体外診断用医薬品
製品番号 6604627

**2009 年 11 月改訂
*2007 年 2 月改訂
承認番号 20600AMY00257000

日本標準商品分類番
877429

*T 細胞キット
コールタークローン
CD3（IgG1）-RD1

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証しません。
4. ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

形状・構造等(キットの構成)

本品は蛍光色素を標識したマウス・モノクローナル抗体試薬（溶液）です。
1 テストあたり 2μg のモノクローナル抗体を含有しています。

対象抗原: T 細胞レセプタ関連抗原、: 成熟細胞（20KD）。

抗原特異性: CD3 抗原は、系統特異的な pan-T 細胞の細胞表面抗原であり、T 細胞レセプタに関連しています。分子量 20 及び 25KD の 2 つの糖タンパクで構成され、T リンパ球レセプタと複合体（CD3/Ti または CD3/TCR 複合体）を形成しています。CD3 抗原は Ti（または TCR）による抗原に伴う T リンパ球増殖への活性化シグナルの導入のために必要です。また、CD3（IgG1）抗体は末梢血 T リンパ球に対してマイトジェン活性を有します。

抗原の分布: 通常、成熟胸腺細胞、休止期及び活性化末梢血 T リンパ球（インデューサー及びサプレッサ／細胞傷害性ポピュレーション）、NK 活性を示す細胞の一部に存在します。ほとんどすべての末梢血成熟 T リンパ球に発現しており、胸腺中では 20～30%の細胞が CD3 陽性です。末梢血 B リンパ球、単球、顆粒球、血小板では検出されません。CD3 抗原、は未熟及びコモン胸腺細胞の細胞質内に CD3 の発現がみられます。

クローン: UCHT1［CD3（IgG1）］; セザリー病患者から得られた胸腺細胞及び末梢血リンパ球で免疫した BALB/c マウスの脾臓細胞と、P3/NS1/1-AG4-1 ミエローマ細胞の融合細胞から分離

Ig 構造: マウス IgG1 H 鎖及びκL 鎖

細胞毒性: なし

原料: 融合細胞の培養上清

精製法: アフィニティクロマトグラフィ

標識: RD1 : Phycoerythrin（PE）
RD1／Protein: 0.5～1.5
励起波長: 486～575nm
蛍光波長: 568～590nm

試薬濃度: 1 バイアル（0.5Ml）中の抗体以外の各種成分の濃度
BSA :0.2%
リン酸カリウム :0.01M
NaCl :0.15M
NaN_3 :0.1%
スタビライザ

使用目的

リンパ球細胞表面抗原の分析及び T 細胞の測定

測定原理

測定方法はフローサイトメトリーを用いた直接免疫蛍光法です。すなわち、本品を T 細胞上の CD3 抗原に反応させ、細胞に波長 488nm の励起光を照射してオレンジ色蛍光（RD1）を発光させ、その蛍光を光電子増倍管で増幅し、その電気信号をコンピュータで解析、表示させることにより抗体陽性細胞の計測を行います。

測定にはフローサイトメーターを用います。前方散乱光（FS）と側方 90°方向、散乱光（SS）によるスキャッタ・サイトグラム中のリンパ球領域にゲートをかけることにより、自動的にリンパ球のみを計測し、蛍光強度の解析ができます。また、解析細胞数も数千個と多いため、高精度で再現性の高い良い結果が得られます。

