

体外診断用医薬品（放射性）

製造販売承認番号 21200AMZ00624000

*2020年1月改訂（第2版）
2016年4月作成（第1版）

この添付文書をよく読んでから使用すること。

副甲状腺ホルモン関連ペプチドキット

PTHrP IRMA 「エスエムエル」

【 全般的な注意 】

1. 本品は体外診断用医薬品です。それ以外の目的に使用できません。
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等に基づき医師が総合的に判断してください。
3. 添付文書以外の使用方法については保証をいたしません。
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してください。
5. RIを使用する場合は、許可を受けたRI作業室又は区域で使用してください。

【 形状・構造等（キットの構成） 】

- | | | |
|-------------------------------------|-----------------------|-----|
| 1. トレーサー | 21mL | 1本 |
| ヨウ化抗ウサギ免疫グロブリン抗体（ ¹²⁵ I） | | |
| | 450kBq（検定日において） | |
| 2. 抗体ビーズ | 101個 | 1本 |
| マウス抗PTHrPモノクローナル抗体ビーズ | | |
| 3. 抗体（凍結乾燥品） | 11mL用 | 1本 |
| ウサギ抗PTHrP抗体 | | |
| 4. 標準PTHrP（凍結乾燥品） | 5 mL用 | 1本 |
| | 0 pmol/L | |
| 5. 標準PTHrP（凍結乾燥品） | 1 mL用 | 各1本 |
| | 1、2、5、15、40、100pmol/L | |

注意 各標準PTHrPの正確な濃度は製造ロットにより異なるため、濃度表を参照のこと。

【 使用目的 】

血漿中のPTHrPの測定

【 測定原理 】

1. 測定原理

検体中の副甲状腺ホルモン関連ペプチド（PTHrP）は、抗体ビーズに固相化されたマウス抗PTHrPモノクローナル抗体及びウサギ抗PTHrP抗体と反応し、ウサギ抗PTHrP抗体-PTHrP-マウス抗PTHrPモノクローナル抗体の複合体1が生成します。次にヨウ化抗ウサギ免疫グロブリン抗体（¹²⁵I）（トレーサー）と反応し、抗体ビーズ上でトレーサー-複合体1の複合体2を形成します。未反応のトレーサーを除去した後、抗体ビーズ上の複合体2の放射能を測定します。同様に標準PTHrPを操作し、得られた標準曲線より検体のPTHrP濃度を求めます。

2. 特徴

副甲状腺ホルモン関連蛋白（PTHrP）は、悪性腫瘍に伴う高Ca血症の中で腫瘍細胞から分泌される液性因子によるhumoral hypercalcemia of malignancy（HHM）の原因物質として腫瘍細胞より単離された141個のアミノ酸よりなる蛋白質で¹⁾、N端の（1-34）領域のアミノ酸配列が副甲状腺ホルモン（PTH）と類似しているため²⁾、PTHと同様の血清Ca上昇作用を有している。

近年、血中又は尿中の種々のPTHrPフラグメントを認識する測定法が報告され³⁻⁶⁾、いずれもHHMの鑑別診断やHHMの治療効果の判定、あるいはPTHrPによる高Ca血症の発症予測に有用であることが示されている。

本品は、PTHrP（1-34）を認識するモノクローナル抗体とPTHrP（50-83）を認識するポリクローナル抗体とを用いたIRMA法であり、生理活性を有するPTHrPのN端-中間部、あるいはそれより大分子型のPTHrPの測定が可能である⁷⁾。標準品には遺伝子組換えPTHrP（1-87）を用いており、¹²⁵I標識体として抗ウサギ免疫グロブリン抗体を用いることにより、感度向上を図っている。また、抽出操作の必要がない、B/F分離が短時間に行える等、簡便で高精度な測定キットとなっている。

【 操作上の注意 】

1. 検体

- 1) 検体には、アプロチニン・EDTA加血漿を用いること。血清、EDTA加血漿及びヘパリン加血漿は、検体として不適当です。なお、採血後直ちに遠心分離して血漿を得ること。
- 2) 採取した検体は、できるだけ速やかに検査する。長期に保存する場合は-20℃以下で保存する（-20℃で4ヵ月間保存可能）。
- 3) 検体の凍結融解は繰り返さないこと。
- 4) 凍結検体は融解後、検査開始前によく混和すること。
- 5) なるべく澄明な、溶血していない検体を使用する。

