

レナプロ[®] L-FABP テスト POC

ヒトL型脂肪酸結合蛋白（L-FABP）キット

使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。また、必要ときに読めるように保管しておいてください。

■一般的な注意

- 1 本品は体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
- 2 診断の際は本測定結果以外に他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、総合的に判断してください。
- 3 本添付文書の注意事項をよく読み、記載された操作方法に従って測定を行ってください。記載された操作方法及び使用目的以外での使用における測定結果の信頼性については保証致しかねます。
- 4 誤って凍結させた試薬及び有効期間を過ぎた試薬は測定結果の信頼性を保証しかねますので使用しないでください。

■形状・構造等（キットの構成）

〔構成試薬〕

No.	構成試薬名	成分（含量）等
1	テストカセット	抗ヒトL-FABPマウスモノクローナル抗体〔クローン2産生細胞株〕、 金コロイド感作抗ヒトL-FABPマウスモノクローナル抗体〔クローンL産生細胞株〕ほか
2	前処理剤	緩衝剤、界面活性剤ほか

〔付属品〕

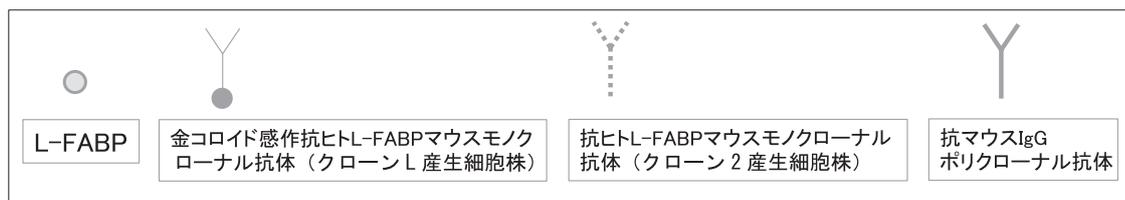
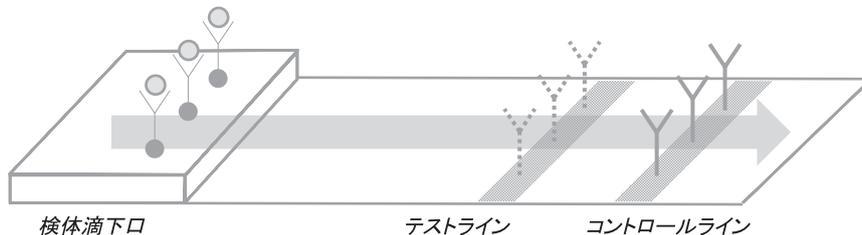
- 1 リファレンスカード
- 2 使い捨てスポイト

■使用目的

尿中のL型脂肪酸結合蛋白（L-FABP）の測定（尿細管機能障害を伴う腎疾患の診断の補助）

■測定原理

本品は、免疫イムノクロマト技術によるL-FABPの測定用試薬であり、本品に検体を添加して15分で尿中のL-FABP濃度を目視で測定する試薬です。検体をテストカセットの検体滴下口に添加すると、検体中のL-FABPは金コロイド感作抗ヒトL-FABPマウスモノクローナル抗体（クローンL産生細胞株）と反応し、免疫複合体を形成します。免疫複合体は毛细管現象によりメンブレン上を移動し、テストライン上に固定されている抗ヒトL-FABPマウスモノクローナル抗体（クローン2産生細胞株）と反応し、赤紫色のラインを形成します。本品は、テストラインの色調とリファレンスカードの色調を目視で比較して判定し、L-FABP濃度を求めることができます。また、金コロイド感作抗ヒトL-FABPマウスモノクローナル抗体（クローンL産生細胞株）は更にメンブレン上を移動し、コントロールラインの位置に固相化された抗マウスIgGポリクローナル抗体と結合し、赤紫色のコントロールラインを形成します。このラインはテストが正しく行なわれたことを確認する指標となります。



■測定試料の採取・保存法、操作上の注意

- 1 検体は採取後速やかに測定してください。保存する場合は、冷蔵で保存したものを2日以内に測定するか、または凍結（-20～-80℃）し、検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。また、凍結保存した検体の融解は、室温または水浴中（2～28℃）に放置して行い、測定前に十分混和してから用いてください。なお、-80℃で凍結保存した検体は1年間安定であることが確認されています。
- 2 前処理剤と混合した検体は、直ちにテストカセットに添加してください。
- 3 検体に異物、粘性、濃い着色が見られる場合、正しい判定結果が得られないことがあります。
- 4 検体を前処理剤と混和する際、ゆっくりと混和して、できるだけ泡立っていないようにしてください。前処理剤との混和で過剰な泡立ちが生じた場合、検体量の不足で正常に反応していない可能性があります。
- 5 塩酸を添加した蓄尿は、測定結果に影響を及ぼす場合があります。トルエンを用いる蓄尿の場合は、測定結果への影響はありません。

