

(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2013-195077

(P2013-195077A)

(43) 公開日 平成25年9月30日(2013.9.30)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/68 (2006.01)	GO 1 N 33/68	2 GO 4 1
GO 1 N 33/53 (2006.01)	GO 1 N 33/53 D	2 GO 4 5
GO 1 N 37/00 (2006.01)	GO 1 N 37/00 1 O 2	4 B O 2 4
GO 1 N 27/62 (2006.01)	GO 1 N 27/62 V	4 H O 4 5
C 1 2 N 15/115 (2010.01)	C 1 2 N 15/00 H	
審査請求 未請求 請求項の数 15 O L (全 11 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2012-59283 (P2012-59283)  
 (22) 出願日 平成24年3月15日 (2012.3.15)

(71) 出願人 000006769  
 ライオン株式会社  
 東京都墨田区本所1丁目3番7号  
 (74) 代理人 100089118  
 弁理士 酒井 宏明  
 (74) 代理人 100113398  
 弁理士 寺崎 直  
 (72) 発明者 山口 継乃  
 東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内  
 (72) 発明者 小池 泰志  
 東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 歯周病判定マーカー

(57) 【要約】

【課題】 歯周病の発症および/または進行度、歯槽骨吸収の発症および/または進行度を、通常健康診断の一環として把握するツールの提供。

【解決手段】 セルグリシンおよび/またはレギュカルシンからなる歯周病の発症および/または進行度判定用マーカータンパク質、もしくは、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用マーカータンパク質；セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する、歯周病の発症および/または進行度判定用の、もしくは、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用の抗体またはアプタマー；上記抗体またはアプタマーが担体に固相化された、歯周病の発症および/または進行度判定用の、もしくは、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用のマイクロアレイ；上記マーカー、抗体、アプタマーまたはマイクロアレイを用いて被験者の歯周病の発症、歯周病の進行度、歯槽骨吸収の発症、または歯槽骨吸収の進行を判定する方法。

【選択図】 なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

セルグリシンまたはレギュカルシンからなる歯周病の発症および/または進行度判定用マーカータンパク質。

**【請求項 2】**

セルグリシンまたはレギュカルシンからなる歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用マーカータンパク質。

**【請求項 3】**

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する、歯周病の発症および/または進行度判定用の抗体またはアプタマー。

**【請求項 4】**

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用の抗体またはアプタマー。

**【請求項 5】**

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーが担体に固相化された、歯周病の発症および/または進行度判定用マイクロアレイ。

**【請求項 6】**

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーが担体に固相化された、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用マイクロアレイ。

**【請求項 7】**

被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量から、被験者が歯周病を発症しているか否かおよび/または被験者の歯周病の進行度を判定する、歯周病の発症および/または進行度の判定方法。

**【請求項 8】**

被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量が、健常者から採取された血液中の当該量と比べて少量である場合に、被験者が歯周病を発症していると判定する、請求項 7 に記載の判定方法。

**【請求項 9】**

2 人以上の被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量が少量である被験者ほど歯周病が進行していると判定する、請求項 7 に記載の判定方法。

**【請求項 10】**

被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量から、被験者において歯槽骨の吸収が発生しているか否かおよび/または被験者の歯槽骨吸収の進行度を判定する、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定方法。

**【請求項 11】**

被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量が、健常者から採取された血液中の当該量と比べて少量である場合に、被験者が歯槽骨吸収を発症していると判定する、請求項 10 に記載の判定方法。

**【請求項 12】**

2 名以上の被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量が少量である被験者ほど歯槽骨吸収が進行していると判定する、請求項 10 に記載の判定方法。

**【請求項 13】**

生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量の測定を、質量分析法と、請求項 3 または 4 に記載の抗体またはアプタマーを用いる免疫測定法と、請求項 5 また

