

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02002/079780

発行日 平成16年7月22日 (2004. 7. 22)

(43) 国際公開日 平成14年10月10日 (2002. 10. 10)

(51) Int. Cl. 7

GO 1 N 33/53
GO 1 N 33/50
GO 1 N 33/543

F I

GO 1 N 33/53 S
GO 1 N 33/50 G
GO 1 N 33/543 5 1 1 A
GO 1 N 33/543 5 1 5 A

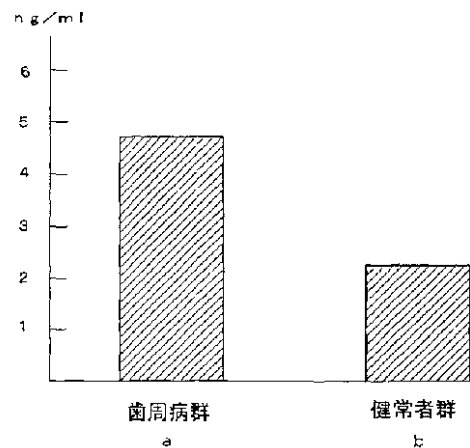
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 13 頁)

出願番号	特願2002-577559 (P2002-577559)	(71) 出願人	899000057
(21) 国際出願番号	PCT/JP2002/003077		学校法人日本大学
(22) 国際出願日	平成14年3月28日 (2002. 3. 28)		東京都千代田区九段南四丁目8番24号
(31) 優先権主張番号	特願2001-93700 (P2001-93700)	(74) 代理人	100101591
(32) 優先日	平成13年3月28日 (2001. 3. 28)		弁理士 川俣 静子
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(72) 発明者	菅野 直之
(81) 指定国	AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, C H, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, P L, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW		日本国東京都千代田区九段南四丁目8-2 4日本大学内

(54) 【発明の名称】 歯周病の検査方法

(57) 【要約】

被験者の口腔から採取した試料に、抗8-ヒドロキシデオキシグアノシン抗体を用いるイムノアッセイを行い、8-ヒドロキシデオキシグアノシンを定量する工程を含む歯周病の検査方法が提供される。これにより、歯周病の簡便な検査が可能になる。



a...GROUP OF PATIENTS WITH PERIODONTAL DISEASE
b...GROUP OF NORMAL SUBJECTS

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

被験者の口腔から採取した試料に、抗 8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体を用いるイムノアッセイを行い、8 - ヒドロキシデオキシグアノシンを定量する工程を含む歯周病の検査方法。

【請求項 2】

前記試料が唾液である請求の範囲第 1 項記載の検査方法。

【請求項 3】

前記試料が唾液であり、前記イムノアッセイを行う前に、該唾液に遠心分離処理を行う請求の範囲第 1 項記載の検査方法。

【請求項 4】

前記イムノアッセイが、競合法により行われる請求の範囲第 1 項記載の検査方法。

【請求項 5】

前記イムノアッセイが、競合法により行われる請求の範囲第 2 項記載の検査方法。

【請求項 6】

前記イムノアッセイが、競合法により行われる請求の範囲第 3 項記載の検査方法。

【請求項 7】

前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる請求の範囲第 1 項記載の検査方法。

【請求項 8】

前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる請求の範囲第 2 項記載の検査方法。

【請求項 9】

前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる請求の範囲第 3 項記載の検査方法。

【請求項 10】

口腔から採取した試料中の 8 - ヒドロキシデオキシグアノシンの定量による歯周病の検査方法に使用される、標識抗 8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体、非標識抗 8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体、標識 8 - ヒドロキシデオキシグアノシン及び非標識 8 - ヒドロキシデオキシグアノシンからなる群より選択される固相に固定化されたまたは固定化されていない 1 または 2 以上の試薬を少なくとも含むキットまたは検査器具。

【請求項 11】

口腔から採取した試料中の 8 - ヒドロキシデオキシグアノシンを、抗 8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体との免疫特異的応答を利用して標識剤と結合させる手段と、該標識剤の活性を測定するかまたは視覚化するための手段を含む、8 - ヒドロキシデオキシグアノシンの定量による歯周病の検査のためのキットまたは検出器具。

