

ポリフェノールによる齲蝕関連細菌の
プラーク形成と脱灰に対する効果

高橋 えみ

大学院歯学独立研究科 健康増進口腔科学
(主指導教員:八上 公利 准教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士(歯学)学位申請論文

Effect with the polyphenol on dental caries-related
bacterial plaque formation and decalcification

Emi Takahashi

Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral Medicine
(Chief Academic Advisor :Associate Professor Kimitosi Yagami)

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. in Dentistry

要旨

【背景と目的】 齲蝕や歯周病の罹患率は国民全体の75%以上と今だに高い。また、誤嚥性肺炎の主たる起炎菌は口腔内常在菌であり、抗菌剤による除菌法もあるが高価なうえリスクも高く、近年では耐性を示す*Streptococci*をはじめ*Beta-lactamase*産生株が高頻度に認められている。したがって、これらの疾病の予防としては機械的なプラークコントロールを主とし、補助として洗口剤や歯磨剤などによる殺菌、消毒が一般的である。

植物に含まれるポリフェノールは、*St. mutans*や*St. sobrinus*の増殖抑制やグルコシルトランスフェラーゼ(GTF)阻害効果などの作用があることが報告されている。これまでにわれわれは、低分子化したポリフェノールが*St. mutans*の代謝活性およびプラーク形成を抑制することを報告してきた。そこで今回は、低分子ポリフェノールの基本体であるカテキンによる齲蝕関連菌の抑制効果を、細菌活性、酸産生によるハイドロキシアパタイトの脱灰度、pH値およびグルカン産生量を測定して検討した。

【方法】 ポリフェノール試薬としてのカテキン水和物を濃度0~150 mMで用いた。細菌として*St. mutans*および*St. sobrinus*を用い、グルコース1%を含む液体培地を37℃、20%CO₂存在下で24から120時間培養増殖した。酸産生能は培養液中のpH測定により間接的に計測した。ハイドロキシアパタイトの脱灰量は培養液中に溶出されたカルシウム量をMXB法により測定した。細菌活性は、Resazurinの代謝還元能を用いて測定した。グルカン産生量については、培養器に付着した不溶性グルカンを染色して比色度により測定した。

【結果】 培養液中のpH値は*St. mutans*がpH4.18±0.03、*St. sobrinus*がpH4.12±0.03であった。カテキン添加により*St. mutans*はpH7.39±0.03、および*St. sobrinus*はpH7.47±0.03とともに脱灰を起こすpH5.5以下の低値から中性域への回復が確認された。また、*St. mutans*および*St. sobrinus*ともにカテキン添加により、ハイドロキシアパタイトの脱灰量が実験開始から72時間で*St. mutans*で0.785倍(1.67±0.06 mg/dl)および*St. sobrinus*では1.54±0.17 mg/dl($p < 0.05$)と著しく抑制された。さらに、培養液中とバイオフ

ィルム内の細菌活性における生菌数(量)の比較実験では, カテキン添加により実験開始から72時間で*St. mutans*では0.257倍, *St. sobrinus*では0.175倍 ($p < 0.05$) にバイオフィルム内の生菌数(量)が著しく抑制された.

【結論】 低分子ポリフェノールの基本体であるカテキンは, 0.03 mMから*St. mutans*および*St. sobrinus*の細胞代謝活性, 酸産生およびグルカン合成を抑制した. また, カテキンを添加した*St. mutans*および*St. sobrinus*の培地において, ハイドロキシアパタイトの脱灰を抑制した. 以上より, カテキンは齲蝕を抑制できる可能性が示唆された.

Key words: カテキン, 齲蝕, 脱灰能, *St. mutans*, *St. sobrinus*

緒言

我が国における齲蝕の罹患率は、国民全体の 75% (平成 23 年度歯科疾患実態調査) 以上と非常に高い。齲蝕予防としては機械的なプラークコントロールを主とし、補助として洗口剤や歯磨剤などによる殺菌、消毒が一般的である⁽¹⁾。齲蝕予防として歯面の機械的清掃は、歯垢 (デンタル・プラーク、バイオ・フィルム) を取り除くことで齲蝕の発生を抑制する原因除去の基本であるが、年齢や個人差により口腔内状況が変化し、確実な歯口清掃が困難な場合が多い。また、薬物による宿主抵抗性増強による予防としては、フッ化物歯面塗布が行われているが、普及法の点で難題がある^(1, 2)。

近年、ポリフェノールと齲蝕抑制の関連性の研究が多数報告されている。ポリフェノールは主として植物に含まれるフラボノイドでその基本構造はカテキンである⁽³⁾。そして、その特有用な機能に抗菌活性が挙げられるが、殺菌剤や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洗口剤としての展開が期待される⁽⁴⁾。これまで口腔細菌への効果として、エピガロカテキン含嗽によりプラーク中 pH の低下や歯垢付着が抑制されることが報告されている⁽⁵⁾。また、

Streptococcus mutans (*St. mutans*) や *Streptococcus sobrinus* (*St. sobrinus*) への抗菌活性として、増殖抑制や GTF 阻害効果などによる不溶性グルカンの合成低下やエナメル強度低下抑制の作用があることが報告されている^(6, 7, 8)。一方、従来のポリフェノールは、その分子量が大きいため吸収性や浸透性が低く十分な効果が得られないともいわれている事^(9, 10)や齲蝕誘発因子としての酸産生やエナメル質の脱灰等、ポリフェノールによる齲蝕原因菌の抑制効果や齲蝕作用機序の詳細についてはいまだ解明されていない。

