

承認番号21700AMY00067000
NCL-L-ER-6F11
NCL-L-PGR-312
NCL-L-CB11
DS9958

この添付文書をよく読んでから使用すること。

クラスⅢ免疫組織学検査用シリーズ
組織検査用腫瘍マーカーキット

Bondポリマーシステム (ユニバーサルセット)

●一般的な注意

1. 本製品は体外診断用医薬品である。それ以外の目的には使用しないこと。
2. 診断・治療効果の判定は、本法を含めて関連する他の検査や臨床症状に基づき医師が総合的に判断すること。
3. 添付文書的使用方法を遵守すること。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。

●形状・構造等（キットの構成）*

1. 一次抗体
組織検査用腫瘍マーカーキット
ER 抗エストロゲンレセプターマウスモノクローナル抗体
(抗ERマウスモノクローナル抗体)
PGR 抗プロゲステロンレセプターマウスモノクローナル抗体
(抗PGRマウスモノクローナル抗体)
HER2 抗HER2マウスモノクローナル抗体

2. ユニバーサルセット

- 1) ブロッキング試薬
- 2) ポストプライマリー試薬
ウサギ抗マウスIgG抗体
- 3) ポリマー試薬
HRP標識抗ウサギIgG抗体
- 4) DAB試薬1
3, 3'-ジアミノベンジジン (DAB)
- 5) DAB試薬2
- 6) DAB試薬3
過酸化水素
- 7) ヘマトキシリン試薬

●使用目的

- ER 細胞・組織中のエストロゲンレセプター (ER) の検出
PGR 細胞・組織中のプロゲステロンレセプター (PGR) の検出
HER2 細胞・組織中のHER2タンパクの検出

●測定原理 *

組織切片中の検出対象抗原は一次抗体と反応する。洗浄後、ポストプライマリー試薬 (ウサギ抗マウスIgG抗体) を反応させ、再び洗浄後、ポリマー試薬 (HRP標識抗ウサギIgG抗体) を反応させると、スライドガラス上に<検出対象抗原-一次抗体-ウサギ抗マウスIgG抗体-HRP標識抗ウサギIgG抗体>複合体が形成される。この複合体にDAB試薬1、DAB試薬2及びDAB試薬3の混合液を添加すると、試薬中の3, 3'-ジアミノベンジジン及び過酸化水素の反応によりスライドガラス上の組織・細胞中にある検出対象抗原が茶褐色に染色される。染色された組織標本を鏡検により観察する。

●操作上の注意

1. 検体組織切片はできるだけ新鮮なものを使用する。
2. 検体組織は3~4 µmの厚さに薄切し、スライドに貼り付けて検体スライドとする。
3. 検体組織スライドをすぐに使用しない場合は、20~25℃で保存し、作製後6週間以内に染色操作を行うこと。

●用法・用量（操作方法）*

1. 試薬の調製方法

- 1) 一次抗体: Bond抗体希釈液で至適濃度に希釈する。希釈した抗体は2~8℃で保存し、3ヵ月以内に使用すること。
- 2) ユニバーサルセット:
 - ① ブロッキング試薬 : そのまま使用する。
 - ② ポストプライマリー試薬 : そのまま使用する。
 - ③ ポリマー試薬 : そのまま使用する。
 - ④ DAB試薬1 : そのまま使用する。
 - ⑤ DAB試薬2 : そのまま使用する。
 - ⑥ DAB試薬3 : そのまま使用する。
 - ⑦ ヘマトキシリン試薬 : そのまま使用する。
- 3) Bond洗浄液: 精製水で10倍に希釈し使用する。希釈した洗浄液は2~26℃で保存し、4ヵ月以内に使用すること。

2. 必要な器具・器材・試料等

- ・自動免疫染色装置 Bond™シリーズ
Bond-Ⅲ/Bond-MAX
(販売名:ライカ ボンドⅢ 届出番号:13B2X10268B30001)
(販売名:ライカ ボンド マックス 届出番号:13B2X10268BM0001)
- ・光学顕微鏡
- ・Bond専用試薬 (別売品)

