

別紙

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(厚生労働科学特別研究事業)
総括研究報告書

新型コロナウイルス感染症等と口腔内状態及び歯科保健医療の関係性の検証のための研究

研究分担者 泉福 英信 国立感染症研究所

研究要旨

口腔内細菌叢を正常に保つことで SARS-CoV-2 の感染予防が期待できるという考えのもと、一部の歯科医療従事者の間では、新型コロナウイルス感染症の発症予防及び重症化予防の観点から、舌苔の除去を含めた口腔ケアによる口腔衛生管理などの歯科的介入の必要性・重要性を啓発する動きがある。

しかし、COVID-19 の予防や重症化予防と口腔衛生管理を含む歯科的介入の関連について、そのエビデンスが系統的に整理されたものはなく、SARS-CoV-2 感染拡大の状況下における口腔衛生管理を含む歯科医療の優先度は明確になっていない。

そこで、本研究では、SARS-CoV-2 感染及び COVID-19 と口腔環境や歯科的介入との関連について、COVID-19 の重症化の因子や SARS-CoV-2 による歯科医療における院内感染のリスク等も含め、広くこれまでの知見を収集し、そのエビデンスレベルも含めて検証・分析を行い、効果的かつ安全な歯科保健医療の提供に資する基礎的な知見を確立することを検討した。その結果、口腔保健による COVID-19 の感染と重症化予防のエビデンスは見当たらず、インフルエンザに関する口腔ケアの効果の例を入れても、今のところエビデンスは無いと考えられた。一方、口腔組織への SARS-CoV-2 の感染、SARS-CoV-2 の感染に対する唾液の役割、歯科医療におけるワクチン接種を含めた院内感染対策の必要性、歯科医療における COVID-19 に対する対応の国際的な違いなど、多くの課題が明らかとなった。

口腔ケアを行うことは歯蝕予防、歯周病予防、誤嚥性肺炎予防に繋がることは間違いない。よって、ワクチン接種を含む院内感染対策を充実して、歯科医師が口腔保健を推進していくことは、間接的にでも COVID-19 の予防および患者の健康維持に関わる世界共通の目標である。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属
研究機関における職名

泉福英信・国立感染症研究所・室長

有川量崇・研究分担者・日本大学松戸歯学
部・衛生学・教授

多田章夫・研究分担者・兵庫大学教授

パワーール ウジャール クマール・研究分担

者・日本大学松戸歯学部・生化学・専任講師

早川 智・研究分担者・日本大学医学部・病態病理学系微生物学分野・教授

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)の主な感染経路は接触・飛沫感染であるが、それだけではなく新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) はエアロゾル感染の可能性も指摘されている。放出された飛沫や微粒子を眼、口腔や鼻腔から取り込んでヒトが感染すると考えられているため、口腔の疾患を扱う歯科医療従事者にとって、院内感染予防対策は重要な課題となっている。

今年2月、SARS-CoV-2の感染レセプター (ACE-2) や感染を促す酵素 (TMPRSS2) が口腔内に存在し、特に舌の上皮細胞に多く発現していることが報告 (International Journal of Oral Science, 2020, 12: 8) されているが、SARS-CoV-2の感染拡大の防止の観点から、昨年4月の時点では厚生労働省は「緊急性の低い治療については延期を検討すること」といった旨の事務連絡を出しており、当時、歯科専門職による口腔衛生管理の延期による口腔衛生状態の悪化を危惧する声も聞かれた。

口腔と SARS-CoV-2 感染や COVID-19 の関係性については、①口腔内細菌が産生するタンパク分解酵素によりインフルエンザウイルスが口腔粘膜から侵入しやすくなるという報告があることから、口腔内細菌により舌表面に形成されるバイオフィーム (舌苔) が SARS-CoV-2 の感

染を助け、後々の COVID-19 の重症化にも影響を及ぼす可能性、②重症化の一因として細菌の重感染も指摘されており、特に歯周病関連菌による口腔感染が重症化の際に起こるサイトカインストームに関与する可能性、など、インフルエンザウイルス感染と類似の機序での関連が推測されている。

しかし、COVID-19の予防や重症化予防と口腔衛生管理を含む歯科的介入の関連について、そのエビデンスが系統的に整理されたものではなく、SARS-Cov-2感染拡大の状況下における口腔衛生管理を含む歯科医療の優先度は明確になっていない。

そこで、分担課題 (泉福英信) として SARS-CoV-2感染及びCOVID-19と口腔環境や歯科的介入との関連について、COVID-19の重症化の因子やSARS-CoV-2による歯科医療における院内感染のリスク等も含め、広くこれまでの知見 (ネット、SNS、文献等) を収集し、口腔保健に対する関連性を各項目 {年代別新型コロナ感染者数からの口腔保健との関連性、歯周病と COVID-19 の発症と重症化、死者との関係性を見た論文の考察、COVID-19の重症で入院した感染者の持病と重症化のしやすさ、感染と口腔保健との関連性、口腔粘膜における ACE-2 (SARS-CoV-2の感染する際のレセプター)の発現と口腔保健、インフルエンザ感染と口腔保健} に分け、そのエビデンスレベルにおいて検証・分析を行い、効果的かつ安全な歯科保健医療の提供に資する基礎的な知見を確立することを目的として行った。

昨年来の新型コロナウイルス感染症 (以下COVID-19) の流行により、マスクミによ

る連日の報道が過熱し、ネットやSNSでは、エビデンス（科学的根拠）のない予防法や偽情報を含む多くの不適切な情報が飛び交っている。口腔ケアとCOVID-19との関連性について関しても、様々な不適切な情報が国民に露呈している。そこで、分担課題（有川量崇）として本研究では口腔ケアとCOVID-19における感染と症状との関係に焦点を当て、各関連項目に分けて（SARS-CoV-2の宿主への付着および侵入について、COVID-19とサイトカインストーム、口腔とCOVID-19との関係、口腔ケアとCOVID-19との関係性）について、文献をベースに検討することを目的として、これらに関するこれまでの研究報告を収集して、結果をまとめた。

多田章夫による分担研究課題では、インフルエンザウイルスや SARS-CoV-2 感染における口腔の健康状態や口腔ケアの及ぼすインパクトに関して集中し、徹底的にエビデンスを集め吟味することにより感染症と歯科保健医療の関係性に関する検証を目的として検討を行った。

パワー ル ウジャー ル クマールによる分担研究課題では、世界において歯科保健医療と新型コロナウイルス感染がどのような状況であるか明らかにすることを目的に検討を行った。歯科保健医療に与える効果を調査することで、民間ベースでの具体的な感染予防対策の底上げに直結することが考えられる。

早川智による分担研究課題では、口腔内の慢性炎症である歯周病は、糖尿病や関節リウマチ、動脈硬化などの増悪因子であることが知られているが、産婦人科領域では早産や子宮内胎児発育遅延、妊娠高血圧症

候群などの発生に關与する可能性が指摘されている。そこで、歯磨きや歯科治療時に容易に血中に侵入する歯周病関連細菌が胎盤絨毛を傷害することを報告したが、COVID-19 パンデミックにおいて歯周病細菌が關与する可能性を実験的に検討することを目的とした。

B. 研究方法

泉福英信、有川量崇、多田章夫、パワー ル ウジャー ル クマールは以下の方法を基本にして、検討を行った。

I.個別のクリニカルクエスションの検討

新型コロナウイルス感染症等の罹患・重症化リスクと歯科保健医療の関係性について、様々な視点から論文検索を行うとともに、そのエビデンスレベルを検証する。具体的な例として、現時点で次のA.-Cを想定しているが、新たな論文や仮説の出現等を踏まえつつ、新型コロナウイルスによる感染拡大の状況を踏まえつつ、柔軟に歯科保健医療に関する評価を行った。

A.インフルエンザは口腔ケアで予防出来るというエビデンスがあるから、COVID-19も口腔ケアで予防出来るか

口腔ケアによるインフルエンザの予防効果については、デイケアに通う要介護高齢者に対して歯科衛生士によるプロフェッショナルケアを行った場合、インフルエンザの罹患率が有意に低下したと報告された（Arch Gerontol Geriatr, 2006: 43: 157-164）。インフルエンザウイルスの表面にはヘマグルチニン（HA）及びノイラミニダーゼ（NA）が存在し、ウイルスの

細胞への感染や感染した細胞からウイルスの放出に関与している。口腔ケアが不十分で口腔内細菌が多い状態では、口腔内細菌が放出する酵素（プロテアーゼ、NA）により、インフルエンザウイルスの感染や遊離が促進されると考えられている。インフルエンザと歯科保健医療の関係性について論文収集を行い検証するとともに、同じウイルス性疾患である COVID-19 についても考察した。

※検証手順

エビデンスの収集は以下の手順で行う。

①先行するガイドラインの検索（NGC, NICE などの検索）

②文献検索データベース

（PubMed/MEDLINE, The Cochrane Library, 医中誌 Web 等）

③ 文献検索戦略（クリニカルクエスション(CQ)ごとのキーワード、シソーラスを組み合わせた検索式を2名が独立して立て、最適な検索式を作成）

④ スクリーニング（2名が独立して、タイトル、アブストラクトから CQ に合っていないものを除外。選択基準にあった文献を2名が独立して選び、結果を照合）

⑤文献管理（収集した文献をインターネット上のクラウドなどで共有）

エビデンス総体の評価は、以下の手順で行った。

①Step1（ランダム化比較試験（RCT）の評価、観察研究評価）

②Step2（エビデンス総体の評価）

エビデンス総体の統合は、以下の手順で行った。

①定性的システマティック・レビュー（質的に統合）

②定量的システマティック・レビュー（メタアナリシス）

以上を踏まえ、最終的にエビデンスの強さを決定した。

B. 口腔ケア等の歯科保健医療によって COVID-19 の予防および重症化の予防できるか

新型コロナウイルスはインフルエンザウイルスとは異なるメカニズムで細胞へ侵入し増殖、細胞外へ放出される。そのため、口腔内細菌が産生する NA も関与しない。細胞内に侵入するためのプロテアーゼの作用する様式はインフルエンザとは異なる。そこで、過去から現在までのコロナウイルス感染症(SARS, MERS, SARS-Cov2)の感染および重症化と歯科保健医療の関係性の検証を A の※と同等の手順で行った。

C. 結核、麻疹、マイコプラズマ肺炎などの様々な感染症の予防等に歯科保健医療が関係しているか

歯科保健医療が様々な感染症に対して関係があるかについても検討し、インフルエンザや COVID-19 に対して特異性があるか、A の※と同等の手順で検討を行った。

早川智の分担研究は、以下の方法で行った。

細胞増殖試験

Vero E6/TMPRSS2 細胞を 10^4 cells/well で 96 well プレートにまき、10%FBS を含む DMEM 培地で 24 時間培養した。その後、0.5%, 1%, 5%の割合で歯周病関連菌の培養上清を加え、さらに 24 時間培養した後、CCK-8 キ

ットにて細胞増殖を評価した。

SARS-CoV-2 感染実験

48 well プレートに 2×10^4 cells/well の密度で細胞をまき 24 時間培養後、1%の割合で歯周病関連菌の培養上清を含む DMEM で培地を置き換え、さらに 24 時間培養した。次に MOI=0.1 に調整した SARS-CoV-2 ウイルス液により 1 時間室温で感染させたのち、PBS で二回洗浄した。その後 2% FBS を含む DMEM 培地で 24 時間培養し、上清を回収した (-80°C で保存)。

TCID₅₀ 計測

Vero E6/TMPRSS2 をコンフルエントに培養した 96 well プレートに、上記の上清を段階希釈して加え、24 時間後にクリスタルバイオレットを含むホルマリン固定液で固定し、細胞変性を起こしている well を評価した。なお TCID₅₀ は以下の式で求めた。

$TCID_{50} = (\text{最も低い希釈倍率}) \times (\text{段階希釈した倍率}) \Sigma^{-0.5}$

$\Sigma = (\text{各希釈段階における細胞変性が認められたウェル数}) / (\text{検体数})$ の総和

蛍光免疫染色

6 well プレートにスライドガラスを入れ、その上で細胞培養を行い、上記と同様に感染実験を行った。細胞を PBS で一回洗浄した後、-20°C の冷却メタノールで 5 分間固定し、洗浄液 (1% BSA-PBS) で 5 分間洗浄した後、ブロッキング液 (3% BSA-PBST) で 30 分間ブロッキングした。抗 SARS-CoV-2 スパイク蛋白/ヌクレオカプシド抗体を 1:500 の倍率でブロッキング液に希釈し、湿潤箱に入れ 4°C で一晩インキュベートし

た。次に洗浄液で 5 分間洗浄し、ブロッキング液で 1:250 倍に希釈した Alexa Fluor® 488 標識の二次抗体で 30 分間インキュベートした後、洗浄液で 5 分間洗浄した。最後に Hoechst で対比染色を行い、マウントした。

低感受性細胞株への感染実験

ヒト絨毛癌細胞株、JEG-3, JAR, BeWo, 不死化初期絨毛細胞株 HTR8, 臍帯血管内皮細胞株 HUVEC), 末梢血単核球に同様に SARS-CoV-2 をチャレンジしてウイルス複製を観察した。

C. 研究結果および考察

1) 年代別新型コロナウイルス感染者数からの口腔保健との関連性 (泉福分担研究)

新型コロナウイルス感染者数の年代別から考えると、20代の感染者が圧倒的に多く、その次は30代、40代、50代と続き、60代、70代、10代が同程度である (図1)。歯周病は、65~74歳代をピークに発症者が多く、歯周病が新型コロナウイルスの発症に直接関わることは考えにくい。20代に一番感染者数が多いということは、行動力が高く人と濃密な物理的な接触が感染する要因であり、歯周病やう蝕は感染に関係ないと考える。また、死者は70代に増え80歳以上でさらに増える。年齢の増加に伴って死者が増えていく。しかし、歯周病は歯を失うと歯周病は無くなるので、65~74歳代をピークにして、それ以上の年齢は歯が無くなることで歯周病は逆に減ってしまう。よって、歯周病の発症時期とCOVID-19による重症化および死亡の時期は大きく異なる。これらのことから、歯周病はCOVID-19の重症化や死亡と直接関係がないと考える。

2) 歯周病とCOVID-19の発症と重症化、死者との関係性を見た論文からの考察 (泉福分担研究)

歯周病とCOVID-19との関係性を検討した論文(J Clin Periodontal 2021 Feb 1. Doi:10.1111/jcpe.13435)では、合併症を有するCOVID-19の患者40名と合併症を有していないCOVID-19の患者528名の歯周病を起こした患者を検討している。合併症は、慢性呼吸器疾患、慢性心疾患、糖尿病、皮膚炎、慢性肝疾患、癌、慢性腎疾患などを起こしていた。合併症の無いCOVID-19の患者のグループの歯周病を有する患者は225名(42.8%)で、歯周病無しか初期歯周病が303名(57.4%)であった。これは、歯周病発症が直接SARS-CoV-2の感染に関わることはないことを示唆している。合併症を有するCOVID-19患者は、歯周病患者が33名で82.5%を占め、歯周病でない患者7名で17.5%よりも遥かに高い比率であった。よって、合併症を起こしたCOVID-19の患者はより歯周病を有していることが明らかとなった。これは、合併症を起こした患者のなかで、歯周病を有すると重症化しやすいのか、重症化を起こす合併症の患者が歯周病になりやすいのかどちらかが考えられる。この論文では、死者14名、ICUへの入院36名、人工呼吸器の装着患者20名で、歯周病である患者が多かった。この結果も、合併症の患者と同様である。今後の検討が必要である。

3) COVID-19の重症で入院した感染者の持病と重症化のしやすさ(泉福分担研究)

COVID-19の重症者4,000人の死亡と既往歴を調べると、腎機能障害(腎不全、腎炎)が1位で死亡率44.0%であった(表1)。2位が心疾患(狭心症、大動脈瘤)で40.5%、3位が脳血管疾患(脳梗塞、脳出血)で39.5%、4位が慢性肺疾患(肺気腫、間質性肺炎)と癌で30.4%、6位が糖尿病(Ⅱ型糖尿病)で26.6%で持病を持っていない重症者は8.0%であった。持病を有すると重症化しやすいのは明白である。歯周病は、これらの全身疾患との関連性がある報告もされており、歯周病が間接的にCOVID-19の重症化に関与してくる可能性がある。歯周病が直接COVID-19の重症化や死亡に関わるのではなく、歯周病が全身疾患と関連して、間接的にCOVID-19の重症化と死亡に関わるということが考えられた。

4) 感染と口腔保健との関連性 (泉福分担研究)

これまでの感染者数の動向を見ると、感染はヒトの流れと接触に依存している。アメリカタフツ大学の研究チームは、接触感染よりも飛沫やエアロゾルを吸い込むことの方が感染リスクが高いことをEnvironmental Science Technology Letters (Environ Sci Technol. Lett., 2021, 8: 168-175)にて発表した。よって、感染は人と人との接触の際の咳、くしゃみ、会話による飛沫の吸引が主である。う蝕や歯周病が感染を助長させたりすることや口腔ケアで感染を予防することは、前述の論文の考察を含めて考えられない。口腔保健でCOVID-19の感染を予防できるという対応は、過剰と考えられる。

5) 口腔粘膜における ACE-2 (SARS-CoV-2の感染する際のレセプター)の発現と口腔保健 (泉福分担研究)

舌上の細胞にはACE2が多量に発現していて、舌上でSARS-CoV-2に感染して感染が広がるので、舌清掃することで感染が予防できるという説がある。その元となった論文 (International Journal Oral Science, 2020, 12: 8) のデータを見ると、確かに他の口腔組織よりも舌上皮のACE2の発現量が多いようであるが、有意差はない (P=0.062) (図2)。全身の他の組織 (結腸、心臓、腎臓、肺などと比べても舌のACE2発現量は低い (図3))。口腔内での比較では、舌は口腔底、舌根、他の口腔粘膜よりも若干多い程度で差はあまりない (図4)。口腔粘膜と唾液腺にSARS-Cov-2が感染するという論文 (Nat Med 2021 May; 27(5): 892-903)が発表された。この論文から、口腔粘膜には全般的にSARS-Cov-2は感染し、唾液腺にも感染することが明らかである。よって、舌が感染する源で舌清掃により舌苔を除去することで感染を予防できるというのは考えにくい。

6) インフルエンザ感染と口腔保健 (泉福分担研究)

インフルエンザが口腔保健により予防できるというエビデンスは、非常に薄いことが明らかとなった。(詳細は泉福の分担研究報告書を参照) たゞインフルエンザを口腔保健で予防できても、新型コロナウイルスによる感染を口腔保健で予防できることにならない。インフルエ

ンザウイルスによる感染と新型コロナウイルス感染とは、それらのメカニズムが異なる。もし、エビデンスの薄いインフルエンザの口腔保健の例を挙げて、新型コロナウイルス感染への予防効果を論じているのであれば、それは過剰な推測であるといえる。

7) 口腔と COVID-19との関係 (有川分担研究)

患者の口腔内スワブ検体を用いてRT-qPCR法を行ったところ、53.3%(15名中8名)に検出された[1]。さらに、Liliらの報告では、顎下腺の開口部である舌下小丘から分泌される唾液検体を直接採取し、RT-qPCR法を行ったところ、12.90%(31名中4名)に検出された[2]。さらに、Guptaらの報告では、COVID-19の無症候性および軽度である患者の63.64%(33名中21名)で、歯肉溝滲出液からSARS-CoV-2のRNAエンベロープ遺伝子が検出された[3]。これらの報告から、唾液中にはSARS-CoV-2が存在していることが証明され、COVID-19の診断のために重要であると示唆された。

SARS-CoV-2のレセプターであるACE2は、口腔内にも存在していることが報告された。Ruoshi Xuらの報告では、パラカルチノーマの通常組織を用いてbulk RNA-seqを行ったところ、口腔粘膜や歯肉組織、舌の上皮細胞に発現することが発見された[4]。さらに、Hao Xuらの報告では、舌の上皮細胞におけるACE2の発現は、口腔粘膜や歯肉組織の発現よりも高いことが示された[5]。Sakaguchiらの報告ではTMPRSS2は唾液や舌苔からも検出され、フーリンは唾液中から検出されたが、舌苔からは検出されな

かった。また、味蕾由来の培養細胞では、ACE2、TMPRSS2およびfurin mRNAの発現が観察されたことが報告された[6]。

2011年にLiらは、アカゲザルの咽頭粘膜表面に存在する小唾液腺の上皮細胞にACE2が発現することを報告し、SARS-CoVの感染が呼吸器へ広がるよりも早期に、感染を認識できる可能性を示唆している[7]。さらにUsamiらは、ヒトの大・小唾液腺（口唇腺、口蓋腺、顎下腺）からACE2タンパクが発現することを報告し、唾液腺にはSARS-CoV-19が蓄積する可能性を示唆している[8]。またXuらは、GTEX portalを用いて、ヒトの臓器におけるACE2遺伝子の発現量を解析し、肺よりも小唾液腺で発現が高いと報告した[9]。

