

この電子化された添付文書をよく読んでから使用して下さい。

＊ ＊ 令和 7 年 12 月改訂（第 15 版）

＊ ＊ 令和 6 年 5 月改訂（第 14 版）

体外診断用医薬品

日本標準商品分類番号：87746

承認番号：21600AMY00129000

組織検査用腫瘍マーカーキット

ダコ HercepTest II

重要な基本的注意事項

- （１）本電子添文に記載された使用方法及び使用目的以外の使用については、染色結果の信頼性を保証できないので、記載内容に従って使用すること。各施設独自の検体組織作製法や操作方法により本品を使用すると、HER2 過剰発現患者の選別・判定が正確に行うことができないおそれがある。
- （２）正確な検出結果を得るために、キットに含まれる抗原賦活液による温浴槽での抗原賦活処理を必ず行うこと。他の種類の抗原賦活液や他の操作法による熱処理は、検出結果の再現性を損なう恐れがあるので、本電子添文に示した操作法を必ず守ること。
- （３）パラフィン包埋ブロックを薄切後、検体組織スライドを乾燥させる際は、乾燥条件を遵守すること。特に乾燥温度が 60℃以上の状態で長時間の乾燥は、非特異反応や偽陰性結果の原因となる恐れがあるので十分注意すること。
- （４）免疫組織化学染色は、染色前の病理組織切片の取扱いや作製法が、染色結果に大きく影響する。病理組織切片の不適切な作製過程（固定が不十分である、或いは過度の固定等）、凍結、融解、洗浄、乾燥、加熱、薄切、また、他の病理組織や試薬とのコンタミネーションは非特異反応や偽陽性・偽陰性結果の原因となる恐れがあるので、十分注意すること。そのため最適試薬の選択、検体組織の選別・固定・作製、検体組織スライドの作製から染色結果の判定に至るまで、熟練した者が行うこと。
- （５）標本作製の情報が無い検体や、やむをえず固定が適切でない検体を検査に使用する場合、その染色結果の解釈には十分注意し実施する必要がある。
- （６）染色結果の判定に際しては、適切な判定を行える十分な経験を持った判定者が実施すること。予め複数の判定者間において、各スコアごとの染色パターン、染色強度を確認しておくことが望ましい。

全般的な注意

- （１）本製品は、体外診断用医薬品でありそれ以外の目的に使用しないこと。
- （２）検出結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果、最新の所見等と併せて、担当医師が総合的に判断すること。
- （３）キットのコントロールスライドのセルラインについては、HBs 抗原、HIV-1 及び HCV の確認試験を行い、陰性の結果を得ているが、感染の危険性があるものとして、検体と同様に十分に注意をして取り扱うこと。

＊ 形状・構造等（キットの構成）

構成試薬名	成分	容量	
		Code No. SK001	Code No. S3006 (別売)
ブロッキング試薬	過酸化水素水	22mL × 1	—
一次抗体	抗ヒト HER2/neu・ウサギポリクローナル抗体	12mL × 1	—
ポリマー試薬	パーオキシダーゼ標識デキストラン 70 結合抗ウサギイムノグロブリン・ヤギポリクローナル抗体	22mL × 1	—
	パーオキシダーゼ標識デキストラン 500 結合抗ウサギイムノグロブリン・ヤギポリクローナル抗体		
一次抗体陰性コントロール	正常ウサギイムノグロブリン	10mL × 1	—
基質緩衝液	イミダゾール緩衝液	22mL × 2	—
	過酸化水素水		
発色基質	3,3'-ジアミノベンジジンテトラヒドロクロライド	1mL × 1	—
濃縮抗原賦活液	クエン酸緩衝液	500mL × 3	—
濃縮洗浄液	トリス塩酸緩衝液	—	1L × 1
コントロールスライド	ホルマリン固定パラフィン包埋された次の三種の乳がんセルラインを貼り付けたスライド MDA-231(HER2 タンパク発現量：0)／1 細胞あたりの HER2 タンパク数 21,600±6,700 MDA-175(HER2 タンパク発現量：1+)／1 細胞あたりの HER2 タンパク数 92,400±12,000 SK-BR-3(HER2 タンパク発現量：3+)／1 細胞あたりの HER2 タンパク数 2,390,000±130,000	5 枚 × 2	—

