

論文内容の要旨

植物ポリフェノール化合物およびエキスの細菌に 対する発育阻止活性の総合的評価に関する研究 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 田栗利紹

【目的】

植物ポリフェノールは、茶など飲用習慣に裏付けられた安全性と様々な生活習慣病などに対する予防効果により、健康食品分野で現在最も注目されている化学物質群の一つである。その特に有用な機能に抗菌活性が挙げられるが、抗生物質や合成抗菌剤に比べると効力は弱いものの、自然環境や身体にやさしい天然物に対する消費者側の要求などの側面から今後新たな分野への展開が期待される。演者は、化学構造が明らかにされているポリフェノールを用いて、性質の異なる細菌に対する最小発育阻止濃度(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)を測定し、MIC という同じ尺度で抗菌活性を評価することにより、細菌種やポリフェノール分子種による抗菌活性の違いを明らかにするとともに、ポリフェノールの化学構造と抗菌活性の総合的な関係を明らかにすることを目的として研究を企図した。

【方法】

初めに、最近の研究で精査されている緑茶カテキン類と様々な種類のタンニンからなる 10 種類のポリフェノール化合物について、黄色ブドウ球菌(20 株)、ビブリオ属菌(27 株)、サルモネラ(26 株)および大腸菌(23 株)を用いて菌株間変動差とともに MIC を比較した。次に、これらにフラボノイドやスチルベン、カテコールおよびピロガロールを加えて 22 種類とした化合物および粗エキス(26 種類)について、公衆衛生分野の細菌(20 株)および植物病原細菌(7 株)(以上の 27 株をレジオネラと対比して一般細菌という)を用いて細菌種やポリフェノール分子種による MIC の違いを比較した。さらに、EGCg(2)、カスタラジン(5)、没食子酸(11)、ミリシトリン(15)に対して大腸菌と黄色ブドウ球菌を用い、また 15 のみに対してさらに 5 種類の細菌を加えて、それぞれ MIC 測定中に測定用培地の中で 15 量と細菌増殖の増減を観察した。最後に、前述の 22 種の化合物の最小発育阻止濃度測定にレジオネラ属菌(21 株)を供試することで一般細菌の MIC と比較した。

【結果】

10 種類のポリフェノール化合物に対する細菌の感受性においては、ビブリオ属菌に変動差を認めたと、黄色ブドウ球菌とともにその感受性は高く、逆に大腸菌とサルモネラの感受性は低かった。EGC(1)と EGCg(2)からなる緑茶カテキンを含めて、加水分解型タンニンのカスタラジン(5)や縮合型タンニンのプロデルフィニジン(6)が強い抗菌力を示した。22 種類の化合物群に対する細菌別の感受性について検討したところ、グラム陽性細菌では菌種別の感受性は一定しなかったが、グラム陰性細菌では、ビブリオ科細菌の感受性は高く、好気性細菌の感受性は中程度で、腸内細菌科細菌の感受性は低い傾向を示した。プロデルフィニジン(6)とプロシアニジン(8)、没食子酸(11)とプロトカテキユ酸(20)、ミリシトリン(15)とルチン(16)、並びにベンゼン誘導体のピロガロール(19)とカテコール(18)はそれぞれピロガロール基とカテコール基を持っており、これらは全て前者の物質が後者の物質よりも強い活性を示した。さらにピ

ロガロール基を持つプニカラジン(3)と5の活性は強く, カテコール基とレゾルシノール基の両方を持つ8, テアフラビン混合物(9)および16の活性は弱かった. これらの傾向は対応するポリフェノールを主成分とするエキスにおいても認められた. 2, 5, 11 および 15 は, 測定培地の中でそれぞれの MIC に依存して量が減少した. 特に 15 では, 大腸菌, 肺炎桿菌および緑膿菌の存在下において, 菌数増加とともに 15 量は変化せず, 赤痢菌の存在下においては一定時間安定した後急激に減少した. 抗レジオネラ活性にもピロガロール基を有する化合物がカテコール基を有する化合物よりも強い活性を示した. 一般細菌には中程度か弱い活性にすぎない 3, 11, 15, 20, コーヒー酸(21), レスベラトロール(22)にレジオネラへの強い活性を認めた.

