

承認番号21700AMY00067000
NCL-L-ER-6F11/ NCL-L-PGR-312
PA0009/ PA0151
PA0312/ PA0436
PA0032
DS9800
DS9284
AR0096

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 (Refineキット)

●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. 添付文書の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（クローン名：6F11）
（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（クローン名：16）
（抗PGRマウスモノクローナル抗体）
Desmin 抗デスミンマウスモノクローナル抗体
（クローン名：DE-R-11）
（抗デスミンマウスモノクローナル抗体）

2. Refineキット

- 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B 過酸化水素
- 6) ヘマトキシリン試薬

3. BOND-PRIMEキット

- 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B
過酸化水素

4. BOND-PRIMEヘマトキシリン試薬（別売） ヘマトキシリン

●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（悪性腫瘍の診断補助）

PGR 細胞・組織中のプロゲステロンレセプター
(PGR)の検出（悪性腫瘍の診断補助）
Desmin 細胞・組織中のデスミンの検出
(悪性腫瘍の診断補助)

●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く検出対象抗原—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及びDAB試薬B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3~4μm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。希釈抗体はそのまま使用する。
2) Refineキット：
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B：そのまま使用する。
⑥ 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。
4) BOND-PRIMEキット：
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B：そのまま使用する。

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）
Bond-Prime
（販売名:ライカ ボンドプライム 届出番号:13B2X1026823B001）
但し、当該機器により使用される専用の試薬の内一次抗体について互換性が確認されているのはDesminのみとなる。
- ・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、通常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150μL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100~150μL加え、15分間反応させ、Bo

nd 洗浄液で洗浄する。

- ・ブロッキング試薬を Bond 洗浄液で洗浄後、ポストブライマリー試薬150 μ L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 μ L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、あらかじめ混合したDAB試薬1、DAB試薬Bの混合液150 μ Lを加え、常温で10分間反応させる。
- ・反応後精製水で洗浄し、ヘマトキシリン試薬150 μ L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

- 顕微鏡下で固定組織切片上の細胞核に特異染色像が観察され、背景組織に顕著な染色が認められない場合、陽性と判定する。
- 顕微鏡下で固定組織切片上の細胞核に特異染色像が観察されず、背景組織にも顕著な染色が認められない場合、陰性と判定する。

2. 判定上の注意

- 必ず精度管理スライドと比較して判定すること。
- 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。
- 抗原賦活化の方法によって染色性が異なることがある。
- 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

陽性組織標本を染色するとき、細胞核（デスミンは細胞質）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

陽性組織標本を3枚同時に染色するとき、細胞核（デスミンは細胞質）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

本品の免疫組織化学染色の性能が適切なものであることを確認するために、170例のTMA(Tissue Micro Array)スライド標本について、本品と既承認品2製品を用いて染色を行い、その結果について検討した。

(2) 相関

本品と既承認体外診断用医薬品（既承認品 1）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	108	0	108
	陽性	2	60	62
合計		110	60	170

検体数：170

全体の一致率＝98.8%

本品と既承認体外診断用医薬品（既承認品 2）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	105	4	109
	陽性	13	48	61
合計		118	52	170

検体数：170

全体の一致率＝90.0%

2) PGR

(1) 評価方法

本品の免疫組織化学染色の性能が適切なものであることを確認するために、170例のTMA(Tissue Micro Array)スライド標本について、本品と既承認品2製品を用いて染色を行い、その結果について検討した。

(2) 相関

本品と既承認体外診断用医薬品（既承認品 1）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	105	0	105
	陽性	18	46	64
合計		123	46	169

検体数：169（1例除外）

全体の一致率＝89.3%

本品と既承認体外診断用医薬品（既承認品 2）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	102	5	107
	陽性	10	53	63
合計		112	58	170

検体数：170

全体の一致率＝91.2%

3) デスミン

(1) 評価方法

本品の免疫組織化学染色の性能が適切なものであることを確認するために、203例のTMA(Tissue Micro Array)スライド標本について、本品と既承認品2製品を用いて染色を行い、その結果について検討した。

(2) 相関

本品と既承認体外診断用医薬品（既承認品 1）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	113	17	130
	陽性	3	70	73
合計		116	87	203

