

委員会報告

## タバコ使用と口腔微生物の関係 2. う蝕, 口腔粘膜異常, 口腔装置と関連する微生物

日本口腔衛生学会禁煙推進委員会

埴岡 隆 <sup>1)</sup>	小島 美樹 <sup>1,2)</sup>	谷口 奈央 <sup>1)</sup>	花田 信弘 <sup>1)</sup>	小川 祐司 <sup>1)</sup>
尾崎 哲則 <sup>1)</sup>	瀬川 洋 <sup>1)</sup>	田野 ルミ <sup>1)</sup>	日野出大輔 <sup>1)</sup>	細見 環 <sup>1)</sup>
山中 玲子 <sup>1)</sup>	山本 龍生 <sup>3)</sup>	伊藤 博夫 <sup>4)</sup>	重石 英生 <sup>5)</sup>	杉山 勝 <sup>5)</sup>
太田 耕司 <sup>5)</sup>	長尾 徹 <sup>5)</sup>	森田 学 <sup>6)</sup>	稲垣 幸司 <sup>6)</sup>	王 宝禮 <sup>6)</sup>
	伊藤 弘 <sup>6)</sup>	両角 俊哉 <sup>6)</sup>	竹下 徹 <sup>6)</sup>	

口腔衛生会誌 72 : 272-278, 2022

### 文献のレビュー

#### 1. はじめに

細菌の検出に関する科学技術のめざましい発展による新しい知見を反映するため、喫煙と歯の周囲の細菌の研究のレビューが行われた<sup>1)</sup>。禁煙推進委員会は、このレビューにインプラント周囲の細菌および電子タバコの影響の文献レビューを加え<sup>2)</sup>、喫煙は歯と口腔インプラント周囲の生態系を変化させて細菌プロファイルを遷移させること、さらに、電子タバコの使用によっても口腔細菌プロファイルが遷移すること、これらの知見をあわせて、喫煙と電子タバコ使用により口腔のディスバイオシスが起ることを報告した。加熱式タバコは、ニコチンが主成分であるエアロゾルを吸引し、体内にニコチンを供給する。この機構が電子タバコと類似しており、加熱式タバコ使用時にも口腔がニコチンを含むエアロゾルにさらされることから、加熱式タバコの使用による口腔細菌プロファイルへの悪影響が懸念される。

能動喫煙とう蝕の関係、受動喫煙と子どものう蝕の関係についてのエビデンスは米国、日本の報告書では「因果関係が示唆される (レベル 2)」である<sup>3,4)</sup>。「因果関係は確実で科学的根拠は十分である (レベル 1)」に至らない理由の一つとして「生物学的な機序」が明確でな

いことが考えられる。一方、口腔装置もタバコの煙にさらされることから、口腔装置への細菌の定着にも喫煙が影響すると考えられる。これらのことから、う蝕病原菌への喫煙の影響の生物学的な機序および口腔装置への細菌の定着への喫煙の影響を検討した。

喫煙や無煙タバコ使用と白板症および口腔がんとの因果関係はレベル 1 と判定されている<sup>3,4)</sup>。この関係の生物学的機序は、一般に、発がん物質の曝露による口腔粘膜上皮細胞の異形成によると説明される。最近、子宮頸がんの原因であるヒトパピローマウイルス (HPV) が口腔がんの原因として関与することが疫学研究から示されるとともに、タバコ使用が交絡要因となることが注目されている。そこで、タバコ使用と HPV の関係の文献レビューもあわせて行った。

#### 2. 文献検索

レビューに用いた 2007 年 12 月から 2017 年 11 月までの文献 124 編の選択基準については、先行論文に記載した<sup>1)</sup>。この報告では、歯およびインプラント周囲以外の文献に新しい文献を加え、最終的に、う蝕病原菌および *Candida* 29 編, 口腔装置 3 編, HPV 26 編を文献レビューの対象とした。

#### 3. *Streptococcus mutans* 等う蝕病原菌

う蝕のリスク要因には、発酵性食品の摂取状況、発酵

<sup>1)</sup> 委員

<sup>2)</sup> 委員長

<sup>3)</sup> 学術委員会委員長

<sup>4)</sup> 予防歯科臨床委員会委員長

<sup>5)</sup> テーマ別リーダー (リードオーサー)

<sup>6)</sup> アドバイザー

に関わる細菌、フッ化物の応用、社会経済状況といったリスク要因の複雑な関係がある。子どもの歯の健康に影響を及ぼす要因を解析した疫学研究では、喫煙を社会経済状況の代理変数として扱っていた<sup>5)</sup>。無煙タバコからの抽出成分 (Smokeless tobacco extract; STE) を *in vitro* で *S. mutans* に曝露した結果、STE 単独の曝露では *S. mutans* の成長に影響を及ぼさなかったが、スクロースを添加した場合には、スクロースの濃度依存的に *S. mutans* の成長を促進した<sup>6)</sup>。タバコ流行初期には、社会経済状態に伴う健康に関わる知識レベルの低さにより砂糖摂取が増加することや、無煙タバコ使用者でう蝕が増加するのは砂糖の添加による影響であると考えられており、タバコ使用がう蝕の独立したリスク要因であることには懐疑的であった。したがって、疫学研究の結果から、因果関係を説明する生物学的な経路を特定する観点から、喫煙のう蝕病原菌への影響を明確にすることは大変重要である。

