

体外診断用医薬品 **2023年12月改訂(第7版)
 *2022年10月改訂(第6版)

製造販売承認番号:22900EZ00041000

- (2) 薄切後、スライド標本は約 40℃で一晩乾燥させることを推奨します。高温での乾燥は、60℃で 30 分間以内の処理を推奨します。長時間、高温に置くことは避けてください。
- (3) 1 検体につき、スライド標本を 2 枚準備します。1 枚は一次抗体、もう 1 枚は試薬対照として一次抗体の代わりに陰性コントロール ウサギモノクローナル抗体を用いて染色を行います。
- (4) 精度管理用コントロールスライドをスライド標本と同様の手順で作製します。その際、あらかじめ ALK 融合タンパク陽性及び陰性が確認されている検体を用いてください。
- (5) バーコードラベルプリンターより、染色プロトコール認識用バーコードラベルを印刷し、スライドガラスのプロスト部分に貼付します。

*4. 染色プロトコールの設定

本品は「ベンタナ ベンチマーク ULTRA」、「ベンチマーク ULTRA PLUS」、「ベンタナ XT システム ベンチマークモジュール XT」又は「ベンタナ ベンチマーク GX」を用いて操作します。それぞれ以下のプロシージャ及び推奨染色条件で染色を行ってください。電子化された添付文書に記載された染色条件を逸脱した場合、適切な判定結果が得られない可能性があります。

表 1 各機種におけるプロシージャ名

機種名	プロシージャ名
ベンタナ ベンチマーク ULTRA／ベンチマーク ULTRA PLUS	U VENTANA ALK (D5F3)
ベンタナ XT システム ベンチマークモジュール XT	XT OptiView DAB IHC
ベンタナ ベンチマーク GX	BMK OptiView DAB IHC

表 2 染色条件

ベンタナ ベンチマーク ULTRA、ベンチマーク ULTRA PLUS

染色工程	設定内容
Antibody (一次抗体)	VENTANA ALK AB - 16 min(“-7155”を選択) 但し、試薬対照スライドは Negative Control を選択
Counterstain (核染色)	Hematoxylin II - 4 min
Post Counterstain (色出し)	Bluing Reagent - 4 min

ベンタナ XT システム ベンチマークモジュール XT、ベンタナ ベンチマーク GX

染色工程	設定内容
Deparaffinization (脱パラフィン)	Selected
Cell Conditioning (熱処理)	ULTRA CC1 92 min
Pre-Primary Peroxidase Inhibitor (ペルオキシダーゼインヒビター前処理)	Selected
Antibody (一次抗体)	16 min
HQ Linker (リンカー-HQ)	12 min
HRP Multimer (マルチマー-HRP)	12 min
OV AMP H2O2, OV Amplifier (増感用タイラマイド-HQ + 増感用 H2O2 試薬)	8 min
OV AMP Multimer (増感用マルチマー-HRP)	8 min
Counterstain (核染色)	Hematoxylin II - 4 min
Post Counterstain (色出し)	Bluing - 4 min

*5. 測定(操作)方法

本品は自動免疫染色装置を用いて操作を行います。代表的な自動免疫染色装置である「ベンタナ ベンチマーク ULTRA」を使用した場合の全自動の操作方法は、以下のとおりです。(詳しくは自動免疫染色装置の取扱説明書を参照してください。)

