様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ５ 月 １４ 日現在

機関番号：１０１０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2021～2024
課題番号：２１Ｋ０９９０９

研究課題名（和文）CPCを用いたSARS－CoV-2をはじめとするウイルスを対象とした臨床研究

研究課題名（英文）Clinical study of SARS-CoV-2 and related viruses using CPC as virus inactivator

研究代表者
川本　千春（Kawamoto, Chiharu）

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：６０３０１９０９

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、塩化セチルピリジニウム(CPC)がSARS-CoV-2を含むウイルスに対して示す抗ウイルス効果および口腔内における持続性を明らかにすることを目的とした。in vitro試験に加え、洗口剤やトローチ使用後の唾液を用いた分析では、CPCは低濃度でも複数株の感染性を抑制させた。COVID-19患者での観察研究では、93.8%の症例でCPCトローチ使用後に唾液中ウイルスRNAが半減した。HPLCおよびNMRを用いた唾液中CPC濃度の測定では、洗口剤では短時間で有効濃度が減衰する一方、開発したゲル製剤では数時間にわたって濃度が維持された。開発したゲル製剤は感染症対策への応用特許出願を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究は、CPCがSARS-CoV-2をはじめとするウイルスに対して示す抗ウイルス作用を科学的に検証し、その口腔内での動態を初めて詳細に明らかにした点で学術的意義が大きい。特に、in vitro試験と唾液を用いた分析を組み合わせることで、基礎と臨床を橋渡しした感染症対策研究の発展に貢献した。また、CPCの有効濃度が短時間で減衰するという課題に対し、持続性を有する新規ゲル剤を開発し、特許出願に至ったことは、実用化への明確な展望を与えるものである。本製剤は日常的な口腔ケアに応用可能であり、感染拡大抑制や再流行時の予防策としての有用性が期待されることから、社会的にも高い意義を有する。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to investigate the antiviral efficacy of cetylpyridinium chloride (CPC) against SARS-CoV-2 and other enveloped viruses, as well as its retention dynamics within the oral cavity. In vitro assays demonstrated that CPC effectively inhibited the infectivity of multiple viral strains even at low concentrations. Furthermore, in an observational study involving COVID-19 patients, CPC lozenge use resulted in a reduction of salivary viral RNA levels by more than 50% in 93.8% of cases, as quantified by qRT-PCR. Salivary CPC concentrations were analyzed using HPLC and NMR; results indicated a rapid decline in concentration following mouthwash use, whereas the newly developed sustained-release gel maintained effective levels for several hours. The gel formulation was subsequently filed for patent application, highlighting its potential utility as a novel oral care agent for infection prevention.

研究分野：保存治療系歯学

キーワード：塩化セチルピリジニウム　SARS-CoV-2　新型コロナウイルス　高速液体クロマトグラフィー　NMR　持続性口腔ゲル

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１（共通）

１．研究開始当初の背景

2019 年末に発生した新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）は、急速に世界中へと感染を拡大し、社会活動や医療体制に甚大な影響を及ぼした。感染経路の中心は飛沫感染および接触感染であり、無症候または軽症の段階でも口腔内に高濃度のウイルスが存在することが知られるようになったことから、口腔が感染拡大の重要な起点となる可能性が示唆された。

このような状況下で、日常的な口腔ケアによるウイルス伝播の抑制に関心が集まるようになり、既に SARS-CoV に対して抗ウイルス効果が示されていた塩化セチルピリジニウム（CPC）が再注目された。CPC は細菌に対して広く使用されている界面活性剤であり、エンベロープを持つウイルスの脂質二重膜に作用して感染性を抑制する可能性があると考えられていた。しかし、当時の知見としては SARS-CoV に対する有効性は示唆されていたものの、SARS-CoV-2、すなわち新型コロナウイルスに対して同様の効果があるかどうかは不明であり、科学的検証が求められていた。

さらに、CPC を含む製剤が口腔内でどの程度の濃度を保ち、どのくらいの時間持続するかについても明らかではなかった。特に、唾液などの複雑な口腔環境下での CPC の動態を定量的に評価する手法も未確立であった。そのため、本研究では SARS-CoV-2 に対する CPC の有効性を検証するとともに、CPC の口腔内での経時的濃度変化を明らかにすることで、実効性のある感染対策の科学的基盤を築くことを目的とした。

２．研究の目的

本研究は、塩化セチルピリジニウム（CPC）が SARS-CoV-2 を含むエンベロープウイルスに対して有する抗ウイルス作用の科学的根拠を明らかにするとともに、口腔内における濃度変化および臨床効果を多角的に評価し、CPC を含む口腔ケア製剤の感染症対策への応用可能性を検証することを目的として実施した。

具体的には、(1) CPC 含有製剤の使用による唾液中 SARS-CoV-2 ウイルス量の変化を臨床的に評価し、(2) in vitro 試験により複数株の SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス作用を検証し、(3) 洗口剤やトローチ使用後の唾液中 CPC 濃度の経時的変化を HPLC および NMR で定量し、(4) 有効濃度の持続時間の課題に対応するため、新規徐放性ゲル製剤を開発・評価した。

これらにより、CPC の抗ウイルス効果および口腔内動態を基礎および臨床の両面から明らかにし、CPC 製剤の実用化と感染症対策への応用に向けた科学的基盤の構築を目指した。

