

# 唾液検査標準化に関する研究

花田信弘<sup>1</sup>、野村義明<sup>1</sup>、佐藤 勉<sup>2</sup>

<sup>1</sup>鶴見大学歯学部 <sup>2</sup>日本歯科大学

# 目 次

はじめに	1
歯周病検査導入の歴史	1
歯周病菌検査の問題点	1
ヘモグロビン検査	1
唾液ヘモグロビン検査の意味	2
唾液を検体とした歯周病スクリーニング	2
唾液による歯周病検診の意義	3
検査キットの条件	3
臨床検査会社の進出	4
栄研化学による唾液検査	4
アルフレッサ ファーマによる唾液検査	11
唾液ヘモグロビンの選択理由	18
診療室における唾液検査	18
検査会社および健診施設で用いる唾液ヘモグロビン検査キット	19
唾液ヘモグロビン検査キット1 (栄研化学株式会社)	19
唾液ヘモグロビン検査キット2 (アルフレッサ ファーマ株式会社)	20
唾液によるヘモグロビン測定検査の標準化に関する検討	20
方法1	20
方法2	31
方法3	36
唾液検査の保険導入における有用性	39
検査試薬の現状	40
検査会社の現状	40
検査費用の現状と医療保険導入の問題点	40
「唾液検査標準化に関する研究」の考察1 (診療室における診断補助)	41
「唾液検査標準化に関する研究」の考察2	41
唾液検査と問診アンケートの違い	41
結論	42
今後の展望	42
おわりに	43
付録	
唾液検体測定データ	44
唾液検査標準化に関する研究・発表論文	47

## はじめに

10年に渡る厚生労働科学研究、それに続く財団法人8020推進財団の指定研究を経て、ようやく唾液ヘモグロビン検査を中心に我が国において歯周病の予防と治療のための唾液検査体制が確立し、臨床の場に登場する運びになった。ここでは、唾液ヘモグロビン検査を確立するまでの歯周病検査の歴史を整理し、検査の標準化の研究について現状を紹介するとともに唾液検査の今後の展望について述べたい。

### 歯周病検査導入の歴史

歯周病菌の発見の後、1980年代にはモノクローナル抗体やDNA-DNAハイブリダイゼーションで唾液や歯肉溝浸出液から歯周病菌を検出する手法が開発された。更に、1987年には歯周病菌が分泌する酵素を検出する方法がミシガン大学歯学部でWalter Loesche教授らによって考案された。彼らは *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis* および *Bacteroides forsythus* の3菌が合成ペプチドの Benzoyl-DL-Arginine-Naphthyl Amide (BANA) を分解する事に着目して、BANA hydrolysis test を発表した (J Dent Res. 1987)。1990年代には物理化学的な遺伝子増幅法 (PCR法) が開発され、PCR法により歯周病菌を検出する事が可能になったが、検査価格が高いのが難点であった。2000年代に入ると、インベーター法が開発されPCR法よりもやや安価な検査が可能になった。更に、歯周病菌そのものの検査ではなく、歯周病菌に対する血清抗体価を測定する事も試みられている。

### 歯周病菌検査の問題点

歯周病菌の検査は技術的には飛躍的な向上を遂げた。しかし、歯周病菌は培養が容易ではないので、比較的価格が安い培養法による検査が困難である。そこで、遺伝子増幅法 (PCR法) による検査が必要になるが、この方法はDNA抽出などの操作が複雑であり、使用する試薬の価格も高い為に検査費用が高いという難点がある。また、歯周病菌を口腔内から除菌する方法が確立していないため、検査をしてもその対策が明確でないのが次の問題点である。歯周病検査の普及に先立って、その歯周病菌を口腔から除菌する手法を確立する必要がある。米国における PerioProtect<sup>®</sup>、わが国における Dental Drug Delivery System (3DS) のような本格的除菌システムが存在するので、除菌の手法を医療保険に導入することも考えられる。また、唾液検査をしてその歯周病菌を口腔内から除菌すると歯周病の進行が抑えられるという臨床疫学の根拠を示す必要がある。

### ヘモグロビン検査

ヘモグロビン (Hb) とは、赤血球に含まれている「ヘムたんぱく質」と呼ばれる成分で、赤血球の赤い色素成分でもあることから「血色素」とも呼ばれる。ヘモグロビンの役割は体内の酸素の運搬作業である。ヘモグロビンは肺に送られた酸素を受け取って血管を通して全身の

臓器に送り届ける働きをする。細胞内で代謝された二酸化炭素は、ヘモグロビンによって肺へ運ばれ、肺呼吸によって体外に排出される。このようにヘモグロビンが酸素の運搬作業を行えるのはヘムたんぱく質の主成分である「ヘム鉄」が酸素と結びつく性質をもっている為である。ヘムは酸素だけでなく、二酸化炭素とも結合する事ができる。ヘムは酸素と結合して赤色を呈し、二酸化炭素と結合すると赤黒い色を呈する。そのため酸素をたくさん含んでいる動脈血が鮮やかな赤い色をしているのに対し、二酸化炭素を含んでいる静脈血は赤黒い。

## 唾液ヘモグロビン検査の意味

唾液腺から分泌される唾液にヘモグロビンは含まれていない。唾液ヘモグロビン検査は歯肉に炎症を起こした歯肉溝浸出液中に微量ながら含まれる血液由来のヘモグロビンを検査する手法である（図1）。歯肉は歯面に蓄積するバイオフィルムの細菌刺激を受けて炎症状態に陥りやすい。唾液ヘモグロビンの量は、歯肉の炎症の程度を表している。しかし、口腔の炎症は歯肉炎、歯周炎に限らないことに注意しなければならない。また、鼻出血など鼻腔の炎症を唾液ヘモグロビンが反映することもある。

### 唾液ヘモグロビンの由来

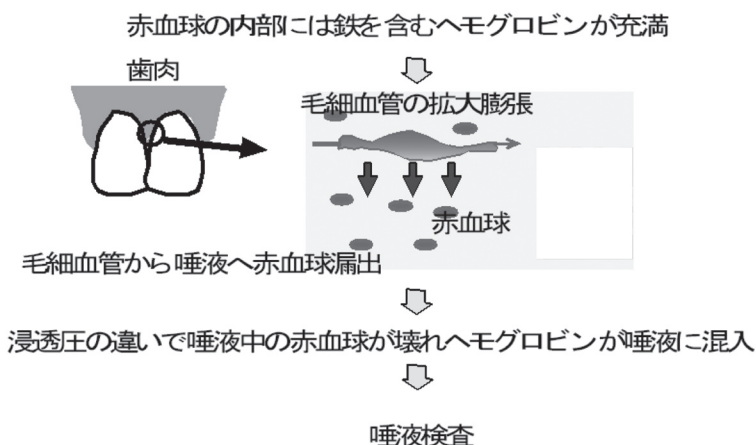


図1 唾液腺から分泌される唾液にヘモグロビンは含まれていない。歯肉炎あるいは歯周炎により歯肉溝浸出液中に微量ながら放出される血液由来のヘモグロビンを検出する。しばしば歯周病とは無関係な口腔あるいは鼻腔の炎症を反映することに注意しなければならない。

## 唾液を検体とした歯周病スクリーニング

唾液による歯周病検診とは、唾液を検体とした臨床検査による歯周病スクリーニングである。具体的には唾液中のヘモグロビン（Hb）および乳酸脱水素酵素（LDH）の濃度を指標として、これに問診スコアを加味して、重度歯周病（CPIコード3またはCPIコード4）患者のスクリーニング検査を実施する。歯周疾患は成人の約80%、推定9,000万人に蔓延する生活習慣病で、歯を喪失させる主な原因の1つである。ゆえに、この疾患についてはポピュレーション・ストラテジー（集団的方略）と疾病リスクの高い個人を直接ターゲットにするやり方（ハイリスク・



ストラテジー)の両方を実施する必要がある。

疾病リスクの高い個人を直接ターゲットにするやり方(ハイリスク・ストラテジー)には、集団に対するスクリーニング検査を行い、疾病リスクの高い個人を特定する必要がある。歯周病のスクリーニングでは確定診断手法である歯周プローブを用いたプロービングが集団検診に用いられている。確定診断手法である歯周プローブを用いたプロービングには、高いコストと長い検査時間が必要である。そのため歯周病検診の受診率は数パーセントであり、事実上、国内で歯周病スクリーニングは機能していない。この現状を打破するためには、非侵襲的かつ集団で適用できる唾液検査をスクリーニング検査に導入する必要がある。

## 唾液による歯周病検診の意義

唾液ヘモグロビンによる歯周病検診は、従来の歯科医師によるCPIによる検診よりも安価である。また、一斉に開始できるため、対象者が1名でも数百名でもほぼ同じ時間内に終了する。検診時の痛みや侵襲性もなく、非観血的でもあり、安心安全な検査である。結果が数値で示され、その数値に基づいたスクリーニングを実施することができる。唾液ヘモグロビンによるスクリーニング終了後は、かかりつけ歯科医によるハイリスクストラテジーの対策が取れる。以上のような利点が挙げられており、特定保健指導など新しい歯周病検診への導入が望まれる。

## 検査キットの条件

唾液検査は医療保険に導入して歯周疾患の診断補助に用いる目的と、特定保健指導など新しい成人歯科健診の質的な向上を計るスクリーニングに用いる目的を併せ持っている。この2つの目的を満たす唾液検査キットは薬事法その他の体外診断用医薬品の規制をクリアすることが前提条件になる。唾液検査など体外診断用医薬品に対する法的規制を表1に示す。

表1 唾液検査など体外診断用医薬品に対する法的規制

### 体外診断用医薬品の規制 主な薬事法関連法令

- 薬事法(<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S35/S35HO145.html>)
- 薬事法施行令(<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S36/S36SE011.html>)
- 薬事法施行規則(<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S36/S36F03601000001.html>)
- 薬局等構造設備規則(<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S36/S36F03601000002.html>)
- GQP(Good Quality Practice)  
医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器の品質管理の基準に関する省令(<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H16/H16F19001000136.html>)
- GVP(Good Vigilance Practice)  
医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器の製造販売後安全管理の基準に関する省令(<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H16/H16F19001000135.html>)
- QMS(Quality Management System)  
医療機器及び体外診断用医薬品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令(通常の医薬品のGMP基準に相当)  
(<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H16/H16F19001000169.html>)

体外診断用医薬品とは、疾病診断に使用する事が目的とされている医薬品のうち、身体に直接使用される事のないものを指す。唾液検査は、検体を採取後は身体に直接摂食する事なく、臨床検査所等で検査を行うので、体外診断用医薬品に該当する。図2に体外診断薬の定義を記載する。

## 体外診断用医薬品の定義

この法律で「医薬品」とは、次に掲げる物をいう。

1. 日本薬局方に収められている
  2. 人又は動物の疾病の診断、治療又は予防に使用されることが目的とされている物であつて、機械器具、歯科材料、医療用品及び衛生用品（以下「機械器具等」という。）でないもの（医薬部外品を除く。）
  3. 人又は動物の身体の構造又は機能に影響を及ぼすことが目的とされている物であつて、機械器具等でないもの（医薬部外品及び化粧品を除く。）
- （薬事法第2条第1項）



この法律で「体外診断用医薬品」とは、専ら疾病の診断に使用されることが目的とされている医薬品のうち、人又は動物の身体に直接使用されることのないものをいう。

（薬事法第2条第13項）

図2 体外診断用医薬品の定義

### 臨床検査会社の進出

薬事法その他の体外診断用医薬品の規制（表1）をクリアした唾液ヘモグロビン検査キットのうち、我が国の検査会社で使用しているものは、栄研化学株式会社による唾液検査キットとアルフレッサ ファーマ株式会社による唾液検査キットである。ここでは栄研化学が販売している唾液検査キットとアルフレッサ ファーマが販売している唾液検査キットをそれぞれ紹介する。

### 栄研化学による唾液検査

栄研化学株式会社（〒110-8408 東京都台東区台東4-19-9 TEL（代表）03（5846）3305）は、便潜血検査用試薬、「LZテスト‘栄研’HbAo」、「OC-ヘモディア<sup>®</sup>オートⅢ‘栄研’」及び「OC-ヘモディア<sup>®</sup>オートS‘栄研’」の使用目的の追加承認（唾液中のヘモグロビンの検出）を平成22年3月に得て、平成22年3月には一部剤型で、平成22年8月には全剤型で発売を開始している（栄研化学株式会社事業紹介より引用）。検査会社および健診施設では、BML（株式会社ビー・エム・エル、東京都渋谷区千駄ヶ谷五丁目21番3号）および岩手県予防医学協会（岩手県盛岡市永井14-42）等、複数の施設が栄研化学の唾液中のヘモグロビンの検出キット（図3～9）を使用している。

## \*\* 便潜血キット、ヘモグロビンキット

## OC-ヘモディア®オートⅢ '栄研'

## 【全般的な注意】

1. 本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的には使用できない。
  2. 診断は、本製品による検査結果のみで行わず、他の検査結果や臨床症状を考慮して総合的に判断すること。
  3. 添付文書に記載された内容に従い使用すること。それ以外の方法についての保証はできない。
  4. 使用する自動分析装置の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。
- \*\* 5. 便潜血測定のみを目的としている装置では唾液中のヘモグロビンの検出に本製品を用いることはできない。

## 【形状・構造等(キットの構成)】

1. ヘモグロビンラテックス乳液
  - 抗ヒトHb抗体感作ラテックス液\*1 20 vol%
2. 希釈液
  - HEPES\*2 11.92 mg/mL
  - \*1 抗ヒトHb抗体感作ラテックス液：抗ヒトヘモグロビンウサギポリクローナル抗体感作ラテックス液
  - \*2 HEPES：N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンサルホン酸

## \*\*【使用目的】

糞便中のヘモグロビンの測定又は検出(悪性腫瘍の診断補助等)又は唾液中のヘモグロビンの検出

## \*\*【測定原理】

本製品は、ラテックス凝集反応の免疫比濁法を測定原理としている<sup>1)~4)</sup>。ラテックス表面に結合させた抗ヒトヘモグロビンウサギポリクローナル抗体と検体中のヘモグロビンが反応し、ラテックス粒子は凝集する。この反応を所定の波長における濁度変化として捉えると、その変化量は検体中のヘモグロビンの濃度に比例して増加することから、既知濃度標準の検量線により検体中のヘモグロビン濃度が求められる。

## \*\*【操作上の注意】

## 1. 測定試料の性質・採取法

検体には糞便又は唾液を用いる。

## &lt;検体採取にあたっての注意&gt;

## (糞便検体)

- 1) 別売の当社指定の採便容器を用いて採便する。
- 2) 検体は新鮮なものをを用いる。
- 3) 検体は、採便棒で糞便の表面を幅広くこするか、又は5~6ヵ所を突き刺して採取する。
- 4) 採取した糞便が、採便容器内の緩衝液に十分懸濁したことを確認後、できるだけ速やかに検査する。
- 5) 糞便を採取した採便容器を室温で輸送する場合、3日以内に輸送する。
- 6) 輸送された後の検査はできるだけ速やかに行う。検査までに数日を要する場合は、採便容器のまま低温(2~10℃)に保存する。

## (唾液検体)

- 1) 唾液を採取する。
- 2) 採取した唾液を別売のOC検体希釈液を用いて21倍に希釈し、検体とする。
- 3) 検体は速やかに検査すること。やむを得ず検査までに数日を要する場合は検体を凍結して(-20℃以下)保存する。(凍結融解の繰り返しは避けること。)
- 4) 凍結保存した検体を使用する場合、室温にて融解後、転倒混和してから測定すること。

## 2. 妨害物質・交差反応性

ヒト以外の動物ヘモグロビンとはほとんど反応しない。

## (糞便検体)

ビリルビン(25mg/dL)、脂質(イントラリピッド0.6%)、アスコルビン酸(40mg/dL)、タンパク質(ウシ血清アルブミン2.5g/dL)、グルコース(4.0g/dL)及び硫酸バリウム(25mg/dL)について社内で検討した結果、測定値への影響は認められなかった。

## (唾液検体)

歯科用抗菌剤(ミノサイクリン0.4mg/mL)、ビタミンC(アスコルビン酸2.0mg/mL)、嗜好飲料(缶コーヒー、緑茶100vol%)、口腔洗浄液(25vol%)について社内で検討した結果、測定値への影響は認められなかった。

## \*\*【用法・用量(操作方法)】

## 1. 試薬の調製方法

- 1) ヘモグロビンラテックス乳液の準備  
ヘモグロビンラテックス乳液はそのまま使用する。

## 2) 希釈液の準備

希釈液はそのまま使用する。

## 2. 必要な器具・器材・試料等

- 1) サンプルカップ
- 2) 別売の標準(Hbキャリブレータ '栄研')
- 3) 別売の唾液検体用希釈液(OC検体希釈液)

## 3. 測定(操作)法

[OCセンサーDIANAに適用する場合]

- 1) ヘモグロビンラテックス乳液及び希釈液を装置の所定の位置にセットする。
- 2) パラメータを装置に入力する。
- 3) 標準とその希釈液(別売のHbキャリブレータ '栄研'のHbキャリブレータ希釈液 '栄研')をサンプルカップに分注し、装置の標準専用ラックにセットする。
- 4) 被検検体を分注したサンプルカップあるいは採便容器をそのまま装置の検体ラックにセットする。
- 5) 装置をスタートさせる。
- 6) 標準の希釈液で自動的に希釈された標準液35μLが反応セルに入る。
- 7) ラテックス乳液60μL及び希釈液300μLが同時に反応セルに入る。
- 8) 波長660nmで347秒間(T6-33)の吸光度変化量を測定する。
- 9) 同様に被検検体35μLが反応セルに入り、7)、8)の操作にて吸光度変化量を測定する。
- 10) 検量線から被検物質の濃度が求められる。
- 11) 測定終了後、結果がプリントアウトされる。  
上記の6)~11)の操作は装置により自動的に行われる。  
尚、詳細については取扱説明書を参照すること。

