이었다.

### 방법

#### 1. 유리형 PSA 및 총 PSA의 측정

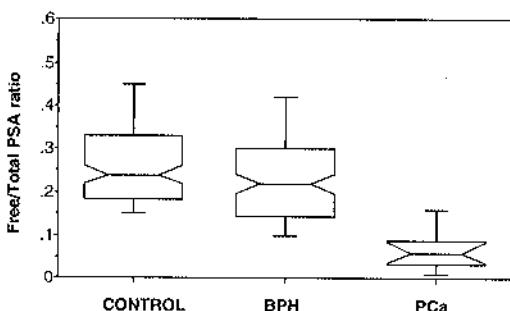
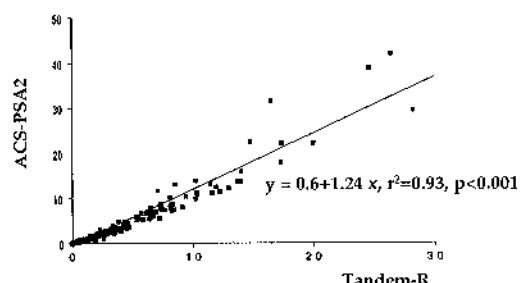
유리형 PSA의 측정은 미국 Ciba-Corning사의 ACS-PSA2 assay를 이용하였다. ACS-PSA2 assay는 monoclonal-polyclonal immunometric assay로서 chemiluminescent방법을 이용한 완전자동화 측정 방법으로 유리형 PSA와 총 PSA를 동시에 측정 할 수 있으며 사용한 측정표준물질(calibrator)로는 1994년 2nd Stanford conference에서 PSA의 immunoassay에 대한 국제표준 측정불질로 정한 90:10(90% PSA-ACT:10% Free PSA)을 이용하였다.<sup>11</sup> 또한

**Table 2.** Descriptive statistics for total PSA and proportion of free to total PSA for all subjects by patient group

	Patient Group			P value*
	Normal Control (n=117)	BPH (n=125)	Cancer (n=14)	
Total PSA (ng/ml)				
Mean	0.7	6.1	177.5	
Median	0.5	3.7	70.8	
Standard deviation	0.8	7.3	238.9	<0.01
95% CI for mean	0.6-0.9	4.8-7.4	39.5-315.4	
Free/Total PSA ratio				
Mean	0.27	0.24	0.07	
Median	0.24	0.22	0.06	
Standard deviation	0.13	0.13	0.07	<0.01
95% CI for mean	0.25-0.29	0.21-0.26	0.032-0.011	

95% CI= 95 percent confidence interval of the mean.

\* ANOVA test comparing mean values among three groups.

**Fig. 1.** Box-Whisker plot of Free/Total PSA ratio.**Fig. 2.** Plot of total PSA comparing ACS-PSA 2 assay with Tandem-R assay.

검사방법에 따른 총 PSA농도 차이를 알아 보기 위하여 동일 혈액으로 Tandem-R assay(Hybritech, U.S.A.)를 병행하여 ACS-PSA2 assay의 측정값과 비교하였다.

## 2. 검사성능(performance)의 비교

조직학적 확진을 거친 전립선비대증군과 전립선암군을 대상으로 일정한 Cut-off value 변화에 의한 민감도와 특이도를 구하여 ROC(Receiver Operating Characteristic) Curve를 구하여 비교분석하였다.

## 3. 통계처리

각군의 측정값들의 평균값과 분포 그리고 총 PSA농도에 대한 유리형 PSA의 비율등을 구하여 ANOVA를 이용한 통계학적 검증을 거쳐서 p값이 0.01이하일때 의미있는 것으로 간주 하였다.

