

抹茶に肺炎球菌の殺菌作用と毒素阻害作用

－ 薬剤耐性菌にも効果 －

新潟大学大学院医歯学総合研究科微生物感染症学分野の笹川花梨^{ひさのり}歯科医師(大学院生)と土門久哲^{ひさのり}准教授・寺尾豊教授らは、抹茶とその成分エピガロカテキンガレート(EGCG)で、肺炎球菌(耐性菌を含む)を殺菌できること、その主要毒素の細胞毒性を阻害できることを明らかにしました。また、歯学部生の坂上莉奈さんも、歯学研究演習授業の一環として研究に参画し重要な解析を担当しました。本研究成果は、国際科学誌 Antibiotics に掲載され、2021年12月18日(日本時間)に電子版が公開されました。

【本研究成果のポイント】

- 新型コロナウイルス感染症を除いても、肺炎による毎年の国内死者は10万人以上。
- その一因として、抗生物質が効きにくい薬剤耐性肺炎球菌の増加があげられる。
- 抹茶は、飲用よりも低濃度で薬剤耐性肺炎球菌を含む肺炎球菌株に対して殺菌作用を示し、さらに、その主要毒素 PLY が毒力発揮に必要な重合体形成を阻害し、細胞毒性も妨げた。
- 上記の抹茶効果は、主に EGCG が担い、EGCG は煎茶よりも抹茶に約5倍多く含まれるカテキン成分であった。

I. 研究の背景

新型コロナウイルス感染症による肺炎で、国内死者は約2年で1万8千人を超えています。しかし、新型コロナウイルスの出現以前から、肺炎は日本人の死因の第3位であり、昨年度は1年で13万人以上が亡くなりました(誤嚥性肺炎を含む)。主な肺炎の原因細菌は肺炎球菌ですが、抗生物質の頻用が一因となり、年々、抗生物質が効きにくい耐性菌が増加しています。抗生物質は細菌感染症の特効薬であるため、耐性菌の増加は肺炎の治療において大きな障害となってきました。新潟大学大学院医歯学総合研究科微生物感染症学分野では、肺炎の感染動向や重症化メカニズム、およびその予防・治療法について研究しています。その中で、新潟市内で分離された肺炎球菌のうち、80%以上はマクロライド系抗生物質が奏効しない耐性菌であることを明らかにしています^{注1}。また、同菌の PLY 毒素が肺炎重症化に重要な役割を果たすことを証明しています^{注2}。そこで本研究では、飲用濃度の抹茶で肺炎球菌(耐性菌を含む)を殺菌できるのか、さらには PLY 毒素が私達の細胞を傷害する効果を阻害し、重症化予防に繋がる可能性を有するのかを解析しました。

II. 研究の概要と成果

「肺炎」は新型コロナウイルスとともに着目を浴びていますが、原因となる微生物は一種類ではありません。「肺」に肺炎球菌等の細菌や各種ウイルスが感染し、次いで肺組織の傷害・破壊や「炎症」が引き起こされる二段階のステップを経て発症します。本研究では、抹茶の肺炎球菌(耐性菌を含む)に対する殺菌作用、ならびにヒトの組織傷害を引き起こす PLY 毒素を抑制する作用の二系統の効果について調べました。

① 抹茶による肺炎球菌の殺菌作用

はじめに、肺炎球菌(耐性菌を含む)に対し、飲用濃度の抹茶を添加し、経時的な増殖抑制効果を調べました。肺炎球菌数を濁度測定法にて測定したところ、抹茶添加により、抗生物質耐性の有無に関わらず、肺炎球菌の有意な増殖抑制が認められました(図 1)。増殖抑制効果は、抹茶の添加濃度に依存して顕著になり、飲用濃度の 20 mg/mL で概ねの細菌増殖を止めることができました(図 1)。