10

20

30

40

50

は6に記載のマイクロアレイを用いる免疫測定法との中から選ばれる方法により行う、請求項7～12のいずれか一項に記載の判定方法。

【請求項14】

請求項2に記載の抗体またはアプタマー、もしくは請求項4に記載のマイクロアレイを含む、歯周病の発症および/または進行度判定用キット。

【請求項15】

請求項3に記載の抗体またはアプタマー、もしくは請求項5に記載のマイクロアレイを含む、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、歯周病判定マーカーに関する。

【背景技術】

【0002】

歯周病は歯を支持している歯周組織（歯肉、セメント質、歯根膜、および歯槽骨）が破壊される炎症性疾患である。歯周病が進行するにつれ、歯根膜、歯槽骨などの組織の破壊および吸収に波及する（非特許文献1）。現在、歯周病診断はレントゲン撮影または歯科医の目視などによる臨床指標による歯槽骨吸収量の測定による診断が主である。

【0003】

セルグリシン（serglycin）はタンパク質の一種である。特許文献1には、セルグリシンがCD44のリガンドであることが記載されている。CD44は、がんの転移やリンパ球のホーミングにおいて重要な役割を担う膜貫通タンパク質である。非特許文献2には、セルグリシンが骨髄腫において骨石灰化抑制効果を発揮することが記載されている。

20

【0004】

レギュカルシン（regucalcin）は、タンパク質の一種である。非特許文献3には、レギュカルシンが過剰発現したラットでは骨吸収を引き起こすことが記載されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

30

【0005】

【特許文献1】特開平9-25299号公報

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】医学のあゆみ vol.232, no.3, 2010年

【非特許文献2】Theocharis AD et al., J. Biol. Chem. Vol.281(46), 35116-28, 2006

【非特許文献3】Yamaguchi M., Mol Cell Biochem. Vol.341(1-2), 119-133, 2010

【発明の概要】

40

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

しかしながら、目視評価などは歯科医の経験および技術によるところが大きく、客観性に欠ける場合があった。また、定期的に歯科医でレントゲンなどの歯周病診断を受けることは被爆の懸念に加え、通院に伴う時間的な制約からも容易ではなかった。

【0008】

本発明は、歯周病の発症および/または進行度、歯槽骨吸収の発症および/または進行度を、通常健康診断の一環として把握するツール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】

【0009】

50

本発明者らは、健常マウスと歯周病モデルマウスの血清プロテオーム解析から、セルグリシンの血中濃度が歯周病モデルマウスでは低下すること、レギュカルシンの血中濃度が歯周病モデルマウスでは増加することを見出し、セルグリシンおよびレギュカルシンがそれぞれ、歯周病の発症および/または進行度を表す、ならびに、歯槽骨吸収の発症および/または進行度を表す、バイオマーカーとして利用できることを見出し、本発明に到達した。

【 0 0 1 0 】

本発明は、下記の発明を提供する。

〔 1 〕セルグリシンまたはレギュカルシンからなる歯周病の発症および/または進行度判定用マーカータンパク質。

10

〔 2 〕セルグリシンまたはレギュカルシンからなる歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用マーカータンパク質。

〔 3 〕セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する、歯周病の発症および/または進行度判定用の抗体またはアプタマー。

〔 4 〕セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用の抗体またはアプタマー。

〔 5 〕セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーが担体に固相化された、歯周病の発症および/または進行度判定用マイクロアレイ。

〔 6 〕セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーが担体に固相化された、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用マイクロアレイ。

20

〔 7 〕被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量から、被験者が歯周病を発症しているか否かおよび/または被験者の歯周病の進行度を判定する、歯周病の発症および/または進行度の判定方法。

〔 8 〕被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量が、健常者から採取された血液中の当該量と比べて少量である場合に、被験者が歯周病を発症していると判定する、上記〔 7 〕に記載の判定方法。

〔 9 〕 2 人以上の被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量が少量である被験者ほど歯周病が進行していると判定する、上記〔 7 〕に記載の判定方法。

30

〔 1 0 〕被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量から、被験者において歯槽骨の吸収が発生しているか否かおよび/または被験者の歯槽骨吸収の進行度を判定する、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定方法。