## &lt;測定にあたっての注意&gt;

- 1) ヘモグロビンラテックス乳液は、測定前に軽く転倒混和してから使用すること。
- 2) 希釈液は必ず本製品の希釈液を使用すること。他の製品(OC-ヘモディアオートS '栄研'等)の希釈液は使用できない。
- 3) 装置は使用前に十分に調整すること。
- 4) 検量線は測定毎にたてること。また、ラテックス乳液のボトルやロットが変わる場合には、必ず検量線をたて直すこと。
- 5) 標準は、別売のHbキャリブレータ '栄研'を使用すること。
- 6) 糞便検体での測定結果が、測定範囲を超える場合には、被検検体を別売のHbキャリブレータ '栄研'の希釈液で希釈すること。
- 7) 唾液検出の場合、21倍希釈後でも目視にて明らかに出血と確認できる検体については、別売のOC検体希釈液にて更に希釈すること。

図3 使用目的の追加承認(唾液中のヘモグロビンの検出)を受けた栄研化学の便潜血および唾液中のヘモグロビンの検出キット「OC-ヘモディア®オートⅢ '栄研」説明書の表側。



**\*\*【測定結果の判定法】**

あらかじめ作成した検量線と各検体の反応が相対的に比較され、ヘモグロビン濃度 (ng/mL) が求められる。

＜糞便測定＞

参考基準範囲

糞便 50 ng/mL 以下 [ 20 μg/g (糞便) ] 以下<sup>5)</sup>

なお、各検査施設の基準値は種々の要因で異なる可能性があるため、個々に適した基準範囲を設定することが望ましい。

＜糞便及び唾液検出＞

カットオフ値

糞便 50 ng/mL [ 10 μg/g (糞便) ]<sup>6)</sup>  
 唾液 400 ng/mL (21 倍希釈) [ 8.4 μg/mL (原液) ]<sup>6)</sup>

〔 相関性試験成績より求められたカットオフ値にて陰性・陽性を判定すると、従来法との高い一致率が得られる。 〕

**\*\*【性能】**

**1. 性能**

**1) 感度**

ヘモグロビン濃度 0ng/mL と 50ng/mL の標準液を測定するとき、両者の吸光度変化量の差は 0.002 以上である。

**2) 正確性**

(1) 濃度既知の管理検体を測定するとき、得られた値は表示値の ±15% 以内である。

(2) 陽性管理検体を試験するとき、陽性を示し、陰性管理検体を試験するとき、陰性を示す。

**3) 同時再現性**

(1) 同一検体を 10 回同時に測定するとき、得られた値の変動係数 (C.V.) は 10% 以下である。

(2) 陽性管理検体及び陰性管理検体を 5 回繰り返し試験するとき、それぞれ同一の結果を示す。

**2. 測定範囲**

50 ~ 1,000 ng/mL

[ 糞便での換算値 : 10 μg/g ~ 200 μg/g、

唾液での換算値 : 1.05 μg/mL ~ 21 μg/mL ]

( OC センサー-DIANA 使用 )

**3. 相関性試験成績**

**1) 他法との相関 (糞便測定)**

比較対照	例数	相関係数	回帰式
OC-ヘモディアオートII '栄研'	78	r=0.984	y=1.04x-16.5

( y : 本法 , x : 他法 )

**2) 他法との相関 (糞便検出) : カットオフ値 50 ng/mL**

OC-ヘモディアオートIII '栄研'	OCヘモキャッチ '栄研' (イムノクロマトグラフィー法)		陰性一致率	陽性一致率	判定一致率
	陰性	陽性			
陰性	77	2	92.8%	97.5%	95.1%
陽性	6	77			

OC-ヘモディアオートIII '栄研'	対照品A (イムノクロマトグラフィー法)		陰性一致率	陽性一致率	判定一致率
	陰性	陽性			
陰性	79	0	94.0%	100.0%	96.9%
陽性	5	78			

**3) 他法との相関 (唾液検出) : カットオフ値 400 ng/mL (21 倍希釈)**

OC-ヘモディアオートIII '栄研'	対照品B (イムノクロマトグラフィー法)		陰性一致率	陽性一致率	判定一致率
	陰性	陽性			
陰性	82	2	97.6%	96.2%	97.1%
陽性	2	51			

**4. 較正用基準物質に関する情報**

社内ヘモグロビン標準 ( シアンメトヘモグロビン法による含量設定 )

**【使用上又は取扱い上の注意】**

**1. 取扱い上 (危険防止) の注意**

- 1) 試料 (検体) は感染の危険があるものとして注意して取り扱うこと。
- 2) 感染を避けるため、検査時は使い捨て手袋を着用すること。
- 3) 口によるビベティングはしないこと。
- 4) 希釈液には、保存剤として微量のアジ化ナトリウムが含まれている。アジ化ナトリウムには毒性があるので、目や口に入らないよう、また皮膚に付着させないよう注意すること。
- 5) 試薬が誤って目や口、皮膚に付着したときは、直ちに大量の水で十分に洗い流し、必要があれば医師の指示を受けること。

**2. 使用上の注意**

- 1) 各試薬は指定の貯蔵方法で保存すること。
- 2) 使用期限を過ぎた試薬は使わないこと。
- 3) 試薬の継ぎ足しは、たとえ同一の製造番号でも行わないこと。
- 4) 本製品中の容器、付属品等を再利用又は他の目的に転用しないこと。

**3. 廃棄上の注意**

- 1) 試料 (検体) に接触した器具や廃液等は、次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 1,000ppm 以上、1 時間以上浸漬) 又はグルタルアルデヒド (2%, 1 時間以上浸漬) による消毒処理、あるいはオートクレーブ (121℃, 20 分以上) による滅菌処理を行うこと。
- 2) 検体が飛散した場合は、80%エタノール等で拭き取りと消毒を行うこと。
- 3) アジ化ナトリウムは、鉛管や銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成することがあるので、廃棄の際は大量の水と共に流すこと。
- 4) ヘモグロビンラテックス乳液及び希釈液の容器はポリエチレン (PE)、キャップはポリプロピレン (PP)、キットケースは紙を主たる材質としている。
- 5) 使用後の試薬や容器及び器具類は、医療廃棄物等に関する規定及び、水質汚濁防止法等の各種規制に従い、各施設の責任において処理すること。

**【貯蔵方法・有効期間】**

貯蔵方法 : 2 ~ 10℃

有効期間 : 1 年間

**【包装単位】**

製品名	包装単位
OC-ヘモディアオートIII '栄研' 希釈液	15 mL x 5
ヘモグロビンラテックス乳液	15 mL x 25
OC-ヘモディアオートIII '栄研' 希釈液	500 mL x 1
希釈液	500 mL x 4

**【主要文献】**

- 1) 竹下 俊隆, 他 : 大腸肛門誌, **38** : 780-783, 1985.
- 2) 岸 諒博, 他 : 機器・試薬, **25 (2)** : 97-101, 2002.
- 3) 福田 嘉明, 他 : 機器・試薬, **25 (2)** : 102-108, 2002.
- 4) 東塚 伸一, 他 : 機器・試薬, **25 (5)** : 466-470, 2002.
- 5) 南 義弘, 他 : 検査と技術, **19** : 845-849, 1991.

**\*\* 6) 社内資料**

**\* 【問い合わせ先】**

栄研化学株式会社 お客様相談窓口  
 フリーダイヤル ☎ 0120-308-421

**【製造販売業者の名称及び住所】**

栄研化学株式会社  
 \* 〒329-0114 栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地

\* 製造販売元  **栄研化学株式会社**  
 栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地

図 4 使用目的の追加承認 (唾液中のヘモグロビンの検出) を受けた栄研化学の便潜血および唾液中のヘモグロビンの検出キット「OC-ヘモディア® オートIII '栄研'」説明書の裏側。

\* 便潜血キット、ヘモグロビンキット

# OC-ヘモディア®オートS '栄研'

(OCセンサーio用)

## 【一般的な注意】

1. 本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的には使用できない。
  2. 診断は、本製品による検査結果のみで行わず、他の検査結果や臨床症状を考慮して総合的に判断すること。
  3. 添付文書に記載された内容に従い使用すること。それ以外の方法についての保証はできない。
  4. 使用する自動分析装置の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。
- \* 5. 便潜血測定のみを目的としている装置では唾液中のヘモグロビンの検出に本製品を用いることはできない。

## 【形状・構造等(キットの構成)】

1. ラテックス乳液  
抗ヒトHb抗体感作ラテックス液<sup>\*1</sup> 10 vol%
  2. 希釈液  
HEPES<sup>\*2</sup> 11.92 mg/mL
- \*1 抗ヒトHb抗体感作ラテックス液：抗ヒトヘモグロビンウサギポリクローナル抗体感作ラテックス液  
\*2 HEPES：N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸

## \* 【使用目的】

糞便中のヘモグロビンの測定又は検出（悪性腫瘍の診断補助等）又は唾液中のヘモグロビンの検出

## \* 【測定原理】

本製品は、ラテックス凝集反応の免疫比濁法を測定原理としている<sup>1)~4)</sup>。ラテックス表面に結合させた抗ヒトヘモグロビンウサギポリクローナル抗体と検体中のヘモグロビンが反応し、ラテックス粒子は凝集する。この反応を所定の波長における濁度変化として捉えると、その変化量は検体中のヘモグロビンの濃度に比例して増加することから、既知濃度標準の検量線により検体中のヘモグロビン濃度が求められる。

## \* 【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法  
検体には糞便又は唾液を用いる。

### < 検体採取にあたっての注意 >

- (糞便検体)
- 1) 別売の当社指定の採便容器を用いて採便する。
  - 2) 検体は新鮮なものをを用いる。
  - 3) 検体は、採便棒で糞便の表面を幅広くこするか、又は5~6ヵ所を突き刺して採取する。
  - 4) 採取した糞便が、採便容器内の緩衝液に十分懸濁したことを確認後、できるだけ速やかに検査する。
  - 5) 糞便を採取した採便容器を室温で輸送する場合、3日以内に輸送する。
  - 6) 輸送された後の検査はできるだけ速やかに行う。検査までに数日を要する場合は、採便容器のまま低温(2~10℃)に保存する。

### (唾液検体)

- 1) 唾液を採取する。
- 2) 採取した唾液を別売のOC検体希釈液を用いて21倍に希釈し、検体とする。
- 3) 検体は速やかに検査すること。やむを得ず検査までに数日を要する場合は検体を凍結して(-20℃以下)保存する。(凍結融解の繰り返しは避けること。)
- 4) 凍結保存した検体を使用する場合、室温にて融解後、転倒混和してから測定すること。

## 2. 妨害物質・交差反応性

ヒト以外の動物ヘモグロビンとはほとんど反応しない。  
(糞便検体)

ビリルビン(20mg/dL)、脂質(ホルマジン濁度2,240度)、アスコルビン酸(500 mg/dL)、タンパク質(ウシ血清アルブミン500 mg/dL)、グルコース(500 mg/dL)及び硫酸バリウム(100 mg/dL)について社内で検討した結果、測定値への影響は認められなかった。

### (唾液検体)

歯科用抗菌剤(ミノサイクリン 0.4mg/mL)、ビタミンC(アスコルビン酸 2.0mg/mL)、嗜好飲料(缶コーヒー、緑茶 100vol%)、口腔洗浄液(25vol%)について社内で検討した結果、測定値への影響は認められなかった。

## \* 【用法・用量(操作方法)】

### 1. 試薬の調製方法

- 1) ラテックス乳液の準備  
ラテックス乳液はそのまま使用する。
- 2) 希釈液の準備  
希釈液はそのまま使用する。

### 2. 必要な器具・器材・試料等

- 1) サンプルカップ
- 2) 別売の標準(Hbキャリブレータ・L '栄研')
- 3) 別売の唾液検体用希釈液(OC検体希釈液)

### 3. 測定(操作)法

[OCセンサーioに適用する場合]

- 1) ラテックス乳液及び希釈液を装置の所定の位置にセットする。
- 2) パラメーターを装置に入力する。
- 3) 標準とその希釈液(別売のHbキャリブレータ・L '栄研'のHbキャリブレータ希釈液 '栄研')をサンプルカップに分注し、装置の検体ラックにセットする。
- 4) 装置をスタートさせる。
- 5) 標準の希釈液で自動的に希釈された標準液 35µL が反応セルに入る。
- 6) ラテックス乳液 100µL 及び希釈液 200µL が同時に反応セルに入る。
- 7) 波長 660nm で 180 秒間の吸光度変化量を測定する。
- 8) 各標準液の反応より検量線が作成される。
- 9) 被検検体を分注したサンプルカップあるいは採便容器をそのまま装置の検体ラックにセットする。
- 10) 装置をスタートさせる。
- 11) 被検検体 35µL が反応セルに入り、6)、7)の操作にて吸光度変化量を測定する。
- 12) 検量線から被検物質の濃度が求められる。
- 13) 測定終了後、結果がプリントアウトされる。  
上記の5)~8)、11)~13)の操作は、装置により自動的に行われる。  
尚、詳細については取扱説明書を参照すること。

### < 測定にあたっての注意 >

- 1) ラテックス乳液は、測定前に軽く転倒混和してから使用すること。
- 2) 希釈液は必ず本製品の希釈液を使用すること。他の製品(OC-ヘモディアオートⅢ '栄研'等)の希釈液は使用できない。
- 3) 装置は使用前に十分に調整すること。
- 4) 検量線は測定毎にたてること。また、ラテックス乳液のボトルやロットが変わる場合には、必ず検量線をたて直すこと。
- 5) 標準は、別売のHbキャリブレータ・L '栄研'を使用すること。
- 6) 糞便検体での測定結果が、測定範囲を超える場合には、被検検体を別売のHbキャリブレータ・L '栄研'の希釈液で希釈すること。

図5 使用目的の追加承認(唾液中のヘモグロビンの検出)を受けた栄研化学の便潜血および唾液中のヘモグロビンの検出キット「OC-ヘモディア®オートS '栄研'」。





図6 栄研化学の唾液中のヘモグロビンの検出キット。

**正しい  
唾液の採取方法**

**注意事項**  
唾液採取前2時間は飲食、および歯磨きは避け、水で口をすすいでから行ってください！

---

**採取セット**

採取日○○ 氏名○○	液体入容器 (赤色ラベル)	空の容器 (青色ラベル)	ガム	コップ	スポイト	提出袋 氏名○○ 注意書き
採取日○○ 氏名○○						

ネームラベル

---

**操作手順**

(1) ネームラベルに氏名等を記入し、それぞれの容器に貼る。

(2) ガムを噛み、溜まった唾液をコップに出す。(およそ5分間)  
※ガムはコップに出さないでください。

(3) 右図のように、液体入容器(赤色ラベル)にスポイトを用いて唾液を1滴入れ、しっかりキャップをする。

(4) 空の容器(青色ラベル)に、残りの唾液を容器の半分程度まで入れて、しっかりキャップをする。

(5) 提出袋に氏名を記入し、2本の容器を入れて、すぐに提出する。

**※スポイトの使い方**

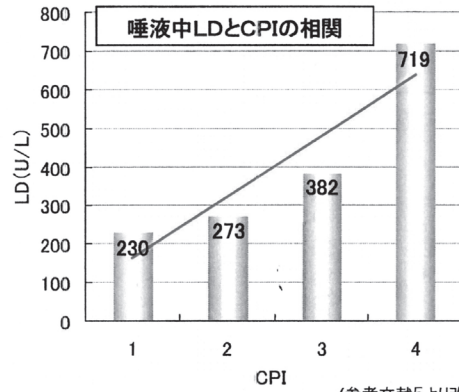
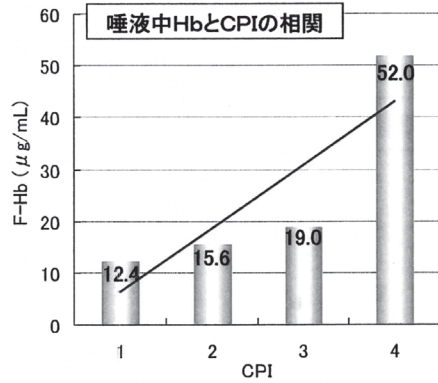
- 1) スポイトの真ん中を強くつまむ。
- 2) つまむ力を緩めると、唾液がスポイト内に吸い上げられる。  
※右図のように先端に少量だけ入ります。
- 3) 再度つまみ、1滴排出する。

図7 栄研化学の唾液中のヘモグロビンの検出キットの説明書。



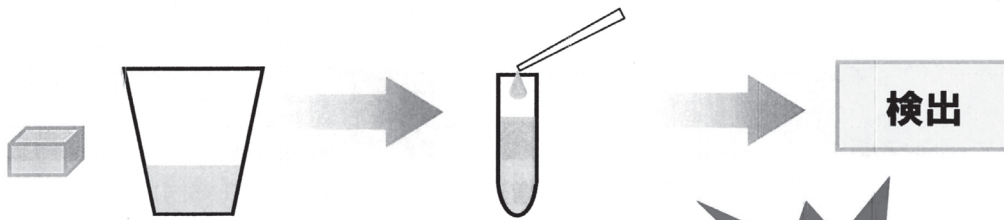
## 唾液検査の有用性

以下の項目に有効性が見出されている。  
LD(352U/L), ALP(850U/L), F-Hb(0.5mg/dL)<sup>4)</sup>



(参考文献5より改変)

