

ต่อมน้ำลายคือเป้าหมายหนึ่งของ SARS-CoV-2: แหล่งของการปนเปื้อนน้ำลาย

บทคัดย่อ

ความสามารถของโคโรนาไวรัสสายพันธุ์ใหม่ SARS-CoV-2 ในการแพร่และปนเปื้อน คือหนึ่งในปัจจัยที่กำหนดระดับการระบาดของโควิด 19 เชื้อ SARS-CoV-2 ตรวจพบได้ในน้ำลายอย่างสม่ำเสมอ และมีความไวคล้ายกับเชื้อที่พบในการสวอบหลังโพรงจมูก เราได้ทำการตัดเนื้อเยื่อไปตรวจหลังจากเสียชีวิตโดยวิธีระบุตำแหน่งด้วยอัลตราซาวด์ ในเคสที่เสียชีวิตจากโควิด 19 ซึ่งมีการเก็บตัวอย่างของต่อมน้ำลาย (SG ทั้งต่อมหน้ากกหู ต่อมขากรรไกรล่าง และต่อมรอง) เราได้วิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้วิธี RT-qPCR อิมมูโนฮิสโตเคมี กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และการวิเคราะห์ทางจุลพยาธิวิทยา เพื่อระบุเชื้อ SARS-CoV-2 และระบุลักษณะของไวรัสเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณภายในต่อมน้ำลาย การศึกษาดังกล่าวประกอบด้วยผู้ป่วยหญิง 13 รายและชาย 11 ราย ซึ่งมีอายุเฉลี่ย 53.12 ปี (ช่วง 8 ถึง 83 ปี) RT-qPCR สำหรับ SARS-CoV-2 ให้ผลบวกในตัวอย่าง SG 30 ชุดจากผู้ป่วย 18 ราย (คิดเป็น 60% ของตัวอย่าง SG ทั้งหมด และ 75% ของเคสทั้งหมด) การวิเคราะห์โครงสร้างอย่างละเอียดได้แสดงให้เห็นอนุภาคไวรัสทรงกลมขนาด 70-100 น.ม. ซึ่งมีขนาดและรูปร่างสอดคล้องกับวงศ์ *Coronaviridae* ทั้งไซโตพลาสซึมเซลล์บุท่อ เซลล์อะซินาร์ และช่องว่างภายในท่อ SG อีกทั้งมีการพบการเสื่อมสภาพของออร์แกเนลล์ภายในเซลล์ที่ติดเชื้อและการปรากฏของคลัสเตอร์นิวคลีโอแคปซิด ซึ่งชี้ว่าการทำสำเนาไวรัสภายในเซลล์ SG การวิเคราะห์ทางจุลพยาธิวิทยาเชิงคุณภาพชี้ว่าการเปลี่ยนแปลงเชิงสัณฐานของเนื้อเยื่อบุผิวท่อถูกกำหนดลักษณะโดยการก่อตัวของแวคิวโอลในไซโตพลาสซึมและนิวเคลียส รวมถึงภาวะหลากรูปของนิวเคลียส เซลล์อะซินาร์ได้แสดงถึงความเปลี่ยนแปลงเชิงเสื่อมสภาพของไซโมเจนแกรนูลและนิวเคลียสขยายตัว เซลล์เนื้อเยื่อบุผิวท่อและซีรัสอะซินาร์แสดงถึงการแสดงออกของตัวรับ ACE2 และ TMPRSS อย่างเด่นชัด ได้ผลบวกในการตรวจภูมิคุ้มกันทางพันธุกรรม SARS-CoV-2 ใน 8 (53%) จาก 15 เคสที่ตรวจ ในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวท่อและเซลล์อะซินาร์ของ SG หลักๆ มีต่อมน้ำลายชนิดรองเพียงสองต่อมเท่านั้นที่ตรวจได้ผลบวกสำหรับ SARS-CoV-2 ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี ต่อมน้ำลายคือหนึ่งในแหล่งกักเก็บ SARS-CoV-2 และเป็นฐานเบื้องต้นของการศึกษาทางพยาธิสรีรวิทยาสำหรับการใช้น้ำลายเป็นวิธีการวินิจฉัยโรคโควิด 19 และยังเน้นถึงบทบาทของสารทางชีววิทยานี้ในการแพร่โรค © 2021 สมาคมพยาธิวิทยาแห่งบริเตนใหญ่และไอร์แลนด์ เผยแพร่โดย John Wiley & Sons, Ltd.