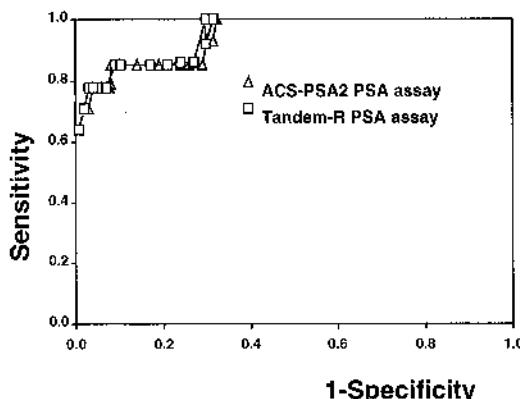
## 결 과

진단시 대상군의 나이, 총 PSA농도, 총 PSA에

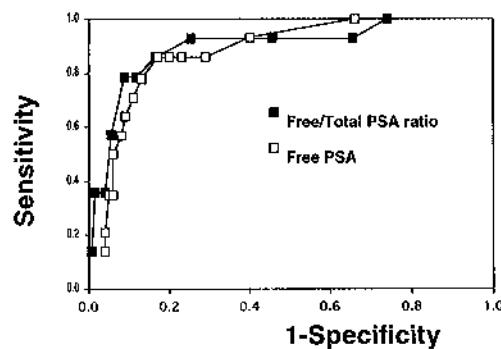
대한 유리형 PSA 비율등의 빈도분포(frequency distribution)는 Table 1. 과 같다. 대상군의 나이의 평균농도는 정상대조군이 55.8세이며 전립선비대증군 및 전립선암군은 각각 67.6세, 71.3세 였다. 대상의 총 PSA농도, 총 PSA에 대한 유리형 PSA 비율의 평균농도 등은 Table 2. 와 같다. 연구기간 중 전립선암군은 14명이었으며 혈중 PSA가 20ng/ml미만은 3례에 불과하였고 나머지 11례는 20ng/ml이상이었다. 이들중 암세포가 전립선안에 국한된 소위 organ confined group은 4명에 불과하였다.

## 1) 총 PSA농도에 대한 유리형 PSA농도의 비율

백분율로 나타낸 총 PSA에 대한 유리형의 PSA 비율은 정상대조군이 0.27, 전립선비대증군이 0.24 그리고 전립선암군은 0.07로서 통계적으로 의미있는 차이가 있었다( $p<0.01$ ). 이들의 분포를 보다 알기 쉽게 나타낸 Box-Whisker plot은 Fig. 1과 같다.



**Fig. 3.** Receiver-operating characteristic (ROC) curve analysis comparing total PSA of ACS-PSA2 assay and that of Tandem-R PSA assay based on 14 patients with prostate cancer and 117 patients with BPH. All PSA values are included.



**Fig. 4.** Receiver-operating characteristic (ROC) curve analysis comparing free PSA and free to total PSA ratio based on 14 patients with prostate cancer and 117 patients with BPH. All PSA values are included.

## 2) 측정방법에 따른 총 PSA측정값의 차이

Tandem-R assay로 측정한 총 PSA 측정값과 ACS-PSA2 assay로 측정한 총 PSA 측정값 사이에는 통계적으로 매우 유의한 상관관계가 있었다\* ( $r^2=0.93$ ,  $p<0.01$ ). 선형회귀분석(linear regression analysis)을 통하여 얻은 공식( $y=0.6+1.24x$ ,  $x$ :Tandem-R assay 측정농도)에 의하면 ACS-PSA2 assay의 측정값이 다소 높다(slope=1.24)(Fig. 2).

## 3) Receiver-operating characteristic(ROC) curve 분석

총 PSA농도에 대한 ROC curve 분석에서는 ACS-PSA2 assay와 Tandem-R assay사이에 검사성능(perfomance)의 차이는 없으며 두 검사법 모두 매우 우수한 검사성능을 보였다(Fig. 3). ACS-PSA 2로 측정된 총 PSA농도 12.2ng/ml(Tandem-R assay의 대응농도: 9.3ng/ml)로 Cut-off value로 했을 때 전립선암 진단의 민감도 85%, 특이도 84%를 나타내었다.

