

使用前に本電子化された添付文書をよく読んでください。

体外診断用医薬品

**2024 年 5 月改訂（第 4 版）

*2021 年 9 月改訂（第 3 版）

認証番号：第 224AFAMX00057000 号

抗デスモグレイン抗体キット

MESACUP™-2 テスト デスモグレイン 1

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用です。それ以外の目的に使用しないでください。
2. 本品は、血清中の抗デスモグレイン 1 (Dsg1) 抗体を測定する試薬です。被検者の診断は、他の関連する検査結果や臨床症状等とあわせて総合的に判断してください。
3. 添付文書以外での使用方法については保証致しません。
4. 本品の構成試薬のうち、抗 Dsg1 抗体陽性コントロール、陰性コントロール、標準液 1 及び抗 Dsg1 抗体標準液 2 には、ヒト血清由来成分が含まれています。体外診断用医薬品を用いて、HBs 抗原、HCV 抗体及び HIV 抗体が陰性であることを確認していますが、これらのウイルス及び他のウイルスを完全に否定できる試験方法ではありませんので、検体同様、感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。
5. 反応用緩衝液、抗 Dsg1 抗体陽性コントロール、陰性コントロール、標準液 1 及び抗 Dsg1 抗体標準液 2 には、保存剤として 0.09%アジ化ナトリウムが添加されています。目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流すなどの応急措置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

[形状・構造等(キットの構成)]

構成試薬	包装	数量
Dsg1 感作マイクロカップ 組換えデスモグレイン 1 たん白質 (組換え Dsg1 たん白質)	8 連 6 本	1
標準液 1	1.5 mL	1
抗 Dsg1 抗体標準液 2	1.5 mL	1
酵素標識抗体 ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG ポリクローナル抗体(ヤギ)	15 mL	1
反応用緩衝液	50 mL	1
洗浄用緩衝液 (20 倍濃縮品)	50 mL	1
酵素基質液 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン、 過酸化水素	20 mL	1
反応停止液	20 mL	1
抗 Dsg1 抗体陽性コントロール	1.5 mL	1
陰性コントロール	1.5 mL	1

[使用目的]

血清中の抗デスモグレイン 1 抗体の測定

[測定原理]

本品は酵素免疫測定法 (ELISA 法) によって血清中の抗デスモグレイン 1 抗体を測定する試薬です。抗原として組換えデスモグレイン 1 たん白質 (組換え Dsg1 たん白質) を固相化したマイクロカップ (Dsg1 感作マイクロカップ) に検体を添加し、抗原・抗体反応 (一次反応) をさせます。洗浄した後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG ポリクローナル抗体 (ヤギ) (酵素標識抗体) を添加して反応 (二次反応) をさせ、抗原・抗体・酵素標識抗体の複合物を形成させます。再び洗浄した後、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンと過酸化水素の溶解液 (酵素基質液) を添加し、酵素 (ペルオキシダーゼ) によって発色させ (酵素反応)、反応停止後、波長 450 nm における吸光度 (A450) を測定して血清中の抗デスモグレイン 1 抗体を測定します。

[操作上の注意]

1. 検体について
 - (1) 検体は血清を用います。
 - (2) 検体の保存方法
 - 1) 採血後はなるべく早く測定してください。
 - 2) 保存する場合は -20℃以下で凍結してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。
 - (3) 検体の非働化はしないでください。
2. 共存物質の影響
検体における共存物質の影響を試験したところ、ビリルビン F (19.6 mg/dL)、ビリルビン C (21.6 mg/dL)、ヘモグロビン (476 mg/dL)、乳び (1410 ホルマジン濁度)、リウマトイド因子 (1000 IU/mL) までの添加において測定値に影響は見られませんでした。
しかし、上記より高い濃度では測定値に与える影響が確認されていないため、極端な乳び、溶血が認められる検体は使用しないでください。

[用法・用量(操作方法)]

1. 準備するもの

標準的な実験装置に加えて、以下が必要です。

- (1) マイクロプレートリーダー
- (2) マイクロピペット
- (3) マルチチャンネルマイクロピペット
- (4) 自動洗浄機または洗浄ビン
- (5) 一次反応準備用マイクロプレート
- (6) リザーバー
- (7) 精製水