〔 1 1 〕被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量が、健常者から採取された血液中の当該量と比べて少量である場合に、被験者が歯槽骨吸収を発症していると判定する、上記〔 1 0 〕に記載の判定方法。

〔 1 2 〕 2 名以上の被験者から採取された血液、唾液および尿からなる群より選ばれる 1 以上の生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量を測定して、該量が少量である被験者ほど歯槽骨吸収が進行していると判定する、上記〔 1 0 〕に記載の判定方法。

40

〔 1 3 〕生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量の測定を、質量分析法と、請求項 3 または 4 に記載の抗体またはアプタマーを用いる免疫測定法と、請求項 5 または 6 に記載のマイクロアレイを用いる免疫測定法との中から選ばれる方法により行う、上記〔 7 〕～〔 1 2 〕のいずれか一項に記載の判定方法。

〔 1 4 〕上記〔 2 〕に記載の抗体またはアプタマー、もしくは上記〔 4 〕に記載のマイクロアレイを含む、歯周病の発症および/または進行度判定用キット。

〔 1 5 〕上記〔 3 〕に記載の抗体またはアプタマー、もしくは上記〔 5 〕に記載のマイク

50

ロアレイを含む、歯槽骨吸収の発症および/または進行度判定用キット。

【発明の効果】

【0011】

本発明により、従来のようにレントゲンを用いずに採取された生体試料により科学的および客観的に歯周病の発症、歯周病の進行度、歯槽骨吸収の発症、および歯槽骨吸収の進行度の、各判定が可能である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

本発明は、歯周病の発症および/または進行度の判定、および、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定に関する。

10

【0013】

本発明において歯周病の発症とは、被験者が歯周病を発症しているかどうかの判定（評価、判別、鑑別）を行うこと、または被験者が歯周病患者か健常者かの区別（分類）を行うことを意味する。歯周病の進行度の判定とは、歯周病が進行しているかどうかの判定（評価、判別、鑑別）を行うこと、または被験者が歯周病患者か健常者かの区別（分類）を行うことを意味する。

【0014】

本発明において歯槽骨吸収の発症とは、被験者が歯槽骨吸収を発症しているかどうかの判定（評価、判別、鑑別）を行うことを意味する。歯槽骨吸収の進行度の判定とは、歯周病が進行しているかどうかの判定（評価、判別、鑑別）を行うこと、または被験者が歯周病患者か健常者かの区別（分類）を行うことを意味する。

20

【0015】

本発明において判定の精度は、複数人の被験者のうち、通常は統計学的に有意な割合の被験者において、歯周病の発症および/または進行度の判定、および、歯槽骨吸収の発症および/または進行度を正しく判定できる程度であり、例えば150%以上、60%以上、70%以上、80%以上、85%以上、90%以上の被験者において歯周病を発症していることを正しく判定できる程度である。本発明の判定方法は、医師による診断前の予備的な判定方法として有用である。

【0016】

本発明における被験者は、通常は動物であり、好ましくは、ヒト、実験動物（マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギなど）であり、より好ましくはヒトである。

30

【0017】

本発明の判定方法においては、被験者から採取された生体試料として、血液、唾液および尿からなる群から選ばれる1以上を用いる。生体試料は、好ましくは血液である。血液は、全血であってもよいし、血液成分（血清、血漿など）であってもよい。

【0018】

本発明においては、歯周病の発症および/または進行度の判定、および、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定にあたり、被験者から採取された生体試料中のセルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量または有無を測定する。したがって、セルグリシンおよびレギュカルシンは、それぞれ、歯周病の発症および/または進行度の判定用マーカー、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定用マーカーとしても有用である。

40

【0019】

セルグリシン (serglycin) はタンパク質の一種である。コア部分のタンパク質の分子量は17.6 kDaであるが、糖などの修飾を受けた場合には分子量が最大約600 kDa程度に検出されることもある。本発明においてセルグリシンは糖などの修飾を受けていないタンパク質であってもよいし、糖などの修飾を受けているタンパク質（ゆるプロテオグリカンなど）であってもよい。