操作上の注意

1. 抗凝固剤としては、EDTA、ヘパリン等を用いることができますが、いずれの場合でも採血後は室温で保存し、6 時間以内に染色してください。特に白血病細胞等では、保存によって急激に陽性率の低下を来たす場合がありますので注意してください。
2. 静脈血検体の場合、細胞のバイアビリティ（生存率）は 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。
3. 凍結検体のバイアビリティは 85%以上が理想的です。
4. Ficoll-paque 調製サンプルを用いる場合、分離条件により結果が異なる場合があります。分離した細胞が Ficoll-paque 分離液に長時間接触しているとバイアビリティが低下するため、分離後 5 分以内に遠心、洗浄してください。
5. 全血法の場合、溶血時間が長すぎると白血球にもダメージが及ぶことがあります。
6. 有核赤血球、蛋白濃度が異常な場合、ヘモグロビン合成異常では、赤血球の溶血が不完全となる場合があります。この場合、溶血していない赤血球をリンパ球としてカウントするために陽性率が実際よりも低くなるおそれがあるので注意してください。
7. 全血検体を Ficoll-paque 等で比重遠心分離した場合、分離して得られた単核細胞と分離前の全血検体とは各細胞の比率が異なることがあります。このことは、白血球数が正常範囲内にあるような検体では比較的影響はないが、白血球減少症患者の検体では、特定のサブセットの選択的なロスが結果の精度に影響を及ぼす場合があります。
8. 白血球の大きさが正常とは異なるような疾患の検体や、分離操作が不適切な場合、分離が不完全となる場合があります。分離後、明瞭な単核球層が認められなかったり、赤血球、赤血球破片、未熟骨髄細胞、顆粒球が多量に混入している場合は分離をやり直すことをお勧めします。
9. 溶血不良となるおそれがあるため、検体を試験管に分注する際は試験管の口や壁面に検体を付けないよう注意してください。付着した血液は、綿棒等で取り除いてください。
10. 病態と特定の白血球ポピュレーションの変動とは必ずしも一致しないため、測定結果は臨床及び他の診断上データと共に使用してください。
11. 臓器移植等の患者で治療目的に CD3 抗体の投与を受けている場合は、本品による T 細胞の測定に影響することがありますので、CD2、CD5 等他の T 細胞マーカーの分析を併用してください。
12. フローサイトメーターのレーザ光軸の設定不良や不適切なゲート設定により、誤った結果が得られる場合があります。
13. 蛍光顕微鏡の場合は、蛍光顕微鏡の方式、光源、バルブの劣化、フィルタの組み合せ及び厚さにより結果が異なることがあります。また、蛍光の退色を防ぐため、細胞の計数はすばやく行う必要があります。
14. CD3 抗原は、T 細胞に対する特異性が最も高いが、胸腺における T 細胞成熟過程では遅れて発現する成熟 T 細胞マーカーであるため、他の T 細胞マーカーが陽性であっても、CD3 は陰性の細胞があるので注意してください。特に未熟 T 細胞由来の白血病／リンパ腫では CD3 が陰性となる例が多いことが知られています。
15. 測定結果の解釈を行う場合には、測定条件及び供血者の年令、性別、喫煙習慣等の影響も考慮してください。
16. Ficoll-paque 調製サンプルにヒトγ-グロブリンを加えるのは、細胞表面の Fc レセプタを介する非特異反応を最小限にするためです。加えるγ-グロブリンは筋注用ヒトグロブリン製剤、あるいは加熱処理したヒトγ-グロブリンフラクション等でよく、モノクローナル抗体反応液の調製に BSA や NBS を添加した PBS を使用することも、抗体タンパクの非特異的な吸着を防ぐ上で効果があります。
17. 正常細胞では問題ない抗体濃度でも、白血病検体等では陽性率の低下を来たす場合があります。したがって、モノクローナル抗体反応液の調製にあたっては用法・用量を守り、過剰な希釈は行わないでください。

*用法・用量（操作方法）

【試薬の調製】

モノクローナル抗体試薬を検体数に応じて必要量（1検体あたり5μL）分取し、1 検体あたりの添加量が 200μL になるように PBS（BSA 0.1%または NBS 2%、アジ化ナトリウム 0.1%を含むもの）を加えて増量し、モノクローナル抗体反応液とします。使用時に調製し、保存は避けてください。

BSA　　:ウシ血清アルブミン
NBS　　:新生仔ウシ血清

【その他必要な試薬】

1. 溶血剤（次の 1）、2）のいずれかを使用します）

1）コールター全血ライジングキット（別売）

製品番号 6603152　容量 300 テスト

イムノライズ*1mL に PBS（下記）24mL を加えます。
フィクサティブ**はそのまま使用します。

* イムノライズ:コールター全血ライジングキット中の溶血試薬
** フィクサティブ:コールター全血ライジングキット中の固定剤（ホルマリンが含まれるため、取り扱いには十分注意してください）

2）塩化アンモニウム溶血剤

蒸留水 1L に以下の試薬を溶解します。

塩化アンモニウム	8.26g
炭酸カリウム	1.0g
EDTA4 ナトリウム（または 2 ナトリウム）	37mg

pH7.2～7.4 に調整し、密栓して室温保存します。
（1 週間安定）

注意: 1）、2）の各溶血剤は溶血に要する時間が異なります。コールター全血ライジングキットは 30 秒～2 分と短いが、反面、細胞に与える作用も強い。一方、塩化アンモニウム溶血剤は溶血に 10～15 分必要ですが、細胞に与える作用は比較的緩徐で、20～30 分放置しても結果に及ぼす影響は少ないとされています。いずれの溶血剤を使用するかは処理検体数に応じて選択します。

