

2024年8月21日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学

## 緑茶のカテキン成分 EGCG は 歯周病関連細菌に対して強い抗菌効果を示す

### 【発表のポイント】

- 緑茶のカテキン成分の一種であるエピガロカテキン-3-ガレート（EGCG）は歯周病関連細菌の代謝および増殖を抑制することが示されました。
- EGCG は歯周病関連細菌に対して菌体凝集効果を持ち、口腔内に浮遊する細菌の除去を促す可能性があります。
- EGCG は歯周病予防および良好な口腔環境維持のための新規開発に貢献できる可能性があります。

### 【概要】

歯周病はう蝕と並んで歯科の二大疾患と言われ、歯を失う大きな原因の1つです。その歯周病を引き起こす病因の1つとされるのがプラーク細菌です。

東北大学大学院歯学研究科口腔生化学分野の高橋信博教授、鷲尾純平准教授、安彦友希助教、樋口真由大学院生らの研究グループは、緑茶のカテキン成分の一種であるエピガロカテキン-3-ガレート（EGCG）が、主要な歯周病関連細菌である *Porphyromonas gingivalis*、*Prevotella intermedia*、*Prevotella nigrescens*、*Fusobacterium nucleatum*、*Fusobacterium periodontium* の代謝を抑制することで、増殖抑制と死滅を誘導することを明らかにしました。さらに、これらの歯周病関連細菌はう蝕関連細菌である *Streptococcus mutans* よりも EGCG に対する感受性が高く、低濃度の EGCG でも効果があることが分かりました。本成果は歯周病予防および良好な口腔環境維持のための新規開発に貢献できる可能性があり、さらに詳細な研究や臨床研究を通じてその実現が期待されます。

本研究成果は2024年7月31日に学術誌 Archives of Oral Biology でオンライン公開されました。

## 【詳細な説明】

### 研究の背景

緑茶カテキンは、抗菌作用、抗癌作用、抗酸化作用など、多くの生物学的機能を持つことが報告されています。カテキンの種類にはエピカテキン (EC)、エピガロカテキン (EGC)、エピカテキン-3-ガレート (ECG)、エピガロカテキン-3-ガレート (EGCG) がありますが (図 1)、中でも EGCG は緑茶に最も多く含有され、抗菌効果が一番強いことが分かっています。

これまでに私たちは緑茶と同等濃度のカテキンは、う蝕関連細菌 (ストレプトコッカス属) に対し抗菌効果を示すこと (参考文献 1)、さらにフッ化物とカテキンを組み合わせて使用することで相乗効果が生まれ、より効果的にう蝕を予防できる可能性について報告してきました (参考文献 2)。

一方で歯周病関連細菌に関する研究はこれまでにいくつか報告がありますが、研究によって実験条件や EGCG の使用濃度が異なっているなど、厳密な嫌気環境のもと、同一条件で複数の細菌種を比較・検討した報告はありませんでした。そこで本研究では、主な歯周病関連細菌 (*Porphyromonas gingivalis*、*Prevotella intermedia*、*Prevotella nigrescens*、*Fusobacterium nucleatum*、*Fusobacterium periodontium*) に対する EGCG の殺菌作用、増殖抑制作用、代謝活性抑制作用、菌体凝集作用について明らかにし、さらに代表的なう蝕関連細菌である *Streptococcus mutans* と比較検討することで、EGCG の抗菌効果を客観的に検証・評価しました。

