

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-257312

(P2013-257312A)

(43) 公開日 平成25年12月26日(2013.12.26)

(51) Int.Cl.

F 1

テーマコード (参考)

GO 1 N 33/53 (2006.01)

GO 1 N 33/53 D

GO 1 N 33/543 (2006.01)

GO 1 N 33/543 5 2 1

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2013-101760 (P2013-101760)
 (22) 出願日 平成25年5月14日 (2013.5.14)
 (31) 優先権主張番号 特願2012-113195 (P2012-113195)
 (32) 優先日 平成24年5月17日 (2012.5.17)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(71) 出願人 000100492
 わかもと製薬株式会社
 東京都中央区日本橋本町二丁目1番6号
 (72) 発明者 沼部 幸博
 東京都世田谷区上馬3-18-16
 (72) 発明者 伊藤 弘
 東京都杉並区高円寺南3-24-28
 (72) 発明者 橋本 修一
 東京都板橋区前野町1-21-5

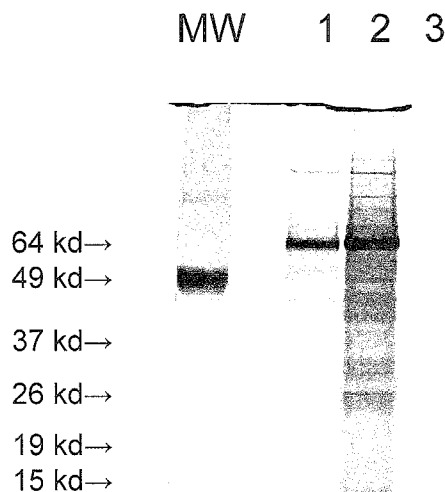
(54) 【発明の名称】 歯周病を検出する方法及び迅速診断キット

(57) 【要約】

【課題】 検体の採取が容易で、患者に負担をかける必要がなく、迅速かつ正確に測定ができ、歯周病の判定が可能である診断方法または診断薬を提供する。

【解決手段】 セルロースなどのろ紙により歯肉溝浸出液(GCF)を採取し、抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体を用いた免疫学的測定法、特にイムノクロマトグラフィ法により行うことで、検体(GCF)中のヘモグロビンの存在又は含有量を目視で判定でき、操作も簡易かつ迅速に行うことができる検出及び測定方法。また前記方法を用いた診断薬・診断キットによって非侵襲的な歯周病の判定を可能とする。

【選択図】 図2



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫学的測定法を用いてGCFにおけるヘモグロビンを検出及び測定する方法。

【請求項 2】

免疫学的測定法がイムノクロマトグラフィー法である請求項1の検出及び測定する方法。

【請求項 3】

GCFにおけるヘモグロビンを検出する歯周病診断薬及び歯周病診断キット。

【請求項 4】

イムノクロマトグラフィー法による請求項3の歯周病診断薬及び歯周病診断キット。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、歯肉溝滲出液(gingival crevicular fluid, 以下、GCFともいう)における潜血反応を検出する方法及び前記方法により歯周病を迅速に判定できる診断キットに関する発明である。

【背景技術】

【0002】

歯周病は歯周疾患ともよばれ、歯肉、セメント質、歯根膜および歯槽骨よりなる歯周組織に起こるすべての疾患をいう。歯周病は、プラーク中の口腔細菌が原因となって生じる炎症性疾患であり、歯肉炎と歯周炎とに大別される。さらに、歯周病には上記疾患の他に非プラーク性歯肉病変、歯肉増殖、壊死性歯周疾患、歯周組織の膿瘍、歯周-歯内病変、歯肉退縮および強い咬合力や異常な力によって引き起こされる咬合性外傷が含まれる。

20

【0003】

本邦において、成人の歯周病罹患率は約80%である。罹患率が高い理由のひとつとして、歯周病の検査技術が未だ不十分なことが挙げられる。

一般的に、歯周病の罹患状況の検査に最も多く用いられるのはプロービング(probing)という方法で、歯と歯肉の間の隙間(ポケット、もしくは歯周ポケットと呼ばれる)に歯周プローブと呼ばれる目盛りのついた探針を挿入し、その際の深さ(挿入量)を調べる。この検査は一般的にProbing Pocket Depth, PPDと称される。同時に、挿入後に生じる出血の有無を検査する。この検査は、一般的にBleeding On Probing, BOPと称される。