【発明の詳細な説明】**技術分野**

本発明は歯周病の検査方法に関する。

背景技術

高齢者の健康状態と口腔機能の維持との関係が近年注目されている。即ち、口腔機能の低下が種々の疾患の発症に関連することが報告されている。また、口腔機能の低下が老人性痴呆症にも関連することが報告されている。歯周病は歯牙喪失の主要な原因であるため、口腔機能を維持するには、歯周病の予防が重要である。そして、歯周病は長い年月をかけて進行していくため、集団検診等で歯周病を早期に発見し、治療していくことが望ましい。

現在、歯周病の診断は歯周プローピング法により行われている。これは、歯周ポケットにプローブと呼ばれる器具を挿入し、その深さを測ることにより、歯周組織の損傷の程度を評価する方法である。従って、その診断には高度な専門技術が必要であり、しかも時間がかかるため、集団検診等で行うのが困難である。また、プローピング法は、歯周病により

10

20

30

40

50

蓄積した炎症の程度（歯周ポケットの深さ）を知るものであり、検査時点での病態、炎症の程度を知ることはできない。

歯周病の診断を炎症に伴い分泌される物質の測定により行うことも提案されている。例えば、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼと歯周病との関連が報告されている。しかしながら、この方法においては、口中の阻害物質の存在のため、正確な測定ができなかった。また、他の炎症に関連する物質についても、歯周病との関連が明確にされていない、また阻害物質の存在により正確な測定が困難である等の理由により、歯周病の診断に採用するには至らず、依然として歯周プロービング法による診断が行われていた。

本発明の発明者は、8 - ヒドロキシデオキシグアノシン（以下、場合により8 - O H d Gと記す）が歯周病に関連し、イムノアッセイにより阻害物質等の問題なく測定が可能であり、しかも測定値が歯周病の疾病状態と有意に関連することを見出し、本発明を完成させた。

10

従って、本発明の目的は、歯周病の検査方法を提供することにある。

発明の開示

第1に、本発明は、下記の方法に関する。

(1) 被験者の口腔から採取した試料に、抗8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体を用いるイムノアッセイを行い、8 - ヒドロキシデオキシグアノシンを定量する工程を含む歯周病の検査方法。

(2) 前記試料が唾液である(1)の検査方法。

(3) 前記試料が唾液であり、前記イムノアッセイを行う前に、該唾液に遠心分離処理を行う(1)の検査方法。

20

(4) 前記イムノアッセイが、競合法により行われる(1)の検査方法。

(5) 前記イムノアッセイが、競合法により行われる(2)の検査方法。

(6) 前記イムノアッセイが、競合法により行われる(3)の検査方法。

(7) 前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる(1)の検査方法。

(8) 前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる(2)の検査方法。

(9) 前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる(3)の検査方法。

また、本発明は、口腔から採取した試料中の8 - ヒドロキシデオキシグアノシンの定量による歯周病の検査方法に使用される、標識抗8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体、非標識抗8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体、標識8 - ヒドロキシデオキシグアノシン及び非標識8 - ヒドロキシデオキシグアノシンからなる群より選択される固相に固定化されたまたは固定化されていない1または2以上の試薬を少なくとも含むキットまたは検査器具に関する。

30

さらに、本発明は、口腔から採取した試料中の8 - ヒドロキシデオキシグアノシンを、抗8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体との免疫特異的反応を利用して標識剤と結合させる手段と、該標識剤の活性を測定するかまたは視覚化するための手段を含む、8 - ヒドロキシデオキシグアノシンの定量による歯周病の検査のためのキットまたは検出器具に関する。

本明細書において「定量」は、正確な量を測定する場合だけでなく、おおよその量を測定することも含む。

40

また、本発明の検査方法は、特にヒトを含む哺乳類の歯周病の検査に使用される。

発明を実施するための最良の形態

(8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体)

本発明で使用される抗8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体（以下、場合により抗8 - O H d G抗体と記す）は、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体であるが、好ましくはモノクローナル抗体である。