3. 測定操作法

- 操作方法の詳細は、各装置の取扱説明書を参照すること。
[自動免疫染色装置 Bond-MAX、Bond-Ⅲの例]
・検体組織スライドは、標準の操作方法で脱パラフィン及び抗原賦活化を行う。
・検体組織スライドにブロッキング試薬 150 µL を加え常温で5分間反応させる。
・ブロッキング試薬をBond洗浄液で洗浄後、所定濃度の一次抗体を100~150 µL加え、15分間反応させ、Bond洗浄液で洗浄する。
・ポストプライマリー試薬 150 µL を加え常温で8分間反応させ、再びBond洗浄液で洗浄する。
・ポリマー試薬 150 µL を加え常温で8分間反応後、Bond洗浄液で洗浄する。
・精製水で洗浄し、1:25:1に混合したDAB試薬1、DAB試薬2及びDAB試薬3の混合液 150 µL を加え、常温で5分間反応する。
・反応後精製水で洗浄し、ヘマトキシリン試薬 150 µL を加えて常温で5分間反応後、精製水及び洗浄液で洗浄する。
・通常の操作方法で透徹及び封入し、光学顕微鏡で観察する。

●測定結果の判定法

1. 判定法

- 1) 顕微鏡下で固定組織切片上の細胞核又は細胞膜に褐色の特異染色像が観察された場合、陽性と判定する。
- 2) 顕微鏡下で固定組織切片上の細胞核又は細胞膜に特異染色像が観察されない場合、陰性と判定する。

2. 判定上の注意

- 1) 必ず陰性コントロール、陽性コントロールと比較して判定すること。
- 2) 検体によっては、まれに検体中の目的成分以外との反応や妨害反応を生じることがある。判定結果に疑問がある場合は、再検査により確認すること。
- 3) 抗原賦活化の方法によって染色性が異なることがある。
- 4) 診断・治療効果の判定は、本法を含めて関連する他の検査

や臨床症状に基づき医師が総合的に判断すること。

●性能

1. 感度・正確性

1) ER・PGR

陽性組織標本を染色するとき、細胞核に明らかな特異染色像が観察され、その背景組織に顕著な染色が認められない。

2) HER2

陽性組織標本を染色するとき、細胞膜に明らかな特異染色像が観察され、その背景組織に顕著な染色が認められない。

2. 同時再現性

1) ER・PGR

陽性組織標本を3枚同時に染色するとき、細胞核に明らかな特異染色像が観察され、その背景組織に顕著な染色が認められない。

2) HER2

陽性組織標本を3枚同時に染色するとき、細胞膜に明らかな特異染色像が観察され、その背景組織に顕著な染色が認められない。

3. 相関性

1) ER

(1) 評価方法

陽性組織標本は、腫瘍の最大断面がでるように割を入れ、腫瘍部分を約3cm大のブロックに分割して作製した。陽性検体として乳がん組織27検体、陰性検体として下表のER陰性組織25検体を用い、スライド検鏡位置を弱拡大(対物10倍)で観察し、最も染色性の高い部位で細胞核が染色された場合を陽性と判定した。

(2) 相関

本品と既承認体外診断用医薬品(既承認品)との相関は以下のとおり。

		既承認品		合計
		陰性	陽性	
本品	陰性	25	0	25
	陽性	0	27	27
合計		25	27	52

検体数: 52

陰性一致率=100%

陽性一致率=100%

全体の一致率=100%

2) PGR

(1) 評価方法

陽性組織標本は、腫瘍の最大断面がでるように割を入れ、腫瘍部分を約3cm大のブロックに分割して作製した。陽性検体として乳がん組織27検体、陰性検体として下表のPGR陰性組織25検体を用い、スライド検鏡位置を弱拡大(対物10倍)で観察し、最も染色性の高い部位で細胞核が染色された場合を陽性と判定した。

陰性組織	検体数	陰性組織	検体数
肺	6	腎臓	2
心筋	2	胆嚢	1
食道	2	虫垂	1
小腸	2	大動脈壁	1
脾臓	2	精巣	1
大腸	2	膵臓	1
甲状腺	2	—	—

(2) 相関

本品と既承認体外診断用医薬品(既承認品)との相関

は以下のとおり。

		既承認品		合計
		陰性	陽性	
本品	陰性	25	0	25
	陽性	0	27	27
合計		25	27	52

検体数: 52

陰性一致率=100%

陽性一致率=100%

全体の一致率=100%

3) HER2

(1) 評価方法

陽性組織標本は、腫瘍の最大断面がでるように割を入れ、腫瘍部分を約3cm大のブロックに分割して作製した。陽性検体として乳がん組織25検体、陰性検体として下表のHER2陰性組織25検体を用い、スライド検鏡位置を弱拡大(対物10倍)で観察し、最も染色性の高い部位で細胞膜が染色された場合を陽性と判定した。

陰性組織	検体数	陰性組織	検体数
肺	6	腎臓	2
心筋	2	胆嚢	1
食道	2	虫垂	1
小腸	2	大動脈壁	1
脾臓	2	精巣	1
大腸	2	膵臓	1
甲状腺	2	—	—