30

プロービングによって、歯周病に罹患していない健康な歯肉では、挿入量は0.5~2mm程度であって、挿入後の出血は生じない。しかし、前記挿入量が大きく、さらに出血が生じる場合は、歯肉の内部に炎症が生じていると判断されるので、エックス線検査などの情報とあわせて歯周病と診断される。この場合の歯周病の検査は、1本の歯あたり、4~6部位に行う必要がある。

プロービングは、歯周プローブの歯と歯肉の間へ挿入する角度や挿入量が不適切な場合もしくは適切に挿入されていたとしても、挿入後の出血量が少量である場合は、炎症が生じていると判断できず、歯周病の存在を見逃すことになる。また、検査時に時として痛みを伴うことも多く、非侵襲的な検査が患者に望まれている。

40

【0004】

この改善策として、歯垢中の歯周病原性細菌、歯肉溝滲出液や唾液に含まれる特定の酵素や特定の蛋白質などを診断指標として、歯周病の程度を判断する方法や、ケラチンを抗原とする抗体等の特定の抗体を用いた方法、歯肉上皮組織中のβ-ディフェンシン2または3を測定する方法(特許文献1~4)などが提案されている。

前記のうち、口腔内の歯周病変の有無つまり、炎症の有無を探查する方法として、唾液(つば)を試料として潜血反応を調べる診断キットがあり、企業検診への利用を目的としている(特許文献1)。

しかし、これらの方法は、処置が必要な患部の位置を特定することや、症状の程度を判定することはできず、検査結果を得たとしても、治療に直接繋げることはできない。

【0005】

50

よって、新たな歯周病検査技術を開発し、歯周病の精密な診断ができ、患者への的確な治療を提供することができるよう改良する必要性がある。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特開2002-181815号公報

【特許文献2】特開2005-024337号公報

【特許文献3】特開2009-145220号公報

【特許文献4】WO2011/115225の国際公開公報

【発明の概要】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の解決しようとする問題点は、試料の採取が容易で、患者に負担をかける必要がなく、迅速かつ正確に測定ができ、歯周病の判定が可能である検出方法または前記検出方法を用いた診断薬を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者は、上記目的を達成するために鋭意研究を努力した結果、GCFに含まれる成分が健常者と歯周病患者において変化すること、歯周病の症状である歯周炎を起因とする血液蛋白がGCFに含まれることに着目した。本発明者はGCFの血液蛋白のうち、初期の歯周病患者においてもヘモグロビンがわずかながら含まれることを見出した。ヘモグロビンの検出又は測定を、抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体を用いた免疫学的測定法、特にイムノクロマトグラフィー法(以下、IC法ともいう)により行うことで、検体であるGCF中のヘモグロビンの存在又は含有量を目視で判定でき、操作も簡易かつ迅速に行うことができることによって、本発明を完成するに至った。

20

【発明の効果】

【0009】

本発明の歯周病の診断方法及び診断薬によれば、歯周病の有無、歯周病疾患部、あるいは進行度合を迅速かつ的確であり、患者に苦痛なく、簡易的に検出することができる。

【図面の簡単な説明】

30

【0010】

【図1】図1は歯肉溝滲出液の採取方法を示した説明図である。

【図2】図2は<試験例1>のSDS-PAGEによる健常者と患者のGCF成分の解析結果である。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明においては、従来の歯周病検査の限界を補填し、その精度または感度の向上を図ることが可能となることと、歯周病の発症前から診断が可能であることを理由として、検体としてGCFを用い、新規の検出方法を提供する。

【0012】

GCFの採取方法としては、PerioPaper Strips(Oraflow Inc製、材質：セルロース)を歯肉溝に挿入し、ペリオトロン(Oraflow Inc製)でGCF量を採取する方法、マイクロピペットを用いた方法、歯肉溝にねじった糸あるいはペーパーポイントを挿入する方法などが挙げられるが、なかでもペリオペーパーを歯肉溝に挿入し、ペリオトロンでGCF採取量を確認する方法は、操作時間が短時間であり、患者に苦痛を与えないことからさらに好ましい。ペリオペーパーなどの濾紙でGCFを採取する場合、歯肉溝に挿入する時間は15～60秒が好ましく、30秒が最も好ましい。

