この電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品　　2025年 9月 作成（第1版）
製造販売承認番号：30700EZX00036000

p16 タンパクキット
Ki-67 タンパクキット

ベンタナ CINtec PLUS Cytology Dual Stain

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 染色結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて、担当医師が総合的に判断してください。
3. 電子化された添付文書に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用してください。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、測定結果の信頼性を保証しかねます。
4. 使用する機器の電子化された添付文書及び取扱説明書をよく読み、記載に従って使用してください。

【形状・構造等（キットの構成）】

構成試薬	成分
一次抗体	抗 p16（E6H4）マウスモノクローナル抗体、抗 Ki-67（274-11AC3V1）ウサギモノクローナル抗体
インヒビター	過酸化水素
リンカー-HQ	ヒドロキシキノキサリン標識抗マウス IgG ヤギポリクローナル抗体
マルチマー-HRP	ペルオキシダーゼ標識抗ヒドロキシキノキサリンマウスモノクローナル抗体
DAB 試薬	3,3’-ジアミノベンジジン
H2O2 試薬	過酸化水素
リンカー-NP	リン酸ナフトール標識抗ウサギ IgG ヤギポリクローナル抗体
マルチマー-AP	アルカリフォスファターゼ標識抗リン酸ナフトールマウスモノクローナル抗体
Naphthol Phosphate 試薬	リン酸ナフトール
Fast Red 試薬	ファストレッド

【使用目的】

細胞中のp16 タンパク及びKi-67 タンパクの検出
（子宮頸部上皮内病変の診断補助）

【測定原理】

本品は、免疫細胞染色法により細胞中の p16 タンパク及び Ki-67 タンパクを同時に検出します。

p16 タンパクの検出において、スライド上の検体に一次抗体を反応させると、検体中に存在する p16 タンパクと反応します。次にヒドロキシキノキサリンで標識したリンカー-HQ を反応させた後、ペルオキシダーゼで標識したマルチマー-HRP を反応させると、スライド上に＜p16 タンパク – 一次抗体- リンカー-HQ – マルチマー-HRP＞の結合物が形成されます。この結合物に DAB 試薬及び H2O2 試薬を添加すると、結合物中のペルオキシダーゼと反応し、茶褐色に染色されます。

Ki-67 タンパクの検出において、スライド上の検体に一次抗体を反応させると、検体中に存在する Ki-67 タンパクと反応します。次にリン酸ナフトールで標識したリンカー-NP を反応させた後、アルカリフォスファターゼで標識したマルチマー-AP を反応させると、スライド上に＜Ki-67 タンパク – 一次抗体 – リンカー-NP – マルチマー-AP＞の結合物が形成されます。この結合物に Fast Red 試薬及び Naphthol Phosphate 試薬を添加すると、結合物中のアルカリフォスファターゼと反応し、赤色に染色されます。

【操作上の注意】

1. **検体及びスライド標本**

検体から作製したスライド標本を使用します。LBC 法（液状化検体細胞診）又は直接塗抹法（Conventional）により作製したスライド標本が使用可能です。

(1) 検体の採取

LBC 法の場合、検体の採取には、LBC 用の採取容器「PreservCyt Solution：Thinprep（ホロジックジャパン株式会社）」、「BD シュアパス™ コレクションバイアル：SurePath（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）」、「Roche Cell Collection Medium：RCCM(ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)」を使用します。採取方法は使用する製品の説明書に従ってください。Conventional の場合、採取容器は使用せず、適切な方法により検体を採取します。

(2) 検体の保存

PreservCyt Solution に採取した検体は、採取後 2～8℃の条件で 12 週間安定です。また、採取後常温の条件で 5 週間保存した後、2～8℃の条件で 12 週間安定です。

RCCM に採取した検体は、採取後常温の条件で 5 週間保存した後、2～8℃の条件で 12 週間安定です。

BD シュアパス™ コレクションバイアルに採取した検体は、採取後 2～8℃で 12 週間安定です。また、採取後常温の条件で 4 週間安定です。

(3) スライド標本の作製

LBC 用の固定保存液からスライド標本を作製する方法及び使用するスライドガラスは、使用する製品の製造元の基準に従ってください。また、使用するスライドガラスは製造後なるべく新しいものを使用してください。Conventional の場合、検体採取後速やかに固定してください。