- (1) 染色モジュール、PC、E-bar システムの順に電源を入れます。
- (2) Windows 画面から VSS ソフトウェアを立ち上げます。

- (3) InstrumentView を表示し、画面右下の Ready モードボタンをクリックします。
- (4) 装置の取扱説明書に従ってプロトコールを作成し、ソフトウェアに保存します。
- (5) バーコードラベルを印字し、検体スライドに貼り付けます。
- (6) 必要な試薬を染色モジュールにセットします。
- (7) 検体スライドを染色モジュールにセットし、スライドドローワーと試薬フードを閉めます。
- (8) 染色モジュールにあらかじめセットされているバッファー類の量がじゅうぶんにあることを確認し、Running モードボタンをクリックし、染色開始確認のポップアップ画面の Yes をクリックします。試薬と検体スライドのバーコードを読み取り後、染色処理が開始されます。
 - 1) 検体スライドを加熱してパラフィンを溶解し、その後 EZ バッファーで洗浄することにより脱パラフィンが行われます。
 - 2) 検体スライドは CC1 バッファー ULTRA により設定された条件で熱処理が行われます。
 - 3) スライド上の検体にインヒビターを 1 滴(約 100 μ L)加え、36℃で 4 分間反応します。
 - 4) スライド上のインヒビターを洗浄後、試薬対照以外の全てのスライドには一次抗体、試薬対照スライドには別売の陰性コントロール試薬を 1 滴(約 100 μ L)加え、36℃で 16 分間反応します。
 - 5) スライド上の一次抗体を洗浄後、リンカー-HQ を 1 滴(約 100 μ L)加え、36℃で 12 分間反応します。
 - 6) スライド上のリンカー-HQ を洗浄後、マルチマー-HRP を 1 滴(約 100 μ L)加え、36℃で 12 分間反応します。
 - 7) スライド上のマルチマー-HRP を洗浄後、増感用タイラマイド-HQ と増感用 H2O2 試薬を 1 滴ずつ(約 100 μ L)加え、8 分間反応します。
 - 8) スライド上の増感用タイラマイド-HQ と増感用 H2O2 試薬を洗浄後、増感用マルチマー-HRP を 1 滴(約 100 μ L)加え、8 分間反応します。
 - 9) スライド上の増感用マルチマー-HRP を洗浄後、DAB 試薬と H2O2 試薬を 1 滴ずつ(約 100 μ L)加え、36℃で 8 分間反応します。
 - 10) スライド上の DAB 試薬と H2O2 試薬を洗浄後、COPPER 試薬を 1 滴(約 100 μ L)加え、36℃で 4 分間反応します。
 - 11) スライド上の COPPER 試薬を洗浄します。

対比染色

検出終了後、対比染色として核染色及び色出しを実施します。

- (9) 染色が終了したら、装置からスライド標本を取り外します。
- (10) スライド標本を水洗、脱水、透徹後、封入します。

【測定結果の判定法】

1. 判定方法

光学顕微鏡により鏡検を行います。ALK 融合タンパクが存在する場合、細胞質が茶褐色に染色されます。

精度管理用コントロールスライド

特異染色像を観察し、あらかじめ陽性が確認されている細胞に陽性所見、陰性が確認されている細胞に陰性所見が認められることを確認します。

試薬対照スライド

いずれの細胞にも陽性所見が認められないことを確認します。陽性所見がある場合、非特異反応が生じていると考えられます。

精度管理用コントロールスライド及び試薬対照スライドの染色に問題が無いことを確認した後、検体スライドにおいて陽性・陰性の判定を行います。

2. 判定基準

腫瘍細胞の細胞質における顆粒状の強い茶褐色の染色が認められる場合、陽性細胞数に関わらず陽性と判定します。なお、本品は ALK 融合タンパク以外に全長 ALK タンパクにも反応するた

め、一部の神経系細胞などでも陽性となることが知られています⁴⁾。また、肺胞マクロファージや粘液を含んだ正常粘液細胞などにも染まる場合がありますが、これらはアーチファクトであるため判定対象から除外してください。陽性所見がみられたときは他の免疫染色結果や組織診断等も踏まえ、総合的に判断してください。

表3 判定基準

判定	染色パターン
陽性	陽性腫瘍細胞数にかかわらず、腫瘍細胞の細胞質において強い顆粒状の染まりが認められる。
陰性	腫瘍細胞の細胞質において強い顆粒状の染まりが認められない。

