

## カテキンおよびその類縁体と抗生物質との相互作用

## Interactions of catechins and their analogues with antibiotics

藤井由紀子<sup>1,2</sup>, 小野心美<sup>1,2</sup>, 村田楽奈<sup>1,2</sup>, 武田彩音<sup>1,2</sup>, 平野叶恵<sup>1,2</sup>, 石渡斗真<sup>1</sup>, 遠藤金吾<sup>1</sup>  
Yukiko FUJII<sup>1,2</sup>, Kokomi ONO<sup>1,2</sup>, Rana MURATA<sup>1,2</sup>, Ayane TAKEDA<sup>1,2</sup>, Kanae HIRANO<sup>1,2</sup>,  
Toma ISHIWATARI<sup>1</sup>, Kingo ENDO<sup>1</sup>

秋田県立秋田高等学校 生物部抗生物質班<sup>1</sup>, 東北大学 みらい型「科学者の卵養成講座」<sup>2</sup>

Akita High School Biology Club Antibiotic Group<sup>1</sup>, EGGs, Tohoku University<sup>2</sup>

Corresponding Author's e-mail: [endo.kingo.z1@alumni.tohoku.ac.jp](mailto:endo.kingo.z1@alumni.tohoku.ac.jp)

(Received: 4 September 2023; Accepted: 17 October 2023; Released: 11 December 2023)

## [要約]

我々は、薬剤耐性菌感染症の蔓延に対抗するために、既存の抗生物質の効果的な利用法の開発を目的として、カテキン類とその類縁体に着目し研究を進めてきた。以前の我々の研究では、抗生物質アンピシリン(以下Ap)と(-)-エピカテキン(以下(-)-Ec)の併用で抗菌効果は抑制され、Apと(+)-タキシフォリン(以下(+)-Tx)の併用で抗菌効果は促進されたが、Apが高濃度であったために不確実な検証となっていた。そこで、本研究では、生存率が50%となるEffective Dose 50(以下ED50)の基準を適用し、より低濃度の抗生物質を用いて(-)-Ec、(+)-Txの効果を検証し直すことにした。大腸菌(*Escherichia coli*) AB1157株において、Apと(+)-Tx、Apと(-)-Ecの併用および抗生物質カナマイシン(以下Km)と(+)-Tx、Kmと(-)-Ecの併用では抗菌効果が抑制された。この結果から、抗生物質によって作用に違いが見られることが明らかとなり、飲み合わせには留意すべきという可能性が示唆された。

We are studying while we have focused on catechins and their analogues to combat the spread of drug-resistant bacterial infections by developing effective ways to use existing antibiotics. Our previous study showed that the combination of the antibiotic ampicillin (Ap) and (-)-epicatechin (Ec) suppressed the antibacterial effect, while the combination of ampicillin and (+)-taxifolin (Tx) promoted the antibacterial effect. But this consequence was uncertain because the concentration of Ap was too high. Therefore, in this study, we decided to apply the Effective Dose 50 (ED50) standard, which gives a survival rate of 50%, and reevaluate the effects of (-)-Ec and (+)-Tx by using lower concentrations of antibiotics. When *Escherichia coli* AB1157 strain was used as a test bacterium, the antibacterial effect was suppressed by the combination of Ap and (+)-Tx, and Ap and (-)-Ec, the antibiotics Km and (+)-Tx, and Km and (-)-Ec. The results indicate that there are differences of effects among antibiotics and suggest that we should be care of taking them in combination.

[キーワード] カテキン, 抗生物質, アンピシリン, カナマイシン, 大腸菌

Catechins, Antibiotics, Ampicillin, Kanamycin, *Escherichia coli*

## 1. はじめに

世界において薬剤耐性菌の出現率は増加しており、薬剤耐性菌感染症による死亡者数は2050年には1000万人に達すると予測されている(Cecchini et al, 2015)。一方、抗生物質の新規開発は近年停滞している(Schäberle et al, 2014)。この薬剤耐性の問題に対し、2015年5月の世界保健総会において「薬剤耐性(AMR)に関するグローバル・アクション・プラン」が採択された(厚生労働省, 2016)。また、2016年4月日本においても「国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議」にて「薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン(2016-2020)」が策定され、対策が講じられ始めた。そこで、我々もこの薬剤耐性菌感染症蔓延の課題に向き合い、保健医療に関わる持続可能な開発目標(SDGs)の達成に寄与するため、既存の抗生物質の効果的な利用法の開発を本研究の目的とした。