(4) スライド標本の保存

スライド標本は乾燥後、遮光して常温で保存し、7 日以内に染色を実施してください。

2. **その他の留意事項**

(1) 子宮頸部の検体には、目視で血液が認められることがあります。検査に影響を与える量の血液が認められる場合は、スライド標本作製前に、製造元の基準に従って処理をしてください。

(2) スライド標本は、エタノール固定後、室温で少なくとも 60 分間乾燥させてください。

(3) 本品の試薬は既に適切な濃度に希釈されているので、希釈せずにそのまま使用してください。希釈して使用するとじゅうぶんな染色結果が得られないことがあります。

(4) 本品の染色の際は、必ず同時に、陽性・陰性コントロール（精度管理用コントロール）を用いたスライド標本の作製及び染色を行い、染色操作が適切に行われていることを確認してください。

(5) 本品の適用機器はベンタナ ベンチマーク ULTRA、ベンチマーク ULTRA PLUS、ベンタナ ベンチマーク GX です。

【用法・用量(操作方法)】

1. 別途必要な器具・器材・試薬

・自動染色装置(ベンタナ ベンチマーク ULTRA、ベンチマーク ULTRA PLUS、 ベンタナ ベンチマーク GX)
・スライドバーコードラベル
・リアクションバッファー(精製水又は脱イオン水で 10 倍に希釈)
・液体カバースリップ HI 又は液体カバースリップ ULTRA
・CC1 バッファー又は CC1 バッファー ULTRA
・ヘマトキシリン核染色試薬
・炭酸リチウム試薬
・変性エタノール(純度 95%以上)
・精製水/脱イオン水
・キシレン
・染色用バット、 染色かご
・ドライオーブン
・光学顕微鏡
・スライドガラス
・LBC 用の固定保存液
「PreservCyt Solution:Thinprep(ホロジックジャパン株式会社)」
「BD シュアパス™ コレクションバイアル:SurePath(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)」、
「Roche Cell Collection Medium:RCCM(ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社)」
・水溶性封入剤、 キシレンベース封入剤、 カバースリップ
・陽性・陰性コントロール(精度管理用コントロール)

2. 試薬の調製方法

(1) 初回使用時の試薬本品の外箱、又はラベルに付いている登録ボタン又は二次元バーコードを機器付属のツールで読み取り、 装置に登録します。
(2) 各キットはベンチマークの試薬です。 ディスペンサー 試薬は開封時にシッピングキーを外し、希釈せずにそのまま使用します。
(3) 必要に応じて調製したバッファー類、 液体カバースリップをバッファーモジュールの各ボトルに充填します。

3. スライド標本の準備

(1) 適切な方法により、 検体スライドを作製します。
(2) 検体スライドと同様の手順にて、 陽性・陰性コントロールスライド(精度管理用コントロールスライド)を作製します。
(3) 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、 スライドガラスのフロスト部分に貼付します。

4. 染色プロトコールの設定

本品は自動染色装置を用いて染色を行います。以下の染色条件を参考にしてください。

ベンタナ ベンチマーク ULTRA/ベンチマーク ULTRA PLUS

染色条件	染色プロトコール		
	ThinPrep /RCCM	SurePath	Conventional
ThinPrep	Selected	Not Selected	Not Selected
SurePath	Not Selected	Selected	Not Selected
Other	Not Selected	Not Selected	Selected
Cell Conditioning	Not Selectable	Not Selectable	16 min
Antibody Inc Time	16 min	16 min	16 min
HQ Linker Inc Time	12 min	16 min	12 min
HRP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
NP Linker Inc Time	8 min	16 min	8 min
AP Multimer Inc Time	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bluing	4 min	4 min	4 min

ベンタナ ベンチマーク GX

染色条件	染色プロトコール		
	ThinPrep /RCCM	SurePath	Conventional
ThinPrep	Selected	Not Selected	Not Selected
SurePath	Not Selected	Selected	Not Selected
Other	Not Selected	Not Selected	Selected
Cell Conditioning	Not Selectable	Not Selectable	16 min
Antibody Inc Time	16 min	20 min	16 min
HQ Linker Inc Time	12 min	16 min	12 min
HRP Multimer Inc	6 min	8 min	8 min
NP Linker Inc Time	8 min	16 min	8 min
AP Multimer Inc Time	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bluing	4 min	4 min	4 min