3. 判定上の注意

- (1) 以下の染色はアーチファクトとして知られているものであるため、判定対象から除外してください。
 - ・肺胞マクロファージにおける細胞質への薄い染まり
 - ・神経由来細胞への染まり
 - ・腺上皮細胞への染まり
 - ・リンパ球浸潤による散在性リンパ球への染まり
- (2) 非小細胞肺癌における正常粘液細胞や壊死部分においてもバックグラウンド染色が認められる場合がありますが、これらの反応も判定対象から除外してください。
- (3) 本品は ALK 融合タンパク以外に全長 ALK タンパクにも反応するため、神経内分泌分化を示す腫瘍などにおいて、陽性反応が認められる場合があります。全長 ALK タンパクによる染色が疑われる場合には、細胞形態や組織構築及び他の抗体染色(クロモグラニン、シナプトフィジン、CD56 など)の結果から総合的に判断することが推奨されます。

【臨床的意義】

本品は免疫組織化学染色法を用いて ALK 融合タンパクを検出する体外診断用医薬品です。本品の ALK 融合タンパクの検出はクリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ塩酸塩、ブリグチニブ又はロルラチニブの非小細胞肺癌患者への適応を判定することを目的として用います。

クリゾチニブの臨床成績概略

国際共同第Ⅲ相試験(A8081014 試験)を基にしたレトロスペクティブ解析

A8081014 試験^{注1)}では FISH 法^{注2)}により ALK 融合遺伝子陽性が確認された 343 例が登録され、172 例がクリゾチニブ群、171 例が化学療法群に無作為割付されました。入手可能な検体を対象に本品にてレトロスペクティブに測定を行い、A8081014 試験で得られた試験成績をもとに本品により患者層別を行った場合のクリゾチニブ群と化学療法群間の PFS 比較におけるハザード比の評価を行ったところ、下表の結果^{注3)}が得られました。

		HR	SE	95%信頼 区間	化学療法 群(n)	クリゾチ ニブ 群 (n)
全登録例	FISH 法陽性	0.454	0.139	(0.346, 0.596)	171	172
本品 測定	FISH 法陽性	0.407	0.214	(0.267, 0.618)	82	90
	FISH 法陽性 ／本品陽性	0.401	0.237	(0.252, 0.639)	63	78
	FISH 法陽性 ／本品陰性	1.711	0.703	(0.431, 6.789)	17	8

注1) 前治療歴のない ALK 融合遺伝子陽性の非扁平非小細胞肺癌患者を対象とし、化学療法剤(シスプラチン、ペメトレキセド併用又はカルボプラチン、ペメトレキセド併用)を対照群としてクリゾチニブの有効性と安全性を評価した国際共同第Ⅲ 相無作為化非盲検比較試験。

注2) Vysis ALK Break Apart FISH プローベキット

注3) 本検討では FISH 法陰性／本品陽性例における臨床成績は得られていません。

セリチニブの臨床成績概略(セリチニブの一部変更承認時の臨床成績より引用)

国際共同第Ⅲ相試験(A2301 試験)

化学療法歴のない ALK 融合遺伝子陽性^{注4)}の切除不能な進行・再

発非小細胞肺癌患者 376 例(うち日本人患者 12 例)がセリチニブ又は化学療法剤(ペメトレキセドとシスプラチン又はカルボプラチンによる導入療法、並びにそれに続くペメトレキセドによる維持療法)に無作為割付されました。主要評価項目である独立中央画像評価機関の判定に基づく無増悪生存期間(中央値)は、セリチニブ群で 16.6 ヶ月(95%信頼区間:12.6、27.2)、化学療法群で 8.1 ヶ月(95%信頼区間:5.8、11.1)であり、化学療法群と比べてセリチニブ群で有意な無増悪生存期間の延長が認められました(層別 Cox 比例ハザードモデルによるハザード比 [95%信頼区間]=0.55 [0.42、0.73]、層別ログランク検定による片側 p 値<0.001)。

注4) 本品を用いて検査されました。

ロルラチニブの臨床成績概略

国際共同第Ⅲ相試験(B7461006 試験)