使用目的

組織・細胞中の HER2/neu 遺伝子産物の検出（悪性腫瘍の診断補助等）

測定原理

- （１）検出方法の概要
本品は、通常の病理検査室において通常診断に供与されているホルマリン固定パラフィン包埋した病理組織標本を用いて、乳癌及び胃癌の腫瘍細胞に HER2 タンパクの過剰発現が認められるか否かを判定する際に用いられる。その際の検出方法として、免疫組織化学的手法を用いている。
- （２）検出原理（免疫組織化学的手法）
検体中の HER2 タンパク抗原に対し、特異的な一次抗体（抗ヒト HER2/neu・ウサギポリクローナル抗体）を反応させる。次にポリマー試薬を反応させる事により、ポリマー試薬中の抗ウサギイムノグロブリン・ヤギポリクローナル抗体が一次抗体と反応する。さらに、デキストランの分子を介して、パーオキシダーゼが結びつき、＜抗原ー一次抗体ー抗ウサギイムノグロブリン・ヤギポリクローナル抗体ーパーオキシダーゼ＞複合体が形成される。最終的にパーオキシダーゼの酵素反応によって、抗原部位に色素が生成され、抗原部位が染色される。染色により可視化された抗原部位を光学顕微鏡にて観察する。
- （３）特徴
 - ① 発色系の酵素として、最も一般的なパーオキシダーゼを使用している。
 - ② 酵素抗体反応を利用した 3 ステップの簡便な病理組織化学染色法である。

操作上の注意

- （１）病理組織は出来るだけ新鮮なものを使用すること。
- （２）検体組織は、「用法・用量（操作方法） 2.検体の取扱い」で指示された条件下、ホルマリン固定液で固定したパラフィン包埋病理組織を使用すること。ホルマリン固定液としては、10vol%中性緩衝ホルマリンが望ましい。
- ＊（３）不適切な固定、更にパラフィン包埋までの一連の操作により、ポリマー試薬の浸透力が低下し反応性が低下する場合がある。免疫染色に適した病理組織標本の作製法に留意すること。
- （４）検体組織を貼付するスライドは、抗原賦活処理により組織切片がスライドガラスから剥がれやすくなる恐れがあるので、適切にコーティングされたスライドガラスを使用すること。アルブミンスライドの使用は避けること。
- （５）検体組織スライドは 20～25℃で保存し、作製後 4～6 週間以内に染色操作を行うこと。一般的にこの期間を越えた検体組織をスライドとして用いると、切片中の HER2 タンパクが変性し抗原性が劣化して、偽陰性染色を起こす場合があるので使用しないこと。⁽²⁾
- （６）パラフィンの残留はバックグラウンド染色の原因となるので、完全に除去した後に染色操作を行うこと。そのため、脱パラフィンに用いるキシレン及びエタノールは、新しいものを使用すること。
- ＊（７）本品中のコントロールスライド、陽性及び陰性対照のコントロールスライドを組織検体スライドと並行して染色を進行させ、染色操作が適切に行われていることを確認すること。
- （８）マイクロウェーブやオートクレーブ処理など強度の異なる賦活法は、染色結果に影響を与えるため、抗原賦活処理には温浴槽を使用すること。
- （９）抗原賦活処理に使用する温浴槽や、薄切後の乾燥に使用する恒温槽等の機器は必ず校正をして使用すること。
- ＊（１０）抗原賦活液は、加熱によって白濁を生じて来る。抗原賦活液は再使用しないこと。
- ＊＊（１１）染色操作は 20～25℃で行うこと。
- ＊（１２）反応の際には、検体組織が乾かないように注意すること。
- （１３）染色中に沈殿を生じることがあっても、染色には影響を及ぼすことはないので、取り除く必要はない。
- ＊＊（１４）脱パラフィン前の標本に過度の加熱処理を行うと、染色不良を引き起こす場合がある。20～25℃での 12 時間（または乾燥するまで）処理、37℃で一晩処理、60℃での 1 時間処理のいずれかを推奨。60℃で 1 時間を超えて過剰に加熱すると、免疫反応性が低下するおそれがあるため注意すること。
- （１５）人為的に生じる染色性の低下及び偏った染色を防ぐために、余分な水分を除去し、試薬を均一に広げるように注意すること。
- （１６）検体組織に含まれる多量の内因性パーオキシダーゼにより、そのブロッキングが不十分な場合、非特異的な発色をおこすことがある。また、キット中の基質溶液調製時に余分なアジ化ナトリウムを添加する事により、発色基質（3,3'-ジアミノベンジジンテトラヒドロクロライド）の発色反応が阻害される。^(3,4)
- ＊＊（１７）水溶性封入剤で封入した場合、カバーガラスをかけた検体組織スライドを強い光に 1 週間以上さらすと、曇りが生じることがある。染色後のスライドは 20～25℃で遮光保存すること。

