体外診断用医薬品

100C571001-047B
（第２版）

KL-6

Immuno Enzymometric Assay

シアル化糖鎖抗原ＫＬ－６キット

STEテスト「TOSOH」Ⅱ（KL－6）

100C571001-047B
体外診断用医薬品

＊2017年4月改訂（第2版）
2016年9月作成（第1版）
認証番号 228ABEZX00108000

この添付文書をよく読んでから使用してください。

シアル化糖鎖抗原ＫＬ－６キット

Eテスト「TOSOH」II（KL−6）免疫反応試薬

EIA法による血清中のシアル化糖鎖抗原KL-6測定用試薬

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
3. 添付文書以外の使用については保証を致しません。
4. 本キットの構成試薬については、HBs抗原、HIV抗体及びHCV抗体が陰性であることが確認されていますが被検検体の取扱いと同様に取扱いには注意してください。
5. 全自動エンザイムイムノアッセイ装置をご使用の際には、使用する装置添付の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

[形状・構造等（キットの構成）]

本製品のご使用の際には、本添付文書のほかそれぞれの添付文書もご参照ください。

1. Eテスト「TOSOH」II（KL−6）免疫反応試薬
   ビーズ固定化抗KL-6マウスモノクローナル抗体
   抗KL-6マウスモノクローナル抗体アルカリ性ホスファターゼ結合物
2. Eテスト「TOSOH」II基質セット（ラベルに**桃色**で**SUB II**と表示）
   （1）Eテスト「TOSOH」II基質
   4−メチルウンベリフェリルりん酸
   （2）Eテスト「TOSOH」II基質溶解液
3. Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品セット
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品（1）
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品（2）
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品（3）
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品（4）
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品（5）
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品（6）
4. Eテスト「TOSOH」II（KL−6）検体希釈液
5. Eテスト「TOSOH」II洗浄液
6. Eテスト「TOSOH」II分注液

[使用目的]

血清中のシアル化糖鎖抗原KL-6の測定

[測定原理]

1. 特徴

1) 抗KL-6マウスモノクローナル抗体を用いた1ステップサンドイッチEIA（IEMA）法です。
2) 磁性ビーズに固定化された抗体と酵素標識された抗体が試薬カップに凍結乾燥状態で封入されているため、試薬調製の必要がありません。
3) 抗原抗体反応から蛍光測定まで専用の試薬カップ内で行われるため、コンタミネーションやキャリーオーバーがほとんどありません。
4) 全自動エンザイムイムノアッセイ装置を用いて、短時間で自動測定できます。（抗原抗体反応時間は10分）
5) 放射性同位元素を使用していませんので、そのための特殊な設備を必要としません。

2. 測定原理

本法の原理は、抗KL-6マウスモノクローナル抗体を用いた1ステップサンドイッチEIA（IEMA）法です。磁性ビーズに固定化された抗KL-6マウスモノクローナル抗体と、酵素としてアルカリ性ホスファターゼが標識された抗KL-6マウスモノクローナル抗体とが、凍結乾燥体として試薬カップに封入されています。この試薬カップに分注水と検体を添加すると、凍結乾燥試薬が溶解し抗原抗体反応が開始します。一定時間、一定温度で抗原抗体反応をした後、洗浄水で洗浄することにより、未反応の酵素標識抗体と検体成分を除去します（B/F分離）。その後、磁性ビーズに結合した酵素活性を測定するために酵素基質として4−メチルウンベリフェリルりん酸を添加し、酵素反応の結果得られる蛍光物質（4−メチルウンベリフェロン）の生成速度を測定することにより、血清中のKL-6濃度を知ることができます。

[操作上の注意]

1. 検体には新鮮な血清を用いてください。検体を分取する場合は、溶血させないように注意してください。検体を保存する場合は、2～8 ℃で保存し、7日以内に測定してください。7日以内に測定しない場合は、−20 ℃以下で凍結保存し、60日以内に測定してください。2～8 ℃保存又は凍結保存した検体をご使用の際には、15～25 ℃に戻してから使用してください。
2. 凍結保存検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。
3. 検体の希釈にはEテスト「TOSOH」II（KL−6）検体希釈液を用い、十分に混和してください。
4. 妨害物質
   妨害物質として、ヘモグロビンは1,100 mg/dLまで、遊離型ビリルビンは51 mg/dLまで、抱合型ビリルビンは51 mg/dLまで、イントラリポス（静注用脂肪乳剤）は1,600 mg/dLまで、アルブミンは5.0 g/dLまで、アスコルビン酸は20 mg/dLまで、それぞれ検体に添加しても測定値に影響を与えないことが確認されています。
5. 2～8 ℃保存されていた試薬をご使用の際には、15～25 ℃に戻してから使用してください。

