

承認番号22400AMX00674000
TA9145

この電子添付文書をよく読んでから使用すること。

組織検査用腫瘍マーカーキット

Bondポリマーシステム HER2テスト

●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
抗HER2マウスモノクローナル抗体
(クローン名:CB11)
- 2) ブロッキング試薬
- 3) ポストプライマリー試薬
ウサギ抗マウスIgG抗体
- 4) ポリマー試薬
HRP標識抗ウサギIgG抗体
- 5) DAB試薬1
3, 3'-ジアミノベンジジン (DAB)
- 6) DAB試薬B
過酸化水素
- 7) ヘマトキシリン試薬
- 8) 陽性コントロールスライド
ヒト乳癌培養細胞セルライン
- 9) 陰性コントロールスライド
ヒト乳癌培養細胞セルライン
- 10) HER2陰性コントロール
正常マウスIgG

●使用目的

細胞・組織中のHER2タンパクの検出
(悪性腫瘍の補助診断等)

●測定原理¹⁾²⁾ *

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、スライドグラス上に<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グラス上の組織、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. 検体にはパラフィン切片を使用すること。
2. 検体はできるだけ新鮮なものを使用すること。
3. 検体組織は3~6µm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。
4. 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。
5. 検体組織スライドと共にコントロールスライドも測定に含むこと。

●用法・用量（操作方法）*

1. 試薬の調製方法
常温に戻し、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)
 - ・光学顕微鏡
 - ・Bond専用試薬（別売品）
3. 測定操作方法
自動免疫染色装置による操作方法
操作方法の詳細は、各装置の取扱説明書を参照すること。
[例示:自動免疫染色装置Bond-MAX、Bond-IIIの例]
 - ・検体組織スライド及びコントロールスライドは、標準の操作方法で脱パラフィン及び抗原賦活化を行う。
 - ・検体組織スライド及びコントロール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、一次抗体又はHER2陰性コントロールを150µL加え、30分間反応させる。
 - ・Bond洗浄液で洗浄後、ポストプライマリー試薬150µLを加え常温で10分間反応させ、再びBond洗浄液で洗浄する。
 - ・ポリマー試薬150µLを加え常温で10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1:20に混合したDAB試薬1、DAB試薬Bの混合液150µL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150µLを加えて常温で5分間反応後、精製水及びBond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**

添付文書以外に病理学会推奨のガイドラインを参照してください。

1. 胃癌

(1) 判定法

以下のスコアリングに則って顕微鏡で染色程度を判定する。

切除標本の染色パターン

スコア	定義
0	細胞膜に陽性染色なし、あるいは細胞膜の陽性染色がある癌細胞が1切片に10%未満である。
1+	弱/ほとんど識別できないほどかすかな細胞膜の染色がある癌細胞が1切片に10%以上認められる。癌細胞は細胞膜のみが部分的に染色されている。
2+	弱~中程度の完全な側方あるいは側方・基底膜側の細胞膜の陽性染色がある癌細胞が1切片に10%以上認められる。
3+	強い完全な側方あるいは側方・基底膜側の陽性染色がある癌細胞が1切片に10%以上認められる。全周性に認められない場合もある。

生検標本の染色パターン

スコア	定義
0	陽性染色なし、あるいは細胞膜の陽性染色がある癌細胞なし。
1+	癌細胞の染色割合に関係なく、弱/ほとんど識別できないほどかすかな細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスター#*が1つ以上あり。
2+	癌細胞の染色割合に関係なく、弱～中程度の完全な側方あるいは側方・基底膜側の細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスターが1つ以上あり。
3+	癌細胞の染色割合に関係なく、強い完全な側方あるいは側方・基底膜側の細胞膜の陽性染色がある癌細胞クラスターが1つ以上あり。

#*クラスター：5個以上の癌細胞の集塊を定義とする。

(2) 判定上の注意

- 1) 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。
- 2) 抗原賦活化の方法によって染色性が異なることがある。
- 3) 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。
- 4) スコアリングの対象となる検体は胃または胃食道接合部の腺癌のみであり、同一検体に腸上皮化生と胃腺癌が混在している場合は胃腺癌に関してのみスコアリングを実施すること。
- 5) HER2の発現状況は、内腔にはHER2が存在しないため、通常染色されないという特徴が見て取れる。結果、胃癌におけるHER2染色では基底側染色及び側方側染色が重要である。
- 6) 本法で2+と判定された場合、FISH法またはSISH法での再検査を推奨する。
- 7) 薄切後長時間放置(薄切から6週間以上)された未染標本、薄すぎる組織切片(2μm以下)、厚い組織切片(5μm以上)の組織標本を染色に用いると正しい結果が得られない場合がある。

2. 乳癌

(1) 判定法

以下のスコアリングに則って顕微鏡で染色程度を判定する。

スコア	定義
0	細胞膜に陽性染色なし、あるいは細胞膜の陽性染色があるがん細胞<10% (細胞質に限局する陽性染色は判定対象外)
1+	ほとんど識別できないほどかすかな細胞膜の染色があるがん細胞≥10% がん細胞は細胞膜のみが部分的に染色されている
2+	①弱～中程度の完全な細胞膜の陽性染色があるがん細胞≥10% ②強い完全な細胞膜の陽性染色があるがん細胞≥10%～≤30%
3+	強い完全な細胞膜の陽性染色があるがん細胞>30%