【0020】

レギュカルシン (regucalcin) は、肝臓などの臓器で発現されることが知られているタンパク質の一種である。レギュカルシンのコア部分の分子量は約35 kDaで

50

あり、レギュカルシン全体の分子量は、糖などの修飾に応じて変動する。本発明においてレギュカルシンは、糖などの修飾を受けていないタンパク質であってもよいし、糖などの修飾を受けているタンパク質（プロテオグリカンなど）であってもよい。

【0021】

セルグリシンの量または有無、およびレギュカルシンの量または有無は、セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーを用いることにより測定してもよい。すなわち、被験者から採取された生体試料を上記抗体またはアプタマーに作用させた際に、抗体またはアプタマーに結合したセルグリシンの結合量を測定することにより、生体試料中のセルグリシンおよびレギュカルシンの量を知ることができ、歯周病の発症および/または進行度の判定、および、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定が可能である。

10

【0022】

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーは、常法により作製することができる。

【0023】

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーを用いてセルグリシンの量または有無および/またはレギュカルシンの量または有無を測定する際の例を以下に示す。まず抗体またはアプタマーをマイクロタイタープレート等の担体に、物理的吸着、官能基を利用した共有結合等、公知の方法により吸着させた後、生体試料を必要に応じて希釈後に添加してインキュベーションする。次に蛍光発光物質、化学発光物質または酵素を結合させた2次抗体を加えインキュベーションする。検出はそれぞれの基質を加えた後、蛍光もしくは化学発光物質または酵素反応による可視光を計測することによって評価判定を行う。セルグリシンの量を測定する場合には、抗体またはアプタマーはセルグリシンに結合する抗体またはアプタマーであればよい。レギュカルシンの量を測定する場合には、抗体またはアプタマーはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーであればよい。セルグリシンの量およびレギュカルシンの量を測定する場合には、抗体またはアプタマーはセルグリシンとレギュカルシンの両者に結合する抗体またはアプタマーであればよい。

20

【0024】

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーは、マイクロアレイに固相化して用いてもよい。マイクロアレイを用いることにより、セルグリシンおよび/またはレギュカルシンの量または有無を測定することができ、歯周病の発症および/または進行度の判定、および、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定が可能である。

30

【0025】

マイクロアレイとは、担体（基材）上に測定しようとする物質に結合し得る物質を整理し固定化させたデバイスを総称していう。マイクロアレイの担体の材料としては、ガラスなどの無機材料、ニトロセルロースなどの有機材料のいずれであってもよい。マイクロアレイの担体の形状としては、膜、ビーズ、プレートのいずれであってもよい。

【0026】

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーが固相化されているマイクロアレイは、上記抗体またはアプタマーを担体に固定化して製造することができる。固定化の際には、マイクロアレイヤー、スポッター等の機器を用いることができる。

40

【0027】

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマーが固相化されているマイクロアレイを用いるセルグリシンの量の測定例を以下に示す。まず、マイクロアレイ上に、固相化された抗体またはアプタマーに、生体試料を添加し、生体試料中のマーカーペプチドを結合させ、次に蛍光発光物質、化学発光物質、または酵素を結合させた2次抗体を加えインキュベーションする。検出はそれぞれの基質を加えた後、蛍光も

50

しくは化学発光物質または酵素反応による可視光を計測すればよい。

【0028】

セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマー、あるいは、該抗体またはアプタマーが固相化されているマイクロアレイは、歯周病の発症および/または進行度の判定用キットとして利用することができる。また、セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する抗体またはアプタマー、あるいは、該抗体またはアプタマーが固相化されているマイクロアレイは、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定用キットとして利用することができる。判定用キットは、上記抗体またはアプタマー、もしくは、上記マイクロアレイを含む。