*S. mutans* を *in vitro* で唾液中の濃度に相当する濃度のニコチンで処理すると *S. mutans* の集落数が増加したが、低濃度または高濃度では減少した<sup>7)</sup>。人を対象とした研究で得られた唾液中の *S. mutans* 菌数と喫煙との関係は弱いか認められなかった<sup>8-10)</sup>。一方、喫煙者の唾液中の *lactobacilli* 菌数は、非喫煙者と比べて多かった<sup>9)</sup>。受動喫煙のある子どもの唾液には *S. mutans* 菌数が多かった<sup>11)</sup>。また、受動喫煙のある子どもは、ない子どもに比して唾液中の *S. mutans* の集落形成能が高かった<sup>11)</sup>。これらの結果から、唾液中に浮遊する *S. mutans* の成長への喫煙の影響は一致していないものの、喫煙が *S. mutans* の定着や集落形成を促進する可能性が示唆された。

喫煙と *S. mutans* のバイオフィーム形成能の関係を調べた *in vitro* の研究では、ニコチン処理した *S. mutans* のグルコシルトランスフェラーゼとグルカン結合タンパクおよび mRNA の発現は上方制御された<sup>12)</sup>。また、乳酸脱水素酵素遺伝子やリン酸基転移システム関連遺伝子等の発現も上方制御されたが、フルクトシルトランスフェラーゼ遺伝子発現は下方制御された<sup>13)</sup>。ニコチン処理により、バイオフィーム中の *S. mutans* 菌数は増加し<sup>12,14,15)</sup>、バイオフィームの厚みが増して緻密になり<sup>14,15)</sup>、スクロースからの炭素代謝が強化して乳酸濃度は2倍になった<sup>13)</sup>。これらの結果から、ニコチンは *S. mutans* のう蝕病原性に関係する遺伝子発現を強め、バイオフィームの形成と代謝活動を促進し、乳酸の産生ならびに酸の拡散を妨げるマトリックスの増強により、う蝕の発生促進に関与することが示唆された。*S. mutans* と *S. sanguinis* の2菌種モデルでは、ニコチン曝露によ

り *S. mutans* / *S. sanguinis* の比率は増加し<sup>16)</sup>、バイオフィーム形成と菌体外多糖が増加した<sup>17)</sup>。こうした変化は、*S. mutans* と *Candida albicans* の2菌種モデルにおいても同様だった<sup>18)</sup>。

ラットの *in vivo* の実験的う蝕発生モデルでは、タバコ煙を曝露させた場合、唾液中の *S. mutans* 数には変化はなかったが、脱灰された範囲が曝露のない対照群よりも拡大した<sup>19)</sup>。ニコチンを曝露させた場合、う蝕の発生が増加するとともに、重症化もみられた<sup>20)</sup>。以上のことから、ニコチン曝露により、*S. mutans* の菌面への定着とバイオフィーム形成といったう蝕病原性が増強したという *in vitro* 研究の知見は、ニコチン曝露の *in vivo* の研究におけるう蝕発生の増強の結果に反映することが示された。

喫煙とう蝕の因果関係の推定に関わる生物学的な機序は、歯については「タバコ煙中のカドミウムが歯のカルシウムと結びつき、凹みをつくり、う蝕病原菌が残存しやすくなる」、唾液については「タバコ煙中の鉛は、唾液をつくる細胞を傷害しやすいので、唾液が少なくなり歯の再石灰化が起きにくい」、細菌感染については「喫煙している親はう蝕になりやすいため、その子どもの口の中にも、早くう蝕病原菌が定着しやすくなる」と説明されている<sup>21)</sup>。また、母親が喫煙している子の歯は早期に萌出し、感染機会が早まることが示唆されている<sup>22)</sup>。これらの因果関係の生物学的な経路の説明は、いずれも間接的なものであったが、喫煙およびニコチン曝露のう蝕病原菌への影響の説明は、より直接的な説得力の高いものと思われる。