検体数：203

全体の一致率＝90.1%

本品と既承認体外診断用医薬品（既承認品 2）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	117	13	130
	陽性	8	65	73
合計		125	78	203

検体数：203

全体の一致率＝89.7%

●使用上又は取り扱い上の注意

1. 取り扱い上の注意

- 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。

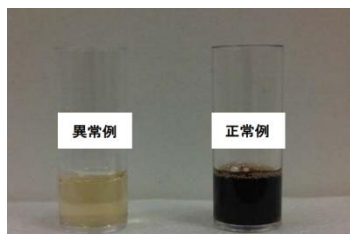
- 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用すること。
- DAB試薬1には発がん性のある3, 3'-ジアミノベンジン(DAB)が含まれています。試薬を取り扱う際は、保護手袋を着用する等取り扱いに注意する。
- 一次抗体には、アジ化ナトリウムが含まれていますので、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受ける。
- 試薬が飛散した場合は直ちにふき取り、消毒等を行う。

2. 使用上の注意

- 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。
- 一次抗体は、測定後、速やかに冷蔵庫に保存する。
- 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。
- 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。
- Refine/BOND-PRIMEキットを使用した際に、臨床的な予測と異なるような染色強度の低下または染色性能の低下が認められた時は以下の簡易テストを行う。簡易テストの結果に異常があった場合は、直ちに使用を止め、当社へ連絡すること。また、製品開封時にも確認のため簡易テストの実施を推奨する。

<簡易テスト手順>

- DAB試薬B(DAB PartB)を1mL 抜き取り、容器に分注する。
- DAB試薬1(DAB Part1)を50 μ L 抜き取り、上記に混合する。
- ポリマー試薬(Polymer)を20 μ L 抜き取り、上記に混合する。
- 混合液が紫色/茶色に変色すれば正常。透明のままであれば異常なので直ちに使用を止め、当社へ連絡する。



- 本品は有効期限まで使用可能である、温度負荷やコンタミネーションなど使用中のリスクを避けるため、開封後はなるべく早く使用すること。
- 表示されている有効期限を過ぎた試薬は使用しないこと。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すること。
- 使用後の試薬は、できるだけ速やかにキャップをはめて2~8℃に保管する。
- 全ての試薬は常温に戻してから使用すること。
- 染色過程のいかなる段階においても、切片を乾燥させてはならない。

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*)**)

- 保管方法：2~8℃
- 有効期間：一次抗体(ER/PGR濃縮抗体)3年、一次抗体(デスミン濃縮抗体)2年、一次抗体(ER/PGR希釈抗体)18ヶ月、一次抗体(デスミン希釈抗体)30ヶ月、Refine/BOND-PRIMEキット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 μ g/mL) (一次抗体)	1 mL $\times$ 1
NCL-L-PGR-312	抗PGRマウスモノクローナル抗体 (360 μ g/mL) (一次抗体)	1 mL $\times$ 1
NCL-L-ER-6F11	抗ERマウスモノクローナル抗体 (75 μ g/mL) (一次抗体)	1 mL $\times$ 1
NCL-L-PGR-312	抗PGRマウスモノクローナル抗体 (360 μ g/mL) (一次抗体)	1 mL $\times$ 1
PA0009	抗ERマウスモノクローナル抗体 (0.88 μ g/mL) (一次抗体)	30 mL
PA0151	抗ERマウスモノクローナル抗体 (0.88 μ g/mL) (一次抗体)	7 mL
PA0312	抗PGRマウスモノクローナル抗体 (1 μ g/mL) (一次抗体)	7 mL
PA0436	抗PGRマウスモノクローナル抗体 (1 μ g/mL) (一次抗体)	30 mL
PA0032	抗デスミンマウスモノクローナル抗体 (0.6 μ g/mL) (一次抗体)	7 mL
DS9800	Refineキット 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B ヘマトキシリン試薬	30 mL $\times$ 1 30 mL $\times$ 1 30 mL $\times$ 1 2.4 mL $\times$ 1 30 mL $\times$ 2 30 mL $\times$ 1
DS9284	BOND-PRIMEキット 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B	30 mL $\times$ 1 30 mL $\times$ 1 30 mL $\times$ 1 2.4 mL $\times$ 1 30 mL $\times$ 2
AR0096	ヘマトキシリン試薬	30 mL $\times$ 1

●主要文献

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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

●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

