

体外診断用医薬品

抗ARS抗体キット MESACUP™ anti-ARSテスト

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用です。それ以外の目的で使用しないでください。
2. 本品は、血清中のアミノアシルtRNA合成酵素(aminoacyl tRNA synthetase :ARS)に対する自己抗体(抗ARS抗体)のうち、抗Jo-1抗体、抗PL-7抗体、抗PL-12抗体、抗EJ抗体、抗KS抗体の5種類の自己抗体を検出する試薬です。5種類をあわせて検出するため、個々の抗ARS抗体についての情報は得られません。診断は他の関連する検査結果や臨床症状等とあわせて担当医師が総合的に判断してください。
3. 抗ARS抗体検査は、多発性筋炎・皮膚筋炎(polymyositis / dermatomyositis : PM/DM)の診断の補助目的で行われます。特発性間質性肺炎 (idiopathic interstitial pneumonia : IIP) 症例、あるいは間質性肺炎症例に対して検査を行う場合も、PM/DMが疑われる症例を対象としてください。
4. 添付文書以外での使用方法については保証を致しません。
- *5. 本品の構成試薬のうち、標準液1、抗ARS抗体標準液2、抗ARS抗体陽性コントロール及び陰性コントロールには、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。
6. 標準液1、抗ARS抗体標準液2、抗ARS抗体陽性コントロール、陰性コントロール及び反応用緩衝液には保存剤として0.09%のアジ化ナトリウムが添加されています。誤って目や口に入ったり、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
ARS感作マイクロカップ	8連12本	1
ARSたん白質		
酵素標識抗体	15 mL	1
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)		
酵素基質液	20 mL	1
3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン, 過酸化水素		
反応用緩衝液	50 mL	2
洗浄用緩衝液 (20倍濃縮品)	50 mL	1
反応停止液	20 mL	1
標準液1	1.5 mL	1
抗ARS抗体標準液2	1.5 mL	1
抗ARS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ARS抗体の検出（多発性筋炎・皮膚筋炎の診断の補助）

【測定原理】

本品は、ELISA法によって血清中の抗ARS抗体を検出する試薬です。抗原としてARSたん白質を固相化したマイクロカップ(ARS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)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)により発色させます(酵素反応)。反応停止後、吸光度(A450)を測定して、血清中の抗ARS抗体を検出します。

【操作上の注意】

1. 検体について
 - (1) 検体は血清を用います。検体は新鮮なものを用いてください。
 - (2) 検体の非働化はしないでください。
 - (3) 検体の保存方法
 - 1) 採血後はなるべく早く試験を行ってください。
 - 2) 血清を保存する場合：-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。
 - (4) 検体及び標準液等を分注するときは、泡立てないように注意してください。
 - (5) 不溶物を含む検体は、遠心分離または濾過によって除去した後、使用してください。
2. 共存物質の影響

共存物質の影響を試験したところ、ヘモグロビン(494.0 mg/dL)、ビリルビンC (21.6 mg/dL)、ビリルビンF (19.1 mg/dL)、乳び (1,590 ホルマジン濁度)、RF (550 IU/mL) までの添加において試験結果に影響は見られませんでした。しかし、上記の添加濃度以上では試験結果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
 - ・自動分光光度計 (マイクロプレート専用機)
 - ・マイクロピペット
 - ・マルチチャンネルマイクロピペット (マルチピペット)
 - ・自動洗浄機 (マイクロプレート専用機) 又は洗浄ビン
 - ・一次反応準備用マイクロプレート
 - ・リザーバー
 - ・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、問い合わせ先にご連絡ください。

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)

必要量の洗浄用緩衝液(20倍濃縮品)を精製水で20倍希釈し、洗浄液とします。洗浄液は2～8℃で2週間安定です。

例) 洗浄用緩衝液(20倍濃縮品) 50 mL に精製水 950 mL を加えて20倍希釈します。

(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 μLを反応用緩衝液1,000 μLに加えて101倍希釈します。

2) 標準液1、抗ARS抗体標準液2、抗ARS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 μL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) ARS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ARS抗体標準液2、抗ARS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ピペットでARS感作マイクロカップに100 μLずつ移します。

注意) ARS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。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)又は洗浄ピンを用いて洗浄液でARS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 洗浄ピン…4回

注意) 自動洗浄機によって設定方法及び最適な洗浄回数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設定方法及び最適な洗浄回数を確認することを推奨します。

(4) 二次反応

1) ARS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ピペットで100 μLずつ添加します。

注意) コンタミネーションを避けるため、残った酵素標識抗体は絶対に試薬ボトル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ARS感作マイクロカップを洗浄します。

(6) 酵素反応

1) ARS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ピペットで100 μL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。コンタミネーションを避けるため、残った酵素基質液は絶対に試薬ボトル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

反応終了後、リザーバーに移した反応停止液をマルチピペットで100 μL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)にARS感作マイクロカップをセットして、吸光度(A450)を測定します。吸光度測定は反応停止後20分以内に行ってください。

