

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4391856号  
(P4391856)

(45) 発行日 平成21年12月24日(2009.12.24)

(24) 登録日 平成21年10月16日(2009.10.16)

(51) Int.Cl.	F I
GO 1 N 33/569 (2006.01)	GO 1 N 33/569 F
GO 1 N 21/78 (2006.01)	GO 1 N 21/78 Z
GO 1 N 33/50 (2006.01)	GO 1 N 33/50 G
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 N
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 1 Z

請求項の数 1 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2004-49331 (P2004-49331)  
 (22) 出願日 平成16年2月25日(2004.2.25)  
 (65) 公開番号 特開2005-241335 (P2005-241335A)  
 (43) 公開日 平成17年9月8日(2005.9.8)  
 審査請求日 平成19年1月5日(2007.1.5)

(73) 特許権者 000181217  
 株式会社ジーシー  
 東京都板橋区蓮沼町76番1号  
 (72) 発明者 鱒沢 諭美子  
 東京都板橋区蓮沼町76番地1号 株式会  
 社ジーシー内  
 (72) 発明者 立野 敦史  
 東京都板橋区蓮沼町76番地1号 株式会  
 社ジーシー内  
 (72) 発明者 内藤 裕樹  
 東京都板橋区蓮沼町76番地1号 株式会  
 社ジーシー内  
 (72) 発明者 渡邊 佳子  
 東京都板橋区蓮沼町76番地1号 株式会  
 社ジーシー内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 う蝕リスク検査用具

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

長さを持つ二種の多孔質膜片(X)及び多孔質膜片(Y)とが非吸収性の素材から成る基材(Z)に固定されているう蝕リスク検査用具であって、

多孔質膜片(X)は、その片端にストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体(A')が赤色系の着色粒子(Pr)を付着された状態で含まれた検体滴下部(X<sub>1</sub>)が配置されており、中程にストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体(A')とは異なる抗体(A)が含まれた検出部(X<sub>2</sub>)が配置されており、該検出部(X<sub>2</sub>)を挟んで検体滴下部(X<sub>1</sub>)と反対側の端に検体吸収部(X<sub>3</sub>)が配置されており、

多孔質膜片(Y)は、その片端にヒトの唾液中に分泌されるSIgAと特異的に結合する抗体(B)が青色系の着色粒子(Pb)を付着された状態で含まれた検体滴下部(Y<sub>1</sub>)が配置されており、中程にヒトの唾液中に分泌されるSIgAと特異的に結合する抗原(S)が含まれた検出部(Y<sub>2</sub>)が配置されており、該検出部(Y<sub>2</sub>)を挟んで検体滴下部(Y<sub>1</sub>)と反対側の端に検体吸収部(Y<sub>3</sub>)が配置されていることを特徴とするう蝕リスク検査用具。

10

10

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、免疫クロマトグラフィー法を用い口腔内細菌に起因する要因と宿主に起因する要因との二方面から総合的にう蝕のリスクを検査するう蝕リスク検査用具に関するものである。

**【背景技術】****【0002】**

近年、う蝕の進行を抑制する対策を考えたり、う蝕の治療計画を立てるために歯科医療術者が患者のう蝕リスクを把握しようという動きが起き始めている。う蝕は口腔内の状況や生活習慣等に起因する多因子性の疾患であり「口腔内細菌」、「宿主」及び「食物」の三要因が揃うことで発症することが知られている（例えば、非特許文献1参照）。患者自身にう蝕リスクを理解させることは、オーラルケアの維持継続に対して動機を与える上でも重要なことである。

20

**【0003】**

特に口腔内細菌とう蝕の発症との間には密接な関係があることが知られており、口腔内細菌の一種であるミュータンス連鎖球菌の数が多いほどう蝕が発症する確率が高いことが報告されてからミュータンス連鎖球菌の数を簡易に定量し、う蝕リスクを把握しようとする試みが数多く行われてきた。ヒトの唾液中に存在するミュータンス連鎖球菌の数を簡易に定量する方法としては、ミュータンス連鎖球菌の一種であるストレプトコッカス・ミュータンスに特異的に反応するモノクロ-ナル抗体を応用して定量しようとするもの（例えば、特許文献1及び2参照。）や、簡易培養キットで増殖した菌体そのものを目視により定量するもの等がある（例えば、特許文献3参照。）。