2. 操作

- 1) 本品の試薬を溶解するときは、使用前に室温に戻し、泡立てないようにゆっくりかき混ぜ、調製後速やかに使用すること。
- 2) 測定は二重測定を基本とすること。
- 3) 測定にあたって試液に触れる器具類は、プラスチック製のものを使用すること。
- 4) 検体間の汚染を防ぐため、マイクロピペットは検体ごとにチップを替えて使用する。

- 5) 標準液は、検体と同時に並行して操作する。
- 6) 測定上限を超える高値検体は、標準PTHrP (0 pmol/L) を用いて希釈し、再測定する。

3. 妨害物質

ビリルビンは20.3mg/dLまで影響が認められませんでした。溶血はヘモグロビン濃度として440mg/dLまで影響が認められませんでした。乳びはホルマジン濁度数2730度まで影響が認められませんでした。

4. 交差反応

ペプチド	交差反応性 (%)
PTHrP (1-87)	100
PTHrP (1-95)	73
PTHrP (1-108)	44
PTHrP (1-141)	49
PTHrP (1-34)	0
PTHrP (50-83)	0
PTH	0

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製

- 1) トレーサー：そのまま使用する。
- 2) 抗体ビーズ：そのまま使用する。
- 3) 抗体：バイアルに精製水11mLを加えて溶解する。
- 4) 標準PTHrP (0 pmol/L)：
バイアルに精製水 5 mLを加えて溶解する。溶解後は速やかに使用すること。
- 5) 標準PTHrP (1、2、5、15、40、100pmol/L)：
各濃度の標準PTHrPのバイアルに精製水 1 mLを加えて溶解する。溶解後は速やかに使用すること。

注意 凍結乾燥品の溶解に際してはなるべく泡立てないように注意すること。

2. 必要な器具・器材・試料等

- 1) 試験管および試験管立て
- 2) マイクロピペット (100μL用、200μL用)
- 3) ホールピペット (1 mL用、5 mL用、10mL用)
- 4) パラフィルム
- 5) アスピレーター及びトラップ用ビン(放射性廃液用)
- 6) ボルテックスミキサー
- 7) γ-カウンター

3. 測定操作法

測定にあたり、操作上の注意を参照してください。
試験管はあらかじめ番号等の印を付けて整理しておくことよ。

- 1) 番号 (1～16) を記入した試験管を準備する。
No.1, 2はトータルカウント用 (T)、No.3～16までは標準曲線用とする。未知検体用に試験管No.17以下必要数を準備する。
- 2) 各標準PTHrP溶解液 (0、1、2、5、15、40、100pmol/L) 200μLずつを試験管No.3～16にそれぞれ分注する。
- 3) 検体200μLずつを試験管No.17以下にそれぞれ分注する。
- 4) 抗体溶解液100μLずつを試験管No.1, 2を除くすべての試験管に加え、十分振り混ぜる。
- 5) 試験管No.1, 2を除くすべての試験管に抗体ビーズを1個ずつ入れる。
- 6) 25℃で18～22時間インキュベートする。

- 7) 試験管No.1, 2を除くすべての試験管の反応液を吸引除去し、ビーズを脱イオン水又は、精製水 3 mLで2回洗浄する。
- 8) すべての試験管に、トレーサーを200μLずつ入れる。
- 9) 25℃で18～22時間インキュベートする。
- 10) 試験管No.1, 2を除くすべての試験管の反応液を吸引除去し、ビーズを脱イオン水又は、精製水 3 mLで2回洗浄する。
- 11) すべての試験管の結合放射能をγ-カウンターで測定する。(1～2分間)