#### 4. *Candida*

*Candida* は喫煙者の多発性口腔白板症のリスク要因とされるが<sup>23)</sup>、口腔内からの *Candida* の検出と喫煙との関係の研究結果は一致をみていない。健常者の洗口液からの *Candida* 検出率は、喫煙者と非喫煙者で有意差は認められなかった<sup>24)</sup>。噛みビンロウの使用者と非使用者における唾液中の *Candida* の検出率にも違いはなかった<sup>25)</sup>。しかし、全身的に健全な歯科患者の刺激唾液中の *Candida* の菌数は、タバコの使用者のほうが非使用者より多かった<sup>26)</sup>。また、口腔粘膜の擦過によって採取した *Candida* の検出率は、喫煙者が非喫煙者より高く<sup>27,28)</sup>、東地中海地方の無煙タバコ「マラスパウダー」の使用でも、非使用者より *Candida* が多く検出された<sup>27,29)</sup>。喫煙と口腔内からの *Candida* の検出率との間には必ずしも強い関連性はないが、タバコ煙抽出成分 (Cigarette smoke extract : CSE) が *Candida* の付着やバイオフィーム形成に関与する遺伝子を活性化させ<sup>30)</sup>、

タバコの使用により *Candida* の口腔粘膜への付着、定着が高まることが示唆された。

また、タバコは *Candida* の形態に影響を及ぼす。 *in vitro* の研究では、CSE の曝露を受けることによって、*Candida* の形態が酵母型から病原性をもつ菌糸型に変化する<sup>31)</sup>。この変化によって *Candida* の酸化ストレスへの感受性は高まるが、塩化ナトリウムによる浸透圧や熱ストレスへの抵抗性は増加する。さらに細胞壁合成成分ムコ多糖キチンの産生が増加し、ヒト歯肉線維芽細胞への菌糸による付着が増加する。さらに歯肉線維芽細胞の増殖が抑制され、炎症性サイトカイン Interleukin-1 $\beta$  の発現が誘導される。これらの報告から、タバコの使用は *Candida* の形態変化と関連し、病原性を増加させることが示唆される。喫煙者は非喫煙者に対して口腔細菌叢に酵母真菌が多かった<sup>32)</sup>。また、非外科的歯周治療後の臨床症状や歯肉縁下からの微生物検出の変化を検討した研究では、歯周治療後においても、喫煙者では非喫煙者と比較して *Candida* の検出率が高かった<sup>33)</sup>。

以上の結果を総合すると、*Candida* へのタバコ成分曝露による影響は、歯周病原菌やう蝕病原菌にみられたのと同様に、浮遊している菌数に影響を及ぼすというより、*Candida* 菌の性質を変化させ、口腔粘膜上皮への付着能や、バイオフィルムの定着能を高めることによって、病原性を増強させることが示唆された。また、喫煙者では、歯周治療を受けた後も歯周ポケットからの *Candida* の検出率は改善しにくいことが考えられる。

### 5. 口腔装置

口腔インプラントの材料であるチタンへのニコチンの曝露は、チタンの静電容量を低下させ、表面を粗造にし、チタンに付着する *S. sanguinis* 生菌数とバイオフィルム中の炭水化物量を増加させた<sup>34)</sup>。CSE の存在下で、矯正装置表面への *S. mutans* の付着率は4種の装置材料で、バイオフィルム形成容量は1種の装置材料で増加し、*Candida* の付着率は2種の装置材料で増加し、減少がみられたのはポリウレタン弾性ゴムの *S. mutans* だけだった<sup>35)</sup>。CSE 曝露により有床義歯材料のアクリルへの *Candida* の吸着と疎水性が増大し、病原性酵素の分泌が増加した<sup>36)</sup>。

これらの結果は、喫煙が口腔装置への影響を通じて、インプラント周囲粘膜炎、義歯装着者のう蝕や粘膜疾患、矯正患者のう蝕のそれぞれのリスクの増加の付加的な役割の可能性を示している。また、タバコ成分曝露の影響を受けた口腔装置は、タバコ成分の曝露により病原性がより強くなった細菌のリザーバーとしての役割が追加されると考えられる。

### 6. ヒトパピローマウイルス (HPV)

HPV 感染は子宮頸がんのリスク要因である。HPV は中咽頭がんや口腔がんのリスク要因で<sup>37)</sup>、アジアの口腔がん患者の HPV 陽性率 (約 40%) は他地域に比して高く<sup>38)</sup>、高リスク型では HPV16 の陽性率が高かった<sup>39-45)</sup>。HPV 陽性子宮頸がんの多くで、E6, E7 mRNA の発現が認められることから、HPV が発生に関連しているがんであると考えられる<sup>46)</sup>。一方、HPV 関連口腔がんの存在も早くから示唆されていた<sup>47)</sup>。口腔がんでは、E6, E7 mRNA の陽性率は、HPV DNA の陽性率に比べて低く、数%である<sup>48,49)</sup>。また、口腔扁平上皮癌細胞では、HPV がエピゾーム DNA の状態で潜伏持続感染している可能性がある<sup>50)</sup>。さらに、口腔扁平上皮癌細胞では、HPV DNA のホストゲノムへの挿入と E6, E7 mRNA 発現との間に関連性は認められない<sup>51)</sup>。このことは、HPV がエピゾーム DNA の状態であっても、自己複製が生じて、E6 と E7 の発現が誘導されることを示している。以上により、HPV による悪性形質の獲得機構は、口腔がんと子宮頸がんでは異なると考えられる。