5. 操作方法

代表的な自動染色装置である「ベンタナ ベンチマーク ULTRA」を使用し、Thinprep/RCCM を用いた場合の操作方法は、以下のとおりです。
(詳しくは自動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 の画面から VSS ソフトウエアを立ち上げます。
(3) Instrument View 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、 ソフトウエアに保存します。
(5) 廃棄タンクの液量を確認し、 必要に応じて適切な方法で廃棄します(施設の廃棄基準を順守してください)。
(6) バーコードラベルを印字し、 スライド標本に貼り付けます。
(7) 必要な試薬を染色モジュールにセットします。このとき、試薬の液量や試薬ディスペンサーキャップがすべて外されていることを確認します。また、ノズルの流路を塞ぐ大きな気泡や析出物等がないことを確認し、 析出物があれば金属以外の細いピンで除去してください。 大きな気泡が確認された場合は、 弊社カスタマーソリューションセンターへご連絡ください。
(8) 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。
(9) 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(容器の半分以上)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。

(10) 試薬と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。

前処理

スライドは、CC1 バッファーにより設定された条件で熱処理が行われます。

一次抗体の反応及び検出

1) スライド上の検体にインヒビターを 1 滴(100 μL)加え、4 分間反応させます。
2) スライド上のインヒビターを洗浄後、一次抗体を 1 滴(100 μL)加え、16 分間反応させます。
3) スライド上の一次抗体を洗浄後、リンカー-HQ を 1 滴(100 μL)加え 12 分間反応させます。
4) スライド上のリンカー-HQ を洗浄後、マルチマー-HRP を 1 滴(100 μL)加え 8 分間反応させます。
5) スライド上のマルチマー-HRP を洗浄後、DAB 試薬と H2O2 試薬を 1 滴(100 μL)ずつ加え、8 分間反応させます。
6) スライド上の DAB 試薬と H2O2 試薬を洗浄後、リンカー-NP を 1 滴(100 μL)加え 8 分間反応させます。
7) スライド上のリンカー-NP を洗浄後、マルチマー-AP を 1 滴(100 μL)加え 8 分間反応させます。
8) スライド上のマルチマー-AP を洗浄後、Naphthol Phosphate 試薬と Fast Red 試薬を 1 滴(100 μL)ずつ加え、16 分間反応させます。
9) スライド上の Naphthol Phosphate 試薬と Fast Red 試薬を洗浄します。

対比染色

1) スライド上にヘマトキシリン核染色試薬を 1 滴加え、設定時間反応させます。
2) スライドを洗浄後、炭酸リチウム試薬 1 滴を加え、設定時間反応させます。その後、洗浄を行います。

(11) 染色が終了したら、自動染色装置から検体スライドを取り出し、水洗、水溶性封入剤にて封入、60℃で 60 分間又は室温で一晩乾燥させた後、透徹後、キシレンベース封入剤にて封入し、光学顕微鏡により鏡検を行います。

【測定結果の判定法】

光学顕微鏡により鏡検を行います。p16 タンパクが存在する場合、核及び/又は細胞質が茶褐色に染色されます。Ki-67 タンパクが存在する場合、核が赤色に染色されます。p16 タンパク特異的な茶褐色の細胞質への染色及び Ki-67 タンパク特異的な赤色の核染色の共局在を示す細胞が一つ以上存在する場合、細胞形態学的特徴に関わらず、陽性と判定します。

・陽性・陰性コントロールスライド(精度管理用コントロールスライド)

特異的な染色像を観察し、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。

・検体スライド

陽性・陰性コントロールスライド(精度管理用コントロールスライド)の染色に問題が無いことを確認した後、検体の陽性・陰性の判定を行います。

【臨床的意義】

p16 タンパクはサイクリン依存性キナーゼインヒビターとして、細胞周期の進行及び細胞分化において重要な役割を担っています[1-4]。細胞分化の過程では pRB を介した G1-S 期の移行を制御し、細胞周期停止の引き金となります。このように、p16INK4a は、通常の細胞周期では増殖抑制に働きます[5]。

正常に分化した細胞では p16 タンパクの発現は低レベルで、通常、免疫細胞化学染色法(ICC)では検出されません[6]。

子宮頸部異形成では、p16 の過剰発現は、HPV ウイルスにより産生された E6/E7 タンパクにより細胞増殖が活性化されている状態を反映しており、形質転換を引き起こした HPV 感染の代替バイオマーカーと考えられています[6-10]。