30

**【0004】**

また、「宿主」の観点からう蝕リスクを把握する方法としては、例えば唾液の分泌量や唾液の緩衝能等の測定が一般的に行われてきたが、近年ストレプトコッカス・ミュータンス菌の体表層物質の一部である特定のタンパク質が、歯面に対するストレプトコッカス・ミュータンス菌の初期付着に関連があることが確認され、特定のタンパク質を抗原としてその抗体となる物質を探求したところ、口腔粘膜から唾液中へ分泌される分泌型免疫グロブリン抗体A（以下SIgAと記す）が歯面に対するストレプトコッカス・ミュータンス菌の付着を防御する機能を持つことが解明された。即ち、ヒトの唾液中におけるSIgAの抗体価が高いと歯面に対してストレプトコッカス・ミュータンス菌が付着し難く、う蝕リスクが低いことが究明されう蝕リスク検査方法として提案されている（特許文献4参照。）。

40

**【0005】**

しかしながら、これらのう蝕リスク検査は「口腔内細菌」や「宿主」等の各々の要素毎に行われていたため、本来う蝕は多因子性の疾患であるにも関わらず種々の要素に関するリスクから総合的なリスクを判断することが難しいという問題があった。また、一般的に免疫クロマトグラフィー法を用いてう蝕リスクを検査する際、う蝕リスクが高いことを示す場合にも低いことを示す場合にも、その判定結果が赤色系の線で示されることが多く検査を受けた患者は自分のう蝕リスクが高いのか若しくは低いのかを一目で理解することが

50

困難であった。

【 0 0 0 6 】

【非特許文献1】KeyesPH : Recent advances in dental caries research, bacteriology, bacteriological findings, and biological implications, Int Dent J 1962;12:443

【特許文献1】特開平2-177898号公報

【特許文献2】特開平10-36400号公報

【特許文献3】米国特許5374538号公報

【特許文献4】特願2002-273125号

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

10

【 0 0 0 7 】

本発明は、ヒトのう蝕リスクを把握する際に口腔内細菌と宿主の二方面から総合的にう蝕リスクを判断することが可能であり、且つ検査を受けた患者が自分のう蝕リスクを一目で理解することが可能な免疫クロマトグラフィー法を用いたう蝕リスク検査用具を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 8 】

即ち本発明は、長さを持つ二種の多孔質膜片(X)及び多孔質膜片(Y)とが非吸収性の素材から成る基材(Z)に固定されているう蝕リスク検査用具であって、多孔質膜片(X)は、その片端にストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体(A')が赤色系の着色粒子(Pr)を付着された状態で含まれた検体滴下部(X<sub>1</sub>)が配置されており、中程にストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体(A')とは異なる抗体(A)が含まれた検出部(X<sub>2</sub>)が配置されており、該検出部(X<sub>2</sub>)を挟んで検体滴下部(X<sub>1</sub>)と反対側の端に検体吸収部(X<sub>3</sub>)が配置されており、多孔質膜片(Y)は、その片端にヒトの唾液中に分泌されるSIgAと特異的に結合する抗体(B)が青色系の着色粒子(Pb)を付着された状態で含まれた検体滴下部(Y<sub>1</sub>)が配置されており、中程にヒトの唾液中に分泌されるSIgAと特異的に結合する抗原(S)が含まれた検出部(Y<sub>2</sub>)が配置されており、該検出部(Y<sub>2</sub>)を挟んで検体滴下部(Y<sub>1</sub>)と反対側の端に検体吸収部(Y<sub>3</sub>)が配置されていることを特徴とするう蝕リスク検査用具である。