自動EIA機器を用いて測定する場合は、機種によって操作方法が異なる場合があります。使用する機種の操作方法に従ってください。対応機種及び操作方は[問い合わせ先]にお問い合わせください。

2. 試薬の調製

全ての構成試薬は室温(20~30℃)に戻してから使用してください。

(1) 洗浄液の調製(操作前に実施)

洗浄用緩衝液 50 mL に精製水 950 mL を加えて 20 倍希釈します。洗浄液は 2~8℃ で 2 週間安定です。

(2) その他の構成試薬

そのまま用います。

3. 操作方法

(1) 検体の希釈

- 1) 検体を反応用緩衝液で 101 倍希釈します。

例) 検体 10 μ L を反応用緩衝液 1000 μ L に加えて 101 倍希釈します。

- 2) 標準液 1、抗 Dsg1 抗体標準液 2、抗 Dsg1 抗体陽性コントロール、陰性コントロール及び希釈した検体を 150 μ L ずつ、一次反応準備用マイクロプレートに実際の測定と同じ配置になるように添加します。

(2) 一次反応

- 1) Dsg1 感作マイクロカップをアルミ袋から取り出し、一次反応準備用マイクロプレートに準備した標準液 1、抗 Dsg1 抗体標準液 2、抗 Dsg1 抗体陽性コントロール、陰性コントロール及び希釈した検体をマルチチャンネルマイクロピペットで 100 μ L ずつ移します。
注意) Dsg1 感作マイクロカップに検体を添加した時点で反応が始まりますので、操作は短時間のうちに行ってください。

- 2) 室温(20~30℃)で 1 時間静置反応させます。

(3) 洗浄

自動洗浄機(マイクロプレート専用機)または洗浄ビンを用いて洗浄液で Dsg1 感作マイクロカップを洗浄します。洗浄液は必ず室温(20~30℃)のものを使用してください。

洗浄回数: 自動洗浄機……4 回 洗浄ビン……4 回

注意) 自動洗浄機によって最適な洗浄回数及び設定方法が異なる場合があります。あらかじめ各施設で用いる自動洗浄機の最適な洗浄回数及び設定方法を確認することを推奨します。

(4) 二次反応

- 1) Dsg1 感作マイクロカップに残った洗浄液を完全に除去した後、リザーバーに移した酵素標識抗体をマルチチャンネルマイクロピペットで 100 μ L ずつ添加します。

注意) 残った酵素標識抗体は絶対に試薬ビンに戻さないでください。

- 2) 室温(20~30℃)で 1 時間静置反応させます。

(5) 洗浄

(3)と同様に Dsg1 感作マイクロカップを洗浄します。

(6) 酵素反応

- 1) Dsg1 感作マイクロカップに残った洗浄液を完全に除去した後、リザーバーに移した酵素基質液をマルチチャンネルマイクロピペットで 100 μ L ずつ添加します。

注意) 酵素標識抗体を入れるリザーバーと酵素基質液を入れるリザーバーは必ず別のものを使用してください。

残った酵素基質液は絶対に試薬ビンに戻さないでください。

- 2) 室温(20~30℃)で 30 分間静置反応させます。

(7) 反応停止

リザーバーに移した反応停止液をマルチチャンネルマイクロピペットで 100 μ L ずつ添加します。

(8) 吸光度測定

自動分光光度計(マイクロプレート専用機: 垂直透過型)に Dsg1 感作マイクロカップをセットして、波長 450 nm の吸光度(副波長 620 nm)を測定します。

反応停止後 20 分以内に測定してください。

(9) Index 値の算出

下記の式を用いて Index 値を算出します。

$$\text{Index 値} = \frac{(\text{検体の A450} - \text{標準液 1 の A450})}{(\text{抗 Dsg1 抗体標準液 2 の A450} - \text{標準液 1 の A450})} \times 100$$

[測定結果の判定法]