8) 口腔ケアとCOVID-19との関係性（有川分担研究）

口腔疾患の一つである歯周病は、歯周病原細菌による炎症性疾患であり、誤嚥性肺炎や慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患と関連することが知られている。

Hayataらはin vivoの実験において、歯周病原細菌である*Fusobacterium nucleatum*が下気道における炎症誘発性サイトカインの産生を誘導することを報告した[10]。Takahashiらはin vitroにおける実験で、歯周病原細菌がヒトの呼吸器の細胞におけるACE2の発現が上昇することを報告した[12]。これらのことから、口腔衛生状態の低下が生じている時、口腔内の歯周病原細菌の誤嚥により、気道におけるACE2発現が上昇し、炎症性サイトカインの産生も活発になることによりサイトカインストームが生じる可能性が高くなり、COVID-19を

悪化させる可能性を示唆している[11]報告もある。

口腔ケアの一つに洗口が挙げられ、その洗口とCOVID-19についていくつかのグループが報告している。Carrouelらは、現時点で歯科医院または共同体におけるSARS-CoV-2の感染に対する十分な口腔ケアの効果の科学的根拠は認められないと報告している[12]。上述の研究は、歯科治療における患者から歯科医療従事者への感染予防対策のための研究が主であり、洗口と個々の感染予防の因果関係については現在のところ報告されていない。

9) インフルエンザウイルス感染における口腔の健康の影響（多田分担研究）

1 口腔細菌の影響

歯周疾患原因菌*P. gingivalis*とインフルエンザウイルスH1N1のin vitro系での混合感染にH1N1単独感染に比べ肺上皮細胞における炎症性サイトカイン産生増加とアポトーシスの増加がみられ、*P. gingivalis*がインフルエンザウイルスによる細胞アポトーシスを促進することが示唆された[13]。口腔常在菌である*Streptococcus*とインフルエンザウイルスをin vitroで共感染させるとインフルエンザウイルスの増殖を促進されるという報告もある[14]。しかし、これらの研究結果が、実際の生体内で再現されるかは不確定である。

2 歯周疾患による免疫抑制

重度歯周疾患を有するものにおける局所反応が全身に広がり、全身の免疫を低下させることがある。*P. gingivalis*などの嫌気性グラム陰性菌はT細胞やB細胞の増殖を抑

制し[15]、その結果、炎症性サイトカインの誘発や immunocompetents 細胞のアポトーシスを誘発し、その結果、免疫系を低下させるため、インフルエンザウイルスなどの感染が発生しやすくなると考えられる。

3. 唾液免疫による影響

唾液中に含まれる自然免疫物質のうち、GP340 とシアル酸にインフルエンザウイルス抑制活性が報告された。GP340 は唾液中における濃度と同じ濃度でインフルエンザウイルスに対し著明な抗 HA 活性や中和活性を示した[16]。GP340 によるインフルエンザウイルス凝集能は SP-D もしくは SP-A を反応系に加えることにより相乗作用がみられた[17]。シアル酸も同様に、唾液中と同じ濃度でインフルエンザウイルスに対し著明な抗 HA 活性や中和活性を示した。sIgA 抗体はインフルエンザ等の粘膜組織を標的とした感染症に対する生体防御の最前線で機能している。自然感染により粘膜組織から分泌されるが、現行の筋肉注射や静脈注射では誘導できなかった。しかしながら、経鼻不活化インフルエンザワクチン有意に唾液中の sIgA 分泌を増加させることが報告された[18]。

10) SARS-CoV-2 感染における口腔の健康の影響

1 唾液中の sIgA による SARS-CoV-2 感染予防の可能性

SARS-CoV-2 のレセプターである angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) は多様な種類の細胞で発現されており、唾液腺はその一つである。実際、SARS-CoV-2 は唾液腺に感染することが分かっている。唾液

による抗 SARS-CoV-2 効果はまだ報告されていないが唾液が関与する免疫によるウイルス感染阻害があると考えられる。COVID-19 患者で唾液中の IgA レベルと COVID-19 disease 重症度との間に有意な相関性が報告されている [19]。大部分の SARS-CoV2 感染者の唾液サンプルは SARS-CoV2 pseudotyped ウイルス粒子を中和し、その中和活性と抗-RBD IgA 価の間に有意な相関性があった ($r=-0.796$, $p<0.008$) [20]。唾液中の sIgA が SARS-CoV2 感染を防ぐ可能性が期待される。

2 唾液中のシアル酸は SARS-CoV-2 感染を抑制する可能性がある？

バイオメトリック研究は SARS-CoV-2 スパイクタンパク質がシアル酸と結合するようなアミノ酸配列を持っていることを明らかにした[21, 22]。唾液中のシアル酸と結合することにより ACE2 への結合が阻害されている可能性がある。

11) 世界における COVID-19 と歯科の関連性 (パワーフル ウジャール クマール分担研究)

1. アメリカ合衆国 [23, 24, 25]

The American Dental Association (ADA) と The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) は歯科医療従事者へのワクチン接種は優先させるよう働きかけている。ADA は国会への訴えと、パンデミック中の歯科医療従事者への感染防止、体調管理を続けている。

また、カルフォルニア州では認定を受けた歯科医師によるワクチン接種の普及を進めている。講習を受講し認定された歯科医

師は 16 歳以上の人々に対するワクチン接種が可能である。The California Dental Association (CDA)は歯科医師によるワクチン接種を主導することに重点をおいた活動を行っている。

さらに、*Journal of Dental Hygiene* 2021 によるとアメリカ合衆国において、新型コロナウイルスの流行と歯科衛生士による処置は関連があることが以下のように明記されている。

“歯科治療と新型コロナウイルス感染率が低いことを調査した結果、歯科治療と衛生士による口腔予防処置は安全なものである”

2. カナダ [26]

The Ontario Dental Association (ODA)は熟考の結果、歯科医療従事者をワクチン接種の第一優先に含むことを希望している。オンタリオ州の歯科医療従事者は、新型コロナウイルス感染リスクが非常に高く、専門家による体調管理早急なワクチン接種が必要である。

3. イギリス [27.28]

すべての歯科医療従事者はワクチン接種を優先して受けることが可能である。現在の政府の計画では、2 月中旬には歯科医療従事者へのワクチン接種を開始する。

4. ドイツ [29]

The German Dental Association (BZÄK)、The National Association of Statutory Health Insurance Dentists (KZBV)、The German Society of Dentistry and Oral Medicine (DGZMK)は、歯科医療従事者は早急にワクチン接種が受けられるよう訴えている。歯

科医療従事者はパンデミック中臨床を継続させるための、医学的、また道徳的な条件を満たしている。

5. オーストラリア [30]

パンデミックの間、オーストラリアは他国と比較して、早期に強制的なロックダウンを開始し、行動自粛により、感染リスクを可能な限り抑えることに成功している。2020 年 11 月に Federal Minister for Health (Greg Hunt) はワクチン接種の第一軍に歯科医療従事者は含まれ、2021 年 6 月までに行われることを明確にした。

6. アラブ首長国連邦 [31]

人々は独自の予防策を行っており、各個人の知識、意識、行動様式を KAP セオリーを用いて分析した。人口 1602 名に対しアンケート調査を行った。対象者の 71%が豊富な知識を持っており、78%の人々に良識があり、76%の人々の行動に問題がないことが明らかとなった。94%が握手を控え、93.3%が常にマスクを着用し、85.5%が手指消毒をしている。66%が手洗いを徹底し、22.7%がはちみつ入りのしょうがを飲んでいる。13%は頻繁ににんにくを摂取している。82%が定期的に新型コロナウイルスに対する医学的知識を得ているが、10%は非常に乏しい知識であった。以上のことからアラブ首長国連邦の多くの国民は、知識が豊富で良識ある行動と意識を持っていることが明らかである。

12) 歯周病菌培養上清による細胞傷害性 (早川分担研究)

実験を用いた検討をおこなった。トロホ

プラスト細胞株では SARS-CoV-2 の増殖が困難であるため、VeroE6/TMPRSS2 を用いて感染実験を行った。まず細胞毒性を検証したところ上清濃度 5% で毒性を認める場合があったため、上清 1% を用いることとした。(図 5)

13) 歯周病菌培養上清による Vero E6/TMPRSS2 でのウイルス複製への影響

歯周病菌全ての培養上清を検討したが、*Porphyromonas gingivalis* 2 株の上清において TCID₅₀ の上昇が認められた。P. g. 33277 株の上清は VeroE6/TMPRSS2 における SARS-CoV-2 の増殖を促進した。(図 6, 7)

14) 低感受性細胞株への影響

絨毛や血管内皮、末梢血単核細胞などの低感受性細胞株では細菌培養上清の感受性亢進効果は見られなかった。

D. 総合の考察

口腔と COVID-19 との関連性、口腔ケアと COVID-19 との関連性を検討した。口腔と COVID-19 の関連性の報告は、特に唾液中に SARS-CoV-2 が存在していることが証明されており、COVID-19 の診断に有用であると示されていた。COVID-19 を診断する為には、従来、鼻咽頭ぬぐい液や鼻腔ぬぐい液などを使用していたが、患者と医療従事者の距離が近くなり、医療従事者のウイルス感染のリスクに晒されてしまうことや、不快感を与え、出血の原因になる可能性もあり、検体の一つに唾液が期待されていた。現在、唾液が検体として使用される場面も多く出ている。また、舌や唾液線などの口腔組織には SARS-CoV-2 を認識するための

ACE2 レセプターや侵入を促進させる TMPRSS2 やフーリンなどのプロテアーゼが存在することは証明されており、口腔内の組織には SARS-CoV-19 が付着および侵入するための重要な役割を果たしている可能性が十分に考えられる。一方、口腔ケアと COVID-19 との関連性についての報告はほとんど存在しない。

今回の検討から新型コロナウイルスと口腔保健を結びつける明らかな証拠を見つけることが出来なかった。特に口腔ケアで COVID-19 の感染を予防できることはできないと考える。さらに歯周病と COVID-19 の重症化については、カタルーにおける検討が発表された。この論文では、全身疾患を有する COVID-19 の患者において、歯周病疾患を有することが多いことが明らかとなった。また、死者や人工呼吸器装着患者においても歯周病疾患患者が多い傾向であった。これは、全身疾患を有する COVID-19 の患者が歯周病になりやすいのかもしれない。歯周病が全身疾患の発症に関わり COVID-19 の重症化に関わるのかもしれない。いずれにしても被験者数が 40 という少ない数の検討であるため、今後の大規模調査が必要である。

COVID-19 と同様であるウイルス感染症の一つにインフルエンザや、誤嚥性肺炎や慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患と、口腔ケアの関連性の報告があるが、その報告はと同等に COVID-19 感染リスクが口腔ケアによって軽減されるとの資料が SNS 上で散見されるが、縦断研究は皆無であり、それらの根拠はまだない。いずれにしても、歯周病が COVID-19 の重症化や死亡に直

接関わることはないと考えられた。

口腔保健によるCOVID-19の感染と重症化予防のエビデンスは、インフルエンザに関する口腔ケアの効果の例を入れても、今のところ無いと考えられた。しかし、口腔ケアを行うことはう蝕予防、歯周病予防、誤嚥性肺炎予防に繋がることが考えられ、口腔の健康が維持されれば食事がおいしく食べられることで免疫力も上がり、COVID-19の重症化に対して抵抗力が付くと考えられる。よって、う蝕および歯周病予防のための口腔保健を推進していくことは、間接的にCOVID-19の重症化予防に繋がると考えられる。

唾液の抗ウイルス作用としての重要性を示唆した。特にワクチン接種をした場合、唾液中に抗ウイルス抗体が分泌されることが獣医用である。唾液をしっかりと誘導することで、ウイルス除去の機会を増やすことが期待できる。よって、歯科医師がワクチン接種を受けることは、口腔が感染場所として関わるなら重要なことである。

E. 結論

口腔ケアを行うことはう蝕予防、歯周病予防、誤嚥性肺炎予防に繋がるとは間違いない。よって、ワクチン接種を含む院内感染対策を充実して、歯科医師が口腔保健を推進していくことは、間接的にでも COVID-19 の予防および患者の健康維持に関わる世界共通の目標である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Akio Tada, Hidenobu Senpuku. The impact of oral health on respiratory viral infection. Dentistry Journal, 20

21, 9(4):43.

2. 学会発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3.その他

特になし

H. 参考文献

1. Zhang, W et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerging Microbes & Infections* 2020; 9: 386-389.

2. Chen L. et al. Detection of 2019-nCoV in Saliva and Characterization of Oral Symptoms in COVID-19 Patients. *The Lancet Infectious Diseases* 2020.

3. Gupta, S. et al. SARS-CoV-2 Detection in Gingival Crevicular Fluid. *Journal of Dental Research* 2020; 100(2):187-193.

4. Xu, R. et al. Saliva: potential diagnostic value and transmission of 2019-nCoV. *International Journal of Oral Science* 2020; 12(11).

5. Xu, H. et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science* 2020; 12(8).

6. Wakako, S. et al. Existence of SARS-CoV-2 Entry Molecules in the Oral

- Cavity. *International Journal of Molecular Sciences* 2020; 21(17): 6000.
7. Liu, L et al. Epithelial cells lining salivary gland ducts are early target cells of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection in the upper respiratory tracts of rhesus macaques. *Journal of virology* 2011; 85(8): 4025–4030.
 8. Yu, U. et al. Brief communication: Immunohistochemical detection of ACE2 in human salivary gland. *Oral Science International* 2020; doi:10.1002/osi2.1085.
 9. Xu, J. et al. Salivary Glands: Potential Reservoirs for COVID-19 Asymptomatic Infection. *Journal of Dental Research* 2020; 99(8): 989.
 10. Mayumi, H. et al. The Periodontopathic Bacterium *Fusobacterium nucleatum* Induced Proinflammatory Cytokine Production by Human Respiratory Epithelial Cell Lines and in the Lower Respiratory Organs in Mice. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2019; 53: 49-61.
 11. Yuwa, T. et al. Aspiration of periodontopathic bacteria due to poor oral hygiene potentially contributes to the aggravation of COVID-19. *Journal of Oral Science* 2021; 63(1): 1-3.
 12. Carrouel, F. et al. Antiviral Activity of Reagents in Mouth Rinses against SARS-CoV-2. *Journal of Dental Research* 2020; 100(2): 124-132.
 13. Li, X.; Li, C.; Liu, J.C.; Pan, Y.P.; Li, Y.G. In vitro effect of *Porphyromonas gingivalis* combined with influenza A virus on respiratory epithelial cells. *Arch. Oral Biol.* **2018**, 95, 125-133. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.04.003. Epub 2018 Apr 5.
 14. Nishioka, K.; Kyo, M.; Nakaya, T.; Shime, N. Proteins produced by *Streptococcus* species in the lower respiratory tract can modify antiviral responses against influenza virus in respiratory epithelial cells. *Microbes Infect.* **2020**, 104764. doi: 10.1016/j.micinf.2020.09.010.
 15. Kurita-Ochiai, T.; Fukushima, K.; Ochiai, K. Volatile fatty acids, metabolic by-products of periodontopathic bacteria and cytokine production. *J. Dent. Res.* **1995**, 74, 1367-1773.
 16. Malamud, D.; Abrams, W.R.; Barber, C.A.; Weissman, D.; Rehtanz, M.; Golub, E. Antiviral activities in human saliva. *Adv. Dent. Res.* **2011**, 23, 34-37. doi: 10.1177/0022034511399282.
 17. White MR, Crouch E, van Eijk M, Hartshorn M, Pemberton L, Tornoe I, Holmskov U, Hartshorn KL. Cooperative anti-influenza activities of respiratory innate immune proteins and neuraminidase inhibitor *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005, 288, L831-40. doi: 10.1152/ajplung.00365.2004. Epub 2004 Dec 17.
 18. Langley, J.M.; Aoki, F.; Ward, B.J.; McGeer, A.; Angel, J.B.; Stiver, G.; Gorfinkel, I.; Shu, D.; White, L.; Lasko, B.; Dzungowski, P.; Papp, K.; Alexander, M.; Boivin, G.; Fries,

- L. A nasally administered trivalent inactivated influenza vaccine is well tolerated, stimulates both mucosal and systemic immunity, and potentially protects against influenza illness. *Vaccine* **2011** 29,1921-1928. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.12.100. Epub 2011 Jan 8.
19. Varadhachary, A.; Chatterjee, D.; Garza, J.; Garr, R.P.; Foley, C.; Letkeman, A.F.; Dean, J.; Haug, D.; Breeze, J.; Traylor, R.; Malek, A.; Nath, R.; Linbeck, L Salivary anti-SARS-CoV-2 IgA as an accessible biomarker of mucosal immunity against COVID-19 *medRxiv*. **2020**, 2020.08.07.20170258. doi: 10.1101/2020.08.07.20170258.
20. Sterlin, D.; Mathian, A.; Miyara, M.; Mohr, A.; Anna, F.; Claër, L.; Quentric, P.; Fadlallah, J.; Devilliers, H.; Ghillani, P.; Gunn C, Hockett R, Mudumba S, Guihot A, Luyt CE, Mayaux J, Beurton A, Fourati, S.; Bruel, T.; Schwartz, O.; Lacorte, J.M.; Yssel, H.; Parizot, C.; Dorgham, K.; Charneau, P.; Amoura, Z.; Gorochov, G. IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2. *Sci. Transl. Med.* **2021**, 13, eabd2223.
21. Robson, B. Bioinformatics studies on a function of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein as the binding of host sialic acid glycans. *Comput. Biol. Med.* **2020**, 122:103849. doi: 10.1016/j.compbio.2020.103849. Epub 2020 Jun 8.
22. Seyran, M.; Takayama, K.; Uversky, V.N.; Lundstrom, K.; Palù, G.; Sherchan, S.P.; Attrish, D.; Rezaei, N.; Aljabali, A.A.A.; Ghosh, S.; Pizzol, D.; Chauhan, G.; Adadi, P.; Mohamed Abd El-Aziz, T.; Soares, A.G.; Kandimalla, R.; Tambuwala, M.; Hassan, S.S.; Azad, G.K.; Pal Choudhury, P.; Baetas-da-Cruz, W.; Serrano-Aroca, Á.; Brufsky, A.M.; Uhal, B.D. The structural basis of accelerated host cell entry by SARS-CoV-2. *FEBS J.* **2020**, 10.1111/febs.15651. doi: 10.1111/febs.15651.
23. COVID-19 Vaccines for Healthcare Personnel. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), Division of Viral Diseases.
24. Study reports low SARS-CoV-2 infection rate among dental hygienists in the US. Dental Tribune International.
25. COVID-19 Prevalence and Related Practices among Dental Hygienists in the United States. *J Dent Hyg* 2021; 95(1): 6-16.
26. Ontario dental association calls for early access to COVID-19 vaccine for dentists, staff. Global News.
27. England: Priority vaccine access confirmed. British Dental Association..
28. Dental teams 'second in line' for COVID-19 vaccine. Dentistry Online.
29. COVID-19 vaccination: Where does the dental profession stand? Dental Tribune International.
30. Dentists included in first batch of COVID vaccine recipients in Australia. Australian Dental Association.
31. Knowledge, attitude, and practice towards COVID-19 among UAE residents: an online Cross-sectional survey. *Dubai Medical Journal* 2021.