本研究では、緑茶に含まれている主要成分の一つであり、

我々に馴染み深いカテキン類に注目した。カテキン類が抗生物質の抗菌効果に関与する先行研究として、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)に対して、カテキン類の(-)-エピカテキンガレートがβ-ラクタム系抗生物質と相乗効果を示すという報告がある(Shiota et al, 1999, Zhao et al, 2001)。また、カテキン水和物が黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)に対して、リンコマイシン系の抗生物質クリンダマイシンやマクロライド系抗生物質エリスロマイシンと相乗効果を示す報告もある(Miklasińska et al, 2016)。さらに、緑茶に含まれる主なカテキン類である(+)-カテキンと(-)-エピカテキン((-)-Ec: 図1A)から、カテキン分解菌(*Burkholderia oxyphila*) OX-01株により容易かつ安定的に変換できることが発見されている(+)-タキシフォリン((+)-Tx: 図1B)というカテキン類縁体がある(Otsuka et al, 2016)。(+)-Tx自体も緑茶に微量に含ま

れているとともに、シベリアカラマツなどごく一部の樹木から抽出できる化合物である。(+)Tx と抗生物質に関する報告としては、MRSA に対してニューキノロン系であるレボフロキサシンやセファロスポリン系のセフトアジジムの抗菌効果を高めるといものがある(An et al, 2011)。これらのように、カテキンおよびその類縁体から抗生物質の抗菌効果を促進する化合物の発見が期待できる。一方、抗菌効果を抑制する化合物を発見できた場合は、抗生物質との併用を避けるべきとして注意を喚起することができる。

そこで我々は、カテキンおよびその類縁体とβ-ラクタム系抗生物質アンピシリン(Ap)(図2A)の併用を検証してきた。その結果、Apの抗菌効果に影響をもたらす化合物として我々が見出した化合物は、(-)-Ecと(+)-Txである。

(-)-Ecに関しては、大腸菌に対してApの抗菌効果を抑制することを発見した(山田ら 2021)。また、(+)-TxとApが大腸菌に対する抗菌効果に関して相乗効果を示す可能性を見出した。しかしながら、大腸菌の生存率が0.1%以下と、Apを高濃度で用いたためにその抗菌効果が強く現れ過ぎており、各緑茶由来物質の効果の検証としては不十分であった(荒井ら 2022)。

この他に、Ap以外の抗生物質に対する効果が検証できていなかったという点も我々が抱えていた課題である。そこで本研究では、抗生物質をより低濃度で用い、カテキンとその類縁体の効果を検証し直すこと、Apとは作用機序の異なる抗生物質であるカナマイシン(Km)(図2B)に対するカテキンとその類縁体の効果も検証することを目的とした。