化学療法未治療^{注5)}の ALK 融合遺伝子陽性^{注6)}の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌患者 296 例(うち日本人 48 例)に、ロルラチニブ又はクリゾチニブを投与した結果を下表及び下図に示します。ロルラチニブは主要評価項目である無増悪生存期間において、クリゾチニブ群に対して優越性を示しました(独立判定委員会による評価)。

無増悪生存期間	ロルラチニブ群 (n=149)	クリゾチニブ群 (n=147)
中央値(月) (95%信頼区間)	推定不能 (推定不能、推定不能)	9.3 (7.6, 11.1)
ハザード比 (95%信頼区間)	0.28 (0.191, 0.413)	
p 値 ^{注7)}	<0.0001	

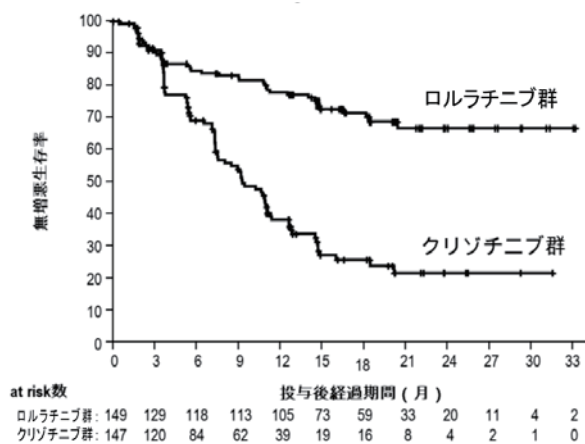


図. 無増悪生存期間の Kaplan-Meier 曲線

注5) 無作為化の 12 ヶ月以上前に術前又は術後補助療法が実施された患者の登録は認められました。

注6) 本品を用いて検査されました。

注7) 層別ログランク検定(有意水準(片側)0.008)

【性能】

1. 性能

【用法・用量(操作方法)】の記載に従い試験を行った場合、下記の規格に適合します。

- (1) 陽性コントロールスライドを 3 枚同時に操作するとき、いずれのコントロールスライドにおいても、明らかな特異染色像が観察されること。
- (2) 陽性コントロールスライドを 3 枚同時に操作するとき、いずれのコントロールスライドにおいても、染色されるべき細胞の背景組織には顕著な染色像は認められないこと。

2. 関連性試験成績

非小細胞肺癌 80 例について、本品と既承認品(FISH 法)との一致率を検討したところ、下記のとおり良好な相関性が得られました。

		既承認品(FISH 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	37 例	3 例	40 例
	陰性	1 例	39 例	40 例
計		38 例	42 例	80 例

全体一致率：95.0%(76/80)

陽性一致率：97.4%(37/38)

陰性一致率：92.9%(39/42)

非小細胞肺癌 120 例について、本品と既承認品(IHC 法によるスクリーニング及び FISH 法による確認)との一致率を検討したところ、下記のとおり良好な相関性が得られました。

		既承認品 (IHC 法 + FISH 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	56 例	2 例	58 例
	陰性	0 例	62 例	62 例
計		56 例	64 例	120 例

全体一致率：98.3%(118/120)

陽性一致率：100%(56/56)

陰性一致率：96.9%(62/64)

3. 臨床性能試験成績

海外臨床性能試験

クリプチブの国際共同第Ⅲ相試験(A8081014 試験)にリクルートされた非小細胞肺癌患者検体 933 例を用い、既承認品(FISH 法)との一致率を検討しました。

		既承認品		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	154 例	28 例	182 例
	陰性	25 例	726 例	751 例
計		179 例	754 例	933 例

全体一致率：94.3%(880/933)

陽性一致率：86.0%(154/179)

陰性一致率：96.3%(726/754)