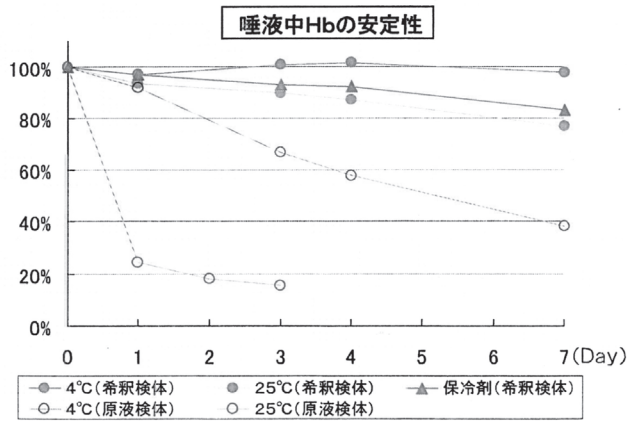
## 唾液Hb検査方法



5分間ガムを噛み、  
コップに唾液を溜める。

OC検体希釈液で  
21倍希釈する。

操作は  
簡単！



(社内データ)

### 【参考文献】

- 1) 野村義明 唾液検査の基本 唾液検査ハンドブック、ヒョーロン・パブリッシャーズ、2008
- 2) 勝村聖子 唾液検査を活用した歯周病集団検診の意義 唾液検査ハンドブック、2008
- 3) 鴨井久一 唾液検査の使い方と基準値 Preventive Periodontology 医歯薬出版、2007
- 4) 歯周疾患の予防、治療技術の評価に関する研究、厚生労働科学研究所研究費補助金(医療技術評価総合研究事業)平成14年度 総括・分担研究報告書
- 5) 稲葉 大輔 歯周病唾液検査の現状と展望 唾液検査ハンドブック、2008



 栄研化学株式会社

3045 AMK  
2010年4月作成

図8 栄研化学の唾液中のヘモグロビンの検出キット：市民向けの説明書。

# 歯周病検診個人票

〒020-8585

盛岡市永井14地割42番地

予防 太郎 様

04-00037-0000000029-0000009477

団体名：岩手県予防医学協会

健診者ID：123457

性別：男

生年月日(年齢)：昭和29年2月2日 (55)

受診番号：S 1

管理番号：04-00037-0000000029-0000009477

TEL：38-7185

検診年月日：平成22年4月1日

判定及び指示事項

C：歯周病が進行しており、治療を要する可能性があります。  
かかりつけの歯科医療機関を早めに受診して、精密な検査と必要に応じた処置を受けられるようお勧めします。

歯科を受診する際は、必ず本票を持参して、かかりつけ歯科医にご提示ください。

[判定基準] A：異常なし B：要指導 C：要医療

検査結果は下記のとおりです。

検査項目	基準範囲	検査結果	判定
出血検査(ヘモグロビン)	1.6以下	11.5 $\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}}$	c
炎症検査(乳酸脱水素酵素)	270以下	217 $\frac{\mu\text{L}}{\text{L}}$	a
問診スコア	30以下	47点	c

## お問合せ

イー歯トープ 8020

社団法人 岩手県歯科医師会

〒020-0045 盛岡市盛岡駅西通2丁目5-25

TEL (019) 621-8020

FAX (019) 654-5474

## 健診機関



あなたと共に健康づくり

よぼういがく協会

岩手県予防医学協会

この検診システムは岩手県歯科医師会が担当しています。

また、検診は岩手県予防医学協会が実施しています。

図9 栄研化学の試薬を用いた岩手県予防医学協会の唾液検査説明書。

## アルフレッサ ファーマによる唾液検査

アルフレッサ ファーマ株式会社（〒540-8575 大阪市中央区石町二丁目2番9号  
TEL 06-6941-0300（代）FAX 06-6947-1548）は、唾液中ヘモグロビン測定試薬『ネスコー  
ト サリバヘモ Plus』を開発している（図10～15）。検査会社では、四国中検（香川県綾  
歌郡綾川町畑田3322 代表 TEL：（087）877-0111）およびSRL（株式会社エスアールエ  
ル〒163-0409 東京都新宿区西新宿二丁目1番1号 電話：03（6279）0900（大代表））が  
アルフレッサ ファーマ株式会社の検査試薬を使用している。



図10 アルフレッサ ファーマの唾液中のヘモグロビンの検出キット。

### 唾液採取セット(サンプル)

<p>&lt;内容&gt; 唾液採取容器(空容器):1本 唾液希釈容器(液入り):1本 スポイト:1本 サリバガム:1個</p> <p>&lt;唾液のとり方&gt; ①サリバガムを5分間噛み、唾液をためます。 ②唾液採取容器に唾液を吐き出します。 ③スポイトで唾液を取ります。(一番上の線まで) ④唾液を唾液希釈容器に入れます。</p> <p>&lt;提出&gt; 唾液採取容器と唾液希釈容器の両方を提出してください。</p> <p>アルフレッサファーマ株式会社 診断薬推進部 〒540-8575 大阪市中央区石町二丁目2番9号 電話:06-6941-0308</p>	<p>&lt;保存方法&gt; ・採取前:室温保存 ・採取後:冷蔵保存</p> <p>使用期限:2011.7 製造番号:CN01</p>
--	--

図11 アルフレッサ ファーマの唾液中のヘモグロビンの検出キットの説明書。



# ネスコート® サリバヘモ® Plus

免疫学的唾液中ヘモグロビン検出用

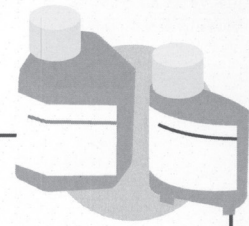


- ▶ **一般的名称** ヘモグロビンキット
- ▶ **使用目的** 唾液中ヒトヘモグロビンの検出
- ▶ **包装単位** 600回
- ▶ **貯蔵方法** 2～8℃保存
- ▶ **有効期間** 12箇月  
(使用期限は外装に記載されています。)

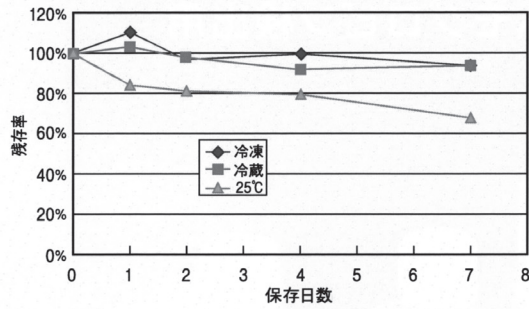
® 登録商標

アルフレッサファーマ株式会社

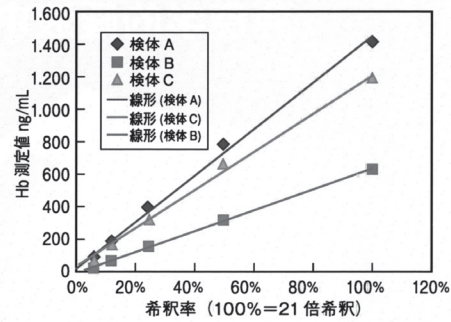
図 12 唾液中ヘモグロビン測定試薬『ネスコート サリバヘモ Plus』のリーフレット。表側。



### 唾液溶解液中のHbの安定性



### 希釈直線性



### 同時再現性

検体 1	検体 2	検体 3	検体 4	検体 5	
125	317	470	822	1,446	
127	323	497	784	1,378	
123	318	499	824	1,346	
135	327	500	850	1,431	
125	313	512	843	1,385	
122	326	519	827	1,435	
124	332	507	811	1,368	
128	312	520	820	1,410	
124	311	511	852	1,376	
平均	125.9	319.9	503.9	825.9	1397.2
S D	3.66	7.03	14.33	19.96	32.59
CV(%)	2.9	2.2	2.8	2.4	2.3

### 添加回収試験

	200ng/mL 添加	400ng/mL 添加
検体 1	107%	98%
検体 2	103%	99%
検体 3	111%	101%
検体 4	100%	104%
検体 5	101%	107%
検体 6	97%	98%
検体 7	100%	101%
検体 8	99%	97%
検体 9	97%	92%
検体 10	101%	99%
平均	102%	100%

(社内データ)

資料請求先：アルフレッサ ファーマ株式会社 診断薬推進部 〒540-8575 大阪市中央区石町二丁目2番9号 TEL 06-6941-0308 FAX 06-6941-4861

製造販売元 **alfresa** アルフレッサファーマ株式会社  
大阪市中央区石町二丁目2番9号 〒540-8575

2012.1.5(1)(B)-1  
2012年1月作成

図 13 唾液中ヘモグロビン測定試薬『ネスコート サリバヘモ Plus』のリーフレット。裏側。



ヘモグロビンキット  
免疫学的唾液中ヘモグロビン検出用  
**ネスコート® サリバヘモ Plus®**  
金コロイド比色法

この添付文書をよく読んでから使用して下さい。

## 【一般的な注意】

1. 本製品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないで下さい。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断して下さい。
3. 添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。
5. 本製品には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれていますので、誤って目や口に入れたり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。

## 【形状・構造等(キットの構成)】

R1緩衝液	43mL
緩衝剤他	
R2金コロイド液	13mL
金コロイド標識抗ヒトヘモグロビンポリクローナル抗体(ウサギ)	267 $\mu$ L/mL

## 【使用目的】

唾液中ヒトヘモグロビンの検出

## 【測定原理】

金コロイド標識抗ヒトヘモグロビンポリクローナル抗体(ウサギ)を唾液中のヒトヘモグロビンと反応させると、抗原抗体反応により金コロイド粒子が凝集して色調変化を生じます。この色調変化を光学的に測定することにより、唾液中のヒトヘモグロビン濃度を求めた後、判定基準に照らし陰性、陽性の別を判定します。

## 【操作上の注意】

## 1. 測定試料の性質

- 1) 唾液は新鮮なものを使用して下さい。
- 2) 飲食又は歯磨き後2時間以上経過して採取した検体を使用して下さい。
- 3) 唾液は唾液採取容器に採取して溶解し、検体として下さい。
- 4) 被検測定試料は唾液採取後すみやかに検査を実施して下さい。測定試料をやむを得ず保管する場合は冷所保存(2~8℃)して下さい。
- 5) 検出範囲の上限を超える検体は、ネスコートヘモPlus検体希釈液(弊社取扱いで)希釈した後、再測定して下さい。

## 2. 試料の採取法

口腔内に唾液を溜め、コップ等に採取します。

## 3. 妨害物質など

- 1) コーヒー、お茶、殺菌剤等を配合した口腔洗浄剤[各10%(v/v)]、アスコルビン酸(100,000ng/mL)でほとんど影響がありません。
- 2) ヒト以外の動物ヘモグロビン(ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ウサギ)とはほとんど反応しません。

## 【用法・用量(操作方法)】

## 1. 使用液の調製方法

- 1) R1緩衝液 : そのまま使用します。  
開封後は密封冷蔵保存(2~8℃)し、1ヶ月以内で使用して下さい。
- 2) R2金コロイド液 : そのまま使用します。  
開封後は密封冷蔵保存(2~8℃)し、1ヶ月以内で使用して下さい。また測定前に十分転倒混和して下さい。

## 2. 操作方法

## 1) 検体の準備

試料の採取法に従い採取した唾液を唾液溶解液(弊社取扱いで)で20倍希釈し検体とします。

## 2) 測定

- (1) 検体15 $\mu$ LにR1緩衝液200 $\mu$ Lを加え、この液にR2金コロイド液50 $\mu$ Lを加えて混和し、反応開始直後と約5分後に主波長450~570nm、副波長650~750nmでの吸光度を測定し、2点間の吸光度変化量を求めます。(ヘモテクトNS-Plus Cで測定する場合は、別途お問い合わせ下さい)
- (2) ネスコートヘモPlus標準(弊社取扱い)等を検体と同様に操作し、標準曲線を作成します。これと検体の吸光度変化量を比較して検体中のヘモグロビンを検出します。

## 【測定結果の判定法】

検体の吸光度変化量が、ヘモグロビン濃度500ng/mLの吸光度変化量以上の場合を陽性とし、ヘモグロビン濃度500ng/mLの吸光度変化量未満の場合を陰性としします。

## 【性能】

1. 感 度 : ヘモグロビン0ng/mLの1分間当たりの吸光度変化量は0.035以下  
ヘモグロビン200ng/mLと0ng/mLの1分間当たりの吸光度変化量の差は0.020~0.120
2. 正 確 性 : 管理用陰性検体を検体として測定するとき、陰性  
管理用陽性検体を検体として測定するとき、陽性
3. 同時再現性 : 同一検体を同時に5回測定するとき、同一の結果
4. 検出範囲 : 最小検出感度20ng/mL
5. 相 関 性 : 本品と比較対照品との相関

		比較対照品		
		陽性	陰性	合計
本品	陽性	25	0	25
	陰性	2	32	34
	合計	27	32	59

一致率 : 96.6%

## 【使用上又は取扱い上の注意】

1. 検体中にはHBV、HCV、HIV、細菌等の病原体が存在する可能性がありますので、感染予防のため取扱いに注意して下さい。また、検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等は感染の危険性があるものとして廃棄物処理法等に従い適切な処理を実施して下さい。
2. 試薬は貯蔵方法に従って保存し、使用期限の過ぎたものは使用しないで下さい。
3. 標準及び検体希釈液は、所定の製品を使用して下さい。
4. R2金コロイド液は保存中、金コロイドが沈殿する可能性がありますので、必ずよく転倒混和した後に使用して下さい。
5. R1緩衝液とR2金コロイド液は、必ず同じ製造番号のものを組み合わせて使用して下さい。異なる製造番号の試薬を混合して使用しないで下さい。また、製造番号が同じであっても異なるボトルの試薬どうしを混合しないで下さい。
6. 試薬容器、付属品等は当検査以外の目的に転用しないで下さい。
7. 廃棄上の注意
  - 1) R2金コロイド液には、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム銅(II) 0.22g/L(銅として30mg/L)を含有しますので、廃液は水質汚濁防止法(銅含有量許容限度 : 3mg/L)等関連法規に従って処理して下さい。
  - 2) 本品にはアジ化ナトリウムが含まれており、鉛、銅等の重金属と反応して、爆発性のアジ化物を形成することがあります。廃棄するときは、アジ化物が形成されないように大量の水で洗い流して下さい。
  - 3) 試薬及び容器等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理して下さい。

図 14-1 唾液中ヘモグロビン測定試薬『ネスコート サリバヘモ Plus』の添付文書①



## ネスコート・サリバヘモPlus

### 【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法：2～8℃保存
2. 有効期間：12箇月  
(使用期限は外装等に記載)

### 【包装単位】

600回  
1200回

### 【主要文献】

1. 勝村聖子, 他：「唾液検査を活用した歯周病集団検診の意義」, 唾液検査ハンドブック, p.106～108
2. 奥 弘文, 他：「唾液検査による歯周病スクリーニング」, 香川県検査医学会

### 【問い合わせ先】

アルフレッサ ファーマ株式会社  
〒540-8575 大阪市中央区石町二丁目2番9号  
TEL 06-6941-0308 FAX 06-6941-4861

図 14-2 唾液中ヘモグロビン測定試薬『ネスコート サリバヘモ Plus』の添付文書②

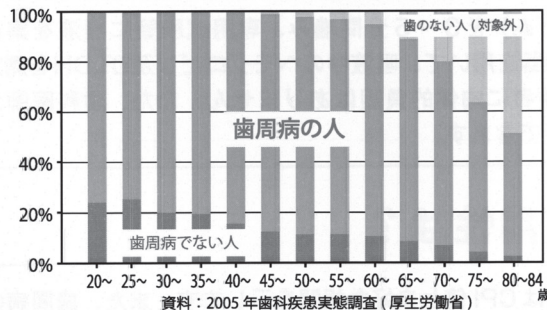
# 歯周病って何??