用法・用量（操作方法）

1.必要な器具及び試薬

＊＊《器具》

- ・洗浄ビン
- ・タイマー
- ・染色ドレー
- ・噴射ビン
- ・カバーガラス
- ・スライドガラス（適切にコーティングされたもの）
- ・温浴槽（95～99℃に加熱できるもの）或いは PT Link（Code No. PT100 又は PT200）
- ・乾燥器
- ・光学顕微鏡
- ・ダコ Autostainer Link 48（自動染色装置）Code No. AS480

《試薬》

■脱パラフィン用

- （１）キシレン（JIS K8271）
- （２）100％、95％、80％、70％、50％、各エタノール

■その他

- ＊（１）Dako Wash Buffer Code No.S3006
- （２）精製水
- ＊（３）対比染色液
ヘマトキシリン Code No.SK308
- （４）封入剤
非水溶性の永久標本用封入剤（例：エンテランニュー／マリノール）が望ましい。

《検体組織スライド》

次の目的に最低 5 枚の検体組織スライドを作製することが望ましい。

- ① H&E 染色用（腫瘍細胞の確認）：1 枚
- ② HER2 タンパク検出用：1 枚
- ③ 一次抗体陰性コントロール用：1 枚
- ④ 予備：2 枚

＊＊《コントロールスライド》

本キットのコントロールスライドを必ず用いる。

＊ ■陽性対照のコントロールスライド

陽性対照のコントロールスライドとして、検体組織スライドと同じ方法で作製され、あらかじめ HER2 タンパク陽性であることが確認されている病理組織標本の切片スライドを用意する。HER2 タンパク発現量 2+程度の病理組織標本が望ましい。

■陰性対照のコントロールスライド

陰性対照のコントロールスライドとして、検体組織スライドと同じ方法で作製され、あらかじめ HER2 タンパク陰性であることが確認されている病理組織標本の切片スライドを用意する。

2.検体の取扱い

＊＊《パラフィン包埋切片の作製法》

＊ 病理組織片は、採取後ただちに、組織切片の 5～50 倍量の 10vol%中性緩衝ホルマリン固定液に浸す。この際、10vol%中性緩衝ホルマリン固定液に浸漬する時間は 24～48 時間以内が望ましい（(7)(8)ToGA 試験、参照）。不適切な固定をした症例に関しては、染色結果に影響がある場合が考えられる。また、アルコール／ホルマリン混液やその他の固定液の使用は、結果に著しい影響を与えるため使用しないこと。上記方法にて固定後、70vol%エタノールに浸す。それを順次高濃度となる系列のエタノールに浸して脱水し、更にキシレンに浸して脱アルコールした後パラフィン包埋する。包埋の際には温度が 60℃を超えないよう注意する。適切な方法で固定及び包埋した薄切前の病理組織ブロックは、20～25℃での長期間保存が可能であり、HER2 タンパクの抗原性は良好に保持される。

＊《標本の作製》

検体組織スライド、陽性対照のコントロールスライド、陰性対照のコントロールスライドは同時に作製すると。パラフィン包埋ブロックはマイクロームで 4～5 μm に薄切し、スライドガラスに貼り付け、適切な温度に設定した恒温槽内で十分に乾燥させる。組織切片作製後は抗原性保持のため 20～25℃で保管し、遅くとも 4～6 週間以内に染色を実施すること。

