

この電子化された添付文書をよく読んでからご使用下さい。

体外診断用医薬品(放射性)

抗筋特異的チロシンキナーゼ抗体キット

MuSKAb「コスミック」

全般的な注意

1. 本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
2. 疾病の診断は、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断して下さい。
3. 添付文書に記載された使用方法以外の使用については、測定値の信頼性を保証致しません。
4. 本品はラジオアイソトープ管理区域内で使用して下さい。
5. 陰性コントロール、陽性コントロールにはヒト由来成分が含まれており、感染の危険があるので、感染性のあるものとして取り扱って下さい。
6. 操作上で機器を使用する際は、機器の添付文書または取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。

形状・構造等(キットの構成)

No.	構成試薬	25テスト用
1	トレーサー(凍結乾燥品) [ヨウ化ヒトリコンピナント筋特異的チロシンキナーゼ(¹²⁵ I-MuSK)(30kBq/本)]	1.5mL分×1本
2	陰性コントロール	0.25mL×1本
3	陽性コントロール	0.25mL×1本
4	抗ヒトIgG [抗ヒトIgGヤギポリクローナル抗体]	1.5mL×1本
5	溶解液	4.0mL×1本
6	緩衝液	70mL×1本
7	沈殿補助液	1.0mL×1本

使用目的

血清中の抗筋特異的チロシンキナーゼ抗体の測定
(重症筋無力症の診断の補助)

測定原理

本品は、RIA法による血清中の筋特異的チロシンキナーゼ(muscle-specific tyrosine kinase : MuSK)に対する自己抗体(抗筋特異的チロシンキナーゼ抗体:抗MuSK抗体)の測定用キットである。検体中の抗MuSK抗体とトレーサー中のヨウ化ヒトリコンピナント筋特異的チロシンキナーゼ(¹²⁵I-MuSK)とを反応させる。生じた結合物に抗ヒトIgG(抗ヒトIgGヤギポリクローナル抗体)と沈殿補助液を加えて遠心分離によりB/F分離を行う。検体中に抗MuSK抗体が存在すると、複合体を形成し沈殿する。沈殿物中の¹²⁵Iの放射エネルギーを計測し、¹²⁵Iの比放射エネルギーより検体中の抗MuSK抗体量を算出することができる。

操作上の注意

1. 検体
 - ① 検体は、血清を用いること。
 - ② 検体は、分離後直ちに冷蔵保存(2~8℃)すること。分離後すぐに測定しない場合は凍結保存(-20℃以下)すること。
 - ③ 冷蔵または冷凍保存されていた検体は、室内温度(17~28℃)に戻してから使用すること。
 - ④ 検体の凍結融解の繰り返しは避けること。
 - ⑤ 高脂血清、溶血血清の使用は避けることが望ましい。
2. 妨害物質の影響¹⁾

ヘモグロビン、ビリルビンC(抱合型)、ビリルビンF(遊離型)、脂質、リウマチ因子による影響は受けない。

用法・用量(操作方法)

1. 必要な機器類

アッセイ用チューブ(プラスチック製 12×75mm等)、チューブ立て、マイクロピペット(5μL、50μL)、連続分注器(25μL、50μL、1mL)、ボルテックスミキサー、冷却遠心機、アスピレーター、インキュベーター(2~8℃、20~25℃)、γ-カウンター

** 2. 試薬の調製

① トレーサー(凍結乾燥品)

トレーサー1本につき溶解液1.5mLを加えて溶解しトレーサー溶液とする。溶解後は栓をして2~8℃で2週間保存することができる。

② 沈殿補助液

使用直前まで2~8℃で保存し、室内温度に戻さずに使用する。また、使用前によく混和してから使用する。

③ 抗ヒトIgG、緩衝液

使用直前まで2~8℃に保存し、室内温度に戻さずに使用する。

④ その他の試薬

調製済みであるので、そのまま穏やかに混和して均一な溶液とし、室内温度に戻してから使用する。

注) 検体を希釈する場合は、希釈液(別売)を使用する。

** 3. 検体の準備

血清を検体として使用する。

なお、適宜、血清を希釈液にて希釈し、検体とすることができる。希釈倍率は、希釈後の抗MuSK抗体値が測定範囲に入るように決定する。

4. 測定法

① 検体を5μLずつ、陰性コントロール、陽性コントロールを50μLずつ各チューブに分注する。

② トレーサー溶液を50μLずつ各チューブに加えよく混和する。トータルカウント用に別に用意したチューブにトレーサー溶液を50μL分注し栓をして、放射能計測まで静置しておく。