## ◎ 歯周病って何?

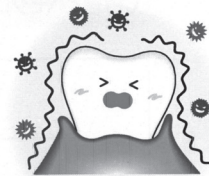
歯周病は、歯を支える歯肉や骨の病気です。歯の表面にいる細菌による感染症の一種です。かつては「歯槽膿漏」と呼ばれていました。現在、日本人の成人の約80%が歯周病に罹っているといわれています。

### ■ 歯周病の有病率

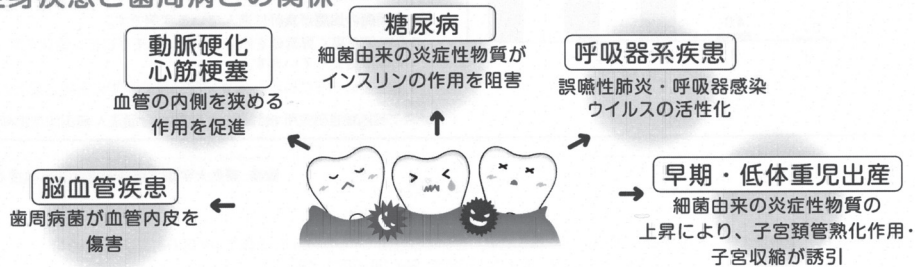


## ◎ なぜこわい?

歯周病（歯肉炎と歯周炎）が進行すると、歯がぐらぐらし、最後には抜け落ちてしまいます。一度失った歯は二度と元に戻りません。歯周病は脳血管疾患、動脈硬化、心筋梗塞、糖尿病、呼吸器系疾患、早期・低体重児出産などの関わりも指摘されています。



### ■ 全身疾患と歯周病との関係



アルフレッサファーマ株式会社

図 15 唾液中ヘモグロビン測定試薬『ネスコート サリバヘモ Plus』の患者啓発用リーフレット。



## ◎ その検査は？

歯周病の集団検診検査は、主に CPI (Community Periodontal Index) という方法で行われています。プローブを歯茎に差し込み歯周ポケットの深さを測定します。この方法は被験者に肉体的負担がかかり、また、検査に時間がかかります。そこで唾液中のヘモグロビン及び LDH (乳酸脱水素酵素) を測定する方法が注目されています。歯周病が進行すると歯肉の組織から出血があり、ヘモグロビンが上昇します。また、歯周組織が炎症をおこしますので、LDH も上昇します。

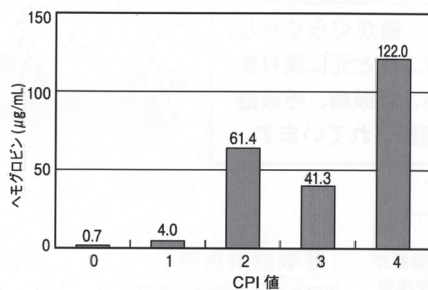
## ◎ 唾液中ヘモグロビン・LDH どんな検査？

検査専用のガム (無糖ガム) を 3~5 分間噛み、専用試験管に唾液を集めます。その唾液を分析機器を用いて、唾液中のヘモグロビン及び LDH を測定します。ですから、被験者に肉体的負担はありません。また、歯科医師がいなくても簡単に検査ができます。

## ◎ 唾液検査の有用性は？

唾液中のヘモグロビン値は CPI 値と良好な相関を示します。また、歯周病の治療予後が良好であれば、低値 (正常値) になります。

CPI 値とヘモグロビン平均値との相関



治療効果の判定に有効

No.	性別	年齢	ヘモグロビン (µg/mL)		CPI 値
			測定値	判定	
1	女	65	0.46	正常	3
2	男	43	0.48	正常	3
3	女	45	0.56	正常	3
4	男	70	1.06	正常	4

- 歯周病の治療が良好に進んでいる症例です。
- CPI 値が高く異常値を示しますが、ヘモグロビン値は正常であり炎症は治まっています。
- 治療後のヘモグロビン値は治療効果の判定に有効と思われる。

メスブ細胞検査研究所 検討データ (協力: 社団法人 豊田加茂歯科医師会)

監修: 鶴見大学 歯学部探査歯学講座 教授 花田 信弘 先生

資料請求先: アルフレッサ ファーマ株式会社 診断薬推進部 〒540-8575 大阪市中央区石町二丁目2番9号  
TEL 06-6941-0308 FAX 06-6941-4861

製造販売元 **alfresa** アルフレッサファーマ株式会社  
大阪市中央区石町二丁目2番9号 〒540-8575

2012.1.10(1)(B)-1  
2012.04.18現在

図 16 唾液中ヘモグロビン測定試薬『ネスコート サリバヘモ Plus』の患者啓発用のリーフレット。裏側。



## 唾液ヘモグロビンの選択理由

唾液検査を行うためには、薬事用に基づいた体外診断用医薬品の薬事規制を通過することが求められる。歯周病の検査において提案されている検査の多くは体外診断用医薬品の薬事規制を通過していないため、未承認のまま医療保険へ導入することは困難である。このような検査は研究段階に止まり、臨床に出す事は難しい。一例を挙げるとこれまでの厚生労働科学研究で乳酸脱水素酵素（LD, LDH）は検査項目として役立つ事が明らかにされているが、体外診断用医薬品の薬事規制を通過した乳酸脱水素酵素測定試薬が存在しないので主要な検査として用いることができない。一方、唾液ヘモグロビン検査には、薬事規制を通過した検査キットが複数ある。そのうち1つはチェアサイドの定性検査、他は検査会社で用いる定量検査である。ヘモグロビンや乳酸脱水素酵素以外の検査項目や唾液ではなく歯肉溝滲出液を使うことの有効性も検討されているが、未承認のまま医療保険で使用することはできないのが難点である。また、未承認医薬品を薬事法に基づいた体外診断用医薬品の薬事規制を通過するまでには長い年月と膨大な研究資金が必要であるため、個々数年で認可される見通しがたたない。そこで、唾液ヘモグロビンを第一選択にあげるのは当然である。現実的な解決方法は唾液ヘモグロビン検査を必須検査項目にして、他の優れた検査項目をオプションに位置づけることである。

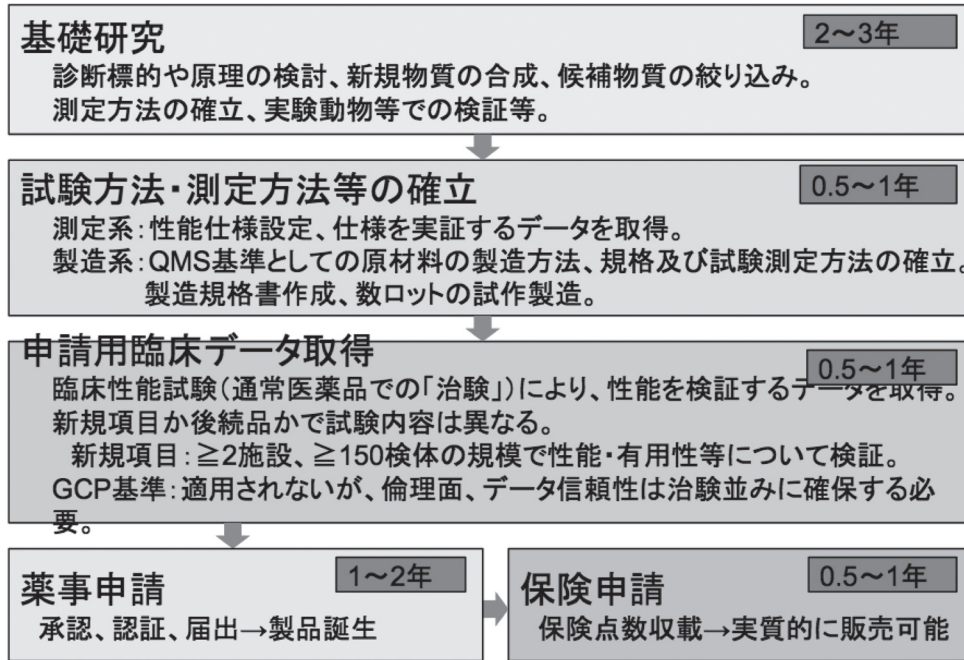
## 診療室における唾液検査

歯周疾患の予防と治療を目的とする唾液検査は診療室における診断補助として活用するのが第一の目的である。歯周疾患の予防と治療を目的とする検査には、歯肉溝浸出液を検体にする方法もあるが、体外診断用医薬品の承認を得たものはいまのところ存在しない。

これに対して、唾液検査では唾液ヘモグロビンが既に体外診断用医薬品の承認を得て発売されている。このため、歯科検査の保険導入を図る際には、唾液ヘモグロビンを指標にした唾液検査が最右翼だと考えられる。体外診断用医薬品の承認を受けていない検査手法は、唾液ヘモグロビンによって安定した歯科検査の市場ができてから検討すべき事項であろう。なぜなら、これから新たに体外診断用医薬品の承認を受けようとする長い年月と膨大な研究開発資金が必要だからである（図17）。

唾液ヘモグロビンを指標にした唾液検査が歯科医療の現場で普及するようになれば、研究開発資金の投資を受けることも可能だが、歯科検査の市場が育っていない我が国の状況では、新たな診断薬が体外診断用医薬品の承認を受ける事はきわめて困難である。

# 体外診断用医薬品開発のプロセス



文部科学省橋渡し研究支援推進プログラム 薬事専門家連絡会

図 17 体外診断用医薬品が保険に収載されるまでの約 5 年の流れ (文部科学省橋渡し研究支援推進プログラム薬事専門家連絡会資料より抜粋)

## 検査会社および健診施設で用いる唾液ヘモグロビン検査キット

本研究では検査会社および健診施設で用いる事ができる唾液ヘモグロビン検査キットを販売している栄研化学株式会社とアルフレッサ ファーマ株式会社の 2 種類の検査キットについて、標準化に関する研究を実施したので報告する。

### 唾液ヘモグロビン検査キット 1 (栄研化学株式会社)

栄研化学株式会社が製造・販売している体外診断用唾液ヘモグロビン検査キット (OC ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ ‘栄研’) の概要について栄研化学株式会社の公表データを掲載する。

構成試薬 1. ラテックス乳液: 抗ヒト唾液ヘモグロビン (Hb) 抗体感作ラテックス液 10vol% 2. 希釈液 HEPES (N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸) 11.92mg/mL (抗ヒトヘモグロビンウサギポリクローナル抗体感作ラテックス液)

使用目的: 糞便中のヘモグロビンの測定又は検出 (悪性腫瘍の診断補助等) 又は唾液中のヘモグロビンの検出。

測定原理: OC ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ ‘栄研’は、ラテックス凝集反応の免疫比濁法を測定原理としている。ラテックス表面に結合させた抗ヒトヘモグロビンウサギポリクローナル抗体と検体中のヘモグロビンが反応し、ラテックス粒子は凝集する。この反応を所定の波長における濁度変化として捉えると、その変化量は検体中のヘモグロビンの濃度に比例して増加することから、既知濃度標準の検量線により検体中のヘモグロビン濃度が求められる。

## 唾液ヘモグロビン検査キット2 (アルフレッサ ファーマ株式会社)

唾液中ヘモグロビンの検査は、出血の有無を検出することにより、歯周病の検査に利用されている。

### 【方法】

金コロイド凝集法。

### 【検体の種類】

専用のガムを噛んで出てきた唾液を、専用の溶解液に溶かしたものを検体として使用する。

### 【原理】

金コロイド標識ヒトヘモグロビンポリクロナール抗体を、唾液中のヒトヘモグロビンと反応させると、抗原抗体反応により金コロイド粒子が凝集して色調変化を生じる。この色調の一定時間の変化を光学的に測定することにより、唾液中のヒトヘモグロビン量を測定する。

## 唾液によるヘモグロビン測定検査の標準化に関する検討

歯周疾患検査は視診、触診、X線による検査等を主体とした形態検査により、診断、予後判定、スクリーニングが行われてきた。特にスクリーニングにおいては集団健診の場への歯科医師派遣のコストをはじめとする検査の効率が大きな課題である。その点で唾液検査によるスクリーニングでは、一定時間で大量の検査が可能であること、検査コストが比較的安価なことなどから唾液による歯周病のスクリーニングに関する研究が厚生労働科学研究により実施されてきた。その結果、唾液中のヘモグロビン (Hemoglobin : Hb)、乳酸脱水素酵素 (lactase dehydrogenase : LD) の測定により口腔内の炎症の状態が把握でき、歯周病のスクリーニングに有用であることが明かとなり、すでに集団健診で実用化されている。

歯科における唾液検査は、う蝕のリスク検査として刺激唾液中のミュータンスレンサ球菌、乳酸桿菌の測定を中心に行われてきた経緯から唾液採取方法が確立されている。唾液中に存在するバイオマーカーの生化学検査や歯周病菌の検査においてもこの方法が踏襲されてきた。しかし、この唾液採取方法はあくまで菌を培養により検査する方法であり、唾液中の生化学物質を測定するために適した方法である確証がない。現在、薬事法の承認を得ている唾液中のバイオマーカーを測定する試薬として唾液中のヘモグロビンを測定する検査キットを販売している臨床検査試薬メーカーは2社のみである。そこで今回、金コロイド比色法を用いたネスコートサリバヘモ Plus (アルフレッサ ファーマ)、ラテックス凝集反応の免疫比濁法を用いた OC-ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ (栄研化学) の2種類を用い、従来の唾液採取方法を今回新たに得たデータおよび過去に厚生労働科学で行われたデータから再検討し、唾液によるヘモグロビン測定検査の標準化に関する検討を行った。

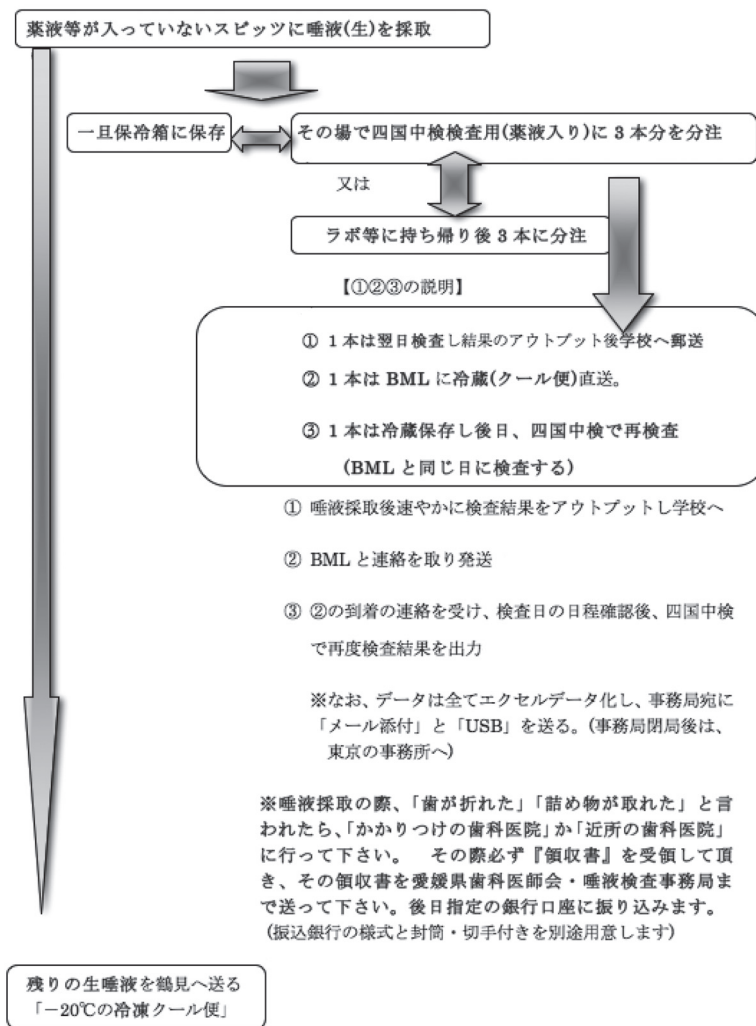
### 【方法1】

#### 検体

今回の調査研究では、愛媛県歯科医師会、四国中検、栄研化学、アルフレッサ ファーマの協力により得られた検体を用いた。唾液検体の提供対象者は愛媛県立高等学校教職員である。



愛媛県での事業実施説明資料と流れ図を下記に示す。



## 今回実施する唾液検査の説明(愛媛県歯科医師会館における説明会、報告会資料の一部)

### 唾液検査の背景

唾液検査は10年以上にわたる厚生労働科学研究の成果です。

唾液中のヘモグロビン、乳酸脱水素酵素(LD)の量は口腔内の炎症を表しています。

### 唾液検査が導入されると

人間ドックや内科医が唾液検査で歯周病のスクリーニングを行ってくれると、そこから患者さんが歯科診療所へ紹介されるようになります。

### 唾液検査が保険導入されると

歯科診療所で唾液検査値の再現性を確認することができます。

現在は歯科診療所と臨床検査センターとのつながりはほとんどありません。この唾液検査を皮切りに歯科診療所と臨床検査センターとのつながりが構築されれば新しい検査が開発された

ときに容易に検体を検査センターに送り検査結果が得られるようになります。

### **唾液検査の利点**

唾液検査では口腔内を診察することなく、口腔内の状況が把握できるため、歯周病健診が歯科医師がいない状態でもできるようになります。

#### **・・・今回の事業に関して・・・**

今回の事業は 8020 推進財団の研究費で行われています。

### **もし検査結果を持った患者さんが来院したら。**

検査値の判定基準を見て、検査値が高い値であれば、口腔内の炎症、口腔内からの出血を疑ってください。多くの場合は歯周病です。ドライマウスや智歯周囲炎でも検査値が高くなる可能性があります。また、診療は通常通りの保険診療で歯周病等の診療を行ってください。

### **今回の事業でインレーの脱落や義歯破損の患者さんが来院したら**

通常通りの診療で保険請求してください。患者さんの負担分は最終的に研究費から支払われます。

---

## **唾液採取方法**

無糖、無香料のガムベースを 3 分間または 5 分間咀嚼することにより刺激唾液を採取した。

## **唾液中ヘモグロビンの測定方法**

現在、薬事法による承認を得ている唾液中のヘモグロビンを測定する検査キットである金コロイド比色法を用いたネスコート サリバヘモ Plus (アルフレッサ ファーマ)、ラテックス凝集反応の免疫比濁法を用いた OC-ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ (栄研化学) の 2 種類を使用した。ともに専用の測定機器である潜血検査用の自動分析装置 (HemoTecht-NS-Plus、アルフレッサ ファーマ)、(OC センサー DIANA、栄研化学) で測定を行うキットである。

測定は唾液を軽く攪拌しそれぞれの唾液ヘモグロビン (Hb) 測定用希釈液で 21 倍に希釈し測定を行った。

## **検体の保存条件**

採取した唾液は採取直後から測定時まで 4℃ に保存した。今回の研究では唾液採取当日の測定として、採取当日に検査センターに運搬しその直後に測定を行った。また、各地域の検査センターで測定できない場合を想定し、4℃ で 2 日間保存した状態で測定したもの、さらに実際に愛媛県松山市から埼玉県川越市まで 4℃ で保存して輸送する条件で測定を行った。

## 唾液採取時間の検討

無糖ガムベースを5分間咀嚼する間に1分間ごとに唾液を回収しそれぞれに対して唾液中ヘモグロビンの測定を行った。

## 分析方法

唾液中のHbの測定は免疫反応を利用し、標準物質を段階希釈し検量線を作製して測定値を算出する。そのため、検量線の信頼限界を超えた検体に対しては検体をさらに希釈し再測定し検査値を算出する。今回の調査では、相関図、回帰直線の作製に関しては再希釈という人為的な誤差を避けるため検量線の直線性が担保されている10 $\mu$ g/ml以下の検査値のデータのみを使用した。相関図、回帰直線の作製以外の分析には全てのデータを使用した。また、対応のある検定にはWilcoxon符号検定を用いた。