(2) 相関

本品と既承認体外診断用医薬品(既承認品)との相関は以下のとおり。

		既承認品		合計
		陰性	陽性	
本品	陰性	25	0	25
	陽性	0	25	25
合計		25	25	50

検体数: 50

陰性一致率=100%

陽性一致率=100%

全体の一致率=100%

●使用上又は取り扱い上の注意

1. 取り扱い上の注意

- 1) 検体は、HBV、HIV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取り扱うこと。
- 2) 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用すること。
- 3) DAB試薬1には発がん性のある3, 3'-ジアミノベンジン(DAB)が含まれている。試薬を取り扱う際は、保護手袋を着用する等取り扱いに注意する。
- 4) 一次抗体には、アジ化ナトリウムが含まれているので、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受ける。
- 5) 試薬が飛散した場合は直ちにふき取り、消毒等を行う。

2. 使用上の注意

- 1) 本品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。
- 2) 一次抗体は、測定後、速やかに冷蔵庫に保存する。
- 3) カバータイルを再利用する場合は、100%アルコールに浸した後、カバータイルの接触面が傷つかないように注意する。
- 4) キットの構成試薬について、異なったロットの試薬と組み

合わせて使用しない。

3. 廃棄上の注意

廃棄にあたっては、関連法規、各地方自治体の条例及び各施設の内部規則に留意して処理を行うこと。

●保管方法、有効期間**

1. 保管方法：2～8℃
2. 有効期間：一次抗体3 年、ユニバーサルセット 18ヶ月

●包装 *

製品番号	包装内容	包装単位
NCL-L-ER-6F11	抗ERマウスモノクローナル抗体 (75 µg/mL) (一次抗体)	1 mL×1
NCL-L-ER-6F11-s	抗ERマウスモノクローナル抗体 (75 µg/mL) (一次抗体)	0.1 mL×1
NCL-L-PGR-312	抗PGRマウスモノクローナル抗体 (360 µg/mL) (一次抗体)	1 mL×1
NCL-L-PGR-312-s	抗PGRマウスモノクローナル抗体 (360 µg/mL) (一次抗体)	0.1 mL×1
NCL-L-CB11	抗HER2マウスモノクローナル抗体 (26 µg/mL) (一次抗体)	1 mL×1
DS9958	ユニバーサルセット ブロッキング試薬 ポストプライマリー試薬 ポリマー試薬 DAB試薬1 DAB試薬2 DAB試薬3 ヘマトキシリン試薬	30 mL×1 30 mL×1 30 mL×1 2.4 mL×1 30 mL×2 2.4 mL×1 30 mL×1

●主要文献

- 1) 渡辺慶一, 中根一穂編：酵素抗体法, 3 版, 東京 学際企画：1-15, 1992.
- 2) 渡辺慶一, 中根一穂編：酵素抗体法, 3 版, 東京 学際企画：426-438, 1992.
- 3) 津田均：乳癌の予後因子と免疫組織化学. 病理と臨床, 20 (7)：709-713, 2002.
- 4) Mason B H, Holdaway I M, Mullins P R, et al. : Progesterone and estrogen receptors as prognostic variables in breast cancer, Cancer Research, 43: 2985-2990, 1983.
- 5) Clark G M, and Mc Guire W L. : The clinical usefulness of estrogen-receptor and other markers of hormone dependence, Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. 95B: 145-150, 1989.
- 6) Klapper L H, Kirschbaum M H, Sela M, et al: Biochemical and clinical implication of the ErbB/HER signaling network of growth factor receptors. Adv Cancer Res 2000, 77:25-80.
- 7) Corbett I P, Henly J A, Angus B, et al: NCL-CB11, A new monoclonal antibody recognizing the internal domain of the c-erbB-2 oncogene protein effective for use on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. J. Pathol. 1990, 161: 55-58.
- 8) Olaf Kaufman et al., Use of Antibodies Against Estrogen and Progesterone Receptors to Identify Metastatic Breast and Ovarian Carcinomas by Conventional Immunohistochemical and Tyramide Signal Amplification Methods. Modern Pathology Vol.11 No.4 357-363
- 9) トラスツズマブ病理部会作成：HER2 検査ガイドーハーセプチンの適正な症例選択のための一, 第2 版 2003.

●問い合わせ先

ライカマイクロシステムズ株式会社
〒169-0075 東京都新宿区高田馬場1-29-9
TEL：03-6758-5690

●製造販売元



ライカマイクロシステムズ株式会社
〒169-0075 東京都新宿区高田馬場1-29-9
東亜DKK株式会社別館オフィスビル