＊＊《脱パラフィン処理》

染色操作の直前に、20～25℃で脱パラフィン処理、親水処理を用手法で行う。検体組織スライドを以下の様に順に各液に浸す。
キシレン（100vol%）5 分→キシレン（100vol%）5 分→キシレン（100vol%）5 分→エタノール（100vol%）3 分→エタノール（100vol%）3 分→エタノール（95vol%）3 分→エタノール（80vol%）3 分→エタノール（70vol%）3 分→エタノール（50vol%）3 分→精製水 3 分→精製水 3 分

キシレン及びエタノールは、スライド 40 枚ごとに交換すること。なお、トルエン及びキシレンの代替製品（Histoclear など）も使用できる。

＊＊3. 試薬の調製法、安定性

試薬は使用前に 20～25℃にもどすこと。

試薬は最適結果が得られるように至適濃度に調製されているので、使用の際は以下（１）～（３）以外の希釈をしないこと。

＊（１）基質溶液の調製法

基質緩衝液 1mL に対して、発色基質 25 μL を加えて混合する。調製後の基質溶液は、2～8℃で保存し 5 日以内に使用する。

＊＊（２）抗原賦活液の調製法

＊

濃縮抗原賦活液を精製水で 10 倍希釈し、抗原賦活液とする。調製後の抗原賦活液は 20～25℃保存で 1 週間または、2～8℃保存で 1 ヶ月間安定である。保存中、抗原賦活液が混濁した場合は使用せず廃棄する。抗原賦活液は再使用しないこと。PT Link 又は恒温槽に入れたスライド上の組織が完全に浸る容量を調製する。PT Link を用いる場合は、濃縮抗原賦活液 150mL を精製水 1.35L で調製する。恒温槽を用いる場合は、スライド上の組織が浸る適切な量を調製する。

＊＊（３）洗浄液の調製法

＊

濃縮洗浄液を精製水で 10 倍希釈し洗浄液とする。調製後の洗浄液は 20～25℃保存で 1 週間または、2～8℃保存で 1 ヶ月間安定である。保存中、洗浄液が混濁した場合は使用せず廃棄する。染色に必要な洗浄液の容量は、Dako Link ソフトウェアにより染色開始前に推計される。

（４）その他の試薬

その他の試薬はそのまま用いる。

4. 染色操作

＊《染色方法》

必ず本キットのコントロールスライド、陽性及び陰性対照のスライドを検体組織スライドと並行して染色操作を進行させること。

＊＊《抗原賦活処理》

抗原賦活処理は、PT Link（自動）もしくは恒温槽（用手法）で行うことができる。■温浴槽を用いた場合

（１）抗原賦活液を染色ドレーに入れ、温浴槽で抗原賦活液が 95～99℃に達するまで温める。

（２）染色ドレーに検体組織スライドを浸漬し、抗原賦活液の温度を 95～99℃に保ちながら、40 分間反応させる。

＊＊（３）染色ドレーを温浴槽から取り出し、検体組織スライドを浸漬したまま 20～25℃で 20 分間放置する。

＊

（４）検体組織スライドを抗原賦活液から取り出し、流水にて約 3 分間静かにすすいだ後、過剰水分を払い落とし、洗浄液中に 5～20 分間浸漬する。

（５）抗原賦活処理後は速やかに染色操作に進むこと。

■PT Link を用いた場合

使用に当たっては PT Link の操作マニュアルも参照すること。

- (１) PT Link を PREHEAT モード、予熱温度を 85℃、抗原賦活インキュベーション時間および温度を 97℃/40 分間に設定する。
- (２) 抗原賦活液を PT Link のタンク内に入れ、PT Link の[Preheat]ボタンを押して予熱を開始する。
- (３) PT Link が 85℃に達していることを確認し、Autostainer 専用スライドラックに検体組織スライドをセットし、PT Link タンク内に浸漬後、[Start]ボタンを押して抗原賦活インキュベーションを開始する。
- ＊ (４) 処理終了後、85℃に下がるまで検体組織スライドを PT Link 中に放置する。PT Link からタンクごと取り出し、タンク蓋を開けて 10 分間、20～25℃で放置する。適切な容器または予備のタンクに入れた 20～25℃ の洗浄液中に 5～20 分間浸漬する。
- (５) 抗原賦活処理後は速やかに染色操作に進むこと。

＊＊《自動染色装置による操作法》

本品はダコ Autostainer Link 48 用に最適化されている。ダコ Autostainer Link 48 を使用する際は、機器の添付文書や取扱説明書を良く読んでから使用すること。

