

この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)

抗カルシウムチャネル抗体キット

VGCCAb RIA「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(キットの構成)

No.	構成試薬	25テスト用
1	トータル用トレーサー (T-トレーサー) (凍結乾燥品) [ヨウ化 ω コノトキシン MVIIC (125 I) ウサギ脳組織抽出 P/Q型カルシウム チャネル (VGCC) (6kBq/本)]	0.7mL分×2本
2	NSB用トレーサー (NSB-トレーサー) (凍結乾燥品) [ヨウ化 ω コノトキシン MVIIC (125 I) ウサギ脳組織抽出 P/Q型カルシウム チャネル (VGCC) (6kBq/本)]	0.7mL分×2本
3	希釈用バッファー	10mL×1本
4	抗ヒトIgG [抗ヒトIgGヤギポリクローナル抗体含有]	4mL×2本
5	洗浄液	120mL×1本
6	陰性コントロール	0.2mL×1本
7	陽性コントロール	0.25mL×1本

使用目的

血清中の抗P/Q型カルシウムチャネル抗体の測定
(ランバート・イートン筋無力症候群の診断の補助)

測定原理

本品は、RIA法による患者血清中のP/Q型カルシウムチャネル (Voltage-Gated Calcium Channel: VGCC) に対する自己抗体 (抗P/Q型VGCC抗体) の測定用キットである。患者血清中のP/Q型VGCCに対する自己抗体 (抗P/Q型VGCC抗体) と界面活性剤で可溶化したヨウ化 ω コノトキシン MVIIC (125 I) ウサギ脳組織抽出P/Q型VGCCとを反応させ、抗P/Q型VGCC抗体とヨウ化 ω コノトキシン MVIIC (125 I) ウサギ脳組織抽出P/Q型VGCCの複合体を得る。この自己抗体/抗原の複合物を、抗ヒトIgG (抗ヒトIgG ヤギポリクローナル抗体) によって免疫沈降させ、遠心分離によりB/F分離し、非結合 125 I- ω コノトキシンMVIICを取り除く。チューブに残った放射能は患者血清中の抗体量と比例するため、放射能を測定することで、患者血清中の抗P/Q型VGCC抗体の濃度を知ることができる。本法においての非特異反応は、過剰量の非標識コノトキシン存在下で 125 I- ω コノトキシンMVIICと患者血清を反応させその沈殿物の放射能を測定することで知ることができる。

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500mg/dL、ビリルビンC (抱合型) 20.6mg/dL、ビリルビンF (遊離型) 19.6mg/dL、脂質1590度数、リウマチ因子500IU/mLまで測定値への影響は受けない。

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（25μL、50μL）、連続分注器（50μL、125μL、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. 試薬と検体の準備

試薬は全て使用前に室内温度（17～28℃）中に戻しておく。

① トレーサー（凍結乾燥品）

T-トレーサーとNSB-トレーサーバイアルに精製水を0.7mL加え、穏やかに混和し溶解する。使用直前に溶解し、溶解後は保管できない。

② 患者血清および陰性コントロール

患者血清とキット中の陰性コントロールを希釈用バッファーにて1:10に希釈する。（例えば、血清15μLに135μLの希釈用バッファーを加え、10倍希釈とする）。1,500×g、5分の遠心分離を行い粒状物を取り除く。使用直前に希釈し、希釈後は保管できない。

③ その他の試薬

調製済みのため、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。

3. 測定法

① 試薬と検体の準備の②にて調製された患者血清、陰性コントロール、キット中の陽性コントロールをそれぞれ25μLずつ4本のチューブへ分注する。測定はduplicateで行うことを推奨するため、この4本のチューブの内訳は、2本がT-トレーサー用で、残りの2本がNSB-トレーサー用となる。