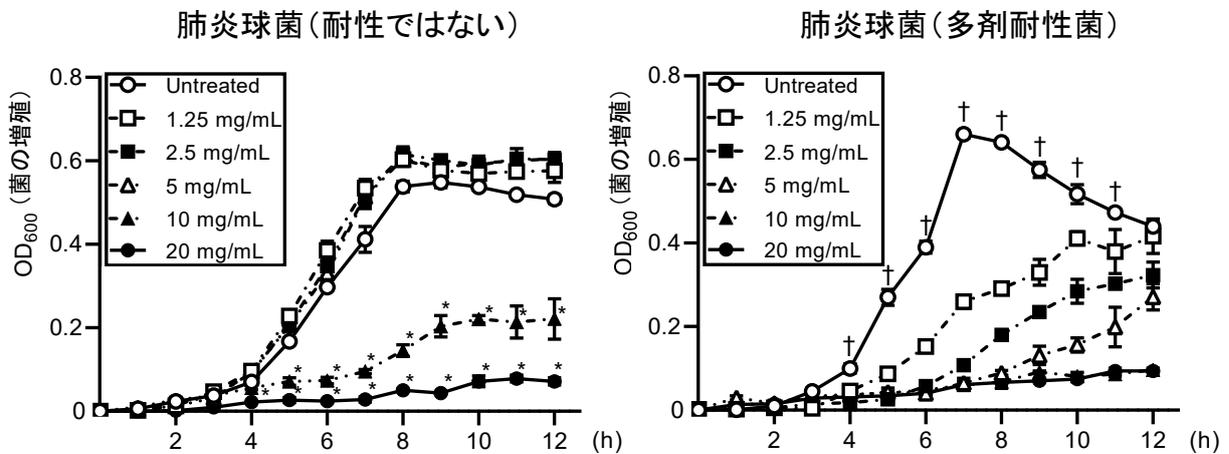


図 1 肺炎球菌に対する抹茶の増殖抑制効果

次いで、肺炎球菌数を培養法にて算定したところ、飲用濃度の 1/1000 量の抹茶添加でも、翌日生育する肺炎球菌数を約 90% (通常の肺炎球菌)も殺菌すること、あるいは多剤耐性の肺炎球菌を約 99%も殺菌することを明らかにしました(図 2)。

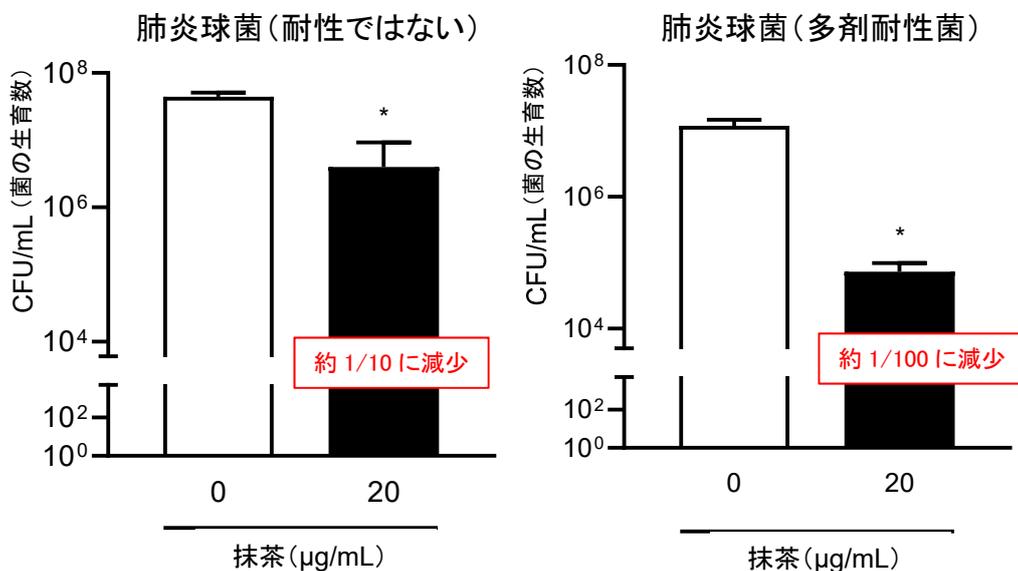


図 2 肺炎球菌に対する抹茶の殺菌効果

② 抹茶による細胞傷害毒性の抑制作用

病原微生物が肺に感染しても、それだけで肺炎は発症しません。感染に伴い、肺組織に傷害や病的な炎症等が生じることで引き起こされます。次の実験では、肺炎球菌の感染時にヒト赤血球を傷害する PLY 毒素に対し、抹茶が抑制効果を発揮するかを検索しました。まず、飲用濃度 (20 mg/mL = 20,000 µg/mL) よりも低い濃度の抹茶で、PLY 毒素の細胞傷害作用を抑制できることが示されました (図 3)。