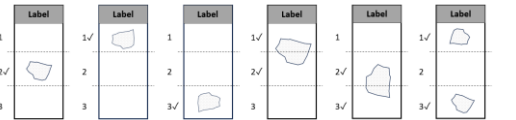
歪んでいるスライドラックの使用により過剰な非特異染色の恐れがあるため、水平なスライドラックのみ使用する。

染色操作を開始する前に、スライドラックが水平であることを確認すること。水平でないものや歪んでいるものは、構成試薬が不均一に分布したり、組織標本から離れたスライドガラス上で不適当に滞留の原因となり、組織検体が乾燥するリスクが高まり、一次抗体や一次抗体陰性コントロールで染色した検体スライドで非特異染色が現れる可能性がある。

3 カ月毎、自動染色装置の移動時や調整時には、全ての Autostainer スライドラックのそれぞれのスライド位置の水平を、乾燥した未処理スライドを用いて確認すること。いずれかのスライド位置で水平でないことが確認されたものや PT-Link による検体前処理を 175 回以上行ったものは廃棄すること。

正しい滴下ゾーン設定が選択されていることを確認すること。

滴下ゾーンの位置は、スライド中央の 1 x 200 μL (滴下ゾーン2、下図参照) に設定されている。滴下ゾーンの位置と数は変更できる。選択する滴下ゾーンは、組織のサイズとスライド上の位置に対応させる必要がある。滴下ゾーン設定の詳細については、機器の取扱説明書を参照すること。



キットあたりのテスト数は、抗原賦活液を除く各構成試薬をスライド 1 枚あたり 1 x 200 μL 使用した場合に基づいている。22 mm x 22 mm を超える組織切片、または 2 つの滴下ゾーン領域にまたがる組織切片の場合は、スライド 1 枚あたり 2 つの滴下ゾーン (2 x 200 μL) を使用する。これにより、キットあたりのテスト数が少なくなる。

- ＊＊ (１) 検体組織スライド、ブロッキング試薬、一次抗体、一次抗体陰性コントロール、ポリマー試薬、基質溶液、精製水、洗浄液を機器の所定位置に設置する。スライドが染色工程中に乾燥しないよう、機器のカバーが閉まっていることを確認すること。
- ＊ (２) 全ての染色工程と反応時間は、以下のとおり Dako Link ソフトウェアに予め設定されている。本品のプログラムがインストールされていない場合は、問い合わせ先に連絡すること。各試薬は、200 μL/滴下ゾーンで設定される。
- ①ブロッキング試薬：5 分
- ②洗浄液：5 分
- ③一次抗体：30 分
- ③'一次抗体陰性コントロール：30 分
- ④洗浄液：5 分 2 回
- ⑤ポリマー試薬：30 分
- ⑥洗浄液：5 分 2 回
- ⑦基質溶液：10 分
- ⑧精製水または洗浄液：5 分 2 回
- ⑨対比染色液：1～5 分
- ⑩流水にて 3 分間静かに洗浄する。
- (３) 自動染色装置の操作法に従って操作する。

＊＊ 《対比染色》

ヘマトキシリン (Code No.SK308) により対比染色を行う。対比染色操作は、Dako Link ソフトウェアのプロトコルに含まれているが、ユーザーにより編集可能である。推奨する方法以外はユーザー自身により検証を行うこと。ダコ Autostainer Link 48 を使用する際は、機器の添付文書や取扱説明書を良く読んでから使用すること。

《脱水・透徹・封入》

- (１) 使用する封入剤の種類により、必要に応じて検体組織スライドを以下のように順に各液に浸漬する。
- 流水水洗 1 分→精製水 1 分→エタノール (50vol%) 3 分→エタノール (70vol%)

- 3 分→エタノール (80vol%) 3 分→エタノール (95vol%) 3 分→エタノール (100vol%) 3 分→エタノール (100vol%) 3 分→エタノール (100vol%) 3 分→キシレン (100vol%) 3 分→キシレン (100vol%) 3 分→キシレン (100vol%) 3 分
- (２) 封入剤で封入し、カバーガラスをかける。