[用法・用量（操作方法）]

1. 試薬の調製方法及び調製後の貯法・有効期間

1) 免疫反応試薬
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）免疫反応試薬の防湿袋を開封して使用してください。開封後の免疫反応試薬は、15～25 ℃での累積時間として240時間以内に使用してください。例えば、1日あたり15～25 ℃に8時間、2～8 ℃に16時間保存することを毎日繰り返した場合は30日に相当します。
   但し、一度防湿袋を開封した免疫反応試薬は、2～8 ℃に保存していたとしても、30日を超えては使用しないでください。
2) 基質液
   Eテスト「TOSOH」II基質1びんにEテスト「TOSOH」II基質溶解液1びん（100 mL）を加えて基質液を調製してください。調製後は、遮光下、15～25 ℃で3日間、2～8 ℃保存で30日間有効です（直射日光、紫外線に当てないように注意してください）。
3) 標準品
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品（1）は液体ですので、開封後、必要量を検体カップにとり、そのまま使用してください。Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品（2）～（6）は凍結乾燥品ですので、それぞれ精製水1.0 mLを加え、ゴム栓を閉めて、十分に転倒混和して完全に溶解してから使用してください。いずれも、開封後あるいは調製後は密封するならば、2～8 ℃保存で1日間有効です。
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）標準品の表示濃度は、社内標準品を基準として決めたものです。
4) 検体希釈液
   Eテスト「TOSOH」II（KL−6）検体希釈液は液体ですので、開封後、そのまま使用してください。開封後は、15～25 ℃の累積時間として240時間有効です。例えば、15～25 ℃で1日に8時間開封して使用し、使用後直ちに密封して2～8 ℃で保存した場合は30日間有効です。
   また、全自動エンザイムイムノアッセイ装置に検体希釈液をセットしない場合（自動希釈機能を利用しない場合）に限り、毎回使用後直ちに密封し2～8 ℃で保存するならば90日間有効です。
   但し、AIA-600 IIをご使用の場合、検体希釈液を30 mL用の別容器に移し替えて装置にセットする必要がありますので、別容器に移し替えた検体希釈液は、15～25 ℃での累積時間として72時間有効です。例えば、15～25 ℃で1日に8時間開封して使用し、使用後直ちに密封して2～8 ℃で保存した場合は、9日間有効です。
5) 洗浄水
   Eテスト「TOSOH」II洗浄液1びんを適量の精製水で希釈して2.5 Lとし、濃度勾配を生じないよう十分に混和して、洗浄水を調製してください。調製後は、15～25 ℃放置で30日間有効です。
6) 分注水
   Eテスト「TOSOH」II分注液1びんを適量の精製水で希釈して5 Lとし、濃度勾配を生じないよう十分に混和して、分注水を調製してください。調製後は、15～25 ℃放置で30日間有効です。

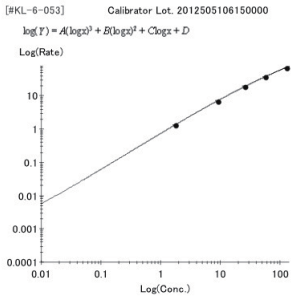
2. 必要な器具・器材・試薬等

1) 検体測定時には精度管理用サンプルを測定し、ご施設での日常の精度管理を実施してください。なお、精度管理用サンプルとしては、エイテスト　コントロールセットをお薦めします。
2) 測定の際には、必要に応じてピペット、サンプルカップ、サンプルチップ等を用意してください。