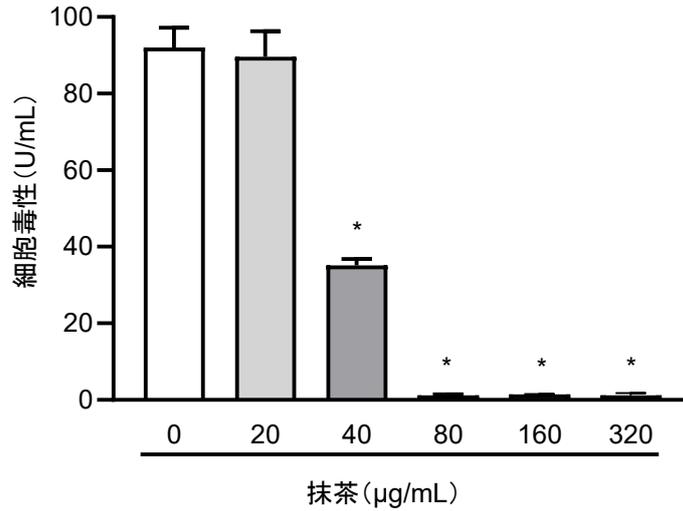


図 3 抹茶による赤血球に対する PLY 毒素の細胞傷害抑制効果

続いて、抹茶が PLY 毒素の細胞傷害作用をどのように阻害するのかを調べることにしました。図 4 に示すように、一定量の PLY 毒素に対し、さまざまな濃度の抹茶を作用させ、PLY 毒素を抗原抗体反応で検出した像 (上) とタンパクを濃度で検出した像 (下) を比較しました。その結果、タンパク量が一定にも関わらず、抹茶を添加すると、PLY 毒素の抗原 (= 毒性発揮部位) が減少していました。すなわち、抹茶は PLY 毒素の毒性発揮部位に結合し、毒性部位をマスクすることで無毒化できることが示唆されました。

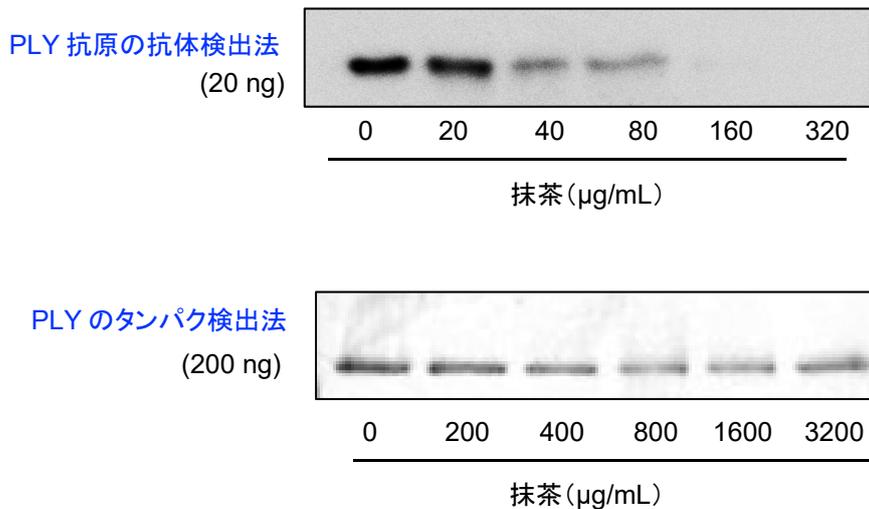


図 4 抹茶による PLY 毒素の毒性抑制のメカニズム分析

肺炎球菌が重症肺炎を引き起こす際には、PLY 毒素が免疫細胞の好中球を破壊することが重要な段階となります。抹茶添加で、PLY 毒素の好中球への細胞傷害作用も抑制できるかを調べました。蛍光顕微鏡とデジタル画像のピクセル解析から、やはり飲用濃度 (20 mg/mL) よりも低い濃度の抹茶にて、PLY 毒素の好中球傷害作用を抑制できることが確認できました (図 5)。

