



Title	ミュータンスレンサ球菌に対するウーロン茶抽出物の抗菌作用：抗菌成分の特性と抗菌メカニズムの解析
Author(s)	佐々木, 秀和
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44728
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 佐々木 秀 和

博士の専攻分野の名称 博士(歯学)

学位記番号 第 18874 号

学位授与年月日 平成 16 年 3 月 25 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項該当

学位論文名 ミュータンスレンサ球菌に対するウーロン茶抽出物の抗菌作用：抗菌成分の特性と抗菌メカニズムの解析

論文審査委員 (主査)

教授 大嶋 隆

(副査)

教授 雫石 聡 助教授 今里 聡 助教授 川端 重忠

論文内容の要旨

茶はツバキ科の植物である *Camellia sinensis* の新芽を原料とする飲料で、製造過程の発酵の度合によって分類される。不発酵茶である緑茶には、ミュータンスレンサ球菌に対する抗菌作用を示す単量体ポリフェノールが認められており、半発酵茶であるウーロン茶にもこれらの単量体ポリフェノールが含まれている。しかし、ウーロン茶抽出物の抗菌作用は明らかにされていない。本研究では、ウーロン茶抽出物を化学合成培地中でミュータンスレンサ球菌に作用させると明瞭な抗菌作用を示し、その抗菌作用がウーロン茶抽出物に含まれる数種の単量体ポリフェノールの相乗効果によるものであることを明らかにした。

【材料と方法】

ウーロン茶標品として、粉末ウーロン茶葉を 45%エタノール水溶液中で抽出した OTE を用いた。この OTE をカラムクロマトグラフィーで分画した OTF1、OTF2、OTF3 の 3 画分、この OTF1 画分を更に分画しウーロン茶特有のポリフェノールとした OTF6、OTF2 画分をゲルろ過した 17 画分を用いた。また、粉末緑茶葉を 45%エタノール水溶液中で抽出した GTE と、緑茶を構成する主要な単量体ポリフェノールであるカテキン(C)、エピカテキン(EC)、ガロカテキン(GC)、エピガロカテキン(EGC)、カテキンガレート(CG)、エピガロカテキンガレート(EGCG)、ガロカテキンガレート(GCG)、エピカテキンガレート(ECG)の市販品も用いた。供試菌として、*Streptococcus mutans* MT8148R 株と *Streptococcus sobrinus* 6715 株を主に用いた。至適条件下で培養した菌株を PBS で洗浄し、調製した菌液に等量の各種ポリフェノールを添加し、反応後、MS 寒天培地に播種し、ポリフェノール非添加におけるコロニー数に対するポリフェノール添加におけるコロニー数を調べ、その減少率を対数値の逆数で抗菌活性を表した。

【結果と考察】

OTE は GTE よりも明瞭で強い抗菌活性を示し、この OTE を分画した 3 画分のうち、単量体ポリフェノールを多く含む OTF2 画分に OTE と同等の強い抗菌活性を認めた。この OTF2 を更に分画して抗菌活性を調べたところ、EGCG を含有している画分に強い抗菌活性が認められた。この最も強い抗菌活性を示した画分の構成成分を高速液体クロマトグラフィーで分析すると、重量比で EGCG を 1.00 として、GCG が 1.83、CG が 0.04 の単量体ポリフェノールだけで構成されていた。このことから、単量体ポリフェノールの組み合わせによる抗菌活性の増強が考えられたため、EGCG、GCG、CG の純粋な製品と、その混合物の抗菌活性を調べた。純標品は中等度または低レベルの抗菌

活性しか示さなかったが、EGCG と GCG を様々な混合比で組み合わせた標品は、EGCG または GCG 単独よりも高い抗菌活性を示した。この単量体ポリフェノールの組み合わせによる抗菌作用の相乗効果は、寒天拡散法により確認された。

培地による OTE の抗菌活性の変化を *S. mutans* MT8148R 株で調べた結果、CD 培地または PBS と懸濁させた OTE では明瞭な生菌数の減少が認められた。しかし、BHI 培地ではほとんど菌の減少は認められず、OTE を含まない PBS の場合と同じ生菌数を示した。このことから、BHI 培地で OTE の抗菌活性が認められなかったのは、ウーロン茶抽出物に含まれる抗菌物質が、BHI 培地内のタンパク質に吸着した可能性が高いと考えられた。そこで、ウシ血清アルブミン (BSA) で OTE を前処理し、その抗菌作用について検討したところ、0.25 mg/ml の前処理濃度で OTE の抗菌作用が認められなくなった。また、ヒト唾液および凍結乾燥 *S. mutans* MT8148R あるいは *S. sobrinus* 6715 菌体で OTE の前処理を行い、MT8148R 株および 6715 株に対して抗菌活性を調べたところ、抗菌活性は濃度依存性に減少した。しかし、デキストランでの前処理では、抗菌活性に変化はみられなかった。

これらの結果から、ウーロン茶抽出物に含まれている抗菌物質は、*S. mutans* の菌体表層タンパクにすばやく結合することによりその抗菌作用を発揮する可能性が高いことを示しており、その強い抗菌性は単量体ポリフェノールのもつ抗菌作用の相乗作用に起因することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ミュータンスレンサ球菌に対するウーロン茶抽出物の抗菌作用について検討を加えたものである。その結果、ウーロン茶抽出物に含まれる抗菌物質は、エピガロカテキンガレートを含む画分で最も強い作用を示し、ガロカテキンガレートの共存下ではそれぞれ単独よりも強い抗菌性を示すことを明らかにした。この抗菌物質は、ミュータンスレンサ球菌体あるいは血清アルブミンの存在下で消失することからミュータンスレンサ球菌体に結合することにより阻害作用を示し、その抗菌活性は単量体ポリフェノールの相乗作用に由来することが示唆された。

以上のことから、本研究はう蝕予防に関して重要な示唆を与えるものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。