■妨害物質・妨害薬剤

- 1 検体に、高濃度のビリルビン、ヘモグロビン、グルコース、アスコルビン酸が含まれると、正確な結果が得られない場合があります。
 - ・遊離型ビリルビン：19.7mg/dLまで測定値に影響は認められません。
 - ・抱合型ビリルビン：21.8mg/dLまで測定値に影響は認められません。
 - ・ヘモグロビン：97.4mg/dLまで測定値に影響は認められません。
 - ・グルコース：1,000mg/dLまで測定値に影響は認められません。
 - ・アスコルビン酸：1.6mg/mLまで測定値に影響は認められません。
- 2 pH5未満の酸性尿は、測定結果に影響を及ぼす場合があります。
- 3 血管造影剤投与後24時間以内は一過性の腎虚血の影響により尿中L-FABP濃度が高値を示すことがありますので注意してください。

***■用法・用量（操作方法）**

1 試薬の調製方法

テストカセット：そのまま使用してください。

前処理剤：そのまま使用してください。

2 付属品

リファレンスカード（1枚／1箱）

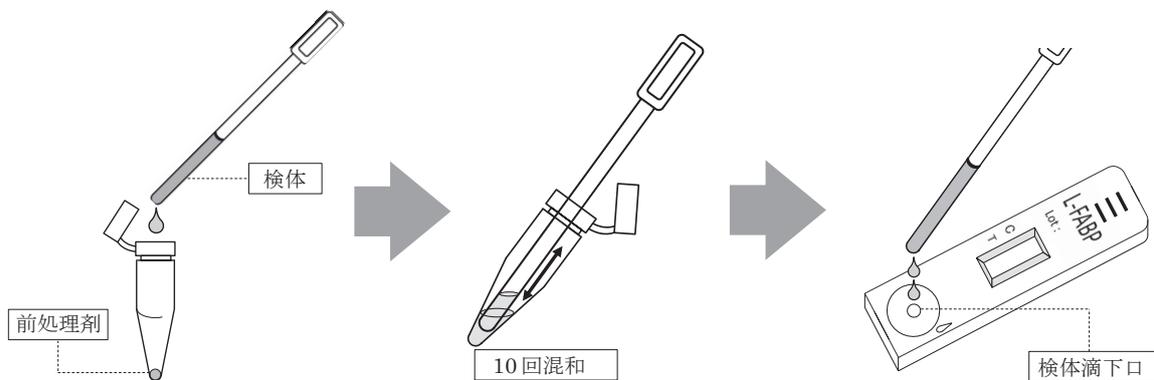
使い捨てスポイト（1本／アルミ包装）

3 必要な器具・器材・試料等

マイクロピペット：100 μ L が分注可能なもの（同封の使い捨てスポイトを使用しない場合）

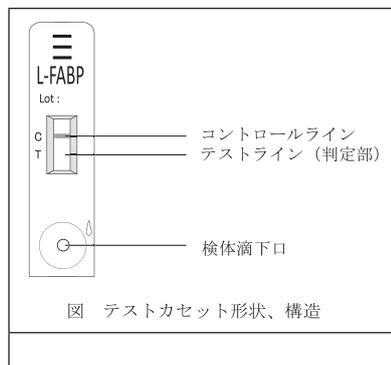
4 測定操作方法

- 1) アルミ袋を開封してテストカセットを取り出し、平らな場所に置きます。
- 2) 前処理剤の青い固形の試薬がチューブの底部に集まっていることを確認します。試薬がチューブの底部に集まっていない場合は、チューブを軽く振る等して、試薬をチューブの底部に集めてください。試薬がチューブの底部に集まっていない場合、検体が前処理剤の試薬と十分に混和されず、正確な結果が得られない可能性があります。
- 3) 前処理剤のチューブを垂直に立てて、前処理剤の蓋を開けます。
- 4) スポイトの線上部まで検体（約 100 μ L）を吸い、全量を前処理剤のチューブに添加します。
- 5) 検体をスポイトで泡立てないようにゆっくり 10 回混和し、検体と前処理剤を十分に混合します。
- 6) 混合液をスポイトで全量吸い、テストカセットの検体滴下口に全量添加します。
- 7) 添加から 15 分間静置後に、テストラインの色調を判定します。
テストラインの色調とリファレンスカードの色調を比較して次のように判定します。