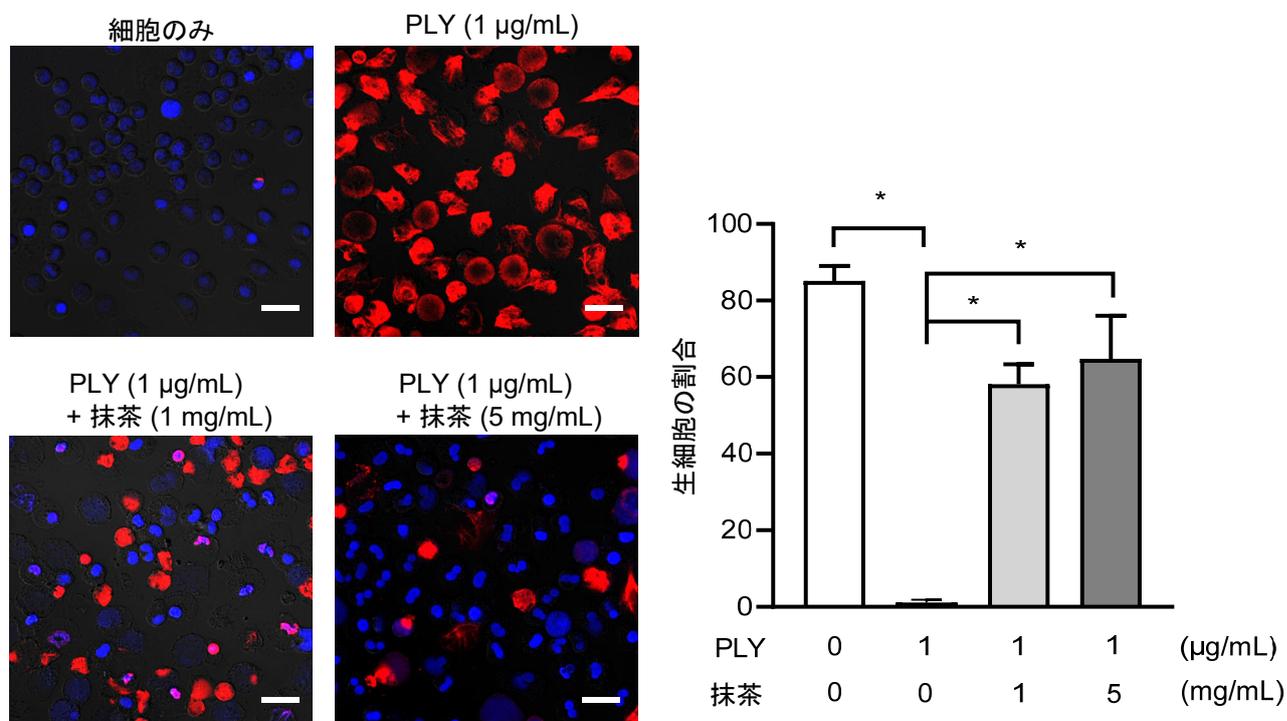


図 5 抹茶による好中球に対する PLY 毒素の細胞傷害抑制効果 (青は生細胞, 赤は死細胞)

③ 抹茶の有効成分の同定

最後に、PLY 毒素の細胞傷害性を抑制する抹茶成分の同定を行いました。抹茶には、各種カテキン類が含まれています。それらを網羅的に検索した結果、図 6~8 に示すように、主として EGCG が担うことが示されました。この EGCG は、煎茶よりも抹茶に約 5 倍以上多く含まれる成分であることから、本研究で示した肺炎球菌に対する殺菌作用や PLY 毒素阻害作用は、抹茶に顕著な効果である可能性が示唆されました。