40

【0013】

GCF検体の量としては、本発明の効果が得られれば問題はないが、本発明の検出法においてより正確な結果を得るためには2.0μL未満が好ましく、0.1～1.8μLがさらに好ましい。

50

【 0 0 1 4 】

本発明の検出方法において、GCFを直接使用することは可能であるが、調整することが好ましい。

本発明において、正確な結果を得ることを目的として、GCFを希釈したり、対象成分であるヘモグロビンを抽出したりする等の目的で抽出液が必要である。

抽出液としては、水、生理的食塩水が好ましく、緩衝液がさらに好ましく、防腐剤を含む緩衝液が試料の腐敗・発酵を防いで試料中のヘモグロビンの安定性を維持するなどの理由によりさらに好ましい。

【 0 0 1 5 】

GCFを採取したペリオペーパーを緩衝液等に浸漬し、ヘモグロビンを抽出する。この内35～50 μ Lをヘモグロビン検出に使用するので、数回の再検査を考慮するとヘモグロビン抽出液は150 μ Lが確保されていることが好ましい。

10

【 0 0 1 6 】

本発明では、GCFに含まれるヘモグロビンの検出又は測定を免疫学的測定法によって行う。免疫学的測定法としては、放射免疫測定法、酵素免疫測定法、イムノクロマトグラフィー法、ラテックス凝集法、比濁法、比ろう法、蛍光免疫測定法あるいは化学発光免疫測定法などがあげられる。本発明では、大型で高額な装置が不要であるため、測定する場所を限定することがなく、簡易的かつ迅速であっても正確な結果を得られる点で、イムノクロマトグラフィー法が最も好ましい。

20

【 0 0 1 7 】

本発明のイムノクロマトグラフィー法としては、例えば短冊状の支持体上にあらかじめ固相化した抗原もしくは抗体が存在し、支持体の下端に着色した標識微粒子が水などの溶媒を媒体として支持体の持つ毛細管現象の作用で順次拡散・移動し、その際、免疫的に形成せしめた複合体-着色標識粒子によって、先の抗原もしくは抗体を固相化しておいた位置にその複合体-微粒子が到着し、その場所で特異的に抗原-抗体反応を生じ、着色シグナルとして目視で観察することができる過程によって、測定し、検出結果を得る方法を示すものである。

【 0 0 1 8 】

本発明のイムノクロマトグラフィーに使用する微粒子には、コロイド状金属粒子、あるいはコロイド状金属酸化物粒子、さらにはコロイド状非金属粒子を用いることができるが、色調の多様性やイムノクロマトグラフィー展開後の鮮明さを現すことができる合成高分子ラテックス粒子が好ましい。

30

また本発明における前記の微粒子は、単一の色調の粒子であっても、色調の異なる別々の粒子であっても良い。

【 0 0 1 9 】

本発明のイムノクロマトグラフィーに使用する支持体としては、毛細管現象を起こす作用を有し、かつ、合成高分子標識ラテックス粒子と検出しようとする物質との複合体がイムノクロマトグラフ展開剤、例えば、水や緩衝液などですみやかに拡散・移動できるような支持体であればよい。なお、一般的なイムノクロマトグラフィー法の診断薬が水平状態で取り扱われるのに対し、本発明では水平状態・直立状態に関わらず、検出する時間がほとんど変わらず、正確な結果が得られる点でメリットがある。

40

支持体には、ガラス繊維状のシート、濾紙あるいはナイロンシート、ニトロセルロースシートなどがあげられ、ニトロセルロースシートが本発明に好適である。

【 0 0 2 0 】

本発明に用いられる抗体としては、市販されているものでもよく、例えば、抗ヒトヘモグロビンモノクローナル抗体、抗ヒトヘモグロビンポリクローナル抗体などがあげられ、そのうち抗ヒトヘモグロビンマウスモノクローナル抗体がヒトヘモグロビンとの反応特異性が優れているなどの理由で最も好ましい。

【 0 0 2 1 】

本発明の歯周病診断薬は、上記したようなGCFを採取する手段と、GCFを希釈する緩衝液、

50

試料はGCFもしくはGCFの希釈液であって、試料中のヘモグロビンを検出又は測定する手段とを含み、前記試料中のヘモグロビンを検出又は測定するものであり、剤型は、セルロースを基材としたペーパーストリップと、免疫学的測定法に用いる抗ヘモグロビン抗体を固相化した支持体、標識抗体を凍結乾燥させた担体、残余試料液を逆流させない吸収性担体、検出用試薬等を含む検出又は測定手段からなる。