そこで、本研究では、ポリフェノールの基本体であるカテキンによる *St. mutans* および *St. sobrinus* に対する齲蝕抑制効果について生化学的に検証した。

実験材料および方法

1. 培地の作製

培地は Yoshida ら^(11, 12)のバイオフィルム形成のために, Chemically defined medium (CDM)を使用した. すなわち, 1 L の蒸留水に l-glutamic acid 2.0 g, l-cysteine 0.2 g, l-leucinen 0.9 g, NH₄Cl 1.0 g, K₂HPO₄ 2.5 g, KH₂PO₄ 2.5 g, NaHCO₃ 4.0 g, MgSO₄·7H₂O 1.2 g, MnCl₂·4H₂O 0.02 g, FeSO₄·7H₂O 0.02 g, Sodium pyruvate 0.6 g, riboflavin 1.0 mg, Thiamine HCl 0.5 mg, D-biotin 0.1 mg, Nicotinic acid 1.0 mg, *P*-aminobenzoic acid 0.1 mg, Ca-pantothenate 0.5 mg, Pyridoxal HCl 1.0 mg, Folic acid 0.1 mg を溶解した後, ろ過滅菌を行い液体培地として使用した.

2. 細菌および試薬

Streptococcus mutans (*St. mutans*; Ingbritt hu) もしくは *Streptococcus sobrinus* (*St. sobrinus*; 6715hu) を 1% スクロースを含む液体培地にて 37°C, 20%CO₂ で培養増殖した. カテキンはカテキン水和物 (Sigma-Aldrich Co. LLC. St, Louis, MO, USA) をエタノールにて 50 mg/ml に溶解後, 液体培地で希釈して使用した. 培養条件は, *St. sobrinus* もしくは *St. mutans* にカテキン 0~150 mM を添加した培養液中で 24, 72 および 120 時間嫌氣的条件下 37°C, 20%CO₂, O₂(-), (Anaerobic: Bactoron EZ[®], Shel Lab Co., Cornelius, OR, USA) で培養をした.

3. 不溶性グルカン量の測定

培養終了後, シャーレ底部に付着したプラークを 10%ホルマリンで 15 分固定した. 1%塩基性フクシン (pH=5.6) で染色後, 蒸留水にて洗浄を行い 0.2% NaOH / 1% SDS 水溶液でプラークを溶解して遠心分離し, 上清を回収して吸光度 540 nm (iMark マイクロプレートリーダー, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) で測定した (n=6).

4. 酸産生能の測定

実験培養終了後、各培養液の pH 測定 (pHTestr10BNC/ pHSpears ニッコー・ハンセン株式会社) を行い酸産生能の指標とした (n=6)。

5. 細菌活性

細菌活性の指標は Resazurin (7-Hydroxy-3H-phenoxazin-3-one 10-oxide) 還元能を用いて測定した。カテキン 0~150 mM を添加した培養液で *St. mutans* もしくは *St. sobrinus* を 96well プレートで 24, 72 および 120 時間嫌気条件下で培養後、Alamar Blue[®] (AbD Serotec, Bio-Rad Lab. Inc. Oxford, UK) を添加して 1 時間反応させ各培養液を回収して遠心分離 (12,000 rpm) した後、上清の吸光度 (570/600 nm) を測定した。バイオフィーム内の細菌活性は、シャーレ底部に付着したバイオフィームを 0.2% NaOH/1% SDS で溶解して遠心分離を行い、上清を回収して測定に用いた (n=6)。

6. 溶出カルシウム量の測定

脱灰能の対象としてハイドロキシアパタイト (Macro-prep[®] ceramic Hydroxyapatite TYPE1 40 μ m, Bio-Rad Lab. Inc.) を用いた。Ca カテキン 0~150 mM を添加して、*St. mutans* もしくは *St. sobrinus* を 24, 72 および 120 時間嫌気培養した。培養終了後、培養液を回収し遠心分離を行い、溶出カルシウム量を MXB 法にて (カルシウム E-HA テストワコー, 和光純薬, 大阪) 吸光度 610 nm で測定した (n=6)。

7. 統計処理

データ解析は、Welch の検定を用いて統計学的処理を行い P 値は $P < 0.05$ を*, $P < 0.01$ を**として示した。 $P < 0.05$ を有意とした。

結果

1. カテキンによる細菌のグルカン産生量の抑制

グルカン産生量は、*St. mutans*および*St. sobrinus*ともにカテキン添加(150mM)により抑制された。*St. mutans*では72時間後で1/10倍(図1A)に、*St. sobrinus*では1/5倍にそれぞれ有意に抑制された(図1B)。そして、その抑制効果は120時間持続した。

2. カテキンによる細菌の酸産生能の変化

培地のみおよび培地にカテキン添加のみは、pH7.2からpH7.4を維持した。*St. mutans*はpH4.18±0.03、*St. Sobrinus*はpH4.12±0.03であった。カテキン添加により24時間で*St. mutans*はpH7.39±0.03および*St. sobrinus*はpH7.47±0.03と、両細菌の培地はともに脱灰を起こすpH5.5以下の低値から中性域への回復が確認された(図2)。そして、その効果は*St. sobrinus*では120時間持続した。しかし、*St. mutans*では経日的にpH値の低下が示された。また、液体培地に対するカテキンによる緩衝能はなかった。尚、カテキンのみによる培養液のpHの継時的変化はみられなかった。