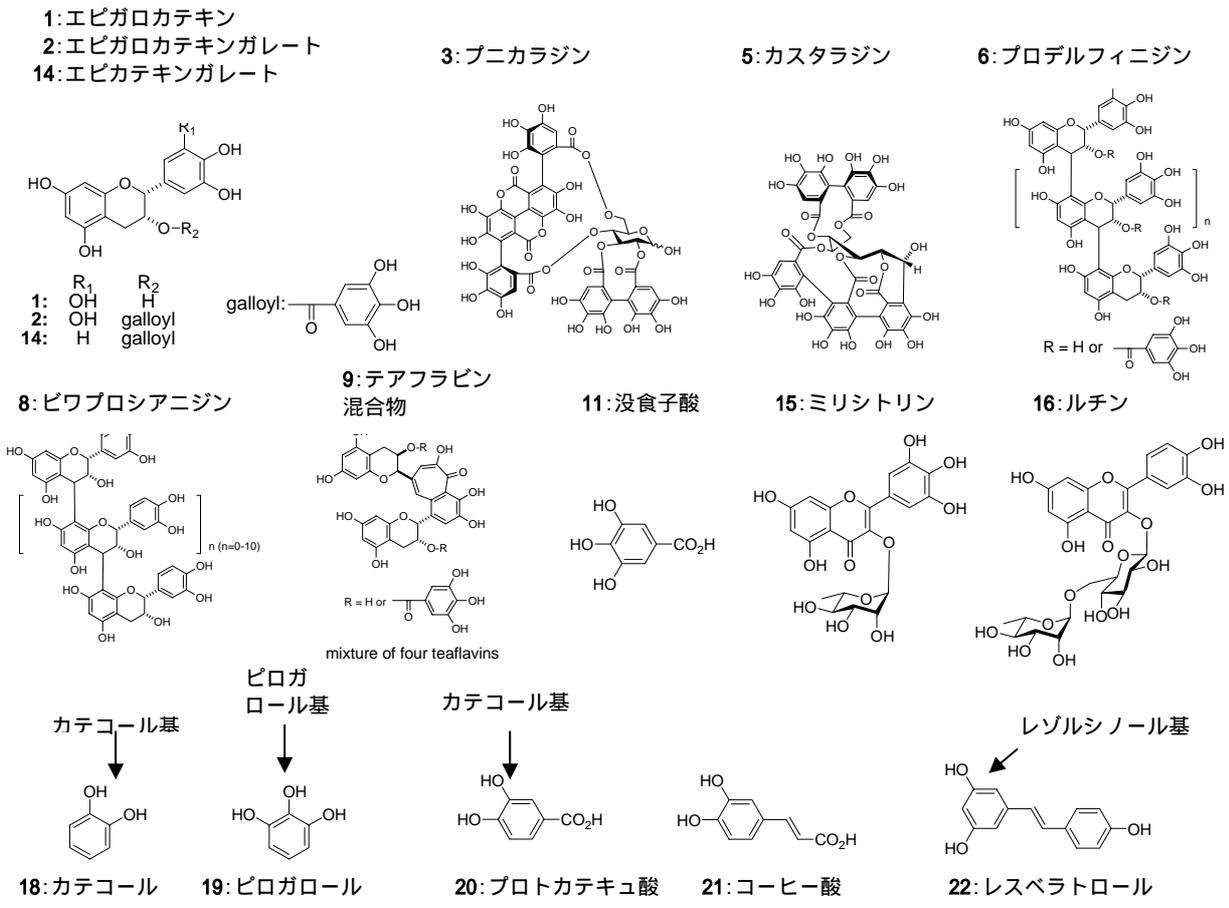


図1 主な供試化合物の構造式

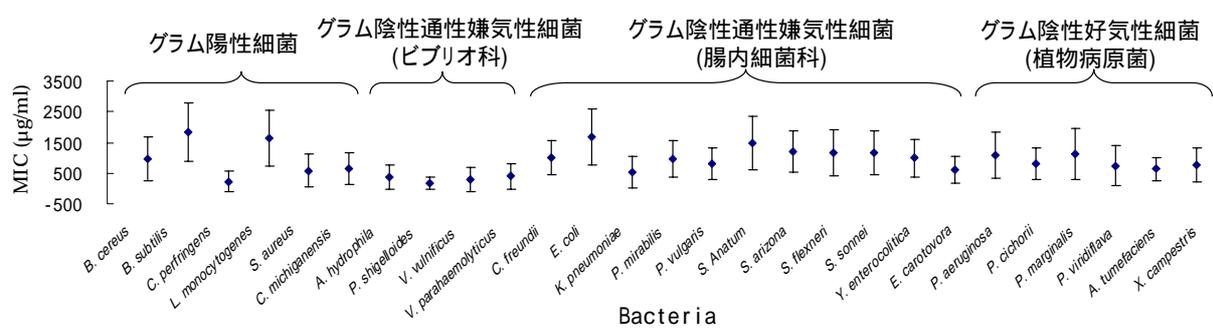


図2 各種細菌の最小発育阻止濃度(MIC)の比較
 縦線は平均MIC±標準偏差を示す.