## ● 結果 .....

### 検体希釈液による唾液ヘモグロビンの安定性に関する検討

検体希釈液には唾液ヘモグロビンを安定させる薬剤が含有されている。希釈後の唾液ヘモグロビンの安定性を検討した結果、4 $^{\circ}$ Cであれば7日後でもほぼ100%唾液ヘモグロビンが安定な状態にあり、25 $^{\circ}$ C（室温）であっても80%の唾液ヘモグロビンが安定な状態であった。しかし、希釈を行わない場合、25 $^{\circ}$ C（室温）では1日でその活性は20%まで低下した。この結果から唾液採取後は迅速に希釈を行い、唾液ヘモグロビンを安定化させる必要がある（図17）。

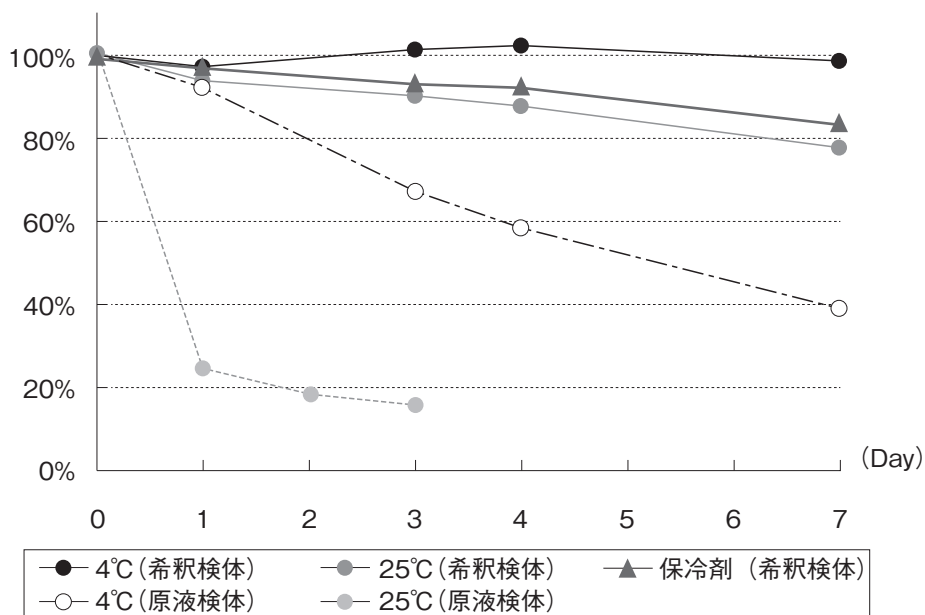
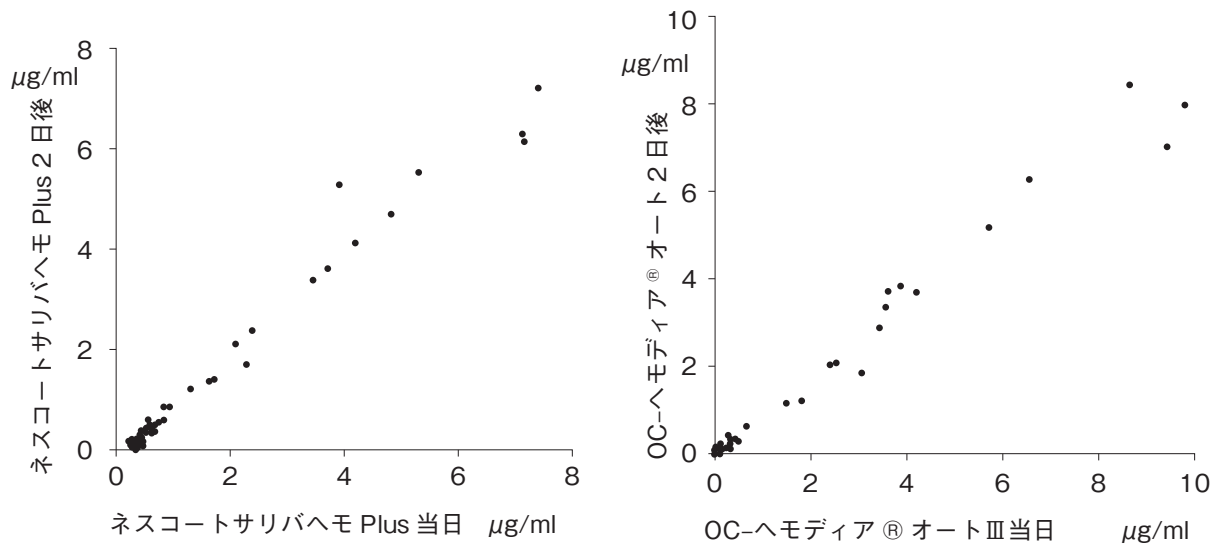


図18 希釈後の唾液中Hbの安定性（栄研化学社内資料、栄研化学のご好意による）

## 唾液の保存状態に関する検討

日本全国に検査センターが存在するものの、全ての検査会社が唾液中のヘモグロビンを測定できるわけではない。しかし、検査会社間のネットワークが充実しているため、検体の測定が不可能な場合、他の検査センターに委託することによって検体の処理を行っている。検体の測定が検査当日に実施できない可能性および検体の輸送による影響が考えられるため、検体採取当日および検体採取2日後に測定を行いその検査値の変化を検討した。唾液検体は採取後4℃に保存し、当日の検査直前に希釈液で希釈を行った。希釈を行った検体を4℃で保存し、OC-ヘモディア<sup>®</sup>オートⅢで測定する検体は香川県から埼玉県まで輸送した。輸送した検体は検体採取後48時間後に同時に測定を行った。結果を図18に示す。また、Wilcoxon符号検定により測定時間遅延による検査値の変化に対する検定結果を表2に示す。

ネスコート サリバヘモ Plus、OC-ヘモディア<sup>®</sup>オートⅢともに2日間の保管後も当日検査した検査結果と良好な相関を示した。この結果から2日間であれば希釈液により希釈した後であれば検査値が大きく変化しない。



$$y=0.986x+0.182 \quad R=0.988, R^2=0.976 \quad y=1.134x+0.022 \quad R=0.991, R^2=0.982$$

図19 検体保存時間が検査値へ及ぼす影響

表2 検体保存による検査値の変化の統計量

	n	最小値	最大値	平均値	標準偏差	P-value
ネスコート サリバヘモ Plus	50	- 1.4070	1.0080	0.1638	0.3010	0.0000
OC-ヘモディア <sup>®</sup> オートⅢ	50	- 0.1470	2.3730	0.1945	0.4585	0.0006

## ● 唾液中ヘモグロビンの歯周病スクリーニングに対する基準値の検討

### 検査試薬間の差に関する検討

前述の検査結果を2つの異なる検査試薬間の一致度を検討するため、相関図を作成し、相関係数を算出した（図20）。

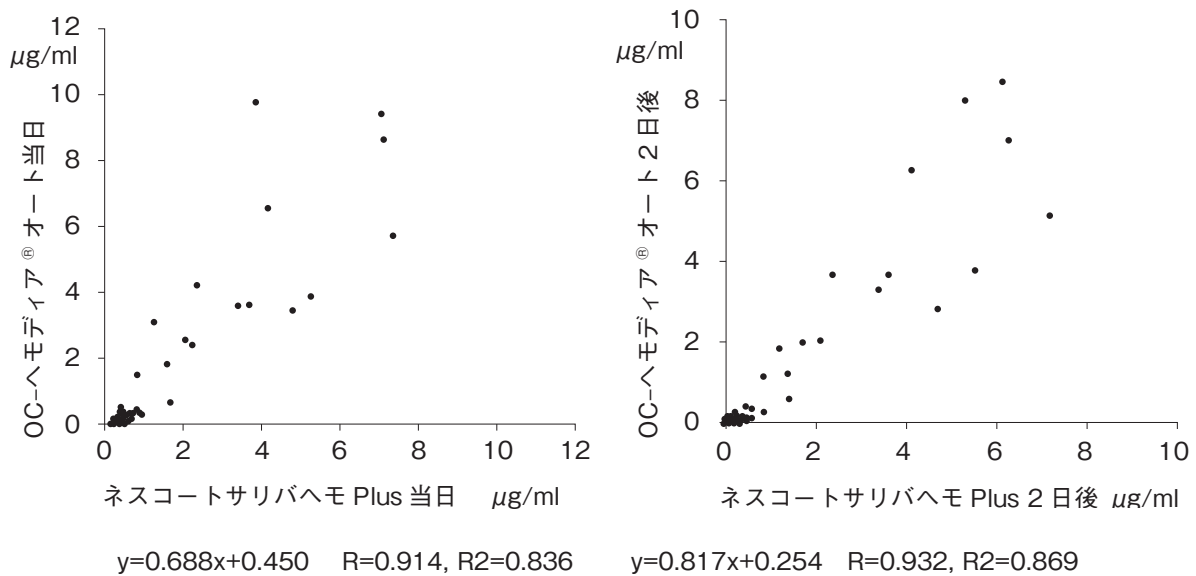


図20 検査試薬の違いによる検査値の相関図。愛媛県で採取した唾液は採取直後から測定時まで4℃に保存した。今回の研究では唾液採取当日と採取から2日後に四国中検（アルフレッサ ファーマ）とBML-栄研化学が同時に測定を行った。横軸は四国中検がネスコート サリバヘモ Plus（アルフレッサ ファーマ）と潜血検査用の自動分析装置（HemoTecht-NS-Plus、アルフレッサ ファーマ）を用いて検査した数値である。縦軸はBML-栄研化学が、OC-ヘモディア® オートⅢ（栄研化学）と潜血検査用の自動分析装置（OC センサー DIANA、栄研化学）を用いて同じ検体を測定した数値である。

## 基準値 2 $\mu$ g/ml による試薬間の診断の一致率

厚生労働科学研究の成果から唾液中ヘモグロビンの歯周病に対する基準値は 2 $\mu$ g/ml と設定した。この基準値により陽性、陰性を判定し、検査試薬間、測定時間遅延による影響を検討した。結果を表 3 に示す。検査間の相違では愛媛県で採取した唾液 62 検体中 1 例が判定の不一致が出たものの一致率は 98.5%であった。また、測定の遅延による影響も判定の不一致は 1 例であり一致率 98.5%と良好な一致率を示した。

表 3 唾液中ヘモグロビンの基準値 2 $\mu$ g/ml による診断の一致

		OC-ヘモディア <sup>®</sup> オートⅢ 当日		
		-	+	合計
ネスコート サリバ	-	37	1	38
ヘモ Plus 当日	+	0	24	24
合計		37	25	62

		OC-ヘモディア <sup>®</sup> オートⅢ 2日後		
		-	+	合計
ネスコート サリバ	-	38	1	39
ヘモ Plus 当日	+	0	23	23
合計		38	24	62

		ネスコート サリバヘモ Plus 2日後		
		-	+	合計
ネスコート サリバ	-	38	0	38
ヘモ Plus 当日	+	1	23	24
合計		39	23	62

		OC-ヘモディア <sup>®</sup> オートⅢ 2日後		
		-	+	合計
OC-ヘモディア <sup>®</sup>	-	37	0	37
オートⅢ 当日	+	1	24	25
合計		38	24	62



## 刺激唾液採取時間に関する検討

う蝕原性菌の唾液検査は5分間の刺激唾液採取が標準プロトコールになっているが、唾液中の生化学物質の検査では5分間という採取時間の妥当性は検証されていない。集団健診において5分間の時間が長いとの意見がある。実際には唾液分泌に障害がある場合、5分間でも十分な唾液が得られない場合があるその一方でスピッツ管1本以上の唾液が分泌される例も見受けられる。そこで5分間の唾液採取に対し、1分間ごとに分けて採取し、時間ごとの唾液中ヘモグロビン量を測定した。唾液中ヘモグロビンの変化を図21示す。今回の結果から3分または5分で最大値を示すケースが存在し、1分、2分では十分にヘモグロビンが唾液中に出ていない症例が存在する。唾液採取には最低でも3分間のガム咀嚼が必要であることがわかる。

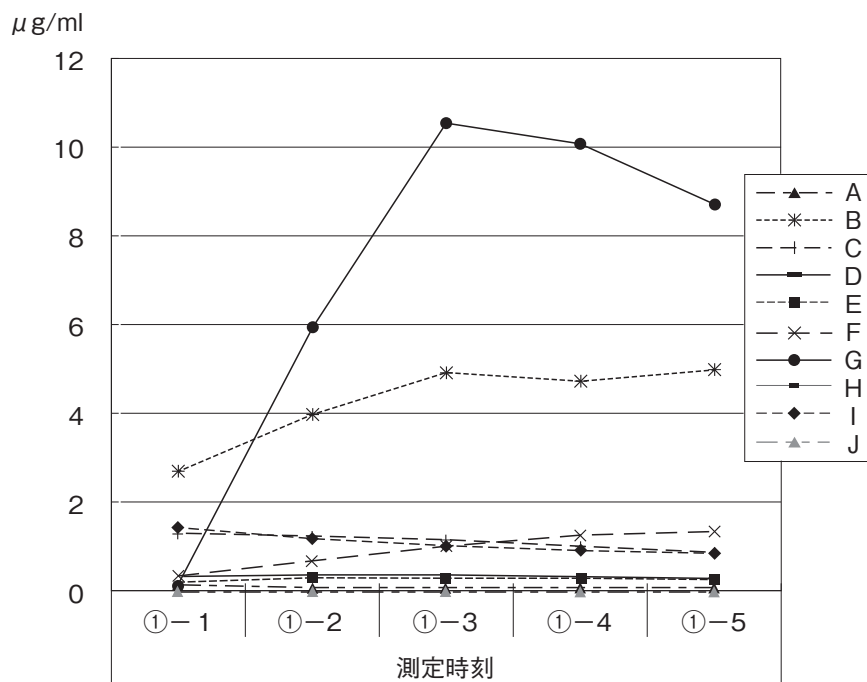


図21 唾液採取時間による唾液中ヘモグロビンの数値の変動（試薬メーカーよりデータ提供を受けた）。

## 唾液中ヘモグロビンの日内変動

唾液中ヘモグロビンの日内変動を検討するため起床時、昼食前、昼食2時間後、夕食前、就寝前に唾液を採取し唾液中ヘモグロビンの変動を検討した(図22)。その結果、唾液中ヘモグロビンは午前中に高くでる傾向があることが示唆された。同様の試験を行った金沢赤十字病院検査部の学会発表データでは午後3時が最高値である。参考のため掲載する(参考データ)。

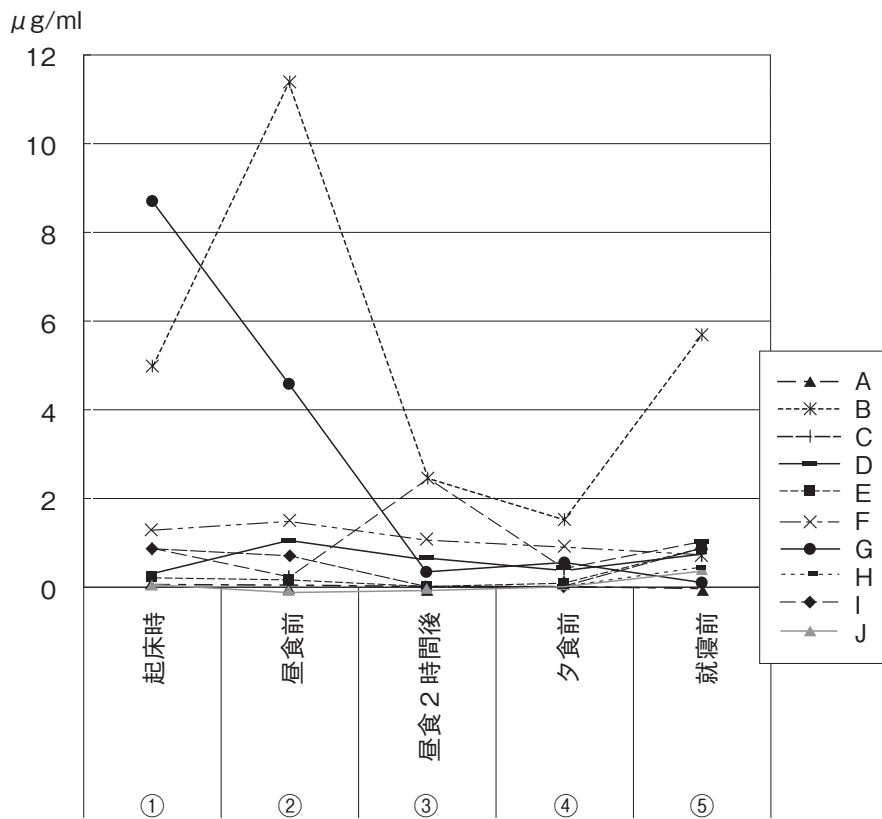
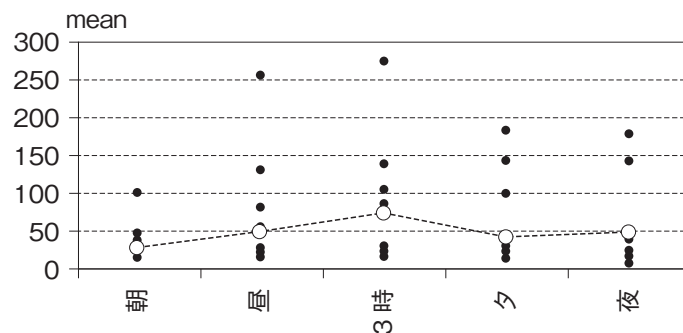