図1 年代別感染状況

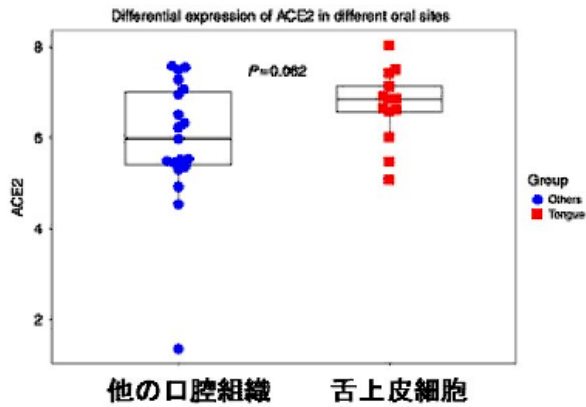
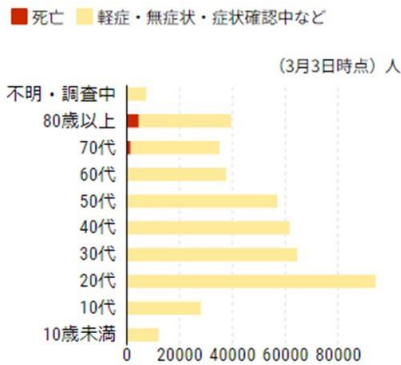


図2 口腔組織および舌上皮細胞におけるACE-2の発現

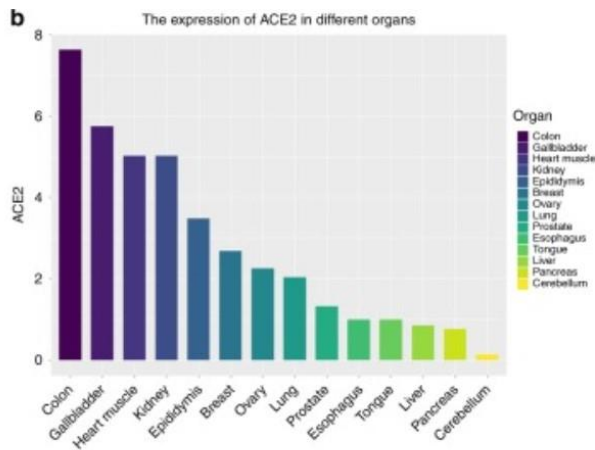


図3 各臓器におけるACE-2の発現

表1 COVID-19の重症化と全身疾患との関係

持病・既往症によって、命を落とす危険度は違う

→重症で入院した感染者の持病と死亡率を調べると……

既往症 (主な病名)	死亡率	内訳	重症化 しやすさ
持病、基礎疾患 がない	8.0%	440人中 35人死亡	1.0倍
1位 腎機能障害 (腎不全、腎炎)	44.0%	25人中 11人死亡	4.0倍↑
2位 心疾患 (狭心症、大動脈瘤)	40.5%	121人中 49人死亡	3.4倍↑
3位 脳血管障害 (脳梗塞、脳出血)	39.5%	114人中 45人死亡	1.8倍↑
4位 慢性肺疾患 (肺炎腫、間質性肺炎)	30.4%	102人中 31人死亡	5.7倍↑
4位 がん (胃がん、大腸がん)	30.4%	79人中 24人死亡	3.6倍↑
6位 糖尿病 (2型糖尿病)	25.8%	299人中 77人死亡	2.3倍↑
7位 肝疾患 (肝硬変、肝炎)	25.6%	39人中 10人死亡	3.0倍↑
8位 高血圧(収縮期で 140mmHg以上)	19.5%	329人中 64人死亡	2.0倍↑
9位 高脂血症 (脂質異常症)	16.1%	155人中 25人死亡	データ なし
10位 肥満 (BMI30以上)	9.6%	83人中 8人死亡	3.0倍↑

COVIREGI-JP「COVID-19レジストリ研究解析結果、重症化を予測する液性因子について」より、重症化リスクはCDC、COVID-19、People with Certain Medical Conditionsを参照

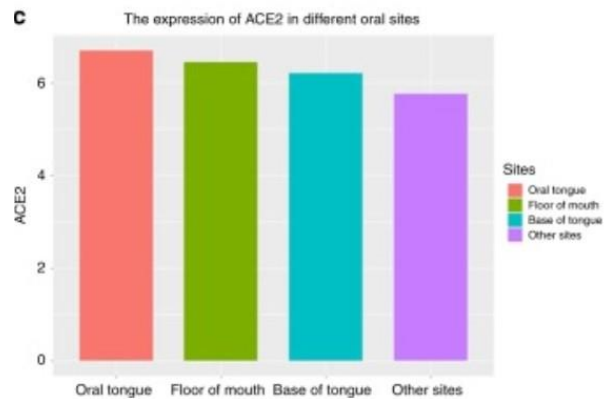


図4 口腔におけるACE-2の発現

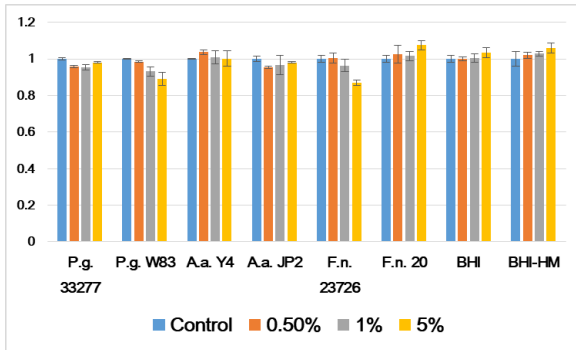


図5 口腔細菌の培養上清による VeroE6/TMPRSS2 の細胞毒性の検討

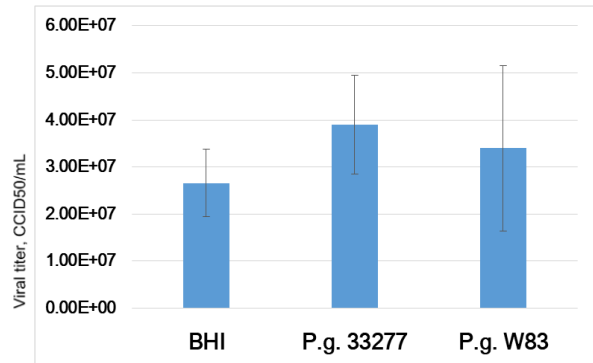


図7 培養上清中の SARS-CoV-2 と *P.gingivalis* 株の培養上清の影響

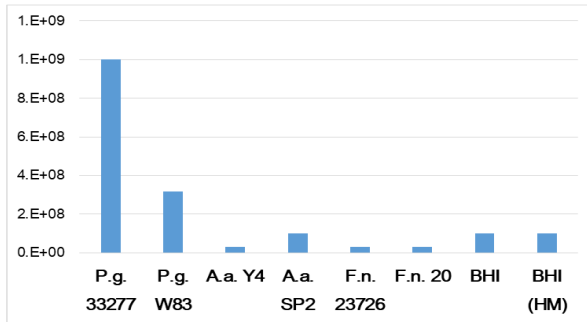


図6 SARS-CoV-2 の感染に対する各種細菌培養上清の影響

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(厚生労働科学特別研究事業)
分担研究報告書

新型コロナウイルス感染症等の感染リスクと歯科保健医療の関係性の検証

研究分担者 泉福 英信 国立感染症研究所

研究要旨

口腔内細菌叢を正常に保つことでSARS-Cov-2の感染予防が期待できるという考えのもと、一部の歯科医療従事者の間では、新型コロナウイルス感染症の発症予防及び重症化予防の観点から、舌苔の除去を含めた口腔ケアによる口腔衛生管理などの歯科的介入の必要性・重要性を啓発する動きがある。

しかし、COVID-19の予防や重症化予防と口腔衛生管理を含む歯科的介入の関連について、そのエビデンスが系統的に整理されたものはなく、SARS-Cov-2感染拡大の状況下における口腔衛生管理を含む歯科医療の優先度は明確になっていない。

そこで、本研究では、SARS-Cov-2感染及びCOVID-19と口腔環境や歯科的介入との関連について、COVID-19の重症化の因子やSARS-Cov-2による歯科医療における院内感染のリスク等も含め、広くこれまでの知見を収集し、そのエビデンスレベルも含めて検証・分析を行い、効果的かつ安全な歯科保健医療の提供に資する基礎的な知見を確立することを検討した。その結果、口腔保健によるCOVID-19の感染と重症化予防のエビデンスは見当たらず、インフルエンザに関する口腔ケアの効果の例を入れても、今のところエビデンスは無いと考えられた。しかし、口腔ケアを行うことはう蝕予防、歯周病予防、誤嚥性肺炎予防に繋がる。よって、口腔保健を推進していくことは、口腔の健康を維持していくことによる間接的なCOVID-19の重症化予防が期待できる。

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の主な感染経路は接触・飛沫感染であるが、それだけではなく新型コロナウイルス(SARS-Cov-2)はエアロゾル感染の可能性も指摘されている。放出された飛沫や微粒子を眼、口腔や鼻腔から取り込んでヒトが感染すると考えられているため、口腔の疾患を扱う歯科医療

従事者にとって、院内感染予防対策は重要な課題となっている。

今年2月、SARS-Cov-2の感染レセプター(ACE-2)や感染を促す酵素(TMPRSS2)が口腔内に存在し、特に舌の上皮細胞に多く発現していることが報告(International Journal of Oral Science, 2020, 12: 8)されているが、SARS-Cov-2の感染拡大の防止の観点から、4月の時点では

厚生労働省は「緊急性の低い治療については延期を検討すること」といった旨の事務連絡を出しており、当時、歯科専門職による口腔衛生管理の延期による口腔衛生状態の悪化を危惧する声も聞かれた。

口腔と SARS-Cov-2 感染や COVID-19 の関係性については、①口腔内細菌が産生するタンパク分解酵素によりインフルエンザウイルスが口腔粘膜から侵入しやすくなるという報告があることから、口腔内細菌により舌表面に形成されるバイオフィーム(舌苔)が SARS-Cov-2 の感染を助け、後々の COVID-19 の重症化にも影響を及ぼす可能性、②重症化の一因として細菌の重感染も指摘されており、特に歯周病関連菌による口腔感染が重症化の際に起こるサイトカインストームに関与する可能性、など、インフルエンザウイルス感染と類似の機序での関連が推測されている。

こうした背景から、口腔内細菌叢を正常に保つことで SARS-Cov-2 の感染予防が期待できるという考えのもと、一部の歯科医療従事者の間では、新型コロナウイルス感染症の発症予防及び重症化予防の観点から、舌苔の除去を含めた口腔ケアによる口腔衛生管理などの歯科的介入の必要性・重要性を啓発する動きも出てきている。

しかし、COVID-19 の予防や重症化予防と口腔衛生管理を含む歯科的介入の関連について、そのエビデンスが系統的に整理されたものではなく、SARS-Cov-2 感染拡大の状況下における口腔衛生管理を含む歯科医療の優先度は明確になっていない。

そこで、本研究では、SARS-Cov-2 感染

及び COVID-19 と口腔環境や歯科的介入との関連について、COVID-19 の重症化の因子や SARS-Cov-2 による歯科医療における院内感染のリスク等も含め、広くこれまでの知見を収集し、そのエビデンスレベルも含めて検証・分析を行い、効果的かつ安全な歯科保健医療の提供に資する基礎的な知見を確立することを目的とする。

B. 研究方法

I. 個別のクリニカルクエスションの検討

新型コロナウイルス感染症等の罹患・重症化リスクと歯科保健医療の関係性について、様々な視点から論文検索を行うとともに、そのエビデンスレベルを検証する。具体的な例として、現時点で次の A.~C を想定しているが、新たな論文や仮説の出現等を踏まえつつ、新型コロナウイルス感染症の状況を踏まえつつ、柔軟に歯科保健医療に関する評価を行う。

A. インフルエンザは口腔ケアで予防出来るというエビデンスがあるから、COVID-19 も口腔ケアで予防出来るか

口腔ケアによるインフルエンザの予防効果については、デイケアに通う要介護高齢者に対して歯科衛生士によるプロフェッショナルケアを行った場合、インフルエンザの罹患率が有意に低下したと報告された (Arch Gerontol Geriatr, 2006: 43: 157-164)。インフルエンザウイルスの表面にはヘマグルチニン (HA) 及びノイラミニダーゼ (NA) が存在し、ウイルスの細胞への感染や感染した細胞からウイルスの放出に関与している。口腔ケアが不

十分に口腔内細菌が多い状態では、口腔内細菌が放出する酵素（プロテアーゼ、NA）により、インフルエンザウイルスの感染や遊離が促進されると考えられている。インフルエンザと歯科保健医療の関係性について論文収集を行い検証するとともに、同じウイルス性疾患であるCOVID-19についても考察する。

※検証手順

エビデンスの収集は以下の手順で行う。

- ①先行するガイドラインの検索（NGC, NICEなどの検索）
- ②文献検索データベース
（PubMed/MEDLINE, The Cochrane Library, 医中誌 Web 等）
- ③文献検索戦略（クリニカルクエスション(CQ)ごとのキーワード、シソーラスを組み合わせた検索式を2名が独立して立て、最適な検索式を作成）
- ④スクリーニング（2名が独立して、タイトル、アブストラクトからCQに合っていないものを除外。選択基準にあった文献を2名が独立して選び、結果を照合）
- ⑤文献管理（収集した文献をインターネット上のクラウドなどで共有）

エビデンス総体の評価は、以下の手順で行う。

- ①Step1（ランダム化比較試験（RCT）の評価、観察研究評価）
 - ②Step2（エビデンス総体の評価）
- エビデンス総体の統合は、以下の手順で行う。
- ①定性的システマティック・レビュー（質的に統合）
 - ②定量的システマティック・レビュー（メタアナリシス）

以上を踏まえ、最終的にエビデンスの強さを決定する。

B. 口腔ケア等の歯科保健医療によってCOVID-19の予防および重症化の予防ができるか

新型コロナウイルスはインフルエンザウイルスとは異なるメカニズムで細胞へ侵入し増殖、細胞外へ放出される。そのため、口腔内細菌が産生するNAも関与しない。細胞内に侵入するためのプロテアーゼの作用する様式はインフルエンザとは異なる。そこで、過去から現在までのコロナウイルス感染症(SARS, MERS, SARS-Cov2)の感染および重症化と歯科保健医療の関係性の検証をAの※と同等の手順で行う。

C. 結核、麻疹、マイコプラズマ肺炎などの様々な感染症の予防等に歯科保健医療が関係しているか(泉福、多田)

歯科保健医療が様々な感染症に対して関係があるかについても検討し、インフルエンザやCOVID-19に対して特異性があるか、Aの※と同等の手順で検討を行う。

C. 研究結果および考察

1) 年代別新型コロナ感染者数からの口腔保健との関連性

新型コロナ感染者数の年代別における異なりから口腔疾患との関連性を考察した。20代の感染者が圧倒的に多く、その次は30代、40代、50代と続き、60代、70代、10代が同程度である（図1）。歯周病は、65～74歳代をピークに発症者が多いことを考えると、歯周病が新型コロナの発症に

直接関わることは考えにくい。行動力の高い20代が一番感染者数が多いということは、物理的な接触が感染する要因であり、歯周病やう蝕は感染に関係ない。また、死者は70代に増え80歳以上でさらに増える。年齢の増加に伴って死者が増えていく。しかし、歯周病は歯を失うと歯周病は無くなるので、65～74歳代をピークにして、それ以上の年齢は歯が無くなることで歯周病は逆に減ってしまう。よって、歯周病はCOVID-19の重症化や死亡と直接関係がないと考える。

2) 歯周病とCOVID-19の発症と重症化、死者との関係性を見た論文の考察

Pubmed で”COVID-19”と”Periodontal diseases”で検索すると32報ほどヒットしたが、そのほとんどが過去の論文の総説や仮説の構築、臨床研究が必要である理由を提示した論文ほとんどであり、歯周病とCOVID-19の発症と重症化や死者との関連性を研究した論文は数少ない。その中で歯周病とCOVID-19との関係性を検討した論文(J Clin Periodontal 2021 Feb 1. Doi:10.1111/jcpe.13435)では、質の高いものが2月にJournal Clinical Periodontologyにて発表された。歯周病の診断としてレントゲン写真を使っている。カタールでの研究である。合併症を有するCOVID-19の患者40名と合併症を有していないCOVID-19の患者528名の歯周病を起こした患者を検討している。合併症は、慢性呼吸器疾患、慢性心疾患、糖尿病、皮膚炎、慢性肝疾患、癌、慢性腎疾患などを起こしていた。合併症の無いCOVID19の患者は、平均年齢41.5歳、合併症のある

COVID-19は53.6歳と年齢が高かった(表1)。これらのグループの歯周病を有する患者は、合併症のないCOVID19の患者で225名(42.8%)で歯周病無しか初期歯周病が303名(57.4%)であった(表2)。これは、日本人における41.5歳の歯周病患者の比率と似ていることから、歯周病発症がSARS-Cov-2の感染に関わることはないと考えられる。合併症のあるCOVID-19は、歯周病患者が33名で82.5%で、歯周病でない患者7名で17.5%よりも遥かに高い比率であった。よって、合併症を起こしたCOVID-19の患者はより歯周病を有していることが明らかとなった。これは、合併症を起こした患者のなかで、歯周病を有すると重症化しやすいのか、重症化を起こす合併症の患者が歯周病になりやすいのかどちらかが考えられる。40名と少ない数の中で検討された結果であることから、大人数での今後の解析が必要である。この論文では、死者14名、ICUへの入院36名、人工呼吸器の装着患者20名でも歯周病である患者が多かった(表3)。この結果も、合併症の患者と同様である。今後の検討が必要である。

昨年(2020年)の11月にFront Medicineで発表された論文(Front Med 2020 Nov 23; 7: 604980)では、歯周病と病院への入院と死亡との関係が検討された。歯肉出血と痛みや歯の喪失は、COVID-19との関係性はないことが報告された(表4)。入院との関係もなかった。しかし、死亡との関係は僅かに歯周病との関係が認められた(表5)。これも、死亡者に置いて歯周病を起こしているケースが多いことを示しているが、その因果関係は不明である。

3) COVID-19の重症で入院した感染者の持病と重症化のしやすさ

COVID-19の重症者4000人の死亡と既往歴を調べると、腎機能障害（腎不全、腎炎）が1位で死亡率44.0%であった（表6）。2位が心疾患（狭心症、大動脈瘤）で40.5%、3位が脳血管疾患（脳梗塞、脳出血）で39.5%、4位が慢性肺疾患（肺気腫、間質性肺炎）と癌で30.4%、6位が糖尿病（Ⅱ型糖尿病）で26.6%で持病を持っていない重症者は8.0%であった。持病を有すると重症化しやすいのは明白である。歯周病は、これらの全身疾患との関連性がある報告もされており、全身疾患と歯周病との関連性から、歯周病が間接的にCOVID-19の重症化に関与してくる可能性がある。重症化は血栓と関わりがあることが指摘され、また全身疾患との関係性が深いことが考えられ、歯周病が直接COVID-19の重症化に関わる可能性は低い。

4) 感染と口腔保健との関連性

2020年春にCOVID-19の感染者が増えて4月16日に全国で緊急事態宣言が出されて感染者が減った（図2）。5月25日に一斉に緊急事態宣言が解除されて7月後半から8月にかけて感染者が増加しその後減少した。その後12月を過ぎて年末年始に入ると感染者が急増し死者も増えた。1月7日に緊急事態宣言が1都3県から11都府県に拡大すると感染者はその後急減した。この流れを見ると、感染はヒトの流れと接触に依存している。春休み、夏休み、冬休みで増加し緊急事態宣言により

物理的な封じ込めを行うと減少するというのを繰り返している。アメリカタフツ大学の研究チームは、接触感染よりも飛沫やエアロゾルを吸い込むことの方が感染リスクが高いことを *Environmental Science Technology Letters (Environ Sci Technol. Lett., 2021, 8: 168-175)* にて発表した。よって、感染は人と人との接触の際の咳、くしゃみ、会話による飛沫の吸引が主である。う蝕や歯周病が感染を助長させたりすることや口腔ケアで感染を予防することは、前述の論文の考察を含めて考えられない。口腔保健でCOVID-19の感染を予防できるという対応は、行き過ぎていると言わざる負えない。

5) 口腔粘膜における ACE-2 (SARS-Cov-2の感染する際のレセプター) の発現と口腔保健

舌上の細胞にはACE2が多量に発現していて、舌上でSARS-CoV-2が感染して感染が広がるので、舌清掃することで感染が予防できるという説が現れた。その元となった論文 (*International Journal Oral Science, 2020, 12: 8*) のデータを見ると、確かに他の口腔組織よりも舌上皮のACE2の発現量が多いようであるが、有意差はない ($P=0.062$) (図3)。全身の他の組織（結腸、心臓、腎臓、肺などと比べても舌のACE2発現量は低い（図4）。口腔内での比較では、舌は口腔底、舌根、他の口腔粘膜よりも若干多い程度で差はあまりない（図5）。神奈川歯科大学の坂口先生のグループの論文 (*Int J Mol Sci 2020 Aug 20; 21(17): E6000*) では、舌苔にTMPRSS2やACE2が発現していることが

報告された。しかし、舌苔にある口腔粘膜細胞は、組織から剥がれているために例えウイルスが侵入しても細胞が増殖できないので、ウイルスを放出することはできない。一方、口腔粘膜と唾液腺にSARS-Cov-2が感染するという論文(Nat Med 2021 May; 27(5): 892-903)が発表された。この論文から、口腔粘膜には全般的にSARS-Cov-2は感染し、唾液腺にも感染することが明らかである。よって、舌が感染する源で舌清掃により舌苔を除去することで感染を予防できるというのは考えにくい。

6) インフルエンザ感染と口腔保健

インフルエンザが口腔保健により予防できるという論文をPubmedなどで検索したが、介入論文は奥田克爾グループの論文 (Arch Gerontol Geriatri. 2006, 43: 157-164.) や神尾、今井グループにより論文 (Cell Mol Life Sci, 2015 Jan;72(2)357-366) などのin vitroの関連論文が幾つか見つかった。数少ない論文しか重要な論文として見つからなかった。それらの関連論文について検討を行った。

インフルエンザを口腔ケアで予防ができるという説がある。そのメカニズムを考察すると、口腔細菌の口腔ケアによるコントロールがインフルエンザ感染を予防できる理由となっている。口腔ケアによる口腔細菌のコントロールとはどういうことか？歯の表面に付着した歯垢や歯石を除去すること、口腔粘膜上の口腔細菌をリフレッシュすることが口腔ケアの実質的な効果であると考えられる。そのような口腔ケアがインフルエンザの感染