② 上記①で準備したそれぞれのチューブへT-トレーサー50μLまたはNSB-トレーサー50μLを加え、穏やかに混和した後、20～25℃にて1時間反応させる。

③ 抗ヒトIgGを125μLずつ全てのチューブに加え、穏やかに混和した後、20～25℃にて1時間反応させる。

④ この反応時間中に、T-トレーサーを加えたチューブ2本、NSB-トレーサーを加えたチューブ2本の放射能を60秒間測定し、トータルカウントのチェックを行う。

⑤ 洗浄液1mLを全てのチューブに加え、穏やかに混和をする。

⑥ 混和後、1500×g、2～8℃、20分の遠心分離を行う。

⑦ 遠心分離後、上清をアスピレートする。

⑧ 洗浄液1mLを全てのチューブに加え、穏やかに混和を行う。

⑨ 混和後、1500×g、2～8℃、20分の遠心分離を行う。

⑩ 遠心分離後、上清をアスピレートする。

⑪ γ-カウンターにて放射能を120秒間測定し、各チューブの放射能（cpm）を記録する。

結果の分析

T-トレーサーが加えられたペレットの放射能は、患者血清中の抗P/Q型VGCC抗体と標識されたP/Q型VGCCとの複合物による放射能と、非特異反応による放射能から成る。一方、NSB-トレーサーが加えられたチューブのペレットの放射能は、非特異反応による放射能のみである。従って、患者血清中の抗P/Q型VGCC抗体と標識されたP/Q型VGCCとの複合物のみによる放射能は、T-トレーサーが加えられたペレットの放射能からNSB-トレーサーが加えられたペレットの放射能を差し引くことで求めることができる。すなわち1. の式により、患者血清中、陰性コントロール中、陽性コントロール中の抗P/Q型VGCC抗体を濃度（pmol/L）として表すことができる。さらに、最終的な患者血清中、陽性コントロール中の抗P/Q型VGCC抗体濃度（pmol/L）は、上記で得られたこれらの抗P/Q型VGCC抗体濃度（pmol/L）から陰性コントロールの抗P/Q型VGCC抗体濃度（pmol/L）を減じて求める。

1. T-トレーサーが加えられたチューブ中のペレットの放射能を濃度に換算する式

$$\text{fmol/pellet(D)} = \frac{100 \times T \text{ cpm}}{A \times B \times C}$$

NSB-トレーサーが加えられたチューブ中のペレットの放射能を濃度に換算する式

$$\text{fmol/pellet(E)} = \frac{100 \times \text{NSB cpm}}{A \times B \times C}$$

A：計数率（cpm）を濃度（fmol）へ換算するための変換ファクター

B：γ-カウンターの計数効率（%）

C：減衰補正計数（トレーサーの放射線の減衰を補正する係数）

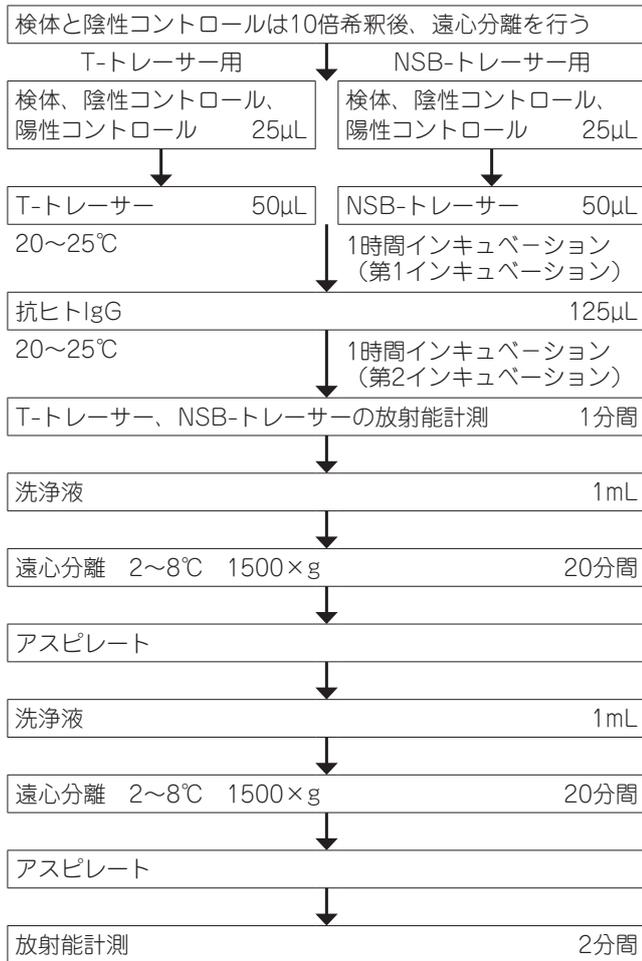
患者血清中、陰性コントロール中、陽性コントロール中の抗P/Q型VGCC抗体濃度（pmol/L）=（D-E）×400

2. 最終的な患者血清中、陽性コントロール中の抗P/Q型VGCC抗体濃度（pmol/L）を算出する式

患者血清中、陽性コントロール中の抗P/Q型VGCC抗体濃度（pmol/L）=F-G

F：患者血清中、陽性コントロール中の抗P/Q型VGCC抗体濃度（pmol/L）

G：陰性コントロール中の抗P/Q型VGCC抗体濃度（pmol/L）



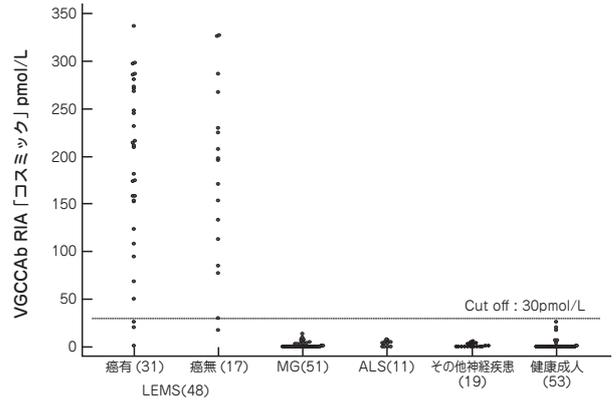
測定結果の判定法¹⁾

- 健康成人53例における本品の抗P/Q型VGCC抗体測定値の100パーセントイル値を指標として、陽性と判定する参考基準値を30pmol/Lと設定した。なお、上記の値は参考基準値であり、種々の要因で変動する可能性があるため、施設ごとに基準となる数値を設定することを推奨する。
- 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