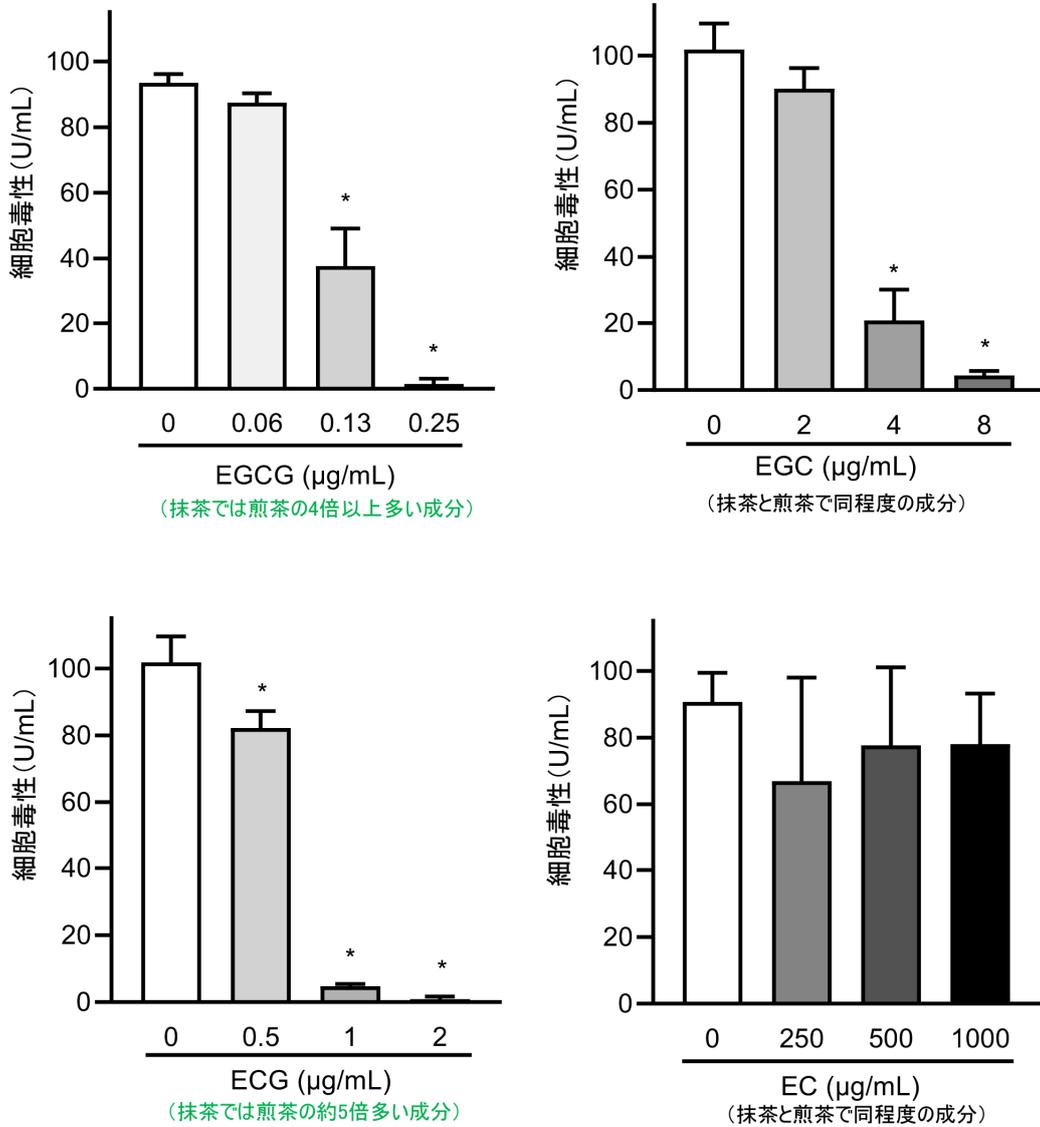


図 6 PLY 毒素の細胞毒性を阻害する抹茶成分の同定

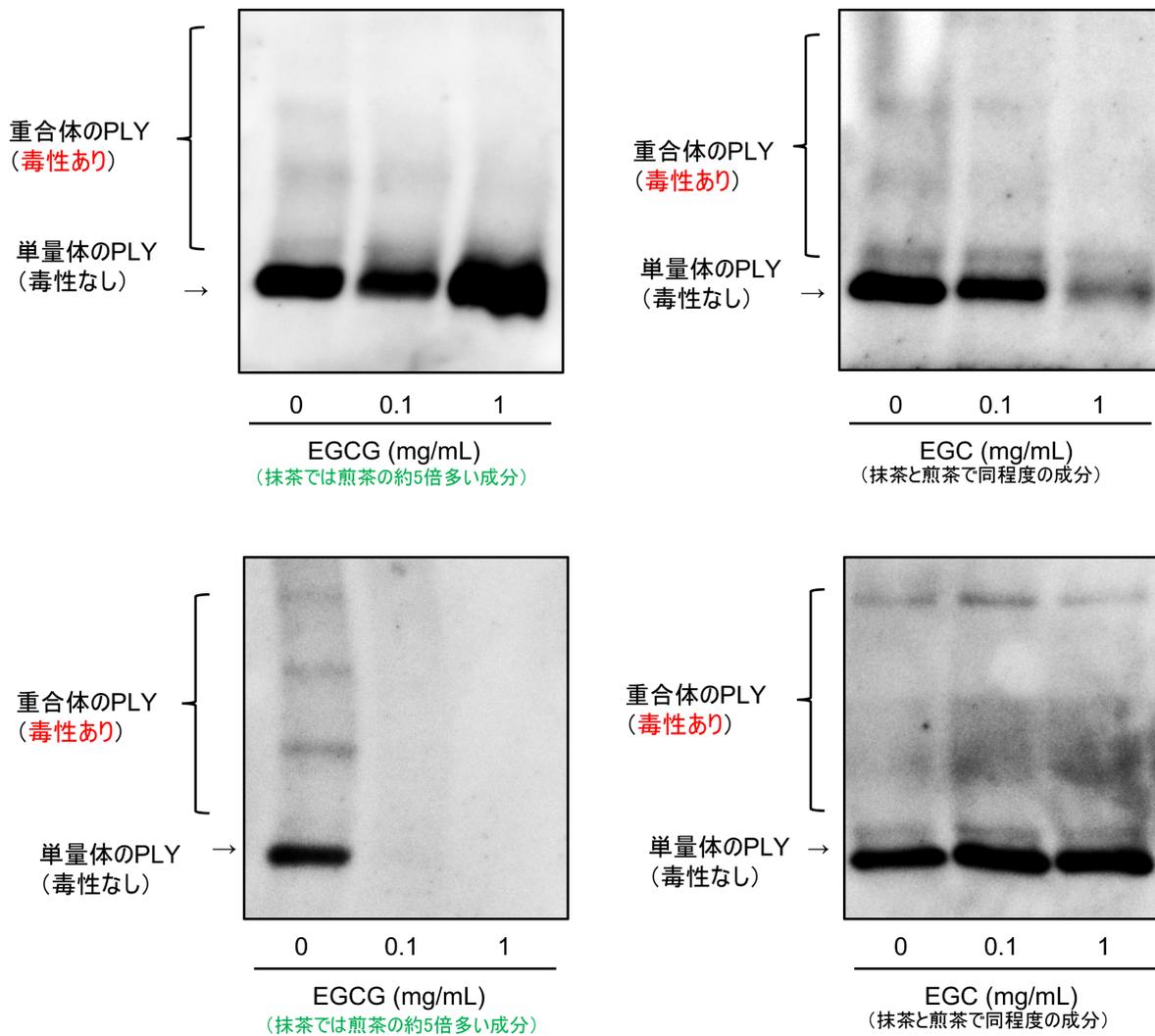


図 7 PLY 毒素の重合体形成(毒性発揮の形態)を阻害する抹茶成分の同定

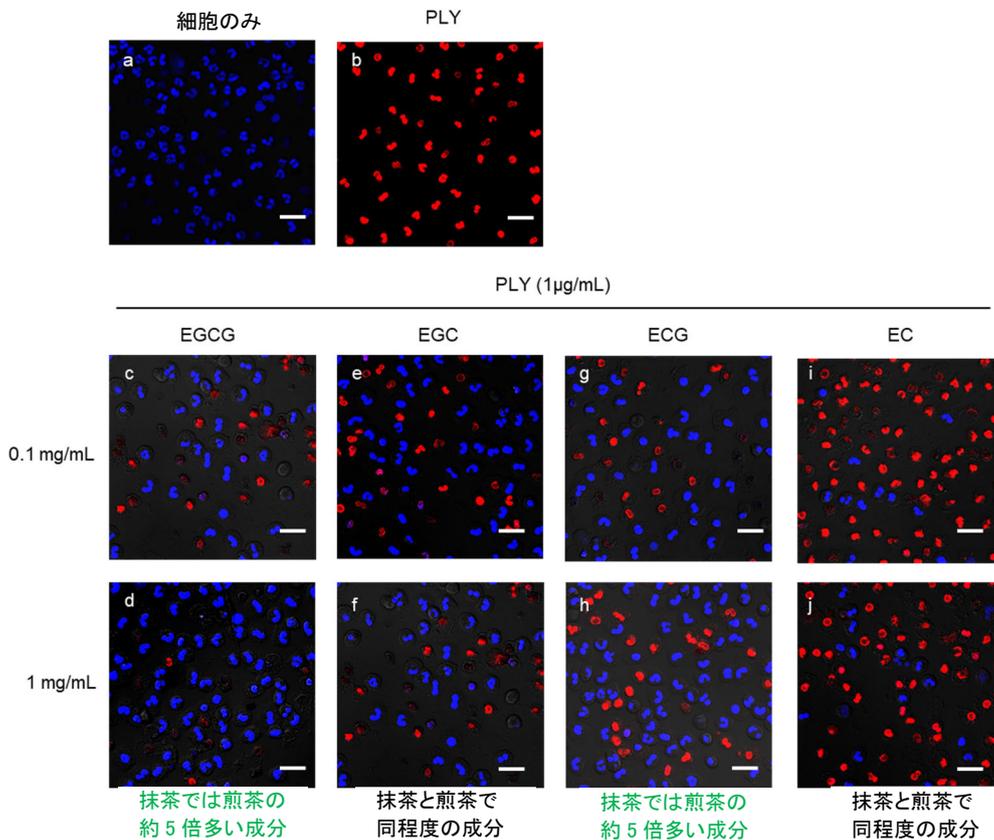


図 8 PLY 毒素の好中球傷害を阻害する抹茶成分の同定(青は生細胞, 赤は死細胞)

Ⅲ. 今後の展開

近年、抗生物質の不適切な使用により、世界的にも薬剤耐性菌による感染症が増加しています。その一方で、新たな抗生物質の開発は滞っており、国際社会においてポストコロナの大きな課題となっています。本研究の結果から、抹茶は飲用濃度にて肺炎球菌への殺菌作用や毒素阻害作用を示すことが明らかになりました。