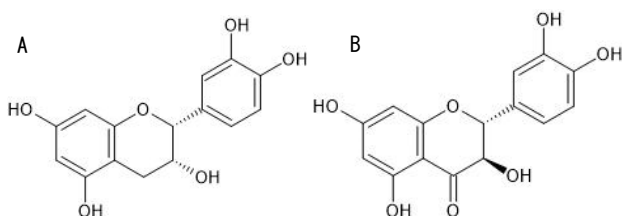


図1 本研究で用いたカテキン及びその類縁体の構造式

Aは(-)-Ec、Bは(+)-Txの構造式をそれぞれ示す。

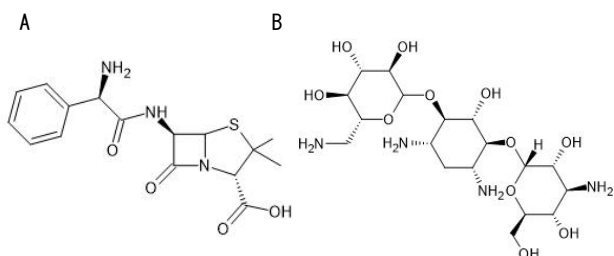


図2 本研究で用いた抗生物質の構造式

AはAp、BはKmの構造式をそれぞれ示す。

## 2. 研究の方法

### 1) 材料

指標菌として大腸菌(*Escherichia coli*) AB1157株を用いた。カテキンとその類縁体として、(-)-Ec(図1A)と(+)-Tx(図1B)を用いた。抗生物質はβ-ラクタム系抗生物質Ap(図2A)とアミノグリコシド系抗生物質であるKm(図2B)の2種類を用いた。また、指標菌用培地としてLB培地を使用した。LB培地の組成は、NaCl 0.5 g、Yeast Extract 1.0 g、Hipoly Pepton 2.0 g、Distilled Water (dH<sub>2</sub>O) 200 mLである。寒天培地を作製する場合はAgar 2.5 gも加えた。さらに、指標菌液の希釈液としてはリン酸緩衝液を用いた。リン酸緩衝液の組成はNa<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.4 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.2 g、dH<sub>2</sub>O 500 mLである。

### 2) 実験方法

大腸菌 AB1157 株を 37°C で 20 時間振とう培養し、この菌液を液体 LB 培地で  $\frac{1}{10}$  に希釈した。これに適当な濃度になるよう調製した各抗生物質の水溶液と (-)-Ec、(+)-Tx をそれぞれ加え、37°C で 3 時間振とう培養した。対照実験区には、各抗生物質の溶媒である水および (-)-Ec、(+)-Tx の溶媒であるジメチルスルホキシド(DMSO)を同量加えた。なお、(-)-Ec、(+)-Tx の濃度は、大腸菌に DMSO による毒性が生じない範囲において 0、0.50、1.0、1.5、2.0 mM の 5 段階を設定し、濃度変化による生存率の変化を調査した。培養後の菌液をリン酸緩衝液で適当に希釈し、LB 寒天培地に 100 μL 撒いた後、37°C で 20 時間培養した。培地に生えたコロニー(図3)の数を計測し、この値に希釈率を乗じて菌数を求めた。各実験区について生存率を式(1)の通り算出した。

$$\text{生存率 [\%]} = \frac{\text{各実験区の菌数}}{\text{無処理実験区の菌数}} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

各実験区の生存率については、Kruskal-Wallis検定を用いて有意水準5%で4および5群間の多重比較を行い、差が認められた場合、有意水準5%でMann-Whitney U検定による2群間の比較を行った。また、抗生物質と緑茶由来物質それぞれの交互作用は、二元配置分散分析を有意水準5%で行い検証した。

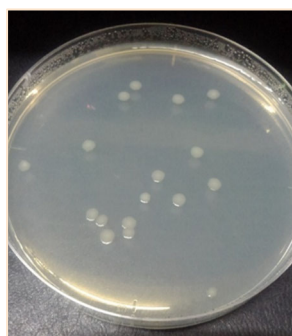


図3 LB寒天培地に生育したコロニーの様子

1つのコロニーは1細胞が増殖したものに由来し、コロニー数に希釈率を乗じることで菌液中に菌数を算出できる。

### 3. 結果と考察

### 1) 抗生物質の濃度検討

抗生物質の効果を示す指標の一つに、Effective Dose 50%(ED50)がある。これは、薬剤を投与した個体に対し、50%の反応を引き起こす用量(50%薬効量)を指す(乾ら 2018)。抗生物質が高濃度の場合にはコロニーが数個しか生えないため、数個の増減が大きく影響する。それに対して、抗生物質が低濃度の場合、コロニーが数百個生えるため、数個の違いは誤差と扱うことができる。したがって、我々がこれまで検証した抗生物質の濃度領域より低濃度であり、抗生物質の抗菌力を示す指標として広く一般に使われているED50を、本研究における抗生物質濃度として設定した。そこで、大腸菌 AB1157 株において式(1)の値が 50%となる各抗生物質の濃度を決定するために、Ap は 0、3.0、6.0、10  $\mu$ M、Km は 0、10、12、14  $\mu$ M の濃度における生存率を検証した。