以下の値を参考にしてください。

Index 値	20 以上	: 陽性
	14 以上 20 未満	: 土
	14 未満	: 陰性

「判定上の注意」

1. 上記の値はあくまでも参考であり、母集団等種々の要因によって変動します。施設ごとに、目的に応じて基準となる数値を設定することを推奨します。
2. 抗 Dsg1 抗体陽性コントロール及び陰性コントロールの値がラベルに示された濃度範囲に入っていることが必要です。
3. 吸光度の測定は、事前に、使用する分光光度計の性能を確認した上で行ってください。分光光度計の性能範囲を超える吸光度を示した場合に、測定値の信頼性はありせん。

4. 抗体価の変動は患者の疾患活動性を把握するために有用と考えられます。本品の測定範囲の上限は Index 値 150 ですが、検体によって、Index 値 150 以下でも抗体価の変動を明確に捉えられない場合があります。抗体価の変動をモニターする場合、Index 値 120 以上の検体は 2,020 倍希釈して再測定することを推奨します。ただし、検体によって、希釈による Index 値の変化が異なる場合があるため、希釈再検の条件は必要に応じて各施設で設定してください。
5. 抗デスモグレイン 1 抗体は落葉状天疱瘡のほか尋常性天疱瘡においても陽性となりますが、抗デスモグレイン 3 抗体は、通常、落葉状天疱瘡では陽性にならないため、本品での測定結果と MESACUP-2 テスト デスモグレイン 3 での測定結果を組み合わせることによって、尋常性天疱瘡と落葉状天疱瘡の鑑別診断が可能です(下表参照)。

		抗デスモグレイン 3 抗体	
		陰性	陽性
抗デスモグレイン 1 抗体	陰性	他の疾患 又は健康者	尋常性天疱瘡
	陽性	落葉状天疱瘡	尋常性天疱瘡

*[臨床的意義]

抗デスモグレイン 1 抗体は、自己免疫性水疱性疾患である天疱瘡の患者血清中に見いだされる自己抗体で、天疱瘡の病因であることが明らかにされており、またその抗体価はある程度病勢を反映するといわれています¹⁾。

天疱瘡は大きく二つの疾患に分類されます。一つは尋常性天疱瘡で、ほぼ全身に弛緩性水疱及び有痛性のびらんを生じ、時に死に至る重篤な疾患です。もう一つの落葉状天疱瘡は、ほぼ全身に小水疱と落屑性の紅斑を生じる重篤な疾患で、尋常性天疱瘡とは異なり、粘膜に病変が生じることはほとんどありません²⁾。

天疱瘡患者の血清には表皮細胞膜抗原に対する自己抗体が存在し、この自己抗体が病因的な役割を果たすことが明らかになっています。これは、患者血清から精製された IgG を新生仔マウスに注入すると皮膚に天疱瘡様の病変が誘導されることによって確認されました³⁾。

天谷らは、培養表皮細胞から作製した cDNA 発現ライブラリーを患者血清に含まれる自己抗体で免疫スクリーニングすることによって天疱瘡抗原たん白質の cDNA を単離することに成功し、さらに、その塩基配列を解析することによって、落葉状天疱瘡の抗原はカドヘリン型の細胞接着因子であり、デスモソームと呼ばれる細胞接着装置に存在するデスモグレイン 1 であることを明らかにしました^{4) 5)}。

本品は抗原本来の立体構造を反映する組換えたん白質を抗原として用いており、特異的に抗デスモグレイン 1 抗体を測定することができます。

MESACUP-2 テスト デスモグレイン 1 は、ELISA 法によって血清中の抗デスモグレイン 1 抗体を測定する試薬です。

[性能]

1. 性能

(1) 感度試験

標準液 1 を測定するとき、波長 450 nm の吸光度は 0.100 以下です。また、抗 Dsg1 抗体標準液 2 を測定するとき、波長 450 nm の吸光度は 0.500 以上です。

(2) 正確性試験

既知濃度の管理検体 3 例を測定するとき、いずれも Index 値が期待値の±15%以内です。

(3) 同時再現性試験

既知濃度の管理検体 3 例を同時に 6 回測定するとき、CV 値はいずれも 15%以下です。

(4) 測定範囲

Index 値 5～150

2. 相関性試験成績

ELISA 法を原理とする既承認品との相関性を検討し、以下の結果を得ました。

検体数：血清 102 例

回帰式： $y = 1.03x + 14.36$

相関係数 $r = 0.96$

x：既承認品の測定値 y：本品の測定値

3. 校正用基準物質

自社調製品

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 取扱い上の注意

- (1) 検体は、HIV、HBV、HCV 等の感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。検査にあたって、感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また、口によるピペッティングを行わないでください。
- (2) 試薬が目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流すなどの応急措置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。