飲用としてだけでなく、各種菓子類にも添加されることが増えた抹茶の摂取により、日本政府が掲げる「薬剤耐性 (AMR) アクションプラン」達成の一助となる可能性も期待されます。

Ⅳ. 研究成果の公表

本研究は、「抹茶と健康研究会」の研究助成のもと、新潟大学の寺尾豊教授研究室にて行われました。また、歯学研究演習授業の一環として、歯学部生の坂上莉奈さんも重要な解析を担当しました。

そして、同成果は、国際科学誌 *Antibiotics* (IF=4.639) に掲載され、グリニッジ標準時間 2021 年 12 月 17 日・日本時間 12 月 18 日に電子版が公開されました。

論文タイトル: Matcha green tea exhibits bactericidal activity against *Streptococcus pneumoniae* and inhibits functional pneumolysin.

論文リンク: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/12/1550>

DOI: 10.3390/antibiotics10121550

【関連プレスリリース】

- (注1) 2018 年 10 月 2 日, 新潟大学プレスリリース「肺炎球菌の8割以上が薬剤耐性に – 新潟大学院生らが報告 –」
- (注2) 2021 年 9 月 10 日, 新潟大学プレスリリース「肺炎球菌感染症に対するマクロライド系抗菌薬の新たな作用を発見しました – 新たな肺炎治療法の開発につながる可能性 –」

【本件に関するお問い合わせ先】

新潟大学 大学院医歯学総合研究科 (歯学系)
微生物感染症学分野
教授 寺尾 豊 (てらお ゆたか)
E-mail: terao@dent.niigata-u.ac.jp