유리형 PSA농도에 대한 ROC curve 분석에서는 총 PSA농도에 대한 유리형 PSA의 비율이 유리형 PSA농도로만 그렸을 때 보다 다소 검사성능이 우수하였다(Fig. 4).

총 PSA농도에 대한 유리형 PSA의 비율이 0.12일 때를 Cut-off value로 하면 진단의 민감도 86%, 특이도 84%를 보였다.

## 고 칠

혈액내에 존재하는 대부분의 PSA분자는  $\alpha_1$ -antichymotrypsin과의 결합형(분자량 80-90 kd)으로 존재하며 일부가 유리형으로 존재한다.  $\alpha_1$ -antichymotrypsin은 간에서 생성되는 serine proteinase inhibitor로 염증시에 농도가 약 4배 정도 증가하며 neutrophil cathepsin G나 mast cell의 chymase에 주로 작용하는 것으로 알려져 있다.<sup>3</sup> 혈액내에서  $\alpha_1$ -antichymotrypsin과의 결합여부에 따른 PSA의 서로 다른 분자형태의 존재는 gel filtration chromatography로 증명되었으며, 결합형 PSA가 차지하는 비율이 전립선비대증과 비교하여 전립선암에서 매우 높고, PSA가 상승되었을 때 PSA분자형태의 분리측정으로 암의 구별 가능성에 대하여 처음으로 발표되었다.<sup>12</sup> 이후 Christensson등은 조직학적으로 확인된 전립선암 66명, 전립선비대증 135명을 대상으로 한 연구에서 상기의 결과를 확인하였으며 또한 총 PSA에 대한 유리형 PSA의 비율이 전립선비대증군에서 0.28 전립선암군에서는 0.15로 의미있게 낮다고 발표하였다. 또한 총 PSA에 대한 유리형 PSA의 비율(Free/Total PSA ratio)의 Cut-off value를 0.18로 하였을 때 총 PSA 측정농도를 기준으로 한 경우 보다도 진단적 특이도가 약 20% 향상되었다고 보고하여 PSA가 상승되었을 때 전립선비대증과 전립선암을 쉽고 정확하게 구별할 수 있다고 발표하였다.<sup>10</sup>

본 연구에서 Free/Total PSA ratio가 정상대조군에서 0.27, 전립선비대증의 경우 0.24, 전립선

암 0.07로 통계학적으로 매우 유의한 차이를 나타내었다. Christensson의 결과와 비교하면 전립선암의 경우에 상당히 낮은 결과를 보였는데 이는 아마도 전립선암군의 숫자가 너무 적고 대부분의 경우가 진행된 경우이기 때문인 것으로 생각된다. 아직까지 진행된 암과 국한된 전립선암 사이에 Free/Total PSA ratio의 차이가 보인다는 보고는 없다. 하지만 비록 본 연구의 대상이 매우 적지만 전립선암군 14명중 4례만이 이른바 암세포가 전립선내에 국한된 경우였으며 이들의 평균은 0.12로서 Christensson의 결과와 근접한 결과를 보였다. 또한 Luderer등<sup>13</sup>의 연구결과인 정상대조군에서 0.26, 전립선비대증군에서 0.23 그리고 전립선암군에서 0.13과 비교하면 저자들의 결과와 아주 흡사함을 알 수 있다. 즉 정상대조군 및 전립선비대증등의 양성 전립선 질환 때는 Free/Total PSA ratio가 약 0.2이상이며 전립선암에서 약 0.15이하임을 알 수 있다. 어쨌든 이러한 결과는 유리형 PSA측정으로 전립선암과 전립선비대증의 구별 가능성이 있다는 것을 시사한다.