【0022】

以下、実施例及び比較例を示して本発明を具体的に説明するが、本発明は下記実施例に制限されるものではない。

【実施例】

【0023】

<試験例1> SDS-PAGEによる健常者と患者のGCF成分の解析

15% ポリアクリルアミドゲルを作製した。

出血反応により健常者及び歯周病と診断された患者のGCFを採取した。それぞれの歯周ポケットからペリオペーパーで回収したGCFを生理食塩水300 μ Lに回収した。そのうち8 μ Lを2%SDSで40 μ Lに希釈した。

標識物質として、ヒトヘモグロビン標品(シグマ社製) 25 ngを、2%SDSで40 μ Lに希釈した。pH6.8の2%メルカプトエタノール、10%グリセロール及び62.4 mM Tris-HClを含む試料調製溶液を加えて5分間煮沸した。健常者検体を試料1、患者検体を試料2または標準品を試料3とした。

【0024】

15% ポリアクリルアミドゲルを作製し、各レーンにマーカー及び試料1-3を分注し、20 mAで80分間の電気泳動を行った。100 mM

Tris, 50 mM Tricine及び0.1%SDSを電気泳動緩衝液とした。

試料1-3を電気泳動した。銀染色を行ったゲルを図2に示す。

【0025】

前記のSDS-PAGEゲルを、銀染色キット、2D-SILVERSTAIN・II(Cosmo Bio Co.,LTD.)で染色した。結果を図2に示す。

【0026】

電気泳動の結果から、試料1で観察できた複数のバンドや試料の濃度から、患者のGCF中のタンパク質の濃度が健常者より高いことがわかった。つまり、歯周病患者においては口腔内炎症のため、GCF中のタンパク濃度が上がることを示している。試料3はヘモグロビン単量体14kd(kDa)にバンドがあり、試料2で同様のバンドが確認できた。試料1では14kd近傍のバンドは確認できたものの、全体的にGCFを構成するタンパク濃度が低く、不鮮明であった。

試験例1の結果から、歯周病診断方法としてGCFを検体とし、GCF中のヘモグロビンを対象として選択することが適しているとわかった。

【0027】

<試験例2> 出血反応(Bleeding on Probing; BOP)とイムノクロマトグラフィー(IC)法との検出感度差

歯周病と診断され、治療を施した試験対象者184名より、1名につき1~4部位の割合で上下顎前歯部につき計401部位について次の通り試験を行った。

実施例1では、401部位からペリオペーパー(Olaflow, Inc製、材質:セルロース)を30秒間挿入してGCFを採取し、収集した(図1参照)。GCF採取量をペリオトロンにて測定し、GCFを0.001%アジ化ナトリウム緩衝液で等倍希釈したものを試料とした。試料のうち50 μ Lを糞便中ヒトヘモグロビン検出用キット(製品名:チェックライン・ヘモ、わかもと製薬株式会社製)のサンプル滴下部位へ滴下して反応を開始した。前記検出キットによって、試料中にヘモグロビンを検出したものを陽性、検出しなかったものを陰性として試験結果を得た。

比較例1では、401部位に歯周プローブを挿入して歯周ポケットの深さ(Probing Pocket Depth:PPD)を測定し、続いて目視確認により出血反応(Bleeding On Probing:BOP)を調べた

10

20

30

40

50

。出血反応のあったものを陽性、なかったものを陰性として試験結果を得た。
試験例1の試験結果において、各測定法の結果をPPDの測定結果によりさらに群分けを行った。

試験結果を表1に示す。

【0028】

【表1】

表1 IC法とBOPによる検出感度差

	比較例1		実施例1	
	BOP		イムノクロマト法	
	陰性	陽性	陰性	陽性
PPD 4mm以下	205	22	189	38
PPD 5mm以上	96	78	82	92
計	301	100	271	130