3. カテキンによる*St. mutans*および*St. sobrinus*のハイドロキシアパタイトの脱灰抑制

St. mutans および *St. sobrinus* をハイドロキシアパタイト上で培養した際の培養液中へのカルシウム溶出量は、いずれも時間経過と共に増加(*St. mutans* 2.2 mg/dl, *St. sobrinus* 2.1 mg/dl)した(図3A, B)。しかし、カテキン添加(150 mM)72時間後の*St. mutans* および *St. sobrinus* の培養液中のカルシウム量は著しく減少した(*St. mutans* 0.785倍(1.67±0.06 mg/dl), *St. sobrinus* 1.54±0.17 mg/dl, * $p < 0.05$)。また、120時間後にはいずれの培地のCa量に有意差はなかった。

4. カテキンによる細菌活性の抑制

カテキン添加 (0.03 mM) 72 時間後において細菌活性は, *St. mutans* 0.677 倍, *St. sobrinus* 0.65 倍 ($p < 0.05$ 図 4A, B)と有意に抑制された. しかし, 72-120 時間では細菌活性が再び上昇した.

5. 培養液中とバイオフィルム内の細菌活性に対するカテキンの効果

培養液中の細菌の代謝還元能は *St. mutans* および *St. sobrinus* のいずれにおいてもバイオフィルム内に比べて高値を示した. カテキン添加 (150 mM) 72 時間後におけるバイオフィルム内の還元能は, *St. mutans* および *St. sobrinus* 共に有意に抑制 (図 5A, *St. mutans* 0.257 倍, 図 5B *St. sobrinus* 0.175 倍, $p < 0.05$) された. しかし, 120 時間後には活性の上昇が示された.

考察

1. カテキンによるグルカンおよび酸産生能の変化

ポリフェノールの齲蝕抑制効果の研究は、齲蝕活動試験として口腔内の唾液やプラークを採取して pH を計測した報告⁽⁴⁾がある。そして、ポリフェノールの含嗽によるプラーク中 pH 低下の抑制や、菌垢付着が抑制される⁽⁵⁾ことが示されている。また、ポリフェノールの添加により、人工バイオフィーム下の pH 低下も回復することが指摘されている。⁽⁶⁾本研究では、カテキンの添加により *St. mutans* および *St. sobrinus* ともにグルカン産生と酸産生、そして Ca 溶出を有意に抑制することが明らかになり、齲蝕活動を阻害する可能性が示唆された。

2. カテキンによるハイドロキシアパタイトの脱灰抑制と代謝還元能の変化

ポリフェノールはプラーク中の *St. mutans* の増減に影響を与え、プラーク付着を抑制し、重度齲蝕を抑制する⁽⁷⁾ことが報告されている。人工エナメル質表面では、蓄積される不溶性グルカンの量がポリフェノールの添加により有意に減少した⁽⁶⁾ことが報告されている。さらに、その人工エナメル質をビッカーズ微小硬度測定したところ、脱灰が有意に抑制された⁽⁶⁾ことも報告されている。本研究ではカテキンの添加により、ハイドロキシアパタイトの脱灰度と細菌活性の変化について調べた。その結果、カテキンは *St. mutans* および *St. sobrinus* による pH の低下を抑制し、ハイドロキシアパタイトの脱灰を阻害し、齲蝕を抑制させることが示唆された。そして、その誘因としてカテキンによる GTF 阻害作用によるグルカン形成の抑制が考えられた。

3. カテキンによる培養液中とバイオフィーム内の細菌活性の抑制比較

カテキンは齲蝕抑制作用がある一方で、チャ葉成分のカテキンはバイオフィーム形成を誘導する報告もあり、緑膿菌やセラチア菌では、エピガロカテキンガラートによるバイオフィーム形成が報告されている⁽¹¹⁾。また、エピガロカテキンガラートは、最小生育抑制濃度以下においてバイオフィーム形成が高まる⁽⁴⁾という

報告やカテキンは*St. mutans*を最小殺菌濃度でバイオフィルムを90%、有意に阻害する⁽⁵⁾という報告がある。本研究では、液体培地に浮遊している*St. mutans*および*St. sobrinus*の細菌活性とバイオフィルム内の細菌活性を比較検討した。その結果、カテキン添加によりバイオフィルム中の細菌活性は培養液中の細菌活性より低く抑制されていることが明らかになった。

4. *St. mutans*と*St. sobrinus*に対するカテキンの種類および適性濃度による効果の違い

これまでに、GTFに対するポリフェノールのグルカン形成抑制量は*St. mutans*と*St. sobrinus*において濃度に違いがあることが報告されている⁽¹³⁾。そして、リンゴポリフェノール中のリンゴ縮合型タンニン(ACT)はGTFを50%抑制にするために*St. mutans*では5 µg/ml, *St. sobrinus*は1.5 µg/ml必要としている。そこで今回、カテキン終濃度0~150 mMで比較検証を行ったところ、*St. mutans*においてカテキン終濃度0.03 mMでの抑制効果が明らかになった。一方、*St. sobrinus*においては0.03 mMでの抑制効果が明らかになった。*St. mutans*と*St. sobrinus*の適性試薬濃度のそれぞれの特性としては、*St. mutans*は濃度依存的に効果が期待できたが*St. sobrinus*は適性試薬濃度以外において効果が期待できない結論に至った。さらにカテキンの種類により適性試薬濃度の違いが明らかになった。以上の結果より、菌種による適性濃度の違いとカテキンの種類による効果の違いが示唆される結果となった。