その結果、Ap 単独処理時の生存率(±標準誤差) [%]は、Ap 3.0  $\mu$ M で 83(±10)%, 6.0  $\mu$ M で 69(±10)%, 10  $\mu$ M で 35(±19)%となった(表 1、図 4A)。Ap 0  $\mu$ M、3.0  $\mu$ M、6.0  $\mu$ M、10  $\mu$ M の 4 群間の生存率の比較を行うため、有意水準 5%で *Kruskal-Wallis* 検定を行ったところ、 $p = 0.033$  であり有意に差が認められた。そこで、2 群間の生存率の比較を行うため、*Mann-Whitney U* 検定を有意水準 5%で行ったところ、0  $\mu$ M と 3.0  $\mu$ M 間では  $p = 0.19$  で差が認められず、0  $\mu$ M と 6  $\mu$ M 間と 0  $\mu$ M と 10  $\mu$ M 間ではそれぞれ  $p = 0.0057$ 、 $p = 0.016$  と差が認められた。

Km 処理時の生存率(±標準誤差) [%]は、10  $\mu$ M で 45(±9.8)%, 12  $\mu$ M で 38(±15)%, 14  $\mu$ M で 12(±3.8)%となった(表 2、図 4B)。Km 0  $\mu$ M、Km 10  $\mu$ M、12  $\mu$ M、14  $\mu$ M の 4 群間の比較を行うため、有意水準 5%で *Kruskal-Wallis* 検定を行ったところ、 $p = 6.2 \times 10^{-9}$  であり、有意に差が認められた。そこで、2 群間の比較を行うため、*Mann-Whitney U* 検定を有意水準 5%で行ったところ、Km 0  $\mu$ M と 10  $\mu$ M 間では  $p = 2.9 \times 10^{-6}$ 、Km 0  $\mu$ M と 12  $\mu$ M 間では  $p = 1.2 \times 10^{-7}$ 、Km 0  $\mu$ M と 14  $\mu$ M 間では  $p = 6.1 \times 10^{-9}$  とそれぞれ差が認められた。

Ap、Km 濃度と生存率の関係より Ap、Km の ED50 濃度を求めたところ、それぞれ 8.0  $\mu$ M、10  $\mu$ M となったため(図 4A、B)、以後、これらの濃度で Ap、Km を用いることとした。なお、健康成人( $n = 3$ )に Ap 500 mg を単回静脈内注射した時の血中濃度は、投与 30 分後の平均血中濃度は 19.36  $\mu$ g/mL(=約 55  $\mu$ M)、以後漸減し 6 時間後で 0.03  $\mu$ g/mL(=約 0.086  $\mu$ M)を示したという報告がある(Sato et al, 1972)。また、Km は経口投与によりほとんど吸収されず、患者に 1 日 6 g『力価』(1.5 g『力価』 $\times$ 4 回)を経口投与した場合の血清中濃度は 2.0  $\mu$ g/mL(=約 1.5  $\mu$ M)以下であったという先行研究もある(Hewitt et al, 1958)。ゆえに、Ap 8.0  $\mu$ M、Km 10  $\mu$ M は我々がこれまで検証した Ap の濃度と比べ、ヒトに投与する濃度に近いと考えられた。

表 1 Ap 単独処理時の大腸菌 AB1157 株の生存率

Ap 濃度 [ $\mu$ M]	0	3.0	6.0	10
生存率 [%]	100	83	69	35
±標準誤差	±0	±10	±10	±19
標本数 $n$	6	4	4	2

表 2 Km 単独処理時の大腸菌 AB1157 株の生存率

Km 濃度 [ $\mu$ M]	0	10	12	14
生存率 [%]	100	45	38	12
±標準誤差	±0	±9.8	±15	±3.8
標本数 $n$	27	16	11	9