20

30

【発明の効果】

【 0 0 0 9 】

本発明に係るう蝕リスク検査用具は、一つのう蝕リスク検査用具で口腔内細菌と宿主との二方面から総合的にリスクを判断することが可能であり、更にヒトの唾液中に存在するストレプトコッカス・ミュータンス菌の数が多くう蝕リスクが高い場合には赤色系の染み、ヒトの唾液中に分泌されるSIgAが多くう蝕リスクが低い場合には青色系の染みが現れるため患者自身が自分のう蝕リスクの高低を視覚的にも理解し易いう蝕リスク検査用具である。

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 1 0 】

以下、図面を用い本発明に係るう蝕リスク検査用具について詳細に説明するが、本発明は本実施例に限定されるものではない。

40

【 0 0 1 1 】

図1は、二種の多孔質膜片X及び多孔質膜片Yとがそれぞれ一つずつ非吸収性の素材から成る基材Zに固定されているう蝕リスク検査用具の一実施例を模式的に示す斜視説明図である。

【 0 0 1 2 】

図1の図面中Zは、二種の多孔質膜片X及び多孔質膜片Yとが固定されている基材である。基材Zは非吸収性の素材から成り、例えば、ポリスチレン、ポリエステル、酢酸セルロース等から形成されたものが使用できる。その形状としては、フィルム状、板状、帯状

50

、短冊状、円盤状等いずれでも良いが、多孔質膜を安定して設置するには0.1～5mm程度の厚みの有る板状が好ましい。

【0013】

図1の図面中X及びYは多孔質膜片であり、唾液が毛細管現象によって多孔質膜中を展開されるには多孔質膜片の形状は長方形等長さを持つ形状であることが好ましいが、角が丸みを帯びた長円であったり、周辺が直線ではなく曲線であっても良い。その材質としては、例えば、セルロース膜、酢酸セルロース膜またはニトロセルロース等のセルロース膜誘導体膜、ガラスフィルター、濾紙等が使用できる。多孔質膜片Xと多孔質膜片Yは形状や材質が同じであっても異なってもよく、基材Zへの固定は常法によって行うことができ、例えば、両面テープや接着剤を用いて固定すれば良い。固定する際の多孔質膜片X及び多孔質膜片Yの配置の仕方は特に限定されないが、図1に示したように多孔質膜片Xと多孔質膜片Yとが長手方向に平行な位置関係になるように配置すると安定感があって良い。また、多孔質膜X及びYはそれぞれ複数あっても良く、その場合は検査の精度向上が期待できたり検査の効率向上が期待できる。

10

【0014】

図1中のX<sub>1</sub>は検体滴下部、X<sub>2</sub>は検出部、X<sub>3</sub>は検体吸収部であり、多孔質膜片Xにおいて検体滴下部X<sub>1</sub>と検体吸収部X<sub>3</sub>とは検出部X<sub>2</sub>を挟んで反対側の端へクリップ等を用いて固定すれば良い。検体吸収部X<sub>3</sub>は滴下された唾液を吸収しやすい素材であれば特に限定されず例えば濾紙等が使用できる。

【0015】

検体滴下部X<sub>1</sub>には抗体A'が、検出部X<sub>2</sub>には抗体Aが含まれている。抗体A'と抗体Aは、歯科用診断や研究用基剤で通常用いられる方法で調製されたストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体であれば特に限定されないが、抗体Aと抗体A'は種類が異なることが必要である。検体滴下部X<sub>1</sub>に含まれる抗体A'には金コロイド粒子(British Biocell International社製)等の赤色系の着色粒子Prが付着されている。

20

【0016】

赤色系の着色粒子Prは、通常免疫クロマトグラフィー法で用いられるものの中で抗体の活性を妨げない赤色系を示す物質であれば特に限定されず、赤色系は市販品等マンセル色相環でいう5RP 10RP 5R 10R 5YR等を示し、中でも10RP 5R 10Rのような色調を示す粒子が好ましい。

30

【0017】

検出部X<sub>2</sub>に含まれる抗体Aは、必要に応じてウシ血清アルブミン含有リン酸緩衝液等で希釈し、例えば図1のように多孔質膜Xの長手方向と垂直になるようマイクロピペットで塗布して多孔質膜Xに固定して使用される。