図22 唾液中ヘモグロビンの日内変動 (試薬メーカーよりデータ提供を受けた)



参考データ (試薬メーカーよりデータ提供を受けた)  
 金沢赤十字病院検査部: 出典 第54回日本糖尿病学会年次学術集会発表 2011

## 唾液中乳酸脱水素酵素の日内変動

唾液中乳酸脱水素酵素の日内変動を検討するため起床時、昼食前、昼食2時間後、夕食前、就寝前に唾液を採取し唾液中乳酸脱水素酵素の変動を検討した（図23）。その結果、唾液中乳酸脱水素酵素は起床時に高くでる傾向がみられた。

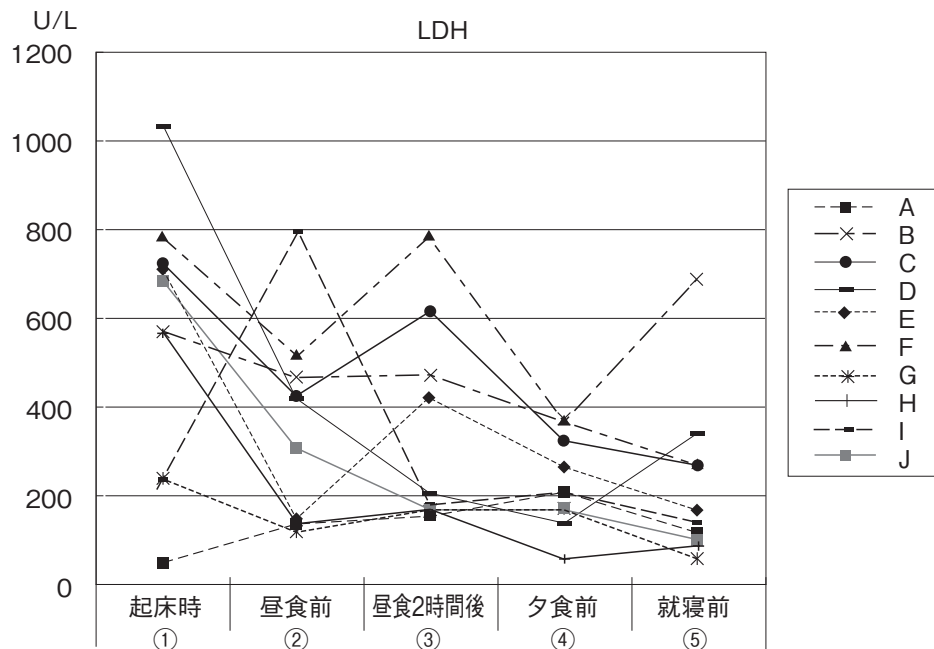


図23 唾液中乳酸脱水素酵素の日内変動（試薬メーカーよりデータ提供を受けた）。

## 唾液採取時直前の検査値に影響を与える因子の検討

データは示さないが、唾液中ヘモグロビンの値は出血に伴い上昇するため、ポケットプロービングなどの出血を伴う検査後に測定を行うと高い値がでることに注意しなければならない。

## 食事時間、抗菌剤服用の影響について

食事直後は食塊により口腔粘膜に傷がついている可能性があり、唾液検査値が高い値になる可能性がある。口腔細菌を検査する場合は服用している抗菌剤が唾液中に分泌する可能性があり測定値にその影響がでる可能性があるが、唾液中ヘモグロビン測定の場合は抗菌剤服用の影響は考えにくい。



## 遠心分離による唾液中夾雑物の除去

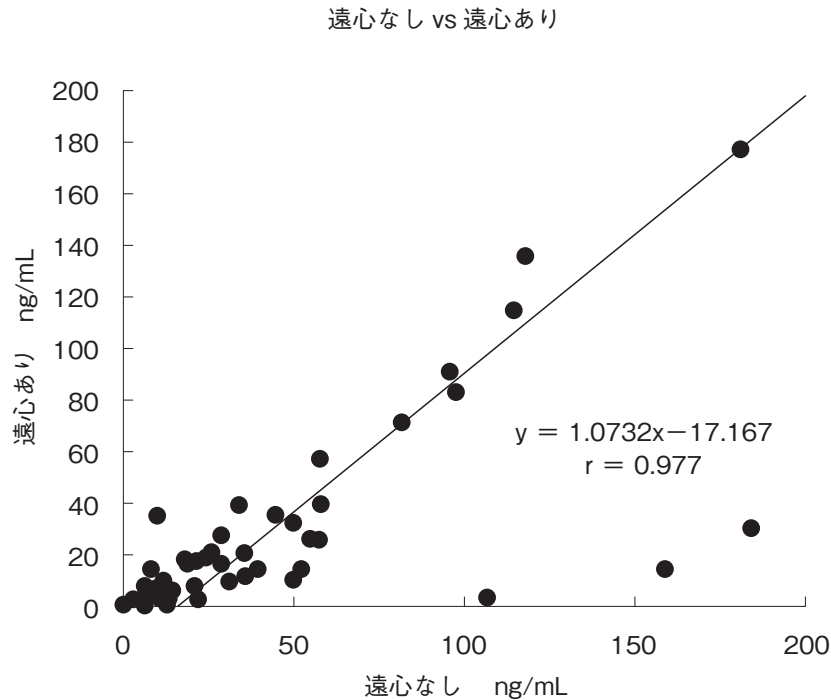


図 24 唾液中ヘモグロビン測定における遠心操作の影響（金沢赤十字病院検査部のご厚意による）：金沢赤十字病院検査部：出典第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会発表 2011)

唾液中ヘモグロビンの測定は測定方法の変遷があり、当初は現在の試薬とは異なる原理の試薬を用いて遊離ヘモグロビンの測定を行っていた。免疫反応の利用による感度の向上とともに唾液中ヘモグロビンの総量を測定する系に移行した。以前の遊離ヘモグロビンの測定には唾液検体の遠心操作が必須であった。免疫反応の利用による新しい試薬を用いて唾液中ヘモグロビンを計測する系における遠心操作の影響を検討した（図 24）。遠心操作の有無で相関図を作成したところ一部遠心操作をしないことにより低い測定値が得られた検体が存在したものの  $R=0.977$  であり、遠心操作は必ずしも必要でないと判断した。

## 唾液検査値のヒストグラム

今回の調査対象者 62 名の唾液中ヘモグロビンの検査値のヒストグラムを作成した（図 24）。唾液中ヘモグロビンの基準値は  $2\mu\text{g/ml}$  である。唾液中ヘモグロビンが多少なりとも検出されることは正常な状態ではなく、唾液中ヘモグロビンが検出されない人が真に歯肉炎のない正常人である。これからの口腔保健活動では、唾液中ヘモグロビンが検出されない人を増加させる事を目標にすると良い。

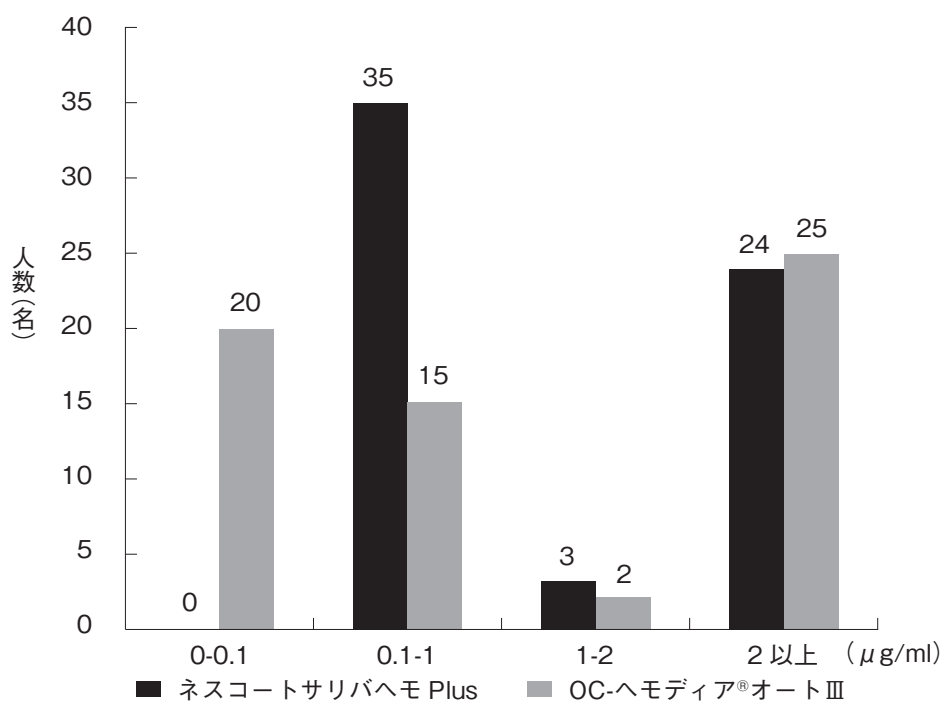


図 25 愛媛県で実施した調査対象者 62 名の唾液中ヘモグロビンの検査値のヒストグラム。唾液中ヘモグロビンの基準値は  $2 \mu\text{g/ml}$  である。唾液中ヘモグロビンが検出されることは正常な状態ではないので、唾液中ヘモグロビンが検出されない人を増加させる事が望ましい。

## 【方法 2】

### 検体

今回の調査研究では、港区芝歯科医師会、岩手県予防医学協会、アルフレッサ ファーマの協力により得られた検体を用いた。唾液検体の提供対象者は新橋駅前 SL 広場の通行人である。

### 唾液採取方法

無糖、無香料のガムベースを 3 分間または 5 分間咀嚼することにより刺激唾液を採取した。

実施要項を下記に示す。

---

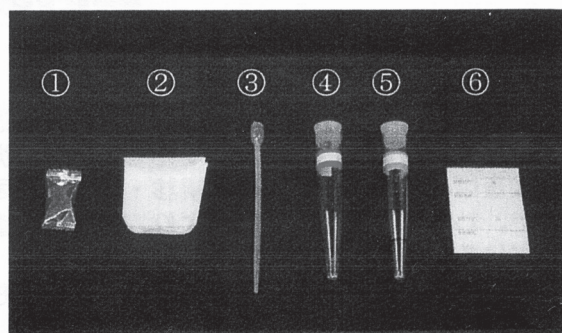
### 歯周病検査実施要項（東京都港区芝歯科医師会作成）

#### I 検査内容物品

1. 検査項目：問診、唾液中ヘモグロビン（Hb）、唾液中乳酸脱水素酵素（LDH）、
2. 使用用紙：同意書、問診票（OCR 用紙）、
3. 唾液採取セット：無糖ガム
  - 採取用紙コップ
  - スポイト
  - ヘモグロビン検査用スピッツ管、赤ラベル（固定液 1mL 入り）
  - LDH 検査用スピッツ管青ラベル（何も入っていないもの）
  - 氏名記入用シール 2 枚

## 唾液の採取セット

- ① 無糖ガム
- ② 紙コップ
- ③ スポイト
- ④ 唾液採取用スピッツ  
(赤い線・固定液1m/l入り)
- ⑤ 唾液採取用スピッツ  
(何も入っていないもの)
- ⑥ 名前シール



4. 結果票：           個人結果票  
                          一覧表  
                          集計表

## II 実施項目

1. 同意書の説明・問診票の記載確認、回収
  - i) 同意書の項目を口頭で説明し☑を入れ、受診者のサインを受ける。  
担当歯科医師もサインをする。
  - ii) 受診者に問診票へ記載してもらい、確認をする。
2. 検体（唾液）の採取
  - i) 氏名記入用シールに受診者の名前を記入し、スピッツ管に貼る。
  - ii) 受診番号を確認の上、回収用ビニール袋にも記入し検体（唾液）を採取後ビニール袋へ回収する。
  - iii) 受診者へ当日から約2週間後に結果票が検査機関（岩手県医学予防協会）から直接受診者へ郵送されること、結果票を見て精査ならびに治療を希望の場合は、同封の登録医療機関名簿を参考に問い合わせの電話をしてもらうこと、その場合は、保険診療となることを説明する。
3. 検体（唾液）の保管・配送  
採取した検体はまとめて冷蔵保存（アイスボックス）し、終了後まとめてクール宅急便にて岩手県予防医学協会へ搬送する。

## III 結果報告

実施から約2週間後、検査機関から直接受診者へ歯周病検査個人結果票が郵送される。  
登録医療機関名簿・受診後アンケートを同封する。  
本会へは、歯周病検査一覧表・集計表が郵送される。

※この事業並びに検査内容は、岩手県歯科医師会歯周病検診事業を基にしております。



## 唾液中ヘモグロビンの測定方法

現在、薬事法による承認を得ている唾液中のヘモグロビンを測定する検査キットを販売している臨床検査試薬メーカーは2社のみである。そこで今回、金コロイド比色法を用いたネスコート サリバヘモ Plus（アルフレッサ ファーマ）、ラテックス凝集反応の免疫比濁法を用いた OC-ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ（栄研化学）とそれぞれの専用の測定機器である潜血検査用の自動分析装置（HemoTecht-NS-Plus、アルフレッサ ファーマ）、（OC センサー DIANA、栄研化学）を用いて測定を行った。

測定は唾液を軽く攪拌しそれぞれの Hb 測定用希釈液で 21 倍に希釈して行った。

岩手県予防医学協会では、唾液中ヘモグロビンに加えて、唾液中乳酸脱水素酵素の測定も実施した。

## 検体の保存条件

東京都港区新橋の JR 新橋駅前広場で採取した唾液は採取直後から測定時まで 4℃ に保存した。今回の研究では唾液採取から 2 日（48 時間）後に岩手県予防医学協会とアルフレッサ ファーマ株式会社が同時に測定を行った。岩手県予防医学協会は、OC-ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ（栄研化学）と潜血検査用の自動分析装置（OC センサー DIANA、栄研化学）を用い、アルフレッサ ファーマ株式会社はネスコート サリバヘモ Plus（アルフレッサ ファーマ）と潜血検査用の自動分析装置（HemoTecht-NS-Plus、アルフレッサ ファーマ）を用いて同じ検体を測定した（図 26、27）。

相関図

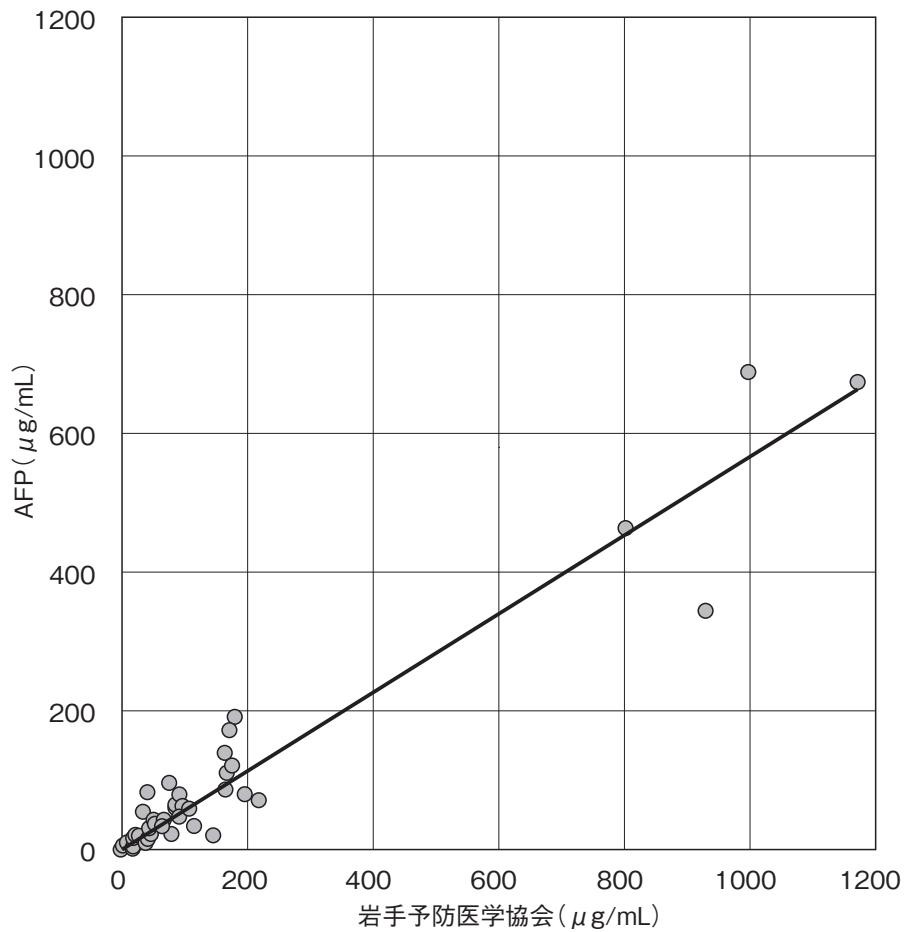


図 26 東京都港区新橋の JR 新橋駅前広場で採取した唾液は採取直後から測定時まで 4℃ に保存した。今回の研究では唾液採取から 2 日 (48 時間) 後に岩手県予防医学協会—栄研化学 (横軸) とアルフレッサ ファーマ株式会社 (AFP、縦軸) が同時に測定を行った。横軸は岩手県予防医学協会が、OC-ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ (栄研化学) と潜血検査用の自動分析装置 (OC センサー DIANA、栄研化学) を用いて測定した数値。縦軸は、アルフレッサ ファーマ株式会社 (AFP) がネスコート サリバヘモ Plus (アルフレッサ ファーマ) と潜血検査用の自動分析装置 (HemoTecht-NS-Plus、アルフレッサ ファーマ) を用いて同じ検体を測定した結果である。