บทนำ

นับตั้งแต่ WHO ได้ประกาศสถานการณ์การระบาดใหญ่สำหรับโควิด 19 รัฐบาลและองค์กรสุขภาพต่างๆ ได้พัฒนากลยุทธ์มากมายเพื่อบรรเทาการแพร่ของ SARS-CoV-2 ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค โรคนี้มีการติดต่อผ่านละอองของเหลวที่มีเชื้อ ซึ่งแพร่จากการไอและจามโดยตรง [1] สารคัดหลั่งในน้ำลายเป็นส่วนประกอบหลักของละอองขนาดเล็กที่เกิดขึ้นขณะพูด จึงมีบทบาทสำคัญในรูปแบบการปนเปื้อนของโควิด 19 ซึ่ง RNA ของ SARS-CoV-2 ในละอองน้ำลายพบได้อย่างสม่ำเสมอตลอดระยะต่างๆ ของโรค และได้ถูกนำมาใช้เป็นเครื่องมือวินิจฉัยโควิด 19 ที่เชื่อถือได้ [2, 3] ในกลุ่มผู้ป่วยโควิด 19 จำนวน 70 ราย Iwasaki และคณะ ได้ตรวจพบสำเนา RNA ของ SARS-CoV-2 ในตัวอย่างน้ำลายมากกว่าจากวิธีการวินิจฉัยที่ยอมรับเป็นมาตรฐาน นั่นคือตัวอย่างจากการสวอบหลังโพรงจมูก [4]

น้ำลายเป็นสารทางชีววิทยาที่ซับซ้อน ประกอบด้วยสารคัดหลั่งจากต่อมน้ำลาย น้ำรองเหงือก สารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจ และเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวที่ผลัดออก การปรากฏของ SARS-CoV-2 ในน้ำลาย

อาจเกี่ยวข้องกับการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของไวรัสและสารคัดหลั่ง RNA ในเซลล์และเนื้อเยื่อใดก็ตามที่เกี่ยวข้องในการผลิตองค์ประกอบของน้ำลาย เช่น เนื้อเยื่อปริทันต์ ต่อมน้ำลาย และเซลล์ของทางเดินหายใจส่วนบน [5] ตัวอย่างเช่น ก่อนหน้านี้เราได้แสดงให้เห็นถึงการปรากฏของ RNA ของ SARS-CoV-2 ในเนื้อเยื่อปริทันต์ [6] การพิจารณาว่าเนื้อเยื่อแต่ละชนิดมีส่วนอย่างไรในฐานะแหล่งกักเก็บ SARS-CoV-2 อาจเป็นเส้นทางไปสู่การทำความเข้าใจเกี่ยวกับรูปแบบของ SARS-CoV-2 ในน้ำลายได้ดียิ่งขึ้น รวมถึงการพัฒนากลยุทธ์ต่างๆ เพื่อปรับปรุงการวินิจฉัย เช่นเดียวกับการบรรเทาการปนเปื้อนทางละอองน้ำลาย

การติดเชื้อ SARS-CoV-2 ของเซลล์โฮสต์ขึ้นอยู่กับการเจาะผิวดำของหนึ่งในชิ้นส่วนหนามด้วยฟูริน [7] ซึ่งช่วยให้โปรตีนหนามที่เจาะผิวดำแล้วสามารถมีปฏิสัมพันธ์กับตัวรับเอนไซม์แปลงแองจิโอเทนซิน 2 (ACE2) และทรานส์เมมเบรนเซอรินโปรตีเอส 2 (TMPRSS) ปฏิสัมพันธ์เหล่านี้เป็นสิ่งที่กระตุ้นให้เริ่มกระบวนการเอนโดไซโทซิสของเซลล์และเริ่มวัฏจักรการทำสำเนาไวรัส [8] การศึกษาในสัตว์ได้แสดงถึงปฏิสัมพันธ์ของตัวรับเหล่านี้และ SARS-CoV-2 ซึ่งบ่งบอกว่า ACE2, TMPRSS และฟูรินที่พบในเนื้อเยื่อต่อมน้ำลายคือเป้าหมายในช่วงเริ่มแรกของการติดเชื้อโคโรนาไวรัส [9]

ดังนั้น เพื่อให้เข้าใจถึงรูปแบบการแพร่ได้ดียิ่งขึ้น จึงจำเป็นที่จะต้องตรวจสอบว่า RNA ของ SARS-CoV-2 ในน้ำลายมีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสและการทำสำเนาภายในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวต่อมหรือไม่ หรืออาจเกี่ยวข้องกับการคัดหลั่งจากทางเดินหายใจและองค์ประกอบปริทันต์ของน้ำลายเท่านั้น