注意 PTHrP高濃度検体は、標準PTHrP 0 pmol/Lを用いて希釈する。

4. 結果の計算

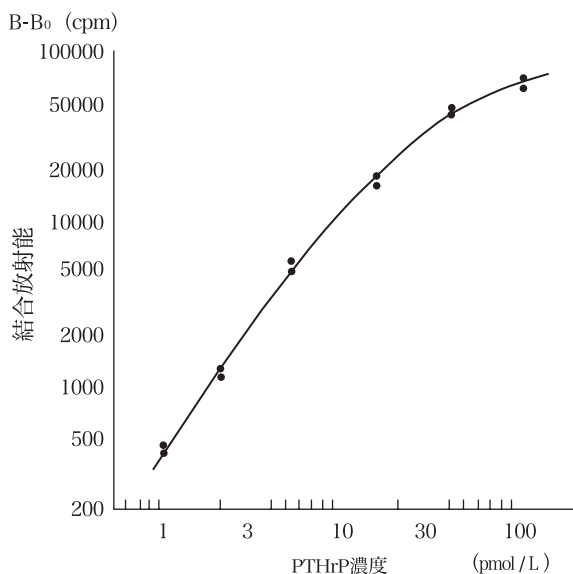
- 1) 放射能測定結果から次式により各標準PTHrPおよび未知検体の結合放射能を求める。
結合放射能 (B-Bo) (cpm) = (各標準PTHrPまたは未知検体のカウント数) - (標準PTHrP 0 pmol/Lのカウント数)
- 2) 横軸に各標準PTHrP濃度を、縦軸に対応する結合放射能 (B-Bo) をプロットし、標準曲線を作成し、未知検体の結合放射能 (B-Bo) からPTHrP濃度 (pmol/L) を読み取る。

測定実施例

試験管 No.	試験管内容	カウント (cpm)		B-Bo (cpm)		PTHrP濃度 (pmol/L)
		測定値	平均値	測定値	平均値	
1	トータルカウント	192871	192699			
2	"	192528				
3	標準PTHrP	450	460			
4	(0 pmol/L)	470				
5	標準PTHrP	927	916	467	456	
6	(1 pmol/L)	905		445		
7	標準PTHrP	1707	1694	1247	1233	
8	(2 pmol/L)	1680		1220		
9	標準PTHrP	5894	5589	5434	5129	
10	(5 pmol/L)	5284		4824		
11	標準PTHrP	19521	18639	19061	18178	
12	(15 pmol/L)	17756		17296		
13	標準PTHrP	48331	46465	47871	46005	
14	(40 pmol/L)	44599		44139		
15	標準PTHrP	62547	66154	62087	65693	
16	(100 pmol/L)	69760		69300		
17	未知検体A*	2440	2423	1980	1963	2.7
18	"	2405		1945		
19	未知検体B*	14361	13956	13901	13494	11.1
20	"	13546		13086		
21	未知検体C*	35836	37723	35376	37263	30.8
22	"	39609		39149		

★：健康人血漿に遺伝子組換えヒト副甲状腺ホルモン関連蛋白 (PTHrP) (1-87) を添加し作製した。

PTHrP標準曲線例（測定実施例をもとに作図）



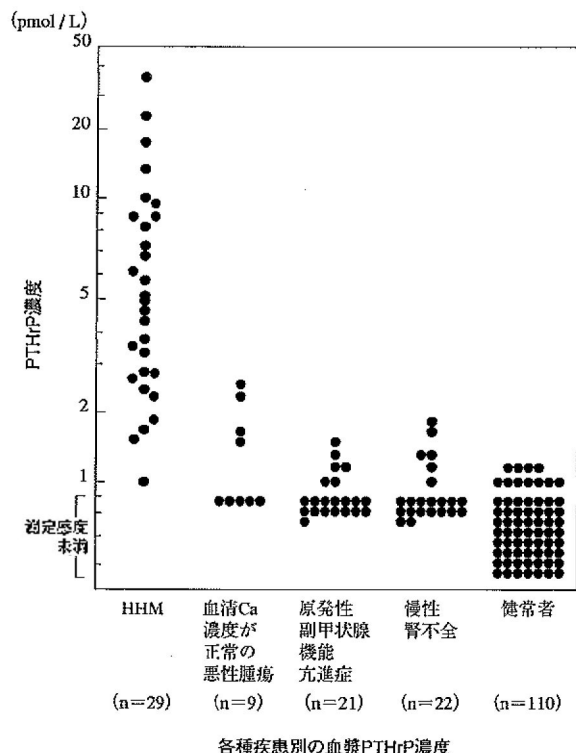
【測定結果の判定法】

1. 参考基準範囲⁷⁾

健常人110例の血漿PTHrP濃度は全例1.1pmol/L以下で、うち97例が測定感度以下でした。

2. 臨床評価⁷⁾

本品を用いて、健常人110例および各種疾患患者81例の血漿PTHrP濃度の測定を行ったところ、次図に示す結果が得られました。



3. 判定上の注意

- 1) 基準範囲は、性別・年齢等母集団により変動するので各施設で検討されることが望ましい。
- 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ります。測定値や判定結果に疑問がある場合は、再検査や希釈再検査等により確認してください。