3. 測定（操作）法

1) 検体は検体希釈液にて51倍に希釈します。標準品は希釈しないで使用してください。
2) Eテスト「TOSOH」II（KL−6）免疫反応試薬の試薬カップのアルミシールを破ります。
3) この試薬カップに分注水100 μLと、標準品又は希釈した検体10 μLを正確に加え、磁石で磁性ビーズを振動させながら撹拌し、37 ℃で10分間、抗原抗体反応を行います。
4) 試薬カップを洗浄水で洗浄し、未反応の酵素標識抗体及び検体成分を除去します（B/F分離）。
5) 基質液を一定量注入した後、磁性ビーズを振動・撹拌させながら、酵素反応により生成した蛍光物質の蛍光強度を落射型蛍光光度計を用いて、励起波長363 nm、蛍光波長447 nmで測定し、蛍光物質の生成速度を算出します。
6) 標準品に対する蛍光物質の生成速度から検量線を作成し、検体中のKL-6濃度を算出します。
   なお、検量線は次の場合に作成します。
   ① 免疫反応試薬のロットの変更時
   ② 同一の免疫反応試薬ロットにおいて、検量線作成後90日を超えた場合
   ③ 精度管理用サンプルの値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられた場合
7) 測定結果が6,000 U/mLを超えたときは、検体希釈液を用いて適宜希釈率を変えて検体を希釈し、同様の操作2）～6）により再測定します。

全自動エンザイムイムノアッセイ装置AIA-2000を使用したときに得られる検量線の例を次に示します。（検量線の濃度範囲は、51倍希釈にて測定された検体の濃度に相当しますので、測定範囲の1/51の値で表示されます。）



[測定結果の判定法]

1. 測定結果の判定

1) Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品セットを用いた検量線から得られた濃度に希釈倍率を乗じて、検体中の KL-6 濃度を算出します。装置で自動希釈により測定した場合は、自動的に希釈倍率を乗じた結果となります。一方、手希釈により測定した場合は、得られた濃度に希釈倍率を乗じて算出してください。
2) 結果を判定するための基準値は各検査施設で設定してください。
3) 参考基準範囲
健常者 129 例について、血清中の KL-6 濃度を測定しノンパラメトリック法による 95 %基準範囲を求めた結果、参考基準範囲は 107 ～ 381 U/mL でした。
なお、参考基準範囲は種々の要因で変動することがありますので、各施設において設定願います。
4) 間質性肺炎群に対するカットオフ値は 500 U/mL であるとの報告があります（*1*）。

2. 判定上の注意

1) 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
2) 肺結核症例の病変分布が広範囲な場合及び肺癌、乳癌、膵癌等の悪性腫瘍患者では検体中の KL-6 濃度が上昇する場合があります。
3) 自己免疫疾患患者等の検体では非特異反応を呈することがあります。

[臨床的意義]

KL-6 は河野らにより 1985 年に発見されたシアル化糖鎖抗原です。II 型肺胞上皮細胞等で発現する分子量 100 万以上の巨大分子で、クラスター 9 に分類されている膜貫通型の非分泌型ムチンである MUC-1 に属しています（*2*）。

間質性肺炎患者の血中 KL-6 濃度は、健常者及び他の呼吸器疾患患者と比較して有意に高いため、間質性肺炎マーカーとして広く臨床で用いられています。また、間質性肺炎の疾患活動性の評価が可能で、症状改善・悪化に伴い有意な測定値変動があるため、その測定には高い臨床的有用性が認められています（*3–7*）。

[性能]

1. 感度

1) Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品（1）の蛍光単位（FU）は 0.25（nmol/(L･s)）以下です。
2) Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品（1）と、Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品（2）（1.57 ～ 2.35 U/mL）の FU を測定して、KL-6 濃度に対する FU の比［注 1］を求めると、0.17（nmol/（L･s））/（U/mL）以上となります。
［注 1］FU の比は、下式により計算しました。
FU の比 =（A－B）／C
A：標準品（2）の FU　（nmol/（L･s））
B：標準品（1）の FU　（nmol/（L･s））
C：標準品（2）の KL-6 濃度　（U/mL）

2. 正確性

KL-6 濃度の異なる 3 種類(250 ～ 750 U/mL、1,500 ～ 2,500 U/mL、3,500 ～ 5,500 U/mL）の濃度既知コントロール［注 2］を測定するとき、その測定値は表示濃度の 100±20 %以内です。
［注 2］濃度既知コントロールとは、東ソー KL-6 標準品を対照としてEテスト「TOSOH」II（KL－6）を用いて測定し、表示濃度を定めたヒト血清です。なお、東ソー KL-6 標準品とは、「東ソー KL-6 一次標準品」及び「東ソー KL-6 一次標準品を基準にして調製した標準品」を総称したものです。