10

【0029】

表1の結果より、従来法であるBOPによる検出方法である比較例1では、目視確認により出血反応を示さなかった301部位について、陰性の結果を示している。しかし、実施例1では、ヘモグロビンを検出していない部位、つまり陰性の結果を示したのは271部位であり、両者を比較すると、比較例1の陰性結果のうち10%に該当する30部位は、偽陰性である可能性が高かった。

PPD 4mm以下である群において、比較例1ではBOPによって205部位が陰性の結果を示したが、本発明の実施例1では189部位について陰性の結果を示した。

20

これは、比較例1の205部位のうち、8%に該当する16部位においては、目視確認により出血反応を確認できないが、実施例1ではヘモグロビンを検出している。

つまり、比較例1において陰性を示した16部位は偽陰性である可能性が高く、本発明の検出方法では、歯周病を発症していると判定できることがわかった。

PPD 5mm以上である群において、比較例1ではBOPによって96部位が陰性の結果を示したが、本発明の実施例1では82部位について陰性の結果を示した。

これは、比較例1の96部位のうち、15%に該当する14部位においては、目視確認により出血反応を確認できないが、実施例1ではヘモグロビンを検出している。

つまり、比較例1において陰性を示した14部位は偽陰性である可能性が高く、本発明の検出方法では、歯周病を発症していると判定できることがわかった。

30

表1の結果より、実施例1は比較例1に比べてGCF中のヘモグロビンを高感度で検出できることから、本発明の検出方法はBOPによる検出方法と比べて、歯周病の検出方法として適していることが明らかとなった。

表1の結果より、診察時にPPD 4mm以下かつ、出血反応を示さない場合においても、本発明による検出方法を用いることによって、歯周病の初期発症を発見できることがわかった。よって、本発明の検出方法は有効であることが明らかとなった。

上記より、本発明の検出方法による試験結果が歯周病を診断する上で重要な判定要因になり得ることが推測できた。

【0030】

40

<試験例3> BOPとIC法との相関性

歯周病治療歴がある試験対象者82名及び歯周病治療歴のない試験対象者11名、全試験対象者93名(男性58名、女性35名、いずれも喫煙歴なし、年齢：22-91歳)を選定した。試験対象者1名につき上下顎前歯部のうち1～4部位を被検歯としてGCFを採取し、試料として集めた。被検歯において、P1I(プラーク指数、歯周囲の汚れを0-3の4段階で評価)、GI(Gingival

Index、歯茎の腫れを0-3の4段階で評価)、CAL(歯茎のやせ具合)、PPDを測定した。続けて、目視確認により出血反応(BOP)の有無を調べた。

試験例2と同様の方法により、IC法による検出方法で試料中のヘモグロビンを検出し、試験結果を得た。

50

【 0 0 3 1 】

前記IC法の試験片(以下、試験片という)を用いて、デンシトメーター(GS-800 Calibrated Densitometer PC system(170-7980J5PC)、バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社製)で判定ラインの視感反射濃度を測定した。陰性結果の試験片における上限値を0.045と定め、チェックライン・ヘモのヘモグロビン検出限界量2.5ngと対応させ、換算係数を設定した。

測定値より、次式を用いてヘモグロビン濃度を換算した。

【 0 0 3 2 】

【 数 1 】

$$\begin{aligned} & \text{ヘモグロビン濃度}(\text{ng}) \\ &= \frac{\text{チェックライン・ヘモにおけるヘモグロビン検出限界量}(2.5\text{ng})}{\text{陰性結果上限値}(0.045 \cdot \text{OD})} \\ & \times \text{デンシトメーター測定値}(\text{OD}) \end{aligned}$$