ข้อมูลและวิธีการ

เราได้ทำการตัดเนื้อเยื่อต่อมน้ำลายหลัก (หน้ากกหูและใต้ขากรรไกรล่าง) และต่อมรอง (ริมฝีปากล่าง) ไปตรวจหลังจากเสียชีวิต หลังได้รับสารไม่เกินสองชั่วโมง ในระหว่างการชันสูตรผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากโควิด 19 ด้วยวิธีชันสูตรที่มีการบันทึกน้อยที่สุดโดยการระบุตำแหน่งด้วยอัลตราซาวด์ (US-MIA) คณะตรวจสอบของสถาบันและของรัฐบาลกลางได้ให้การอนุมัติงานศึกษาภายใต้ระเบียบเลขที่ 30364720.0.0000.0068 เราได้ทำกระบวนการ US-MIA หลังจากที่ได้รับแจ้งความยินยอมจากญาติที่ใกล้ชิดที่สุด กระบวนการดังกล่าวประกอบด้วย การถ่ายภาพเกี่ยวกับการชันสูตรด้วยวาจา เพื่อรวบรวมข้อมูลทางคลินิกและการแพทย์ ตามด้วยการชันสูตรที่มีการบันทึกน้อยที่สุดโดยการระบุตำแหน่งด้วยอัลตราซาวด์เพื่อเก็บตัวอย่าง และตามด้วยการดำเนินการตามระเบียบด้านความปลอดภัยซึ่งได้อธิบายไว้ก่อนหน้านี้ [10]

ในการชันสูตรแต่ละครั้ง เราได้ระบุต่อมน้ำกกหูและใต้ขากรรไกรล่างโดยใช้ระบบอัลตราซาวด์แบบพกพา SonoSite M-Turbo R (Fujifilm, Bothell, WA, USA) พร้อมด้วยทรานสดิวเซอร์ HFL38X (13-6 MHz เชิงเส้น) เราได้ทำการตัดเนื้อเยื่อไปตรวจหลังจากเสียชีวิตโดยใช้เข็มนำเจาะผ่านผิวหนังกึ่งอัตโนมัติ Tru-Cut® 14G (20 ซม.) (ในส่วนข้อมูลเสริม จาก ข้อมูลเสริมและวิธีการ ตามภาพประกอบ S1) การเจาะทำโดยผ่านผิวหนังเพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนน้ำลาย เพื่อให้สามารถเข้าไปยังต่อมน้ำลายรองได้ เราเริ่มต้นโดยขีดบริเวณเยื่อบุริมฝีปากด้านในโดยใช้ผ้ากอซชุบสารช่วยทำความสะอาดด้วยเอนไซม์ (Riozyme ของ Rioquímica เซาโฆเซโดริโอเปร์โต เมืองเซา

เปาโล ประเทศบราซิล) เพื่อทำความสะอาดการปนเปื้อนบนพื้นผิวทั้งหมด และเราได้ทำการตัดเนื้อเยื่อโดยใช้หัวชนิดพันธุ์ขนาด 0.3 มม.

ตัวอย่างถูกแช่แข็งและจัดเก็บที่อุณหภูมิ -80°C ตัวอย่างเนื้อเยื่อถูกนำไปสลายด้วยวิธีมาเซอเรชัน และแยกแยะกรดนิวคลีอิกโดยใช้รีเอเจนต์ TRIzol® (ของ Invitrogen เมืองคาร์ลสแบด รัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา) การตรวจหาโมเลกุล SARS-CoV-2 ทำโดยใช้ชุดตรวจ RT-qPCR (ของ Invitrogen) ขั้นตอนเดียว SuperScript™ III Platinum™ และชุดไพรเมอร์/โพรบสำหรับการเพิ่มจำนวนยีน *E* และ *N(NI)* [11]

ยีน *RNase P* ของมนุษย์ได้ถูกขยายเช่นกัน ตามการควบคุมการแยกแยะกรดนิวคลีอิก [3] ปฏิกริยา RT-qPCR ทำโดยใช้ 7500 Fast Real-Time PCR System (จาก Biosystems ฟอสเตอร์ซิตี รัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนการถอดรหัสย้อนกลับที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นที่ 95°C เป็นเวลา 3 นาที และที่ 95°C เป็นเวลา 15 วินาที 45 รอบ และที่ 58°C (ยีน *E*)/ 55°C (ยีน *N* และ *RNase P*) เป็นเวลา 30 วินาที

ตัวอย่างเพิ่มเติมถูกคงสภาพในสารละลายฟอร์มาลินบัฟเฟอร์ 10% และฝังในพาราฟินแวกซ์ เราได้เตรียมชิ้นตัดขวางหนา $3\ \mu\text{m}$ และยัดบนกระจกสไลด์สำหรับการย้อมสี H&E และอิมมูโนฮิสโตเคมี เพื่อระบุ SARS-CoV-2, ACE2 และ TMPRSS (รายละเอียดของระเบียบมืออยู่ในส่วนข้อมูลเสริม จากข้อมูลเสริมและวิธีการ)

ในการวิเคราะห์โครงสร้างอย่างละเอียด เราได้นำเนื้อเยื่อทางชีววิทยาซึ่งคงสภาพในฟอร์มาลินและฝังในพาราฟินกลับมาใช้ กระบวนการนี้มีความเหมาะสมเป็นพิเศษในกรณีที่ต้องการเลือกบางบริเวณจากตัวอย่างอย่างเจาะจง เพื่อทำการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