ポリクローナル抗体は、例えば、8 - O H d Gをタンパク質やポリペプチドと結合したものを免疫原として一定期間温血動物に投与した後、その腹水、血液等を採取したのから精製して製造したものである。

8 - O H d G抗体の血清からの精製は、免疫グロブリンの分離精製法、例えば、塩折法、

50

アルコール沈殿法、等電点沈殿法、電気泳動法、イオン交換体による吸脱着法、超遠心法、ゲルろ過法、抗原抗体結合物あるいはプロテイン A あるいはプロテイン G などの活性吸着剤により抗体のみを採取し、結合を解離させて抗体を得る特異的精製法により行われる。より具体的には、リガンドとしてアルブミン結合領域を欠失した組換え Protein G を用いたクロマトグラフィで分離することができる。この場合、ベース担体は、好ましくは高度架橋球状のセファロースであり、精製時間は例えば 5 ~ 20 分間、最大流速は、例えば 1 ~ 10 ml / 分である。

モノクローナル抗体は、市販品として入手可能である（日研フード株式会社、日本老化制御研究所、抗 8-OHdG モノクローナル抗体）。また、例えばケーラーとミルスタインの方法〔ネイチャー（Nature），第 256 巻（1975），第 495 頁〕と同様の方法により得られる。8-OHdG で免疫された温血動物の脾臓またはリンパ節を採取し、それらに含まれる抗体産生細胞を骨髄腫細胞と融合させることにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを得ることができる。

モノクローナル抗体は、ラット、マウスを用いて得るのが好ましい。例えばマウスを免疫する場合、皮下、腹腔内、静脈内に注入するのが好ましい。例えば 2 週間の免疫間隔で約 2 ~ 6 回免役し、最終免疫後、約 1 ~ 5 日、好ましくは約 2 ~ 4 日後に摘出した脾臓細胞を用いる方法が一般的である。投与量はマウス当り例えば約 0.1 μg 以上、好ましくは約 10 μg ~ 300 μg である。また、脾臓を摘出する前に、部分採血を行い、血中の抗体価の上昇を確認し、抗体価の上昇した個体の脾臓を摘出する。

融合操作は既知の方法、例えば上記ケーラーとミルスタインの方法またはこれに準じた方法により行うことができる。骨髄腫細胞としてはたとえば NS-1、P3U1、SP2/0 などが挙げられる。抗体産生細胞（脾臓細胞）数と骨髄細胞数との好ましい比率は約 1 : 1 ~ 約 20 : 1 である。

融合促進剤としてはポリエチレングリコール（PEG）やセンダイウィルスなどが挙げられるが、好ましくは PEG が用いられる。PEG の重合度は、通常、約 1,000 ~ 6,000 であり、濃度は約 10% ~ 80% で用いられる。融合時間は約 0.5 ~ 30 分、融合温度は例えば 20 ~ 40、好ましくは 30 ~ 70 である。好ましい条件の一例として、PEG 6,000 を約 35 ~ 55% で約 4 ~ 10 分間処理することにより、効率よく融合させることが出来る。融合細胞は、ヒポキサンチン - アミノプテリン - チミジン培地〔HAT 培地；ネイチャー（Nature），256, 495（1975）〕等を用いて

、選択的に増殖させることが出来る。増殖した細胞の培養上清は、目的とする抗体産生があるか否かについてスクリーニングを行うことができるが、抗体価のスクリーニングは次の様に行うことが出来る。即ち、この場合には、まず第 1 段階として免疫原に対する抗体産生の有無を、ラジオイムノアッセイ（RIA）法またはエンザイムイムノアッセイ（EIA）法等の方法で調べることが出来るが、これらの方法についても種々の変法が可能である。好ましい測定法の一例として、EIA を用いる一つの方法について述べる。セルロースビーズ等の担体に、例えばウサギ抗マウスイムノグロブリン抗体を常法に従ってカプリングさせておき、これに測定したい培養上清や、マウスの血清を加え、一定時間、一定温度（約 4 ~ 40）で反応させる。この後、反応物をよく洗った後、酵素で標識した免疫原を加え、一定時間、一定温度（約 4 ~ 40）で反応させる。反応物をよく洗った後、酵素基質を加え、一定時間、一定温度（約 4 ~ 40）で反応させ、その後、生成発色物を吸光度または蛍光度等で測定することが出来る。選択培地で増殖を示し、かつ免疫原に対する抗体活性のみられたウエルの細胞は、限界希釈法等によりクローニングを行うことが望ましい。クローン化された細胞の上清について同様にスクリーニングを行い抗体価の高いウエルの細胞を増やすことにより、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマクローンが得られる。