5. 一般食品のポリフェノール濃度と本研究におけるカテキン濃度の比較

缶入り緑茶飲料には総ポリフェノール量として100 ml当り55~85 mg含まれており、1食当りの摂取量として1缶340 mlとして180~290 mgになる。また赤ワインには、総ポリフェノール量として100 ml当り250~450 mgが含まれており、1食当りの摂取量を180 ml(コップ1杯分)とするとポリフェノールを400~800 mg摂取することになる。⁽¹⁴⁾

本研究でのカテキン濃度が0.1~5 mg/ml(0.03~150 mM)であることから一般食品より微量にて効果が得られたことが確認された。

本研究では、これまでに報告例のない人工ハイドロキシアパタイトへ形成されたプラークと培養液中に放出された酸による pH 変化および Ca 脱灰量を計測した。そして、カテキンがバイオフィルム内の *St. mutans* および *St. sobrinus* の細菌活性を低下させる効果があり、脱灰能を抑制することが明らかとなった。

結論

本研究により、カテキンによるグルカン産生量の抑制と酸産生能による pH 値の低下の回復が明らかになった。また、カテキンによるハイドロキシアパタイトの溶解抑制と代謝還元能の抑制が明らかになった。また、カテキン作用は菌種、使用濃度、時間と共に抑制効果が異なり、適正な濃度と利用法の検討を行うことで、齲蝕予防のみならず抗菌療法としてポリフェノールの臨床での応用の可能性が示唆された。

謝辞

本研究に際し、終始御懇意なる指導を賜りました松本歯科大学・細菌学講座・柴田幸永准教授，ならびに医局員の皆様に謹んで謝意を申し上げます。さらに本研究に多大なる御指導，御助言を賜りました松本歯科大学・口腔衛生学講座の定岡直助教ならびに医局員の皆様に御礼申し上げます。

最後に、本研究を絶えず支え励ましてくれました松本歯科大学歯科保存学講座・高橋弘太郎助手に心から感謝致します。

参考文献

- 1)米満正美, 小林清吾, 宮崎秀夫, 川口陽子, 鶴本明久 (2013) 新予防歯科学, 4版, 29 - 39, 医歯薬出版, 東京
- 2)清田義和, 佐久間汐子, 岸 洋志, 須藤明子, 小林清吾, 宮崎秀夫(2001) フッ化物ゲル歯面塗布法(歯ブラシ・ゲル法)の乳歯齲蝕予防効果, 口腔衛生会誌47: 298-306
- 3)Xiao-Hong Zhang, Hiroki Yokoo¹, Hiroshi Nishioka, Hajime Fujii, Naoyuki Matsuda, Toshio Hayashi and Yuichi Hattori¹ (2010) Beneficial effect of the oligomerized polyphenol oligonol on high glucose-induced changes in eNOS phosphorylation and dephosphorylation in endothelial cells. British Journal of Pharmacology 159 : 928–938
- 4)吉田 隆 (2008) バイオフィルムの基礎と制御 特性・解析事例から形成防止・有効利用まで 初版, 51 - 53, 株式会社エヌ・ティー・エス, 東京
- 5) Xu X, Zhou XD, Wu CD (2011) The tea catechin epigallocatechin gallate suppresses cariogenic virulence factors of Streptococcus mutans. Antimicrob Agents Chemother 55:1229–1236
- 6) Imai S, Kamasaka H, Inaba D, Nisizawa T, Hanada N (2002) Inhibitory effect of phosphoryl oligosaccharides against enamel demineralization by mutans streptococci. J Dent Res 81: 25-28
- 7) Matsudaira F, Cordeiro JGO, Yamada H, Yanagida A. (2008) Protective Effect of Apple Polyphenols on Rampant Caries in Hamsters. 口腔衛生会誌 58:113-124
- 8)Nakahara K, Kawabata S, Ono H, Ogura K, Tanaka T, Ooshima T, Hamada S. (1993) Inhibitory effect of oolong tea polyphenols on glucosyltransferases of mutans streptococci. applied and environmental microbiology. Appl Environ Microbiol 59: 968–973.

- 9)八上公利, 定岡 直, 笠原 香, 小口 久雄, 川原 一郎, 牧 茂
(2013) Oligonol は齶蝕原因菌のプラーク形成を阻害する
信州公衆衛生雑誌 8: 38-39
- 10)中村浩志, 中村美どり, 溝畑亜紀子, 八上公利, 平井 要, 定岡 直,
牧 茂, 大須賀直人 (2012) Oligonolの *Streptococcus mutans* およ
び *Porphyromonas gingivalis* に対する薬理作用の検討 小児歯科学
雑誌 50: 288
- 11) Yoshida A, Howard K, Kuramitsu K. (2002)
Streptococcus mutans biofilm formation: utilization of a *gtfB*
promoter-green fluorescent protein (*PgtfB::gfp*) construct to
monitor development. Microbiology 148: 3385-3394.
- 12)Yoshida A, Niki M, Yamamoto Y, Yasunaga A, Ansai T (2015)
Proteome analysis identifies the Dpr protein of *Streptococcus*
mutans as an important factor in the presence of early
streptococcal colonizers of tooth surfaces. PLoS One 10: e012117
- 13)Yanagida A, Kanda T, Tanabe M, Matsudaira F. Oliveira
Cordeiro JG (2000) Inhibitory effects of apple polyphenols and
related compounds on cariogenic factors of *mutans streptococci*.
J Agric Food Chem 48: 5666-5671.
- 14) ポリフェノール含有食品の商品テスト結果 国民生活センター
http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20000508_1.pdf

図表の説明

図 1. カテキンによる *St. mutans* および *St. sobrinus* のグルカン産生量の抑制効果

A: カテキン添加による *St. mutans* のグルカン産生量の変化を示す. *St. mutans* はカテキン添加 (破線) により 72 時間後に著しく抑制をした.