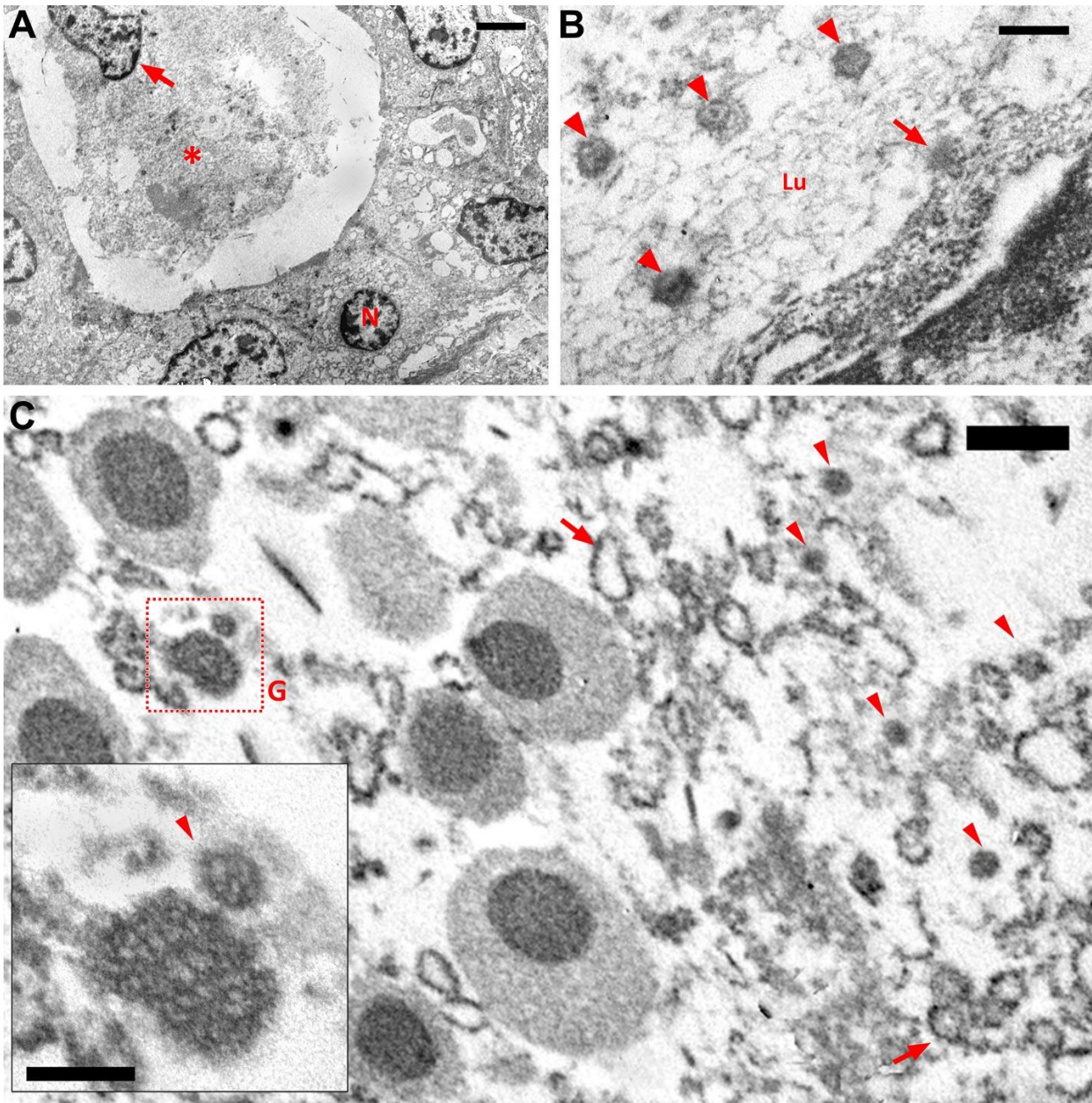
เราได้ระบุบริเวณท่อและอะซินาร์ที่เนื้อเยื่อมีลักษณะทางพยาธิวิทยาผิดปกติบนกระจกสไลด์ย้อมสี H&E ของต่อมน้ำลายหน้ากกหูและไตขากรรไกรล่าง แล้วทำเครื่องหมายบนกระจกโดยใช้ปากกาหัวสีกหลาด เมื่อเปรียบเทียบภาพที่เห็นด้วยตาเปล่า เราพบบริเวณที่สอดคล้องกันบนพื้นผิวของก้อนพาราฟิน พื้นที่เป้าหมายถูกตัดออกโดยใช้มีดโกน ชิ้นส่วนย่อยที่ได้ถูกนำไปขจัดพาราฟินในไซลีน คืนความชื้นโดยใช้ลำดับแอลกอฮอล์ และคงสภาพอีกครั้งโดยใช้กลูตารัลดีไฮด์ 2% ในบัฟเฟอร์ฟอสเฟต 0.15 M ค่า pH 7.2 ผ่านขั้นตอนหลังคงสภาพใน OsO_4 1% และย้อมสีในยูเรนิลอะซิเตทละลายน้ำ 1% ทั้งไวข้ามคืน จากนั้นสิ่งส่งตรวจจะถูกฝังลงในอีพอกซีเรซิน ชิ้นตัดขวางขนาดบางมากได้ถูกตัดโดยใช้ Leica-Reichert Ultratome (ของ Leica เมืองเวทซ์ลาร์ ก็สเซน ประเทศเยอรมนี) และย้อมควบโดยใช้ยูเรนิลอะซิเตทและลีดซิเตรท การถ่ายภาพไมโครกราฟทำโดยใช้กล้องชนิด CCD มุมกว้าง Gatan 792 BioScan ระดับ 1K ต่อ 1K (ของ Gatan เมืองเพลเชนตัน รัฐแคลิฟอร์เนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา) เชื่อมต่อกับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน JEOL JEM 1010, 80 kV (ของ JEOL กรุงโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น)