＊＊ 測定結果の判定法

①検出結果の判定法

検体組織中に HER2 タンパクが検出される場合、陽性シグナルは一次抗体が反応した標的細胞 (乳癌及び胃癌細胞) の膜及び細胞質に認められ、茶褐色を呈する。検体組織中の HER2 タンパクの発現量の判定は、以下の基準に従って実施する。

■判定対象検体組織スライドの染色性

- 腫瘍細胞が HER2 タンパクを発現していれば、腫瘍細胞の膜に一致して褐色の反応性が認められる。この染色強度を下記判定基準により、以下の手順で判定すること。
- 陽性および陰性対照のコントロールスライドの特異染色性及び染色強度を観察し、染色手順及び構成試薬の性能を確認する。
 - 陽性所見を示す検体組織スライドを選択し、HER2 タンパク染色像を確認する。
 - 乳癌検体の場合、浸潤性乳癌細胞の陽性所見のみを検索対象とする。
 - 胃癌検体の場合、胃および胃食道接合部の腺癌を検索対象とする。
 - 胃癌検体において、高度な不均一性が認められる時は、2 つ以上の病理組織ブロックを用いて検査を行うことが推奨されている。
 - まず、光学顕微鏡の 4 倍対物レンズを使用して、検体組織内の癌細胞の HER2 タンパク陽性染色像、陽性染色の強度、陽性細胞率を観察する。
 - 次に対物レンズを 10 倍に切り替え、陽性所見が細胞膜か細胞質に局在するかを検索する。細胞質のみに陽性所見が見られるものは陰性と判定する。
 - ほとんどの検体組織において、対物レンズ 10 倍で細胞膜に局在する陽性像が確認できるが、陽性像が確認出来ない場合は、さらに対物レンズ 20 倍で検索する。(別冊「ダコ HercepTest II 結果判定マニュアル - 胃癌」参照)

＜判定基準＞

HER2 タンパク過剰発現の有無については、学会等から出される最新の HER2 検査ガイドラインなどに従って判定を行うこと。

- 各染色を実施した際、下記に示す順序で染色結果の妥当性を決定すること。
- 本品中のコントロールスライドの染色性
- 各施設で HER2 タンパク発現量の絶対基準が確定するまでは、キットの構成試薬のコントロールスライドを校正用標準スライドとし、必ず同時に染色して判定の参考にすること。
- SK-BR-3 細胞では細胞膜全周に強い褐色の染色性 (3+) が、MDA-175 細胞においては細胞膜の一部に弱い反応性 (1+) が認められ、MDA-231 細胞ではなんら免疫反応性が認められないこと。
- MDA-231 細胞において、褐色の反応性が認められる場合、この染色は非特異反応であり、これらの染色標本は診断に適さない。
- 陽性対照のコントロールスライドの染色性
- 腫瘍細胞の膜に褐色の免疫反応が認められること。
- 陰性対照のコントロールスライドの染色性
- 本品の構成試薬の成分が交差反応により起こしうる反応性を除外するために、HER2 タンパクが発現していないと確認されている病理組織標本で陰性であることを確認する。この切片で褐色の反応性が認められる場合、この染色は非特異反応であり、これらの染色組織標本は診断に適さない。
- 一次抗体陰性コントロール試薬で染色した検体組織スライドの染色性
- 免疫反応性がないことを確認する。結合組織・壊死組織・白血球や赤血球に褐色の反応性が認められる場合、検体組織スライドの不良が考えられるため留意すること。