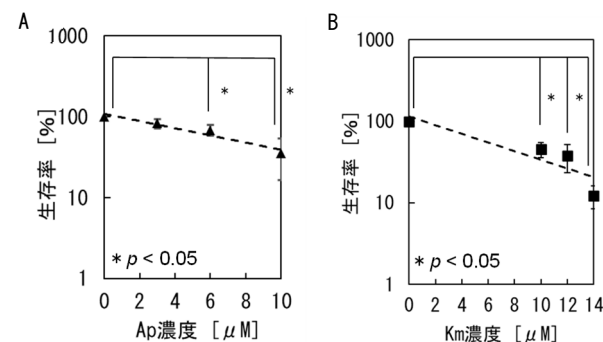


図 4 抗生物質単独処理時の大腸菌 AB1157 株の生存率

A の▲は Ap 処理時、B の■は Km 処理時の生存率であり、A、B ともにエラーバーは標準誤差を示す。

### 2) (-)-Ec と Ap または Km の交互作用

大腸菌 AB1157 株において、Ap 8.0  $\mu$ M、Km 10  $\mu$ M と (-)-Ec の同時処理を行った。その結果、生存率(±標準誤差) [%]は、(-)-Ec 単独処理時において、(-)-Ec 0.50 mM で 79(±5.8)%, (-)-Ec 1.0 mM で 78(±16)%, (-)-Ec 1.5 mM で 57(±6.5)%, (-)-Ec 2.0 mM で 62(±5.5)%であった(表 3、図 5●)。また、Ap 単独処理時の生存率(±標準誤差) [%]は 69(±7.6)であり、(-)-Ec と Ap 併用時の生存率(±標準誤差) [%]は、(-)-Ec 0.50 mM で 73(±6.2)%, (-)-Ec 1.0 mM で 61(±11)%, (-)-Ec 1.5 mM で 64(±13)%, (-)-Ec 2.0 mM で 71(±7.1)%であった(表 4、図 5▲)。Km 単独処理時の生存率(±標準誤差) [%]は 52(±10)であり、(-)-Ec と Km 併用時の生存率(±標準誤差) [%]は、(-)-Ec 0.50 mM で 49(±9.7)%, (-)-Ec 1.0 mM で 42(±8.9)%, (-)-Ec 1.5 mM で 53(±6.8)%, (-)-Ec 2.0 mM で 47(±10)%であった(表 5、図 5■)。

表3 (-)-Ec 単独処理時の大腸菌 AB1157 株の生存率

	(-)-Ec 濃度 [mM]				
	0	0.50	1.0	1.5	2.0
生存率 [%]	100	79	78	57	62
±標準誤差	±0	±5.8	±16	±6.5	±5.5
標本数 <i>n</i>	9	6	5	7	8

表4 (-)-Ec、Ap 併用時の大腸菌 AB1157 株の生存率

	(-)-Ec 濃度 [mM]				
	0	0.50	1.0	1.5	2.0
生存率 [%]	69	73	61	64	71
±標準誤差	±7.6	±6.2	±11	±13	±7.1
標本数 <i>n</i>	6	6	5	5	6

表5 (-)-Ec、Km 併用時の大腸菌 AB1157 株の生存率

	(-)-Ec 濃度 [mM]				
	0	0.50	1.0	1.5	2.0
生存率 [%]	52	49	42	53	47
±標準誤差	±10	±9.7	±8.9	±6.8	±10
標本数 <i>n</i>	7	6	6	4	5

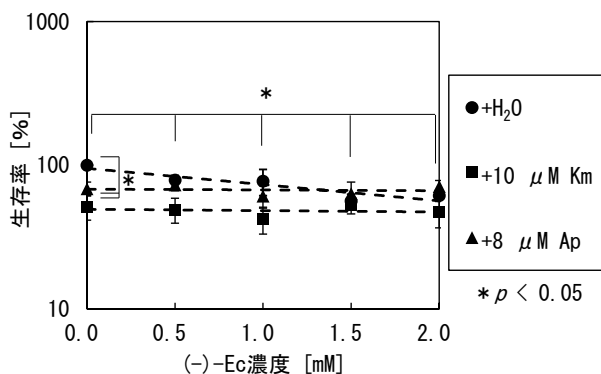


図5 (-)-Ec と抗生物質併用時の大腸菌 AB1157 株の生存率

●は(-)-Ec 単独処理区、▲は Ap と(-)-Ec 処理区、■は Km と(-)-Ec 処理区の生存率を、エラーバーは標準誤差を示す。

(-)-Ec 単独処理実験区 5 群間を有意水準 5%で *Kruskal-Wallis* 検定を行ったところ、 $p = 5.0 \times 10^{-4}$  であり有意に差が認められた。これにより、(-)-Ec は(+)-Tx と同様単独で抗菌効果を持つことが明らかとなった。また、(-)-Ec と Ap の同時処理実験区 5 群間を有意水準 5%で *Kruskal-Wallis* 検定を行ったところ、 $p = 0.93$  であり有意な差は認められなかった。さらに、(-)-Ec と Km の同時処理実験区 5 群間を有意水準 5%で *Kruskal-Wallis* 検定を行ったところ、 $p = 0.89$  であり、有意な差は認められなかった。