ผลลัพธ์และการอภิปราย

สำหรับผู้ป่วยทั้งหมด การวินิจฉัยโรคได้รับการยืนยันโดยการตรวจ RT-qPCR ของสิ่งส่งตรวจจากการสวอบหลังโพรงจมูก เราได้ทำการประเมินตัวอย่างจากต่อมน้ำลาย (SG) 45 ชุด (หน้ากกหู 20 ชุด ใต้ขากรรไกรล่าง 15 ชุด และ SG รอง 10 ชุด) จากผู้ป่วยที่เสียชีวิต 24 ราย สำหรับบางเคส เราได้ทำการบวกรวมการอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อหา SARS-CoV-2 ตัวรับ ACE2 และ TMPRSS (15 เคส) และใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (สองเคส) (สำหรับรายละเอียดโปรดดูที่ ข้อมูลเสริมและวิธีการ)

การศึกษาดังกล่าวประกอบด้วยผู้ป่วยหญิง 13 รายและชาย 11 ราย ซึ่งมีอายุเฉลี่ย 53.12 ปี (ช่วง 8 ถึง 83 ปี) ระยะเวลาเฉลี่ยระหว่างเริ่มปรากฏอาการจนกระทั่งเสียชีวิตคือ 21.12 วัน (ในช่วง 4 ถึง 47 วัน) RT-qPCR สำหรับ SARS-CoV-2 ให้ผลบวกในตัวอย่าง SG 30 ชุดจากผู้ป่วย 18 ราย (คิดเป็น 60% ของตัวอย่าง SG ทั้งหมด และ 75% ของเคสโควิด 19 ทั้งหมด)

การวิเคราะห์โครงสร้างอย่างละเอียดได้แสดงถึงอนุภาคไวรัสทรงกลมขนาด 70-100 น.ม. ซึ่งมีขนาดและรูปร่างสอดคล้องกับวงศ์ *Coronaviridae* ในไซโตพลาสซึมของเซลล์บุท่อ เซลล์อะซินาร์ และช่องว่างภายในท่อ SG (ภาพประกอบ [1A และ B](#)) และยังพบการเสื่อมสภาพของออร์แกเนลล์ภายในสิ่งที่ดูคล้ายเซลล์ที่ติดไวรัส (ภาพประกอบ [1C](#)) แม้การเสื่อมสภาพของเซลล์อาจมีสาเหตุจากการที่เราใช้ตัวอย่างหลังจากเสียชีวิตจากก่อนพาราฟิน แต่การพบอนุภาคจำนวนมากชี้ว่าความเสียหายไม่มากนักน้อยอาจเกิดจากการติดเชื้อไวรัส