子宮頸部細胞診における p16 タンパクの検出は、HPV 検査陽性者だけでなく、細胞診異常者のトリアージにも有用な補助マーカーとし提唱されています[8)-10)]。しかしながら、p16 は正常な細胞周期にある扁平上皮化成細胞や子宮内膜細胞でも観察されることがあるため、p16 の単染色で判定する際には、形態学的にもこれらの細胞をさらに判別する必要があります[6)8)9)]。

同一細胞内における p16 と増殖マーカーである Ki-67 の同時検出する ICC は、形態学的な判別を必要とせず、細胞診標本中の子宮頸部異形成細胞を同定する重要な方法です。[8)11)12)]。

Ki-67 は細胞増殖に密接に関連している核および核小体タンパク質であり、細胞周期(G0 期)の細胞には、標準的な免疫染色で、検出されません[13)]。通常、Ki-67 タンパクの発現は、p16 とは相互排他的です。しかしながら、細胞周期を制御する pRB を介する経路が阻害されている細胞(ハイリスク型 HPV による E6/E7 タンパクを発現している上皮細胞など)は、増殖能があり、p16 タンパクの発現と同時に Ki-67 を発現する可能性があります[6)8)]。子宮頸部細胞診標本において、形態学的判別に頼らずに細胞周期異常を呈した細胞を検出する指標として、p16 と Ki-67 が共発現している細胞の検出は有用です。したがって、p16 と Ki-67 が共発現している細胞の検出は、HPV 感染により形質転換が引き起こされた子宮頸部上皮内腫瘍の指標になる可能性があります[6)8)]。

近年、子宮頸がん一次スクリーニングの様々な結果に基づいて、コルポスコピーが必要な女性を同定するため、p16/Ki-67 二重免疫細胞化学染色の臨床的有用性を評価する多くの研究が発表されています。その結果には、細胞診一次スクリーニングにて、細胞診 ASC-US (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance)または LSIL (Low grade Squamous Intraepithelial Lesion)の女性のトリアージ、HPV 一次スクリーニング検査にて高リスク型 HPV 陽性者のトリアージ、あるいは細胞診/HPV 併用した一次スクリーニングの併用において、細胞診異常または細胞診 NILM/HPV 陽性者のトリアージがあります。[12,14-30)]

本品の臨床性能試験では、高リスク型 HPV DNA 検査陽性者から、≧CIN2 又は≧CIN3 を有する患者を検出する性能を評価するため、本品及び細胞診の性能を比較しました。その結果、本品は細胞診よりも優位な性能を示しました。また同様に、細胞診 ASC-US 又は LSIL の患者において、本品及び高リスク型 HPV DNA 検査の性能を比較した結果、本品は高リスク型 HPV DNA 検査よりも効率よく≧CIN2 又は≧CIN3 を有する患者を検出する性能を有することが示されました。以上より、本品は、精密検査を実施すべき患者を高い精度で検出することが可能な検査法であり、「子宮頸部上皮内病変の診断補助」に有用です。

【性能】

1. 性能

【用法・用量(操作方法)】の記載に従い、4 枚の陽性コントロールスライドを作製します。1 枚の陽性コントロールスライドを品質確認済みの製品ロットで染色することで、1 枚の対照スライドを作製します。3 枚の陽性コントロールスライドを試験対象の製品ロットで染色することで、3 枚の試験スライドを作製します。特異染色(p16 タンパク染色及び Ki-67 染色)の染色強度を 0～3、背景染色の染色強度を 0～1 に便宜的にスコア化するとき、対照スライド及び各試験スライドが以下の基準を満たします。

項目	基準
検体の適格性	以下の両方の要件を満たすこと。 ・5000 個以上の保存状態の良好な扁平上皮細胞を有する ・不明瞭な要素(細菌、粘液、炎症、血液等)が検体の領域の 75%以下
特異染色	各試験スライド中の染色された細胞の染色強度スコアの平均値が 1.5～2.5 以内であること
背景染色	染色強度スコアが≦0.75 であること

2. 最小検出感度

本品はスライド上の細胞を検体として免疫細胞染色を行うものであり、細胞中の抗原量を正確に測定することができないため、本品の最小検出感度を定量的に示すことはできません。

3. 臨床性能試験成績(IMPACT Study)

本試験は、①HPV DNA 検査陽性※1、細胞診にて②ASC-US 又は③LSIL と判定された被験者から≧CIN2 又は≧CIN3 を有する患者を検出する性能を評価することを目的としました。