健常者の口腔の HPV 感染について調査した疫学研究のメタアナリシスでは、喫煙が口腔の HPV 感染のリスク要因であることが示唆された<sup>52)</sup>。喫煙者では、HPV16 陽性の者は HPV16 陰性の者と比較して中咽頭がんや口腔がんのリスクが高かった<sup>53-55)</sup>。喫煙は口腔の HPV 感染を促し感染期間を延長させ<sup>56-58)</sup>、HPV ゲノムの増幅に関与する<sup>59,60)</sup>。また、高リスク型 HPV の感染期間が喫煙者で長いことが HPV 関連口腔がんの発生リスク上昇に繋がると考えられている<sup>57)</sup>。女性の喫煙者で HPV 陽性率が高いのは、女性ホルモンのバランスや口腔の免疫能に喫煙が影響を及ぼすことが原因と考えられ、近年、口を介した性行為との関係が、米国の調査で指摘されている<sup>52,56,61,62)</sup>。

喫煙は口腔の HPV 感染を促し感染期間を延長させ、HPV ゲノムの増幅に関与して口腔がん発生リスク上昇につながる可能性がある。

### 7. 電子タバコ使用の影響および研究課題

ニコチン曝露によるう蝕病原菌の病原性の強化が *in vitro* や *in vivo* の研究で明らかになったが、電子タバコに使用されているリキッド<sup>63)</sup> やフレーバー<sup>64)</sup> のう蝕病原菌への曝露がう蝕病原性を強化することについても *in vitro* の研究で示されている。疫学研究では電子タバコを使用している若年者で歯の破折の自覚が多かった<sup>65)</sup> ことから、*in vitro* の研究でニコチンによる歯髄側の二次象牙質の生成の抑制が示唆された<sup>66)</sup> ことと、う蝕病原性強

化との相互関係の検証が必要である。また、子どものう蝕への受動喫煙の影響に関して、喫煙する母親の母乳中のニコチン<sup>67)</sup>の児のう蝕への影響の検証が必要である。電子タバコ使用の臨床疫学研究では、歯肉縁下細菌プロファイルの病原性の強化と易感染性が示され<sup>68,69)</sup>、電子タバコ使用によるハームリダクションへの疑問が提唱されたことから、電子タバコ・加熱式タバコを含む脱タバコ歯科介入によるディスバイオシスやレジリエンス低下の改善の長期研究を早期に着手する必要性が高い。さらに、歯周ポケットや口腔の装置とともに舌が喫煙者のディスバイオシスの病原菌のリザーバーとなる研究<sup>70)</sup>は、人生100年時代のわが国に期待される今後の研究課題の一つ

になると思われる。電子タバコ使用者の追跡研究で明らかとなったディスバイオシスが、加熱式タバコ使用者でも再現されるかどうかの長期追跡研究にただちにとりかかる必要がある。

### 歯科脱タバコ介入の新たな視点への提言

喫煙および新型タバコ（電子タバコ）と歯および口腔インプラント周囲の口腔細菌、無煙タバコを含むタバコ使用とう蝕・口腔粘膜異常・口腔装置に関する口腔微生物の研究についての文献レビューを行った結果を表にまとめた。喫煙は、う蝕においても病原菌の口腔への定着を進め、病原性を強化することが明らかとなった。ま