B: カテキン添加による *St. sobrinus* のグルカン産生量の変化を示す. *St. sobrinus* はカテキン添加により 72~120 時間にかけて継続的に抑制をした.

St. mutans もしくは *St. sobrinus* を 96 穴プレートに播種し、一部にカテキン (150 mM) を添加した. 24, 72 および 120 時間嫌気条件下で培養をした. 培養後, PBS で培地を洗浄して培養器に付着したプラークを 10%ホルマリンで 15 分固定した. プラークをフクシン染色し吸光度 540 nm でグルカン産生量を測定した (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $n=6$).

図 2. カテキンによる *St. mutans* および *St. sobrinus* の酸産生能の変化

St. mutans もしくは *St. sobrinus* を 96 穴プレートに播種し、一部にカテキン (150 mM) を添加した. 24, 72 および 120 時間嫌気条件下で培養後, 培養上清を回収し pH 測定をした (** $p < 0.01$, $n=6$). 培地のみ (—), 培地にカテキン添加のみ (●), *St. mutans* のみ (×), *St. sobrinus* のみ (■), *St. mutans* にカテキン添加 (△), *St. sobrinus* にカテキン添加 (◆) をそれぞれ示す.

図 3. カテキンによる *St. mutans* および *St. sobrinus* のハイドロキシアパタイト脱灰の抑制効果

St. mutans もしくは *St. sobrinus* を 96 穴プレートにハイドロキシアパタイト (20 $\mu\text{g/ml}$) を懸濁した液体培地に播種し、一部にカテキン (150 mM) を添加した. 24, 72 および 120 時間嫌気条件下で培養をした後, 培

養液の上清を回収し Ca 量を MXB 法にて吸光度 610 nm で測定した (* $p < 0.05$, n=6) . Ca 量は OD:0.1=3.1 mg/dl として換算した値を相対値 (倍率) で表した. A: *St. mutans* のみ (—) および *St. mutans* にカテキン添加 (----) , B: *St. sobrinus* のみ (—) , *St. sobrinus* にカテキン添加 (----) をそれぞれ示す.

図 4. カテキン添加による *St. mutans* および *St. sobrinus* の細菌活性 (生菌量) の抑制効果

A, B: *St. mutans* もしくは *St. sobrinus* にカテキン 30 μ M を添加した培養液を, 24, 72 および 120 時間嫌気条件下で培養をした. 実験終了 1 時間前の培地中に Alamar Blue[®] を添加して培養後, 遠心分離にて上清を回収し, 吸光度 (570/600 nm) で計測した (* $p < 0.05$, n=6) .

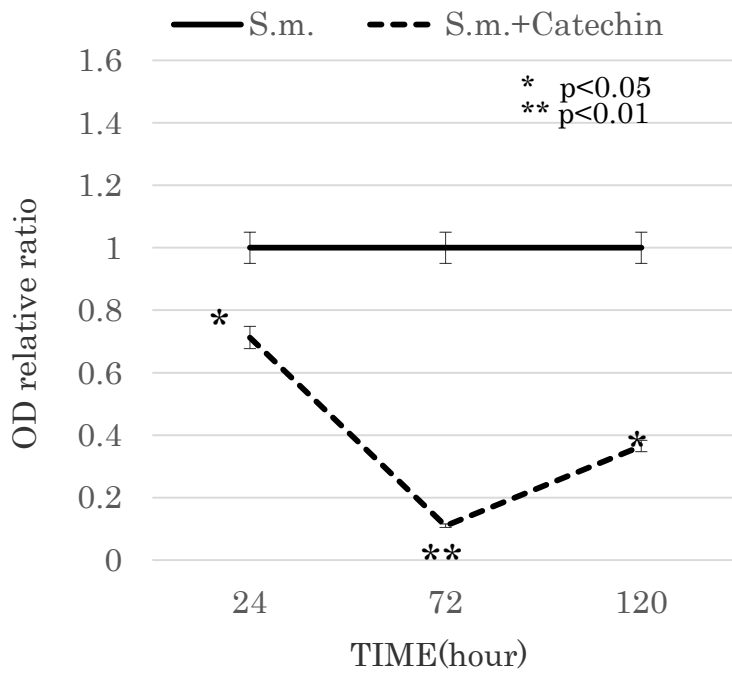
A: *St. mutans* のみ (—) および *St. mutans* にカテキン添加 (----) , B: *St. sobrinus* のみ (—) , *St. sobrinus* にカテキン添加 (----) をそれぞれ示す.

図 5. カテキン添加による *St. mutans* および *St. sobrinus* の培養液中とバイオフィーム内の細菌活性 (生菌量) の比較

A, B: *St. mutans* もしくは *St. sobrinus* にカテキン 150 mM (+/-) を添加した培養液を 96 穴プレートで 24, 72 および 120 時間嫌気条件下で培養をした. 実験終了 1 時間前の培地中に Alamar Blue[®] を添加して培養後, 遠心分離にて上清を回収し, 吸光度体 570/600 nm で計測した.