このようにしてクローン化されたハイブリドーマを、液体培地中で増殖させる。具体的には例えば、液体培地、例えば RPMI - 1640〔Moore, G. E. ら、ジャーナル・オブ・アメリカン・メディカル・アソシエーション（J. Am. Med. Assoc.）199, 549（1967）〕に約 0.1 ~ 40% の牛血清を加えた培地等で約 2 ~ 1

10

20

30

40

50

0日間、好ましくは約3～5日間培養することにより、培養液から該モノクローナル抗体を得ることができる。また哺乳動物の腹腔内に接種し、細胞を増殖させ、腹水を採取することにより抗体を得ることができる。このためには、例えばマウスの場合、ミネラルオイル等を前もって接種したBALB/c等のマウスに約 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^7$ 個、好ましくは約 $5 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6$ 個のハイブリドーマを腹腔内に接種し、約7～20日後、好ましくは約10～14日後に腹水液を採取する。腹水に生成蓄積した抗体は、例えば硫酸分画、DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィー等により、容易にモノクローナル抗体を純粋な免疫グロブリンとして単離することが出来る。

(試料)

本発明において使用される被験者の口腔から採取した試料は、例えば、唾液、口中すすぎ液、歯肉溝滲出液等であるが、好ましくは唾液である。唾液は、食後口中を清浄にしてから、約10分間以上経過後、好ましくは約30分間以上経過後、より好ましくは約60分以上、例えば約60～180分間経過後に採取するのが望ましい。

また、全体的な歯周病の症状を唾液を試料として測定した後、各歯毎の詳しい検査を歯肉溝滲出液を採取して行うことも可能である。

試料としての唾液は、好ましくは被験者にパラフィンガム等を約10秒間～約10分間咀嚼させた後に唾液を容器に吐出させることにより採取される。

歯肉溝滲出液の場合は、濾紙等の吸収性材料を歯周ポケットに挿入することにより行われる。

口中すすぎ液の場合は、好ましくは被験者にパラフィンガム等を約10秒間～約10分間咀嚼させ後に水で口腔内をすすいで、容器に吐出させることにより採取される。

試料採取直後にイムノアッセイを行ってもよいが、試料を採取し、数時間～数日後にイムノアッセイを行ってもよい。即ち、集団検診等では、試料の採取までを行い、その後の分析は臨床検査センター等、別の場所で行うこともできる。数時間から数日後にイムノアッセイを行う場合、好ましくは $-40 \sim -20$ 、さらに好ましくは $-20 \sim -4$ の温度で、密閉容器内に保存する。

試料が唾液の場合、遠心分離、界面活性剤による処理等の前処理を行った後に分析するのが好ましい。

遠心分離は、 $1000 \sim 12000$ rpm、好ましくは $4500 \sim 12000$ rpm、特に $10000 \sim 12000$ rpmで1～30分間、好ましくは10～30分間、特に20～30分間行い、その上清液を試料として用いる。

界面活性剤は、好ましくは陽イオン活性剤、例えばTween 20である。

(イムノアッセイ)

イムノアッセイは、例えば、ラジオイムノアッセイ、エンザイムイムノアッセイ、蛍光イムノアッセイである。イムノアッセイで用いる標識剤としては、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質等が挙げられるが、酵素、または金コロイド、染料ゾル等のいわゆる直接標識を用いるのが好ましい。