3. 同時再現性

KL-6 濃度の異なる 3 種類(250 ～ 750 U/mL、1,500 ～ 2,500 U/mL、3,500 ～ 5,500 U/mL）の濃度既知コントロールについて、同一コントロールを 5 回同時に測定するとき、それぞれの測定値の変動係数は 15 %以下です。

4. 測定範囲：10 ～ 6,000 U/mL
（51 倍希釈後の濃度では 0.196 ～ 117 U/mL に相当します。）
低濃度検出限界 10 U/mL は、標準品（1）～（6）の測定値から検量線を作成し、標準品（1）の FU の平均値 ＋ 2 × SD（5 回測定の標準偏差）に対応する濃度として算出しました。
また、過剰抗原により誤って低い値が報告される現象は 50,000 U/mL 以下の濃度ではおこりません。（51 倍希釈後の濃度では 980 U/mL に相当します。）

5. 相関性試験成績

1) 本法（y）と A 社 ECLIA 法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。
$y = 0.980x - 45.8$
$r = 0.988$
$n = 116$
2) 本法（y）と B 社 CLEIA 法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。
$y = 1.06x - 69.6$
$r = 0.987$
$n = 116$

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 使用上の注意

1) ご使用になるまで試薬は 2 ～ 8 ℃で保存してください。指定の貯法以外で保存した試薬や使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2) 試薬トレイ間での試薬カップの載せ替えは、試薬の誤った識別につながりますので、絶対に行わないでください。特に、免疫反応試薬を試薬トレイごとセットする機種は、項目名及びロット番号の識別を試薬トレイのバーコード情報でのみ行い、個々の試薬カップのドットコードでは行いませんのでご注意ください。
3) 検量線を作成する場合には、新しく防湿袋を開封した免疫反応試薬を使用してください。
4) 検量線の有効期間は 90 日です。これを過ぎた場合は、新たに検量線を作成してください。また、精度管理用サンプルの測定値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられる場合には、90 日以内であっても検量線を作成しなおしてください。
5) 測定には新鮮な検体を用いてください。検体を保存する場合は、2 ～ 8 ℃で保存し、7 日以内に測定してください。7 日以内に測定しない場合は、−20 ℃以下で凍結保存し、60 日以内に測定してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。
6) 試験器具などの汚れは判定を誤らせる場合がありますので、清浄なものを使用してください。
7) 本製品のご使用にあたっては、次に示す別売の試薬と組み合わせてください。
Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品セット
Eテスト「TOSOH」II（KL－6）検体希釈液
Eテスト「TOSOH」II 基質セット（ラベルに**桃色**で **SUB II** と表示）
Eテスト「TOSOH」II 洗浄液
Eテスト「TOSOH」II 分注液
8) 本品は血清中の KL-6 測定試薬ですので、検体には血清のみを用いてください。
9) 検体には HAMA（Human Anti-Mouse Antibody）を含むものがありますが、マウスモノクローナル抗体を用いた測定系では正しい測定値が得られないことがあります。また、各種疾患の治療等の目的でご使用になった薬物の影響により、測定値が変動することがあります。疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
10) アスホターゼ　アルファ（遺伝子組換え）製剤を投与されている患者の検体では、測定値が影響を受ける可能性があります。
11) 開封後の検体希釈液を保存する際は、密封してください。密封に用いるキャップ等の汚れは、試薬劣化の原因となりますので、清浄なものを使用してください。
12) 濃縮やコンタミネーションの影響を避けるため、一度装置にセットした検体希釈液には注ぎ足しをしないで残液は廃棄してください。
13) A1A-600 II をご使用の場合、検体希釈液を 30 mL 用の別容器に移し替えて装置にセットする必要がありますが、容器は清浄なものを使用してください。
14) 調製後の基質液は、血清、ごみ、金属類、微生物などの混入により酵素基質成分の分解が促進される場合がありますので、清浄な状態で保存してください。