2. PBS（リン酸緩衝生理食塩水）

各試薬を蒸留水に溶解し、以下の濃度にします。

塩化ナトリウム	8.0g/L
リン酸 2 ナトリウム（12 水塩）	2.9g/L
リン酸 1 カリウム（無水塩）	0.2g/L
塩化カリウム	0.2g/L

pH7.2～7.4 に調製し、必要に応じて BSA を 0.1%、アジ化ナトリウムを 0.1%添加します。

3. アイソタイプコントロール

コールター・クローン MslgG1-RD1
製品番号 6602884　容量 100 テスト（0.5mL）

4. Propidium Iodide

Calbiochem 製品番号 537059
0.01mg/mL または 0.05mg/mL に調製して使用します。

5. Acridine orange

Baker 製品番号 A366－3
0.005mg/mL で使用します。

6. Ficoll-paque 分離液

Pharmacia 製品番号 17－0840－03

【検体の採取と調製】

1. 全血を検体とする場合

検体には EDTA、ヘパリン等の抗凝固剤を用いて採血した末梢血を用います。染色に最適な白血球数の範囲は 3～10×10^3 個/mm^3 であるため、白血球数が 10×10^3 個/mm^3 を超える場合は検体を希釈します。また、3×10^3 個/mm^3 より少ない場合は 遠心して再浮遊させます。検体の希釈にはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）を用います。

注）検体は採血後室温（20～25℃）で保存します。採血してから 6 時間以内に操作を開始してください。

a）白血球数が多い検体（＞10×10^3 個/mm^3）

白血球数		希釈倍率
10～20	×10^3	:2 倍
20～30	×10^3	:3 倍
30～40	×10^3	:5 倍
40～60	×10^3	:6 倍
60～100	×10^3	:10 倍
100～200	×10^3	:20 倍

＊白血病やリンパ腫検体でみられるタンパク異常による非特異的結合を減らすには、あらかじめ 37℃の PBS で洗浄します。

b）白血球数が少ない検体の場合（＜3×10^3 個/mm^3）

バフィーコート法

1） 検体を 25℃で 500×g、5 分間遠心します。
2） 白血球の層をピペットで採取します。この際、白血球全部を確実に回収するため赤血球及び血漿も一部回収します。
3） 数回ピペッティングして、十分に懸濁させます。
4） コールターLH 700 シリーズ等のヘマトロジーアナライザーや血球計算板を用いて細胞濃度を測定します。
5） 細胞濃度を 10×10^3 個/mm^3 に調製します。1 テストあたり 100μL を用い、以下の操作手順に従って処理します。

2. Ficoll-paque 調製サンプルを検体とする場合

1） 試験管に血液（抗凝固剤を含む）4mL を取り、ほぼ等量の PBS を加え、転倒混和します。
2） 別の試験管に Ficoll-paque 分離液 4mL を入れ、その上に 1）の希釈血液を重層します。
3） 4℃で 400×g、30 分間遠心分離します。
4） Ficoll-paque 分離液と血漿の間の層をパスツールピペットで取り、別の試験管に移します。
5） PBS を加えてよく撹拌し、4℃で 400×g、8 分間遠心分離します。
6） 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加えてよく撹拌し、4℃で 400×g、4 分間遠心分離します。
7） PBS を加えてよく撹拌し、4℃で 400×g、3 分間遠心分離します。
8） 上清を吸引除去し、沈渣に PBS を加え、細胞濃度を 1×10^3 個/μL（1×10^6 個/mL）程度に調整します。
9） もし Fc レセプタを介した抗体試薬の非特異的結合が予想される場合は、本品を反応させる 10～15 分前にヒトγ-グロブリンを終濃度 1mg/mL 程度加えておきます。
10） 以下のa）またはb）の方法を用いて、細胞のバイアビリティ（生存率）をチェックします。バイアビリティは 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。

a） フローサイトメトリー法によるバイアビリティの確認

11） 試験管に 1×10^6 個（細胞濃度が 1×10^3 個/μL の場合 1mL）の細胞を分注します。
12） 冷 PBS を加え、4℃で 400×g、4 分間遠心分離します。
13） 上清を吸引除去し、0.05mg/mL の Propidium Iodide 3 滴を加えて撹拌し、1 分間放置します。
14） 冷 PBS を加えて撹拌し、4℃で 400×g、4 分間遠心分離します。
15） 上清を吸引除去し、14）を繰り返します。
16） 上清を吸引除去し、フローサイトメーターで測定します。
バイアビリティが 85%に満たない場合は、サンプルの調製をやり直すことをお勧めします。

b） 蛍光顕微鏡法によるバイアビリティの確認

11）スライドグラスに 25,000 個（細胞濃度が 1×10^3 個/μL の場合、25μL）の細胞を載せます。
12） Propidium Iodlde（0.01mg/mL）10μL を載せ、マイクロピペットのチップの先で静かに撹拌します。
13） 30 秒間放置した後、Acridine orange（0.005mg/mL）10μL を載せ、マイクロピペットのチップの先で静かに撹拌して 3 秒間放置します。
14） カバーグラスをかけ、周囲をストップコック・グリスでシールし、ただちに蛍光顕微鏡で観察します。
15） 細胞を 100 個カウントします。生細胞は明るい緑色に、死細胞は赤色に観察されます。バイアビリティが85%に満たない場合は、サンプルの調製をやり直すことをお勧めします。