「Index値の算出法」

下記の式を用いてIndex値を算出します。

$$\text{Index 値} = \frac{\text{検体の吸光度} - \text{標準液1の吸光度}}{\text{抗ARS抗体標準液2の吸光度} - \text{標準液1の吸光度}} \times 100$$

「測定結果の判定法」

以下の値を参考にしてください。

Index 値25.0未満： 陰性

Index 値25.0以上： 陽性

自己免疫疾患患者を含む432例を用いて検討した値に基づいて決定しました。

「判定上の注意」

1. 抗ARS抗体陽性コントロールは陽性、陰性コントロールは陰性と判定されることが必要です。
2. 吸光度の測定は、事前に、使用する自動分光光度計の性能を確認した上で行ってください。自動分光光度計の性能範囲を超える吸光度を示した場合は測定値の信頼性はありません。
3. 治療薬の試験結果への影響は確認していません。治療中の患者検体の測定結果に基づく診断は、他の検査や臨床症状等とあわせて総合的に判断してください。
4. 検体によって非特異反応が起こる可能性があります。また、試験結果が陰性であっても免疫機能低下によって抗体産生能が低下している場合がありますので、試験結果に基づく診断は他の検査や臨床症状等とあわせて総合的に判断してください。

「臨床的意義」

多発性筋炎・皮膚筋炎(PM/DM)は、筋力低下を主徴とする原因不明の炎症性疾患です。筋以外にも多彩な全身の臓器病変を合併することが多く、症状が筋肉及び内臓にとどまるものをPM、それに加えて皮膚症状をともなうものをDMと呼びます。PM/DMでは多様な筋炎特異的自己抗体が現れますが、そのうち最も高い頻度で現れる自己抗体がアミノアシルtRNA合成酵素に対する自己抗体(抗ARS抗体)です。

抗ARS抗体陽性の患者は総じて「抗合成酵素症候群(anti-synthetase syndrome: ASS)」あるいは「抗ARS抗体症候群」と呼ばれており¹⁾、筋症状、レイノー現象、機械工の手などの症状を好発するほか、極めて高い確率で間質性肺炎を併発する、

ステロイド反応性が良いが再燃しやすいという共通の臨床的特徴が認められます^{2)~4)}。

[性能]

1. 性能

(1) 感度試験

- 1) 抗ARS抗体標準液2(Index 値 = 100.0)を用いて試験を行うとき、吸光度(A450)は0.500以上である。
- 2) 標準液1(Index 値 = 0.0)を用いて試験を行うとき、吸光度(A450)は0.100以下である。

(2) 正確性試験

陰性検体2例、陽性管理検体5例を用いて試験を行うとき、陽性検体はすべて陽性、陰性検体はすべて陰性と判定される。

(3) 同時再現性試験

陽性管理検体5例を用いて6回同時に試験を行うとき、すべて陽性と判定される。

(4) 最小検出感度

Index 値 = 5.0

2. 臨床性能試験成績

(1) RNA 免疫沈降試験との一致率

多発性筋炎・皮膚筋炎(PM/DM)患者検体132例、PM/DM以外の膠原病患者検体130例及び特発性間質性肺炎(IIP)患者検体170例、合計432例について、本品による試験とRNA免疫沈降試験を実施しました。その結果、陽性一致率100 %、陰性一致率99.7 %、判定一致率99.8 %であり、良好な一致率を確認しました(表1)。

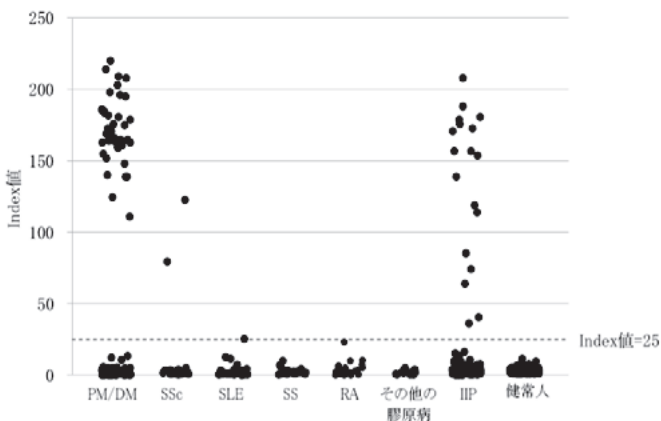
(表1) RNA 免疫沈降試験との一致率

		RNA 免疫沈降試験		合計
		陽性	陰性	
本品	陽性	59	1	60
	陰性	0	372	372
合計		59	373	432

(2) 疾患別陽性率

PM/DM患者検体132例、PM/DM以外の膠原病患者検体130例、IIP患者検体170例について本品を用いて試験したところ、Index 値の分布は(図1)、陽性率は(表2)に示すとおりでした。