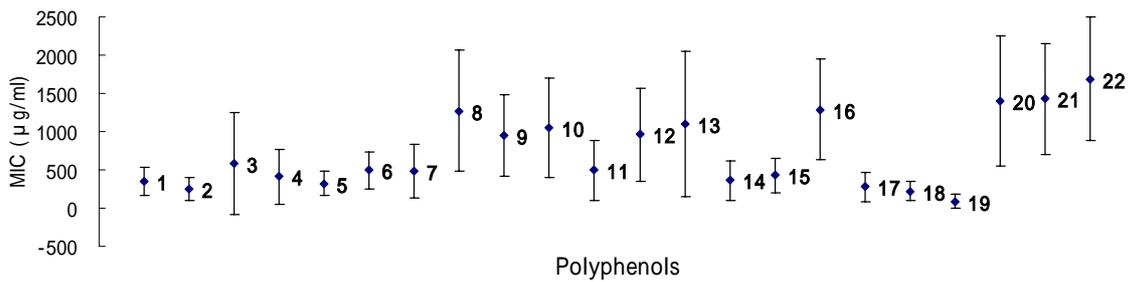


図3 各種ポリフェノール化合物の一般細菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)の比較
一般細菌とはここでは供試した27種の公衆衛生分野と農業分野の細菌を指す．縦線は平均
MIC±標準偏差を示す．ポリフェノール化合物番号は図1と同じ．

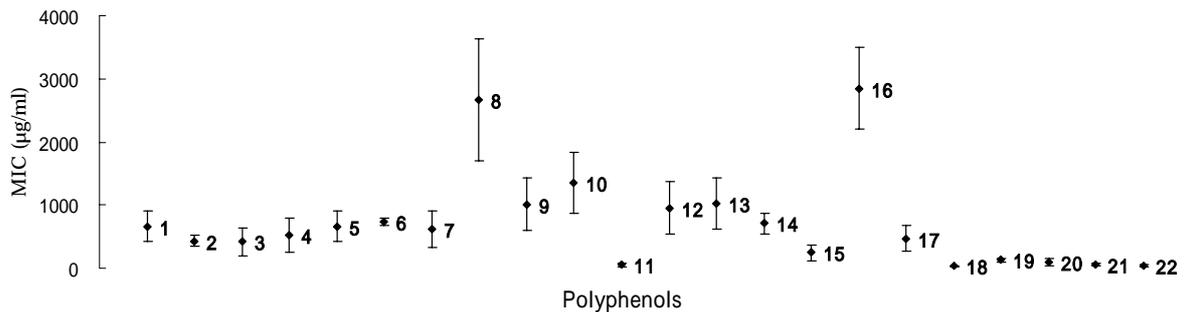


図4 各種ポリフェノール化合物のレジオネラ属菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)の比較
縦線は平均MIC±標準偏差を示す．ポリフェノール番号は図1, 図3と同じ．

【考察】

グラム陽性である黄色ブドウ球菌には活性を認めたが、グラム陰性であるビブリオ属菌と、大腸菌およびサルモネラとの間の活性が異なり、これまで言われてきたグラム染色性と抗菌活性の相関は認められない。抗菌強度はフェノール性水酸基の置換構造と関連を持ち、特にピロガロール基の抗菌活性に対する重要性が明らかとなった。供試数を増やした成績の比較により、ポリフェノールの抗菌活性において、抗菌強度はグラム染色性と相関するのではなく細菌種により様々であるが、細菌科や酸素要求性により類似した活性を持つ細菌群に分類できると結論づけた。さらにその抗菌活性に対してピロガロール基が強い関与を持つ一方でカテコール基やレゾルシノール基の関与は弱いということが明らかとなり、化合物におけるピロガロール基の存在など、含まれるポリフェノールの構造によって強活性を示すと期待される植物エキスの選抜があらかじめ予測可能であると考えられた。2, 5, 11 および 15 は、測定培地の中でそれぞれの MIC に依存して酸化分解を受けると考えられた。特に 15 には、増殖抑制の他に菌への吸着、増殖の促進および菌による分解という、抗菌活性に関連した様々な機構が存在すると考えられた。一般細菌用測定培地中で酸化分解を受けた 15 は、レジオネラへの強い活性にかかわらずレジオネラ用測定培地中では 15 量が変化しないこと、抗レジオネラ活性においてもピロガロール基の抗菌活性への関与を認めること、および一般細菌に対しては中程度か活性の弱かった化合物にレジオネラに対する強い活性を認めることの点により、ポリフェノールの抗レジオネラ作用では、一般細菌への作用とは異なる機構の存在が示唆された。