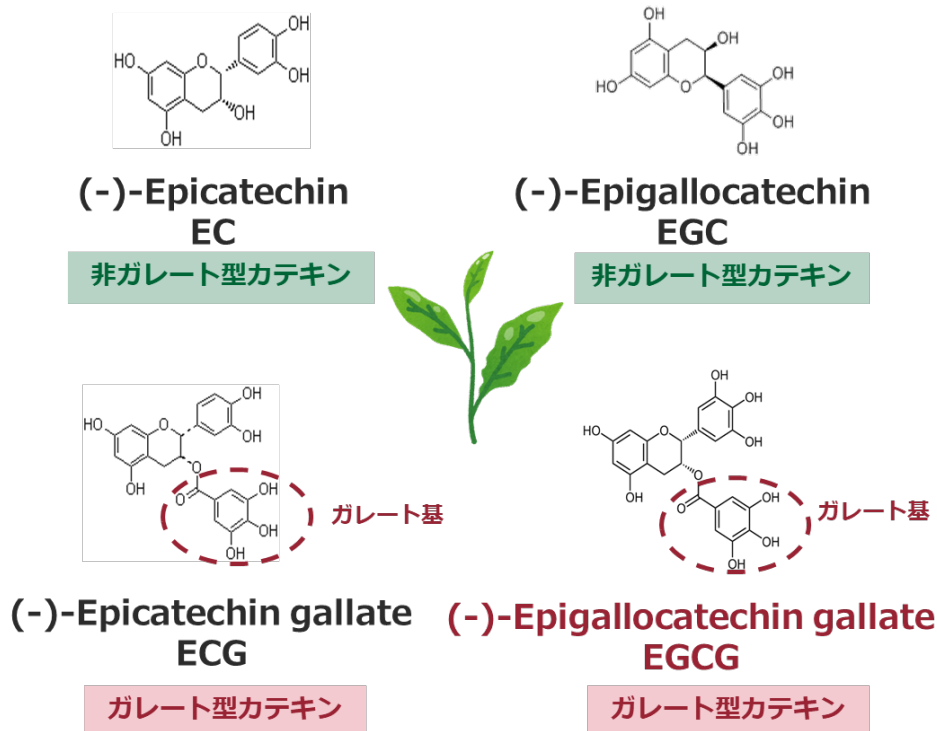


図 1. カテキンの種類

## 今回の取り組み

本研究では、EGCG が歯周病関連細菌に対して強力な殺菌効果を持つことが確認されました。具体的には、2 mg/ml の EGCG 溶液と 4 時間共存させると、これらの細菌が全て殺菌されました。一方で *S. mutans* に対しては、生存数を約 40% 減少させるに留まりました。さらに、ディスク拡散法による EGCG に対する感受性試験（図 2）において、歯周病関連細菌は *S. mutans* よりも増殖抑制効果が高く、特に *P. gingivalis* と *Fusobacterium* 属に対して高い効果を示しました。さらに、当研究室で開発された蛍光色素による代謝リアルタイムモニター法を用いて、細菌の代謝活性抑制作用を示す指標である 50% 阻害濃度（IC<sub>50</sub>）との相関を調べたところ、EGCG が細菌の代謝活性を抑制することが明らかになり、その結果として増殖が抑制されたものと推察されました（ $r = -0.73 - -0.86$ ）（図 3）。これまでに、私たちは EGCG がう蝕関連細菌の菌体凝集（図 4）を促す作用をもつことを報告してきましたが、一部の歯周病関連細菌においても同様の効果があることが分かりました（図 5）。これは細菌が唾液などに浮遊している時に、EGCG が細菌を凝集・除去し、口腔バイオフィーム（プラーク）の形成・成熟を阻害する可能性を示します。

以上の結果から、EGCG は「代謝を抑制することで、増殖抑制と死滅を誘導し、さらに菌体凝集によって口腔内からの細菌の除去を促進する」という抗菌効果を示す可能性が明らかになりました。

また、これらの歯周病関連細菌に対する EGCG の殺菌・増殖抑制作用は、*S. mutans* などのう蝕関連菌よりも低濃度で効果を示すことが確認されました。その理由として、*S. mutans* などのう蝕関連菌の多くがグラム陽性菌で厚い細胞壁に覆われているのに対し、歯周病関連菌はグラム陰性菌で細胞壁が薄く、EGCG による障害を受けやすいなどの可能性が考えられますが、その詳細なメカニズムについては今後検討していく予定です。

## 今後の展開

*S. mutans* において、EGCG は糖取り込み酵素系であるホスホエノールピルビン酸ホスホトランスフェラーゼ系（PEP-PTS）に結合することで、糖の取り込みを阻害し、代謝活性を抑制することが分かっています（参考文献 1）。歯周病関連細菌においても EGCG が代謝基質取り込み系を阻害している可能性があります。その詳細なメカニズムについては今後検討していく予定です。

本研究では浮遊している状態の歯周病関連細菌を用いて実験を行っているため、形成された口腔バイオフィーム（プラーク）やその形成過程に対する効果については現時点で不明です。バイオフィームは多様な細菌種からなる複雑な構造を持ち、形成過程も複雑であることから、今後、複数の細菌種からなるバイオフィームモデルでの効果や実際の口腔内での効果を確認する必要があります。