３．研究の方法

本研究では、CPC の抗ウイルス作用および口腔内における濃度動態を明らかにするため、基礎実験、唾液試料を用いた薬剤動態解析、ならびに臨床観察研究を組み合わせた多面的なアプローチを採用した。

まず、in vitro 試験として、SARS-CoV-2 の複数株（武漢株、アルファ株、ベータ株、ガンマ株）を用い、CPC がウイルス感染性に与える影響を検討した。さらに電子顕微鏡観察およびショ糖密度勾配分析を併用し、CPC がウイルスエンベロープを物理的に破壊することなく感染性を抑制する可能性を評価した。

臨床的評価として、COVID-19 軽症患者を対象に CPC トローチ（2 mg）使用前後の唾液を採取し、唾液中のウイルス RNA 量を qRT-PCR 法により定量した。対象は PCR 検査にて COVID-19 陽性と診断され、無症候または軽症のため宿泊療養施設で経過観察中の患者 16 名とし、使用直前と服用完了数分後に唾液検体を採取した。

また、洗口剤およびトローチ使用後の唾液中における CPC 濃度の経時的変化を評価するため、健常成人を対象とした唾液採取を行い、0、15、30、60 分などのタイムポイントで検体を収集した。これらの試料には遠心分離やろ過等の前処理を施し、HPLC および NMR を用いて CPC 濃度を定量した。

さらに、CPC の持続性向上を目的として、CPC 含有徐放性ゲル製剤を新たに設計・試作した。当該ゲルの物理化学的安定性および唾液中での薬剤放出動態を洗口剤およびトローチと比較し、濃度の維持時間を評価した。

４．研究成果

本研究では、CPC（塩化セチルピリジニウム）の SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス効果および口腔内における濃度持続性を多面的に評価し、感染症対策への応用に資する科学的知見を得た。

in vitro 試験においては、CPC が SARS-CoV-2 の複数株（武漢株、アルファ株、ベータ株、ガンマ株）に対して低濃度でも感染性を抑制する効果を有し、かつウイルスエンベロープの物理的破壊を伴わずに作用することを確認した。電子顕微鏡観察およびショ糖密度勾配分析により、CPC はウイルス粒子の構造を保持したまま感染性を失活させる可能性が示唆された。

臨床的検証として、COVID-19 軽症患者 16 名を対象に、CPC トローチ（2mg）使用前後の唾液を採取し、qRT-PCR 法によりウイルス RNA 量を定量した。その結果、16 例中 15 例（93.8%）にお

いて RNA 量が半減し、CPC 製剤の臨床現場における即時的な抗ウイルス効果が確認された。
さらに、CPC を含む洗口剤やトローチ使用後の唾液中濃度の経時的変化を HPLC および NMR により測定したところ、洗口剤では有効濃度が 15〜30 分以内に減衰し、トローチからの唾液中放出はごく微量にとどまった。一方、新たに開発した CPC 含有徐放性ゲル製剤では、数時間にわたり有効濃度を維持することが可能であり、剤形による放出特性の違いが明確となった。このゲル製剤については特許出願を行い、今後の製品化および社会実装に向けた基盤が構築された。
加えて、本研究の成果を社会に還元する一環として「ひらめき☆ときめきサイエンス」にも採択され、小中高生を対象とした CPC の性質や感染症予防に関する体験型教育プログラムを実施し、科学教育とアウトリーチ活動にも貢献した。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計1件（うち査読付論文　1件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　1件）

１．著者名 Takeda Ryo、Sawa Hirofumi、Sasaki Michihito、Orba Yasuko、Maishi Nako、Tsumita Takuya、Ushijima Natsumi、Hida Yasuhiro、Sano Hidehiko、Kitagawa Yoshimasa、Hida Kyoko	４．巻 12
２．論文標題 Antiviral effect of cetylpyridinium chloride in mouthwash on SARS-CoV-2	５．発行年 2022年
３．雑誌名 Scientific Reports	６．最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-18367-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

〔学会発表〕　計2件（うち招待講演　0件／うち国際学会　0件）

１．発表者名 國井理恵子、川本千春、矢後亮太朗、兼子裕史、遠山晏梨、松尾友太、弥勒院択良、ヤマウチ モニカ、佐野英彦、友清 淳
２．発表標題 口腔内におけるCPCの経時的濃度変化
３．学会等名 日本歯科保存学会2023年度秋季学術大会
４．発表年 2023年

１．発表者名 川本千春
２．発表標題 感染予防に向けた持続性口腔用ゲル組成物の開発
３．学会等名 JST8大学医工連携新技術説明会
４．発表年 2022年

〔図書〕　計0件

〔出願〕　計1件

産業財産権の名称 持続性口腔用ゲル組成物	発明者 川本千春、國井理恵子、矢後亮太朗、佐野英彦	権利者 北海道大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-166888	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕　計0件

〔その他〕

－

6．研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究分担者	樋田　泰浩 (Hida Yasuhiro) (30399919)	藤田医科大学・医学部・教授 (33916)	
研究分担者	星加　修平 (Hoshika Shuhei) (40581682)	北海道大学・大学病院・講師 (10101)	
研究分担者	佐野　英彦 (Sano Hidehiko) (90205998)	北海道大学・歯学研究院・名誉教授 (10101)	

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究協力者	國井　理恵子 (Kunii Rieko)	北海道大学・歯学研究院・専門研究員 (10101)	
研究協力者	矢後　亮太朗 (Yago Ryotaro)	北海道大学・歯学院・大学院生 (10101)	

7．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕　計0件

8．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関