エンザイムイムノアッセイは、サンドイッチ法、競合法等の任意の方法であり得る。ELISA法が特に好ましい。酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -D-ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ等を用いることができるが、ペルオキシダーゼが好ましい。ペルオキシダーゼとしては、種々の起源のものを用いることができるが、その例としてはたとえば西洋わさび、パイナップル、イチジク、甘藷、ソラマメ、トウモロコシなどから得られるペルオキシダーゼが挙げられ、特に西洋わさびから抽出されたホースラディッシュペルオキシダーゼ(horserradish peroxidase)(HRP)が好ましい。

なお、本発明の検査方法は、さらに、定量値が一定値以上であれば、歯周病に罹患している可能性があり、一定値未満であれば、歯周病のおそれがないと判定する工程を含んでもよい。

(判定の数値範囲)

本発明の検査方法は、特に、集団検診等のような健康診断において、歯周病の可能性があ

る受診者を選択し、さらに歯科医による診断を受けさせるためのスクリーニング法として用いるのに有効である。この場合、8-OHdGの濃度が、例えば3 ng/ml以上、好ましくは4 ng/ml以上、特に5 ng/ml以上の時に歯周病の可能性がある、即ち陽性と判断される。さらに、本発明の検査方法は、検査時点での病態を知ることができるため、歯科医師が歯周病治療の過程において、治療の効果を知るための検査方法として行うこともできる。

(キット, 検出器具)

本発明は、抗8-OHdG抗体を利用する上記検査方法を実施するためのキットまたは検出器具にも関する。

例えば、本発明は、口腔から採取した試料中の8-ヒドロキシデオキシグアノシンの定量による歯周病の検査方法に使用される、標識もしくは非標識抗8-ヒドロキシデオキシグアノシン抗体、及び/または標識もしくは非標識8-ヒドロキシデオキシグアノシンを含むキットまたは検査器具に関する。

口腔から採取した試料中の8-OHdGを、抗8-OHdG抗体との免疫特異的反応を利用して標識剤と結合させる手段と、該標識剤の活性を測定するかまたは視覚化するための手段を含む、8-OHdGの定量による歯周病の検査のためのキットまたは検出器具にも関する。このようなキットや検出器具は、健康診断、臨床検査、歯科医の診療等において使用することができるが、個人が歯周病の自己管理をするために使用することもできる。

結合させる手段は、標識されたまたは標識されていない抗8-OHdG抗体、標識されたまたは標識されていない8-OHdGから、イムノアッセーの種類によって適宜選択される。上記抗8-OHdG抗体及び上記8-OHdGは、イムノアッセーの種類によって固相に固定化されたものまたは固定化されていないものであり得る。

標識剤の活性を測定するかまたは視覚化するための手段は、例えば標識剤が酵素の場合はその基質及び反応停止剤等である。

固相は、例えば、ポリスチレン製のビーズ、プレート、管等のほか、ナイロン、ニトロセルロース、酢酸セルロース、ガラス繊維、または他の多孔性ポリマーでありうる。固相、例えば多孔性ポリマーは、ディップスティックの形態であってもよい。

キットの場合は、上記手段、例えば抗8-OHdG抗体、8-OHdG、基質等に加えて、溶媒、洗浄剤、標準物質等を含んでもよい。

検査器具は、例えば、抗8-OHdG抗体が固定され、標識化抗8-OHdG抗体が湿潤時に移動可能な状態で担持された多孔性材料よりなる固相と、該固相を、該固相の一部を試料に接触させ得るように収納したケーシングからなる検査器具であり得る。

実施例

以下、本発明を実施例によりさらに詳細に説明する。しかしながら、これらは本発明を限定するものではない。

実施例 1

歯周病患者(軽度から重度まで)64名と健常者10名を被験者とした。被験者にパラフィンガムを5分間咀嚼させ、その唾液を採取した。唾液に10000rpmで10分間の遠心分離処理を行った後、その上清について、市販の8-OHdG用ELISAキット(商品名:8-OHdG Check、日本油脂株式会社製)を用いて、8-OHdGの濃度を測定した。結果を図1のグラフに示す。