***■測定結果の判定法**

コントロールラインに赤紫色のラインが認められた場合、テストラインの色調により、3段階濃度で判定してください。



コントロールライン			
テストライン			
判定	3段階濃度判定	再試験	

判定：

- ① $< 12.5\text{ng/mL}$コントロールラインにのみ赤紫色が認められた場合、または、テストラインの赤紫色がリファレンスカードの 12.5ng/mL の色調より薄い場合は 12.5ng/mL 未満と判定してください（陰性）。
- ② $\geq 12.5\text{ng/mL}$ 、 $< 100\text{ng/mL}$テストラインの赤紫色がリファレンスカードの 12.5ng/mL の色調より濃く、 100ng/mL より薄い場合は 12.5ng/mL 以上 100ng/mL 未満と判定してください。
- ③ $\geq 100\text{ng/mL}$テストラインの赤紫色がリファレンスカードの 100ng/mL の色調より濃い場合は 100ng/mL 以上と判定してください。

15分間 静置

判定結果を記録用紙に記入

レナプロ[®]L-FABP テスト POC
リファレンスカード
15分後の判定
尿中L-FABP濃度 [ng/mL]

レナプロ[®]L-FABP テスト POC
<記録用紙>
15分後の判定チェック
 ≥ 100
 ≥ 12.5
 < 12.5 (陰性)
検体ID/患者氏名
試験日
試験開始時間
テストカセットLot
検体情報

判定上の注意：

- 1) テストラインの色が均一でない場合、色調の最も濃い部分をリファレンスカードと比較して判定してください。
- 2) コントロールラインに赤紫色のラインが出ない場合、検体が正常に反応していない可能性があります。操作方法を確認の上、再試験を行ってください。
- 3) 判定においては、キット同封のリファレンスカード以外は使用しないでください。また、添加してから15分以上経過したテストラインは判定せず、再試験を行ってください。
- 4) テストラインの色調を判定するまで、テストカセットは静置してください。
- 5) 本品は目視判定のため、境界値付近では測定者によって判定結果が異なる場合があります。

■臨床的意義

1 開発の経緯・臨床診断上の有用性

L-FABPは、腎臓において近位尿細管に特異的に発現する分子量約14kDaの低分子可溶性蛋白質で、生理的には腎臓の再吸収機能を担う尿細管における、エネルギー及び脂質代謝に重要な働きをしていると考えられています^{1,3}。腎疾患進行過程に出現する蛋白尿や微小血流障害などのストレスに反応して誘導を受け、尿中に排出されます^{2,9}。これまでの腎機能マーカーは腎機能障害の破綻の結果を反映するものがほとんどであったのに対し、L-FABPは腎機能障害が進行する早期の段階から検出することが可能です^{4,5}。また、既承認品目「レナプロ L-FABP テスト」の臨床試験から、尿中 L-FABP 排泄量は濃度依存的に糖尿病性腎症進展の程度を反映する高感度の診断指標であることが認められています^{14,15,21}。

シミックホールディングス株式会社は酵素免疫測定法（ELISA 法）を測定原理とする既承認品「レナプロ L-FABP テスト」及び既承認品「レナプロ L-FABP テスト TMB」を世界に先駆けて体外診断薬として開発しました。さらに近年、国際ガイドライン¹⁸や総説^{8,12,13}においても急性腎障害（造影剤等の薬剤性腎障害^{7,20,22,24}、腎移植⁹、造血幹細胞移植²³、心臓外科手術^{10,17}、敗血症¹¹、新生児を含む集中治療領域^{6,16,19,25}）に関する尿中 L-FABP の有用性が示され、心腎連関疾患や集中治療領域の予後を迅速に予測できる POC（point of care）検査法の確立が望まれていました。このような背景から、免疫クロマトグラフィー法を測定原理とする「レナプロ L-FABP テスト POC」が開発されました。本品は、既に承認を取得した「レナプロ L-FABP テスト」の臨床試験から算出された参考基準範囲では陰性を呈するよう設計されており、ベッドサイドで簡便に尿中 L-FABP の測定が行えるところに特徴があります。尿検体添加後15分時点のテストラインの色調をスコア化することにより急性腎障害の迅速診断や重症度の予測が可能です²⁶。