## *P. gingivalis*

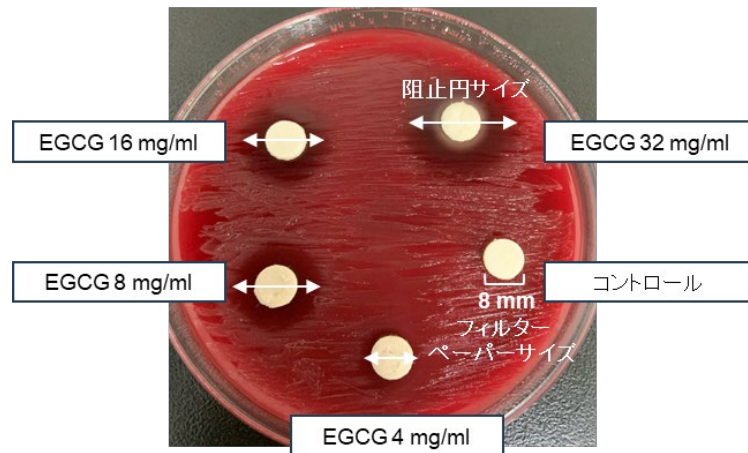


図 2. ディスク拡散法による EGCG に対する感受性試験の例（増殖抑制試験）  
無菌的に EGCG 溶液を染み込ませたフィルターペーパーを、細菌を一面に塗布した血液寒天培地上に置いて培養しました。EGCG に対し感受性を有する場合は、阻止円（菌が増殖していない部分）が形成されます。阻止円が大きいほど増殖抑制効果が高いことを示します。

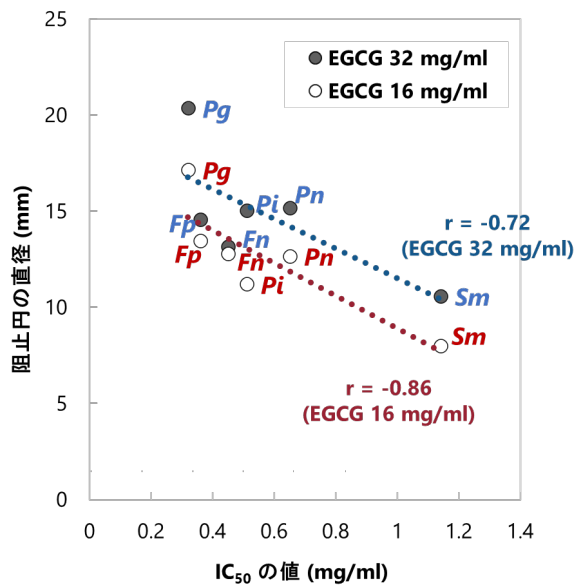


図 3. EGCG による増殖抑制と代謝抑制の相関関係  
各種細菌の阻止円の直径を縦軸に、IC<sub>50</sub> 値（50% Inhibition Concentration : 代謝活性を 50%抑制する EGCG の濃度）を横軸にプロットすると負の相関 ( $r = -0.7 \sim -0.86$ ) を示しました。これにより EGCG が細菌の代謝活性を抑制し、その結果、増殖が抑制されたことが推察されました。

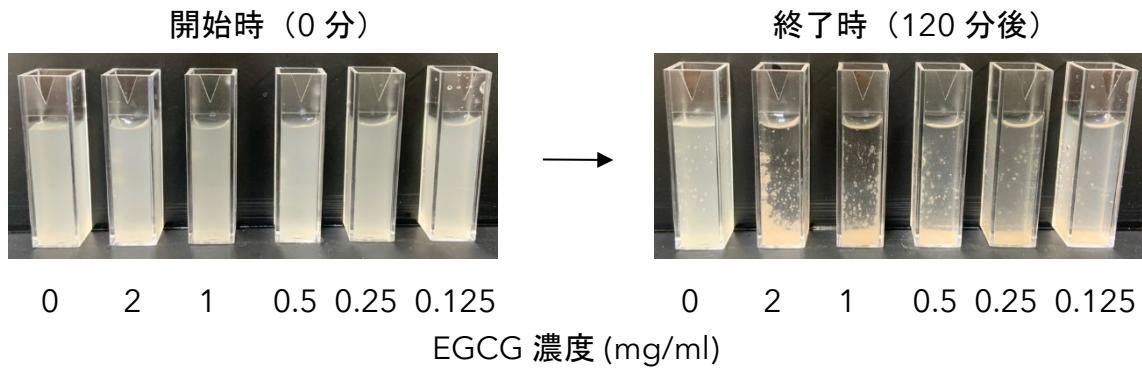


図 4. 菌体凝集試験の例

一定濃度の細菌懸濁液に EGCG を添加し、37°C で 2 時間静置しました。菌体凝集が進むとセル（キュベット）の底に細菌が沈殿していきます。溶液の透過度が上がるほど、菌体凝集が促進したことを示します。