- 抗P/Q型VGCC抗体の臨床的意義
ランバート・イートン筋無力症候群 (Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome: LEMS) は、P/Q型VGCCに対する自己抗体が高頻度かつ特異的に検出される抗P/Q型VGCC抗体による神経筋接合部疾患である。一方、LEMSは傍腫瘍性神経症候群の代表であり、50~60%のLEMS患者に小細胞肺癌 (small cell lung carcinoma: SCLC) を合併する。^{2) 3) 4)} 抗P/Q型VGCC抗体は、LEMSの臨床症候が無い小細胞肺癌では陽性とならない。⁵⁾ また類似疾患である重症筋無力症、筋炎、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチー、筋萎縮性側索硬化症においても陽性を示さないと言われている。⁶⁾ 抗P/Q型VGCC抗体はLEMSに特異的であり、本品を用いて抗P/Q型VGCC抗体を測定することにより、早期に、また簡便にLEMSと他の類似疾患との鑑別診断をすることが可能である。

2. 抗P/Q型VGCC抗体濃度の疾患別分布図と各種神経疾患での陽性率¹⁾



各種神経疾患の陽性率

疾患名	陽性率
ランバート・イートン筋無力症候群 (LEMS)	91.7% (44/48)
癌有	90.3% (28/31)
癌無	94.1% (16/17)
重症筋無力症 (MG)	0.0% (0/51)
筋萎縮性側索硬化症 (ALS)	0.0% (0/11)
その他神経疾患	0.0% (0/19)
健康成人	0.0% (0/53)

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10%以下である。

$$\text{結合率} = \frac{\text{T-トレーサー用陰性コントロールcpm}}{\text{T-トレーサーのトータルcpm}} \times 100$$
- ② 陽性コントロールを測定するとき、その結合率は10%以上である。

$$\text{結合率} = \frac{\text{T-トレーサー用陽性コントロールcpm}}{\text{T-トレーサーのトータルcpm}} \times 100$$

2. 正確性試験

- ① 60.2pmol/L付近 (50~80pmol/L) の管理検体を測定するとき、その測定値は既知濃度の±40%以内である。
- ② 83.9pmol/L付近 (80~125pmol/L) の管理検体を測定するとき、その測定値は既知濃度の±40%以内である。
- ③ 128.7pmol/L付近 (125~175pmol/L) の管理検体を測定するとき、その測定値は既知濃度の±40%以内である。

3. 同時再現性試験

- ① 60.2pmol/L付近 (50~80pmol/L) の管理検体を5回同時に測定するとき、そのC.V.値は20%以下である。
- ② 83.9pmol/L付近 (80~125pmol/L) の管理検体を5回同時に測定するとき、そのC.V.値は20%以下である。
- ③ 128.7pmol/L付近 (125~175pmol/L) の管理検体を5回同時に測定するとき、そのC.V.値は20%以下である。

4. 測定範囲
本キットの測定範囲は15.7~250pmol/Lである。
5. 校正用基準物質
現在、抗P/Q型VGCC抗体について国際的に認められた基準物質は存在しない。

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。

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、廃液は中和した後に、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

貯蔵方法

2~8℃で保存する。

有効期間

製造日から11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
B0013641	25テスト用

主要文献

- 1) 社内資料
- 2) Titulaer MJ, Lang B, Verschuuren JJ, Lambert-Eaton myasthenic syndrome: from clinical characteristics to therapeutic strategies, Lancet Neurol 2011,10 (12), 1098-1107
- 3) 本村政勝, 福田卓, Lambert-Eaton 筋無力症候群, Brain Nerve 2011, 63, 745-754
- 4) Motomura M, Nakata R, Shiraiishi H, Lambert-Eaton myasthenic syndrome: clinical review, Clin Exp Neuroimmun 2016, 7 (3), 238-245
- 5) Motomura M, Lang B, Johnston I, Palace J, Vincent A, Newsom-Davis J, Incidence of serum anti-P/Q-type and anti-N-type calcium channel autoantibodies in the Lambert-Eaton myasthenic syndrome, J Neurol Sci, 1997, 147 (1), 35-42
- 6) 本村政勝ら, 放射性免疫測定法による血清P/Q型電位依存性カルシウムチャンネル抗体測定 -LEMSキットの基礎的及び臨床的検討-, Neuroimmunology 2001, 9 (2), 233-238

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)