【操作方法】

1. 全血サンプルを用いた試験管法

1） モノクローナル抗体反応用と対照用に 12mmφ×75mm の試験管を用意します。

2) 各試験管に検体を 100μL ずつ分注します。
3) モノクローナル抗体反応液を加えます。対照用の試験管にはモノクローナル抗体反応液と同様に濃度調製した RD1 標識マウス IgG コントロール（MsIgG1-RD1 等；別売）を同量加えます。
4) よく撹拌し、室温で 45 分間反応させます。
5) 以下の a)、b)のいずれかの方法で赤血球を溶血させます。

a)塩化アンモニウム溶血剤を用いる場合
調製した溶血剤 2mL を加えてよく撹拌し、溶血が完了する（液の濁りが消える）まで 5～15 分室温で放置します。

b)コールター全血ライジングキットを用いる場合
サンプルにPBSを加えて400×g、5分間遠心分離を行い、上清を注意深く吸引除去します。これに調製した溶血剤 1mL を加えてよく撹拌し、溶血が完了する（液の濁りが消える）まで 30 秒～2 分間室温で放置した後、フィクサティブ 250μL を加えて撹拌します。

6) 溶血が完了したら PBS を加え、撹拌します。
7) 4℃で 400×g、5 分間遠心分離します。
8) 上清を吸引除去します。
9) 適量の PBS を加え、よく撹拌します。
10) コールターEPICS®/Cytomics 等のフローサイトメーターを用いて測定します。検体は測定までアイスバス中で遮光保存し、できるだけ速やかに測定を行います。

2. Ficoll-paque 調製サンプルを用いた試験管法

1) モノクローナル抗体反応用と対照用に 12mmφ×75mm の試験管を用意します。
2) 各試験管に Ficoll-paque 調製サンプルを 1×10^6 個（細胞濃度が 1×10^3 個/mL の場合 1mL）ずつ分注します。
3) 4℃で 400×g、4 分間遠心分離し、上清を注意深く吸引除去します。
4) モノクローナル抗体反応液 200μL を反応用の試験管に加えます。対照用の試験管にはモノクローナル抗体反応液と同様に濃度調製した RD1 標識マウス IgG コントロール（MsIgG1-RD1 等；別売）を同量加えます。
5) よく撹拌し、4℃で 30 分間反応させます。
6) PBS 1mL を加え、4℃で 400×g、4 分間遠心分離し、上清を吸引除去します。
7) 6)の操作を 2 回繰り返します。
8) 適量のPBSを加え、コールターEPICS®/Cytomics 等のフローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡を用いて測定します。検体は測定までアイスバス中で遮光保存し、できるだけ速やかに測定を行ってください。

3. Ficoll-paque 調製サンプルを用いたマイクロタイタープレート法

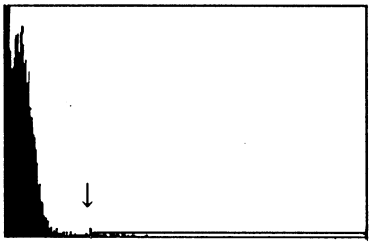
1) あらかじめ 1×10^6 個/200μL に調製した Ficoll-paque 調製サンプル 200μL を U 底 96 穴マイクロタイタープレートに分注します。
2) マイクロタイタープレートを 4℃で 400×g、5 分間遠心分離します。
3) ペレットを壊さないように注意して上清を完全に吸引除去します。（先端を少し曲げたパスツールピペットを用いてください）
4) プレートにふたをして、プレートの底にボルテックスミキサの先端をあてて、プレートの隅々までゆるやかにかつ十分に撹拌し、ペレットをほぐします。
5) モノクローナル抗体反応液200μL を反応用のウエルに加えます。対照用のウエルにはモノクローナル抗体反応液と同様に濃度調製した RD1 標識マウス IgG コントロール（MsIgG1-RD1 等；別売）を同量加えます。
6) 4℃で 30 分間反応させます。
7) マイクロタイタープレートを 4℃で 400×g、5 分間遠心分離します。
8) 3)、4)の操作を行います。
9) PBS 200μL を加え、4℃で 400×g、5 分間遠心分離し、3)、4)の操作を行います。
10) PBS 200μL を加え、適当な試験管に移し、コールターEPICS/Cytomics 等のフローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡を用いて測定します。