定期的な子宮頸癌スクリーニングを受けている女性 35,263 名を登録し、その内、組織診※2 の診断結果が得られた 6,780 名を被験者としました。本品、HPV DNA 検査(コバス 6800/8800 システム HPV)及び細胞診の検査結果を用いて、検査法毎に評価項目※3 を算出・比較しました。

※1 コバス 6800/8800 システム HPV にて、HPV16 型、18 型又はその他の HR HPV(31, 33 ,35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 及び 68 型)陽性

※2 診断には H&E 染色スライドを用いました。加えて、LAST ガイドライン(The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions)にて H&E 染色スライドと p16 染色スライドの併用が推奨されるケース(ただし、CIN1 以下かつ ASC-US/HPV16+の症例を除く)では、p16 染色スライドを併用しました。

※3 ≧CIN2 又は≧CIN3 を有する患者を検出する際の感度、特異度、陽性的中率、1-陰性的中率(残存リスク)

＜主要評価項目＞

①HPV DNA 検査 陽性群(検査法:本品)

表 1-1. 25～65 歳の患者(3911 例)における本品及び組織診の結果

本品	組織診						
	No CIN	CIN1	CIN2	CIN3	AIS※4	Cancer※5	合計
陽性	1191	248	257	187	11	7	1901
陰性	1826	110	50	23	1	0	2010
合計	3017	358	307	210	12	7	3911

※4 AIS:Adenocarcinoma in situ

※5 Cancer:Squamous cell carcinoma, Adenocarcinoma and/or adenosquamous carcinoma, Other malignant neoplasm

表 1-2. 25～65 歳の患者(3911 例)における本品の評価項目

ジェノタイプ	HPV 16/18 型	その他の HR HPV	HPV 16/18 型	その他の HR HPV
カットオフ	≧CIN2		≧CIN3	
有病率	19.6%	11.2%	11.6%	3.4%
感度 (95%信頼区間)	90.8% (86.4, 93.9)	82.7% (78.1, 86.6)	91.9% (86.1, 95.4)	86.0% (77.5, 91.6)
特異度 (95%信頼区間)	59.0% (55.9, 62.1)	56.7% (54.7, 58.7)	54.7% (51.6, 57.7)	53.6% (51.7, 55.5)
陽性的中率 (95%信頼区間)	35.1% (33.1, 37.1)	19.4% (18.3, 20.5)	21.1% (19.6, 22.5)	6.1% (5.5, 6.6)
1－陰性的中率 (95%信頼区間)	3.6% (2.4, 5.3)	3.7% (2.9, 4.7)	1.9% (1.1, 3.2)	0.9% (0.5, 1.5)

≧CIN2 及び≧CIN3 の検出において、本品の 1－陰性的中率(残存リスク)は 5%以下となりました。

＜探索的評価項目＞

①HPV DNA 検査 陽性群(検査法:本品)

表 1-3. 30～65 歳の患者(2804 例)における本品の評価項目

ジェノタイプ	HPV 16/18 型	その他の HR HPV	HPV 16/18 型	その他の HR HPV
カットオフ	≧CIN2		≧CIN3	
有病率	18.5%	9.9%	11.0%	2.8%
感度 (95%信頼区間)	90.2% (84.9, 93.8)	81.0% (74.7, 86.0)	92.3 (85.6, 96.1)	84.9% (72.9, 92.1)
特異度 (95%信頼区間)	60.4% (56.9, 63.8)	57.9% (55.5, 60.3)	56.4% (53.1, 59.8)	55.2% (52.9, 57.5)
陽性的中率 (95%信頼区間)	34.1% (31.8, 36.3)	17.4% (16.1, 18.7)	20.8% (19.2, 22.4)	5.3% (4.5, 5.8)
1－陰性的中率 (95%信頼区間)	3.5% (2.3, 5.4)	3.5% (2.6, 4.6)	1.7% (0.9, 3.1)	0.8% (0.4, 1.4)

≧CIN2 及び≧CIN3 の検出において、30～65 歳の患者でも本品の 1－陰性的中率(残存リスク)は 5%以下となりました。

①HPV DNA 検査 陽性群(検査法:本品、 細胞診)