を予防できるとすれば、インフルエンザと細菌の関与を明らかにしなければならない。

インフルエンザの感染にはインフルエンザのHA (ヘマグルチニン) と放出にはNA (ノイラミダーゼ) が関わる (図6)。インフルエンザが感染する際に、HAが細胞のプロテアーゼによって開裂することが必要になってくる。このプロテアーゼを*Staphylococcus aureus*が放出するという論文 (Nature, 1987 Feb 5 5-11; 325(6104):536-7) が元国立感染症研究所インフルエンザ研究センター長の田代真人により発表された。*S. aureus*は口腔において日和見感染する菌である。しかし、口腔内の菌量としては多くなく、例えプロテアーゼを放出しても唾液で薄まる。口腔ケアで減少させられるか明らかではない。歯垢を形成する菌や口腔粘膜上に大量にいる菌でインフルエンザのHAを開裂させる菌がいるか、論文検索してもそのような論文はなかった。*Porphyromonas gingivalis*の放出するジンジパインなどのプロテアーゼがインフルエンザの感染を助長するという説があるが、それも証拠となる論文が見つけれなかった。口腔ケアで*P. gingivalis*を減少させることも容易ではなく、*P. gingivalis*を減少させるには歯周治療をする方法がよい。

インフルエンザが放出する際に関わるNAに対しての口腔細菌の役割に関して、日本大学歯学部の神尾、今井グループにより論文 (Cell Mol Life Sci, 2015 Jan;72(2)357-366) が報告されている。この論文では、口腔常在菌であり歯垢形成菌である *Streptococcus mitis* と

*Streptococcus oralis*の実験室株の一部がノイラミダーゼを放出し、インフルエンザウイルスの細胞からの放出を助けている(図7)。しかし、実験室株の違いによって放出量が異なること。臨床分離株にて行われていないこと。仮にノイラミダーゼを放出したとしても、唾液などで希釈されて、それがインフルエンザウイルス感染の放出に関与するか証明されていない。インフルエンザを口腔ケアで予防できるとした東京歯科大学奥田克爾グループの論文(Arch Gerontol Geriatri. 2006, 43: 157-164.)で口腔ケアにより唾液中のノイラミダーゼ活性が低下するというデータが出ている。しかしすべての被験者の唾液サンプルを使用しているわけではないので、実際のところその効果ははっきりしない。

奥田克爾グループの論文(Arch Gerontol Geriatri. 2006, 43: 157-164.)で、口腔ケアによるインフルエンザ予防効果が示された。この論文では、専門的口腔ケアを行ったグループ98名のインフルエンザの発症が1名、行わなかったコントロールグループ92名のインフルエンザ発症が9名で、統計的に有意差があることが示された(表7)。一方で、インフルエンザではないが共通の風邪症状をしめした患者が専門的口腔ケアを行ったグループで8名、コントロールグループで12名と、グループ間で有意差がなかった。この風邪は、コロナウイルスによるものかもしれない。インフルエンザワクチンも専門的口腔ケアを受けたグループは36名(36.7%)を受けしており、コントロールグループでは39名(42.6%)である。ワクチンの効果がたま

たま出ることによって、専門的口腔ケアの効果に上乗せされた可能性もある。1,2名変わるだけでも、統計的有意差を失うと考えられ、今後の大規模調査が必要である。

誤嚥性肺炎とインフルエンザの発症と残存歯数、舌苔、口臭などの口腔内の指標との関係性を検討した論文がある。この論文は、歯科医師会で参考文献として引用されている。この論文では、インフルエンザが歯周病、舌苔、口腔乾燥および口臭と関係していると報告している。しかし、インフルエンザの診断基準が、インフルエンザ様症状{摂氏38度以上の発熱、関節痛と急性呼吸器症状(鼻汁もしくは鼻閉、咽頭痛、咳のいずれか一つ以上)}であるため、抗体検査やPCRを行ってインフルエンザを決めていない。よって、インフルエンザかどうかわからない状況で分析を行っている。この論文は、1年後に英文雑誌において発表された(Geriater Gerontol Int 2019 Nov; 19(11): 1136-1140)。その論文では、acute viral respiratory infectionという表現で、急性ウイルス呼吸器感染症として記載されておりインフルエンザという記載はどこにもない。インフルエンザでなければ、なぜコロナウイルス感染症であるかもしれない。よって、この論文からインフルエンザと歯周病、舌苔、口腔乾燥および口臭と関係を示すことが出来ない。

D. 総合考察

今回の検討から新型コロナウイルスと口腔保健を結びつける明らかな証拠を見つけないことが出来なかった。特に口腔

ケアでCOVID-19の感染を予防できることはできないと考える。さらに歯周病と重症化については、カタールにおける検討が発表された。この論文では、全身疾患を有するCOVID-19の患者において、歯周病疾患を有する人が多いことが明らかとなった。また、死者や人工呼吸器装着患者においても歯周病疾患患者が多い傾向であった。これは、全身疾患を有するCOVID-19の患者が歯周病になりやすいのかもしれない。歯周病が全身疾患の発症に関わりCOVID-19の重症化に関わるのかもしれない。いずれにしても被験者数が40という少ない数の検討であるため、今後の大規模調査が必要である。いずれにしても、歯周病が直接COVID-19の重症化に関わることはないと考えられた。

口腔保健によるCOVID-19の感染と重症化予防のエビデンスは、インフルエンザに関する口腔ケアの効果の例を入れても、今のところ無いと考えられた。しかし、口腔ケアを行うことはう蝕予防、歯周病予防、誤嚥性肺炎予防に繋がることが考えられ、口腔の健康が維持できれば食事がおいしく食べられることで免疫力も上がり、COVID-19の重症化に対して抵抗力が付くと考えられる。よって、う蝕および歯周病予防のための口腔保健を推進していくことは、間接的にCOVID-19の重症化予防に繋がると考えられる。

E. 結論

口腔保健によるCOVID-19の感染と重症化予防のエビデンスは、インフルエンザに関する口腔ケアの効果の例を入れても、今のところ無い。しかし、口腔ケア

をすることはう蝕予防、歯周病予防、誤嚥性肺炎予防に繋がることが考えられる。よって、う蝕および歯周病予防のための口腔保健を推進していくことは、間接的にCOVID-19の重症化予防に繋がる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Akio Tada, Hidenobu Senpuku. The impact of oral health on respiratory viral infection. *Dentistry Journal*, 2021, 9(4):43.

2. 学会発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

図1 年代別感染状況



表1 歯周病とCOVID-19との関係(カタルでの研究)

Controls	Cases			
COVID 19 patients without complications (n = 528)	All complications (N = 40)	Death N = 1 (4%)	ICU admission N = 36 (36%)	Assisted ventilation N = 20 (20%)

Age	Controls	Cases	Death	ICU admission	Assisted ventilation
Mean, years (SD)	41.5 (14.1)	53.6 (15.0)	56.6 (17.6)	52.8 (15.4)	53.3 (15.7)

Association between periodontitis and severity of COVID-19 infection: A case-control study J Clin Periodontol 2021 Feb 1. doi: 10.1111/jcpe.13435

表2 歯周病と合併症有COVID-19との関係(カタルでの研究)-2

Periodontal condition	Controls (n = 528)	Cases: All COVID complications (n = 40)		
			Unadjusted OR (95% CI)	AOR ^a (95% CI)
Stage 0-1	303 (57.4)	7 (17.5)	1	1
Stage 2-4	225 (42.8)	33 (82.5)	6.34 (2.79-14.61)	3.67 (1.46-9.27)

表3 合併症有COVID-19における歯周病と死亡、ICU、人工呼吸器装着との関係(カタルでの研究)-3

Periodontal condition	Controls (n = 528)	Cases: death (n = 14)		
			Unadjusted OR (95% CI)	AOR ^a (95% CI)
Stage 0-1	303 (57.4)	1 (7.1)	1	1
Stage 2-4	225 (42.8)	13 (92.9)	17.5 (2.27-134.8)	8.81 (1.00-77.7)

Periodontal condition	Controls (n = 528)	Cases: ICU admission (n = 36)		
			Unadjusted OR (95% CI)	AOR ^a (95% CI)
Stage 0-1	303 (57.4)	7 (19.4)	1	1
Stage 2-4	225 (42.8)	29 (80.6)	5.57 (2.40-12.9)	3.54 (1.39-9.05)

Periodontal condition	Controls (n = 528)	Cases: need for assisted ventilation (n = 20)		
			Unadjusted OR (95% CI)	AOR ^a (95% CI)
Stage 0-1	303 (57.4)	3 (15.8)	1	1
Stage 2-4	225 (42.8)	17 (85.0)	7.31 (2.21-26.3)	4.57 (1.19-17.4)

表4 COVID-19と歯周病と歯の喪失との関係

N=13253	Oral health status, OR (95% CI)		
	Control	Bleeding or painful gums	Loose teeth
Crude OR (95% CI)	1 (ref)	1.07 (0.70-1.63)	0.99 (0.73-1.38)
Adjusted* OR (95% CI)	1 (ref)	1.10 (0.72-1.69)	1.15 (0.84-1.59)

The Impact of Periodontal Disease on Hospital Admission and Mortality During COVID-19 Pandemic Front Med 2020 Nov 23; 7: 604980

表5 COVID-19患者における歯周病、歯の喪失と入院と死亡との関係

	Crude OR (95% CI) for oral health status			Adjusted* OR (95% CI) for oral health status		
	Control	Painful or bleeding gums	Loose teeth	Control	Painful or bleeding gums	Loose teeth
Hospital admission	1 (ref)	0.99 (0.13-3.02)	0.88 (0.16-10.04)	1 (ref)	0.91 (0.12-2.94)	0.90 (0.16-10.63)
Mortality	1 (ref)	1.60 (1.03-2.42)	1.34 (0.71-2.76)	1 (ref)	1.71 (1.05-2.72)	1.85 (0.92-2.72)

表6 COVID-19の重症化と全身疾患との関係

持病・既往症によって、命を落とす危険度は違う

→重症で入院した感染者の持病と死亡率を調べると……

	既往症 (主な病名)	死亡率	内訳	重症化しやすさ
	持病、基礎疾患がない	8.0%	440人中 35人死亡	1.0倍
1位	腎機能障害 (腎不全、腎炎)	44.0%	25人中 11人死亡	4.0倍↑
2位	心疾患 (狭心症、大動脈瘤)	40.5%	121人中 49人死亡	3.4倍↑
3位	脳血管障害 (脳梗塞、脳出血)	39.5%	114人中 45人死亡	1.8倍↑
4位	慢性肺疾患 (肺炎腫、間質性肺炎)	30.4%	102人中 31人死亡	5.7倍↑
4位	がん (胃がん、大腸がん)	30.4%	79人中 24人死亡	3.6倍↑
6位	糖尿病 (2型糖尿病)	25.8%	299人中 77人死亡	2.3倍↑
7位	肝疾患 (肝硬変、肝炎)	25.6%	39人中 10人死亡	3.0倍↑
8位	高血圧 (収縮期で140mmHg以上)	19.5%	329人中 64人死亡	2.0倍↑
9位	高脂血症 (脂質異常症)	16.1%	155人中 25人死亡	データなし
10位	肥満 (BMI30以上)	9.6%	83人中 8人死亡	3.0倍↑

COVIREGI-JP「COVID-19レジストリ研究解析結果、重症化を予測する液性因子について」より。重症化リスクはCDC。COVID-19. People with Certain Medical Conditionsを参照

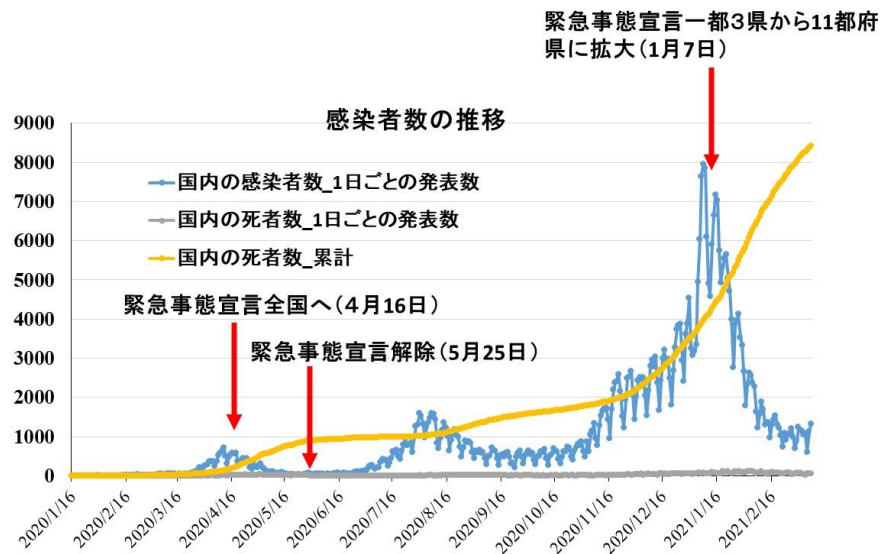


図2 COVID-19感染者数の変動

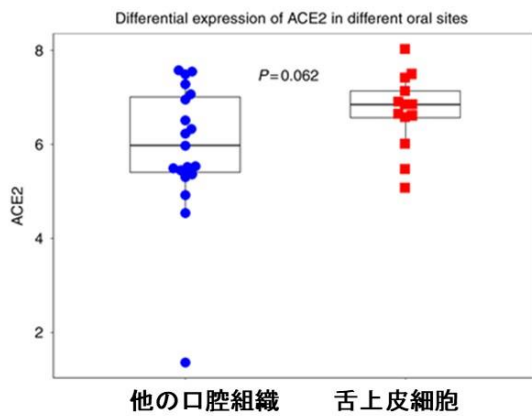


図3 口腔組織および舌上細胞におけるACE-2の発現

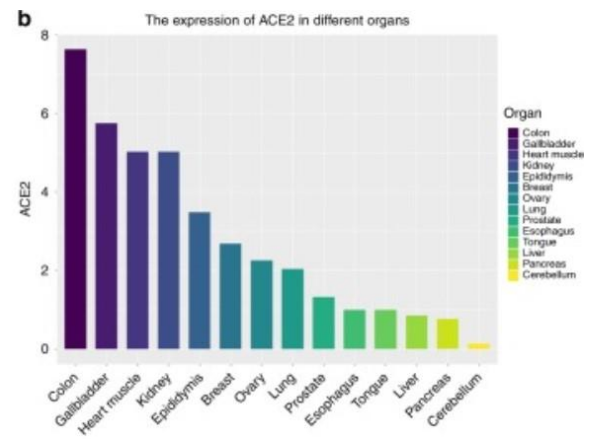


図4 各臓器におけるACE-2の発現

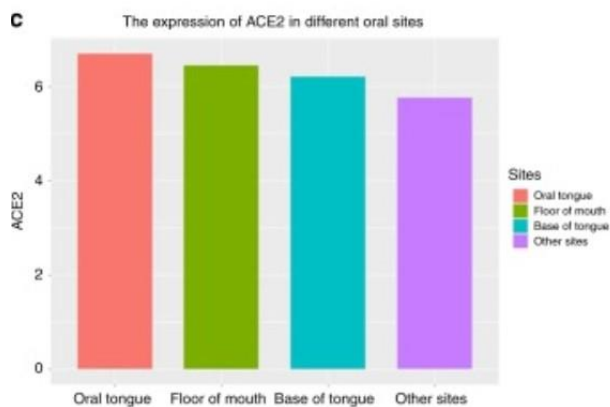


図5 口腔におけるACE-2の発現

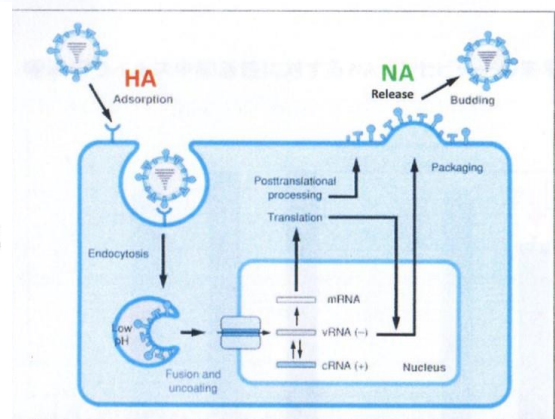


図6 インフルエンザの細胞への感染メカニズム

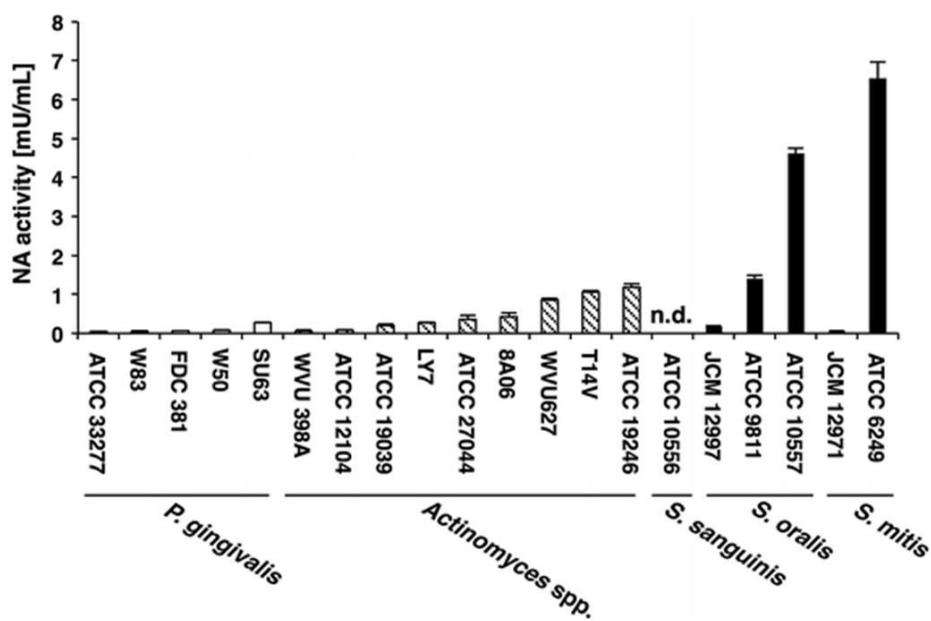


図7 口腔細菌の実験室株におけるノイラミダーゼ産生

Kamio et al., Neuraminidase-producing oral mitis group streptococci potentially contribute to influenza viral infection and reduction in antiviral efficacy of zanamivir. Cell mol. Life Sci., 2015, 72: 357-366.

表7 専門的口腔ケアのインフルエンザに対する効果

Table 2
Influenza vaccination and incidence of influenza

	Professional oral care (n = 98)	Control (n = 92)
Influenza vaccine (%)	36 (36.7)	39 (42.4)
Influenza (%)	1 (1.0)	9 (9.8) ^a
Common cold (%)	8 (8.2)	12 (13.0)

Values with percentages given in parenthesis.
^a Fisher's exact test; $p = 0.008$.