【0018】

図1中のY<sub>1</sub>は検体滴下部、Y<sub>2</sub>は検出部、Y<sub>3</sub>は検体吸収部であり、多孔質膜片Xと同様に検体滴下部Y<sub>1</sub>と検体吸収部Y<sub>3</sub>とは検出部Y<sub>2</sub>を挟んで反対側の端へクリップ等を用いて固定すれば良い。検体吸収部Y<sub>3</sub>は滴下された唾液を吸収しやすい素材であれば特に限定されず例えば濾紙等が使用できる。

40

【0019】

検体滴下部Y<sub>1</sub>にはヒトの唾液中に分泌されるSIgAと特異的に結合する抗体Bが、検出部Y<sub>2</sub>にはヒトの唾液中に分泌されるSIgAの抗原Sが含まれている。ヒトの唾液中に分泌されるSIgAと特異的に結合する抗体Bは、歯科用診断や研究用に通常用いられる方法で調製された抗体であれば特に限定されずに使用でき、青色系の着色粒子Pbが付着されている。図1に示されたう蝕リスク検査用具の場合には、ヒトの唾液中に分泌されるSIgAと特異的に結合する抗体B(MONOCLONAL ANTI-HUMAN IGA(SIGMA社製))には青色系粒子Pbとして青色ラテックス粒子(Merck Chimie S.A.S社製)が1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide Hydrochlorideを用いて付着されている。

【0020】

50

検出部  $X_2$  に含まれるSIgAの抗原Sとしては、例えば、PAC (Protein Antigen cerotype C) (361-386)とよばれるタンパク質を使用でき、SIgAの抗原として機能すれば特に限定されず使用することができる。抗原Sは、必要に応じてリン酸緩衝液等で希釈し、例えば図1のように多孔質膜Yの長手方向と垂直になるようマイクロピペットで塗布して多孔質膜Yに固定して使用される。

【0021】

青色系の着色粒子Pbは、通常免疫クロマトグラフィー法で用いられる着色粒子であって抗体の活性を妨げない物質であれば特に限定されず、青色系としてはマンセル色相環でいう10P 5P 10PB 5PB 10B 5B 10BG 5BG 10G 5G 10GY 5GY等を示し、中でも5PB 10B 5B 10BG 5BG 10G 5G 10GYのような色調をもつ粒子が好ましい。

10

【0022】

図1に示した二種多孔質膜片X及び多孔質膜片Yとが非吸収性の素材から成る基材Zに固定されているう蝕リスク検査用具を用いてう蝕リスクを検査する方法を説明する。多孔質膜片Xの検体滴下部 $X_1$ にヒトの唾液を滴下すると、ヒトの唾液中にストレプトコッカス・ミュータンス菌が存在すれば、ストレプトコッカス・ミュータンス菌は検体滴下部 $X_1$ に含まれている赤色系の着色粒子Prが付着された抗体A'と結びつき、その結びついた状態で多孔質膜片X中を毛細管現象によって検体滴下部 $X_1$ から検体吸収部 $X_3$ へ移動して行く。移動の途中で検出部 $X_2$ を通過する際にストレプトコッカス・ミュータンス菌は多孔質膜片Xに固定された抗体Aにより補足され、ヒトの唾液中に存在するストレプトコッカス・ミュータンス菌の数が多ければ(う蝕リスクが高ければ)多孔質膜片X上の検出部 $X_2$ に赤色の染みとして現れる。

20

【0023】

同様に、多孔質膜片Yの検体滴下部 $Y_1$ にヒトの唾液を滴下すると、ヒトの唾液中にSIgAが存在すれば、SIgAは検体滴下部 $X_1$ に含まれている青色系の着色粒子Pbが付着された抗体Bと結びつき、結合した状態で多孔質膜片Y中を毛細管現象によって検体滴下部 $Y_1$ から検体吸収部 $Y_3$ へ移動して行き、移動の途中で検出部 $Y_2$ を通過する際にSIgAは固定された抗原Sにより補足されヒトの唾液中に存在するSIgAが多ければ(う蝕リスクが低ければ)多孔質膜片Y上に青色の染みとして現れる。このようにそれぞれに現れた染みの色を目視で判断して患者のう蝕リスクを判定するのである。

