

* 2022年6月改訂（第6版）

* 2021年3月改訂（第5版）

この添付文書をよく読んでから使用すること。

プロコラーゲンⅢペプチドキット

リアグノスト PⅢPc.t.

RIA-gnost® PⅢPc.t.

【 全般的な注意 】

1. 本キットは、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないこと。
2. 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すること。
3. 添付文書以外の使用方法については保証できない。
4. コントロール血清には、HIV抗体、HBs抗原及びHCV抗体が陰性であることを確認したヒト由来成分が含まれているが、感染の危険性を完全には否定できないので、感染性のあるものとして取り扱うこと。
5. RIを使用する場合は、管理区域内で使用する。

**【 形状・構造等（キットの構成） 】

1. 放射性標識トレーサ……………42mL 1本
ヨウ化プロコラーゲン-Ⅲ-ペプチド（PⅢP）マウスモノクローナル抗体（¹²⁵I）300kBq（検定日において）
2. 標準血清 S₀、S₁、S₂、S₃、S₄、S₅、S₆（凍結乾燥品）
……………0.5mL用 各1本
0、0.5、1、2、4、8、14U/mL
3. 抗体試験管……………48本 2包
抗PⅢPマウスモノクローナル抗体コート試験管
4. コントロール血清1、2（凍結乾燥品）…0.5mL用 各1本
（溶解後のPⅢP濃度はラベルに表示）
5. 緩衝液……………42mL 1本
6. 洗浄剤……………40mL 1本

【 使用目的 】

血清又は血漿中のPⅢP量の測定

【 測定原理 】

1. 測定原理

本キットは、Immunoradiometric assay（IRMA）の原理に基づく血清又は血漿中のPⅢP量測定用キットであり、B/F分離には固相法（抗体試験管）を用いている。

PⅢP抗体が固定してある抗体試験管に、標準血清液、検体又はコントロール血清液を加えて反応させる。抗体試験管を洗浄した後、放射性標識トレーサを加えて反応させると、抗体試験管の内壁表面には、抗体-抗原-¹²⁵I-PⅢP抗体のサンドイッチ型の複合体が形成される。反応後、抗体試験管を洗浄して余剰の放射性標識トレーサを除去する。抗体試験管の放射能を測定し、検体中のPⅢP濃度を標準曲線から求める。

2. 特徴

本キットは抽出操作が不要であり、抗体を固定した試験管を用いるので、B/F分離が容易である。

【 操作上の注意 】

測定試料の性質、採取法

- 1) 検体は、血清又は血漿を用いる。
- 2) 溶血検体及び高脂検体は測定に使用しない。
- 3) 検体は、採取後24時間以内に測定する場合は、2～8℃に保存し、24時間以後に測定する場合は、あらかじめ小分けし-20℃以下で凍結保存する。

**【 用法・用量（操作方法） 】

1. 試薬の調製方法

- 1) 放射性標識トレーサ
そのまま用いる。
- 2) 標準血清液
標準血清に精製水0.5mLを加えて溶解する。
- 3) 抗体試験管
そのまま用いる。
- 4) コントロール血清液
コントロール血清に精製水0.5mLを加えて溶解する。
- 5) 緩衝液
そのまま用いる。
- 6) 洗浄液
1mLの洗浄剤を19mLの精製水で希釈し、全量を20mLにして用いる。

注) 標準血清及びコントロール血清のPⅢP濃度は、ロットにより若干異なる場合があるので、ラベルに表示してある濃度を使用すること。

試薬の開封後は、なるべく早く使用し、保存する場合は容器を密封し、貯蔵方法に従って冷蔵庫（2～8℃）に保存すること。

2. 必要な器具・器材・試料等

オートピペット（0.02、0.4、0.5、1mL）
メスシリンダ（600mLが計量できるもの）
試験管
試験管立て
ボルテックスミキサー
タイマー又は時計
振とう器
アスピレータ及びトラップ（吸引用）
ガンマカウンタ

その他試薬調製用として精製水を610mL用意する。

** 3. 測定（操作）法

キット中の各試薬は使用前に測定室温に戻して用いる。

- 1) 1 検体につき少なくとも 2 本の抗体試験管を用意し、次の群に分ける。

T 群…トータルカウント測定用

St 群…標準曲線（7 点）作成用

Sx 群…未知試料（検体）又はコントロール血清液用

- 2) 試薬及び検体は次の表に従って加える。

試験管No.		1 ～ 2	3 ～16	17～100
試薬	群	T群	St群	Sx群
標準血清液		—	20 μ L	—
検体又はコントロール血清液		—	—	20 μ L
緩衝液		—	400 μ L	400 μ L