セリチブの国際共同第Ⅲ相試験(A2301 試験)にリクルートされた非小細胞肺癌患者検体 1778 例を用い、本品の染色性能を評価しました。初回の染色で無効となった症例のうち、追加測定のための検体が入手できたものは再検を実施し、初回判定時と最終判定時の結果を比較しました(再検を実施していない症例は初回判定を最終判定とみなしました)。

初回判定の結果が最終判定と比して著しく劣らないことから、本品に起因して再検が生じる頻度は低く、本品の染色性能が優れていることが示されました。

項目	初回判定	最終判定
Staining Acceptability Rate ^{※1}	93.1%	97.3%
Background Acceptability Rate ^{※2}	99.0%	99.8%
Morphology Acceptability Rate ^{※3}	99.0%	99.9%

※1 有効な測定結果(陽性又は陰性)が得られた検体の割合(%)

※2 背景組織に顕著な染色像が認められなかった検体の割合(%)

※3 適切な形態が確認できた検体の割合(%)

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意

- (1) スライド標本や試薬を取り扱っている間は、使い捨ての手袋の着用を推奨します。
- (2) スライド標本や試薬を取り扱っている場所での喫煙・飲食は避けてください。
- (3) スライド標本は、感染性のあるものとして取り扱い、適切な予防措置をとってください。
- (4) 試薬、スライド標本が皮膚や粘膜に直接触れないようにしてください。
- (5) 試薬がこぼれたり、漏れたりした場合は、消毒剤及び洗浄剤できれいに拭き取ってください。
- (6) 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合、水でじゅうぶん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) 試薬は必ず貯蔵方法に従って保存し、凍結など指定の条件以外で保存したものや使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
- (2) 試薬を装置にセットする場合は、必ずキャップとストッパーを外してからセットしてください。
- (3) 使用後の試薬は、できるだけ速やかにキャップをはめて冷蔵庫に保管してください。
- (4) 試薬の注ぎ足しは行わないでください。

3. 廃棄上の注意

廃棄にあたっては、各施設の内部規則及び各地域により規定されている水質汚濁防止法などの規則に留意して処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法

2～8℃で保存してください。凍結は避けてください。

2. 有効期間

12 ヶ月

一次抗体：14 ヶ月

ペンタナ OptiView DAB ユニバーサルキット：12 ヶ月

ペンタナ OptiView 増感試薬：14 ヶ月

【包装単位】

ペンタナ OptiView ALK(D5F3)

1. 一次抗体 50 テスト 5 mL×1 ディスペンサー
(商品コード 113735)
2. ペンタナ OptiView DAB ユニバーサルキット 250 テスト
(商品コード 111427)
インヒビター 25 mL×1 ディスペンサー
リンカー-HQ 25 mL×1 ディスペンサー
マルチマー-HRP 25 mL×1 ディスペンサー
DAB 試薬 25 mL×1 ディスペンサー
H2O2 試薬 25 mL×1 ディスペンサー
COPPER 試薬 25 mL×1 ディスペンサー
3. ペンタナ OptiView 増感試薬 50 テスト
(商品コード 113742)
増感用タイラミド-HQ 5 mL×1 ディスペンサー
増感用マルチマー-HRP 5 mL×1 ディスペンサー
増感用 H2O2 試薬 5 mL×1 ディスペンサー

【主要文献】

- 1) Mino-Kenudson, M. et al. A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. Clin Cancer Res. 2010, 16, p.1,561～1,571.
- 2) Sheehan, D.C. et al. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company. 1980.
- 3) Carson F, Hladik C. Histotechnology: A Self Instructional Text, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- 4) Iwahara, T. et al. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. Oncogene. 1997, 14, p.439～449.

【問い合わせ先】

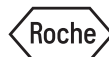
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
カスタマーソリューションセンター
〒108-0075 東京都港区港南 1-2-70
フリーダイヤル：0120-600-152

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所等】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
〒108-0075 東京都港区港南 1-2-70
フリーダイヤル：0120-600-152

Ventana is a trademark of Roche.

Ventana は Roche の商標です。



ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社