③ 20~25℃で18~24時間インキュベーションする。(第1インキュベーション)

④ 抗ヒトIgGを50μLずつ各チューブに加え、よく混和する。

⑤ 2~8℃で2時間インキュベーションする。(第2インキュベーション)

⑥ 使用直前によく混和した沈殿補助液を25μLずつ各チューブに加え、さらに緩衝液を1mLずつ分注し、よく混和する。

⑦ 2~8℃、1500×gで20分間遠心分離する。

⑧ 上清をアスピレートし、除去する。

⑨ 緩衝液を1mLずつ各チューブに加える。

⑩ ⑦、⑧の操作をもう一度繰り返す。

⑪ すべてのチューブの放射能をγ-カウンターで1分間計測する。

⑫ 各チューブの放射能(cpm)を記録する。

** ⑬ 下記の式により、抗MuSK抗体値(nmol/L)を算出する。

$$\text{抗MuSK抗体値(nmol/L)} = \frac{\{(\text{検体のcpm}) - (\text{陰性コントロールのcpm})\} \times A}{B \times C \times K \times 2.22}$$

A: 減衰補正係数(トレーサーの放射能の減衰を補正する係数)

トレーサーの標識日から実際に測定した日までの期間に減衰した放射能を補正するために用いる。

標識日から測定日までに経過した週数	減衰補正係数(A)
標識日~1週	1.0
~2週	1.1
~3週	1.2
~4週	1.3
~5週	1.4
~6週	1.5
~7週	1.6
~8週	1.75

B: 放射能測定に用いたγカウンターの計数効率

計数効率は、測定機種や使用年数によって異なるため、各施設で求めること。

C: 測定に用いた検体量(5μL)

K: ¹²⁵Iの標識した時点の比放射能(Ci/mmol)

(数値は添付の用紙に記載されている。)

2.22: Ci単位で表現された比放射能(Ci/mmol)

をBqにする際、1分間計測の放射能を秒に変換する係数である。

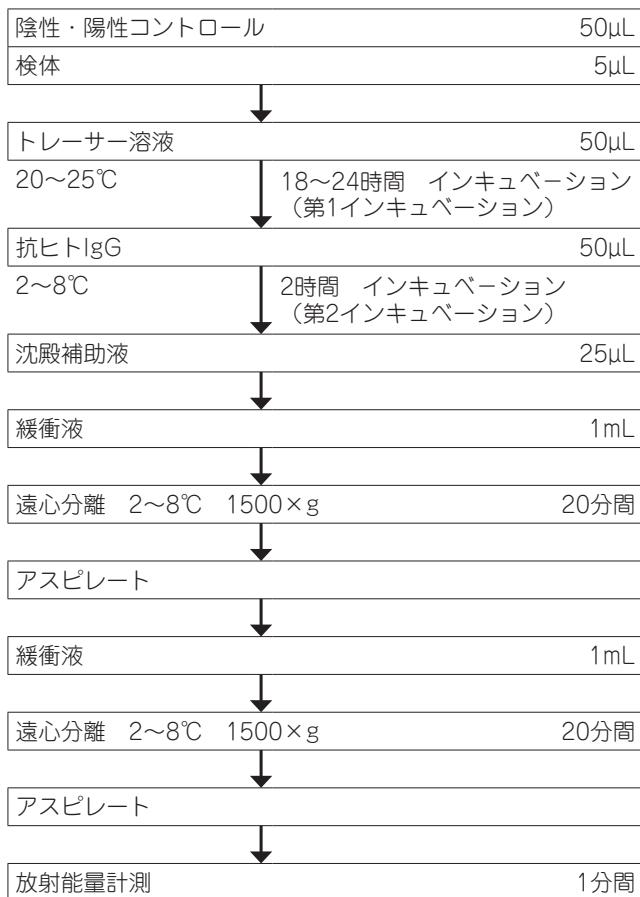
$$1\text{Ci} = 3.7 \times 10^{10} \text{ Bq}$$

$$1\text{nmol} = 1 \times 10^{-6} \text{ mmol}$$

$$1\mu\text{L} = 1 \times 10^{-6} \text{ L}$$

$$\text{上記より} 60 \times 3.7 \times 10^{10} \times 10^{-6} \times 10^{-6} = 2.22$$