②判定上の注意

- ほとんどの腫瘍細胞の細胞膜に陽性染色像が確認される場合は、2+或いは 3+と判定する。
- 特に 3+に判定されるものは、80%以上の浸潤性乳癌細胞の細胞膜に強い陽性像を認める。
- 対物レンズ 10 倍、20 倍で観察して、1+か 2+かの判定が困難な場合は、概ね 1+と判定する。
- 必ず各コントロールスライドの染色結果と比較して、染色結果を判定すること。
- 一般的にタンパクや基質反応生成物の非免疫的結合により、偽陽性結果が観察される場合がある。偽陽性結果は赤血球による偽パーオキシダーゼ反応やサイトクローム C による内因性パーオキシダーゼ反応によっても起きることがある。
- 使用する核染色液の性能や反応時間の長さによって、核染色の度合いが薄かったり、逆に暗青色に染まることもある。過剰、或いは不完全な核染色は、染色結果の適切な判定を損なう恐れがあるので注意すること。
- コントロールスライド上の MDA-175 セルラインはある時期を越えると劣化する。コントロールスライドの結果は、コントロールスライドの有効期限を考慮して評価すること。MDA-175 セルラインが陰性染色結果を示した場合、コントロールスライドが劣化している可能性がある。
- 細胞質に陽性染色が観察されることがある。判定は腫瘍細胞膜の陽性染色態度より判定すること。⁽⁵⁾
- 検体組織の壊死部分は、抗体が非特異的に結合しやすく非特異的染色の原因となり易いので、陰性コントロールスライドと比較し、十分注意して判定すること。
- 間質系のコラーゲンは、固定後疎水性となって抗体と結合し易くなること、陰

性に帯電しているため陽性に帯電している抗体と結合し易いことなどにより、非特異的染色の原因となり易いので、陰性コントロールスライドと比較し、十分注意して判定すること。

- (11) 顆粒球の一部、及びマクロファージなどは細胞膜表面に Fc レセプターを有するため、抗体の Fc 部分と結合し、抗体本来の特異的反応部位以外に染色が現れることがあるので、陰性コントロールスライドと比較し、十分注意して判定すること。
- (12) 胃の生検標本を用いて検査を行う際に検体が小さい場合は、腫瘍の形態学的損傷がないことや免疫組織化学的染色に十分な腫瘍細胞の存在を確認すること。
- (13) 胃癌の検査を行う際は、腺癌患者からの検体のみ評価対象とする。同一組織内に腸上皮化生組織と胃腺癌組織が存在する場合は、腺癌組織のみを計測する。生検標本の場合、5 個以上の癌細胞の集塊からなるクラスターの染色を評価すること。

性能

「用法・用量 (操作方法)」欄の操作方法により、感度、正確性及び同時再現性の各試験を行い、「検出結果の判定法及び判定に係る注意事項」の判定基準に従って、HER2 タンパク過剰発現を判定した場合、下記の規格に適合する。

①感度試験

キット中のコントロールスライドを染色する時、それぞれのセルラインに対応した所定のスコアが得られる。

②正確性試験

キット中のコントロールスライドを染色する時、それぞれのセルラインに対応した所定のスコアが得られる。

また、一次抗体の代わりに一次抗体陰性コントロールを使用し、同様に試験を行った場合、すべてのセルラインにおいてスコア (0) が得られる。

③同時再現性試験

キット中のコントロールスライド 3 枚を同時に染色する時、いずれの検体スライドにおいても、それぞれのセルラインに対応した所定のスコアが得られる。

④相関性試験

本品と同一の原理を用いた既承認品と比較した場合、50 例の検体の検出結果において、一致率は次の通りであり、良好な相関性を示した。

			比較対照品				
			過剰発現なし		過剰発現あり		合計
			0	1+	2+	3+	
本品	過剰発現なし	0	10	1	0	0	11
		1+	0	7	0	0	7
	過剰発現あり	2+	0	0	8	0	8
		3+	0	0	0	0	24
	合計		10	8	8	24	50

スコアごとの一致率 0：100% 判定結果の一致率 「過剰発現あり」一致率 100%
1+：88% 「過剰発現なし」一致率 100%
2+：100% 全体一致率：100%
3+：100%
全体の一致率：98%

使用上又は取扱い上の注意

①取扱い上の注意

- 検体組織には、HBV、HIV など、感染のおそれのあるものもあるので、取扱いには十分注意すること。
- 検査にあたっては感染の危険を避けるため、使い捨て手袋を着用すること。
- 試薬を口で吸い上げないこと。
- 試薬が皮膚や粘膜に直接接触することを避けること。万一触れた場合は、多量の水で洗い流すこと。
- 製品中の容器・付属品等は他の目的に転用しないこと。
- 発色基質である 3,3'-ジアミノベンジンテトラヒドロクロライド (DAB) は、変異原性が認められているので、取扱いに際しては非金属製のビンセット等の保護具を使用し、目や皮膚への接触を避けること。万一、皮膚に触れたり、目に入った場合は、流水で 15 分以上洗い流し、直ちに医師の診察を受けること。
- キットの試薬中、ブロッキング試薬、一次抗体、一次抗体陰性コントロールはアジ化ナトリウムを含んでいる。アジ化ナトリウムは鉛や銅と反応して起爆性の高い金属化合物を生成するため、容器の落下・衝撃による破損がないように丁寧に扱うこと。