表 1-4. 25～65 歳の患者(3886 例)における本品及び細胞診の結果

その他の HR HPV 陽性						
本品	≧CIN2			≦CIN1		
	細胞診			細胞診		
	≧ASC-US	陰性	合計	≧ASC-US	陰性	合計
陽性	167	87	254	544	499	1043
陰性	13	39	52	289	1084	1373
合計	180	126	306	833	1583	2416
本品	≧CIN3			≦CIN2		
	細胞診			細胞診		
	≧ASC-US	陰性	合計	≧ASC-US	陰性	合計
陽性	60	20	80	651	566	1217
陰性	2	11	13	300	1112	1412
合計	62	31	93	951	1678	2629

HPV16 型 陽性						
本品	≧CIN2			≦CIN1		
	細胞診			細胞診		
	≧ASC-US	陰性	合計	≧ASC-US	陰性	合計
陽性	140	36	176	142	119	261
陰性	4	10	14	50	299	349
合計	144	46	190	192	418	610
本品	≧CIN3			≦CIN2		
	細胞診			細胞診		
	≧ASC-US	陰性	合計	≧ASC-US	陰性	合計
陽性	91	20	111	191	135	326
陰性	2	7	9	52	302	354
合計	93	27	120	243	437	680

HPV18 型 陽性						
本品	≧CIN2			≦CIN1		
	細胞診			細胞診		
	≧ASC-US	陰性	合計	≧ASC-US	陰性	合計
陽性	24	7	31	58	64	122
陰性	3	3	6	30	175	205
合計	27	10	37	88	239	327
本品	≧CIN3			≦CIN2		
	細胞診			細胞診		
	≧ASC-US	陰性	合計	≧ASC-US	陰性	合計
陽性	12	2	14	70	69	139
陰性	1	1	2	32	177	209
合計	13	3	16	102	246	348

表 1-5. 25～65 歳の患者(3886 例)における本品及び細胞診の評価項目

カットオフ	≧CIN2		≧CIN3	
有病率	13.7%		5.9 %	
検査法	本品	細胞診	本品	細胞診
感度 (95%信頼区間)	86.5% (83.3, 89.1)	65.9% (61.7, 69.8)	89.5% (84.9, 92.9)	73.4% (67.3, 78.7)
特異度 (95%信頼区間)	57.5% (55.8, 59.1)	66.8% (65.2, 68.4)	54.0% (52.4, 55.6)	64.6% (63.0, 66.1)
陽性的中率 (95%信頼区間)	24.4% (23.5, 25.4)	24.0% (22.6, 25.4)	10.9% (10.3, 11.4)	11.5% (10.5, 12.4)
1－陰性的中率 (95%信頼区間)	3.6% (2.9, 4.4)	7.5% (6.7, 8.4)	1.2% (0.8, 1.7)	2.5% (2.0, 3.1)

≧CIN2 及び≧CIN3 の検出において、 本品の感度は統計的に有意に高く(p=<0.0001)、 1－陰性的中率は有意に低い(p=<0.0001)値を示しました。

表 1-6. 30～65 歳の患者(2792 例)における本品及び細胞診の評価項目

カットオフ	≧CIN2		≧CIN3	
有病率	12.8%		5.6 %	
検査法	本品	細胞診	本品	細胞診
感度 (95%信頼区間)	85.7% (81.7, 88.9)	66.0% (60.9, 70.7)	89.8% (84.1, 93.6)	72.6% (65.2, 79.0)
特異度 (95%信頼区間)	58.9% (56.9, 60.8)	68.0% (66.1, 69.8)	55.7% (53.8, 57.6)	65.8% (64.0, 67.6)
陽性的中率 (95%信頼区間)	23.3% (22.2, 24.5)	23.2% (21.5, 24.8)	10.8% (10.1, 11.4)	11.2% (10.1, 12.3)
1－陰性的中率 (95%信頼区間)	3.4% (2.7, 4.4)	6.8% (5.9, 7.8)	1.1% (0.7, 1.7)	2.4% (1.9, 3.1)

≧CIN2 及び≧CIN3 の検出において、 30～65 歳の患者でも 25～65 歳の患者と同様の傾向を示しました。

②細胞診 ASC-US 群(検査法:本品、 HPV DNA 検査)

表 2-1. 25～65 歳の患者(1087 例)における本品及び組織診の結果

本品	組織診					
	No CIN	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer※6	合計
陽性	348	78	60	29	1	516
陰性	515	44	9	3	0	571
合計	863	122	69	32	1	1087

※6 Cancer:Adenocarcinoma in situ, Squamous cell carcinoma, Adenocarcinoma and/or adenosquamous carcinoma, Other malignant neoplasm