(2) 判定上の注意

- 1) 必ずコントロールスライドと併せて判定する。
- 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。

●臨床的意義

HER2遺伝子(HER2/neu、c-erbB-2)はヒト上皮細胞増殖因子受容体(EGFR)遺伝子と類似の構造を有する癌遺伝子と

して同定された³⁾⁴⁾。HER2遺伝子のコードする産物(HER2タンパク)は細胞膜を貫通する受容体型糖タンパクで、チロシン残基のリン酸化により活性化され、p21/rasなどを経たシグナル伝達経路を介して細胞の増殖に関与している³⁾。HER2遺伝子増幅/タンパク過剰発現は、乳癌の強力な予後因子であるとされており、乳癌における分子標的薬剤として最初に臨床導入されたハーセプチンの特異的ターゲットでもある⁵⁾⁶⁾⁷⁾。一方、胃癌においては、予後因子としての意義が、現段階では未確定であるものの、ToGA試験でHER2遺伝子増幅/タンパク過剰発現を認める胃癌症例において、ハーセプチンによる全生存期間延長効果が示されたことから、治療に先立ち、その発現を確認することは不可欠だと考えられる⁸⁾。本品によるHER2タンパクの過剰発現の検出は、患者がハーセプチン治療の対象となるかどうかを判断するための指標として使用可能である。

●性能

1. 感度・正確性

コントロールスライドを染色するとき、細胞膜に明らかな特異染色像が確認され、それぞれのセルラインに対応した所定のスコアが得られる。

2. 同時再現性

コントロールスライドを3枚以上同時に染色するとき細胞膜に明らかな染色像が観察され、それぞれのセルラインに対応した所定のスコアが得られる。

3. 相関性

(1) 胃癌

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全体一致率を確認する試験を実施し、その結果について検討した。

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。

胃癌検体を用いた検討結果

		既承認品 1		計
		陰性 (スコア 0、1+)	陽性 (スコア 2+、3+)	
本品	陰性 (スコア0、1+)	859	38	897
	陽性 (スコア2+、3+)	11	90	101
計		870	128	998
一致率		98.74%	70.31%	
全体一致率		95.09% (949/998)		

本相関性試験は胃癌検体を用いて検討されている。従ってその他の癌種での性能は、この結果からは確認できない。不一致例について：固定操作による変質やマスキングが生じた場合等には、ポリクローナル抗体では陽性を示した検体が、モノクローナル抗体では陰性～弱陽性となることがある。

(2) 乳癌

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、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。全体一致率は92%(398/431)と良好な相関性(一致率)を示した。

	既承認品 1		合計	
	陰性 (スコア 0、1+)	陽性 (スコア 2+、3+)		
本品	陰性	269	23	292
	陽性	10	129	139
合計		279	152	431

検体数：431

全体一致率=92% (398/431)

本品と既承認品外診断用医薬品（既承認品 2）との相関は以下のとおり。全体一致率は92% (201/219)と良好な相関性（一致率）を示した。

	既承認品 2		合計	
	陰性 (スコア 0、1+)	陽性 (スコア 2+、3+)		
本品	陰性	151	0	151
	陽性	18	50	68
合計		169	50	219

検体数：219

全体一致率=92% (201/219)

●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には発癌性のある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こと。
- 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こと。
- 5) 試薬が飛散した場合は直ちにふき取り、消毒等を行うこと。

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こと。
- 2) 本品は、測定後、速やかに冷蔵庫に保存すること。
- 3) 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使用しないこと。
- 4) カバータイルは、新品を使用すること。
- 5) 試薬の継ぎ足しは行わないこと。

3. 廃棄上の注意

- 1) 検体、検査に使用した器具類及び廃液は、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1,000 ppm、1時間以上浸漬）、グルタルアルデヒド溶液（2%、1時間以上浸漬）等での消毒又はオートクレーブ処理（121℃、20分以上）を行うこと。
- 2) 一次抗体には、アジ化ナトリウムが含まれている。アジ化ナトリウムは、爆発性の強い金属アジドを生成することがあるので、廃液は大量の流水で行うこと。
- 3) 試薬、検査に使用した器具類及び廃液を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等に従って、廃棄すること。

●保管方法、有効期間 *

1. 保管方法：2～8℃
2. 有効期間：12ヶ月

●包装 *

製品番号	包装内容	包装単位
TA9145	一次抗体：抗HER2マウスモノクローナル抗体 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 陽性/陰性コントロールスライド HER2陰性コントロール	13.5 mL×1 22.5 mL×1 22.5 mL×1 22.5 mL×1 2.25 mL×1 22.5 mL×2 22.5 mL×1 15枚 9 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) 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.
- 4) 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: 15-25.
- 5) 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.
- 6) Clark G M, and Mc Guire W L.: The clinical usefulness of oestrogen-receptor and other markers of hormone dependence, Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. 95B: 145-150, 1989.
- 7) トラストズマブ病理部作成：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.
- 8) Hofmann M, Stoss O, Shi D, Buttner R, van d, V, Kim W et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. Histopathology 2008; 52(7):797-805

●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