【0029】

本発明において、セルグリシンおよび/またはレギュカルシンの測定は、例えば、質量分析法によることができる。質量分析法による測定の際には各種の質量分析装置を利用することができる。質量分析装置としては、例えば、GC-MS、LC-MS、FAB-MS、EI-MS、CI-MS、FD-MS、MALDI-MS、ESI-MS、HPLC-MS、FT-ICR-MS、CE-MS、ICP-MS、Py-MS、TOF-MSなどが挙げられ、これらのいずれも利用可能である。

【0030】

また、各成分は、セルグリシンおよび/またはレギュカルシンに結合する物質（例えば、上記の抗体およびアプタマーのほか、受容体、酵素、ペプチドなど）、または上記のマイクロアレイを利用して、RIA（ラジオイムノアッセイ）、ELISA（酵素結合免疫吸着法）、ECLIA（電気化学発光免疫測定法）、ウェスタンブロッティング法などの免疫化学的手法により測定することもできる。

【0031】

生体試料中の成分の測定値からの、歯周病の発症の判定、および、歯槽骨吸収の発症の判定に当たっては、参照値との比較を行ってもよい。参照値としては、例えば、健常者（本発明の判定方法以外の手段で健常者であることが予め確認されていることが好ましい）から採取された生体試料中の成分の測定値、歯周病患者および/または歯槽骨吸収患者（本発明の判定方法以外の手段で歯周病患者または歯槽骨吸収患者であることが予め確認されていることが好ましい）から採取された生体試料中の成分の測定値が挙げられるが、このうち、前者が好ましい。

【0032】

セルグリシンの量は、歯周病を発症している場合には発症していない場合と比較して低下する。したがって、健常者の値を参照値として歯周病の発症を判定する場合、被験者から採取された生体試料中の当該量が、健常者から採取された生体試料中の当該量と比べて低い場合に歯周病を発症していると判定される。参照値が歯周病患者の値である場合、被験者から採取された生体試料中の当該量が、歯周病患者から採取された生体試料中の当該量と比べて同一または低い場合に歯周病を発症していると判定される。

【0033】

レギュカルシンの量は歯周病を発症している場合には発症していない場合と比較して上昇する。したがって、健常者の値を参照値として歯周病の発症を判定する場合、被験者から採取された生体試料中の当該量が、健常者から採取された生体試料中の当該量と比べて高い場合に歯周病を発症していると判定される。参照値が歯周病患者の値である場合、被験者から採取された生体試料中の当該量が、歯周病患者から採取された生体試料中の当該量と比べて同一または高い場合に歯周病を発症していると判定される。

【0034】

セルグリシンの量は、歯槽骨吸収を発症している場合には発症していない場合と比較して低下する。歯槽骨吸収に関しては、参照値が健常者の値である場合を例にとると、被験者から採取された血液中の当該量が、健常者から採取された血液中の当該量と比べて低い場合に歯槽骨吸収を発症していると判定される。参照値が歯槽骨吸収患者の値である場合を例にとると、被験者から採取された血液中の当該量が、歯槽骨吸収患者から採取された

10

20

30

40

50

血液中の当該量と比べて同一または低い場合に歯槽骨吸収を発症していると判定される。

【0035】

レギュカルシンの量は、歯槽骨吸収を発症している場合には発症していない場合と比較して上昇する。歯槽骨吸収に関しては、参照値が健常者の値である場合を例にとると、被験者から採取された血液中の当該量が、健常者から採取された血液中の当該量と比べて高い場合に歯槽骨吸収を発症していると判定される。参照値が歯槽骨吸収患者の値である場合を例にとると、被験者から採取された血液中の当該量が、歯槽骨吸収患者から採取された血液中の当該量と比べて同一または高い場合に歯槽骨吸収を発症していると判定される。