2 参考基準範囲

既承認品目「レナプロ L-FABP テスト」の臨床性能試験において、健常人431例の尿中 L-FABP 分布をもとに設定された参考基準範囲は $8.4 \mu\text{g/gCr}$ 以下でした。同一の健常人データについて、クレアチニン補正值と同様の算出方法により得られた尿中 L-FABP 濃度の参考基準値範囲は 10.1ng/mL 以下でした。

3 診断精度

表1、図1に示すように本品のスコア1（陰性）とスコア2以上（ $\geq 12.5\text{ng/mL}$ ）について、既承認品目の参考基準範囲（ $8.4 \mu\text{g/gCr}$ 以下）に対する無病正診率は100%（50/50）、参考基準値上限を超える有病正診率は68%（38/56）でした。

表1 有病正診率と無病正診率

尿クレアチニン補正值による 正常異常判定	<12.5ng/mL (陰性)	≥ 12.5	≥ 100
異常 (> $8.4 \mu\text{g/gCr}$)	18	35	3
正常 ($\leq 8.4 \mu\text{g/gCr}$)	50	0	0

(自社データ)

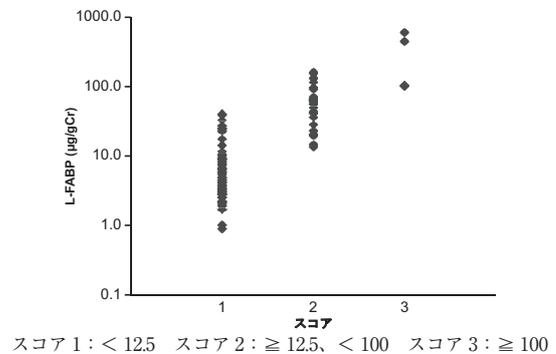


図1 本品の判定スコアと既承認品目（ELISA）に於ける尿中 L-FABP 値（Cre 補正值）の関係

■性能

1 性能

用法・用量（操作方法）により下記の各試験を行った場合、各々の規格に適合する。

1) 感度試験

濃度既知の管理用検体 12.5ng/mL を所定の操作で試験するとき、リファレンスカードに示される 12.5ng/mL に対応する色調と同程度以上 100ng/mL 未満の発色を示す。

2) 正確性試験

12.5ng/mL 以上 100ng/mL 未満及び 100ng/mL 以上の rL-FABP を含む濃度の異なる2種類の濃度既知の陽性管理用検体及び 12.5ng/mL 未満の rL-FABP を含む濃度既知の陰性管理用検体を所定の操作でそれぞれ1回試験するとき、リファレンスカードの対応濃度域に判定される。

3) 同時再現性試験

12.5ng/mL 以上の同一の陽性管理用検体及び 12.5ng/mL 未満の同一の陰性管理用検体を所定の操作でそれぞれ3回繰り返し試験するとき、同一の判定が得られる。

4) 管理用検体

(1) 感度試験用管理用検体及び正確性試験用管理用検体

標準 L-FABP は微生物由来のヒト L-FABP 遺伝子組換え蛋白を標準物質として値付けを行って作製する。濃度既知の管理用検体は、この標準 L-FABP を希釈して作製した L-FABP 標準溶液である。

(2) 同時再現性試験用管理用検体

管理用検体はヒト尿検体を原料とし、この原料同士を組み合わせることで濃度調製を行う。

- 5) 測定範囲
 < 12.5ng/mL (12.5ng/mL 未満)
 ≥ 12.5ng/mL、< 100ng/mL (12.5ng/mL 以上 100ng/mL 未満)
 ≥ 100ng/mL (100ng/mL 以上)

2 相関性試験成績

本品と既認証品レナプロ® L-FABP テスト TMB との相関性を検討したところ、以下の良好な相関が得られました。

尿		本 品			合 計
		< 12.5	≥ 12.5、< 100	≥ 100	
レナプロ® L-FABP テスト TMB	< 12.5	60	0	0	60
	≥ 12.5、< 100	8	33	0	41
	≥ 100	0	3	31	34
合 計		68	36	31	135

一致率 91.9% (124/135)

本品と既承認品レナプロ® L-FABP テストとの相関性を検討したところ、以下の良好な相関が得られました。

尿		本 品			合 計
		< 12.5	≥ 12.5、< 100	≥ 100	
レナプロ® L-FABP テスト	< 12.5	62	1	0	63
	≥ 12.5、< 100	6	32	0	38
	≥ 100	0	3	31	34
合 計		68	36	31	135