10

【 0 0 3 3 】

本試験結果のうち、BOPが陰性である検体番号1-59の試験結果一覧を表2に示す。BOPが陽性である検体番号60-93の試験結果一覧を表3に示す。

【 0 0 3 4 】

【表 2】

基本情報					臨床パラメーター				チェックライン・ヘモ 判定結果	デンストメーター 測定値	ヘモグロビン濃度 (ng/mL)
検体 番号	治療歴	性別	採取日 年齢	喫煙又は 非喫煙	PPD (mm)	PII	GI	CAL (mm)			
1	無	女	24	非	3	0	0	3	陰性	0.002	0.111
2	有	女	47	非	2	0	0	2	陰性	0.002	0.111
3	有	男	23	非	1	0	0	1	陰性	0.002	0.111
4	有	男	30	非	1	0	0	1	陰性	0.002	0.111
5	有	男	30	非	1	0	0	1	陰性	0.002	0.111
6	有	男	30	非	2	0	0	2	陰性	0.002	0.111
7	有	男	43	非	1	0	0	1	陰性	0.002	0.111
8	有	男	43	非	1	0	0	1	陰性	0.002	0.111
9	有	女	43	非	1	0	0	1	陰性	0.003	0.167
10	無	男	22	非	1	0	0	1	陰性	0.003	0.167
11	有	男	30	非	2	0	0	2	陰性	0.003	0.167
12	有	男	30	非	1	0	0	1	陰性	0.003	0.167
13	有	男	43	非	1	0	0	1	陰性	0.003	0.167
14	有	女	64	非	1	0	0	4	陰性	0.004	0.222
15	有	女	73	非	1	0	0	2	陰性	0.004	0.222
16	有	男	51	非	1	0	0	1	陰性	0.004	0.222
17	有	女	65	非	1	0	0	1	陰性	0.004	0.222
18	有	女	43	非	1	0	0	1	陰性	0.005	0.278
19	無	男	24	非	1	0	0	1	陰性	0.005	0.278
20	有	男	51	非	1	0	0	1	陰性	0.005	0.278
21	有	男	32	非	1	0	0	3	陰性	0.005	0.278
22	有	男	30	非	2	0	0	2	陰性	0.006	0.333
23	有	男	72	非	1	0	0	1	陰性	0.007	0.389
24	無	男	28	非	3	0	2	3	陰性	0.009	0.500
25	有	男	30	非	2	0	0	2	陰性	0.009	0.500
26	有	男	43	非	2	0	0	2	陰性	0.009	0.500
27	無	男	28	非	2	0	0	2	陰性	0.010	0.555
28	有	女	64	非	1	0	0	1	陰性	0.010	0.555
29	無	男	22	非	1	1	0	1	陰性	0.011	0.611
30	有	女	65	非	1	0	0	1	陰性	0.011	0.611
31	有	男	50	非	3	0	0	3	陰性	0.012	0.666
32	有	男	61	非	1	0	0	2	陰性	0.012	0.666
33	有	女	23	非	1	0	0	1	陰性	0.013	0.722
34	無	男	28	非	2	0	0	2	陰性	0.014	0.777
35	有	女	47	非	2	0	0	2	陰性	0.014	0.777
36	有	女	73	非	1	0	0	1	陰性	0.016	0.888
37	有	男	31	非	2	2	0	2	陰性	0.019	1.055
38	有	男	30	非	2	0	0	2	陰性	0.019	1.055
39	有	男	23	非	2	0	0	2	陰性	0.020	1.110
40	有	男	30	非	1	0	0	1	陰性	0.021	1.166
41	有	女	27	非	1	0	1	1	陰性	0.022	1.221
42	有	男	30	非	2	0	0	2	陰性	0.024	1.332
43	無	男	22	非	1	0	0	1	陰性	0.024	1.332
44	有	男	32	非	1	0	0	1	陰性	0.024	1.332
45	有	男	30	非	2	0	0	2	陰性	0.025	1.388
46	無	男	28	非	2	0	0	2	陰性	0.026	1.443
47	無	男	22	非	2	0	0	2	陰性	0.028	1.554
48	有	男	32	非	1	0	0	1	陰性	0.030	1.665
49	有	男	32	非	1	0	0	3	陰性	0.031	1.721
50	有	女	71	非	3	1	1	5	陰性	0.033	1.832
51	無	男	24	非	1	0	0	1	陰性	0.034	1.887
52	有	男	30	非	2	0	0	2	陰性	0.034	1.887
53	有	男	49	非	1	0	0	1	陰性	0.038	2.109
54	有	女	53	非	2	0	0	2	陰性	0.038	2.109
55	有	女	65	非	2	0	0	2	陰性	0.040	2.220
56	有	女	23	非	1	0	0	1	陰性	0.041	2.276
57	有	男	49	非	1	0	0	1	陰性	0.045	2.498
58	有	女	27	非	1	1	2	1	陰性	0.045	2.498
59	有	男	61	非	1	0	0	5	陽性	0.048	2.664
AV					1.46	0.08	0.10	1.71		0.016	0.883