【0036】

生体試料中の各成分の測定値からの、歯周病の進行度の判定、および、歯槽骨吸収の進行度の判定に当たっては、参照値との比較を行ってもよい。参照値としては、例えば、歯周病の進行度合いまたは歯槽骨吸収の進行度合いが予め判明している者（該進行度合いが本発明の判定方法以外の手段で予め確認されていることが好ましい）から採取された血液中の成分の測定値が挙げられる。

【0037】

セルグリシンの量は、歯周病の進行度に反比例する。したがって、被験者から採取された血液中の当該量が、歯周病の進行度が予め判明している者から採取された血液中の当該量と比べて低い場合にはその者よりも歯周病を発症していると判定される。被験者から採取された血液中の当該量が、歯周病の進行度が予め判明している者から採取された血液中の当該量と比べて高い場合にはその者よりも歯周病が進行していないと判定される。

【0038】

レギュカルシンの量は、歯周病の進行度に比例する。したがって、被験者から採取された血液中の当該量が、歯周病の進行度が予め判明している者から採取された血液中の当該量と比べて高い場合にはその者よりも歯周病を発症していると判定される。被験者から採取された血液中の当該量が、歯周病の進行度が予め判明している者から採取された血液中の当該量と比べて低い場合にはその者よりも歯周病が進行していないと判定される。

【0039】

セルグリシンの量は、歯槽骨吸収の進行度に反比例する。したがって、被験者から採取された血液中の当該量が、歯槽骨吸収の進行度が予め判明している者から採取された血液中の当該量と比べて低い場合にはその者よりも歯槽骨吸収がより進行していると判定される。被験者から採取された血液中の当該量が、歯周病の進行度が予め判明している者から採取された血液中の当該量と比べて高い場合にはその者よりも歯周病が進行していないと判定される。

【0040】

レギュカルシンの量は、歯槽骨吸収の進行度に比例する。したがって、被験者から採取された血液中の当該量が、歯槽骨吸収の進行度が予め判明している者から採取された血液中の当該量と比べて高い場合にはその者よりも歯槽骨吸収がより進行していると判定される。被験者から採取された血液中の当該量が、歯周病の進行度が予め判明している者から採取された血液中の当該量と比べて低い場合にはその者よりも歯周病が進行していないと判定される。

【0041】

上記の参照値を利用する判定方法のほか、2名以上の被験者から採取された血液中のセルグリシンの量を比較して、歯周病発症および/または進行度の判定、あるいは、歯槽骨吸収発症および/または進行度の判定を行ってもよい。例えば、ある被験者Aから採取された血液中のセルグリシンの量が、他の被験者Bから採取された血液中の当該量よりも少ない場合には、被験者Aの歯周病および/または歯槽骨吸収が被験者Bのそれよりも進んでいると判定される。

【0042】

また、例えば、ある被験者Cから採取された血液中のレギュカルシンの量が、他の被験

10

20

30

40

50

者Dから採取された血液中の当該量よりも多い場合には、被験者Cの歯周病および/または歯槽骨吸収が被験者Dのそれよりも進んでいると判定される。

【0043】

本発明は、歯周病の発症および/または進行度の判定、および、歯槽骨吸収の発症および/または進行度の判定を、生体試料から簡便に判定できるので、医師の診断前の予備的な検査として有用である。

【0044】

歯周病患者および/または歯槽骨吸収患者である被験者に治療を行い、治療が効果を奏した場合、生体試料中のセルグリシンの量は増加し、生体試料中のレギュカルシンの量は減少する。よって、治療と共に生体試料血液中の各成分のいずれか或いは両方の量を測定することにより、治療効果の評価判定を行うこともできる。従って、本発明の判定方法は、歯周病および/または歯槽骨吸収の薬剤の投与効果などの治療効果を判定する方法としても有用である。

10

【実施例】

【0045】

実施例1 歯周病モデルマウスの作製および歯槽骨吸収の評価

C57BL/6JJclマウス(オス、8週齢、日本クレアから購入)を予備飼育した後、Porphyromonas gingivalis菌由来LPSを歯肉に2日間隔で5回注射した歯周病モデルマウスと、LPSの代わりに水を注射した健常マウスを作製し、2週間飼育した。飼育後、頭部のCT写真を撮影し、骨吸収量をCEJと第一臼歯歯槽骨上端との距離からボクセル値で算出した(参考文献:歯周病モデルマウスの作製、歯周病学会誌 36(3)p.519~530)。