表 タバコ成分およびタバコ使用による口腔の微生物の影響に関する研究レビューのまとめ

文献分類	研究結果
歯の周囲	<p>ニコチンは、口腔の共生細菌である <i>S. gordonii</i> の口腔へ定着能の強化を介して <i>P. gingivalis</i> を含む病原性バイオフィーム形成を促進する。</p> <p><i>P. gingivalis</i> はタバコ成分の曝露により環境ストレスに適合し炎症誘発反応を中和・減弱させたり、細胞のマトリックスメタロプロテアーゼとその抑制因子の平衡を崩し創傷閉鎖を抑制して創傷部分への侵入を増加させたりして、歯周組織破壊の初期段階での定着と感染能力が強化される。</p> <p>タバコ使用による口腔の細菌の違いが気道の細菌に反映している可能性がある。</p> <p>喫煙は非喫煙者の健康な口腔にみられる細菌プロファイルから疾病リスクのある細菌プロファイルに遷移させる。</p> <p>喫煙者は、非喫煙者と比べて、歯周病・呼吸器疾患病原細菌および病原性の高い口腔細菌プロファイルである。</p> <p>実験的歯肉炎で、喫煙者では、口腔清掃の再開により臨床症状が改善しても炎症応答物質は増加したまま、歯肉縁下の生態系の回復は弱い。</p> <p>喫煙者は非喫煙者に比して歯周治療後の細菌プロファイルの改善が小さい。</p> <p>治療と禁煙：非外科的歯周治療と禁煙介入の併用により、歯周病患者の歯周ポケットの生態系および細菌プロファイルの改善が期待される。</p>
口腔インプラント周囲	<p>喫煙者は非喫煙者と比べてインプラント周囲の辺縁骨喪失と関係性が強い高リスクの細菌プロファイルである。</p>
う蝕病原菌	<p>喫煙は <i>S. mutans</i> の定着や集落形成を促進し、ニコチンは <i>S. mutans</i> のう蝕病原性に関係する遺伝子発現を強め、バイオフィームの形成と代謝活動を促進し、乳酸の産生ならびに酸の拡散を妨げるマトリックスの増強によりう蝕の発生促進に関与する。</p> <p>ニコチン曝露による <i>S. mutans</i> の歯面への定着とバイオフィーム形成といった <i>in vitro</i> でみられた病原性の増強は、<i>in vivo</i> でのう蝕発生の増強に反映される。</p>
<i>Candida</i>	<p><i>Candida</i> へのタバコ曝露による影響は、歯周病原菌やう蝕病原菌にみられたのと同様に、<i>Candida</i> の性質を変化させ、口腔粘膜上皮への付着能や、バイオフィームの定着能を高めることによって、病原性を増加させる。</p> <p>喫煙者では、歯周治療を受けた後も歯周ポケットからの <i>Candida</i> の検出率は改善しにくい。</p>
口腔装置	<p>タバコ成分曝露の影響を受けた口腔装置は、タバコ成分の曝露により病原性がより高まった細菌のリザーバーとしての役割がある。すなわち、喫煙が口腔装置への影響を通じて、インプラント周囲粘膜炎、義歯装着者のう蝕や粘膜疾患、矯正患者のう蝕のそれぞれのリスクの増加の付加的な役割がある。</p>
HPV	<p>喫煙は口腔の HPV 感染を促し感染期間を延長させ、HPV ゲノムの増幅に関与して口腔がんの発生リスクを上昇させる。</p>
電子タバコ	<p>電子タバコの使用により、タバコ非使用者および加熱式タバコ使用者とは異なる歯肉縁下の細菌プロファイルが少なくとも6か月間は維持され、炎症リスクの前段階が続くこと、その結果として、付着の喪失がおきる。</p> <p>電子タバコに使用されるリキッドやフレーバーのう蝕原因菌への曝露によりう蝕病原性が強化される。</p>

た、喫煙はインプラント、矯正装置、床義歯といった口腔の装置への細菌の定着を進め、口腔粘膜の異常については、発がん性の高いHPVの口腔への定着を促進し、細胞の異形成のリスクを高める可能性が示唆された。

わが国では、受動喫煙防止対策が強化された際に、ガムタバコやスヌースの新型タバコが発売され、日本口腔衛生学会をはじめ関係学会が口腔の健康への影響について注意喚起を行ってきた。最新の文献レビューでは、加熱式タバコの主要な成分であるニコチンは、歯周病原菌の定着の初期の段階での役割があり、ニコチンの長期継続曝露に伴う口腔ディスバイオシスを通じて口腔の健康リスクを高める経路も推定された。これらのことから、加熱式タバコについても口腔の細菌の影響を介した口腔と全身の健康への影響が懸念される。これらの知見から、次のような生物学的な説明経路の全体像が明らかになった。タバコ使用の形態にかかわらず、タバコの使用が口腔の微生物に悪影響を及ぼす。そして、この影響は、歯科疾患の発生・進展と治療の予後といった口腔の健康に関わる。また、燃烧式タバコ使用の口腔への健康影響が徐々に明らかにされたように、新型タバコ使用でも、研究成果のアップデートが必要である。

歯科でのタバコ対策の先行国の米国では、歯科医療従事者が日常診療で喫煙者と出会った際に、歯科受診の機会を脱タバコ介入に十分活かしていないことが指摘されている<sup>71,72)</sup>。歯科を受診する患者は健康への関心が高まっているため、歯科医療従事者が患者に禁煙を働きかける効果は高く、喫煙と患者の主訴とが関連する診療の機会が多い。口腔微生物への影響は、患者と医療者の関心事であり、口腔の生態系や細菌プロファイルへの影響の知識が加わることで、歯科患者の受動喫煙を含む脱タバコの重要性の意識に及ぼすインパクトは、さらに高まる可能性がある。歯科医療従事者は、歯科治療の効果を長く持続するために、患者の受診継続に配慮しつつ、歯科治療や口腔管理の機会の際に、う蝕、歯周病や喫煙関連口腔粘膜疾患、口腔インプラント周囲炎に関わる口腔細菌への影響の説明を加えて、口腔と全身の健康のために、適切に、脱タバコ支援（脱タバコ介入）を申し出るべきである。