相関図(100以下)

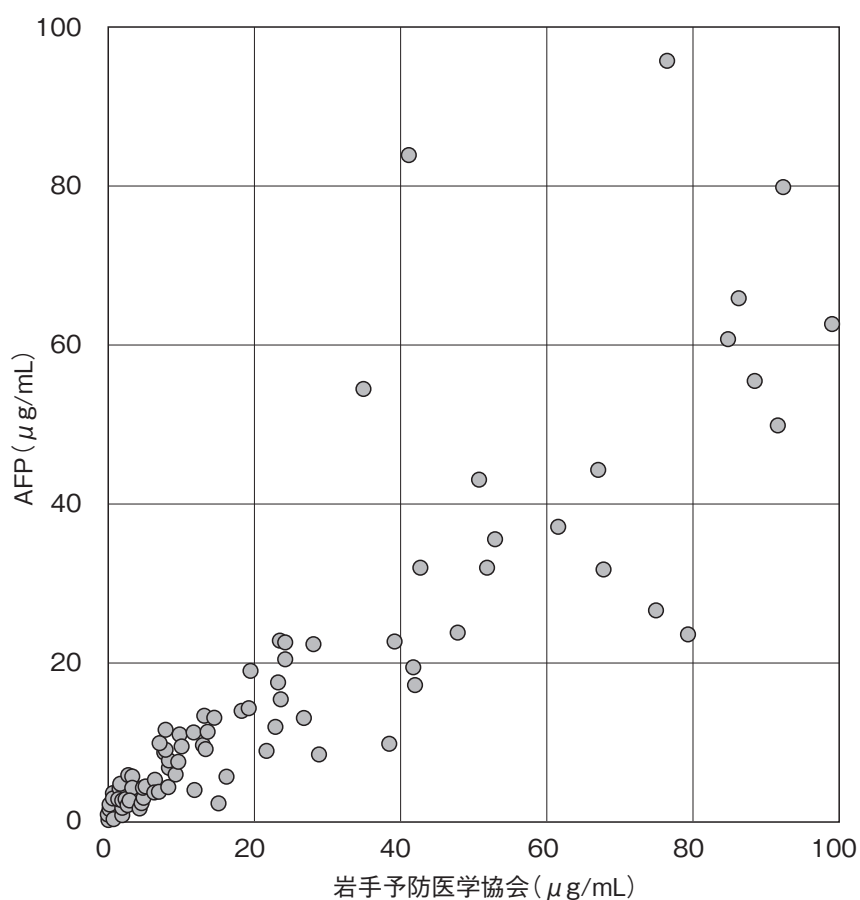


図 27 横軸は岩手県予防医学協会が、OC-ヘモディア<sup>®</sup>オートⅢ（栄研化学）と潜血検査用の自動分析装置（OCセンサー DIANA、栄研化学）を用いて測定した数値。縦軸（AFP）は、アルフレッサファーマ株式会社がネスコート サリバヘモ Plus（アルフレッサファーマ）と潜血検査用の自動分析装置（HemoTecht-NS-1000、アルフレッサファーマ）を用いて同じ検体を測定した結果の数値である。100 $\mu$ g/mL以下の部分を拡大して示した。



## ● 結 果 .....

OC-ヘモディア<sup>®</sup>オートⅢ（栄研化学）と潜血検査用の自動分析装置（OCセンサーDIANA、栄研化学）を用いた岩手県予防医学協会とネスコート サリバヘモ Plus（アルフレッサ ファーマ）と潜血検査用の自動分析装置（HemoTecht-NS-Plus、アルフレッサ ファーマ）を用いたアルフレッサ ファーマ株式会社の同じ検体を用いた測定結果を比較すると両者の一致率は94.4%であった（表4）。

表4 岩手県予防医学協会とアルフレッサ ファーマ株式会社の測定値に基づく結果の比較。カットオフ値を2 $\mu$ g/mlとした場合両者の一致率は94.4%であった。

一致率

※カットオフ値を2 $\mu$ g/mlとした場合

		岩手予防		合計
		陰性 (-)	陽性 (+)	
AFP	陰性 (-)	139	7	146
	陽性 (+)	7	97	104
	合計	146	104	250

一致率 = 94.4%

### 【方法3】

#### 乳酸脱水素酵素（LD, LDH）の安定性の研究

わが国において唾液検査の全国的な普及を図るためには、北海道から沖縄までのすべての歯科医院で使用できる環境を整える必要がある。そのため、検体の乳酸脱水素酵素の安定性について調べることを目的として研究を行った。

#### 材料と方法

市販の乳酸脱水素酵素を水または唾液中に溶解し、段階希釈を行った。異なる温度で3日間放置して酵素反応の変化を観察した。

検体中の乳酸脱水素酵素（LD, LDH）の濃度による安定性の違い（図28a-d）、乳酸脱水素酵素（LD, LDH）の濃度と温度による安定性の違い（図29）、乳酸脱水素酵素（LD, LDH）の溶媒（水と唾液）による安定性の違い（図30）を調べた。いずれも3日後には酵素活性が低下した。

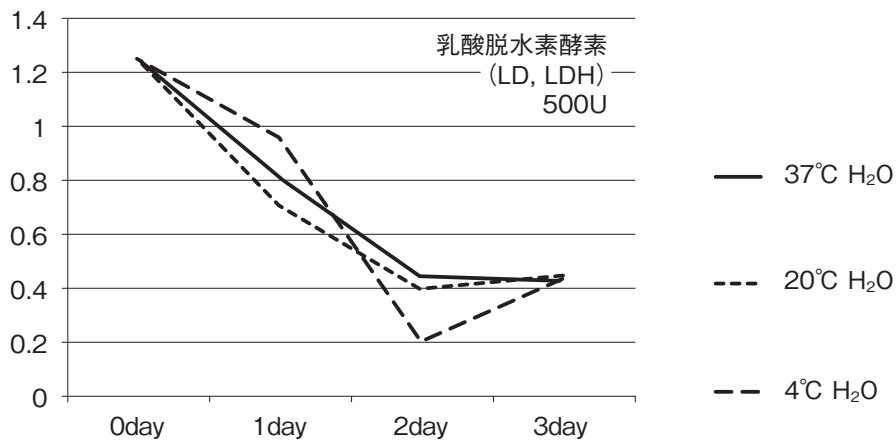


図 28a 乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) 500U を異なる温度で 3 日間放置して酵素活性の低下を観察した。縦軸の単位は U/ml。

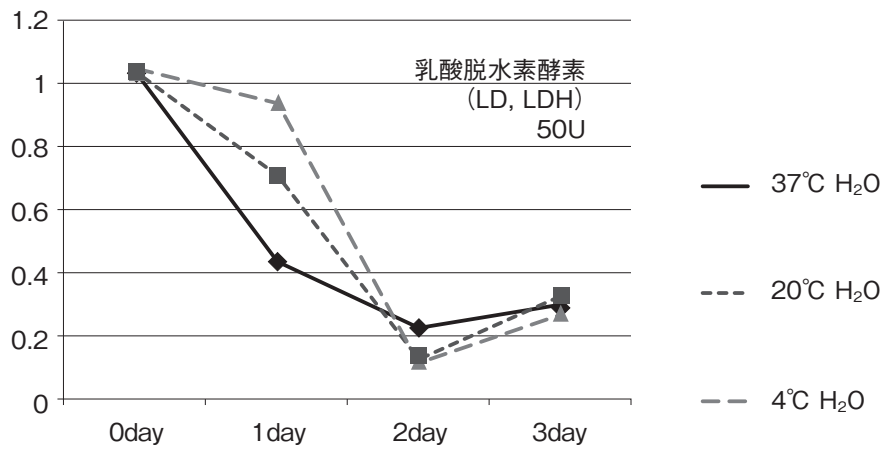


図 28b 乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) 50U を異なる温度で 3 日間放置して酵素活性の低下を観察した。縦軸の単位は U/ml。

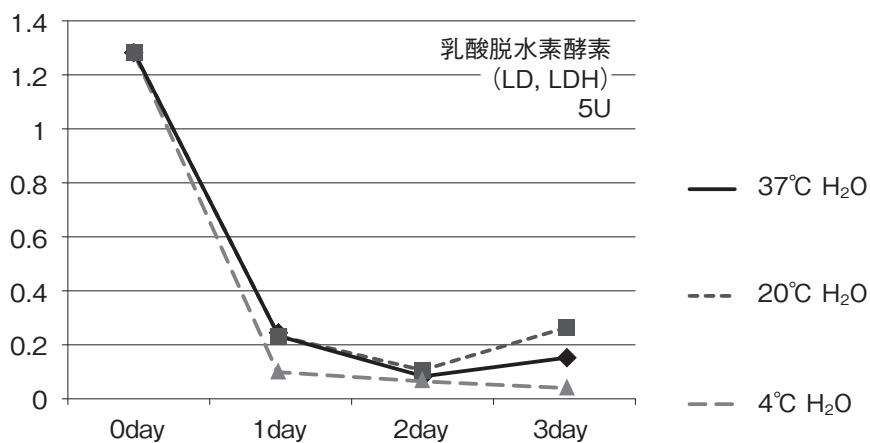


図 28c 乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) 5U を異なる温度で 3 日間放置して酵素活性の低下を観察した。縦軸の単位は U/ml。

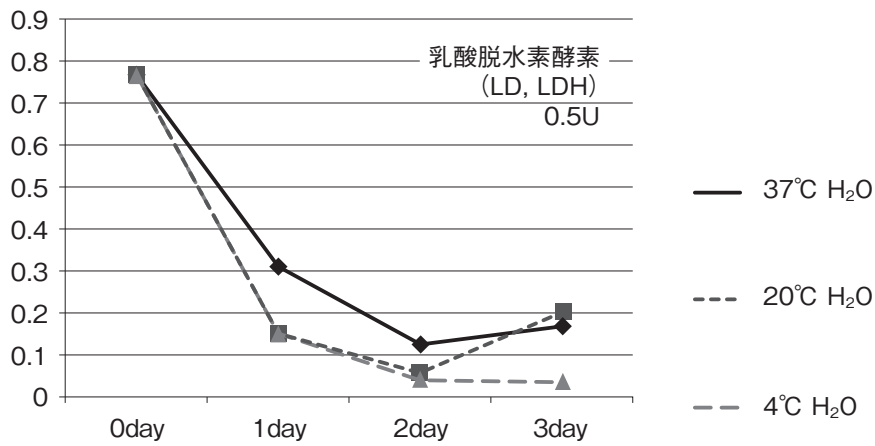


図 28d 乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) 0.5U を異なる温度で 3 日間放置して酵素活性の低下を観察した。縦軸の単位は U/ml。

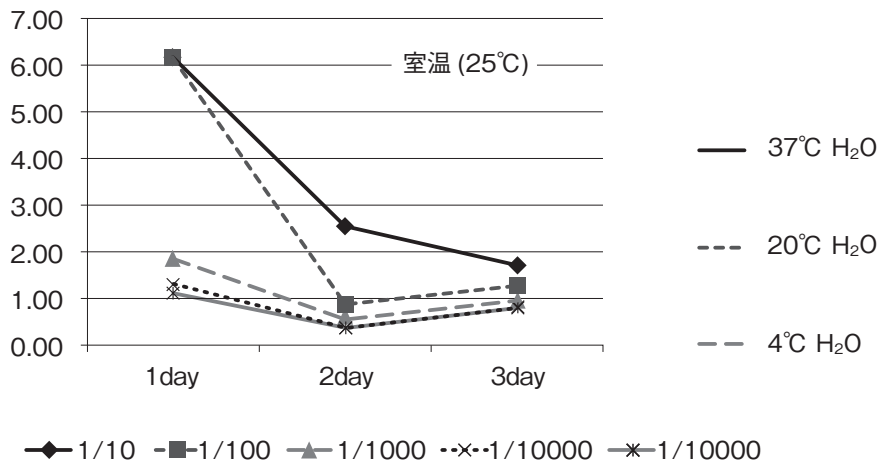


図 29 室温 (25°C) における乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) の濃度 (段階希釈) による安定性の違い。縦軸の単位は U/ml。

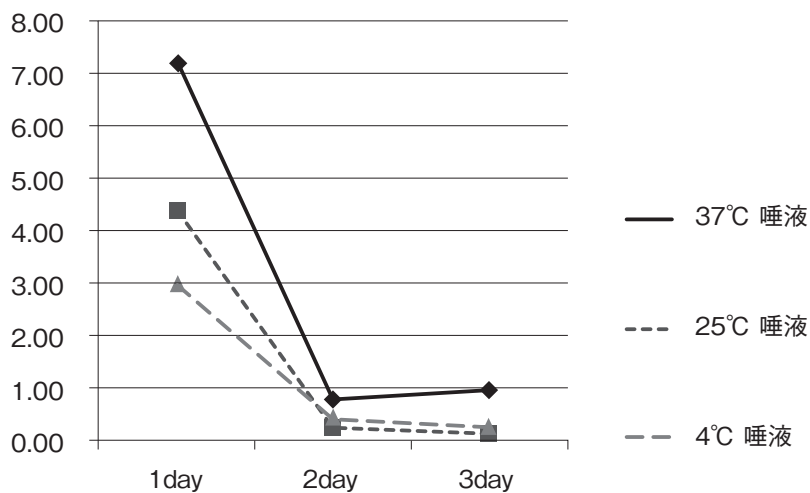


図 30 乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) を唾液と混合し異なる温度で 3 日間放置して酵素活性の低下を観察した。縦軸の単位は U/ml。

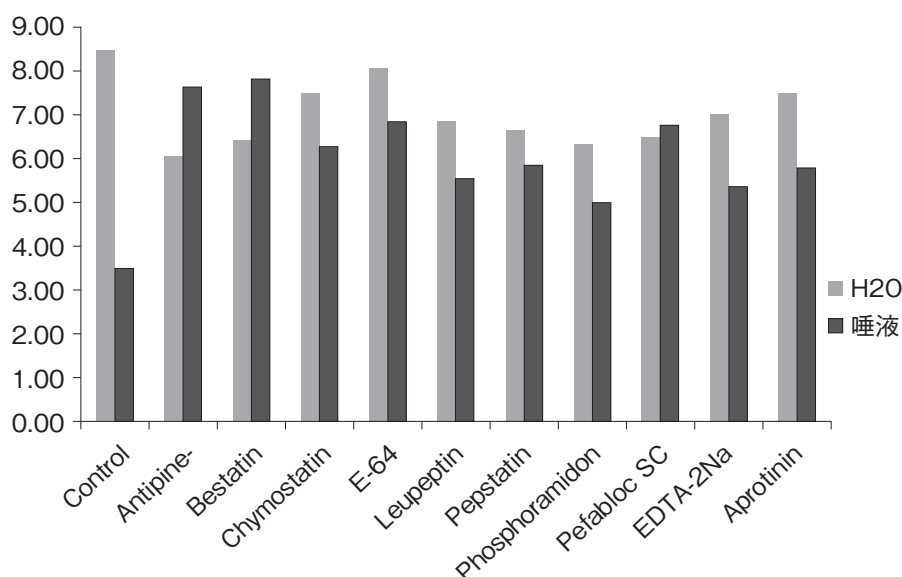


図 31 乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) の酵素活性を安定させるための各種タンパク質阻害剤の効果。縦軸の単位は U/ml。

唾液中のタンパク質分解酵素が乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) の酵素活性を失活させないよう、各種タンパク質阻害剤を添加した。その結果を図 31 に示す。

## 唾液検査の保険導入における有用性

唾液中の様々な酵素、バイオマーカーと歯周病の関連性を厚生労働科学研究「歯周疾患の予防、治療技術の評価に関する研究」(平成 12-14 年度、主任研究者: 鴨井久一) において検討した結果、唾液中のヘモグロビン (Hb)、乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) が歯周病の病態を反映し、集団健診における歯周病のスクリーニングに有用であることが明らかとなった。また、歯周病の治療経過に伴い、歯周組織の病態の変化に合わせて、唾液中のヘモグロビン (Hb)、乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) が変動することも明らかとなった。

厚生労働科学研究「効果的な歯周疾患の判定法および治療技術の開発」(平成 15-17 年度、主任研究者: 花田信弘) において唾液中のヘモグロビン (Hb)、乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) の歯周病の発症、再発に対する予知性を検討したところ、唾液中のヘモグロビン (Hb)、乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) の値が歯周病が発症する前に上昇すること、治療終了後の患者において唾液中のヘモグロビン (Hb)、乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) の値が高い者が歯周病の再発、進行を起しやすいたことが明らかとなり、唾液中のヘモグロビン (Hb)、乳酸脱水素酵素 (LD, LDH) に予知性があることが明らかとなった。

厚生労働科学研究「歯周疾患の予防、治療技術の評価に関する研究」ではヘモグロビンの測定方法が遊離ヘモグロビンのみを測定する酵素法であったが、その後、免疫法(ラテックス凝集法、金コロイド法)を用いた測定法により、その測定感度が向上した。「効果的な歯周疾患の判定法および治療技術の開発」においてはいくつかの地域で実際に歯周病のスクリーニング



で免疫法を用いたヘモグロビン測定を行い、スクリーニングの基準値を再度検討した。その後、唾液中ヘモグロビン基準値を  $2.0 \mu\text{g/ml}$  とした。