20

【0046】

なお、ボクセル値は歯槽骨の吸収量に比例している。

【0047】

【表1】

表1 歯槽骨吸収量の比較

(n=3)	ボクセル値			平均値	比率(歯周病/健常)
健常マウス	94.39	106.6	110.3	103.76	1.47倍
歯周病モデルマウス	134.30	151.12	172.96	152.79	

30

(t-test p-value 0.02)

【0048】

表1から明らかな通り、歯周病モデルマウスでは歯周病特徴的である歯槽骨吸収が認められた。

【0049】

実施例2 血液中セルグリシン量の定量

歯肉にLPSを注射した歯周病モデルマウスと健常マウスから血液を採取、血清中の主要タンパクをアフィニティーカラムで除去した後、1マイクログラムのタンパクをLC-MS/MSに供し、プロテオーム解析を実施した。解析ソフトProgenesisを用いて定量データを取得し、タンパクデータベースIPIにデータを照会し、各定量値を示すタンパクを同定した。得られた網羅的タンパク定量データからセルグリシンの定量値(normalized abundance)を2群間で比較した。

40

【0050】

【表2】

表2 血液中のセルグリシン量の比較

(n=3)	Normalized abundance			平均値	比率(歯周病/健常)
健常マウス	760000	950000	800000	836667	55%
歯周病モデルマウス	400000	300000	670000	456667	

50

( t - t e s t p - v a l u e 0 . 0 3 )

【 0 0 5 1 】

表 2 に示すように、歯周病モデルマウスの血清ではセルグリシン量が健常マウスと比較して約 5 5 % に低下していた。

【 0 0 5 2 】

#### 実施例 3 血液中レギュカルシンの定量

歯肉に L P S を注射した歯周病モデルマウスと健常マウスから血液を採取、血清中の主要タンパクをアフィニティーカラムで除去した後、1 マイクログラムのタンパクを L C - M S / M S に供し、プロテオーム解析を実施した。解析ソフト P r o g e n e s i s を用いて定量データを取得し、タンパクデータベース I P I にデータを照会し、各定量値を示すタンパクを同定した。得られた網羅的タンパク定量データからレギュカルシンの定量値 ( n o r m a l i z e d a b u n d a n c e ) を 2 群間で比較した。

10

【 0 0 5 3 】

【 表 3 】

表 3 血液中のレギュカルシンの比較

( n = 3 )	Normalized abundance			平均値	比率 (歯周病/健常)
健常マウス	900000	40000	30000	323333	309%
歯周病モデルマウス	500000	1900000	600000	1000000	

( t - t e s t p - v a l u e 0 . 3 )

20

【 0 0 5 4 】

表 3 に示すように、歯周病モデルマウスの血清では、レギュカルシンの量が健常マウスと比較して約 3 倍に増加していた。

【 0 0 5 5 】

以上の実施例 1 ~ 3 の結果から明らかな通り、L P S 投与による歯周病の発症によって、( 1 ) 歯周病の代表的な症状である歯槽骨吸収が認められ、かつ、( 2 ) 歯周病も出るマウスの血液中のセルグリシン量は健常マウスのそれと比較して低下し、( 3 ) 血液中のレギュカルシンの量は健常マウスのそれと比較して増加していた。

【 0 0 5 6 】

これらの結果は、生体試料中のセルグリシンおよび / またはレギュカルシンの量により、歯周病の発症および / または進行度の判定、並びに、歯槽骨吸収の発症および / または進行度の判定が可能であることを示している。