Abe, Okuda et al. Arch Gerontol Geriatri, 2006, 43: 157-164

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(厚生労働科学特別研究事業)
分担研究報告書

過去から現在までのコロナウイルス感染症(SARS, MERS, SARS-Cov2)の感染および重症化と歯科保健医療の関係性の検証

研究分担者 有川 量崇 日本大学松戸歯学部・衛生学・教授

研究要旨

昨年来の新型コロナウイルス感染症（以下COVID-19）の流行により、マスコミによる連日の報道が過熱し、ネットやSNSでは、エビデンス（科学的根拠）のない予防法や偽情報を含む多くの不適切な情報が飛び交っている。口腔ケアとCOVID-19との関連性についても、様々な不適切な情報が国民に露呈している。そこで、本研究では口腔ケアとCOVID-19との関係を検討することを目的として、これらに関するこれまでの研究報告を収集して、結果をまとめた。文献検索には電子検索データベースのPubMedおよび医中誌Webを用いた。検索年月日は2021年2月10日から3月15日とした。COVID-19との関連性と口腔ケアとCOVID-19との関連性について、言及している文献を収集した。その結果、口腔内の組織にはSARS-CoV-19が付着および侵入するための重要な役割を果たしている可能性が十分に考えられることから、口腔とCOVID-19との関連性はあると考えられる。しかし、口腔ケアとCOVID-19との関連性の報告はまだ乏しいのが現状であり、口腔ケアとCOVID-19との関連性の科学的根拠はまだないと考えられる。

A. 研究目的

昨年来の新型コロナウイルス感染症（以下COVID-19）の流行により、マスコミによる連日の報道が過熱し、ネットやSNSでは、エビデンス（科学的根拠）のない予防法や偽情報を含む多くの不適切な情報が飛び交っている。口腔ケアとCOVID-19との関連性についても、様々な不適切な情報が国民に露呈している。そこで、本研究では口腔ケアとCOVID-19との関係を検討することを目的として、これらに関するこれまでの研究報告を収集して、結果をまとめた。

文献検索には電子検索データベースのPubMedおよび医中誌Webを用いた。検索年月日は2021年2月10日から3月15日とした。COVID-19との関連性と口腔ケアとCOVID-19との関連性について、言及している文献を収集した。

C. 研究結果

COVID-19は、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2（SARS-CoV-2）によって生じた感染症であり、全世界に急速に拡大しパンデミックを引き起こした[1][2]。

B. 研究方法

3. SARS-CoV-2の宿主への付着および侵

入について

コロナウイルスは、エンベロープ上にホモ 3 量体構造のスパイク糖タンパク質 (S1 サブユニットと S2 サブユニット) が存在し、フーリンと呼ばれるプロテアーゼにより S1 と S2 に切断される。その後、S1 サブユニットが宿主細胞のレセプターであるアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) に結合する。S2 サブユニットは宿主細胞表面のセリンプロテアーゼである TMPRSS2 で切断され、膜融合が進行し、宿主細胞内へ侵入すると考えられている[3,4,5]。

・ COVID-19 とサイトカインストーム

COVID-19 の患者の大半は無症状あるいは軽度の呼吸器症状を示すが、約 20% の患者は重度の呼吸器症状を示す。最近、このサイトカインストームが COVID-19 関連性肺炎やその悪化と関係していると報告されている。サイトカインストームとは、様々な免疫細胞が極めて活性化し、多量のサイトカインを放出している免疫機構の状態である[6]。

4. 口腔と COVID-19 との関係

COVID-19 を診断する為には、鼻咽頭ぬぐい液や鼻腔ぬぐい液などを用いていたが、患者と医療従事者の距離が近くなり、医療従事者のウイルス感染のリスクに晒されてしまうことが考えられる。さらに、また鼻咽頭ぬぐい液や鼻腔ぬぐい液を採取する時に、不快感を与えたり、出血の原因になる可能性が考えられる[7]。厚生労働省が公表した資料からは、検体の一つに唾液が示されており、検出感度は鼻咽頭ぬぐい液と同程度と考えられるとされている[8]。

Kelvin らの報告では、鼻咽頭あるいは痰により COVID-19 と確認された患者から吐

き出した唾液検体を採取し、その検体を用いて RT-qPCR 法を行ったところ、91.67% (12 名中 11 名) に SARS-CoV-2 が検出された[9]。同グループの追加報告では、86.96%(23 名中 20 名) に SARS-CoV-2 が検出された[10]。Zhang らの報告では、患者の口腔内スワブ検体を用いて RT-qPCR 法を行ったところ、53.3%(15 名中 8 名) に検出された[11]。さらに、Lili らの報告では、顎下腺の開口部である舌下小丘から分泌される唾液検体を直接採取し、RT-qPCR 法を行ったところ、12.90%(31 名中 4 名) に検出された[12]。さらに、Gupta らの報告では、COVID-19 の無症候性および軽度である患者の 63.64%(33 名中 21 名) で、歯肉溝滲出液から SARS-CoV-2 の RNA エンベロープ遺伝子が検出された[13]。これらの報告から、唾液中には SARS-CoV-2 が存在していることが証明され、COVID-19 の診断のために重要であると示唆された。

SARS-CoV-2 のレセプターである ACE2 は、肺や食道、鼻咽頭など様々な臓器に存在することが知られている。そして、いくつかの研究によって口腔内にも ACE2 が存在していることが報告されている。Ruoshi Xu らの報告では、パラカルチノーマの通常組織を用いて bulk RNA-seq を行ったところ、口腔粘膜や歯肉組織、舌の上皮細胞に発現することが発見された[14]。さらに、Hao Xu らの報告では、舌の上皮細胞における ACE2 の発現は、口腔粘膜や歯肉組織の発現よりも高いことが示されている [15]。Sakaguchi らの報告では TMPRSS2 は唾液や舌苔からも検出され、フーリンは唾液中から検出されたが、舌苔からは検出されなかった。また、味蕾由来の培養細胞では、ACE2、T

MPRSS2およびfurin mRNAの発現が観察されたことが報告された[16]。

2011年にLiらは、アカゲザルの咽頭粘膜表面に存在する小唾液腺の上皮細胞にACE2が発現することを報告し、SARS-CoVの感染が呼吸器へ広がるよりも早期に、感染を認識できる可能性を示唆している[17]。さらにUsamiらは、ヒトの大・小唾液腺（口唇腺、口蓋腺、顎下腺）からACE2タンパクが発現することを報告し、唾液腺にはSARS-CoV-19が蓄積する可能性を示唆している[18]。またXuらは、GTEx portalを用いて、ヒトの臓器におけるACE2遺伝子の発現量を解析し、肺よりも小唾液腺で発現が高いと報告した[19]。

3. 口腔ケアとCOVID-19との関係性

COVID-19と同様であるウイルス感染症の一つにインフルエンザがよく知られている。咽頭などを含む口腔内に存在する細菌、さまざまな酵素を産生し、それらが咽頭粘膜の破壊を行うことにより、インフルエンザウイルスのレセプターが露出させると考えられ、歯周病原細菌の一つである*Porphyromonas gingivalis*も同様にレセプターの露出増加を促進させると報告されている[20]。Okudaらによると、デイケアに通う要介護高齢者に対する歯科衛生士による6カ月間にわたる専門的口腔ケアは、インフルエンザ発症を有意に減少させることを報告した[21]。口腔疾患の一つである歯周病は、歯周病原細菌による炎症性疾患であり、誤嚥性肺炎や慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患と関連することが知られている。

Hayataらはin vivoの実験において、歯周病原細菌である*Fusobacterium nucleatum*が下気道における炎症誘発性サイトカイン

の産生を誘導することを報告した[22]。

Takahashiらはin vitroにおける実験で、歯周病原細菌がヒトの呼吸器の細胞におけるACE2の発現が上昇することを報告した[22]。これらのことから、口腔衛生状態の低下が生じている時、口腔内の歯周病原細菌の誤嚥により、気道におけるACE2発現が上昇し、炎症性サイトカインの産生も活発になることによりサイトカインストームが生じる可能性が高くなり、COVID-19を悪化させる可能性を示唆している[23]報告もある。

口腔ケアの一つに洗口が挙げられ、その洗口とCOVID-19についていくつかのグループが報告している。Pouyaらはin vitroにおいてSARS-CoV-2に対して1%または倍希釈したポピドンヨードを15秒、30秒、60秒作用させるとウイルス価が減少することを報告した[24]。LuciaらはSARS-CoV-2陽性患者4名を対象に1%ポピドンヨード15mLで1分間洗口を行い、5分後、1時間後、2時間後、3時間後の唾液検体を採取し、RT-PCR法によりSARS-CoV-2のウイルス量を測定した。その結果、被検者のうち2名の患者でウイルス量の顕著な低下が少なくとも3時間認められた[25]。しかしながら、限定的な患者数での研究は、ウイルス量や宿主免疫反応のような潜在的な交絡因子の調整が出来ないことが問題であると筆者らも考察している[25]。さらにCarrouelらは、現時点で歯科医院または共同体におけるSARS-CoV-2の感染に対する十分な科学的根拠は認められないと報告している[26]。上述の研究は、歯科治療における患者から歯科医療従事者への感染予防対策のための研究が主であり、

洗口と個々の感染予防の因果関係については現在のところ報告されていない。

D. 考察

口腔とCOVID-19との関連性、口腔ケアとCOVID-19との関連性を検討した。口腔とCOVID-19の関連性の報告は、特に唾液中にSARS-CoV-2が存在していることが証明されており、COVID-19の診断に有用であると示されていた。COVID-19を診断する為には、従来、鼻咽頭ぬぐい液や鼻腔ぬぐい液などを使用していたが、患者と医療従事者の距離が近くなり、医療従事者のウイルス感染のリスクに晒されてしまうことや、不快感を与え、出血の原因になる可能性もあり、検体の一つに唾液が期待されていた。現在、唾液が検体として使用される場面も多く出ている。また、舌や唾液線などの口腔組織にはSARS-CoV-2を認識するためのACE2レセプターや侵入を促進させるTMPRSS2やフーリンなどのプロテアーゼが存在することは証明されており、口腔内の組織にはSARS-CoV-19が付着および侵入するための重要な役割を果たしている可能性が十分に考えられる。一方、口腔ケアとCOVID-19との関連性についての報告はほとんど存在しない。

COVID-19と同様であるウイルス感染症の一つにインフルエンザや、誤嚥性肺炎や慢性閉塞性肺疾患などの呼吸器疾患と、口腔ケアの関連性の報告があるため、その報告と同等にCOVID-19感染リスクが口腔ケアによって軽減されるとの資料がSNS上で散見されるが、縦断研究は皆無であり、これらの根拠はまだない。また、歯周病原細菌が呼吸器細胞のウイルス付着のためのレ

セプターを増加させることや、細菌による炎症性サイトカインを誘導することは報告されている。つまり、ウイルス性感染と細菌性感染が同時に生じることとなる。このことから、口腔衛生状態が悪いこと、かつSARS-CoV-2に感染するとサイトカインストームが生じることにより重症化する可能性を記されている資料も散見されるが、これらの根拠はまだない。

口腔ケアの一つに洗口が挙げられ、その洗口とCOVID-19についていくつかのグループが報告している。その多くが、歯科治療における患者から歯科医療従事者への感染予防対策のための研究が主であり、洗口と個々の感染予防の因果関係については現在のところ報告されていない。

口腔ケアとCOVID-19との関連性の報告はまだ乏しいのが現状であり、今後、縦断研究を含む、口腔ケアによってCOVID-19発生率の低減効果の研究による証明が必要である。

E. 結論

口腔内の組織にはSARS-CoV-19が付着および侵入するための重要な役割を果たしている可能性が十分に考えられることから、口腔とCOVID-19との関連性はあると考えられる。

一方、口腔ケアとCOVID-19との関連性の科学的根拠はまだ乏しいと考えられる。

F. 参考文献

1. Zhou, P. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020; 579: 270–273.
2. Wu, F. et al. A new coronavirus

- associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020; 579: 265–269.
3. Lan, J. et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* 2020; 581: 215–220.
 4. Sungnak, W. et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature Medicine* 2020; 26: 681–687.
 5. Hoffmann, M. et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 2020; 181: 271-280.e8.
 6. Ryo, O & Ken-ichiro, S. Macrophage activation syndrome and COVID-19. *Inflammation and Regeneration* 2020; 40: 19.
 7. Chan JF-W. et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *Lancet* 2020; 395: 514–23.
 8. 新型コロナウイルス感染症病原体検査の指針第3版. 国立感染症研究所 他.
 9. To KK-W. et al. Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. *Clinical Infectious Diseases* 2020; 71(15): 841-843.
 10. To KK-W. et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases* 2020; 20(5): 565-574.
 11. Zhang, W et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerging Microbes & Infections* 2020; 9: 386-389.
 12. Chen L. et al. Detection of 2019-nCoV in Saliva and Characterization of Oral Symptoms in COVID-19 Patients. *The Lancet Infectious Diseases* 2020.
 13. Gupta, S. et al. SARS-CoV-2 Detection in Gingival Crevicular Fluid. *Journal of Dental Research* 2020; 100(2):187-193.
 14. Xu, R. et al. Saliva: potential diagnostic value and transmission of 2019-nCoV. *International Journal of Oral Science* 2020; 12(11).
 15. Xu, H. et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science* 2020; 12(8).
 16. Wakako, S. et al. Existence of SARS-CoV-2 Entry Molecules in the Oral Cavity. *International Journal of Molecular Sciences* 2020; 21(17): 6000.
 17. Liu, L et al. Epithelial cells lining salivary gland ducts are early target cells of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection in the upper respiratory tracts of rhesus macaques. *Journal of virology* 2011; 85(8): 4025–4030.

18. Yu, U. et al. Brief communication: Immunohistochemical detection of ACE 2 in human salivary gland. *Oral Science International* 2020; doi:10.1002/osi2.1085.
19. Xu, J. et al. Salivary Glands: Potential Reservoirs for COVID-19 Asymptomatic Infection. *Journal of Dental Research* 2020; 99(8): 989.
20. Katsuji, O. et al. Involvement of Periodontopathic Anaerobes in Aspiration Pneumonia. *Journal of Periodontology* 2005; 76(11): 2154-60.
21. Katsuji, O. et al. Silent Assassin in Elderly: Significance of Oral Biofilm Control. *Japanese journal of gerodontology* 2009; 24(2), 85-90.
22. Mayumi, H. et al. The Periodontopathic Bacterium *Fusobacterium nucleatum* Induced Proinflammatory Cytokine Production by Human Respiratory Epithelial Cell Lines and in the Lower Respiratory Organs in Mice. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2019; 53: 49-61.
23. Yuwa, T. et al. Aspiration of periodontopathic bacteria due to poor oral hygiene potentially contributes to the aggravation of COVID-19. *Journal of Oral Science* 2021; 63(1): 1-3.
24. Pouya, H. et al. In vitro virucidal activity of povidone iodine gargle and mouthwash against SARS-CoV-2: implications for dental practice. *British Dental Journal* 2020; 228: 900.
25. Lucía et al. Is povidone iodine mouthwash effective against SARS-CoV-2? First in vivo tests. *Journal of dental diseases* 2020; doi:10.1111/odi.13526.
26. Carrouel, F. et al. Antiviral Activity of Reagents in Mouth Rinses against SARS-CoV-2. *Journal of Dental Research* 2020; 100(2): 124-132.
- G. 研究発表
1. 論文発表
特になし
 2. 学会発表
特になし
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
特になし
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(厚生労働科学特別研究事業)
分担研究報告書

インフルエンザ等のウイルス感染症と歯科保健医療の関係性に関する検証に関する研究

研究分担者 多田章夫 兵庫大学教授

研究要旨

研究要旨 呼吸器感染症における口腔の健康の及ぼすインパクトについて文献的な検証を行った。インフルエンザウイルス感染に対し唾液中の自然免疫 GP340 とシアル酸はスカベンジャー機能を有し、獲得免疫の s-IgA は自然感染で分泌され抗ウイルス作用を示すが、経鼻型ワクチンにより唾液中での分泌が期待される。SARS-CoV-2 感染に対し s-IgA の抗ウイルス活性を示唆する報告がみられる。また、現在使用されている mRNA ワクチンは口腔内へ s-IgA 分泌を誘導することが確認された。コンピューター解析で SARS-CoV-2 ウイルスにシアル酸結合性を予測されるアミノ酸配列が見いだされた。これらの結果は唾液の免疫の重要性を高めるものである。さらに、インフルエンザウイルス、SARS-CoV-2 とも、歯周疾患が誘発する局所免疫反応が全身に影響することによりこれらのウイルス感染が発生しやすくなると考えられる。

A. 研究目的

インフルエンザウイルスや SARS-CoV-2 感染における口腔の健康状態や口腔ケアの及ぼすインパクトに関するエビデンスを集め吟味することにより感染症と歯科保健医療の関係性に関する検証を行う。

B. 研究方法

文献データベース PubMed を用いて、次のキーワードにて検索をおこなった: [“influenza virus”, and “oral bacteria”], [“influenza virus”, “saliva”, and “sIgA”], [“influenza virus”, “saliva”, and “sialic acid”], [“SARS-CoV2”, “saliva” and “sIgA”]。2021 年 3 月までに publish された論文のうち、英語で発表されたもののみを対象とした。涉猟

した文献に関しては内容を吟味し、今回の研究に合致した内容のものを選択した。

(倫理面への配慮)

本研究は文献レビューを主とするため倫理上の問題は発生しない。

C. 研究結果

I インフルエンザウイルス感染における口腔の健康の影響

1 口腔細菌の影響

歯周疾患原因菌 *P. gingivalis* とインフルエンザウイルス H1N1 の in vitro 系での混合感染に H1N1 単独感染に比べ肺上皮細胞における炎症性サイトカイン産生増加とアポトーシスの増加がみられ、*P. gingivalis* がインフルエンザウイルスによる細胞アポトーシ

スを促進することが示唆された (Li et al.)。口腔常在菌である *Streptococcus* とインフルエンザウイルスを *in vitro* で共感染させるとインフルエンザウイルスの増殖を促進されるという報告もある (Nishioka et al., Kamio et al.)。しかし、これらの研究結果が、実際の生体内で再現されるかは不確定である。

(関連文献)

Li, X.; Li, C.; Liu, J.C.; Pan, Y.P.; Li, Y.G. In vitro effect of *Porphyromonas gingivalis* combined with influenza A virus on respiratory epithelial cells. *Arch. Oral Biol.* **2018**, *95*, 125-133. doi: 10.1016/j.archoralbio.2018.04.003. Epub 2018 Apr 5.

Nishioka, K.; Kyo, M.; Nakaya, T.; Shime, N. Proteins produced by *Streptococcus* species in the lower respiratory tract can modify antiviral responses against influenza virus in respiratory epithelial cells. *Microbes Infect.* **2020**, 104764. doi: 10.1016/j.micinf.2020.09.010.

Kamio, N.; Imai, K.; Shimizu, K.; Cueno, M.E.; Tamura, M.; Saito, Y.; Ochiai, K. Neuraminidase-producing oral mitis group streptococci potentially contribute to influenza viral infection and reduction in antiviral efficacy of zanamivir. *Cell Mol. Life Sci.* **2015**, *72*, 357-366. doi: 10.1007/s00018-014-1669-1. Epub 2014 Jul 8. PMID: **25001578**

2 歯周疾患による免疫抑制

重度歯周疾患を有するものにおける局所反応が全身に広がり、全身の免疫を低下さ

せることがある。*P. gingivalis* などの嫌気性グラム陰性菌は T 細胞や B 細胞の増殖を抑制し (Kurita-Ochiai)、その結果、炎症性サイトカインの誘発や immunocompetents 細胞のアポトーシスを誘発し、その結果、免疫系を低下させるため、インフルエンザウイルスなどの感染が発生しやすくなると考えられる。

Kurita-Ochiai, T.; Fukushima, K.; Ochiai, K. Volatile fatty acids, metabolic by-products of periodontopathic bacteria and cytokine production. *J. Dent. Res.* **1995**, *74*, 1367-1773.

3 唾液免疫による影響

唾液中に含まれる自然免疫物質のうち、GP340 とシアル酸にインフルエンザウイルス抑制活性が報告された。GP340 は唾液中における濃度と同じ濃度でインフルエンザウイルスに対し著明な抗 HA 活性や中和活性を示した (Malamud et al)。GP340 によるインフルエンザウイルス凝集能は SP-D もしくは SP-A を反応系に加えることにより相乗作用がみられた (White et al)。

(関連文献)

Malamud, D.; Abrams, W.R.; Barber, C.A.; Weissman, D.; Rehtanz, M.; Golub, E. Antiviral activities in human saliva. *Adv. Dent. Res.* **2011**, *23*, 34-37. doi: 10.1177/0022034511399282.

White MR, Crouch E, van Eijk M, Hartshorn M, Pemberton L, Tornoe I, Holmskov U, Hartshorn KL. Cooperative anti-influenza activities of respiratory innate immune proteins and neuraminidase inhibitor *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005, 288,

L831-40. doi:
10.1152/ajplung.00365.2004. Epub 2004
Dec 17.

シアル酸も同様に、唾液中と同じ濃度でインフルエンザウイルスに対し著明な抗HA活性や中和活性を示した。 α 2,3シアル酸と α 2,6シアル酸は唾液中に抗ウイルス活性を示すのに十分な濃度で存在するが、 α 2,6シアル酸の方が濃度が高かった。これらのシアル酸はトリインフルエンザ H5N3 よりも季節性インフルエンザ H1N1 に効率よく結合した(Limsuwat)。2型糖尿病や肝疾患を有する高齢者では健常高齢者よりも α 2,3シアル酸シアル酸の発現レベルが低くその結合活性も低かった(Zhong)。一方、インフルエンザウイルス感染を受けていない乳児の唾液シアル酸は抗ウイルス活性が高いという結果を示した(Gilbertson)。

(関連文献)

Limsuwat, N.; Suptawiwat, O.; Boonarkart, C.; Puthavathana, P.; Wiriyarat, W.; Auewarakul, P. Sialic acid content in human saliva and anti-influenza activity against human and avian influenza viruses *Arch. Virol.* **2016**, 161, 649-656. doi: 10.1007/s00705-015-2700-z. Epub 2015 Dec 15.

Zhong, Y.; Qin, Y.; Yu, H.; Yu, J.; Wu, H.; Chen, L.; Zhang, P.; Wang, X.; Jia, Z.; Guo, Y.; Zhang, H.; Shan, J.; Wang, Y.; Xie, H.; Li, X.; Li, Z. Avian influenza virus infection risk in humans with chronic diseases. *Sci. Rep.* **2015**, 5, 8971. doi: 10.1038/srep08971.

Gilbertson, B.; Edenborough, K.; McVernon, J.; Brown, L.E. Inhibition of Influenza A Virus by Human Infant Saliva. *Viruses* **2019**, 11, 766. doi: 10.3390/v11080766.

sIgA 抗体はインフルエンザ等の粘膜組織を標的とした感染症に対する生体防御の最前線で機能している。自然感染により粘膜組織から分泌されるが、現行の筋肉注射や静脈注射では誘導できなかった。しかしながら、経鼻不活化インフルエンザワクチン有意に唾液中のsIgA分泌を増加させることが報告された (Langley)。

(関連文献)

Langley, J.M.; Aoki, F.; Ward, B.J.; McGeer, A.; Angel, J.B.; Stiver, G.; Gorfinkel, I.; Shu, D.; White, L.; Lasko, B.; Dzungowski, P.; Papp, K.; Alexander, M.; Boivin, G.; Fries, L. A nasally administered trivalent inactivated influenza vaccine is well tolerated, stimulates both mucosal and systemic immunity, and potentially protects against influenza illness. *Vaccine* **2011** 29,1921-1928. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.12.100. Epub 2011 Jan 8.