(図1) 各疾患における抗ARS抗体Index 値分布図



※IIP症例は、「厚生労働省特定疾患認定基準 36.特発性間質性肺炎」に従って定義される症例を登録しました。

※上記IIP症例は呼吸器内科を受診してIIPと診断された患者であり、PM/DMが疑われるIIP症例とPM/DMが疑われないIIP症例の両方が含まれています。(表2)のIIPにおける抗ARS抗体の陽性率はあくまで参考値として扱ってください。

※PM/DM症例での陽性率は、いずれもIndex 値が100.0以上でした。

※なお、別途健康人検体137検体を本品で測定したところ、測定結果はいずれも陰性でした(当社社内データ)。

(表2) 各疾患における陽性率

疾患	PM/DM	PM/DM以外の膠原病						特発性間質性肺炎	健康人
		合計	SSc	SLE	SS	RA	その他		
陽性率	29.5%	2.3%	6.3%	2.6%	0.0%	0.0%	0.0%	10.6%	0.0%
(陽性数/症例数)	(39/132)	(3/130)	(2/32)	(1/39)	(0/26)	(0/24)	(0/9)	(18/170)	(0/137)

(3) PM/DM以外の膠原病で陽性と判定された検体に関する検討
PM/DM以外の膠原病患者検体のうち本品で陽性となった3例は、RNA免疫沈降試験においても陽性と判定され、抗ARS抗体が存在することを確認しました(表3)。対応抗原の種類はPL-12(2例)及びKS(1例)でした。

(表3) 本品で陽性と判定された対照疾患検体に関する検討結果

検体	疾患	本品による試験結果		RNA免疫沈降試験による試験結果	
		Index 値	判定	判定	対応抗原の種類
検体1	SSc	80.0	陽性	陽性	PL-12
検体2	SSc	123.0	陽性	陽性	PL-12
検体3	SLE	25.6	陽性	陽性	KS

(4) 抗Jo-1抗体測定結果との比較

PM/DM患者検体132例、PM/DM以外の膠原病患者検体130例について、抗ARS抗体の1種である抗Jo-1抗体を測定する体外診断用医薬品(ELISA 試薬)と本品を用いて試験しました。その結果、本品での陽性率は、抗Jo-1抗体の陽性率の2倍以上でした(表4)。

(表4) 抗Jo-1抗体試験と本品との比較

陽性率 (陽性数/症例数)	PM/DM	本品	抗Jo-1抗体
		29.5%	14.4%
		(39/132)	(19/132)
PM/DM以外の膠原病	PM/DM以外の膠原病	2.3%	0.0%
		(3/130)	(0/130)

3. 校正用基準物質の設定

抗ARS抗体には公的標準品、市販標準品が存在しないため、自社で校正用基準物質を設定しています。

[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扱ってください。試験にあたって、感染の危険を避けるため、使い捨て手袋を着用し、口によるピettingsは行わないでください。
- (2) 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

- (3) 反応停止液には0.25 mol/Lの硫酸が含まれています。皮膚、目、粘膜などに付けないよう注意して取り扱ってください。皮膚などにかかったときは大量の水で洗い流し、必要があれば医師の手当てを受けてください。

2. 使用上の注意

- (1) 試薬は貯蔵方法に従って保存し、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) 反応緩衝液は沈殿を生じることがありますが、キットの性能には影響を及ぼしません。
- (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) マイクロカップの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、デイ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液を移す際にもデイスポーザブルのピペットチップ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) ARS感作マイクロカップは湿気を避けるため、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。
- (12) 洗浄用緩衝液(20倍濃縮品)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。

3. 廃棄上の注意

- (1) 検体は感染の可能性があるものとして注意して取り扱いってください。検体及び試験に使用した器具は、廃棄又は次のいずれかの方法で処理してください。
 - ・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。
 - ・0.1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1,000 ppm)に1時間以上浸漬する。
 - ・121℃で20分間以上高圧蒸気滅菌する。
- (2) 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。
- (3) 標準液1、抗ARS抗体標準液2、抗ARS抗体陽性コントロール、陰性コントロール及び反応緩衝液には0.09%の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。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。
- (4) 血液等が飛散した場合は、手袋着用の上、ペーパータオル

等で拭き取り、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)(2)に従って処理・廃棄してください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法：2～8℃で保存
2. 有効期間：12箇月
(使用期限は外箱に表示されています。)

【包装単位】

CODE No.7840 1キット96ウエル

【主要文献】

1. 吉藤 元, 他. 臨床検査. 2008, vol. 52, no. 5, p. 525-530.
2. Love, L. A. et al. Medicine (Baltimore). 1991, vol. 70, p. 360-374.
3. Yoshifuji, H. et al. Autoimmunity. 2006, vol. 39, p. 233-241.
4. Hirakata, M. et al. J Immunol. 1999, vol. 162, p. 2315-2320.

*【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1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)