## 文 献

- Hanioka T, Morita M, Yamamoto T et al.: Smoking and periodontal microorganisms. *Jpn Dent Sci Rev* 55: 88-94, 2019.
- 埴岡 隆, 小島美樹, 谷口奈央ほか: タバコ使用と口腔微生物の関係 1. 歯の周囲およびインプラント周囲の細菌. *口腔衛生会誌* 72: 185-189, 2022.
- National Center for Chronic Disease Prevention, Health Promotion Office on Smoking, Health: Reports of the Surgeon General. The Health Consequences of Smoking-50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General. Centers for Disease Control and Prevention (US), Atlanta (GA), 2014.
- 喫煙の健康影響に関する検討会編: 喫煙と健康 喫煙の健康影響に関する検討会報告書, 東京, 新版, 2016.
- Bolin AK, Bolin A, Jansson L et al.: Children's dental health in Europe. *Swed Dent J* 21: 25-40, 1997.
- Lindemeyer RG, Baum RH, Hsu SC et al.: In vitro effect of tobacco on the growth of oral cariogenic streptococci. *J Am Dent Assoc* 103: 719-722, 1981.
- Keene K, Johnson RB: The effect of nicotine on growth of *Streptococcus mutans*. *Miss Dent Assoc J* 55: 38-39, 1999.
- Voelker MA, Simmer-Beck M, Cole M et al.: Preliminary findings on the correlation of saliva pH, buffering capacity, flow, consistency and *Streptococcus mutans* in relation to cigarette smoking. *J Dent Hyg* 87: 30-37, 2013.
- Sakki T, Knuutila M: Controlled study of the association of smoking with lactobacilli, mutans streptococci and yeasts in saliva. *Eur J Oral Sci* 104: 619-622, 1996.
- Nagarajan R, Miller CS, Dawson D, 3rd et al.: Cross-talk between clinical and host-response parameters of periodontitis in smokers. *J Periodontol Res* 52: 342-352, 2017.
- Avsar A, Darka O, Topaloglu B et al.: Association of passive smoking with caries and related salivary biomarkers in young children. *Arch Oral Biol* 53: 969-974, 2008.
- Huang R, Li M, Gregory RL: Nicotine promotes *Streptococcus mutans* extracellular polysaccharide synthesis, cell aggregation and overall lactate dehydrogenase activity. *Arch Oral Biol* 60: 1083-1090, 2015.
- Li M, Huang R, Zhou X et al.: Effect of nicotine on cariogenic virulence of *Streptococcus mutans*. *Folia Microbiol (Praha)* 61: 505-512, 2016.
- Huang R, Li M, Gregory RL: Effect of nicotine on growth and metabolism of *Streptococcus mutans*. *Eur J Oral Sci* 120: 319-325, 2012.
- Li MY, Huang RJ, Zhou XD et al.: Role of sortase in *Streptococcus mutans* under the effect of nicotine. *Int J Oral Sci* 5: 206-211, 2013.
- Zonuz AT, Rahmati A, Mortazavi H et al.: Effect of cigarette smoke exposure on the growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*: An in vitro study. *Nicotine Tob Res* 10: 63-67, 2008.
- Li M, Huang R, Zhou X et al.: Effect of nicotine on dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *FEMS Microbiol Lett* 350: 125-132, 2014.
- Liu S, Qiu W, Zhang K et al.: Nicotine enhances interspecies relationship between *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Biomed Res Int*: 7953920, 2017.
- Fujinami Y, Nakano K, Ueda O et al.: Dental caries area of rat molar expanded by cigarette smoke exposure. *Caries Res* 45: 561-567, 2011.