グラフより、明らかなように、歯周病群の平均値は4.82 ng/mlであり、病状により、50 ng/mlまでばらつきがあるが、健常者群では平均値が2.3 ng/mlであり、最高でも9.9 ng/mlであった。また、歯周病群において、8-OHdGの濃度は、歯周病の進行度にほぼ比例した。

実施例 2:

歯周病の患者14名について、実施例1と同様の方法により、初診時と初期治療を施した後の8-OHdG濃度を測定した。結果を図2のグラフに示す。図より、治療により、病状の改善と共に、8-OHdGの濃度が低下したことが明らかである。

産業上の利用可能性

本発明の方法により、簡便な方法で歯周病の検査を行うことができる。これにより、集団検診等での歯周病の検査が可能になり、歯周病の予防及び早期治療が可能になり、ひいては高齢者の健康状態の向上を図ることが可能になる。

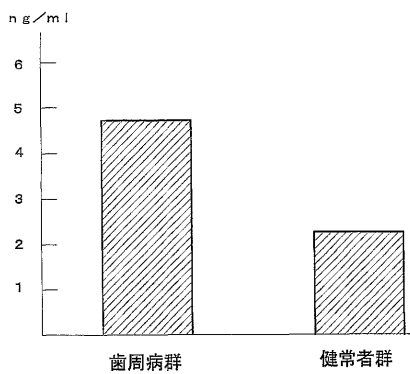
【図面の簡単な説明】

第1図は、健常者と歯周病患者の8-OHdG濃度を示すグラフである。

第2図は、歯周病患者の治療前後の8-OHdG濃度を示すグラフである。

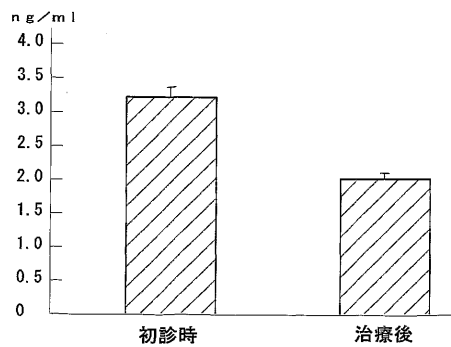
【図1】

第1図



【図2】

第2図



【手続補正書】

【提出日】平成15年1月24日(2003.1.24)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

被験者の口腔から採取した試料に、抗8-ヒドロキシデオキシグアノシン抗体を用いるイムノアッセイを行い、8-ヒドロキシデオキシグアノシンを定量する工程を含む歯周病の検査方法。

【請求項2】

前記試料が唾液、口中すすぎ液または歯溝浸出液である請求の範囲第1項記載の検査方法。

【請求項3】

前記試料が唾液である請求の範囲第1項記載の検査方法。

【請求項4】

前記試料が唾液であり、前記イムノアッセイを行う前に、該唾液に遠心分離処理を行う請求の範囲第1項記載の検査方法。

【請求項5】

前記イムノアッセイが、競合法により行われる請求の範囲第1項記載の検査方法。

【請求項6】

前記イムノアッセイが、競合法により行われる請求の範囲第2項記載の検査方法。

【請求項7】

前記イムノアッセイが、競合法により行われる請求の範囲第3項記載の検査方法。

【請求項8】

前記イムノアッセイが、競合法により行われる請求の範囲第4項記載の検査方法。

【請求項9】

前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる請求の範囲第1項記載の検査方法。

【請求項10】

前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる請求の範囲第2項記載の検査方法。

【請求項11】

前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる請求の範囲第3項記載の検査方法。

【請求項12】

前記イムノアッセイが、サンドイッチ法により行われる請求の範囲第4項記載の検査方法。

【請求項13】

口腔から採取した試料中の8-ヒドロキシデオキシグアノシンの定量による歯周病の検査方法に使用される、標識抗8-ヒドロキシデオキシグアノシン抗体、非標識抗8-ヒドロキシデオキシグアノシン抗体、標識8-ヒドロキシデオキシグアノシン及び非標識8-ヒドロキシデオキシグアノシンからなる群より選択される固相に固定化されたまたは固定化されていない1または2以上の試薬を少なくとも含むキットまたは検査器具。