2. 使用上の注意

- (1) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- (2) 異なるロットの試薬を組み合わせで使用しないでください。
- (3) 全ての構成試薬は室温(20～30℃)に戻してから使用してください。
- (4) 保存及び使用中に、試薬に直射日光を当てないでください。
- (5) 検体、試薬への微生物の混入や試薬間のコンタミネーションを避けてください。
- (6) 洗浄用緩衝液は、2～8℃で保存したとき、結晶を認める場合がありますが、試薬性能に影響はありません。洗浄液調製時、十分に溶解してから使用してください。
- (7) 反応温度、反応時間、検体の希釈率を厳守してください。
- (8) 洗浄が適切でない場合、ばらつきや偽陰性、偽陽性を生じることがありますので、適切な洗浄条件を設定し

てください。

- (9) マイクロカップ間のコンタミネーションを防ぐため、液の泡立ちや、周囲への付着が起こらないようにしてください。
- (10) 酵素基質液は金属イオンによって酸化されやすいので、ディスポーザブルの新しい器具を使用し、試薬ボトルからリザーバーに酵素基質を移す際にもディスポーザブルのピペットを使用してください。また、一度リザーバーへ移した酵素基質液は試薬ボトルに戻さないでください。
- (11) Dsg1 感作マイクロカップは湿気を嫌いますので、開封後はアルミ袋のチャックを確実に閉めて保存してください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 検体は感染の可能性のあるものとして注意して取り扱ってください。検査に使用した器具は、次のいずれかの方法で処理した後、廃棄してください。
- 1) 最終濃度 2% グルタルアルデヒド溶液に 1 時間以上浸漬する。
 - 2) 0.1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素 約 1000 ppm）に 1 時間以上浸漬する。
 - 3) 121℃で 20 分間以上高圧蒸気滅菌する。
- 試薬や器具等を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従ってください。
- (2) 血清等が飛散した場合は、手袋着用の上、ペーパータオル等でふき取り、0.1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液で清拭してください。また、使用した手袋やペーパータオル等は廃棄上の注意（1）に従って処理、廃棄してください。
- (3) 反応用緩衝液、抗 Dsg1 抗体陽性コントロール、陰性コントロール、標準液 1 及び抗 Dsg1 抗体標準液 2 には保存剤として 0.09% アジ化ナトリウムが添加されています。アジ化ナトリウムは、配管中で爆発性のアジ化銅やアジ化鉛を形成することが報告されています。これらの物質の形成を防ぐため、アジ化ナトリウムを含む廃液は十分な量の水で洗い流してください。

〔貯蔵方法・有効期間〕

貯蔵方法 : 2～8℃

有効期間 : 18 箇月

(使用期限は外箱に表示されています。)

〔包装単位〕

CODE No. 7880 1 キット 48 ウエル

*〔主要文献〕

1. Witte, M., et al. Front Med. 2018, vol. 5, 296.
2. Stanley, J. R. Dermatology in general medicine, ed 4. Fitzpatrick, T. B. et al. eds. McGraw-Hill, 1993, p. 606-615.
3. Mahoney, M. G., et al. J Clin Invest. 1999, vol. 103, p. 461-468.
4. Amagai, M. et al. Cell. 1991, vol. 67, p. 869-877.
5. Amagai, M. Adv Dermatol. 1996, vol. 11, p. 319-352.

〔問い合わせ先〕

株式会社医学生物学研究所 学術部

〒105-0012 東京都港区芝大門二丁目 1 1 番 8 号

住友不動産芝大門二丁目ビル

TEL : 03-6854-3613 E-mail : kensa@mbi.co.jp

**〔製造販売元〕

株式会社医学生物学研究所

〒105-0012 東京都港区芝大門二丁目 11 番 8 号

住友不動産芝大門二丁目ビル

TEL:03-6684-6860 FAX:03-6854-3615

「MESACUP」は株式会社医学生物学研究所の登録商標です（登録商標 第 2422835 号）。