【0024】

本発明におけるう蝕リスク検査用具を用いて検査する際に用いる唾液は、通常歯科用診断で唾液の検査と同様の方法によって調製され、また必要に応じて調製しておくこともできる。例えばストレプトコッカス・ミュータンス菌数の測定では刺激唾液を、1mol/LのNaOHを含む溶液及び5%のポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテルを含有する0.5mol/Lのクエン酸を含む溶液で処理したり、SIgA抗体価の測定では刺激唾液を1%Tween20-0.5%スキムミルクを含むPBSで10倍希釈する等して使用できる。

30

【0025】

また、多孔質膜片Xの検体滴下部 $X_1$ と多孔質膜片Yの検体滴下部 $Y_1$ へ滴下される唾液が各々異なる調製をされている場合には、検体滴下部 $X_1$ と検体滴下部 $Y_1$ とを異なる形にしたり、異なる記号や数字を記す等しておくこと、滴下する唾液を間違える虞がなくより好ましい。

40

【0026】

目視で判断した結果からう蝕リスク判定する際、表1のようなリスク判定表を予め作成しておくこと、患者への説明も容易となり更に好ましい。表1中ではストレプトコッカス・ミュータンス菌は虫歯菌と表現している。

【0027】

【表 1】

細菌数 赤色ライン	宿主 青色ライン	リスク	アドバイス
呈色あり	呈色なし	高	虫歯菌の数が多く、歯にも付き易いのでリスクが大変高いです。必ず定期的に歯科検診を受けましょう。
呈色なし	呈色なし	中	虫歯菌の数が少ないのですが、歯に付き易いのでよく歯を磨き、できるだけ定期的に歯科検診を受けましょう。
呈色あり	呈色あり		虫歯菌は歯に付き難いですが、その数は多いです。甘い物を控え、できるだけ定期的に歯科検診を受けましょう。
呈色なし	呈色あり	低	虫歯菌の数が少なく、歯にも付き難いので今のところ安心ですが、油断しないで歯科検診を受けましょう。

10

## 【0028】

本発明に係るう蝕リスク検査用具の応用例としては、検体滴下部  $X_1$  にストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体  $A'$  を赤色系の着色粒子  $P_r$  を付着された状態で含ませておく代わりに、う蝕リスク検査用具外で赤色系の着色粒子  $P_r$  を付着された抗体  $A'$  を含む溶液とヒトの唾液とを混合してから検体滴下部  $X_1$  に滴下する方法もできる。同様に、検体滴下部  $Y_1$  に青色系のヒトの唾液中に分泌される  $SIgA$  と特異的に結合する抗体  $B$  を青色系の着色粒子  $P_b$  を付着された状態で含ませておく代わりに、う蝕リスク検査用具外で青色系の着色粒子  $P_b$  を付着された抗体  $B$  を含む溶液とヒトの唾液とを混合してから検体滴下部  $Y_1$  に滴下してう蝕リスクを検査することもできる。

20

## 【0029】

更に異なる本発明に係るう蝕リスク検査用具の応用例としては、基材  $Z$  に固定される多孔質膜片を1つにして、その片端の検体滴下部にストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する赤色系の着色粒子  $P_r$  を付着された抗体  $A'$  とヒトの唾液中に分泌される  $SIgA$  と特異的に結合する青色系の着色粒子 ( $P_b$ ) が付着された抗体  $B$  とが同時に含まれ、中程にストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体  $A'$  とは異なる抗体  $A$  とヒトの唾液中に分泌される  $SIgA$  の抗原  $S$  とが間隔を開けて含まれている形態のう蝕リスク検査用具も考えられる。