St. mutans および *St. sobrinus* とともにカテキン添加により 72 時間後のバイオフィーム内における細菌活性 (生菌量) は著しく低下した. A: *St. mutans* にカテキン添加した際の培養液中 (—) およびバイオフィーム中 (----) のレサズリン還元能を示す. B: *St. sobrinus* *St.* にカテキン添加した際の培養液中 (—) およびバイオフィーム中 (----) のレサズリン還元能を示す.

A



B

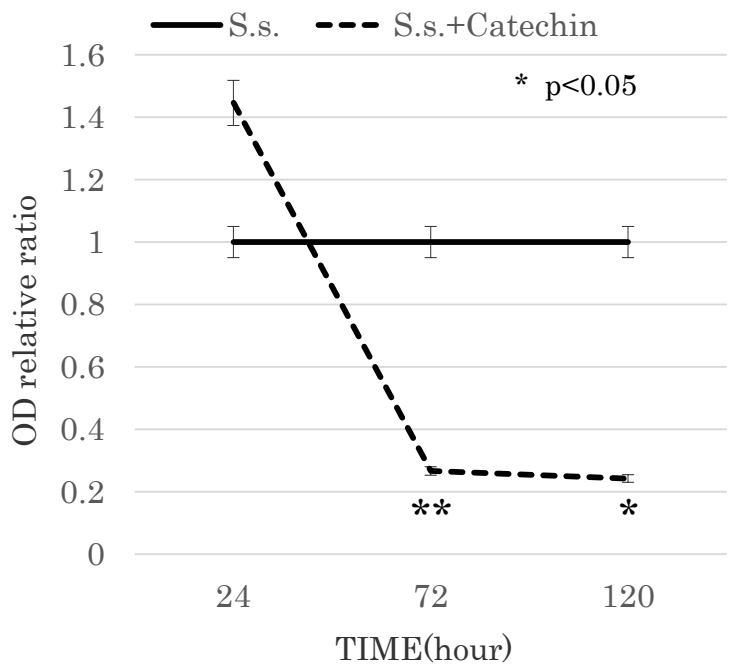


図 1 高橋

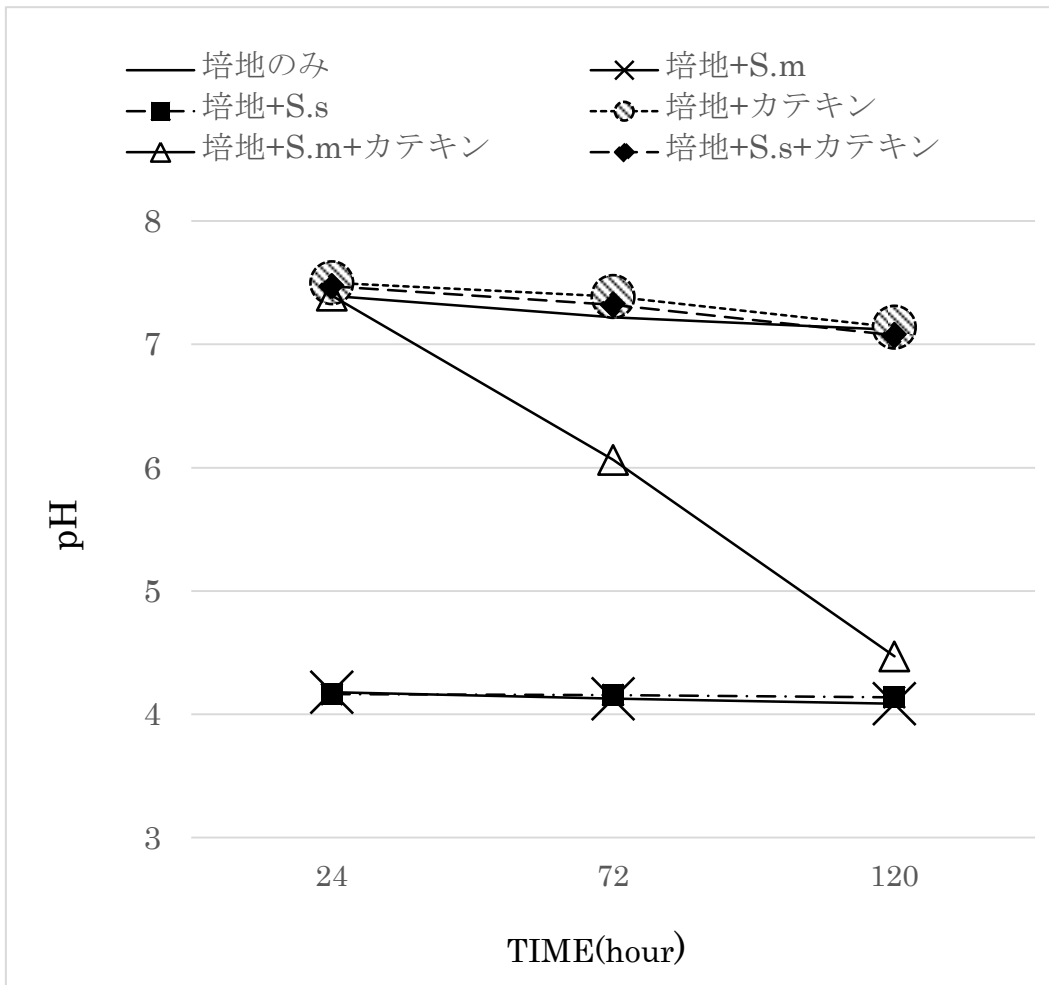
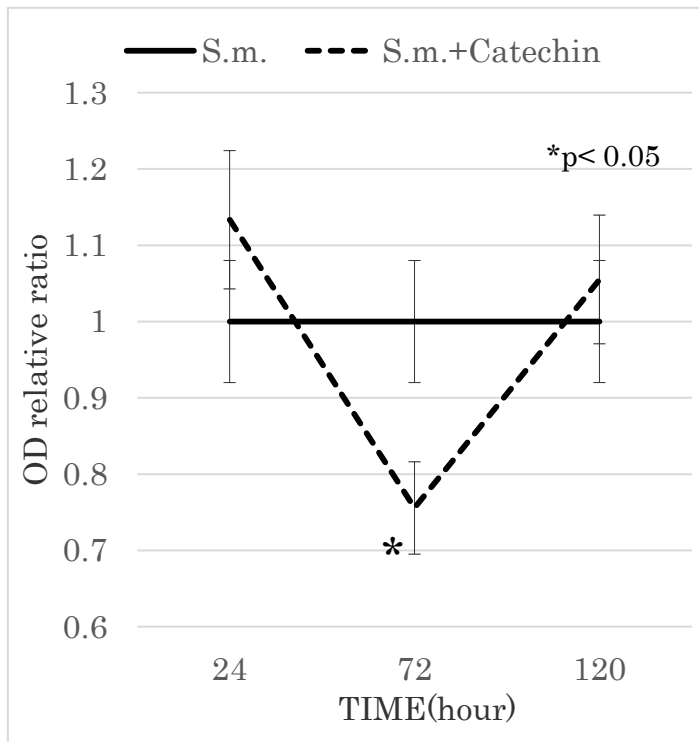