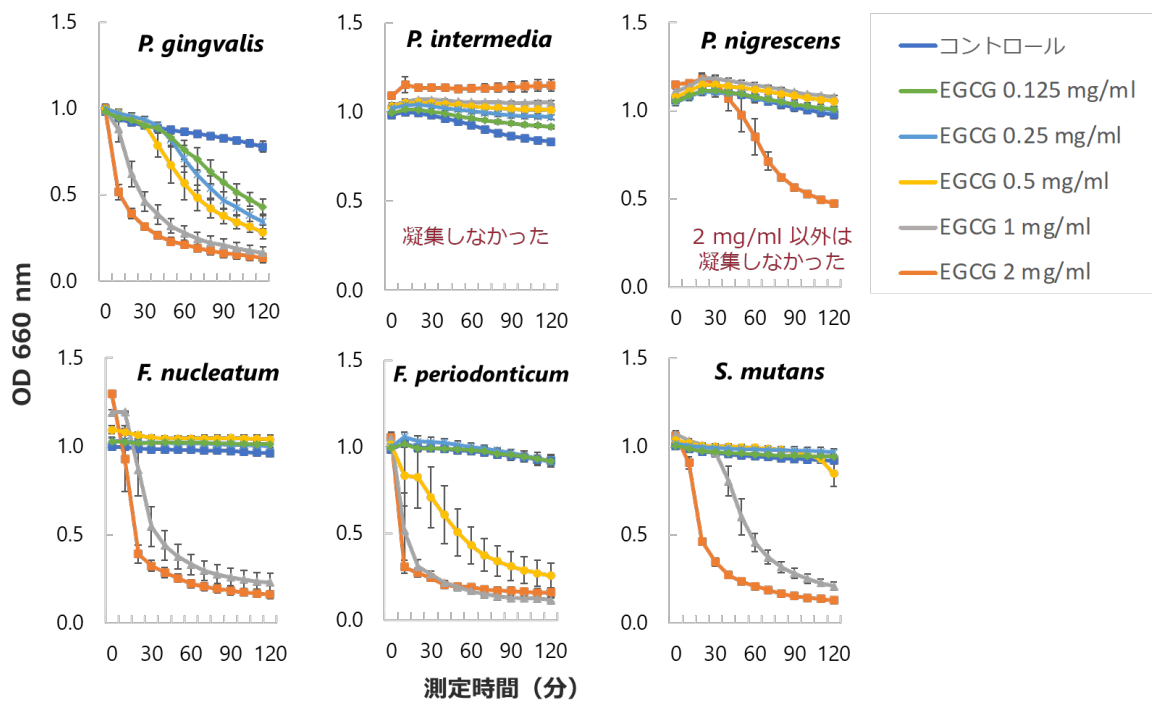


図 5. 分光光度法による菌体凝集試験の結果

図 3 で示したセル（キュベット）の濁度（OD 660 nm）を経時的に測定しました。EGCG と細菌が凝集すると OD が減少していきます。Prevotella 属を除く歯周病関連細菌において、EGCG 添加後 5 分以内に有意な凝集が生じました。歯周病関連細菌は一部の菌種を除き、う蝕関連細菌と同様に唾液中の細菌を凝集・除去し、口腔内のバイオフィルム形成を阻害する可能性が示唆されました。

### 【参考文献】

1. 東北大学 2021 年 6 月 2 日付プレスリリース  
緑茶カテキンは口腔レンサ球菌の酸産生を抑制する  
ー緑茶カテキンの虫歯予防効果に期待ー  
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2021/06/press20210602-02-egcg.html>
2. 東北大学 2023 年 11 月 2 日付プレスリリース  
カテキン×フッ化物でむし歯の予防効果アップ！  
口腔細菌が作り出す「酸」を効率良く抑制するための方法を発見  
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2023/11/press20231102-02-catechin.html>

### 【謝辞】

本研究は、科研費 JSPS KAKENHI Grant Number JP23K18349、JP23K09475、JP21H03151 の支援により実施されました。

### 【論文情報】

タイトル : Antimicrobial effects of epigallocatechin-3-gallate, a catechin abundant in green tea, on periodontal disease-associated bacteria

著者 : Mayu Higuchi, Yuki Abiko, Jumpei Washio, Nobuhiro Takahashi \*

\*責任著者 : 東北大学大学院歯学研究科 教授 高橋信博

掲載誌 : Archives of Oral Biology

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2024.106063>

URL :

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996924001845>

#### 【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院歯学研究科

口腔生化学分野

教授 高橋 信博

TEL: 022-717-8294

Email: OEB@dent.tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院歯学研究科

広報室

TEL: 022-717-8260

Email: den-koho@grp.tohoku.ac.jp