このような研究結果を踏まえ、唾液検査が保険導入された場合、以下のメリットが考えられる。

1. スクリーニング検査の歯科医院での再現
2. 歯周病治療終了の判定および予後の予測

よって歯周病治療終了時に検査を行うという規定が望ましい。

## 検査試薬の現状

現在、薬事法で体外診断用医薬品の承認を得ている検査試薬の販売メーカーは、アルフレッサ ファーマ（「ネスコート サリバヘモ Plus」）、栄研化学（「OC-ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ」）、サンスター（「ペリオスクリーン」）であり、いずれも唾液中のヘモグロビンの検査を行う試薬である。このうち、アルフレッサ ファーマの「ネスコート サリバヘモ Plus」、および栄研化学の OC-ヘモディア<sup>®</sup> オートⅢ等が外注により検査会社で測定を行うものである。乳酸脱水素酵素（LD）を測定する試薬は血液検査で用いるものを適用外使用しており、唾液検査用として体外診断用医薬品の承認を得ているものはない。

## 検査会社の現状

日本では臨床検査会社は SRL、BML の 2 社が全国規模で大きなシェアを占め、その他に各地域に中小の検査会社が存在する形態をとっている。また各検査会社の連携関係が成立しており、自社で検査できない検査内容の場合、他の検査会社に委託する形をとっている。また、特殊な検査であれば、最終的には、SRL、BML の大手検査会社で検査が行われる相互依存関係が存在する。唾液ヘモグロビンの検査に関しては、すでに BML では実施実績があり、SRL も導入を開始している。唾液ヘモグロビンの検査に関してこの 2 社の体制が整ったので、検査会社のネットワークを利用して日本全国どこの地区の歯科診療所でも検査が可能になった。

## 検査費用の現状と医療保険導入の問題点

現在、唾液検査を受託している検査会社での検査費用は唾液ヘモグロビン（Hb）、乳酸脱水素酵素（LD, LDH）の 2 項目の測定で 1 検体あたり BML 1,500 円、四国中検 500 円 -1,000 円となっている。四国中検など現在受託検査を実施している会社の場合は、受託を集団検診に限定している。集団検診であれば歯科医院個別の集配の費用がかからないため、費用が低く抑えられている。唾液ヘモグロビン検査は唾液採取用の容器だけでなく、甘味を抜いた特殊なガムが必要である。医療保険導入にあたっては、各検査会社の歯科医院個別集配のシステムが構築されていないため、システム構築および医科診療所のように多くの検体がでないことを考慮すると集配の費用を加算する必要がある。集団検診のような低い点数が付与された場合、歯科医院、検査会社ともに利益がでないため、唾液検査が普及しない可能性がある。医療保険に唾液検査を導入する場合には、現実を踏まえた適切な点数が必要である。

## 「唾液検査標準化に関する研究」の考察 1（診療室における診断補助）

歯周病の唾液検査を診療室における診断補助として用いる為に医療保険導入を目指して唾液中のヘモグロビン（Hb）の精度検定を行った。また、乳酸脱水素酵素（LD, LDH）の安定性に関して検討を行った。その結果、唾液中のヘモグロビン検査に関しては十分実用域に達しており、医療保険導入は可能だと思われた。乳酸脱水素酵素（LD, LDH）の安定性はタンパク質阻害剤によって、唾液中のプロテアーゼ活性が抑えられ、安定性は増すものの、体外診断薬としての認可を得ていないため医療保険導入は困難だと思われる。そこで、唾液ヘモグロビン検査のオプションとして乳酸脱水素酵素（LD, LDH）を測定する事が考えられる。

## 「唾液検査標準化に関する研究」の考察 2

これまでの歯周病検診で用いられてきた地域歯周疾患指数（CPI, Community Periodontal Index）は、歯周病（歯周疾患）に関する地域監視、すなわちサーベイランスの手法である。

歯周病検診の普及とともにわが国ではCPIをスクリーニングに用いるようになってきているが、CPIはもともと開発段階からスクリーニングに用いる事を想定したものではない。サーベイランスとスクリーニングはかなり異なる概念である。

### 1. サーベイランスの定義

サーベイランス（surveillance）は、「疾病の発生状況やその推移などを継続的に監視すること」（米国疾病予防管理センター：CDC）とされている。そのため母集団から定められた方法で少数のサンプリングを行ない、限定された対象者に対して十分な訓練を受けた少数の診査者が調査を実施する。歯科疾患実態調査がサーベイランスである。

### 2. スクリーニングの定義

スクリーニングは無自覚の疾病異常または欠陥を暫定的に識別することである。従って母集団全体からの識別を行なう。通常は対象集団全体を調査するために簡便なバイオマーカーを指標とする生化学検査の手法がとられる。スクリーニングはコスト面を考慮した廉価な簡便法なのでスクリーニングだけでは発症前診断はできない。バイオマーカーで高リスク群を絞った上で高感度な精密検査を実施し、正確な発症前診断を行うのが普通である。

## 唾液検査と問診アンケートの違い

コスト面を考慮した廉価な簡便法として歯周病検診に問診アンケートが採用されることがある。しかし、問診アンケートは自覚症状を識別する手法なので、スクリーニングの目的である「無自覚の疾病異常または欠陥」を識別することはできない。

表5 CPIと唾液の生化学検査の比較。唾液の生化学分析とは唾液中のヘモグロビン(Hb)、乳酸脱水素酵素(LD, LDH)の測定である。

	現状の歯周疾患検診	唾液検査
方法	CPI	唾液の生化学分析*
手順	歯科医のプロービング	咀嚼刺激唾液の採取
分類	二次予防(疾病発見)	二次予防(リスク発見)
目的	疾病判定	リスク判定
見ているもの	疾病の有無・重症度	リスクの有無
侵襲性	あり:出血・疼痛・感染	なし
担当者	歯科専門家のみ	制限なし
効率性	悪い(対象人数制限)	良い(対象人数制限なし)

以上の事から、アンケートと唾液ヘモグロビン検査がこれからの歯周病検診の基本になると思われる。また、乳酸脱水素酵素を始めとする逸脱酵素(本来細胞内で働いている酵素が何らかの理由で唾液や血液中に流出したものである。流出する理由としては、細胞自体の破壊が考えられる。)やサイトカインの測定をオプションとして付け加える事が望ましい。

## 結論

歯周病は歯面に付着したバイオフィームにより歯周組織の血管が炎症を引き起こして破綻し、菌血症を伴いながら重症化する疾患である。その結果混合唾液中にヘモグロビンが検出されるようになる。本来の唾液はヘモグロビンを含まないので、唾液ヘモグロビンの多寡は歯周組織の炎症状態を反映している。また、乳酸脱水素酵素(LD, LDH)は歯根膜細胞の破壊の状況を反映する。

そこで、歯周病の唾液検査の医療保険導入を目指して唾液中のヘモグロビン測定試薬の精度検定を行った。その結果、唾液中のヘモグロビン検査に関しては精度が高く、再現性があり十分実用域に達している。従って医療保険導入は可能だと思われた。また、歯周病と全身の健康の関係に関する数々のエビデンスが集積されているので特定健康診査・特定保健指導にも唾液検査を導入する事が望まれる。

更に、乳酸脱水素酵素(LD, LDH)の安定性を検討した。タンパク質阻害剤によって、唾液中のプロテアーゼ活性が抑えられ、唾液中の乳酸脱水素酵素の安定性は増すものの、体外診断薬としての厚生労働省の認可を得ていないため医療保険導入は困難だと思われる。そこで、唾液ヘモグロビン検査のオプションとして乳酸脱水素酵素(LD, LDH)などの細胞からの逸脱酵素を測定する事が考えられる。

## 今後の展望

各健康保険組合は平成20年度より40歳から75歳になる加入者のうち定期健康診断の結果、生活習慣病の発症リスクが高いと判定された方を対象とし、特定保健指導が受けられる「特定保健指導利用券」を発行している。この特定保健指導とはメタボリックシンドローム(内臓脂肪型肥満)に着目し、生活習慣病予防のために対象者が自らの生活習慣における課題に気づき、

より健康的な生活習慣を身につける事を目的としたサービスである。しかし、近年の女性においては逆に長期にわたって体重の減少が続いており、更なる肥満への取り組みには有害である恐れがある。胎盤や動脈硬化巣からはしばしば口腔細菌が検出されており、歯と歯周組織は歯磨きによる日常的な菌血症の発症により全身に慢性炎症を引き起こす事が知られている。菌血症による慢性炎症は内蔵脂肪型肥満と同様の機序で慢性炎症状態を持続させている。そこで、日常的な菌血症の発症を抑え、慢性の炎症を抑制する目的で歯肉の炎症、すなわち唾液ヘモグロビン検査に着目した健診と保健指導を導入し、歯科医院における特定保健指導が実施できる体制を整備すべきだと考える。

## おわりに

唾液中のヘモグロビン測定試薬の精度検定を行った。その結果、唾液中のヘモグロビン検査に関しては精度が高く十分実用域に達しており、医療保険導入は可能だと思われた。また、特定健康診査・特定保健指導にも唾液検査を導入する事が望まれる。



参考資料（方法2）、検体測定データ：港区芝歯科医師会、岩手県予防医学協会およびアルフレッサファーマ株式会社の協力により得られた検体の測定値を示す。岩手予防＝岩手県予防医学協会、AFP＝アルフレッサファーマ株式会社、註：岩手県予防医学協会では栄研化学株式会社の検査薬を使用。

### 唾液中ヘモグロビン濃度測定結果

	検体番号	岩手予防濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	AFP濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )		検体番号	岩手予防濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	AFP濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	19	0.10	0.38	40	229	0.10	0.46
2	21	0.10	0.00	41	236	0.10	0.12
3	23	0.10	0.00	42	245	0.10	0.12
4	28	0.10	0.30	43	6	0.20	0.20
5	31	0.10	0.20	44	16	0.20	0.40
6	33	0.10	0.46	45	18	0.20	0.86
7	34	0.10	0.26	46	20	0.20	0.64
8	35	0.10	0.04	47	27	0.20	0.78
9	54	0.10	0.14	48	32	0.20	0.26
10	67	0.10	0.00	49	39	0.20	0.32
11	70	0.10	0.44	50	58	0.20	0.22
12	71	0.10	0.00	51	77	0.20	1.16
13	73	0.10	0.00	52	87	0.20	0.16
14	75	0.10	0.70	53	95	0.20	0.26
15	82	0.10	0.04	54	113	0.20	0.18
16	85	0.10	0.24	55	119	0.20	0.22
17	90	0.10	0.24	56	128	0.20	0.00
18	97	0.10	0.08	57	152	0.20	0.18
19	106	0.10	0.00	58	165	0.20	0.36
20	109	0.10	0.00	59	171	0.20	0.36
21	116	0.10	0.48	60	176	0.20	0.12
22	117	0.10	0.20	61	185	0.20	0.08
23	127	0.10	0.06	62	187	0.20	0.40
24	137	0.10	0.30	63	194	0.20	0.30
25	141	0.10	0.00	64	207	0.20	0.72
26	142	0.10	0.20	65	208	0.20	0.18
27	145	0.10	0.36	66	209	0.20	0.32
28	148	0.10	0.36	67	216	0.20	0.38
29	161	0.10	0.36	68	228	0.20	0.38
30	163	0.10	0.02	69	233	0.20	0.20
31	169	0.10	0.04	70	9	0.30	0.46
32	170	0.10	0.16	71	13	0.30	0.56
33	177	0.10	0.12	72	14	0.30	0.36
34	184	0.10	0.10	73	29	0.30	0.86
35	198	0.10	0.16	74	45	0.30	0.74
36	200	0.10	0.14	75	72	0.30	0.26
37	203	0.10	0.18	76	81	0.30	0.28
38	220	0.10	0.18	77	86	0.30	1.62
39	221	0.10	0.50	78	91	0.30	0.24

	検体番号	岩手予防濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	AFP 濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
79	92	0.30	0.38
80	102	0.30	0.52
81	107	0.30	0.50
82	118	0.30	0.48
83	166	0.30	0.22
84	168	0.30	0.80
85	174	0.30	0.22
86	196	0.30	0.26
87	248	0.30	0.40
88	4	0.40	0.56
89	36	0.40	0.50
90	40	0.40	0.82
91	53	0.40	0.30
92	104	0.40	0.58
93	114	0.40	0.38
94	115	0.40	0.24
95	121	0.40	0.30
96	125	0.40	0.38
97	146	0.40	0.46
98	149	0.40	2.08
99	172	0.40	0.48
100	189	0.40	1.32
101	230	0.40	0.72
102	243	0.40	0.12
103	244	0.40	0.68
104	249	0.40	0.72
105	3	0.50	1.22
106	11	0.50	0.64
107	15	0.50	0.78
108	25	0.50	0.42
109	60	0.50	0.44
110	74	0.50	0.74
111	93	0.50	1.42
112	103	0.50	0.72
113	134	0.50	0.56
114	136	0.50	0.12
115	162	0.50	0.36
116	173	0.50	0.60
117	222	0.50	0.62
118	224	0.50	1.14
119	231	0.50	1.46
120	241	0.50	0.36
121	242	0.50	0.62
122	68	0.60	1.38
123	140	0.60	1.20
124	143	0.60	0.64

	検体番号	岩手予防濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	AFP 濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
125	234	0.60	0.78
126	1	0.70	2.46
127	10	0.70	3.30
128	57	0.70	1.06
129	110	0.80	2.32
130	158	0.80	0.18
131	232	0.80	1.42
132	247	0.80	0.40
133	138	0.90	0.00
134	180	1.00	1.08
135	199	1.10	1.24
136	42	1.20	1.62
137	225	1.20	1.26
138	188	1.30	1.82
139	12	1.40	0.86
140	155	1.40	0.60
141	46	1.50	0.78
142	212	1.60	2.62
143	7	1.70	1.28
144	89	1.70	4.12
145	2	1.80	2.94
146	79	1.80	1.64
147	139	2.00	0.44
148	239	2.00	1.94
149	41	2.10	4.60
150	44	2.10	0.58
151	215	2.10	1.38
152	47	2.30	3.10
153	164	2.40	3.24
154	175	2.40	3.02
155	178	2.40	3.52
156	84	2.50	3.26
157	26	2.70	3.12
158	217	2.70	2.28
159	64	2.80	2.20
160	122	2.90	5.54
161	144	3.10	1.68
162	179	3.10	1.98
163	210	3.30	5.46
164	192	3.50	4.66
165	238	3.50	3.92
166	52	3.70	2.86
167	55	3.70	2.20
168	250	3.80	2.48
169	181	4.10	2.48
170	126	4.50	1.34

	検体番号	岩手予防濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	AFP 濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
171	80	4.60	2.46
172	66	5.00	3.22
173	129	5.00	2.06
174	5	5.20	4.10
175	101	5.60	4.02
176	30	6.50	5.00
177	63	6.60	3.38
178	246	7.10	9.74
179	51	7.30	3.56
180	61	7.70	8.42
181	69	7.90	8.62
182	205	8.00	11.02
183	182	8.10	7.40
184	135	8.50	4.22
185	213	8.50	6.54
186	56	8.80	6.98
187	88	9.50	5.76
188	132	9.60	7.18
189	105	9.90	10.54
190	153	10.20	9.24
191	191	11.70	10.92
192	24	11.80	3.64
193	167	13.10	9.26
194	214	13.30	9.04
195	202	13.40	12.92
196	65	13.80	11.10
197	235	14.60	12.76
198	99	15.10	2.02
199	154	16.40	5.38
200	8	18.50	13.46
201	108	19.30	14.08
202	111	19.60	18.66
203	147	21.80	8.56
204	150	22.90	11.64
205	240	23.30	17.16
206	48	23.50	22.60
207	218	23.70	15.16
208	156	24.20	22.32
209	193	24.20	20.20
210	123	26.90	12.76
211	151	28.10	22.14
212	94	29.00	8.18
213	206	64.90	54.40
214	112	38.60	9.52
215	183	39.10	22.40
216	49	41.20	83.80

	検体番号	岩手予防濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	AFP 濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
217	160	41.80	19.24
218	197	42.00	17.00
219	22	42.80	31.80
220	76	47.90	23.60
221	223	50.60	43.00
222	195	51.70	31.80
223	43	52.90	35.40
224	100	61.70	37.00
225	98	67.00	44.20
226	59	67.80	31.60
227	37	75.00	26.40
228	190	76.40	95.60
229	17	79.40	23.44
230	226	84.80	60.60
231	219	86.30	65.80
232	211	88.40	55.40
233	38	91.60	49.80
234	133	92.40	79.80
235	237	99.10	62.60
236	62	107.50	59.20
237	131	116.60	35.20
238	130	145.10	21.60
239	186	164.00	139.00
240	50	166.50	87.60
241	83	166.50	110.80
242	204	171.80	174.40
243	120	176.60	121.60
244	227	179.30	192.00
245	96	196.60	79.60
246	157	218.40	72.20
247	78	802.20	466.00
248	124	930.30	346.00
249	159	997.50	690.00
250	201	1171.80	676.00

a < 1.7

b  $1.7 \leq$ 、< 4.2

c  $4.2 \leq$

## 唾液検査標準化に関する研究：発表論文

Kakuta E, Ida A, Nomura H, Tamaki Y, Abo T, Otsuka R, Murata T, Nomura Y and Hanada N Oral conditions that affect salivary biomarkers. ~preliminary survey by self-administrated questionnair~ J Dent Health 62 : 391-396, 2012.

Nomura Y, Tamaki Y, Eto A, Kakuta E, Ogino D, Nakamura Y, Takahashi N, Hino F, Koresawa K, Hanada N and Shimizu K. Screening for periodontal diseases using salivary lactate dehydrogenase, hemoglobin level, and statistical modeling. J Dent Sci 7 : 379-383, 2012.

Nomura Y, Shimada Y, Hanada N, Numabe Y, Kamoi K, Sato T, Gomi K, Arai T, Inagaki K, Fukuda M, Noguchi T, Yoshie H. Salivary biomarkers for predictiong the progression of chronic periodontitis. Arch Oral Biol 57 : 413-20, 2012.