

(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2005-241335

(P2005-241335A)

(43) 公開日 平成17年9月8日(2005.9.8)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/569	GO 1 N 33/569	2 G O 4 5
GO 1 N 21/78	GO 1 N 21/78	2 G O 5 4
GO 1 N 33/50	GO 1 N 33/50	G
GO 1 N 33/53	GO 1 N 33/53	N
GO 1 N 33/543	GO 1 N 33/543 5 4 1 Z	
審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (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)

(71) 出願人 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

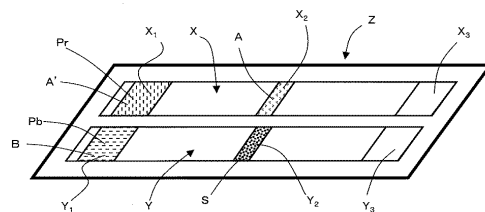
(54) 【発明の名称】 う蝕リスク検査用具

(57) 【要約】

【課題】 口腔内細菌と宿主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、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。

【解決手段】 二種の多孔質膜片が非吸収性の素材の基材に固定されているう蝕リスク検査用具であり、多孔質膜片の一種は、片端にミュータンス菌と結合する抗体が赤色系の着色粒子を付着した状態で含まれた検体滴下部が、中程にミュータンス菌と結合する抗体とは異なる抗体が含まれた検出部が、検出部を挟んで検体滴下部と反対側の端に検体吸収部を有し、もう一種の多孔質膜片は、片端にヒトの唾液中に分泌されるSIgAと結合する抗体が青色系の着色粒子を付着された状態で含まれた検体滴下部が、中程にSIgAと結合する抗原が含まれた検出部が、検出部を挟んで検体滴下部と反対側の端に検体吸収部を有するう蝕リスク検査用具とする。

【選択図】 図1



【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(X₁)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(X₂)が配置されており、該検出部(X₂)を挟んで検体滴下部(X₁)と反対側の端に検体吸収部(X₃)が配置されており、

10

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(Y₁)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(Y₂)が配置されており、該検出部(Y₂)を挟んで検体滴下部(Y₁)と反対側の端に検体吸収部(Y₃)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。

20

【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。

40

【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き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

50

ータンスに特異的に反応するモノクロー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。）。

【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。）。

10

【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困難であった。

20

【0006】

【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】

30

【0007】

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】

【0008】

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(X₁)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(X₂)が配置されており、該検出部(X₂)を挟んで検体滴下部(X₁)と反対側の端に検体吸収部(X₃)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(Y₁)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(Y₂)が配置されており、該検出部(Y₂)を挟んで検体滴下部(Y₁)と反対側の端に検体吸収部(Y₃)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。

40

50

【発明の効果】

【0009】

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】

【0010】

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。

【0011】

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。

【0012】

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、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。

【0014】

図1中のX₁は検体滴下部、X₂は検出部、X₃は検体吸収部であり、多孔質膜片Xにおいて検体滴下部X₁と検体吸収部X₃とは検出部X₂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X₃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X₁には抗体A'が、検出部X₂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X₁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。

【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

10

20

30

40

50

す粒子が好ましい。

【0017】

検出部 X_2 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_1 は検体滴下部、 Y_2 は検出部、 Y_3 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_1 と検体吸収部 Y_3 とは検出部 Y_2 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_3 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。

10

【0019】

検体滴下部 Y_1 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_2 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で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 P b 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 P b 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】

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。

20

【0021】

青色系の着色粒子 P b 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 5P B 10B 5B 10BG 5BG 10G 5G 10GY のような色調をもつ粒子が好ましい。

30

【0022】

図1に示した二種の多孔質膜片 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 P r 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。

40

【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 P b 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】

50

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。

【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。

10

【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。

20

30

【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Pr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Pr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Pb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Pb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。

40

【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Pr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(Pb)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。

【図面の簡単な説明】

50

【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

X₁：検体滴下部

Pr：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

X₂：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

X₃：検体吸収部

Y：多孔質膜 Y

Y₁：検体滴下部

Pb：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

Y₂：検出部

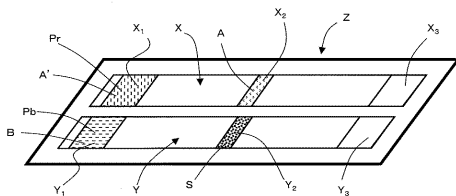
S：ヒトの唾液中に分泌されるSIgAの抗原

Y₃：検体吸収部

Z：基材

10

【図1】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G045 AA40 BB04 BB24 CB05 CB07 CB21 FA18 FB03 FB07 FB11
FB15 FB20 GC12 HA09 HA10
2G054 AA10 AB04 AB05 BB04 BB08 CA20 CA23 EA06 FA29 FA50
GB04

专利名称(译)	龋齿风险检查工具		
公开(公告)号	JP2005241335A	公开(公告)日	2005-09-08
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		
[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	JP4391856B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：执行一种能够从口腔细菌和宿主两个方面全面确定风险的免疫色谱方法，并使受测患者能够一目了然地了解其龋齿风险。提供了一种龋齿风险检查工具。 解决方案：这是一种龋齿风险检查工具，其中将两种多孔膜片固定在不可吸收材料的基材上，并且一种多孔膜片的一端具有与变形细菌结合的抗体。在附着有红色粒子的状态下包含的检体滴落部，检测部在中间包含与结合于变形杆菌的抗体不同的抗体，在检测部中隔着检体滴落部。它在另一端具有样品吸收部分，另一种类型的多孔膜片包含一种抗体，该抗体的一端与人类唾液中分泌的SIgA结合，并带有蓝色颗粒。样品滴下部分是龋齿风险测试工具，其中，在中间包含与SIgA结合的抗原的检测部分在与样品滴下部分相对的端部具有样品吸收部分，并且在其间具有检测部分。 [选型图]图1