*測定結果の判定方法

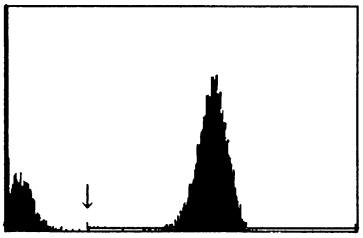
1. フローサイトメトリー法

1) 正しく調整し、適切にゲートをかけたフローサイトメーターを用いて細胞を測定します。
2) 以下のヒストグラムは CYTO-TROL（精度管理用陽性コントロール細胞；別売）をコールターEPICS®で測定し、リンパ球領域にゲートをかけたものです。カーソル（↑）は、アイソタイプコントロールを用いたときの非特異的な染色が 98±1%以上になるような位置にセットしてあります。カーソルの右側を抗体陽性としてカウントします。

＜CD3（IgG1）-RD1 ヒストグラム例＞



ネガティブ・コントロール
（コールター・クローン MsIgG1-RD1）



コールター・クローン CD3（IgG1）-RD1

2. 蛍光顕微鏡法

1) Ficoll-paque 調製サンプル 200μL に、ホルムアルデヒド-PBS（10%）を 20μL 加えて撹拌します。
2) 浮遊液 1 滴を無蛍光スライドグラスに落としてカバーグラスをかけ、周囲をストップコック・グリスでシールします。
3) 直ちに蛍光顕微鏡で観察します。まず明視野位相差により視野内のすべてのリンパ球を数え、暗視野に切り換えて同一視野内の蛍光の明瞭な細胞をカウントします。この繰り返しにより陽性率を求めてください。

CD3（IgG1）陽性率%＝
陽性リンパ球数／総リンパ球数×100

【測定条件の確認】

測定条件が正しいかどうかを確認するため、健常者末梢血を用いて陽性コントロールとします。また、フローサイトメトリー法の場合、測定条件の確認に CYTO-TROL（精度管理用陽性コントロール細胞 製品番号 6604248；別売）を用いることもできます。正常値は施設ごとに設定してください。

Fc レセプタを介した単球、顆粒球に対する非特異結合はリンパ球領域を正しくゲーティングすることで除外できます。蛍光顕微鏡の場合は位相差下での形態や蛍光の強さ（非特異結合の場合、一般に蛍光は、弱い）で判断してください。

各検体のリンパ球に対する非特異的な抗体の Fc 結合を確認するために適切なネガティブ・コントロール抗体を用います。健常者検体の場合、ネガティブ・コントロール抗体陽性率は通常 1～2%となります。いずれの陽性コントロールを測定してもネガティブ・コントロール陽性率が高値を示す場合は、測定結果の信頼性は低い。

臨床的意義

免疫機構の機能的中心であるリンパ球のうち、T 細胞は骨髄中の幹細胞を起源とし、胸腺における機能的成熟過程をへて末梢血、組織に現れます。T 細胞はその分化成熟段階に、あるいは機能的サブセットに特有の細胞表面抗原を有しています。コールタークローン モノクローナル抗体はこのような細胞表面抗原を検出することによって免疫機構をさらに詳しく解明する目的で、Harvard Medical School の Dr.S.F.Schlossman の研究グループとコールター社によって共同開発されました。

T リンパ球及び B リンパ球は免疫機能の中心的役割を果たしています。ヒト末梢血リンパ球ポピュレーションは T 細胞（胸腺由来）、B 細胞（骨髄細胞）、ヌル細胞の 3 つの細胞タイプから成ります。これらの細胞タイプは顕微鏡検査では形態学的に区別できませんが、細胞膜上の特有な抗原の違いによって同定が可能です。

種々のTリンパ球サブタイプが特異的抗原を認識して、エフェクタ機能を発揮したり、細胞性／体液性免疫応答を調節しています。抗原特異的なB細胞は、T細胞を介した、抗原やマクロファージによる活性化の過程で、抗原特異的な免疫グロブリン（Ig）を産生・分泌する形質細胞へと分化します。

E-ロゼット法は、T 細胞に特異的であるものの、光学顕微鏡下で羊赤血球とTリンパ球の結合を観察し細胞数を数えねばなりません。SmIgの測定によるBリンパ球の同定・算定も、他の細胞集団にIgのFc部分に対するレセプタに結合したIgによるSmIg偽陽性がみられるため、精度に限界があります。