一致率 92.6% (125/135)

3 校正用の基準物質

ヒト L-FABP 遺伝子組換え蛋白

■使用上または取扱い上の注意

1 取扱い上 (危険防止) の注意

- 1) 使用にあたっては感染の危険を避けるため保護眼鏡、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) 構成試薬には動物血液成分を含む構成試薬があるので取扱いに注意し、使用後は手洗いなどを行ってください。
- 3) 試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。
- 4) アルミ袋開封時は、アルミ袋で怪我をしないよう注意してください。
- 5) アルミ袋開封時に力を入れて開けると、試薬が飛び出すことがありますので注意してください。

2 使用上の注意

- 1) 使用に際しては本添付文書に記載された操作方法に従ってください。
- 2) 本品は、10～25℃で使用してください。
- 3) 判定においては必ずキット同封のリファレンスカードを使用してください。
- 4) 他のキット及び製造番号が異なる製品の試薬 (リファレンスカード含む) は混ぜたり、交換して使用しないでください。
- 5) 有効期限切れの試薬は使用しないでください。
- 6) キットを使用する直前までアルミ袋を開封しないでください。
- 7) 測定結果は反応の時間や温度に影響されるので、本品及び検体ともに添付文書内に記載されている条件下で操作を行ってください。
- 8) コントロールラインが得られない場合、検体が正常に反応していない可能性があります。操作方法を確認の上、再試験を行ってください。

3 廃棄上の注意

- 1) 試薬及び容器等を廃棄する場合は、廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。
- 2) 検体及び検体と接触した器具 (スポイト等) は、感染の危険性があるものとして適切に処理してください。

■貯蔵方法・有効期間

貯蔵方法 : 1～30℃保存
 有効期間 : 18ヶ月 (使用期限は外箱に記載)

* ■包装単位

包装単位 : 1テスト用 ×10
 1テスト用 ×20

■主要文献

1. Veerkamp JH and Maatman RG. Prog Lipid Res. 34, 17-52, 1995
2. 菅谷健, 細胞, 33, 24-27, 2001
3. 上條敦子ら, 臨床病理, 51, 219-224, 2003
4. Kamijo A et al. Am J Pathol, 165, 1243-1255, 2004
5. Kamijo A et al. J Lab Cline Med, 145, 125-133, 2005
6. Tsukahara H et al. Early Hum Dev, 81, 643-646, 2005
7. Nakamura T et al. Am J Kidney Dis, 47, 439-444, 2006
8. Kamijo-Ikemori A et al. Clin Chim Acta, 374, 1-7, 2006
9. Yamamoto T et al. J Am Soc Nephrol, 18, 2894-2902, 2007
10. Portilla D et al. Kidney Int, 73, 465-472, 2008
11. Nakamura T et al. SHOCK, 31, 454-459, 2009
12. Noiri E et al. Am J Physiol Renal Physiol, 296, F669-F679, 2009
13. McMahon BA and Murray PT. Kidney Int, 77, 657-659, 2010
14. Nielsen SE et al. Diabetes Care, 33, 1320-1324, 2010
15. Kamijo-Ikemori A et al. Diabetes Care, 34, 691-696, 2011
16. Doi K et al. Crit Care Med, 39, 2464-2469, 2011
17. Matsui K et al. Circ J, 76, 213-220, 2012
18. KDIGO® AKI Guideline, March 2012
19. Doi K et al. Kidney Int, 82, 1114-1120, 2012
20. Manabe K et al. Eur J Clin Invest, 42, 557-563, 2012
21. Araki S et al. Diabetes Care, 36, 1248-1253, 2013
22. Igarashi G et al. Circ J, 77, 3037-3044, 2013
23. Shingai N et al. Biol Blood Marrow Transplant, 20, 2010-2014, 2014
24. Fujita D et al. Heart Vessels, 30, 296-303, 2015
25. Yoshimatsu S et al. Pediatr Int, Jul, 2015
26. Sato R et al. J Infect Chemother, 21, 165-169, 2015

** ■問い合わせ先

シミックホールディングス株式会社 L-FABP 事業部
 〒105-0023 東京都港区芝浦 1-1-1
 BLUE FRONT SHIBAURA TOWER S
 TEL : 03-6779-8017

製造販売元
シミックホールディングス株式会社
 東京都港区芝浦 1-1-1 BLUE FRONT SHIBAURA TOWER S