- 3) No. 3～100の抗体試験管をボルテックスミキサで混和した後、室温（18～25℃）で2時間振とうしながらインキュベーションする。

- 4) 内容液をできる限り吸引除去する。

- 5) 洗浄液 1 mL で 2 回洗浄する。

- 6) 放射性標識トレーサ 400 μ L を No. 1～2 を含むすべての抗体試験管に加える。

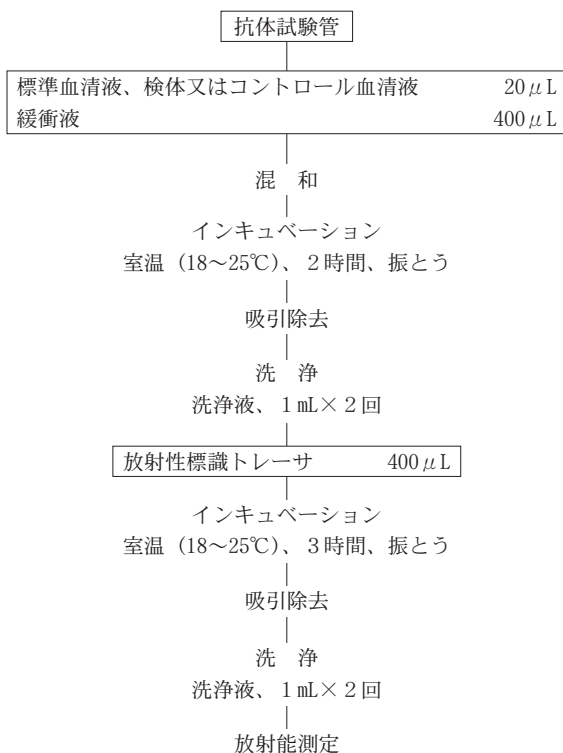
- 7) No. 3～100の抗体試験管を室温（18～25℃）で3時間振とうしながらインキュベーションする。

- 8) 内容液をできる限り吸引除去する。

- 9) 洗浄液 1 mL で 2 回洗浄する。

- 10) 全試験管の放射能を測定する。

** 4. 測定（操作）法概略



5. 結果の計算

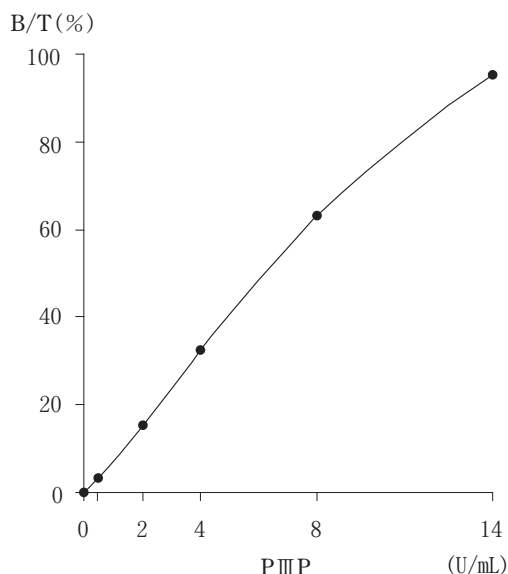
- 1) 各測定値からバックグラウンドを差し引き、それぞれのカウント数を求める。

- 2) 横軸に標準血清濃度を、縦軸に対応する平均カウント数をプロットして標準曲線を作成する。

- 3) 標準曲線から検体の平均カウント数に対応するPⅢP濃度を読み取る。

なお、結合率（B/T%）より濃度を求めるときは、各カウント数をトータルカウント数で除し、B/T%を求め、同様の方法でPⅢP濃度を読み取る。

6. 標準曲線例



【測定結果の判定法】

健康成人の血清PⅢP値は、0.3～0.8U/mLに分布し、中央値は0.5U/mLであった。

なお、正常値は性別、年齢、対象とする集団などにより若干変動すること考えられるため、各施設において設定されることが望ましい。

【臨床的意義】

一般的に、組織の損傷後に起こる線維形成は修復現象であるが、慢性肝疾患に伴う線維形成は単なる修復現象を超え、肝の形態と機能に不可逆的な変化を残すことになる。正常肝組織は、結合組織の含有量は極めて少ないが、慢性の障害が加わると、結合組織部分、特に、コラーゲンの増生が顕著となり、肝硬変症に移行し、また、更に肝癌に移行することがある。肝線維化の機序は、必ずしもじゅうぶん明らかではないが、臨床的には、慢性肝疾患に見られる肝線維化の病態を把握する必要がある。現在のところ、肝機能検査は数多くあるが、線維化の有効な指標となる検査法はなく、最終的には肝生検の組織所見に頼らざるをえないが、その方法は必ずしも容易ではない。肝結合組織の線維たん白は、主にⅠ型及びⅢ型コラーゲンであり、線維芽細胞、脂肪貯蔵細胞及び内皮細胞において、プロコラーゲンの形で生合成される。プロコラーゲンは、細胞外に分泌されるが、その際、N末端及びC末端ペプチドはそれぞれプロコラーゲンアミノプロテアーゼ及びプロコラーゲンカルボキシプロテアーゼによって切断され、コラーゲン分子に変換される。更に、酵素作用により分子相互に架橋が形成されて剛直性のコラーゲン線維となる。切断されたN末端及びC末端ペプチドは血中に放出される。