- 3) 採血管については、分離剤等が測定値に影響を与える場合がありますので注意してください。

【性能】

1. 感度

標準PTHrP 1 pmol/L、100 pmol/Lのそれぞれの結合放射能 (B_1 、 B_{100}) から標準PTHrP 0 pmol/Lの結合放射能 (B_0) を引いた値 ($B_1 - B_0$ 、 $B_{100} - B_0$) の比 $[(B_1 - B_0) / (B_{100} - B_0)]$ は、2%以下である。

2. 正確性

既知濃度の管理用血清を測定するとき、測定値は既知濃度の $\pm 30\%$ 以内にある。

3. 同時再現性

同一検体を5回同時に測定するとき、測定値の変動係数は10%以下である。

4. 測定範囲

1～100 (pmol/L)

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上の注意

- 1) 全ての検体は、HIV、HBV、HCV等の感染の危険を考慮して取り扱うこと。検体を取り扱う時は、ディスポーザブルの手袋、専用の実験衣等を着用し、検査終了後十分に手を洗うこと。また、口でのピペティングは行わないでください。
- 2) 本品の構成試薬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てください。
- 3) トレーサー [ヨウ化抗ウサギ免疫グロブリン抗体 (^{125}I)] を使用する場合は、以下の「ラジオアイソトープの取り扱いの安全性に関する一般的な規定」及び「検査室内で指定された種々の規定」を厳守してください。
 - ・ 身体を汚染を防止するため、作業室内では専用の実験衣、手袋を着用し、検査終了後十分に手を洗うこと。また、口でのピペティングは行わないでください。
 - ・ 作業中放射性物質が誤って体内に入るのを防ぐため、作業室内で喫煙、飲食はしないでください。
 - ・ 放射性物質については、放射線障害防止法等に従って適切に取り扱ってください。

2. 使用上の注意

- 1) 本品は、貯蔵方法に従って保存し、また、使用期限の切れたものは使用しないこと。
- 2) 全ての試薬類は必ず使用時に室温に戻して使用すること。
- 3) ロット番号の異なるキットの中の構成試薬を組合わせて使用しないこと。
- 4) 本品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) 放射性廃液及び放射性廃棄物の廃棄については、他のRI検査の支障にならないこと。また、無用の被ばくを避ける等の配慮が望まれる。
- 2) 本品にはアジ化ナトリウムが24.5mg含まれているので、流し等に廃棄する場合には多量の水で流すこと。
- 3) 検体及び検査に使用した器具類は、次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度1,000ppm、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プ処理 (121℃、20分以上) を行ってください。ただし、酸を含む廃棄物は当量の塩基で中和してから処理すること。

- 4) 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廃棄してください。

【 貯蔵方法・有効期間 】

1. 貯蔵方法 遮光して 2～8℃で保存
2. 有効期間 製造日から 8 週間

【 包装単位 】

100テスト用（標準曲線作成用を含む）

【 主要文献 】

- 1) Brutis, W. J., et al. : J. Biol. Chem. 262, 7151–7156, 1987.
- 2) Suva, L. J., et al. : Science 237, 893–896, 1987.
- 3) Brutis, W. J., et al. : N.Engl. J.Med. 332, 1106–1112, 1990.
- 4) Ratcliffe, W. A., et al. : Clin. Chem. 37, 1781–1787, 1991.
- 5) Kao, P.C., et al. : Mayo Clin. Proc. 65, 1399–1407, 1990.
- 6) Grill, V., et al. : J. Clin. Endocrinol. Metab. 73, 1309–1315, 1991.
- 7) 福本誠二, 他 : IRMA法による血漿 PTH-related protein (PTHrP) 測定の基礎的および臨床的検討. ホルモンと臨床, 40, 1309–1314, 1992.

*【 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 】

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