さらに近年、Tリンパ球及びBリンパ球を同定するためのモノクローナル抗体が開発されました。従来の比較的特異性の低いポリクローナル抗体（異種抗血清）に比べ、モノクローナル抗体は各々が異なる T 細胞及び B 細胞の表面抗原を特異的に認識します。これにより、正確で確実なリンパ球測定だけでなく、他の細胞マーカー（TdT、HLA-DR 関連抗原、SmIg）と組み合せて、T 細胞及び B 細胞分化段階の同定も行うことができます。

細胞表面抗原は、細胞の成熟（分化）段階や機能を反映する形で、Tリンパ球、B リンパ球上に発現あるいは消失しています。ある抗原が発現した細胞には、他の表面抗原もその一部または全部が様々な期間発現しています。

T リンパ球における”pan-T 細胞”抗原、は、CD7（初期前胸腺細胞）；CD2；CD5（未熟胸腺細胞）；細胞質内 CD3（未熟及び中間型胸腺細胞）；細胞表面 CD3（成熟胸腺細胞）というような順序で発現していきます。これに伴って、CD4 と CD8 の同時発現（中間型胸腺細胞）とその後の各々単独の発現（成熟胸腺細胞）がみられます。

これらの表面抗原は、末梢血やリンパ組織中の休止期及び活性化 T リンパ球まで分化段階を通してその発現が継続します。

“pan-T 細胞”抗原及び”pan-B 細胞”抗原に特異的なモノクローナル抗体は、それぞれ成熟T細胞及びB細胞の同定・算定に用いることができます。特定の細胞表面抗原に特異的なモノクローナル抗体は、リンパ球集団の成熟（分化）段階や機能を規定するのにも使用できます。本品は”pan-T 細胞”抗原のひとつである CD3 抗原への特異的反応により成熟T細胞を同定・算定するために CD3（IgG1）モノクローナル抗体を使用しています。

T リンパ球の陽性率及び絶対数は、ある種の免疫不全症や自己免疫疾患、白血病／リンパ腫における自家骨髄移植後の正常リンパ球回復のモニタリング、疾病時の免疫機能評価の補助、治療による免疫学的な影響の判定等に有用です。

T リンパ球数異常の有無を明らかにすることは、無γグロブリン血症、Common Variable Immunodeficincy、重症複合型免疫不全症、胸腺無形成症（DiGeorge 症候群）等の免疫不全症の診断や予後判定の手助けとなります。T リンパ球陽性率の減少は、多発性硬化症（MS）、全身性エリテマトーデス（SLE）、一次性シェーグエン症候群等の自己免疫疾患で認められ、慢性の炎症性自己免疫疾病の診断や予後の指標となります。

B 細胞性非ホジキンリンパ腫、ハイリスクの T 細胞性リンパ芽球性白血病、T 細胞性リンパ腫で自家骨髄を移植した患者の血液細胞が再建される間、T細胞陽性率の減少がみられることから、Tリンパ球数の測定が細胞集団の回復のモニタリングの補助として有用であることが示唆されます。T リンパ球数は、悪性腫瘍やウィルス（EBV や CMV 等）、細菌、真菌感染時の免疫機能評価や、化学療法や免疫抑制療法、放射線療法等の治療による免疫学的影響の判定の手助けとしても有用です。

性能

【特異性】

CD3（IgG1）モノクローナル抗体（UCHT1）は、白血球分化抗原に対する国際ワークショップにおいて CD3 抗体として認定されています。また、製品で使用する CD3（IgG1）モノクローナル抗体はバーキットリンパ腫由来B細胞株（CD20 陽性）と交差反応を示さないことが確認されています。

【相関性】

末梢血を検体として、本品と弊社の従来品（コールター・クローン T3-RD1）との相関性について調べたところ以下のような良好な結果が得られました。（何れも全血法、コールターEPICS®にて測定）。

n	回帰直線	相関係数（r）
52	Y＝−1.2＋1.02X	0.984

使用上または取扱上の注意

1. 本品にはアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは酸性下で有毒なアジ化水素酸を産生します。また、アジ化物が金属性の排水管内に蓄積することによる爆発の危険性を避けるため、アジ化物の廃棄は多量の流水で希釈して行ってください。
2. コールター全血ライジングキットの中のフィクサティブにはホルマリンが含まれるため、取り扱いには十分注意してください。
3. 有効期限を過ぎた試薬を使用しないでください。
4. 検体及び検体に触れた器具類は感染の危険性があるものとして取り扱いをし、適当な表示、処理をして廃棄してください。
5. 口で吸引しないでください。皮膚や粘膜への検体の接触を避けてください。
6. 保管及びインキューベーション中に試薬を強い光にさらさないでください。
7. 試薬が微生物に汚染されないようにしてください。