그러나 전립선비대증에서 유리형 PSA의 비율이 높은 이유에 대해서는 아직까지 확실한 설명은 없다. Lilja등은 전립선암 세포가 PSA뿐만 아니라  $\alpha_1$ -antichymotrypsin를 생성하는 반면 전립선비대증세포에서는  $\alpha_1$ -antichymotrypsin이 결여되어 있어 유리형 PSA가  $\alpha_1$ -antichymotrypsin과 결합할 수 있는 기회가 적고 혈액내로 유리형 PSA가 쉽게 들어갈 수 있기 때문이라고 설명하고 있지만 간에서 생성된  $\alpha_1$ -antichymotrypsin과 전립선비대증세포에서 유래한 PSA와 쉽게 결합하는 이유에 대해서는 확실한 설명은 없다.<sup>9</sup>

한편 측정방법에 따른 총 PSA 측정값차이를 규명하기 위한 실험에서는 동일한 측정표준물질(calibrator)을 90:10(90% PSA-ACT:10% Free PSA)로 사용한 결과 ACS-PSA2 PSA assay의 측정값이 Tandem-R PSA assay로 측정한 값보다 약 1.24배 정도 높고 아주 높은 상관관계를 보여 두 검사법의 측정값사이에 큰 차이가 없음을 증명하였다. 실제로 측정표준물질을 국제표준으로 90:10으로 정한 후 각 측정법간의 차이가 거의 없음이 보고되고 있다.<sup>11</sup>

전립선비대증, 전립선암군은 모두 조직학적 확진이 되었으므로 진단검사법의 성능을 알기 위한 ROC(Receiver Operating Characteristic) curve분석

을 시도하였다. ROC curve는 Cut-off value를 변화시켰을 때 각각의 민감도와 특이도의 변화를 그래프화한 것으로 그레프가 좌측 상단으로 수렴될 수록 검사성능이 우수한 것을 나타내는 것이다. 즉 curve이하의 면적이 1.0이면 아주 완벽한 검사(민감도 100%, 특이도 100%)이며 면적이 0.5이면 검사로서 가치가 없음을 나타낸다. 본 연구의 결과는 총 PSA만으로 분석한 결과와 F/T ratio로 분석한 결과와 별다른 차이가 없었다. 그 이유는 우선 전립선 암군의 대상 수가 너무 적고 이들의 총 PSA농도가 너무 높아서 이 농도만으로도 쉽게 암이 있음을 알 수 있어 본래의 의도인 이른바 진단의 경계선 4-10ng/ml의 진단적 민감도나 특이도를 직접 비교하는 것은 무리가 있다고 하겠다. 또한 유리형 PSA로 분석한 것보다는 Free/Total PSA ratio로 분석한 결과가 약간 좋은 결과를 나타내었으나 큰 차이를 보이지는 않았다. 물론 총 PSA농도가 증가함에 따라 유리형 PSA농도도 증가하는 테 앞에서 기술한 바와 같이 전립선암군의 PSA농도가 너무 높고 대상의 수가 작아서 큰 의미를 부여할 수는 없다고 하겠다. Free/Total PSA ratio 0.12를 cut-off value로 하였을 때 민감도가 86%, 특이도가 84%로서 이 자체 만으로도 상당히 우수한 진단검사법임을 알 수 있다.

따라서  $\alpha_1$ -antichymotrypsin과의 결합여부에 따른 유리형 PSA의 측정은 현재 널리 시행하고 있는 총 PSA검사(total)의 제한점을 극복할 수 있는 또 하나의 새로운 시도로서 의미가 있다고 생각되며 향후 PSA가 4-10ng/ml인 전립선암을 대상으로 보완연구가 계속된다면 소위 전립선암에 국한된 전립선암 즉 완치가 가능한 전립선암의 초기발견에 큰 봇을 담당하리라고 예상된다. 이외에도 혈액내의 다른 serine proteinase inhibitor인  $\alpha_2$ -macroglobulin과 PSA의 결합여부에 대한 연구결과<sup>14</sup>가 발표되고 있어 이에 대한 연구도 시도해야 할 것이다.