(-)-Ec 単独処理時の生存率 [%] と (-)-Ec と Ap の併用時の生存率 [%] を用いて、有意水準 5%で二元配置分散分析を行っ

たところ、 $p = 5.0 \times 10^{-4}$  であり、Ap と (-)-Ec の間に有意に交互作用が認められた。また、(-)-Ec 単独処理時の生存率 [%] と (-)-Ec と Km の併用時の生存率 [%] を用いて有意水準 5%で二元配置分散分析を行ったところ、 $p = 0.017$  であり、Km と (-)-Ec の間においても有意に交互作用が認められた。(-)-Ec と Ap の併用時、(-)-Ec と Km の併用時は、(-)-Ec の濃度を徐々に高くしても (-)-Ec 単独処理時のように明確な生存率の低下が見られなかったことから、(-)-Ec は Ap と Km のどちらを併用した場合でも抑制的に影響し合った可能性が考えられた。

### 3) (+)-Tx と Ap または Km の交互作用

大腸菌 AB1157 株において、(+)-Tx 単独処理時の生存率 (±標準誤差) [%] は、(+)-Tx 0.50 mM で  $82 (\pm 5.4)\%$ 、(+)-Tx 1.0 mM で  $68 (\pm 5.6)\%$ 、(+)-Tx 1.5 mM で  $64 (\pm 4.3)\%$ 、(+)-Tx 2.0 mM で  $64 (\pm 3.8)\%$  であった (表 6、図 6●)。また、Ap 8.0 μM 単独処理時の生存率 (±標準誤差) [%] は  $39 (\pm 7.2)\%$  であり、(+)-Tx と Ap 8.0 μM 併用時の生存率 (±標準誤差) [%] は、(+)-Tx 0.50 mM で  $33 (\pm 5.1)\%$ 、(+)-Tx 1.0 mM で  $38 (\pm 5.5)\%$ 、(+)-Tx 1.5 mM で  $33 (\pm 5.8)\%$ 、(+)-Tx 2.0 mM で  $31 (\pm 6.9)\%$  であった (表 7、図 6▲)。Km 単独処理時の生存率 (±標準誤差) [%] は  $42 (\pm 8.2)\%$  であり、(+)-Tx と Km 併用時の生存率 [%] (±標準誤差) は、(+)-Tx 0.5 mM で  $47 (\pm 5.7)\%$ 、(+)-Tx 1.0 mM で  $54 (\pm 2.9)\%$ 、(+)-Tx 1.5 mM で  $51 (\pm 4.3)\%$ 、(+)-Tx 2.0 mM で  $50 (\pm 4.6)\%$  であった (表 8、図 6■)。

(+)-Tx 単独処理実験区 5 群間を有意水準 5%で *Kruskal-Wallis* 検定を行ったところ、 $p = 7.8 \times 10^{-8}$  であり、有意に差が認められた。よって、(+)-Tx は (-)-Ec 同様、単独で抗菌効果を持つことが示唆された。また、(+)-Tx と Ap 同時処理実験区 5 群間を有意水準 5%で *Kruskal-Wallis* 検定を行ったところ、 $p = 0.72$  であり、有意に差は認められなかった。さらに、(+)-Tx と Km 10 μM 同時処理実験区 5 群間を有意水準 5%で *Kruskal-Wallis* 検定を行ったところ、 $p = 0.42$  であり、有意な差は認められなかった。

(+)-Tx 単独処理時の生存率と、(+)-Tx と Ap 併用時の生存率は、二元配置分散分析で  $p = 5.5 \times 10^{-3}$  であり、(+)-Tx と Ap の間に有意に交互作用が認められた。(+)-Tx と Ap 8.0 μM の併用時は、(+)-Tx の濃度を徐々に高くしても (+)-Tx 単独処理時のように明確な生存率の低下が見られなかったことから、Ap と (+)-Tx は抑制的に影響し合っている可能性が示唆された。

(+)-Tx と Km 10 μM 併用時の生存率は、二元配置分散分析で  $p = 8.8 \times 10^{-7}$  であり、Km と (+)-Tx の間に有意に交互作用が認められた。(+)-Tx と Km 10 μM の併用時は、(+)-Tx の濃度を徐々に高くしても (+)-Tx 単独処理時のように明確な生存率の低下が見られなかったことから、Km と (+)-Tx は抑制的に影響し合っている可能性が示唆された。