貯法、有効期限、安定性

1. 未開封の試薬は、冷蔵（2～8℃）で保存した場合に、各バイアルに明記してある有効期限まで使用できます。
2. 試薬を凍結したり、長時間光にさらすことは避けてください。すべての試薬は使用する前に室温（20～25℃）に戻してください。
3. 試薬の外観に変化がみられたり、コントロール検体による測定値に大きな変化がある場合は、試薬の劣化が考えられるので使用しないでください。試薬の正常な外観はピンク色がかった透明な液体です。

包装単位

コールター・クローン CD3（IgG1）-RD1

*製品番号 6604627 容量 100 テスト（0.5mL）

主要文献

1. Bernardl A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C and Schlossman SF, eds:1984. Leukocyte Typing New York: Springer-Verlag, p. 28, 41, 196.
2. McMichael AJ, ed:1987. Leukocyte Typing Oxford University Press. p.38,40,42,43,I16,167, 170-172, 176, 199, 302-308, 315, 475.
3. Reinherz EL and Schlossman SP:1980. The diffe-rentiation and function of human T lymphocytes. Cell 19:821-827.
4. Aiuta F, Cerottini J-C, Coombs RRA, Cooper M, Dickler HB, Froland S, Fudenberg HH, Greaves MF, Grey HM, Kunkel HG, Natvig J, Dreudhomme J-L, Rabellino E, Rittz RE, Rowe DS, SeligmannM, Siegal FP, Stjemsward J, Terry WD and Wybran J: 1975. Identification, enumeration and isolation of B and T lymphocytes from human peripheral blood. International Union of IMMunological Scienties (IUIS),Report-July 1974. Clin Immunol Immunopathol 3:584-597.
5. Foon KA and Todd RF:1986. Imm3 3unologic classi-fication of leukemia and lymphoma. Blood 68:1-31.
6. Drexler HG, Gignac SM and Minowada J:1988. Routine immunophenotyping of acute leukemias. Blut 57: 327-339.
7. Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM and Bernstein ID:1986. Leukocyte Typing . New York:Springer-Verlag. Vo12, p.15-25,37.
8. Caligiuri M, Murray C, Buchwald D, Levine H, Cheney P, Peterson D, Komaroff AL and Ritz J: 1987. Phenotypic and functional deficiency of natural killer cells in patients with chronic fatigue syndrome. J Immnol 139:3306-3313.
9. Reinherz EL, Meuer S. Fitzgerald KA, Hussey RE, Levine H and Schlossman SF:1982. Antigen recong-nition by human T lymphocytes is linked to surface expression of the T3 molecular complex. Cell 30:735-743.
10. Meuer SC, Acuto O, Hussey RE, Hodgdon JC, Fitzgerald KA, Schlossman SF and Reinherz EL:1983. Evidence for the T3-associated 90K heterodimer as the T-cell antigen receptor. Nature 303:808-810.
11. Reinherz EL, Cooper MD and Schlossman SF: 1981, Abnormalities of T cell maturation and regulation in human beings with immunodeficiency disorders. J Clin Invest 68:699-705.
12. Schmidt RE:1989. Monoclonal antibodies for diagnosis of immunodeficiencies. Blut 59:200-206.
13. Benjamini E and Leskowitz S:1991. Immnology: A ShortCourse. (Second Edition.) New York: Wiley-Liss. p.211-244.
14. Reinherz EL, Weiner HL, Hauser SL, Cohen JA, Disatso JA and Schlossman SF:1990. Loss of suppres sor T cells in active multiple sclero-sis. Analysis with monoclonal antibodies. N Engl J Med 303:125-129.
15. Smolen JS, Chused TM, Leiserson WM, Reeves JP, Alling DW and Steinberg AD:1982. Heterogeneity of immunoregulatory T cell subsets in systemic lupus erythematosus. Am J Med 727:783-790.
16. Smolen JS, Morimoto C, Steinberg AD, Wolf A, Schlossman SF, Steinberg RT, Penne E, Rein herz EL, Rerchlin M and Chused TM:1985. Systemic lupus erythematosus: delineation of subpopulations by clinical, serologic and T cell marker analysis. Am J Med Sci 289:139-147.