注) 血清を希釈して測定した場合は、希釈倍率を乗じて抗MuSK抗体値を算出する。



測定結果の判定法¹⁾

- 健康人における抗MuSK抗体値は0.02nmol/L未満であったが、基準値は施設ごとに設定すること。
- 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果と合わせて担当医師が総合的に判断すること。

臨床的意義

1. 抗MuSK抗体の臨床的意義

重症筋無力症 (Myasthenia gravis: MG) は、神経筋接合部の後シナプス膜に存在するアセチルコリンレセプター (AChR) に対する自己抗体 (抗AChR抗体) により神経筋伝達が障害される自己免疫疾患であるとされているが、MG患者の約20%は抗AChR抗体が陰性である。MGは眼筋型と全身型とに分類されるが、全身型抗AChR抗体陰性MGの約70%で筋特異的チロシンキナーゼ (muscle-specific tyrosine kinase: MuSK) に対する抗体 (抗MuSK抗体) が陽性となり²⁾、抗AChR抗体と抗MuSK抗体の両方を持ち合わせるMGはいないというのが通説である。

抗MuSK抗体陽性MGは約半数にクリーゼが認められる等、治療に緊急性を伴うことがあること、加えて抗AChR抗体陽性MGとは最適な治療方法が異なることから、早期に抗MuSK抗体陽性MGを見つけ出すことは非常に意義深い。

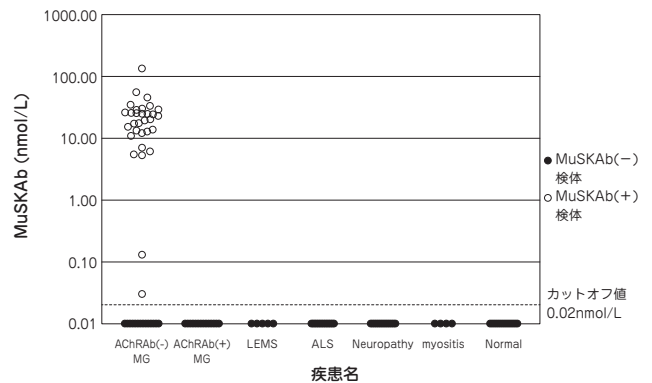
また、抗MuSK抗体価はMGの臨床的重症度と相関して

いるともいわれており^{3,4)}、臨床の経過観察を見る上でも有用である。

本品を用いて抗MuSK抗体を測定することにより、早期に、また簡便に抗MuSK抗体陽性MGを鑑別診断することが可能である。

2. 抗MuSK抗体値の疾患別分布図¹⁾

下図の通り、抗AChR抗体陰性のMGにおける陽性率は50.8%であった。



3. 抗MuSK抗体とMG重症度 (MGFA分類) との関係¹⁾

抗AChR抗体陽性29例、抗AChR抗体陰性61例の計90例において検討した結果、下表の通り、抗MuSK抗体の陽性率は重症例で高くなる傾向にあった。

	MGFA標準				
	I	II	III	IV	V
抗MuSK抗体陽性率	0/14	14/49	4/8	0/1	13/18
	0.0%	28.6%	50.0%		68.4%