2. 取扱い上（危険防止）の注意

1) 試料（検体）は HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険性を避けるために使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
2) Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品（1）、Eテスト「TOSOH」II（KL－6）検体希釈液、Eテスト「TOSOH」II 基質セット、Eテスト「TOSOH」II 分注液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。使用に際しては、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措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

3. 廃棄上の注意

1) Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品（1）、Eテスト「TOSOH」II（KL－6）検体希釈液、Eテスト「TOSOH」II 基質セット、Eテスト「TOSOH」II 分注液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性のある金属アジドを生成することがありますので、廃棄する場合は、多量の水で薄めるようにしてください。
2) 検体の付着したピペットチップ、手袋などの器具、及び測定終了後の試薬カップはオートクレーブ（例えば 121 ℃、20 分以上）などで滅菌後廃棄してください。
3) 試薬及び器具等を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。
4) 試薬、廃液などが飛散した場合には、拭き取りと消毒を行ってください。

[貯蔵方法・有効期間]

1. 貯蔵方法　2 ～ 8 ℃保存
＊2. キットの有効期間　12 ヶ月
各構成試薬の有効期間

Eテスト「TOSOH」II（KL－6）免疫反応試薬	13 ヶ月
Eテスト「TOSOH」II 基質セット	12 ヶ月
Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品セット	13 ヶ月
Eテスト「TOSOH」II（KL－6）検体希釈液	13 ヶ月
Eテスト「TOSOH」II 洗浄液	12 ヶ月
Eテスト「TOSOH」II 分注液	12 ヶ月

※使用期限は、箱、アルミ袋及びトレイのラベルに記載されています。

[包装単位]

品名	包装
ST Eテスト「TOSOH」II（KL－6）免疫反応試薬	100 回測定分

※別売品

品名	包装
ST Eテスト「TOSOH」II（KL－6）標準品セット	標準品 (1)：1.0 mL 入り ×2 本 標準品 (2)-(6)：各 1.0 mL 用 ×2 本
ST Eテスト「TOSOH」II（KL－6）検体希釈液	100 mL 入り ×4 本
Eテスト「TOSOH」II 基質セット Eテスト「TOSOH」II 基質 Eテスト「TOSOH」II 基質溶解液	 100 mL 用　×2 本 100 mL 入り ×2 本
Eテスト「TOSOH」II 洗浄液	100 mL 入り ×4 本
Eテスト「TOSOH」II 分注液	100 mL 入り ×4 本

[主要文献]

1. 小林 淳 他，間質性肺炎の血清マーカー KL-6 抗原の基準範囲 , カットオフ値の設定に関する研究，臨床病理 44(7), 653-658 (1996).
2. 河野 修興，ヒト肺癌に対するモノクローナル抗体の作製と臨床診断への応用に関する研究，広島大学医学雑誌 33(6), 971-997 (1985).
3. 濱田 泰伸 他，間質性肺炎のマーカー KL-6 の有用性の検討，日胸疾会誌 34(7), 771-777 (1996).
4. 河野 修興，臨床における KL-6 の使い方，日本内科学雑誌 95(9), 1858-1862 (2006).
5. 猪俣 稔 他，間質性肺炎，呼吸 31(11), 1028-1033 (2012).
6. Ishikawa, N. et al., Utility of KL-6/MUC1 in the clinical management of interstitial lung diseases. Respir Investig, 50, 3-13 (2012).
7. 戸谷 嘉孝 他，特発性間質性肺炎の活動性診断における血清 KL-6 値の有用性の検討，日呼吸会誌 38(6), 437-441 (2000).

＊［問い合わせ先］

積水メディカル株式会社　学術担当
電話番号 ： 0120-249-977
FAX 番号： 0120-247-477

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部
カスタマーサポートセンター
〒 252-1123 神奈川県綾瀬市早川 2743-1
フリーダイヤル ®　0120-17-1200
TEL.（0467）76-5384
FAX.（0467）79-2550

＊［製造販売業者の氏名又は名称及び住所］

製造販売元

TOSOH 東ソー株式会社
東京都港区芝 3-8-2
TEL. (03)5427-5181
FAX.(03)5427-5220

製造元

TOSOH 東ソー・エイアイエイ株式会社
富山県富山市岩瀬古志町 2 番地

販売元

積水メディカル株式会社