II SARS-CoV-2 感染における口腔の健康の影響

1 唾液中のsIgAによるSARS-CoV-2感染予防の可能性

SARS-CoV-2 のレセプターであるangiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) は多様な種類の細胞で発現されており、唾液腺はその一つである。実際、SARS-CoV-2 は唾液腺に感染することが分かっている。唾液

による抗 SARS-CoV-2 効果はまだ報告されていないが唾液が関与する免疫によるウイルス感染阻害があると考えられる。COVID-19 患者で唾液中の IgA レベルと COVID-19 disease 重症度との間に有意な相関性が報告されている (Varadhachary)。大部分の SARS-CoV2 感染者の唾液サンプルは SARS-CoV2 pseudotyped ウイルス粒子を中和し、その中和活性と抗-RBD IgA 価の間に有意な相関性があった ($r=-0.796$, $p<0.008$) (Sterlin)。唾液中の sIgA が SARS-CoV2 感染を防ぐ可能性が期待される。マウスモデルで、経鼻免疫により、SARS-CoV2 特異 IgG と sIgA が唾液中に検出された (Lu)。最近、実用化された mRNA ワクチンは SARS-CoV2 の S タンパクや受容体結合部位への抗体を唾液中に誘導していることが報告された [Ketas]。今後、唾液中の免疫機構の重要性が高まることが期待される。

(関連文献)

Varadhachary, A.; Chatterjee, D.; Garza, J.; Garr, R.P.; Foley, C.; Letkeman, A.F.; Dean, J.; Haug, D.; Breeze, J.; Traylor, R.; Malek, A.; Nath, R.; Linbeck, L Salivary anti-SARS-CoV-2 IgA as an accessible biomarker of mucosal immunity against COVID-19 *medRxiv*. **2020**, 2020.08.07.20170258. doi: 10.1101/2020.08.07.20170258.

Sterlin, D.; Mathian, A.; Miyara, M.; Mohr, A.; Anna, F.; Claër, L.; Quentric, P.; Fadlallah, J.; Devilliers, H.; Ghillani, P.; Gunn C, Hockett R, Mudumba S, Guihot A, Luyt CE, Mayaux J, Beurton A, Fourati, S.; Bruel, T.; Schwartz, O.; Lacorte, J.M.;

Yssel, H.; Parizot, C.; Dorgham, K.; Charneau, P.; Amoura, Z.; Gorochov, G. IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2. *Sci. Transl. Med.* **2021**, 13, eabd2223.

Lu, B.; Huang, Y.; Huang, L.; Li, B.; Zheng, Z.; Chen, Z.; Chen, J.; Hu, Q.; Wang, H. Effect of mucosal and systemic immunization with virus-like particles of severe acute respiratory syndrome coronavirus in mice. *Immunology* **2010**, 130, 254–261. doi:10.1111/j.1365-2567.2010.03231.x.

Ketas TJ, Chaturbuj D, Cruz-Portillo VM, Francomano E, Golden E, Chandrasekhar S, Debnath G, Diaz-Tapia R, Yasmeeen A, Leconet W, Zhao Z, Brouwer PJM, Cushing MM, Sanders RW, Cupo A, Klasse PJ, Formenti SC, Moore JP. bioRxiv. Antibody responses to SARS-CoV-2 mRNA vaccines are detectable in saliva. 2021 Mar 11:2021.03.11.434841. doi: 10.1101/2021.03.11.434841.

2 唾液中のシアル酸は SARS-CoV-2 感染を抑制する可能性がある？

バイオメトリック研究は SARS-CoV-2 スパイクタンパク質がシアル酸と結合するようなアミノ酸配列を持っていることを明らかにした (Robson, Seyran)。唾液中のシアル酸と結合することにより ACE2 への結合が阻害されている可能性がある。

(関連文献)

Robson, B. Bioinformatics studies on a function of the SARS-CoV-2 spike

glycoprotein as the binding of host sialic acid glycans. *Comput. Biol. Med.* **2020**, 122:103849. doi:

10.1016/j.compbio.2020.103849.

Epub 2020 Jun 8.

Seyran, M.; Takayama, K.; Uversky, V.N.; Lundstrom, K.; Palù, G.; Sherchan, S.P.; Attrish, D.; Rezaei, N.; Aljabali, A.A.A.; Ghosh, S.; Pizzol, D.; Chauhan, G.; Adadi, P.; Mohamed Abd El-Aziz, T.; Soares, A.G.; Kandimalla, R.; Tambuwala, M.; Hassan, S.S.; Azad, G.K.; Pal Choudhury, P.; Baetas-da-Cruz, W.; Serrano-Aroca, Á.; Brufsky, A.M.; Uhal, B.D. The structural basis of accelerated host cell entry by SARS-CoV-2. *FEBS J.* **2020**, 10.1111/febs.15651. doi: 10.1111/febs.15651.

3 COVID-19 と歯周疾患との関連

COVID-19 と歯周炎との間で双方向の関連があり、歯周炎の影響で COVID-19 は悪化するが、その一方、COVID-19 により生じるサイトカインストームにより歯周炎を悪化させる炎症性サイトカインが誘発される (Mancini) .

(関連文献)

Mancini, L.; Quinzi, V.; Mummolo, S.; Marzo, G.; Marchetti, E. Angiotensin-Converting Enzyme 2 as a possible correlation between COVID-19 and periodontal disease. *Appl. Sci.* 2020, 10, 6224. <https://doi.org/10.3390/app10186224>

D. 考察

このレビューで口腔の健康が呼吸器感染症に及ぼす影響を文献的な考察を行った。全体的に、宿主の免疫力が介在した影響を示唆するエビデンスが報告されていた。特に、唾液中の免疫物質による影響が広範に解析されていた。インフルエンザウイルス感染と SARS-CoV-2 感染における口腔の及ぼす影響には類似する部分もあり、インフルエンザウイルス感染と口腔の健康との関連は SARS-Co-2 感染に対する宿主の口腔の生体防御を理解する上で参考となるだろう。

き

E. 結論

口腔の健康状態は呼吸器感染症に対し何らかの影響を与えており、特に、免疫を介したインパクトが大きなウェイトを占めている。

1. 研究発表

1. 論文発表

Akio Tada, Hidenobu Senpuku. The impact of oral health on respiratory viral infection. *Dentistry Journal*, 2021, 9(4):43.

2. 学会発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし



Review

The Impact of Oral Health on Respiratory Viral Infection



Akio Tada ^{1,*} and Hidenobu Senpuku ²

Citation: Tada, A.; Senpuku, H. The Impact of Oral Health on Respiratory Viral Infection. *Dent. J.* **2021**, *9*, 43. <https://doi.org/10.3390/dj9040043>

Academic Editor: Guglielmo Campus

Received: 5 March 2021 Accepted: 9

April 2021

Published: 13 April 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

¹ Department of Health Science, Hyogo University, Kakogawa 675-0195, Japan

² Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640, Japan; hsenpuku@nih.go.jp

* Correspondence: atada@hyogo-dai.ac.jp

Abstract: Influenza virus and severe acute respiratory

syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) have caused respiratory diseases worldwide. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is now a global health concern requiring emergent measures. These viruses enter the human body through the oral cavity and infect respiratory cells. Since the oral cavity has a complex microbiota, influence of oral bacteria on respiratory virus infection is considered. Saliva has immune molecules which work as the front line in the biophylactic mechanism and has considerable influence on the incidence and progression of respiratory viral infection. Salivary scavenger molecules, such as gp340 and sialic acid, have been reported to exert anti-influenza virus activity. Salivary secretory immunoglobulin A (SIgA) has potential to acquire immunity against these viruses. Biological features of the oral cavity are thought to affect viral infection in respiratory organs in various ways. In this review, we reviewed the literature addressing the impact of oral conditions on respiratory infectious diseases caused by viruses.

Keywords: SARS-CoV-2; influenza virus; oral cavity; saliva

1. Introduction

Global pandemics of respiratory infectious diseases such as coronavirus disease-2019 (COVID-19) and bird flu have been enormous health crises to people over the worldwide. Since the oral cavity is in the vicinity of the respiratory tract, where these viruses enter and replicate, oral health status is thought to impact the initiation, progression, and pathology of respiratory infectious diseases. The oral microbiota is thought to be one of the factors that influence respiratory virus infection. Coinfection with influenza virus and bacteria has been noted because it may cause severe morbidity and mortality [1]. Regarding severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV2), the impact of oral bacterial infection on COVID-19 has been discussed [2,3].

On the other hand, immune function of the oral cavity has been known to affect oral infection. Saliva is a key component of the host defense against infection in the mouth and full of immune materials. Salivary scavenger and agglutinin are responsible for innate immunity in the oral cavity [4]. Secretory immunoglobulin A (SIgA), which plays a critical role in mucosal immunity, is secreted from the salivary gland [5].

Evidence addressing the associations between oral health and the prevention of incidence and aggravation of respiratory infections has not been sufficiently reviewed. The elucidation of the influence of oral health on respiratory viral infection diseases will illustrate the way that dental health care can contribute to the prevention of incidence and progression of these diseases. The aim of the present study was to collect and review findings addressing the impact of oral condition and oral care on SARS CoV-2 infection and influenza viral infection and to obtain fundamental knowledge to provide effective oral health care and treatment to patients with these respiratory diseases.

2. Methods

Literature search was based on databases PubMed. Date of last search is 21st March 2021. Authors used following combinations of terms: ["influenza virus", and "oral bacteria"], ["influenza virus", "saliva", and "SIgA"], ["influenza virus", "saliva", and "sialic acid"], ["SARS-CoV2", "saliva", and "SIgA"]. Authors also hand-searched for relevant papers and reviews to identify journal articles that might not have been captured through our search strategy. Only articles in English were included. The authors selected eligible literature by consent. With regard to ["SARS-CoV2", "saliva", and "SIgA"], studies concerning diagnosis using saliva sample were excluded.

3. The Influence of Oral Health on Influenza Virus Infection

3.1. Direct Influence of Oral Bacteria

3.1.1. Apoptosis Induced by *Porphyromonas gingivalis*

The apoptosis induced by viral infection is generally recognized to have a role as a defense mechanism that prevents viral proliferation by programmed cell death. Infection with influenza virus causes significant cell death within the upper and lower respiratory tract and lung parenchyma. Most apoptotic induction depends on an intracellular cascade consisting of catalytic activation of cysteine-dependent aspartate-directed proteases (caspases). Chen et al. reported that the combination of *P. gingivalis* and H1N1 infection in lung epithelial cells may promote the production of inflammatory cytokines and increase NO production, leading to increased levels of apoptosis in lung epithelial cells via the Bcl-2/Bax/caspase-3 signaling pathway [6]. It is considered that co-infection with *P. gingivalis* and influenza virus highlighted the production of inflammatory cytokines and NO through Bcl-2/Bax/caspase-3 signaling, consequently increasing apoptosis levels. On the other hand, infection with both *P. gingivalis* and influenza A virus (IAV) temporarily inhibited apoptosis in respiratory epithelial cells, which may be related to the initiation of autophagy [7]. The regulation of the apoptosis by influenza virus and *P. gingivalis* may be complex and depend on the stage of viral infection.

Enhancements of respiratory viruses by *P. gingivalis* are in vitro phenomena, and there are some barriers to be observed in vivo. Oral bacteria, including periodontopathogens, cannot move to respiratory organs easily in individuals with normal swallowing function. Nishioka et al. reported that oral streptococci were isolated from the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of acute respiratory distress syndrome (ARDS) patients, suggesting the transfer of oral bacteria from the oral cavity to the lower respiratory tract [8]. Swallowing function may have influenced the distribution of oral bacteria in those patients.

3.1.2. Increase of Influenza Virus Proliferation Induced by Oral Bacteria

Some studies have demonstrated that oral streptococcal species increase influenza virus proliferation under in vitro conditions [8,9]. However, similar phenomena in the oral cavity require a large amount of such bacterial species or long-term stay of virus in the oral cavity.

3.2. Depression of Immunity Induced by Periodontal Disease

Given that periodontal pathogens influence influenza virus infection, the most plausible explanation is that local inflammatory reactions in patients with severe periodontal disease spread systemically and decrease immunity. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* produces a factor that downregulates T-cell proliferation and cytokine production at local defense sites [10,11]. Anaerobic gram negative bacteria including *P. gingivalis* greatly inhibit T- and B-cell proliferation, inducing immunosuppression [12]. Oral mucosal epithelial cells and oral fibroblasts that were impaired by periodontopathogens secrete butyric acid, which induces inflammatory reactions and the apoptosis of immunocompetent cells in local tissues. Lowering the immune response in the gingiva is assumed to induce active inflammatory cytokine production and increases inflammatory mediators (CRP, IL-6, TNF α) in the blood, which consequently, results in a decrease in the immunological defense system. A decrease in immunity induced by periodontitis pathogens is thought to make humans vulnerable to influenza virus infection.

3.3. Inhibition of Influenza Virus Proliferation by Salivary Immunity

3.3.1. Innate Immunity

Saliva plays a key role in protecting the host from a wide variety of pathogen infections including viruses and bacteria in the oral cavity. Many biomolecules in saliva have antiviral activities against specific viruses [13]. Saliva can control virus infection through many different biomolecules, including mucins, antibodies, and antiviral proteins. These biomolecules are supplied in a continuous flow of fluid. Whole saliva or parotid or submandibular/sublingual secretions from healthy donors inhibited IAV based on haemagglutination inhibition and neutralization assays [14]. The extent of inhibition of influenza virus infection by saliva depends on virus species [15]. Among purified salivary proteins, MUC5B, scavenger receptor cysteine-rich glycoprotein 340 (salivary gp-340), histatins, and human neutrophil defensins (HNPs) inhibited IAV at the concentrations present in whole saliva [16]. The antiviral activity of GP340 is significant against IAV and human immunodeficiency virus (HIV1), by contrast, GP340 has little or no anti-viral activity against herpes simplex virus (HSV), HIV-2, or simian immunodeficiency virus (SIV) [16]. Human saliva contains the sialic acid type corresponding to the binding preference of seasonal influenza viruses [17]. Elderly individuals with T2DM and liver disease had significantly lower levels of the expression of the terminal α 2-3-linked sialic acids [18]. This finding may partly explain that having chronic disease are associated with serious influenza-related complications, including elevated mortality. Gilbertson et al. showed that anti-influenza activity of infant saliva is associated with sialic

acid-containing molecules in infants aged 1–12 month [19]. Salivary sialic acid is thought to work as an innate immunization protein to protect infants from influenza virus infection, who are not immunized against influenza virus.

3.3.2. Humoral Immunity

SIgA is a subclass of Immunoglobulin A (IgA), an antibody that plays a critical role in mucosal immunity. SIgA is the main immunoglobulin found in mucous secretions from salivary glands. SIgA in saliva works as an initial defense that prevents the invasion of pathogens such as bacteria and viruses by which SIgA inhibits pathogen attachment and settlement to the mucous membrane by binding and aggregating pathogens (Figure 1).

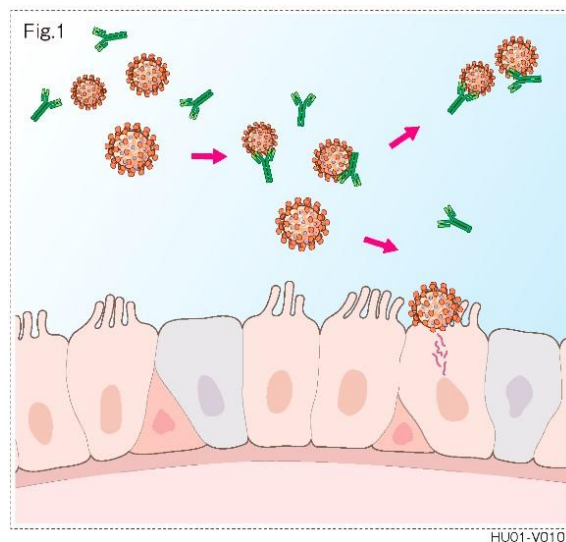


Figure 1. SIgA in saliva prevents the invasion of pathogens such as bacteria and viruses by which SIgA inhibits pathogen attachment and settlement to the mucous membrane by binding and aggregating pathogens.

SIgA antibodies have neutralization potential pathogens at the entrance site before they can attach to epithelial cells and overcome the epithelial surface. Considerable levels of Influenza virus specific SIgA was secreted in saliva, suggesting that saliva works as humoral immunity against influenza virus [20,21]. The development of mucosal vaccines that aim to induce influenza virus-specific IgA has been working on. Langley reported that nasally administered inactivated trivalent influenza vaccine significantly increased salivary secretory IgA in healthy adults aged 18–64 years [22]. Practical realization of mucosal vaccine for influenza virus will enhance the importance of immunity in the oral cavity.

3.4. Epidemiological Study

No cross-sectional study investigating the association between a history of influenza and periodontal disease among community dwelling people or case–control study comparing periodontal health

between patients with influenza and people in good respiratory health has been published. In a randomized controlled trial (RCT) study of day care service users, the experimental group with an intervention of professional oral health care had a significantly lower prevalence rate of influenza and lower levels of neuraminidase and trypsin-like protease in saliva than the control group [23].

No other study has examined the association between influenza virus infection and oral care. The impact of oral health on influenza virus infection reviewed here suggests the necessity of investigating the association between the severity of periodontitis and influenza virus infection and between saliva secretion and influenza virus infection.

4. COVID-19 and Oral Health

4.1. Saliva and SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 binds the receptor, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) on the surface of multiple cell types [24–26]. Salivary gland cells are found to have ACE2 and be infected by SARS-CoV-2 [27,28]. Other oral tissue cells such as osteoblast and osteoclast of alveolar bone, fibroblast, gingiva, and the periodontal ligament [29,30]. ACE2 expression in the nasal epithelium was lower in children than in adults and was considered to increase with age [31]. This ageing alteration is presumed to apply to the salivary gland. The lower expression of ACE2 may be responsible for the lower COVID19 incidence rate in children.

4.1.1. Anti-Viral Activity of Saliva

Saliva has liquidity and exerts a function of washing materials, including virus, away. People with a small amount of saliva have a risk of insufficient ability to wash away virus. Although saliva containing high virus load could be an infection source, increased secretion of saliva is expected to dilute virus in saliva and decrease the risk of virus transmission.

As mentioned above in this review, salivary components include anti-viral molecules such as cathelicidin, lactoferrin, lysozyme, mucin, peroxidase, salivary agglutinin (gp340, DMBT1), SLPI, and α and β defensins have been reported as salivary antiviral components [32]. Salivary anti-viral components inhibit the growth of various viruses in the oral cavity, such as HSV, HIV, vesicular stomatitis virus (VSV), Epstein-Barr virus (EBV), human papilloma virus (HPV), Ebola virus, human herpes virus (HHV), measles morbillivirus, adenovirus, rabies virus, hepatitis A virus (HAV), hepatitis C virus (HCV), influenza virus, and Hantavirus [16,32–35]. Furthermore, virus-specific SIgA is induced in saliva after virus infection and produces anti-viral effects.

4.1.2. Possibility of the Inhibition of SARS-CoV2 by Saliva

Although the anti-SARS-CoV-2 effect of saliva has not yet been reported, it is quite conceivable that salivary immunity works to inhibit infection of SARS-CoV-2. Since SARS-CoV-2 infect salivary gland cells, virus-specific SIgA must be secreted in saliva. In COVID-19 patients, a correlation ($r = 0.4405$) between salivary IgA levels and COVID-19 disease severity was found [36]. Sterlin et al. reported that most of saliva samples from SARS-CoV2 infected patients neutralized SARS-CoV2 pseudotyped viral particles with a significant correlation between neutralization activity and anti-RBD IgA titers ($r = -0.796, p < 0.008$) [37]. SARS-CoV2 specific IgA monoclonal antibody exhibited strong neutralizing activity against SARS-CoV2, suggesting the important role of IgA [38]. These evidence elicit the potential of SIgA in saliva to prevent SARS-CoV2 infection. In a murine model, the production of SARS-CoV-specific serum IgG and SIgA was detected in saliva following intranasal immunization after SARS-CoV infection [39]. Recently available mRNA vaccines presented that antibody to S protein, and the Receptor Binding Domain of SARS-CoV-2 were detected in saliva [40]. It is expected that IgA antibody is produced in salivary glands, and have an important role in suppression of SARS-CoV-2 proliferation in salivary glands and in preventing the excretion of the virus into saliva.