【 0 0 3 5 】

【表 3】

基本情報					臨床パラメーター				チェックライン・ヘモ 判定結果	デンシトメーター 測定値	ヘモグロビン濃度 (ng/mL)
検体 番号	治療歴	性別	採取日 年齢	喫煙又は 非喫煙	PPD (mm)	PII	GI	CAL (mm)			
60	有	男	50	非	4	0	0	4	陰性	0.014	0.777
61	有	女	63	非	3	0	0	2	陰性	0.040	2.220
62	有	女	71	非	5	2	2	8	陽性	0.057	3.164
63	有	男	23	非	2	0	0	2	陽性	0.059	3.275
64	有	女	63	非	4	0	1	4	陽性	0.078	4.329
65	有	男	31	非	5	2	2	5	陽性	0.091	5.051
66	有	女	71	非	5	1	2	9	陽性	0.094	5.217
67	有	男	72	非	2	0	0	2	陽性	0.138	7.659
68	有	女	75	非	5	0	1	5	陽性	0.144	7.992
69	有	男	78	非	4	3	2	9	陽性	0.159	8.825
70	有	女	74	非	3	0	2	3	陽性	0.170	9.435
71	有	女	74	非	1	0	2	2	陽性	0.173	9.602
72	有	男	70	非	3	0	2	6	陽性	0.183	10.157
73	有	女	71	非	6	1	2	6	陽性	0.194	10.767
74	有	男	42	非	9	1	2	9	陽性	0.195	10.823
75	有	女	71	非	6	2	2	8	陽性	0.203	11.267
76	有	女	71	非	7	1	2	8	陽性	0.216	11.988
77	有	男	66	非	4	1	2	10	陽性	0.221	12.266
78	有	男	42	非	3	3	2	9	陽性	0.223	12.377
79	有	男	70	非	3	0	2	3	陽性	0.224	12.432
80	有	男	91	非	9	1	1	11	陽性	0.225	12.488
81	有	女	49	非	5	0	1	5	陽性	0.226	12.543
82	有	男	78	非	9	3	2	11	陽性	0.226	12.543
83	有	男	42	非	9	3	2	10	陽性	0.229	12.710
84	有	男	76	非	5	1	2	8	陽性	0.233	12.932
85	有	男	42	非	3	3	2	6	陽性	0.233	12.932
86	有	女	69	非	2	3	2	5	陽性	0.233	12.932
87	有	女	69	非	3	2	1	3	陽性	0.237	13.154
88	有	女	49	非	5	0	1	5	陽性	0.238	13.209
89	有	男	76	非	4	0	1	4	陽性	0.268	14.874
90	有	女	69	非	3	1	1	3	陽性	0.276	15.318
91	有	女	69	非	3	2	1	3	陽性	0.277	15.374
92	有	女	75	非	2	0	1	2	陽性	0.282	15.651
93	有	女	75	非	4	0	1	4	陽性	0.292	16.206
AV					4.41	1.06	1.44	5.71		0.187	10.367

【 0 0 3 6 】

表 2 及び 3 の結果を集計し、表 4 に本件発明の検出率を示した。

【 0 0 3 7 】

【表 4】

BOP 判定結果	チェックライン・ヘモ 判定結果		検出率 (%)
	陽性	陰性	
陽性 34 名	32	2	94
	2	6	6
陰性 59 名	1	58	2
	58	98	98

10

20

30

40

50

【 0 0 3 8 】

本件発明は、表4から明らかなように、BOP判定とIC法による判定を比較すると、IC法は90%を超える検出率を示し、2つの判定方法は高い相関性を示した。

BOP判定が陽性であり、IC法が陰性である2例については、BOPにおけるプロービングによって、機械的刺激の組織抵抗性による出血が生じて陽性と判定された。つまり、試料を採取した歯周ポケット内では出血反応は存在していないため、IC法の結果が正しいと解釈した。

BOP判定が陰性であり、IC法が陽性である1例については、プロービングにおいて出血反応は見られなかったものの、微量のヘモグロビンを検出できるIC法によって陽性と判定された。これは、従来の検査法であるプロービングで見落としている疾患の兆候が、IC法でのみ判断できるものと考えた。