30

## 【図面の簡単な説明】

## 【0030】

【図 1】本発明に係るう蝕リスク検査用具の一実施例を模式的に示す斜視説明図。

## 【符号の説明】

## 【0031】

$X$  : 多孔質膜  $X$

$X_1$  : 検体滴下部

$P_r$  : 赤色系着色粒子

$A'$  : ストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体

$X_2$  : 検出部

$A$  : ストレプトコッカス・ミュータンス菌と特異的に結合する抗体

$X_3$  : 検体吸収部

$Y$  : 多孔質膜  $Y$

$Y_1$  : 検体滴下部

$P_b$  : 青色系着色粒子

$B$  : ヒトの唾液中に分泌される  $SIgA$  と特異的に結合する抗体

$Y_2$  : 検出部

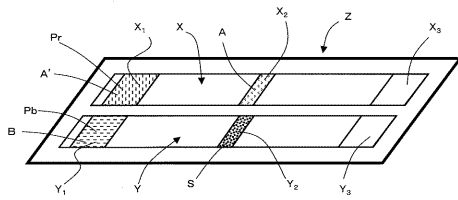
$S$  : ヒトの唾液中に分泌される  $SIgA$  の抗原

40

50

Y<sub>3</sub> : 検体吸収部  
Z : 基材

【図1】



---

フロントページの続き

審査官 赤坂 祐樹

- (56)参考文献 特開2003-287541(JP,A)  
特開平10-239312(JP,A)  
特開2005-189183(JP,A)  
特開平11-326326(JP,A)  
特開2000-166411(JP,A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G01N 33/50-33/569  
G01N 21/78

专利名称(译)	龋齿风险检查工具		
公开(公告)号	<a href="#">JP4391856B2</a>	公开(公告)日	2009-12-24
申请号	JP2004049331	申请日	2004-02-25
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社GC		
申请(专利权)人(译)	株式会社ジーシー		
当前申请(专利权)人(译)	株式会社ジーシー		
[标]发明人	鱒沢諭美子 立野敦史 内藤裕樹 渡邊佳子		
发明人	鱒沢 諭美子 立野 敦史 内藤 裕樹 渡邊 佳子		
IPC分类号	G01N33/569 G01N21/78 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/543		
FI分类号	G01N33/569.F G01N21/78.Z G01N33/50.G G01N33/53.N G01N33/543.541.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/BB04 2G045/BB24 2G045/CB05 2G045/CB07 2G045/CB21 2G045/FA18 2G045/FB03 2G045/FB07 2G045/FB11 2G045/FB15 2G045/FB20 2G045/GC12 2G045/HA09 2G045/HA10 2G054/AA10 2G054/AB04 2G054/AB05 2G054/BB04 2G054/BB08 2G054/CA20 2G054/CA23 2G054/EA06 2G054/FA29 2G054/FA50 2G054/GB04		
其他公开文献	JP2005241335A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

一个有可能确定从口腔细菌与宿主及免疫层析法能够患者的两侧谁检查，以一看就懂他们的龋齿风险的整体风险提供龋齿风险测试工具。A是结合变形链球菌到一端的龋风险测试装置，其2种多孔膜的片固定到基体材料，一种多孔膜条的，抗体的非吸收材料附着于样本下落部分，检测部分介于包括红色颗粒的样本下落部分和与中间变形体结合的抗体不同的抗体之间另一种多孔膜片具有抗体，该抗体在粘附有蓝色颗粒的状态下在一端与分泌到人唾液中的SIgA结合。试样滴单元，检测单元，其载有在中间和SIgA结合的抗原是具有在相对端并穿过检测器的样品滴下部分的样品吸收部分的龋风险测试装置。点域1

細菌数 赤色ライン	宿主 青色ライン	リスク	アドバイス
呈色あり	呈色なし	高	虫歯菌の数が多く、歯にも付き易いのでリスクが大変高いです。必ず定期的に歯科検診を受けましょう。
呈色なし	呈色なし	中	虫歯菌の数が少ないのですが、歯に付き易いのでよく歯を磨き、できるだけ定期的に歯科検診を受けましょう。
呈色あり	呈色あり	中	虫歯菌は歯に付き難いですが、その数は多いです。甘い物を控え、できるだけ定期的に歯科検診を受けましょう。
呈色なし	呈色あり	低	虫歯菌の数が少なく、歯にも付き難いので今のところ安心ですが、油断しないで歯科検診を受けましょう。