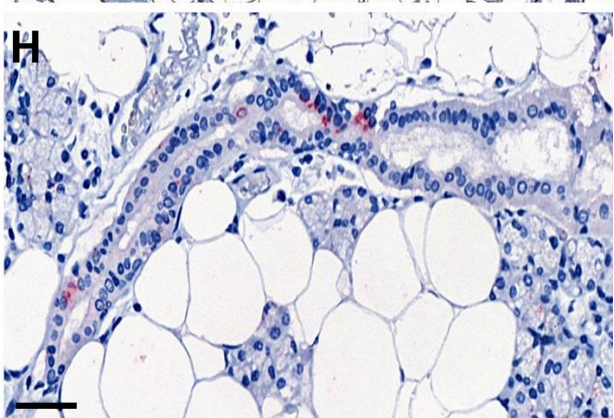
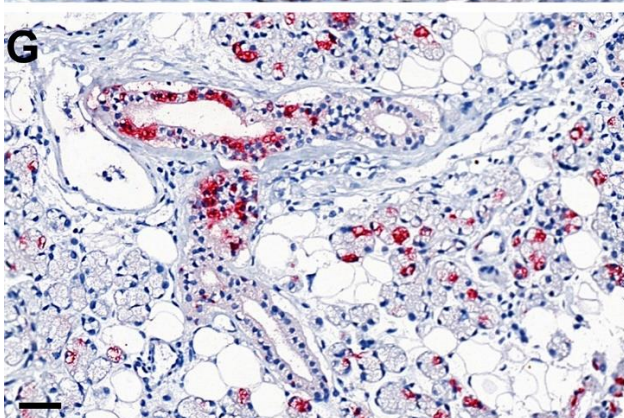
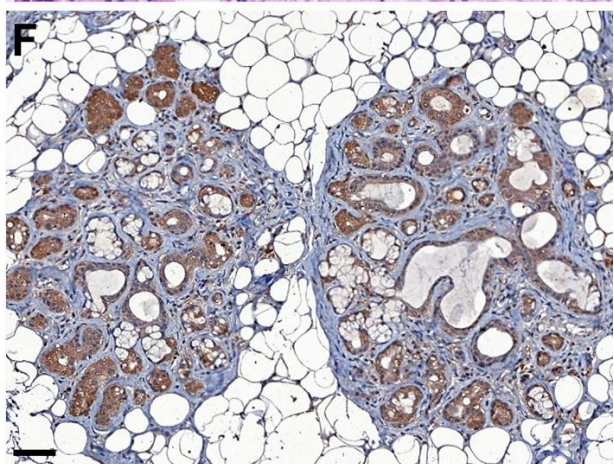
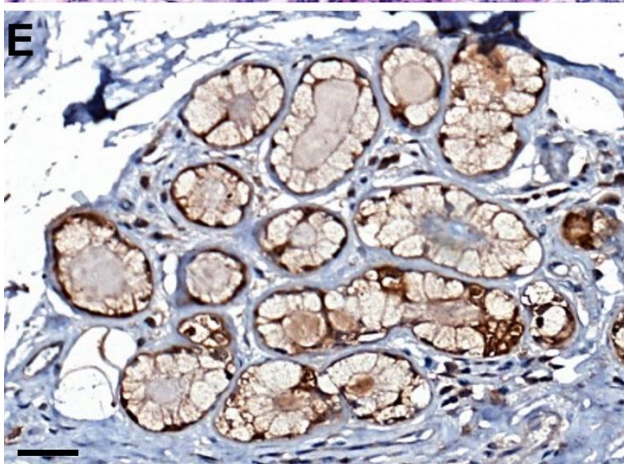
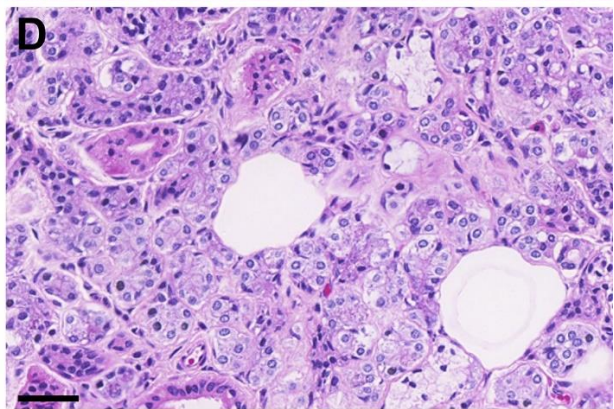
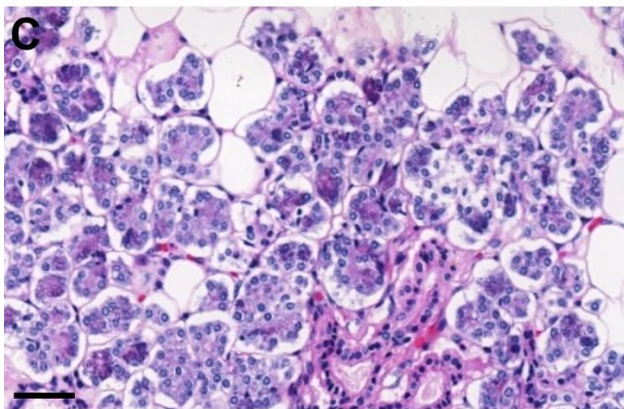
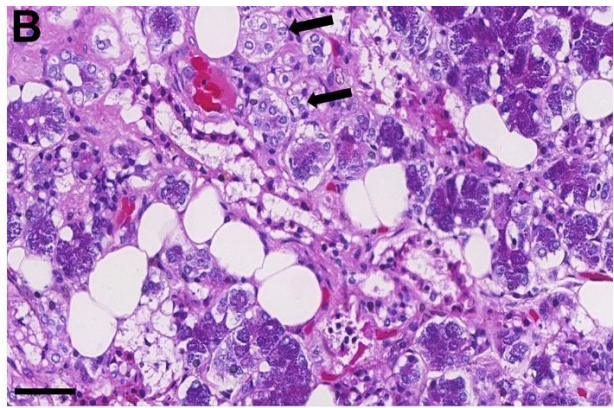
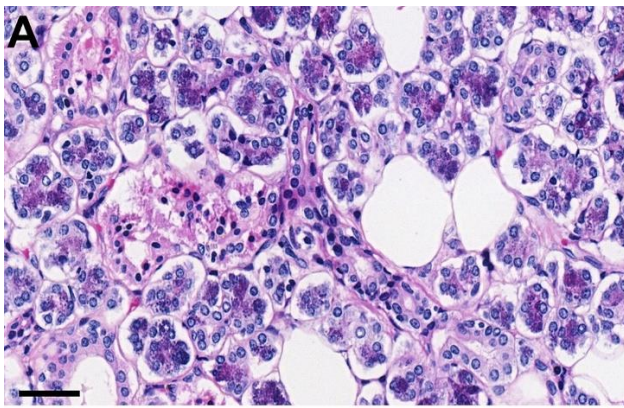