SIgA secretion is known to decrease with age. Middle-aged and older adults had lower saliva secretion than younger adults [41]. Lower salivary SIgA was significantly related to increasing age [42,43]. A decrease in SIgA secretion with ageing is thought to permit submucosal pathogen entry, consequently causing upper respiratory disease. The difference in vulnerability to Sars-CoV-2 infection between younger people and elderly people may depend on antiviral activity in the salivary gland and saliva of individuals. A study reported a significant positive correlation between age and peak viral load [44], which may result from decreased antiviral activity of saliva with age.

Since saliva is a source of SARS-CoV-2 infection, sufficient attention should be paid to droplet infection through saliva. Nevertheless, an increase in saliva secretion and SIgA concentration in saliva is thought to decrease SARS-CoV-2 infection. Chewing has been reported to have a positive impact on saliva secretion [45–48]. The number of chewing cycles is effective in increasing saliva flow. A few studies addressing the association between exercise and salivary SIgA have been reported. Twelve months of exercise training significantly increased the level of salivary SIgA among middle-aged adults [49]. Elderly people who walked 7000 steps/day had higher SIgA levels than those who walked 3000 steps/day [50]. Staying home for fear of infection may result in a decrease in SIgA.

Few studies have investigated the association between saliva secretion and saliva SIgA and SARS CoV-2 infection. Further evidence addressing the influence of saliva on SARS CoV-2 infection is required.

Bioinformatic studies suggested that the SARS-CoV-2 spike protein is likely to bind sialic acid glycans [51,52]. A domain in the cap or knob of the SARS-CoV-2 spike is involved in the non-covalent binding of

host sialic acid glycans. SARS-CoV-2 is expected to use sialic acid as a receptor in addition to ACE2. Salivary sialic acid may inhibit SARS-CoV-2 infection, like influenza virus.

4.1.3. The Use of Saliva as a Possible Way of COVID-19 Diagnosis

SARS-CoV-2 exhibits high infectivity from human to human. More correct and safe diagnosis for SARS-CoV-2 infection is necessary to avoid virus transmission to healthy individuals and health care providers. Sensitivity and specificity for SARS-CoV-2 detection of saliva specimen was comparable to that of nasopharyngeal and throat swabs [53,54]. The use of saliva has some advantage of being rapid, less invasive, and decreasing the possibility of healthcare personnel to SARS-CoV-2, it has a potential to become an important tool for diagnosis of SARS-CoV-2 infection.

4.2. Association between COVID-19 and Periodontitis

A case–control study demonstrated an association between periodontitis and the severity of COVID-19 infection [55]. It has been found that there is a clear correlation between these two diseases and this correlation is dual-direction: The exacerbation of COVID-19 occurred by an influence of periodontitis and the cytokine storm syndrome caused by the virus could accentuate periodontitis. During SARS-CoV-2 infection, ACE-2 is under expressed and cannot form the ACE2–angiotensin1–7–Mas receptor axis, resulting in an increase in inflammatory cytokines such as interleukin-6, interleukin-7, tumor necrosis factor alpha, interleukin-2, interleukin-1 beta, monocyte chemoattractant protein-1, and transforming growth factor-beta, associated with a periodontal disease [56]. The changes in the expression of cytokines are thought to explain part of the association between periodontitis and systemic chronic diseases [57–67], which suggests a wide and profound impact of periodontal disease on systemic health.

5. Conclusions

In this review, we discuss the possible influence of oral health status on respiratory viral infection from various points of view. Immunity in saliva is, in particular, thought to have considerable impacts on the incidence and progression of respiratory viral infection. Parts of antiviral mechanisms against influenza virus and SARS-CoV-2 by immunity in saliva are similar. Little is known about the mechanisms by which various factors inhibit or exacerbate viral infection in the oral cavity. It is important for prevention of viral infection by oral care based on evidence to draw perspective of the role of the oral cavity in the virus infection. This review shows a proper direction toward this goal.

Author Contributions: Conceptualization, A.T. and H.S.; methodology, A.T.; software, A.T.; validation, A.T.; formal analysis, A.T.; investigation, A.T.; resources, A.T.; data curation, A.T.; writing— original draft preparation, A.T.; writing—review and editing, H.S.; supervision, H.S.; project administration, H.S.; funding acquisition, H.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported in part by the Health Labor Science Research Grant (20CA2071).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Joseph, C.; Togawa, Y.; Shindo, N. Bacterial and viral infections associated with influenza. *Influenza Other Respir. Viruses* **2013**, *7* (Suppl. 2), 105–113. [[CrossRef](#)]
2. Bao, L.; Zhang, C.; Dong, J.; Zhao, L.; Li, Y.; Sun, J. Oral Microbiome and SARS-CoV-2: Beware of Lung Co-infection. *Front Microbiol.* **2020**, *11*, 1840. [[CrossRef](#)]
3. Sampson, V.; Kamona, N.; Sampson, A. Could there be a link between oral hygiene and the severity of SARS-CoV-2 infections? *Br. Dent. J.* **2020**, *228*, 971–975. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Reichhardt, M.P.; Meri, S. SALSA: A Regulator of the Early Steps of Complement Activation on Mucosal Surfaces. *Front. Immunol.* **2016**, *7*, 85. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Holmgren, J.; Czerkinsky, C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat. Med.* **2005**, *11* (Suppl. 4), S45–S53. [[CrossRef](#)]
6. Chen, Y.; Zhou, R.; Yi, Z.; Li, Y.; Fu, Y.; Zhang, Y.; Li, P.; Li, X.; Pan, Y. *Porphyromonas gingivalis* induced inflammatory responses and promoted apoptosis in lung epithelial cells infected with H1N1 via the Bcl-2/Bax/Caspase-3 signaling pathway. *Mol. Med. Rep.* **2018**, *18*, 97–104. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Li, X.; Li, C.; Liu, J.C.; Pan, Y.P.; Li, Y.G. In vitro effect of *Porphyromonas gingivalis* combined with influenza A virus on respiratory epithelial cells. *Arch. Oral Biol.* **2018**, *95*, 125–133. [[CrossRef](#)]
8. Nishioka, K.; Kyo, M.; Nakaya, T.; Shime, N. Proteins produced by Streptococcus species in the lower respiratory tract can modify antiviral responses against influenza virus in respiratory epithelial cells. *Microbes Infect.* **2020**, *23*, 104764. [[CrossRef](#)]
9. Kamio, N.; Imai, K.; Shimizu, K.; Cueno, M.E.; Tamura, M.; Saito, Y.; Ochiai, K. Neuraminidase-producing oral mitis group streptococci potentially contribute to influenza viral infection and reduction in antiviral efficacy of zanamivir. *Cell Mol. Life Sci.* **2015**, *72*, 357–366. [[CrossRef](#)]
10. Kurita-Ochiai, T.; Ochiai, K. Immunosuppressive factor from Actinobacillus actinomycetemcomitans down regulates cytokine production. *Infect. Immun.* **1996**, *64*, 50–54. [[CrossRef](#)]
11. Ochiai, K.; Senpuku, H.; Kurita-Ochiai, T. Purification of immunosuppressive factor from Capnocytophaga ochracea. *J. Med. Microbiol.* **1998**, *47*, 1087–1095. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

12. Kurita-Ochiai, T.; Fukushima, K.; Ochiai, K. Volatile fatty acids, metabolic by-products of periodontopathic bacteria and cytokine production. *J. Dent. Res.* **1995**, *74*, 1367–1773. [[CrossRef](#)]
13. Malamud, D.; Wahl, S.M. The mouth: A gateway or a trap for HIV? *AIDS* **2010**, *24*, 5–16. [[CrossRef](#)]
14. White, M.R.; Helmerhorst, E.J.; Ligtenberg, A.; Karpel, M.; Teclé, T.; Siqueira, W.L.; Oppenheim, F.G.; Hartshorn, K.L. Multiple components contribute to ability of saliva to inhibit influenza viruses. *Oral Microbiol. Immunol.* **2009**, *24*, 18–24. [[CrossRef](#)]
15. Ivinson, K.; Deliyannis, G.; McNabb, L.; Grollo, L.; Gilbertson, B.; Jackson, D.; Brown, L.E. Salivary Blockade Protects the Lower Respiratory Tract of Mice from Lethal Influenza Virus Infection. *J. Virol.* **2017**, *91*. [[CrossRef](#)]
16. Malamud, D.; Abrams, W.R.; Barber, C.A.; Weissman, D.; Rehtanz, M.; Golub, E. Antiviral activities in human saliva. *Adv. Dent. Res.* **2011**, *23*, 34–37. [[CrossRef](#)]
17. Limsuwat, N.; Suptawiwat, O.; Boonarkart, C.; Puthavathana, P.; Wiriyarat, W.; Auewarakul, P. Sialic acid content in human saliva and anti-influenza activity against human and avian influenza viruses. *Arch. Virol.* **2016**, *161*, 649–656. [[CrossRef](#)]
18. Zhong, Y.; Qin, Y.; Yu, H.; Yu, J.; Wu, H.; Chen, L.; Zhang, P.; Wang, X.; Jia, Z.; Guo, Y.; et al. Avian influenza virus infection risk in humans with chronic diseases. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 8971. [[CrossRef](#)]
19. Gilbertson, B.; Edenborough, K.; McVernon, J.; Brown, L.E. Inhibition of Influenza A Virus by Human Infant Saliva. *Viruses* **2019**, *11*, 766. [[CrossRef](#)]
20. Paixão, V.; Almeida, E.B.; Amaral, J.B.; Roseira, T.; Monteiro, F.R.; Foster, R.; Sperandio, A.; Rossi, M.; Amirato, G.R.; Santos, C.A.F.; et al. Elderly Subjects Supplemented with L-Glutamine Shows an Improvement of Mucosal Immunity in the Upper Airways in Response to Influenza Virus Vaccination. *Vaccines* **2021**, *9*, 107. [[CrossRef](#)]
21. Gianhecchi, E.; Manenti, A.; Kistner, O.; Trombetta, C.; Manini, I.; Montomoli, E. How to assess the effectiveness of nasal influenza vaccines? Role and measurement of sIgA in mucosal secretions. *Influenza Other Respir. Viruses* **2019**, *13*, 429–437. [[CrossRef](#)]
22. Langley, J.M.; Aoki, F.; Ward, B.J.; McGeer, A.; Angel, J.B.; Stiver, G.; Gorfinkel, I.; Shu, D.; White, L.; Lasko, B.; et al. A nasally administered trivalent inactivated influenza vaccine is well tolerated, stimulates both mucosal and systemic immunity, and potentially protects against influenza illness. *Vaccine* **2011**, *29*, 1921–1928. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Abe, S.; Ishihara, K.; Adachi, M.; Sasaki, H.; Tanaka, K.; Okuda, K. Professional oral care reduces influenza infection in elderly. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2006**, *43*, 157–164. [[CrossRef](#)]
24. Li, M.Y.; Li, L.; Zhang, Y.; Wang, X.S. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect. Dis. Poverty* **2020**, *9*, 45. [[CrossRef](#)]
25. Li, Y.C.; Bai, W.Z.; Hashikawa, T. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *J. Med. Virol.* **2020**. [[CrossRef](#)]

26. Zhou, L.; Xu, Z.; Castiglione, G.M.; Soiberman, U.S.; Eberhart, C.G.; Duh, E.J. ACE2 and TMPRSS2 are expressed on the human ocular surface, suggesting susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Ocul. Surf* **2020**. [[CrossRef](#)]
27. Xu, J.; Li, Y.; Gan, F.; Du, Y.; Yao, Y. Salivary Glands: Potential Reservoirs for COVID-19 asymptomatic infection. *J. Dent. Res.* **2020**, *99*, 989. [[CrossRef](#)]
28. Xu, R.; Cui, B.; Duan, X.; Zhang, P.; Zhou, X.; Yuan, Q. Saliva: Potential diagnostic value and transmission of 2019-nCoV. *Int. J. Oral Sci.* **2020**, *12*, 1–6. [[CrossRef](#)]
29. Zhong, M.; Lin, B.; Pathak, J.L.; Gao, H.; Young, A.J.; Wang, X.; Liu, C.; Wu, K.; Liu, M.; Chen, J.M.; et al. ACE2 and Furin Expressions in Oral Epithelial Cells Possibly Facilitate COVID-19 Infection via Respiratory and Fecal-Oral Routes. *Front. Med* **2020**, *7*, 580796. [[CrossRef](#)]
30. Queiroz-Junior, C.M.; Santos, A.C.P.M.; Galvão, I.; Souto, G.R.; Mesquita, R.A.; Sá, M.A.; Ferreira, A.J. The angiotensin converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/Mas Receptor axis as a key player in alveolar bone remodeling. *Bone* **2019**, *128*, 115041. [[CrossRef](#)]
31. Bunyavanich, S.; Do, A.; Vicencio, A. Nasal Gene Expression of Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Children and Adults. *JAMA* **2020**. [[CrossRef](#)]
32. Nagashunmugam, T.; Malamud, D.; Davis, C.; Abrams, W.R.; Friedman, H.M. Human submandibular saliva inhibits human immunodeficiency virus type 1 infection by displacing envelope glycoprotein gp120 from the virus. *J. Infect. Dis.* **1998**, *178*, 1635–1641. [[CrossRef](#)]
33. White, M.R.; Crouch, E.; van Eijk, M.; Hartshorn, M.; Pemberton, L.; Tornøe, I.; Holmskov, U.; Hartshorn, K.L. Cooperative anti-influenza activities of respiratory innate immune proteins and neuraminidase inhibitor. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* **2005**, *288*, L831–L840. [[CrossRef](#)]
34. Wu, Z.; Van Ryk, D.; Davis, C.; Abrams, W.R.; Chaiken, I.; Magnani, J.; Malamud, D. Salivary agglutinin inhibits HIV type 1 infectivity through interaction with viral glycoprotein 120. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* **2003**, *19*, 201–209. [[CrossRef](#)]
35. Hardestam, J.; Petterson, L.; Ahlm, C.; Evander, M.; Lundkvist, A.; Klingström, J. Antiviral effect of human saliva against Hantavirus. *J. Med. Virol.* **2008**, *80*, 2122–2126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Varadhachary, A.; Chatterjee, D.; Garza, J.; Garr, R.P.; Foley, C.; Letkeman, A.F.; Dean, J.; Haug, D.; Breeze, J.; Traylor, R.; et al. Salivary anti-SARS-CoV-2 IgA as an accessible biomarker of mucosal immunity against COVID-19. *MedRxiv* **2020**. [[CrossRef](#)]
37. Sterlin, D.; Mathian, A.; Miyara, M.; Mohr, A.; Anna, F.; Claër, L.; Quentric, P.; Fadlallah, J.; Devilliers, H.; Ghillani, P.; et al. IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2. *Sci. Transl. Med.* **2021**, *13*, eabd2223. [[CrossRef](#)]

38. Ejemel, M.; Li, Q.; Hou, S.; Schiller, Z.A.; Tree, J.A.; Wallace, A.; Amcheslavsky, A.; Kurt Yilmaz, N.; Buttigieg, K.R.; Elmore, M.J.; et al. Cross-reactive human IgA monoclonal antibody blocks SARS-CoV-2 spike-ACE2 interaction. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 4198. [[CrossRef](#)]
39. Lu, B.; Huang, Y.; Huang, L.; Li, B.; Zheng, Z.; Chen, Z.; Chen, J.; Hu, Q.; Wang, H. Effect of mucosal and systemic immunization with virus-like particles of severe acute respiratory syndrome coronavirus in mice. *Immunology* **2010**, *130*, 254–261. [[CrossRef](#)]
40. Ketas, T.J.; Chaturbhuj, D.; Cruz-Portillo, V.M.; Francomano, E.; Golden, E.; Chandrasekhar, S.; Debnath, G.; Diaz-Tapia, R.; Yasmeen, A.; Leconet, W.; et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 mRNA vaccines are detectable in saliva. *BioRxiv* **2021**. [[CrossRef](#)]
41. Miletic, I.D.; Schiffman, S.S.; Miletic, V.D.; Sattely-Miller, E.A. Salivary IgA secretion rate in young and elderly persons. *Physiol. Behav.* **1996**, *60*, 243–248. [[CrossRef](#)]
42. Evans, P.; Der, G.; Ford, G.; Hucklebridge, F.; Hunt, K.; Lambert, S. Social class, sex, and age differences in mucosal immunity in a large community sample. *Brain Behav. Immun.* **2000**, *14*, 41–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Tanida, T.; Ueta, E.; Tobiume, A.; Hamada, T.; Rao, F.; Osaki, T. Influence of aging on candidal growth and adhesion regulatory agents in saliva. *J. Oral Pathol. Med.* **2001**, *30*, 328–335. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. To, K.K.; Tsang, O.T.; Leung, W.S.; Tam, A.R.; Wu, T.C.; Lung, D.C.; Yip, C.C.; Cai, J.P.; Chan, J.M.; Chik, T.S.; et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-Cov-2 detection: An observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* **2020**, *20*, 565–574. [[CrossRef](#)]
45. Yeh, C.K.; Johnson, D.A.; Dodds, M.W.; Sakai, S.; Rugh, J.D.; Hatch, J.P. Association of salivary flow rates with maximal bite force. *J. Dent. Res.* **2000**, *79*, 1560–1565. [[CrossRef](#)]
46. Jenkins, G.N.; Edgar, W.M. The effect of daily gum-chewing on salivary flow rates in man. *J. Dent. Res.* **1989**, *68*, 786–790. [[CrossRef](#)]
47. Dodds, M.W.; Hsieh, S.C.; Johnson, D.A. The effect of increased mastication by daily gum-chewing on salivary gland output and dental plaque acidogenicity. *J. Dent. Res.* **1991**, *70*, 1474–1478. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Dodds, M.W.; Johnson, D.A. Influence of mastication on saliva, plaque pH and masseter muscle activity in man. *Arch. Oral Biol.* **1993**, *38*, 623–626. [[CrossRef](#)]
49. Akimoto, T.; Kumai, Y.; Akama, T.; Hayashi, E.; Murakami, H.; Soma, R.; Kuno, S.; Kono, I. Effects of 12 months of exercise training on salivary secretory IgA levels in elderly subjects. *Br. J. Sports Med.* **2003**, *37*, 76–79. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Shimizu, K.; Kimura, F.; Akimoto, T.; Akama, T.; Kuno, S.; Kono, I. Effect of free-living daily physical activity on salivary secretory IgA in elderly. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2007**, *39*, 593–598. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

51. Robson, B. Bioinformatics studies on a function of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein as the binding of host sialic acid glycans. *Comput. Biol. Med.* **2020**, *122*, 103849. [[CrossRef](#)]
52. Seyran, M.; Takayama, K.; Uversky, V.N.; Lundstrom, K.; Palù, G.; Sherchan, S.P.; Attrish, D.; Rezaei, N.; Aljabali, A.A.A.; Ghosh, S.; et al. The structural basis of accelerated host cell entry by SARS-CoV-2. *FEBS J.* **2020**. [[CrossRef](#)]
53. Fernandes, L.L.; Pacheco, V.B.; Borges, L.; Athwal, H.K.; de Paula Eduardo, F.; Bezinelli, L.; Correa, L.; Jimenez, M.; Dame-Teixeira, N.; Lombaert, I.M.A.; et al. Saliva in the Diagnosis of COVID-19: A Review and New Research Directions. *J. Dent. Res.* **2020**, *99*, 1435–1443. [[CrossRef](#)]
54. Butler-Laporte, G.; Lawandi, A.; Schiller, I.; Yao, M.; Dendukuri, N.; McDonald, E.G.; Lee, T.C. Comparison of Saliva and Nasopharyngeal Swab Nucleic Acid Amplification Testing for Detection of SARS-CoV-2: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Intern. Med.* **2021**, *181*, 353–360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Marouf, N.; Cai, W.; Said, K.N.; Daas, H.; Diab, H.; Chinta, V.R.; Hssain, A.A.; Nicolau, B.; Sanz, M.; Tamimi, F. Association between periodontitis and severity of COVID-19 infection: A case-control study. *J. Clin. Periodontol.* **2021**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Mancini, L.; Quinzi, V.; Mummolo, S.; Marzo, G.; Marchetti, E. Angiotensin-Converting Enzyme 2 as a possible correlation between COVID-19 and periodontal disease. *Appl. Sci.* **2020**, *10*, 6224. [[CrossRef](#)]
57. Tonetti, M.S.; Van Dyke, T.E. Working group 1 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Periodontol.* **2013**, *84* (Suppl. 4), S24–S29. [[CrossRef](#)]
58. LaMonte, M.J.; Genco, R.J.; Hovey, K.M.; Wallace, R.B.; Freudenheim, J.L.; Michaud, D.S.; Mai, X.; Tinker, L.F.; Salazar, C.R.; Andrews, C.A.; et al. History of Periodontitis Diagnosis and Edentulism as Predictors of Cardiovascular Disease, Stroke, and Mortality in Post-menopausal Women. *J. Am. Heart Assoc.* **2017**, *6*, e004518. [[CrossRef](#)]
59. Sanz, M.; Marco Del Castillo, A.; Jepsen, S.; Gonzalez-Juanatey, J.R.; D’Aiuto, F.; Bouchard, P.; Chapple, I.; Dietrich, T.; Gotsman, I.; Graziani, F.; et al. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report. *J. Clin. Periodontol.* **2020**, *47*, 268–288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Chapple, I.L.; Genco, R. Working group 2 of joint EFP/AAP workshop. Diabetes and periodontal diseases: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Clin. Periodontol.* **2013**, *40* (Suppl. 14), S106–S112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Suvan, J.E.; Petrie, A.; Nibali, L.; Darbar, U.; Rakmanee, T.; Donos, N.; D’Aiuto, F. Association between overweight/obesity and increased risk of periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* **2015**, *42*, 733–739. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