## 결 론

본 연구에서는 혈액내의  $\alpha_1$ -antichymotrypsin과의 결합여부에 따른 PSA의 문자형태증에서 유리형 PSA의 측정을 ACS-PSA2 assay로 측정하였다. Free/Total PSA ratio가 전립선비대증 0.24 전립선암의 경우 0.07였다. cut-off value를 0.12로 하였을 때 진단의 민감도 86%, 특이도가 84%였다.

따라서 이러한 유리형 PSA의 측정은 PSA검사법의 제한점을 극복할 수 있는 또 하나의 새로운 시도로서 의미가 있으며 향후 PSA가 4-10ng/ml인 전립선암을 대상으로 한 보완연구가 계속되어야 할 것이다.

#### 감사의 말씀

본 연구의 진행에 도움을 주신 일양약품(주)에 감사를 드립니다.

#### 참고문헌

1. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS. Prostate-specific antigen as a serum marker for a adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med* 1987; 317: 909-16.
2. Armitage TG, Cooper EH, Newling DW, Robinson MR, Appleyard I. The value of the measurement of serum prostate specific antigen in patients with benign prostatic hyperplasia and untreated prostate cancer. *Br J Urol* 1988; 62: 584-9.
3. Hudson MA, Bahnsen RR, Catalona WJ. Clinical use of prostate specific antigen in patients with prostate cancer. *J Urol* 1989; 142: 1011-7.
4. Andriole GL, Telle GB, Coplen DE, Catalona WJ. PSA index(PSAI) as a predictor of prostate cancer (CaP) in men with persistent PSA elevation. *J Urol* 1992; 147: 387A.
5. Benson MC, Whang IS, Olsson CA, McMahon DJ, Cooner WH. The use of prostate specific antigen density(PSAD) to enhance the predictive value of intermediate levels of serum prostate specific antigen. *J Urol* 1992; 147: 817- 21.
6. Benson MC, Whang IS, Pantuck A, Ring K, Kaplan SA, Olsson CA, et al. Prostate specific antigen density: A means of distinguishing BPH and prostate cancer. *J Urol* 1992; 147: 815-6.
7. Carter HB, Pearson JD, Metter EJ, Brant LJ, Cahn DW, Andres R, et al. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA* 1992; 267: 2215-20.
8. Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, Guess HA, Girman CJ, Panser LA, et al. Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men: Establishment of age-specific reference ranges. *JAMA* 1993; 270: 860-4.
9. Lilja H, Christensson A, Dahlen U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K, et al. Prostate-specific antigen in human serum occurs predominantly in complex with  $\alpha_1$ -antichymotrypsin. *Clin Chem* 1991; 37: 1618-25.
10. Christensson A, Bjoerk T, Nilsson O, Dahlen U, Matikainen MT, Cockett ABK, et al. Serum prostate-specific antigen complexed to  $\alpha_1$ -antichymotrypsin as an indicator of prostate cancer. *J Urol* 1993; 150: 100-5.
11. Stamey TA. Second Stanford conference on international standardization of prostate-specific antigen immunoassays: September 1 and 2, 1994. *Urology* 1995; 45: 173-84.
12. Stenman UH, Leionen J, Alftahan H, Ranniko S, Tuukanen, Alftahan O. A complex between prostate-specific antigen and  $\alpha_1$ -antichymotrypsin is major form of prostate-specific antigen in serum of patients with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 222-6.
13. Luderer AA, Chen YT, Soriano TE, Kramp WJ, Carlson G, Cuny C, et al. Measurement of the proportion of free to total prostate-specific antigen improves diagnostic performance of prostate-specific antigen in the diagnostic gray zone of total prostate-specific antigen. *Urology* 1995; 46: 187-94.
14. Zhou AM, Tewari PC, Bluestein BI, Caldwell GW, Larsen FL. Multiple forms of prostate-specific antigen in serum: differences in immuno-recognition by monoclonal and polyclonal assays. *Clin Chem* 1993; 39: 2483-91.