表6 (+)-Tx 単独処理時の大腸菌 AB1157 株の生存率

	(+)Tx 濃度 [mM]				
	0	0.50	1.0	1.5	2.0
生存率 [%]	100	82	65	64	64
±標準誤差	±0	±5.4	±5.6	±4.3	±3.8
標本数 <i>n</i>	17	8	10	12	13

表7 (+)-Tx、Ap 併用時の大腸菌 AB1157 株の生存率

	(+)Tx 濃度 [mM]				
	0	0.50	1.0	1.5	2.0
生存率 [%]	39	33	38	33	31
±標準誤差	±7.2	±5.1	±5.5	±5.8	±6.9
標本数 <i>n</i>	9	14	14	11	12

表8 (+)-Tx、Km 併用時の大腸菌 AB1157 株の生存率

	(+)Tx 濃度 [mM]				
	0	0.50	1.0	1.5	2.0
生存率 [%]	42	47	54	51	50
±標準誤差	±8.2	±5.7	±2.9	±4.3	±4.6
標本数 <i>n</i>	8	10	10	12	9

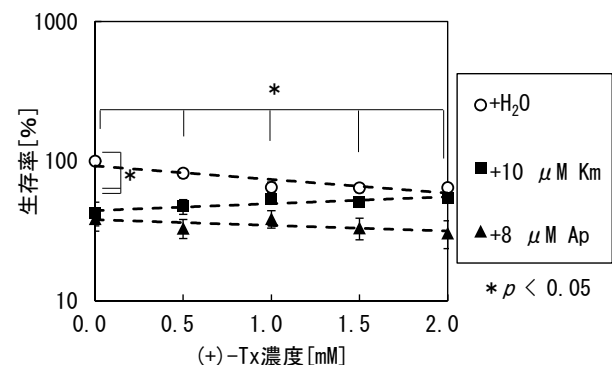


図6 (+)-Tx と抗生物質併用時の大腸菌 AB1157 株の生存率  
●は(+)-Tx 単独処理区、▲は Ap 8.0 μM と (+)-Tx 処理区、■は Km10 μM と (+)-Tx 処理区の生存率を、エラーバーは標準誤差を示す。

4. 結論と今後の展望

ED50 での検証により、(-)-Ec と Ap、(-)-Ec と Km の間において交互作用があり、抑制的に作用し合っていることが示された。また、(+)-Tx と Ap、(+)-Tx と Km の間にも交互作用があり抑制的に作用し合っていることを明らかにできた(表 9)。これらは抗生物質を高濃度で処理した時は不明確であった事柄である。(-)-Ec と (+)-Tx では一部の構造が異なるため、(-)-Ec、(+)-Tx に共通して抑制効果が見られる Ap、Km に対しては共通した部分に関わることが示唆された。

表9 大腸菌 AB1157 株における抗生物質と緑茶由来物質の交互作用

	(-)Ec	(+)Tx
Ap	-	-
Km	-	-

抑制の交互作用が認められた組み合わせを「-」と表記した。

(-)Ec と Ap との負の交互作用については、以前の我々の研究で、(-)-Ec と Ap との直接の反応ではなく、(-)-Ec が菌体に作用を及ぼすことによるものであることを示唆する結果を得ている(山田ら 2021)。我々は(+)-Tx、(-)-Ec と Ap、Km の負の交互作用の機序について、以下のような可能性を考えている。

Ap は細菌の細胞壁成分であるペプチドグリカンの合成阻害を行うことで抗菌効果を示し、Km はリボソームによるタンパク質合成阻害によって殺菌作用を示すことが知られている。よって、(-)-Ec や(+)-Tx がこれらの過程のいずれかの段階に影響をもたらしているということが一つの可能性である。

また、多剤耐性をもたらす例として、薬剤の存在によって発現が誘導される輸送体による抗生物質の排出の促進機構が知られている(Takeuchi et al, 2019)。Ap は細胞外でペニシリン結合タンパク質に結合して細胞壁合成活性を阻害するため、輸送体による排出機構の関与は考えにくい。Km に関しては、(-)-Ec や(+)-Tx が輸送体の機能に関わっているということが二つ目の可能性である。