30

【 0 0 5 7 】

なお、歯周病菌 *P o r p h y r o m o n a s g i n g i v a l i s* の L P S による、サイトカイン産生、T 細胞の分化などの免疫反応は、マウスおよびヒトで共通であると報告されている ( *A s i a n P a c i f i c J o u r n a l o f A l l e r g y a n d i m m u n o l o g y* 2 0 0 6 , ( 2 4 ) p . 2 2 3 ~ 2 2 8 ) 。また、歯周病における歯槽骨吸収が、免疫反応により引き起こされることは、ヒト ( 医学のあゆみ v o l . 2 3 2 , N o . 3 , 2 0 1 0 ) と、今回実施例で用いたマウス歯周病モデルにおいて共通である ( 歯周病学会誌 3 6 ( 3 ) p . 5 1 9 ~ 5 3 0 ) ことが報告されている。したがって、上記実施例においてマウス歯周病モデルで得られた歯槽骨吸収に関する知見は、ヒトの場合でも同様であると推測される。

40

---

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
<b>C 0 7 K 16/18 (2006.01)</b>		C 0 7 K 16/18	
<b>C 0 7 K 14/435 (2006.01)</b>		C 0 7 K 14/435	
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>		C 1 2 N 15/00	F

(72)発明者 片岡 伸介

東京都墨田区本所一丁目3番7号 ライオン株式会社内

Fターム(参考) 2G041 CA01 DA04 DA05 DA09 DA13 DA14 DA16 EA04 EA06 FA12  
GA05 GA06 HA01 HA02 LA07 LA08  
2G045 AA25 CA25 CB03 CB07 DA36  
4B024 AA13 CA01 CA11 HA11  
4H045 AA11 AA30 CA42 DA75 EA50

专利名称(译)	牙周病确定标志物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2013195077A</a>	公开(公告)日	2013-09-30
申请号	JP2012059283	申请日	2012-03-15
[标]申请(专利权)人(译)	狮王株式会社		
申请(专利权)人(译)	狮公司		
[标]发明人	山口 継乃 小池 泰志 片岡 伸介		
发明人	山口 継乃 小池 泰志 片岡 伸介		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/53 G01N37/00 G01N27/62 C12N15/115 C07K16/18 C07K14/435 C12N15/09		
FI分类号	G01N33/68 G01N33/53.D G01N37/00.102 G01N27/62.V C12N15/00.H C07K16/18 C07K14/435 C12N15/00.F C12N15/09.200 C12N15/115.Z		
F-TERM分类号	2G041/CA01 2G041/DA04 2G041/DA05 2G041/DA09 2G041/DA13 2G041/DA14 2G041/DA16 2G041/EA04 2G041/EA06 2G041/FA12 2G041/GA05 2G041/GA06 2G041/HA01 2G041/HA02 2G041/LA07 2G041/LA08 2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CB03 2G045/CB07 2G045/DA36 4B024/AA13 4B024/CA01 4B024/CA11 4B024/HA11 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/CA42 4H045/DA75 4H045/EA50		
代理人(译)	酒井宏明		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

摘要：要解决的问题：提供一种工具，作为正常健康检查的一部分，掌握牙周病的发生和/或进展以及牙槽骨吸收的发生和/或进展。解决方案：一种方法通过使用以下方法确定牙周病的发病，牙周病的进展，牙槽骨吸收的开始或受试者的牙槽骨吸收的进展：用于确定发病的标记蛋白和/或用于确定包括血清甘氨酸和/或regucalcin的牙槽骨吸收的发作和/或进展的牙周病或标记蛋白的进展；用于确定牙周病的发作和/或进展或确定牙龈骨吸收的发作和/或进展的抗体或适体，其与serglycin和/或regucalcin组合；或用于确定牙周病的发作和/或进展或确定牙槽骨吸收的发作和/或进展的微阵列，其中抗体或适体固体定相于载体。

表2 血液中セルグリン量の比較

(n=3)	Normalized abundance			平均値	比率 (歯周病/健康)
健康マウス	760000	950000	800000	836667	55%
歯周病モデルマウス	400000	300000	670000	456667	