図 2 高橋

A



B

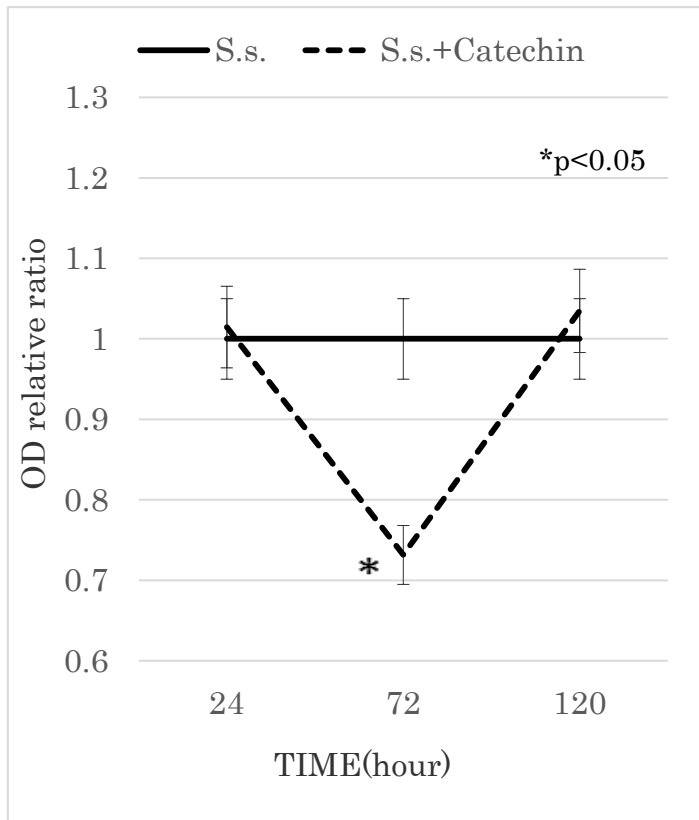
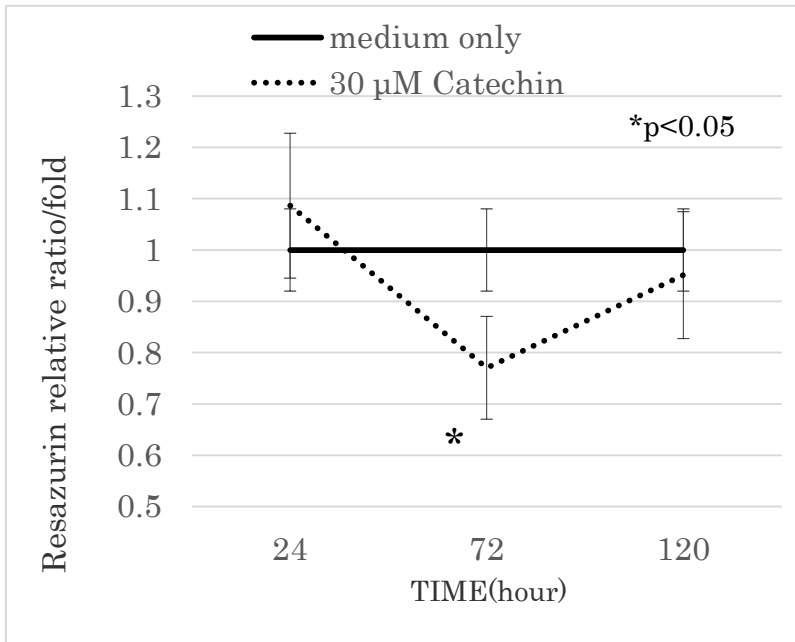