62. Sanz, M.; Ceriello, A.; Buyschaert, M.; Chapple, I.; Demmer, R.T.; Graziani, F.; Herrera, D.; Jepsen, S.; Lione, L.; Madianos, P.; et al. Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J. Clin. Periodontol.* **2018**, *45*, 138–149. [\[CrossRef\]](#)
63. Muñoz Aguilera, E.; Suvan, J.; Buti, J.; Czesnikiewicz-Guzik, M.; Barbosa Ribeiro, A.; Orlandi, M.; Guzik, T.J.; Hingorani, A.D.; Nart, J.; D’Aiuto, F. Periodontitis is associated with hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Cardiovasc. Res.* **2020**, *116*, 28–39. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
64. Sharma, P.; Dietrich, T.; Ferro, C.J.; Cockwell, P.; Chapple, I.L. Association between periodontitis and mortality in stages 3-5 chronic kidney disease: NHANES III and linked mortality study. *J. Clin. Periodontol.* **2016**, *43*, 104–113. [\[CrossRef\]](#)
65. Gomes-Filho, I.S.; Cruz, S.S.D.; Trindade, S.C.; Passos-Soares, J.S.; Carvalho-Filho, P.C.; Figueiredo, A.C.M.G.; Lyrio, A.O.; Hintz, A.M.; Pereira, M.G.; Scannapieco, F. Periodontitis and respiratory diseases: A systematic review with meta-analysis. *Oral Dis* **2020**, *26*, 439–446. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
66. Nwizu, N.; Wactawski-Wende, J.; Genco, R.J. Periodontal disease and cancer: Epidemiologic studies and possible mechanisms. *Periodontol. 2000* **2020**, *83*, 213–233. [\[CrossRef\]](#)
67. Schenkein, H.A.; Papapanou, P.N.; Genco, R.; Sanz, M. Mechanisms underlying the association between periodontitis and atherosclerotic disease. *Periodontol. 2000* **2020**, *83*, 90–106. [\[CrossRef\]](#)

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(厚生労働科学特別研究事業)
分担研究報告書

新型コロナウイルス感染症等と歯科保健医療の関係性の国際的評価の検証に関する研究

研究分担者 バワール ウジャーラ クマール 日本大学松戸歯学部・生化学・講師

研究要旨

昨年発生した新型コロナウイルスのパンデミックは、未だ終息の兆しが見られない。日本も緊急事態宣言が発令され、2021年3月からワクチン接種が開始された。4月13日に発表された日本経済新聞の調査では世界の累計感染者数は1億3646万人、死者数は294万人である。世界中の医療現場が逼迫し、専門家は医療崩壊を懸念している。歯科保健医療が新型コロナウイルス感染に与える効果やワクチン接種の状況を国際的に調査することで、民間ベースでの具体的な感染予防対策の底上げに直結することが考えられる。国際歯科連盟 (FDI) の調査ではいくつかの国では歯科医師に対するコロナウイルスワクチン接種を行っている。歯科医師は新型コロナウイルスパンデミックに口腔内の疾患に関わりがあることを明らかにした。口腔内の組織にはSARS-CoV-19が付着および侵入するための重要な役割を果たしている可能性が十分に考えられることから、口腔とCOVID-19との関連性はあると考えられる。

歯科医師がワクチン接種を受けることは、口腔が感染場所として関わるなら重要なことである。その一方、口腔ケアと COVID-19 感染と重症化との関連性の科学的根拠はまだ乏しいと考えられる。国際的に、COVID-19 と感染対策や口腔ケアの役割に対する認識に差があることが明らかになった。

A. 研究目的

昨年発生した新型コロナウイルスのパンデミックは、未だ終息の兆しが見られない。日本も緊急事態宣言が発令され、2021年3月からワクチン接種が開始された。4月13日に発表された日本経済新聞の調査では世界の累計感染者数は1億3646万人、死者数は294万人である。世界中の医療現場が逼迫し、専門家は医療崩壊を懸念している。歯科保健医療が新型コロナウイルス感染に与える効果を調査することで、民間ベースでの具体的な感染予防対策の底上げに直結することが考えられる。

B. 研究方法

アメリカ合衆国、カナダ、イギリス、ドイツ、オーストラリア、アラブ首長国連邦における歯科保健医療の現状を調査した。アメリカ合衆国は American Dental Association (ADA)、the Centers for Disease Control and Prevention (CDC)、カナダは The Ontario Dental Association (ODA)、イギリスは National Health Service (NHS)、ドイツは The German Dental Association (BZÄK)、The National Association of Statutory Health Insurance Dentists (KZBV)、The German Society of Dentistry and Oral Medicine (DGZMK)の調査結果をもとに考察した。

C. 研究結果

アメリカ合衆国

The American Dental Association (ADA)と The Centers for Disease Control and Prevention (CDC)は歯科医療従事者へのワクチン接種は優先させるよう働きかけている。ADAは国会への訴えと、パンデミック中の歯科医療従事者への感染防止、体調管理を続けている。

また、カルフォルニア州では認定を受けた歯科医師によるワクチン接種の普及を進めている。講習を受講し認定された歯科医師は16歳以上の人々に対するワクチン接種が可能である。The California Dental Association (CDA)は歯科医師によるワクチン接種を主導することに重点をおいた活動を行っている。

さらに、*Journal of Dental Hygiene* 2021によるとアメリカ合衆国において、新型コロナウイルスの流行と歯科衛生士による処置は関連があることが以下のように明記されている。

“歯科治療と新型コロナウイルス感染率が低いことを調査した結果、歯科治療と衛生士による口腔予防処置は安全なものである”

References:

1. COVID-19 Vaccines for Healthcare Personnel. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), Division of Viral Diseases.
2. Study reports low SARS-CoV-2 infection rate among dental hygienists in the US. Dental Tribune International.
3. COVID-19 Prevalence and Related Practices among Dental Hygienists in the

United States. *J Dent Hyg* 2021; 95(1): 6-16.

カナダ

The Ontario Dental Association (ODA)は熟考の結果、歯科医療従事者をワクチン接種の第一優先に含むことを希望している。オンタリオ州の歯科医療従事者は、新型コロナウイルス感染リスクが非常に高く、専門家による体調管理早急なワクチン接種が必要である。

Reference:

1. Ontario dental association calls for early access to COVID-19 vaccine for dentists, staff. Global News.

イギリス

すべての歯科医療従事者はワクチン接種を優先して受けることが可能である。現在の政府の計画では、2月中旬には歯科医療従事者へのワクチン接種を開始する。

Reference:

1. England: Priority vaccine access confirmed. British Dental Association.
2. Dental teams ‘second in line’ for COVID-19 vaccine. Dentistry Online.

ドイツ

The German Dental Association (BZÄK)、The National Association of Statutory Health Insurance Dentists (KZBV)、The German Society of Dentistry and Oral Medicine (DGZMK)は、歯科医療従事者は早急にワクチン接種が受けられるよう訴えている。歯

科医療従事者はパンデミック中臨床を継続させるための、医学的、また道徳的な条件を満たしている。

Reference:

1. COVID-19 vaccination: Where does the dental profession stand? Dental Tribune International.

オーストラリア

パンデミックの間、オーストラリアは他国と比較して、早期に強制的なロックダウンを開始し、行動自粛により、感染リスクを可能な限り抑えることに成功している。2020年11月に Federal Minister for Health (Greg Hunt) はワクチン接種の第一軍に歯科医療従事者は含まれ、2021年6月までに行われることを明確にした。

Reference:

1. Dentists included in first batch of COVID vaccine recipients in Australia. Australian Dental Association.

アラブ首長国連邦

人々は独自の予防策を行っており、各個人の知識、意識、行動様式を KAP セオリーを用いて分析した。人口 1602 名に対しアンケート調査を行った。対象者の 71% が豊富な知識を持っており、78% の人々に良識があり、76% の人々の行動に問題がないことが明らかとなった。94% が握手を控え、93.3% が常にマスクを着用し、85.5% が手指消毒をしている。66% が手洗いを徹底し、22.7% がはちみつ入りのしょうがを飲んでいる。13% は頻繁ににんにくを摂取してい

る。82% が定期的に新型コロナウイルスに対する医学的知識を得ているが、10% は非常に乏しい知識であった。以上のことからアラブ首長国連邦の多くの国民は、知識が豊富で良識ある行動と意識を持っていることが明らかである。

Reference:

1. Knowledge, attitude, and practice towards COVID-19 among UAE residents: an online Cross-sectional survey. Dubai Medical Journal 2021.

D. 考察
国際歯科連盟 (FDI) の調査ではいくつかの国では歯科医師による新型コロナウイルスワクチン接種を行っている。歯科医師は新型コロナウイルスパンデミックに口腔内の疾患が関わりがあると明らかにした。充填によるう蝕治療後、より精密な治療を必要とする歯周病と嚢胞を引き起こす。歯科医師がワクチン接種を受けることは、口腔が感染場所として関わるなら重要なことである。その一方、口腔ケアと COVID-19 感染と重症化との関連性の科学的根拠はまだ乏しいと考えられる。

Reference:

1. FDI survey: Only a few countries enable dentists to administer SARS-CoV-2 vaccines. Dental Tribune International.

E. 結論

口腔ケアと COVID-19 との関連性の科学的根拠はまだ乏しいと考えられる。国際的

に、COVID-19 と感染対策や口腔ケアの役割に対する認識に差があることが明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表
特になし
2. 学会発表
特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
特になし

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(厚生労働科学特別研究事業)
分担研究報告書

口腔細菌の COVID-19 重症化への関与の検討

研究分担者 早川 智 日本大学医学部病態病理学系微生物学分野

研究要旨

歯周病は、口腔局所の慢性炎症としてサイトカイン血症や菌血症の原因となって全身性の炎症に影響を及ぼす。現在、世界で問題となっている新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)感染者でも、歯周病の存在が重症化因子となる可能性があるが、歯周病患者では多くに加齢や糖尿病、高血圧といった交絡因子の合併があるため、直接の因果関係を証明するのは難しい。そこで、各種の歯周病細菌の培養上清を SARS-CoV-2 高感受性細胞株である Vero E6/TMPRSS2 細胞ならびに低感受性細胞株ヒト絨毛癌細胞株、JEG-3, JAR, BeWo, 不死化初期絨毛細胞株 HTR8, 臍帯血管内皮細胞株 HUVEC), 末梢血単核球に SARS-CoV-2 をチャレンジしてウイルス複製を観察した。その結果、*Porphyromonas gingivalis* の上清に強いウイルス複製促进作用がみられたが、低感受性細胞株では感受性亢進効果は見られなかった。現時点で、COVID-19 感染者の予後と、口腔内の状態に関する報告は少ない。また、少数の報告は全て、疫学的証拠のみである。我々は、世界で初めて歯周病菌の培養上清が Vero 細胞におけるウイルス複製を亢進させること、中でも *P.gingivalis* のみに認められ、また株による差異が認められた。今後は上清中のウイルス複製因子の同定と、細胞内における分子機序を明らかにする必要がある。今後は上清中のウイルス複製因子の同定と、細胞内における分子機序を明らかにする必要がある。

A. 研究目的

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、1 本鎖 RNA ウイルスである SARS-CoV-2 による急性呼吸器感染症である 2019 年末に中国でコウモリに由来する人獣共通感染症として発生し、2021 年 4 月の時点で全世界の 1.4 億人が感染し、3 0 0 万人が死亡している。80%以上は軽症あるいは無症状であるが 10-20%は重症化し、1-2%は死に至る。重症化因子として、加齢や糖尿病、高血圧、肥満、血液凝固異常などの合併が知られているが、慢性炎症性疾患の存在も炎症性サイトカインや顆粒球の活性化を介して疾患増悪因子と考えられている。口腔内の慢性炎症である歯周病は、糖尿病や関節リウマチ、動脈硬化などの増悪因子であることが知られているが、産婦人科領域では早産や子宮内胎児発育遅延、妊娠高血圧症候群などの発生に関与する可能性が指摘されている。我々は、歯磨きや歯科治療時に容易に血中に侵入する歯周病関連細菌が胎盤絨毛を傷害することを報告したがⁱⁱⁱ、COVID-19 パンデミックにおいて歯周病細菌が関与する可能性を実験的に検討した。

B. 対象と方法

細胞増殖試験

Vero E6/TMPRSS2 細胞を 10^4 cells/well で 96 well プレートにまき、10%FBS を含む DMEM 培地で 24 時間培養した。その後、0.5%、1%、5%の割合で歯周病関連菌の培養上清を加え、さらに 24 時間培養した後、CCK-8 キットにて細胞増殖を評価した。

SARS-CoV-2 感染実験

48 well プレートに 2×10^4 cells/well の密度で細胞をまき 24 時間培養後、1%の割合で歯周病関連菌の培養上清を含む DMEM で培地を置き換え、さらに 24 時間培養した。次に MOI=0.1 に調整した SARS-CoV-2 ウイルス液により 1 時間室温で感染させたのち、PBS で二回洗浄した。その後 2% FBS を含む DMEM 培地で 24 時間培養し、上清を回収した (-80°Cで保存)。

TCID50 計測

Vero E6/TMPRSS2 をコンフルエントに培養した 96 well プレートに、上記の上清を段階希釈して加え、24 時間後にクリスタルバイオレットを含むホルマリン固定液で固定し、細胞変性を起こしている well を評価した。なお TCID50 は以下の式で求めた。
 $TCID50 = (\text{最も低い希釈倍率}) \times (\text{段階希釈した倍}$

率) Σ -0.5

$\Sigma = (\text{各希釈段階における細胞変性が認められたウェル数}) / (\text{検体数})$ の総和

蛍光免疫染色

6 well プレートにスライドガラスを入れ、その上で細胞培養を行い、上記と同様に感染実験を行った。細胞を PBS で一回洗浄した後、-20°Cの冷却メタノールで 5 分間固定し、洗浄液 (1% BSA-PBS) で 5 分間洗浄した後、ブロッキング液 (3% BSA-PBST) で 30 分間ブロッキングした。抗 SARS-CoV-2 スパイク蛋白/ヌクレオカプシド抗体を 1:500 の倍率でブロッキング液に希釈し、湿潤箱に入れ 4°Cで一晩インキュベートした。次に洗浄液で 5 分間洗浄し、ブロッキング液で 1:250 倍に希釈した Alexa Fluor® 488 標識の二次抗体で 30 分間インキュベートした後、洗浄液で 5 分間洗浄した。最後に Hoechst で対比染色を行い、マウントした。

低感受性細胞株への感染実験

ヒト絨毛癌細胞株、JEG-3, JAR, BeWo, 不死化初期絨毛細胞株 HTR8, 臍帯血管内皮細胞株 HUVEC), 末梢血単核球に同様に SARS-CoV-2 をチャレンジしてウイルス複製を観察した。

C. 結果

1) 歯周美病菌培養上清による細胞傷害性

トロホプラスト細胞株では SARS-CoV-2 の増殖が困難であるため、VeroE6/TMPRSS2 を用いて感染実験を行った。まず細胞毒性を検証したところ上清濃度 5%で毒性を認める場合があったため、上清 1%を用いることとした。(図 1)

2) 歯周病菌培養上清による Vero E6/TMPRSS2 でのウイルス複製への影響

全ての上清を検索したが、*Porphyromonas gingivalis* 2 株の上清において TCID50 の上昇が認められた。Pg.33277 株の上清は VeroE6/TMPRSS2 における SARS-CoV-2 の増殖を促進した。(図 2, 3)

3) 低感受性細胞株への影響

絨毛や血管内皮、末梢血単核細胞などの低感受性細胞株では細菌培養上清の感受性亢進効果は見られなかった。

D. 考察

COVID-19 感染者の予後と、口腔内の状態に関する

る報告は少なく、あるとしても加齢や喫煙、糖尿病などの交絡因子が強く疑われる。我々は Pubmed などの検索エンジンで調べる限り、世界で初めて歯周病菌の培養上清が Vero 細胞におけるウイルス複製を亢進させることを明らかにした。しかし、歯周病菌の中でも *P.gingivalis* のみに認められ、また株による差異が認められた。今後は上清中のウイルス複製因子の同定と、細胞内における分子機序を明らかにする必要がある。

E. 結論

歯周病菌が Vero 細胞におけるウイルス複製を亢進させることを明らかにした。しかし、歯周病菌の中でも *P.gingivalis* のみに認められ、また株による差異が認められことから、臨床分離株も含め今後詳細な大規模研究を行い、細胞内における分子機序の検討も必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Komine-Aizawa S, Hirohata N, Aizawa S, Abiko Y, Hayakawa S. *Porphyromonas gingivalis*

lipopolysaccharide inhibits trophoblast invasion in the presence of nicotine. *Placenta*. 2015 Jan;36(1):27-33.

2) Hirohata N, Komine-Aizawa S, Tamura M, Ochiai K, Sugitani M, Hayakawa S. *Porphyromonas gingivalis* Suppresses Trophoblast Invasion by Soluble Factors. *J Periodontol*. 2017 Dec;88(12):1366-1373.

2. 学会発表
特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
特になし

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

図1 口腔細菌の培養上清による VeroE6/TMPRSS2 の細胞毒性の検討

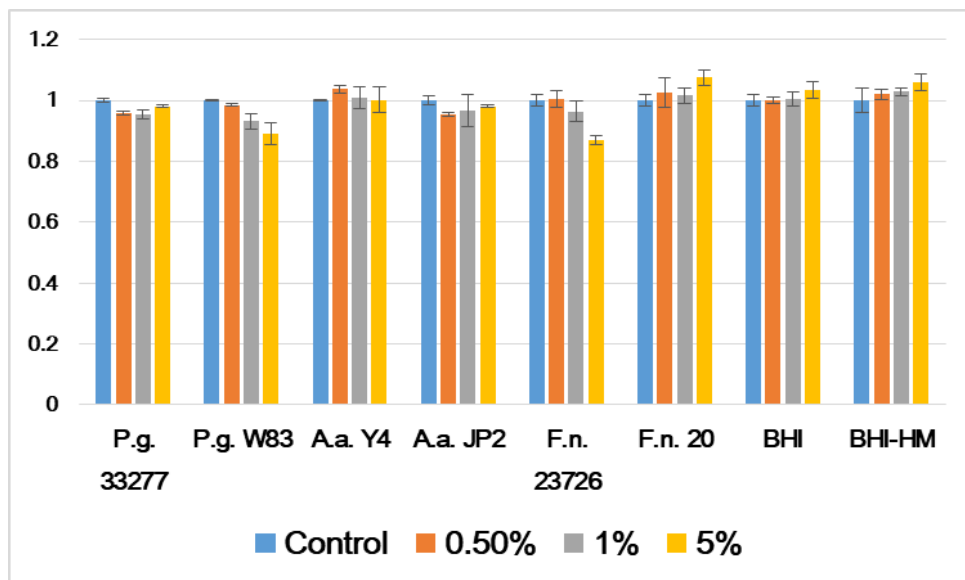


図 2 SARS-CoV-2 の感染に対する各種細菌培養上清の影響

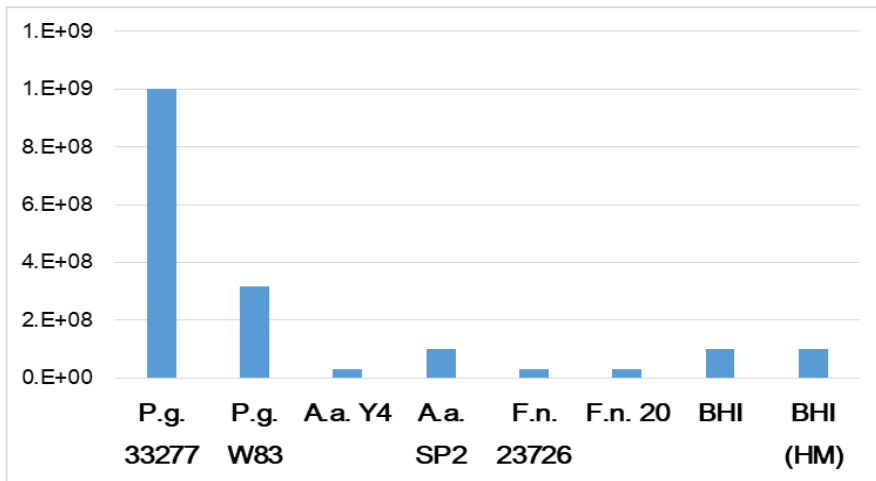


図 3 培養上清中の SARS-CoV-2 と P.gingivalis2 株の培養上清の影響