表 2-2. 25～65 歳の患者(1087 例)における本品及び HPV DNA 検査の結果

本品	≧CIN2			≦CIN1		
	HPV DNA 検査			HPV DNA 検査		
	陽性	陰性	合計	陽性	陰性	合計
陽性	85	5	90	330	96	426
陰性	10	2	12	243	316	559
合計	95	7	102	573	412	985
本品	≧CIN3			≦CIN2		
	HPV DNA 検査			HPV DNA 検査		
	陽性	陰性	合計	陽性	陰性	合計
陽性	29	1	30	386	100	486
陰性	3	0	3	250	318	568
合計	32	1	33	636	418	1054

表 2-3. 25～65 歳の患者(1087 例)における本品及び HPV DNA 検査評価項目

カットオフ	≧CIN2		≧CIN3	
有病率	9.4%		3.0%	
検査法	本品	HPV DNA 検査	本品	HPV DNA 検査
感度 (95%信頼区間)	88.2% (80.6, 93.1)	93.1% (86.5, 96.6)	90.9% (76.4, 96.9)	97.0% (84.7, 99.5)
特異度 (95%信頼区間)	56.8% (53.6, 59.8)	41.8% (38.8, 44.9)	53.9% (50.9, 56.9)	39.7% (36.7, 42.6)
陽性的中率 (95%信頼区間)	17.4% (15.9, 18.8)	14.2% (13.2, 15.1)	5.8% (4.9, 6.4)	4.8% (4.2, 5.1)
1－陰性的中率 (95%信頼区間)	2.1% (1.2, 3.4)	1.7% (0.8, 3.2)	0.5% (0.2, 1.4)	0.2% (0.0, 1.2)

≧CIN2 及び≧CIN3 の検出において、本品の特異度は統計的に有意に高く(p=<0.0001)、陽性的中率も有意に高い(≧CIN2:p=<0.0001、≧CIN3:p=0.0138)結果を示しました。

③細胞診 LSIL 群(検査法:本品、 HPV DNA 検査)

表 3-1. 25～65 歳の患者(741 例)における本品及び組織診の結果

本品	組織診					
	No CIN	CIN1	CIN2	CIN3	Cancer※6	合計
陽性	279	119	87	31	1	517
陰性	190	25	8	1	0	224
合計	469	144	95	32	1	741

※6 Cancer:Adenocarcinoma in situ, Squamous cell carcinoma, Adenocarcinoma and/or adenosquamous carcinoma, Other malignant neoplasm

表 3-2. 25～65 歳の患者(741 例)における本品及び HPV DNA 検査の結果

本品	≧CIN2			≦CIN1		
	HPV DNA 検査			HPV DNA 検査		
	陽性	陰性	合計	陽性	陰性	合計
陽性	109	10	119	347	51	398
陰性	7	2	9	115	100	215
合計	116	12	128	462	151	613
本品	≧CIN3			≦CIN2		
	HPV DNA 検査			HPV DNA 検査		
	陽性	陰性	合計	陽性	陰性	合計
陽性	31	1	32	425	60	485
陰性	1	0	1	121	102	223
合計	32	1	33	546	162	708

表 3-3. 25～65 歳の患者(741 例)における本品及び HPV DNA 検査評価項目

カットオフ	≧CIN2		≧CIN3	
有病率	17.3%		4.5%	
検査法	本品	HPV DNA 検査	本品	HPV DNA 検査
感度 (95%信頼区間)	93.0% (87.2, 96.3)	90.6% (84.3, 94.6)	97.0% (84.7, 99.5)	97.0% (84.7, 99.5)
特異度 (95%信頼区間)	35.1% (31.4, 38.9)	24.6% (21.4, 28.2)	31.5% (28.2, 35.0)	22.9% (19.9, 26.1)
陽性的中率 (95%信頼区間)	23.0% (21.6 24.3)	20.1% (18.8, 21.2)	6.2% (5.4, 6.6)	5.5% (4.9, 5.8)
1－陰性的中率 (95%信頼区間)	4.0% (2.2, 7.2)	7.4% (4.3, 11.9)	0.4% (0.1, 2.2)	0.6% (0.1, 3.0)

≧CIN2 及び≧CIN3 の検出において、本品の特異度は統計的に有意に高く(p=<0.0001)、陽性的中率も有意に高い(≧CIN2:p=0.0002、≧CIN3:p=0.0311)結果を示しました。