コラーゲンは抗原性の低いたん白であるが、切断されたN末端及びC末端ペプチドは、コラーゲンよりも抗原性が強く、更にお互いに交差性がなく、また、コラーゲンとも反応しないので、N末端あるいはC末端ペプチドのラジオイムノアッセイが可能である。そして、その血中の量は肝のコラーゲンの産生を正確に反映する。

ドイツミュンヘン マックスプランク研究所Timplらは、牛の皮膚からⅢ型プロコラーゲンN末端ペプチドを精製し、抗血清を作製してラジオイムノアッセイを確立した。

【性 能】

1. 感度試験

標準曲線からPⅢP濃度0及び12U/mLにおける抗体結合率 ($B_0/T\%$ 及び $B_{12}/T\%$) を求めるとき、その差 [$B_{12}/T\% - B_0/T\%$] は50%以上である。

2. 正確性試験

PⅢP濃度既知の管理用血清を測定するとき、既知濃度の80~120%である。

3. 同時再現性試験

PⅢP濃度の異なる2種類の検体を各々5回同時に測定するとき、測定値の変動係数 (C.V. 値) は、いずれも15%以下である。

4. 測定範囲

0.03~14U/mL

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意

- 1) 試薬が目や皮膚に付着したり、口に入ったりしないようじゅうぶん注意すること。また、誤って目や皮膚に付着したり、口に入った場合は、直ちに水でじゅうぶんに洗い流すなどの応急処置を行うこと。異常があれば、医師に相談すること。
- 2) 検体を取り扱うときは、感染の危険性を考慮して使い捨ての手袋を着用するなど慎重に取り扱うこと。

2. 使用上の注意

- 1) 本キットは入荷次第、貯蔵方法に従って冷蔵庫(2~8℃)に保存すること。
- 2) 試薬の凍結・融解はしないこと。
誤って凍結させた試薬は品質が変化して、正しい測定値が得られないことがあるので、使用しないこと。
- 3) 使用期限を過ぎた試薬は、測定値の信頼性を保証できないので、使用しないこと。
- 4) 製造番号が同一のキット中の試薬の組合せで正確な反応を示すように調製されているので、異なる製造番号のキット中の試薬と組み合わせたり、混ぜ合わせて使用しないこと。
- 5) 標準曲線は測定ごとに作成すること。
- 6) 測定結果は、反応条件(インキュベーションの時間や温度など)に影響されるので、標準血清液と検体は同一の指定された条件で同時に操作すること。
- 7) 容器が放射性物質をはじめ試薬で汚染されている危険性を考慮して、キット中の容器を他の目的に転用することは避けること。

3. 廃棄上の注意

- 1) 標準血清及びコントロール血清は、保存剤としてアジ化ナトリウムを含むので、使用済みなどによりその溶液を廃棄する場合は、鉛や銅などの金属製の排水管中で爆発性の金属アジ化物が形成されないように、必ず大量の水でじゅうぶん希釈しながらゆっくり洗い流すこと。
- 2) 検体に接触した器具、試薬、試薬容器及び検体の残りなどは感染の危険があるものとして、オートクレーブ(121℃、20分以上)などで滅菌するか、又は次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度5,000ppm)に1時間以上浸すなどの処理をすること。
- 3) 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物、産業廃棄物又は放射性廃棄物など区別して処理すること。

4. 放射性物質取扱い上の注意

本キットの構成試薬には、ヨウ素125標識放射性化合物を含むので、本キットは定められた場所に保管し、その取扱いについては、次の一般的な注意事項のほか、放射性物質の取扱いについて定められた取扱い規則を厳守すること。

- 1) 身体の汚染防止のため、作業室内では、使い捨て手袋、専用の保護衣類・保護用具を着用すること。
- 2) 作業中、放射性物質が誤って体内に入るのを防ぐため、ピペット操作は口で行わないこと。また、作業室内で飲食、喫煙及び化粧をしないこと。
- 3) 放射性廃液及び放射性廃棄物の廃棄については、所定の規則に従って処理すること。また、他のRI検査の支障にならないこと。更に、無用の被ばくを避けるなどの配慮をすること。
- 4) 放射性物質をこぼした場合は速やかにろ紙などで完全に拭き取り、放射性廃棄物として処理すること。処理後は、汚染検査を実施すること。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2~8℃に保存

有効期間：製造日より8週間

**【包装単位】

96テスト用(標準曲線作成用を含む)

【主要文献】

1. 上野隆登ほか：医学と薬学 24：675 (1990)
2. 中山 一ほか：肝胆膵 22：317 (1991)

【問い合わせ先】

DENISファーマ株式会社 営業部

〒100-0013 東京都千代田区霞が関三丁目6番7号

TEL：03-5510-2932 FAX：03-5510-0130

****【 製造販売業者の氏名又は名称及び住所 】**

製造販売業者：

DENISファーマ株式会社

〒285-0802 千葉県佐倉市大作一丁目 8 番 5 号

TEL：043-498-2031

製造業者：

DIAsource ImmunoAssays SA（ベルギー）