- 20) Liu S, Wu T, Zhou X et al.: Nicotine is a risk factor for dental caries: An in vivo study. *J Dent Sci* 13: 30-36, 2018.
- 21) Hanioka T, Ojima M, Tanaka K et al.: Does secondhand smoke affect the development of dental caries in children? A systematic review. *Int J Environ Res Public Health* 8: 1503-1519, 2011.
- 22) Hanioka T, Ojima M, Tanaka K et al.: Association between secondhand smoke exposure and early eruption of deciduous teeth: A cross-sectional study. *Tob Induc Dis* 16: 4, 2018.
- 23) Chiu CT, Li CF, Li JR et al.: Candida invasion and influences in smoking patients with multiple oral leucoplakias - A retrospective study. *Mycoses* 54: e377-383, 2011.
- 24) Darwazeh AM, Al-Dwairi ZN, Al-Zwairi AA: The relationship between tobacco smoking and oral colonization with Candida species. *J Contemp Dent Pract* 11: 1-7, 2010.
- 25) Javed F, Yakob M, Ahmed HB et al.: Oral Candida carriage among individuals chewing betel-quid with and without tobacco. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 116: 427-432, 2013.
- 26) Sheth CC, Makda K, Dilmahomed Z et al.: Alcohol and tobacco consumption affect the oral carriage of Candida albicans and mutans streptococci. *Lett Appl Microbiol* 63: 254-259, 2016.
- 27) Keten HS, Keten D, Ucer H et al.: Prevalence of oral Candida carriage and Candida species among cigarette and maras powder users. *Int J Clin Exp Med* 8: 9847-9854, 2015.
- 28) Muzurovic S, Hukic M, Babajic E et al.: The relationship between cigarette smoking and oral colonization with Candida species in healthy adult subjects. *Med Glas (Zenica)* 10: 397-399, 2013.
- 29) Keten D, Keten HS, Goktas MT et al.: Oral Candida carriage and prevalence of Candida species among Maras powder users and non-users. *J Oral Pathol Med* 44: 502-506, 2015.
- 30) Semlali A, Killer K, Alanazi H et al.: Cigarette smoke condensate increases C. albicans adhesion, growth, biofilm formation, and EAP1, HWP1 and SAP2 gene expression. *BMC Microbiol* 14: 61, 2014.
- 31) Alanazi H, Semlali A, Perraud L et al.: Cigarette smoke-exposed Candida albicans increased chitin production and modulated human fibroblast cell responses. *Biomed Res Int*: 963156, 2014.
- 32) Monteiro-da-Silva F, Sampaio-Maia B, Pereira Mde L et al.: Characterization of the oral fungal microbiota in smokers and non-smokers. *Eur J Oral Sci* 121: 132-135, 2013.
- 33) Camargo GA, Abreu MG, Cordeiro Rdos S et al.: Prevalence of periodontopathogens and Candida spp. in smokers after nonsurgical periodontal therapy - A pilot study. *Braz Oral Res* 30: e92, 2016.
- 34) Barao VA, Ricomini-Filho AP, Faverani LP et al.: The role of nicotine, cotinine and caffeine on the electrochemical behavior and bacterial colonization to cp-Ti. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 56: 114-124, 2015.
- 35) Baboni FB, Guariza Filho O, Moreno AN et al.: Influence of cigarette smoke condensate on cariogenic and candidal biofilm formation on orthodontic materials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 138: 427-434, 2010.
- 36) Baboni FB, Barp D, Izidoro AC et al.: Enhancement of Candida albicans virulence after exposition to cigarette mainstream smoke. *Mycopathologia* 168: 227-235, 2009.
- 37) 重石英生, 杉山 勝 : Human Papillomavirus (HPV) 感染と口腔癌の関係について—最近の研究から—. *口腔衛生会誌* 67: 149-159, 2017.
- 38) Giuliano AR, Nyitray AG, Kreimer AR et al.: EUROGIN 2014 roadmap: Differences in human papillomavirus infection natural history, transmission and human papillomavirus-related cancer incidence by gender and anatomic site of infection. *Int J Cancer* 136: 2752-2760, 2015.
- 39) Machado J, Reis PP, Zhang T et al.: Low prevalence of human papillomavirus in oral cavity carcinomas. *Head Neck Oncol* 2: 6, 2010.
- 40) Ishibashi M, Kishino M, Sato S et al.: The prevalence of human papillomavirus in oral premalignant lesions and squamous cell carcinoma in comparison to cervical lesions used as a positive control. *Int J Clin Oncol* 16: 646-653, 2011.
- 41) Lee LA, Huang CG, Liao CT et al.: Human papillomavirus-16 infection in advanced oral cavity cancer patients is related to an increased risk of distant metastases and poor survival. *PLoS One* 7: e40767, 2012.
- 42) Reuschenbach M, Kansy K, Garbe K et al.: Lack of evidence of human papillomavirus-induced squamous cell carcinomas of the oral cavity in southern Germany. *Oral Oncol* 49: 937-942, 2013.
- 43) Gan LL, Zhang H, Guo JH et al.: Prevalence of human papillomavirus infection in oral squamous cell carcinoma: A case-control study in Wuhan, China. *Asian Pac J Cancer Prev* 15: 5861-5865, 2014.
- 44) Kruger M, Pabst AM, Walter C et al.: The prevalence of human papilloma virus (HPV) infections in oral squamous cell carcinomas: A retrospective analysis of 88 patients and literature overview. *J Craniomaxillofac Surg* 42: 1506-1514, 2014.
- 45) Jalouli M, Jalouli J, Ibrahim SO et al.: Comparison between single PCR and nested PCR in detection of human papilloma viruses in paraffin-embedded OSCC and fresh oral mucosa. *In Vivo* 29: 65-70, 2015.
- 46) Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S et al.: Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 24 Suppl 3: S3/42-51, 2006.
- 47) Sugiyama M, Bhawal UK, Dohmen T et al.: Detection of human papillomavirus-16 and HPV-18 DNA in normal, dysplastic, and malignant oral epithelium. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 95: 594-600, 2003.
- 48) Castellsagué X, Alemany L, Quer M et al.: HPV Involvement in Head and Neck Cancers: Comprehensive Assessment of Biomarkers in 3680 Patients. *J Natl Cancer Inst* 108: djv403, 2016.
- 49) Ndiaye C, Mena M, Alemany L et al.: HPV DNA, E6/E7

- mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol* 15: 1319-1331, 2014.
- 50) Olthof NC, Speel EJ, Kolligs J et al.: Comprehensive analysis of HPV16 integration in OSCC reveals no significant impact of physical status on viral oncogene and virally disrupted human gene expression. *PLoS One* 9: e88718, 2014.
- 51) Olthof NC, Huebbers CU, Kolligs J et al.: Viral load, gene expression and mapping of viral integration sites in HPV16-associated HNSCC cell lines. *Int J Cancer* 136: E207-218, 2015.
- 52) Shigeishi H, Sugiyama M: Risk factors for oral human papillomavirus infection in healthy individuals: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Med Res* 8: 721-729, 2016.
- 53) Farsi NJ, Rousseau MC, Schlecht N et al.: Aetiological heterogeneity of head and neck squamous cell carcinomas: The role of human papillomavirus infections, smoking, and alcohol. *Carcinogenesis*, 2017.
- 54) Krishna Rao SV, Mejia G, Roberts-Thomson K et al.: Epidemiology of oral cancer in Asia in the past decade - An update (2000-2012). *Asian Pac J Cancer Prev* 14: 5567-5577, 2013.
- 55) Chen PC, Kuo C, Pan CC et al.: Risk of oral cancer associated with human papillomavirus infection, betel quid chewing, and cigarette smoking in Taiwan - an integrated molecular and epidemiological study of 58 cases. *J Oral Pathol Med* 31: 317-322, 2002.
- 56) Haukioja A, Asunta M, Soderling E et al.: Persistent oral human papillomavirus infection is associated with smoking and elevated salivary immunoglobulin G concentration. *J Clin Virol* 61: 101-106, 2014.
- 57) Kero K, Rautava J, Syrjanen K et al.: Smoking increases oral HPV persistence among men: 7-year follow-up study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 33: 123-133, 2014.
- 58) Wiley DJ, Wiesmeier E, Masongsong E et al.: Smokers at higher risk for undetected antibody for oncogenic human papillomavirus type 16 infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15: 915-920, 2006.
- 59) Chaturvedi AK, Graubard BI, Pickard RK et al.: High-risk oral human papillomavirus load in the US population, National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2010. *J Infect Dis* 210: 441-447, 2014.
- 60) Shigeishi H, Sugiyama M, Ohta K et al.: High HPV16 E6 viral load in the oral cavity is associated with an increased number of bacteria: A preliminary study. *Biomed Rep* 8: 59-64, 2018.
- 61) Vidotti LR, Vidal FC, Monteiro SC et al.: Association between oral DNA-HPV and genital DNA-HPV. *J Oral Pathol Med* 43: 289-292, 2014.
- 62) Patel EU, Rositch AF, Gravitt PE et al.: Concordance of penile and oral human papillomavirus infections among men in the United States. *J Infect Dis* 215: 1207-1211, 2017.
- 63) Kim SA, Smith S, Beauchamp C et al.: Cariogenic potential of sweet flavors in electronic-cigarette liquids. *PLoS One* 13: e0203717, 2018.
- 64) Rouabhia M, Semlali A: Electronic cigarette vapor increases *Streptococcus mutans* growth, adhesion, biofilm formation, and expression of the biofilm-associated genes. *Oral Dis* 27: 639-647, 2021.
- 65) Cho JH: The association between electronic-cigarette use and self-reported oral symptoms including cracked or broken teeth and tongue and/or inside-cheek pain among adolescents: A cross-sectional study. *PLoS One* 12: e0180506, 2017.
- 66) Yanagita M, Kashiwagi Y, Kobayashi R et al.: Nicotine inhibits mineralization of human dental pulp cells. *J Endod* 34: 1061-1065, 2008.
- 67) Jacob N, Golmard JL, Berlin I: Relationships between nicotine and cotinine concentrations in maternal milk and saliva. *Acta Paediatr* 104: e360-366, 2015.
- 68) Ganesan SM, Dabdoub SM, Nagaraja HN et al.: Adverse effects of electronic cigarettes on the disease-naive oral microbiome. *Sci Adv* 6: eaaz0108, 2020.
- 69) Pushalkar S, Paul B, Li Q et al.: Electronic cigarette aerosol modulates the oral microbiome and increases risk of infection. *iScience* 23: 100884, 2020.
- 70) Suzuki N, Nakano Y, Yoneda M et al.: The effects of cigarette smoking on the salivary and tongue microbiome. *Clin Exp Dent Res* 8: 449-456, 2021.
- 71) Agaku IT, Ayo-Yusuf OA, Vardavas CI: A comparison of cessation counseling received by current smokers at US dentist and physician offices during 2010-2011. *Am J Public Health* 104: e67-75, 2014.
- 72) Danesh D, Paskett ED, Ferketich AK: Disparities in receipt of advice to quit smoking from health care providers: 2010 National Health Interview Survey. *Prev Chronic Dis* 11: E131, 2014.