【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接触し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
   24ヵ月

【包装単位】

ベンタナ CINtec PLUS Cytology Dual Stain 100テスト

一次抗体	10 mL×1ディスペンサー
インヒビター	10 mL×1ディスペンサー
リンカー-HQ	10 mL×1ディスペンサー
マルチマー-HRP	10 mL×1ディスペンサー
DAB 試薬	10 mL×1ディスペンサー
H2O2 試薬	10 mL×1ディスペンサー
リンカー-NP	10 mL×1ディスペンサー
マルチマー-AP	10 mL×1ディスペンサー
Naphthol Phosphate 試薬	10 mL×1ディスペンサー
Fast Red 試薬	10 mL×1ディスペンサー

【主要文献】

1) Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. Am J Pathol. 1998; 153:1741-1748.
2) Negri G, Egarter-Vigl E, Kasal A, et al. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immuncytochemical correlations. Am J Surg Pathol. 2003;27: 187-193.
3) von Knebel Doeberitz M, Vinokurova S. Host factors in HPV-related carcinogenesis: cellular mechanisms controlling HPV infections. Arch Med Res. 2009;40(6):435-442.
4) Voorhoeve PM, Agami R. The tumor-suppressive functions of the human INK4A locus. Cancer Cell. 2003;4:311-319.
5) Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. Cell. 2006 Oct 20;127(2):265-75.
6) Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30
7) Galgano MT, et al. Using biomarkers as objective standards inthe diagnosis of cervical biopsies. Am J Surg Pathol. 2010 34(8):1077-1087.
8) Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17 (10):2536-2545
9) Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, et al. p16INK4a immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis. Cancer Cytopathol. 2012;120(5):294-307.
10) Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16-INK4a results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2013;14(2):168-76
11) Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158- 66
12) Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-9.
13) Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-22.
14) Ravarino A, Nemolato S, Macciocu E, et al. CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. Am J Clin Pathol. 2012; 138(5):652-6.
15) Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of p16(INK4a) and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. Cancer Cytopathol. 2012;120(1):26-34.
16) Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. J Natl Cancer Inst. 2013;105(20):1550-7.
17) Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. J Natl Cancer Inst. 2015 Sep 15;107 (12):djv257.
18) Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. Triaging HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. Int J Cancer. 2015;136(10):2361-68.
19) Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. Clin Cancer Res. 2012;18(15):4154-62.
20) Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dualstained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. Cancer Cytopathol, 2015. 123(6):373-81.
21) Dona MG, Vocaturo A, Giuliani M, et al. p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: Correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy. Gynecol Oncol. 2012;126(2):198-202.
22) Allia E, Ronco G, Coccia A, et al. Interpretation of p16

(INK4a) /Ki-67 dual immunostaining for the triage of human papillomavirus-positive women by experts and nonexperts in cervical cytology. Cancer Cytopathol. 2015;123(4):212-218.
23) Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening. Am J Clin Pathol, 2016; 145(1):35-45.
24) Rossi P, Borghi L, Ferro R, Mencarelli R. A population of 1136 HPV DNA-HR positive women: expression of p16 (INK4a)/Ki67 Dual-Stain Cytology and cytological diagnosis. Histological correlations and cytological follow up. Pathologica. 2015;107(3-4):185-191.
25) Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. Gynecol Oncol. 2017;144:51-56.
26) Clarke MA, Cheung LC, Castle PE, et al. Five-Year Risk of Cervical Precancer Following p16/Ki-67 Dual-Stain Triage of HPV-Positive Women. JAMA Oncol. 2019;5(2):181-186.
27) Wentzensen N, Clarke MA, Bremer R, et al. Clinical Evaluation of Human Papillomavirus Screening With p16/Ki-67 Dual Stain Triage in a Large Organized Cervical Cancer Screening Program. JAMA Intern Med. 2019;179(7):881-888.
28) Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. Cancer Cytopathol, 2014;122(12):914-20.
29) Arean-Cuns C, Mercado-Gutierrez M, Paniello-Alastruey I, et al. Dual staining for p16/Ki67 is a more specific test than cytology for triage of HPV-positive women. Virchows Arch. 2018;473(5):599-606.
30) Ebisch RMF, van der Horst J, Hermsen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dualstained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. Mod Pathol. 2017;30(7): 1021-1031.

【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 は Roche の登録商標です。
その他の全ての製品名及び商標は、各所有者に帰属します。