ภาพประกอบ 1

[เปิดในตัวแสดงภาพประกอบ PowerPoint](#)

ข้อมูลทางมิถุนวิทยาที่ได้ทราบจากการตัดเนื้อเยื่อไปตรวจหลังจากเสียชีวิต: (A) ภาพถ่ายไมโครกราฟอิเล็กตรอนกำลังขยายต่ำของท่ออินทราโลนูลาร์ของต่อมใต้ขากรรไกรล่าง เนื้อเยื่อผนังท่อประกอบด้วยเซลล์ทรงลูกบาศก์ซึ่งมีนิวเคลียสบริเวณตรงกลาง (N) ช่องว่างภายในท่อแทบไม่เหลือสภาพเดิมเนื่องจากการสะสมของเศษต่างๆ (ดอกจัน) รวมถึงนิวเคลียสเซลล์แยกออก (ลูกศร) แถบ = 2 ไมโครเมตร (B) ภาพถ่ายไมโครกราฟอิเล็กตรอนแสดงให้เห็นบริเวณส่วนปลายของเซลล์เนื้อเยื่อผนังท่อของต่อมหน้ากอก นอกเหนือจากอนุภาคไวรัส (ปลายศร) ภายในช่องว่างภายในท่อ (Lu) ยังมีอนุภาคไวรัสที่ออกจากเซลล์โดยการดันตัวผ่านเมมเบรน (ลูกศร) แถบ = 200 น.ม. (C) ภาพถ่ายไมโครกราฟอิเล็กตรอนแสดงส่วนหนึ่งของเซลล์อะซินาร์ของต่อมใต้ขากรรไกรล่าง ที่ด้านซ้ายของภาพ ไซโตพลาสซึมประกอบด้วยแกรนูลสารคัดหลั่งซีโรมิกซ์ (G) ซึ่งโดยปกติจะประกอบขึ้นจากสเฟียร์รูลที่ย้อมสีเข้มล้อมรอบด้วยองค์ประกอบที่ไม่ถูกย้อมสี ไซโตพลาสซึมที่ด้านขวาแสดงถึงการเสื่อมสภาพ พร้อมด้วยอนุภาคไวรัส (ปลายศร) และเวสิเคิลไมโครโซม (ลูกศร) ภาพแทรกแสดงอนุภาคไวรัสครบส่วน (ปลายศร) แถบ = 500 น.ม. แถบภาพแทรก = 200 น.ม.

การวิเคราะห์ทางจุลพยาธิวิทยาเชิงคุณภาพชี้ว่าการเปลี่ยนแปลงเชิงสัณฐานของเนื้อเยื่อปอดที่ถูกกำหนดลักษณะโดยการก่อตัวของแควคิวโอลในไซโตพลาสซึมและนิวเคลียส รวมถึงภาวะหลากรูปของนิวเคลียส เซลล์อะซินาร์แสดงถึงความเปลี่ยนแปลงเชิงเสื่อมสภาพของไซโมเจนแกรนูลและนิวเคลียสขยายตัว (ภาพประกอบ [2A และ B](#)) เมื่อเปรียบเทียบกับคุณภาพกับตัวควบคุม (ภาพประกอบ [2C และ D](#)) จากกระบวนการอิมมูโนฮิสโตเคมี ทั้งเซลล์เนื้อเยื่อปอดและซีรัสอะซินาร์ได้แสดงถึงการแสดงออกของตัวรับ ACE2 และ TMPRSS อย่างเด่นชัด (ภาพประกอบ [2E และ F](#)) ตรวจสอบภูมิคุ้มกันต้านชนิดต้าน SARS-CoV-2 ได้ผลบวกในแปด (53%) จาก 15 เคสที่ทำการตรวจ ในเซลล์เนื้อเยื่อปอดและเซลล์อะซินาร์ของ SG หลัก (ภาพประกอบ [2G และ H](#)) มีต่อมน้ำลายชนิดรองเพียงสองต่อม (13%) เท่านั้นที่ตรวจได้ผลบวกสำหรับ SARS-CoV-2 ด้วยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี



ภาพประกอบ 2

เปิดในตัวแสดงภาพประกอบ PowerPoint

ข้อมูลทางมิถุนวิทยาที่ได้ทราบจากการตัดเนื้อเยื่อไปตรวจหลังจากเสียชีวิต: (A) หน้ากอกจากผู้ป่วยโควิด 19 – H&E (B) ใต้ซากกรไกรกลางจากผู้ป่วยโควิด 19 – H&E เนื้อเยื่อปอดแสดงภาวะหลากหลายของนิวเคลียส เซลล์อะซินาร์แสดงถึงนิวเคลียสขยายตัว (ลูกศร) การอัดตัวของไซโมเจนแกรนูล (C) หน้ากอกจากผู้ป่วยควบคุม – H&E (D) ใต้ซากกรไกรกลางจากผู้ป่วยควบคุม – H&E (E) ตัวรับ ACE2 – อิมมูโนฮิสโตเคมีต่อหน้ากอกู เจาะจงเป้าหมายโปรตีน ACE2 ของมนุษย์ (สีน้ำตาล) แสดงการย้อมสีในเซลล์อะซินาร์ (F) ตัวรับ TMPRSS – อิมมูโนฮิสโตเคมีต่อใต้ซากกรไกรกลาง เจาะจงเป้าหมายโปรตีน ACE2 ของมนุษย์ (สีน้ำตาล) แสดงการในเซลล์อะซินาร์และเซลล์ท่อ อิมมูโนฮิสโตเคมีเจาะจงเป้าหมาย SARS-CoV-2 (G) ต่อมหน้ากอกูแสดงผลบวกการย้อมสีระบุ SARS-CoV-2 ในท่อระหว่างกลุ่มและท่ออินทราโลบูลาร์ ลักษณะการย้อมสีของเซลล์อะซินาร์แสดงด้วยตำแหน่งส่วนปลาย (H) SG ใต้ซากกรไกรกลางแสดงการย้อมสีผลบวกแพร่กระจายสำหรับ SARS-CoV-2 ในท่ออินทราโลบูลาร์ แถบสเกล: 50 ไมโครเมตร

การศึกษาภาวะโน้มน้าวร้ายของ SARS-CoV-2 มีความสำคัญในการทำความเข้าใจถึงรูปแบบการก่อโรคและการติดเชื้อของโรค [12] มีการรายงานถึงต่อมน้ำลายว่าเป็นแหล่งกักเก็บไวรัสสำหรับโรคที่พบบ่อย เช่น เฮอร์ปีส์ซิมเพล็กซ์, EBV, HHV-7 และไซโตเมกาโลไวรัส [5, 13] การทำสำเนาไวรัสภายใน SG กลยุทธ์การแพร่กระจายที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากละอองที่ปนเปื้อนซึ่งขับออกมาในระหว่างการไอ จาม และการพูด มีสารที่ขับออกผ่านทางน้ำลายเป็นส่วนประกอบหลัก [14] เราพบการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ภายในเซลล์ต่อมน้ำลาย แม้ในผู้ป่วยจากการศึกษาของเราซึ่งเสียชีวิตจากสาเหตุที่ไม่เกี่ยวข้องกับการหายใจ ซึ่งรวมถึงเนื้องอก กรณีทางประสาทวิทยา และสาเหตุเกี่ยวกับหลอดเลือด

เป็นครั้งแรกที่เราสามารถแสดงถึงการปรากฏการติดเชื้อ SARS-CoV-2 และการทำสำเนาภายในต่อมน้ำลายหลักและรอง ซึ่งมีการใช้วิธีการต่างๆ เรายังแสดงถึงการแสดงออกของเป้าหมายของไวรัสในเซลล์ นั่นคือตัวรับ ACE2 และ TMPRSS ในผู้ป่วยโควิด 19 ระดับร้ายแรง สิ่งที่เราได้ค้นพบชี้ให้เห็นว่าต่อมน้ำลายเป็นหนึ่งในแหล่งกักเก็บ SARS-CoV-2 และเป็นฐานเบื้องต้นของการศึกษาทางพยาธิสรีรวิทยาเมื่อไม่นานมานี้สำหรับการใช้น้ำลายเป็นวิธีการวินิจฉัยโรคโควิด 19 และยังเน้นถึงบทบาทของสารทางชีววิทยานี้ในการแพร่โรค