図3高橋

A *S. m.*



B *S. s.*

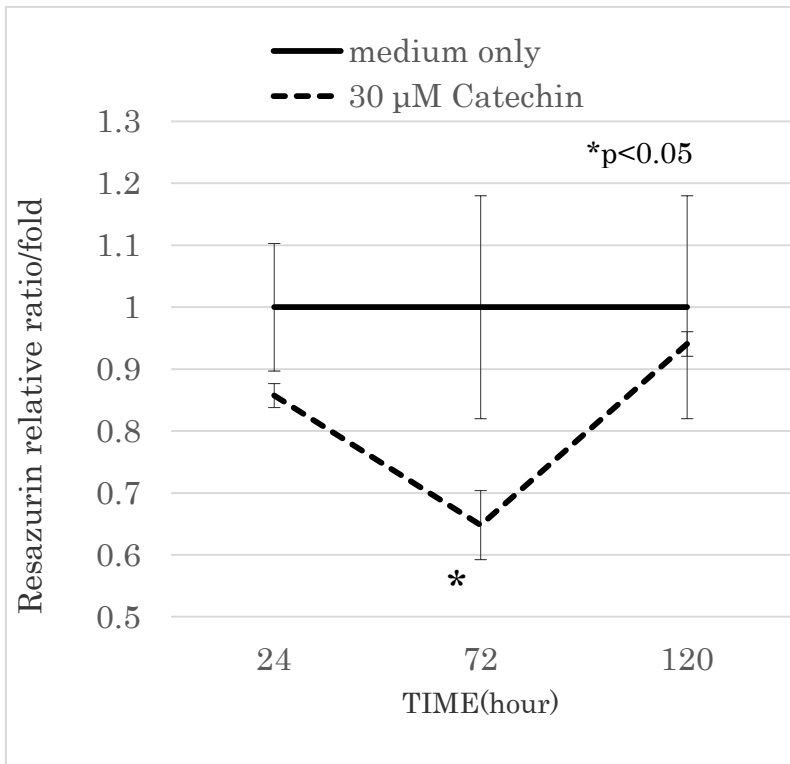
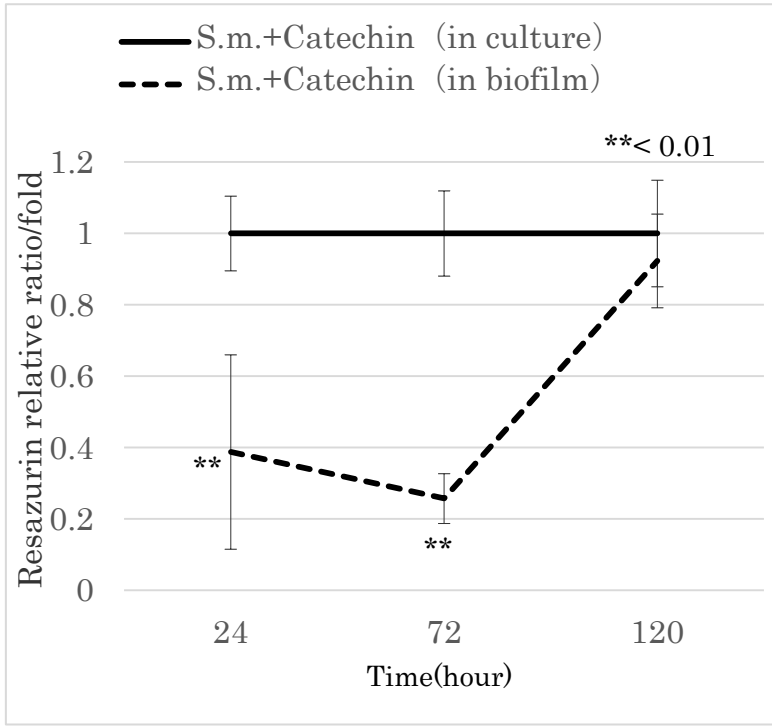


図 4 高橋

A



B

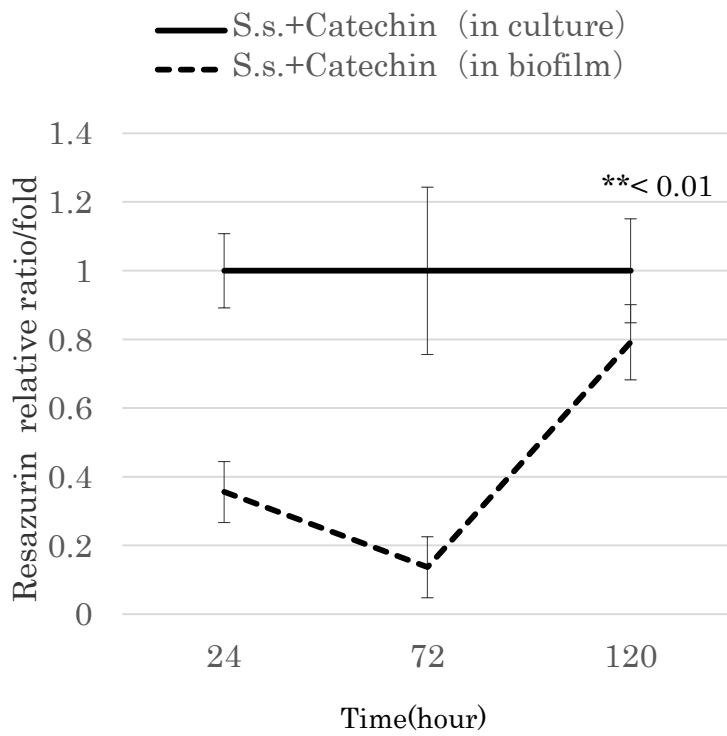


図 5 高橋