②使用上の注意

- 本品は凍結を避け、貯法に従い保存して下さい。凍結させた試薬は、品質が変化して正しい結果が得られないことがあるので使用しないこと。
- 試薬はなるべく早く使用し、使用期限を過ぎた試薬、コントロールスライドは使用しないこと。
- ブロッキング試薬、ポリマー試薬、基質緩衝液及び発色基質は直接日光などの強い光に当てないこと。
- 試薬は微生物に汚染されないよう注意すること。
- 異なるロットの試薬や他社品の試薬を混ぜて使用しないこと。
- 同一ロットの試薬であっても試薬を注ぎ足さないこと。
- 使用後は、キャップを強く締めおくこと。

＊ (８) 発色基質はロット或いはボトルによって、溶液の色の濃さ及び色調に違いが見られるが、発色の性能に影響はない。

③廃棄上の注意

- 組織検体に接触した器具・試薬及び試薬容器等は感染の危険性があるものとし、

オートクレーブで 121℃20 分間滅菌処理するか、または 1vol%次亜塩素酸などの消毒液に浸して一晚処理すること。また、これらを廃棄する場合には、廃棄物処理及び清掃に関する法律等の規定に従って処理すること。

- (２) キットの試薬中、ブロッキング試薬、一次抗体、一次抗体陰性コントロールはアジ化ナトリウムを含んでいる。アジ化ナトリウムは鉛や銅と反応して起爆性の高い金属化合物を生成するため、廃棄の際は多量の水で希釈して廃棄すること。

貯蔵方法、有効期間

貯蔵方法：2～8℃で保存

有効期間：1 年

＊ 包装

	Code No.	包装単位
ダコ HercepTest II	K5204	(販売終了)
ダコ HercepTest II (自動染色装置用)	K5207	(販売終了)
ダコ HercepTest II (自動染色装置用)	SK001	50 テスト
Dako Wash Buffer 10x (別売)	S3006	1L x 1

主要文献

- Yamamoto, T., Ikawa, S., Akiyama, T., Semba, K., Nomura, N., Miyajima, N., Saito, T., Toyoshima, K. Simularity of protein encoded by the human c-erb-B-2 gene to epidermal growth factor receptor. Nature 1986;319:230-234.
- Press, M. F., Hung, G., Godolphin, W., Slamon, D. J. Sensitivity of Her2/neu antibodies in archival tissue samples: Potential source of error in immunohistochemical studies of oncogene expression. Can Res 1994;54:2771-2777
- Fahimi, H. D., Gray, B. A., Herzog, V. K. Cytochemical localization of catalase and peoxidase in sinusoidal cells of rat liver. Lab Invest 1976;34:192-201.
- Li, C-Y et. al. Use of azide and hydrogen peroxide as an inhibitor for endogenous peroxidase in the immunoperoxidase method. J Histochem Cytochem 1987;35:1457-1460.
- Press MF, Cordon-Cardo C, Slamon DJ. Expression of the HER-2/neu proto-oncogene in normal human adult and fetal tissues. Oncogene 1990;5:953-62
- Asioli S, Maletta F, Verdun di Cantogno L, Satolli MA, Schena M, Pecchioni C, et al. Approaching heterogeneity of human epidermal growth factor receptor 2 in surgical specimens of gastric cancer. Human Pathol 2012; 43;11: 2070-2079.
- HER2 検査ガイド 胃癌編 胃癌 トラスツマブ病理部会
- Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro esophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomized controlled trial. Lancet 2010.

問い合わせ先

アジレント・テクノロジー株式会社 カスタマーサポート
〒108-0023 東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号住友芝浦ビル
TEL：03-5232-9968

＊＊ 製造販売業者の氏名又は名称及び住所

アジレント・テクノロジー株式会社
〒108-0023 東京都港区芝浦四丁目 16 番 36 号住友芝浦ビル
TEL：03-5232-9970 FAX：03-5232-9969