10

すなわち、IC法による歯周病診断薬は、歯周病発症前診断に有効なツールであることが示された。

【 0 0 3 9 】

IC法のみならず、デンシトメーターによる測定値及びPPD値による検査結果を総合判断することで、患者と健常者の出血及び炎症(例えば、口腔清掃後、月経時)を判別することが可能となる。

また、デンシトメーターによる測定値及びPPD値により条件分けすることによって、IC法における歯周病感染の有無だけでなく、歯周病の進行度を分析可能となることが推測された。

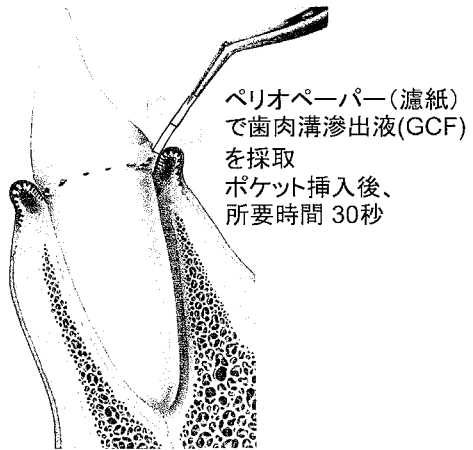
20

【 産業上の利用可能性 】

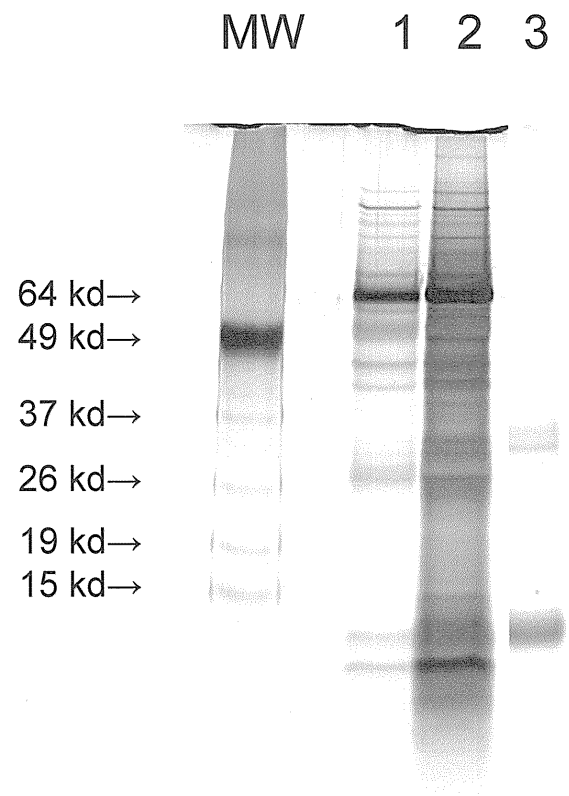
【 0 0 4 0 】

本発明は、非侵襲的であるため被験者に苦痛を与えることのない採取によって試料を得ることができ、また迅速かつ簡易的にGCF中のヘモグロビンを検出及び測定する免疫学的測定法または前記測定法による歯周病診断薬及び歯周病診断キットを提供するものである。

【図 1】



【図 2】



专利名称(译)	检测牙周病的方法和快速诊断试剂盒		
公开(公告)号	JP2013257312A	公开(公告)日	2013-12-26
申请号	JP2013101760	申请日	2013-05-14
[标]申请(专利权)人(译)	若素制药株式会社		
申请(专利权)人(译)	わかもと製薬株式会社		
[标]发明人	沼部幸博 伊藤弘 橋本修一		
发明人	沼部 幸博 伊藤 弘 橋本 修一		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543		
FI分类号	G01N33/53.D G01N33/543.521		
优先权	2012113195 2012-05-17 JP		

摘要(译)

摘要：要解决的问题：提供易于收集样本的诊断方法或诊断剂，可以快速准确地进行测量，而不会给患者带来负担，并且可以确定牙周病。解决方案：检测和测量方法可以通过用纤维素等滤纸收集牙龈裂隙渗滤液（GCF）并使用抗人血红蛋白单克隆抗体通过免疫测定进行测定来目测确定样品（GCF）中血红蛋白的存在或含量。特别是免疫层析法，可以方便快捷地进行手术。使用该方法的诊断剂和诊断试剂盒可以确定非侵入性牙周病。

kd→
kd→
kd→
kd→
kd→
kd→