17. Morimoto C, Reinherz EL, Schlossman SF, ShurPH, Milis JA and Steinberg SD:1980. Alternations in immunoregulatory T cell subsets in active systemic lupus erythematosus. J Clin Invest 66:1171-1174.
18. Morimoto C, Reinherz EL, Nadler LM, Distaso JA, Steinberg AD and Schlossman SF:1982. Comparison in T-and B-cell markers in patients with Sjogren' s syndrome and systemic lupus erythematosus. Clin Immunol Immunopathol 22:270-278.
19. Pedrazzini AS, Freedman AS, Andersen J, Heflin L, Anderson K, Takvorian R, Canellos (GP, Whitman J, Coral F, Ritz J and Nadler LM:1989. Anti-B cell monoclonal antibody purged autologous bone marrow transplantation for B-cell non-Hodgikin' s lymphoma:Phenotypic reconstitution and B-cell function. Blood 74:2203-2211.
20. Preijers FWMB, DeWitte T, Wessels JMC, DeGast GC, Van Leeuwen E, Capel PJA and Haanen C:1989. Auto-logous transplantation of bone marrow purged in vitro anti-CD7-(WT1-) Ricin A Immunotoxin in T-cell lymphoblastic leukemia and lymphoma. Blood 74:1152-1158.
21. Reinherz EL, O' Brien C, Rosenthal P and Schlossman SP:1980. The cellular basis for viral-induced imrnunodeficiency: Analysis by moonoclonal anti bodies. J Immunol 125:1269-1274.
22. Felsenstein D, Camey WP, Lacoviello VR and Hirsch MS:1985. Phenotypic properties of atypical lympho-cytes in cytomegalovirus-induced mononucleosis. J Infect Dis 152:198-203.
23. Rinaldo CR, Ho M, Hamoudi WH, Gui X and DeBiasio RL:1983. Lymphocyte subsets and natural killer cell responses during cytomegalovirus mononucleo sis. Infect Immun 40:472-477.
24. Goldstein G, Lifter J and Mittler R:1982. Immunoregulatory changes in human disease defected by monoclonal antibodies to T lymphocytes. In:Monoclonal Anyibodies in Clinical Medicine. McMichael AJ and Fabre JW, eds. New York, NY: Academic Press. p. 39-70.
25. Posner MR, Reinherz EL, Lane H, Mauch P, Hellman S and Schlossman SF:1983. Circulating lymphocyte populations in Hodgikin's disease after mantle and paraaortic irradiation. Blood 61:705-708.
26. 26. Beverly PCL and Callard RE:1981. Distinctive functional characteristics of human “T” lymphocyte defined by E rosetting or a mono clonal anti-T cells antibody. Eur J Immunol 11:329-334.
27. Gebel HM, Lebeck LL, Jensik SC, Landy AL and Bray RA:1989, Discordant expression of CD3 and T-cell receptor antigens on lymphocytes from patients treated with OKT3. Transplantation Proceedings 1: 1745-1746.
28. Tunnacliffe A, Olsson C, Traunecker A, Krissensen GW, Karjalainen K and De Le Hera A:1989. The majority of CD3 epitopes are confferrd by the epsilon chain. In leukocyte Typing IV. White Cell Differential Antigens. W Knapp et al.,eds. Oxford: Oxford University Press:295-296.
29. Schroder TI and Chatenoud L:Immunological monitoring during treatment with OKT3. Presented under the auspices of the American Society of Transplant Surgeons. Citation to be filled in when available from authors.
30. Koepke JA and Landy AL:1989. Precision and accuracy of absolute lymphocyte counts. Clin Immunol Immunopathol 52:19-27.
31. 森本幾夫:1986. T 細胞サブセットー最近の進歩とその臨床的意義ー;リウマチ vol.26, 179-188.
32. 東克己ほか:1986. フローサイトメトリーの基礎的検討第1報;溶血剤の改良について;臨床病理 vol.34,補刷, 173.
33. 高瀬浩造:1987. FCM のハードに依存する陽性率の変動について;臨床免疫 vol.19 Suppl.11, 38-41.
34. 東克己ほか:1987. モノクローナル抗体による細胞表面マーカー分析上の問題点ー特に検体の取り扱いについてー;臨床免疫 vol.19 Suppl.11, 42-49.
35. 巽典之ほか:1987. リンパ球サブセット及び白血病タイピングにおけるモノクロナール抗体の選択;臨床免疫 vol.19 Suppl.11, 50-58.
36. 高瀬浩造ほか 1985. モノクロナール抗体による細胞表面抗体検出における非特異的反応の成因とその除去に関する研究;日本臨床免疫学会誌 vol.8, 184-191.
37. 上田龍三:1987. ヒト白血球分化抗原の CD 分類;臨床免疫 vol.19 Suppl.11, 5-7.

**問い合わせ先

ベックマン･コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目５番７号 TOC 有明ウエストタワー

TEL: 0120-566-730 FAX: 03-5530-2460

**製造販売元

ベックマン･コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目５番７号 TOC 有明ウエストタワー