性能¹⁾

1. 感度試験

- ① 陰性コントロールを測定するとき、その結合率は1.0%以下である。
- ② 陽性コントロールを測定するとき、その結合率は10.0%以上である。

2. 正確性試験

陽性管理血清 (それぞれ0.6~0.8nmol/L、0.4~0.6nmol/L) を測定するとき、その測定値は既知濃度の±30%以内である。

3. 同時再現性試験

陽性管理血清 (それぞれ0.6~0.8nmol/L、0.4~0.6nmol/L) を5回同時に測定するとき、そのC.V.値は10%以下である。

4. 測定範囲

本キットの測定範囲は0.02~1.00nmol/Lである。

5. 較正用基準物質

現在、抗MuSK抗体について国際的に認められた標準物質は存在しない。

製造元のRSR社が、抗MuSK抗体陽性検体で高濃度を示す検体の測定値を基に任意に規定した。

使用上または取扱い上の注意

1. 取扱い上の注意事項

- ① 本試薬には、HBs抗原、HIV抗体及びHCV抗体が存在しないことを確認しているが、感染の恐れがあるものとして検体と同様に取扱うこと。
- ② 検体は感染の恐れがあるので、取扱いには十分に注意すること。検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等は感染の危険があるものとし、オートクレーブで121℃、15分間、高圧蒸気滅菌処理するか、または1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液を調製して、1時間浸した後、多量の水で洗い流すこと。次亜塩素酸ナトリウム溶液を多量に廃棄する際、酸性下で有毒の塩素ガスを発生するので、廃液は中和した後、多量の水で流す等の配慮をすること。
- ③ 本試薬には防腐剤としてアジ化ナトリウムが含まれており、皮膚等を刺激する恐れがある。アジ化ナトリウムを含む試薬を含め、すべての試薬が誤って目や口に入った場合または身体に付着した場合は、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。
- ④ 身体の汚染及び感染防止のため、作業室内では使い捨て手袋、専用の実験衣を着用すること。また、口によるピペティングを行わないこと。
- ⑤ 放射性物質、試薬、血清等が誤って体内に入るのを防ぐため、作業室内では飲食、喫煙等はしないこと。

2. 使用上の注意事項

- ① キット内の試薬は正確な反応が得られるように組み合わせるので、ロット番号の異なる試薬を組み合わせ使用しないこと。また、同一ロット番号の試薬であっても試薬の注ぎ足しは行わないこと。
- ② 検体、コントロール等を分注する際、同じチップは使用しないこと。
- ③ 試薬の開封後は使用期限内でなるべく早く使用し、保存する場合は、蓋を閉めて2～8℃で保存すること。
- ④ 使用期限を過ぎた試薬は使用しないこと。

3. 廃棄上の注意事項

- ① キット内の試薬、容器を他の目的に使用しないこと。使用後の容器は、廃棄物に関する規定に従って、放射性廃棄物、医療廃棄物または産業廃棄物等、区別して処理すること。余った試薬を廃棄する場合には、水質汚濁防止法等の規定に従って処理すること。
- ② 検体、試薬、廃液等が飛散した場合、飛散箇所に1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液を塗布し、1時間経過後ふき取りを行うこと。

- ③ 本試薬は微量(0.1%以下)のアジ化ナトリウムを含んでいる。排水管等に用いられている銅や鉛と反応して爆発性の金属アジドを形成する恐れがあるため、多量の水で流す等の配慮をすること。

貯蔵方法

2～8℃で保存すること。

有効期間

製造日から8週間

(使用期限については製品包装上面に記載している。)

包装単位

商品コード	包装単位
B0013131	25テスト用

主要文献

- 1) 社内資料
- 2) Hoch W, McConville J, Helms S, et al. Auto-antibodies to the receptor tyrosine kinase MuSK in patients with myasthenia gravis without acetylcholine receptor antibodies. Nat Med. 2001; 7(3): 365-8.
- 3) 中濱 大, 川尻 真和, 越智 雅之他. 抗体価が重症度を反映した抗MuSK抗体陽性重症筋無力症の1例. 臨床神経. 2007; 47(6): 356-8.
- 4) Bartoccioni E, Scuderi F, Minicuci GM, et al. Anti-MuSK antibodies: correlation with myasthenia gravis severity. Neurology. 2006; 67(3): 505-7.

問い合わせ先

株式会社コスミック コーポレーション 営業部

〒112-0002 東京都文京区小石川12丁目7番3号

電話 03 (5802) 5971

FAX 03 (5802) 5974

* 製造元

RSR Limited

Parc Ty Glas, Llanishen, Cardiff, CF14 5DU, UK

製造販売元

株式会社コスミック コーポレーション

〒112-0002 東京都文京区小石川12丁目7番3号 富坂ビル

電話 03 (5802) 5880 (代)