【請求項14】

前記試料が唾液、口中すすぎ液または歯溝浸出液である請求の範囲第13項記載のキットまたは検査器具。

【請求項15】

前記試料が唾液である請求の範囲第 1 3 項記載のキットまたは検査器具。

【請求項 1 6】

口腔から採取した試料中の 8 - ヒドロキシデオキシグアノシンを、抗 8 - ヒドロキシデオキシグアノシン抗体との免疫特異的反応を利用して標識剤と結合させる手段と、該標識剤の活性を測定するかまたは視覚化するための手段を含む、8 - ヒドロキシデオキシグアノシンの定量による歯周病の検査のためのキットまたは検出器具。

【請求項 1 7】

前記試料が唾液、口中すすぎ液または歯溝浸出液である請求の範囲第 1 6 項記載の検査方法。

【請求項 1 8】

前記試料が唾液である請求の範囲第 1 6 項記載の検査方法。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP02/03077
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl. ⁷ G01N33/53		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. ⁷ G01N33/53		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2002 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2002 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2002		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA, REGISTRY		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SCHMIDT et al., AGES induce oxidant stress in the gingiva, Journal of Periodontal Research, Vol.31, No.7, 1996, pages 508 to 515, see Summary, page 512 "presence of AGES and oxidant stress markers in human gingival tissues"	1-11
Y	TOYOKUNI et al., Quantitative Immunohistochemical Determination of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine by a Monoclonal Antibody, Laboratory Investigation, Vol.76, No.3, 1997 pages 365 to 374, see Summary	1-11
Y	YIN, et al., Determination of 8-hydroxydeoxyguanosine by an immunofluorescence chromatography-monoclonal antibody-based ELISA, Free Radical Biology & Medicine, Vol.18, No.6 1995 pages 1023 to 1032, see Abstract	1-11
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 24 April, 2002 (24.04.02)	Date of mailing of the international search report 14 May, 2002 (14.05.02)	
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO2/03077	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ G01N33/53			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ⁷ G01N33/53			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公報実用新案公報 1971-2002年 日本国特許実用新案公報 1994-2002年 日本国実用新案登録公報 1996-2002年			
国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA, REGISTRY			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
Y1	SCHMIDT et al, AGEs induce oxidant stress in the gingiva, Journal of Periodontal Research, Vol.31, No.7, 1996, p508-515, see Summary, p512 "presence of AGEs and oxidant stress markers in human gingival tissues"	1-11	
Y2	TOYOKUNI et al, Quantitative Immunohistochemical Determination of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine by a Monoclonal Antibody, Laboratory Investigation, Vol.76, No.3, 1997 p365-374, see Summary	1-11	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に拠る文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 の日に後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 24.04.02		国際調査報告の発送日 14.05.02	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区蔵が岡三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 加々美 一恵	2 9408 電話番号 03-3581-1101 内線 3250

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO2/03077
C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y2	YIN, et al, Determination of 8-hydroxydeoxyguanosine by an immunoaffinity chromatography-monoclonal antibody-based ELISA, Free Radical Biology & Medicine, Vol. 18, No. 6 1995 p1023-1032, see Abstract	1-11

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	测试牙周病的方法		
公开(公告)号	JPWO2002079780A1	公开(公告)日	2004-07-22
申请号	JP2002577559	申请日	2002-03-28
[标]申请(专利权)人(译)	学校法人日本大学		
申请(专利权)人(译)	学校法人日本大学		
[标]发明人	菅野直之		
发明人	菅野 直之		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/50 G01N33/543 G01N33/569		
CPC分类号	G01N33/56955		
FI分类号	G01N33/53.S G01N33/50.G G01N33/543.511.A G01N33/543.515.A		
优先权	2001093700 2001-03-28 JP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了一种检查牙周疾病的方法，该方法包括以下步骤：使用抗8-羟基脱氧鸟苷抗体对从受试者的口腔收集的样品进行免疫测定，以定量8-羟基脱氧鸟苷。这样可以简单地检查牙周疾病。