(-)Ec、(+)-Tx はそれぞれ単独でも抗菌効果を示した(図 5●、図 6●)。カテキン類や緑茶抽出物には、活性酸素を発生させることや細胞膜の破壊などいくつかの仕組みで抗菌作用を示すことが知られており(Arakawa et al, 2004、Hara et al, 2001)、Ap や Km が(-)-Ec、(+)-Tx の抗菌効果に影響を及ぼしているということが三つ目の可能性である。ただし、Ap と (-)-Ec の併用に関しては、以前、単独では抗菌効果を示さない低濃度の(-)-Ec を用いた際にも、Ap 単独条件よりも Ap と (-)-Ec の併用時に大腸菌 AB1157 株の生存率の上昇が見られたことから、この可能性は低いと考えている。

これらの考察について、今後さらに調査を進めていきたい。今後は(+)-Tx と Km、(-)-Ec と Ap、(-)-Ec と Km の交互作用の機序を明らかにするため、β-ラクタム系、アミノグリコシド系に属する Ap、Km 以外の抗生物質での検証を検討している。また、Ap や Km の抗菌効果を抑制する構造のさらなる特定のため、引き続き(-)-Ec や(+)-Tx の類似構造物質での検証を続けたいと考えている。

本研究において、抗生物質と緑茶由来物質の併用による抗菌効果への影響を再評価した結果、交互作用を統計的に検証できた。この結果より、Ap、Km ともにカテキン類を含む飲料での服用は留意すべきである可能性が示された。これらのことは、社会の人々の健康に資するために広く世の中に発信していきたい。

## 謝辞

本研究は JST 次世代科学技術チャレンジプログラム 東北大学 みらい型「科学者の卵養成講座」、公益財団法人齋藤憲三・山崎貞一顕彰会、公益財団法人中谷医工計測技術振興財団のご支援のもとで実施されました。深く御礼申し上げます。

## 引用及び参考文献

- Arakawa H, Maeda M, Okubo S, Shimamura T (2004) Role of Hydrogen Peroxide in Bactericidal Action of Catechin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(3), 277-281.
- An J, Zuo GY, Hao XY, Wang GC, Li ZS (2011) Antibacterial and synergy of a flavanonol rhamnoside with antibiotics against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine* 18(11), 990-993.
- Cecchini M, Langer J, Slawomirski L (2015) Antimicrobial Resistance in G7 Countries and Beyond: Economic Issues, Policies and Options for Action. *G7 OECD Report*, 3-75.
- Hara-Kudo Y, Okubo T, Tanaka S, Djong-Chi C, Lekh RJ, Saito N, Sugita-Konishi Y (2001) Bactericidal Action of Green Tea Extract and Damage to the Membrane of *Escherichia coli* O157: H7. *Biocontrol Science*, 6(1), 57-61.
- Hewitt W, Finegold S (1958) Laboratory studies with kanamycin. *Annals of the New York Academy of Sciences* 76(2), 122-128.
- Miklasinska M, Kępa M, Wojtyczka R, Idzik D, Dziedzic A, Wąsik T (2016) Catechin Hydrate Augments the Antibacterial Action of Selected Antibiotics against *Staphylococcus aureus* Clinical Strains. *Molecules*, 21(2), 244.
- Otsuka Y, Matsuda M, Sonoki T, Sato-Izawa K, Goodell B, Jelison J, Navarro RR, Murata H, Nakamura M (2016) Enzymatic activity of cell-free extracts from *Burkholderia oxyphila* OX-01 bio-converts (+)-catechin and (-)-epicatechin to (+)-taxifolin. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 80 (12), 2473-2479.
- Schäberle TF, Hack IM (2014) Overcoming the current deadlock in antibiotic research. *Trends Microbiol* 22(4), 165-167.
- Sato H, Watanabe O, Kojima S, Nakajima S, Nakazawa S (1972) Trial of intravenous injection of ampicillin (Viccillin 'Meiji') in pediatrics. *Japanese Journal of Antibiotics* 25(2), 91-94.
- Shiota S, Shimizu M, Mizushima M, Ito H, Hatano T, Yoshida T, Tsuchiya T (1999) Marked Reduction in the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of  $\beta$ -Lactams in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Produced by Epicatechin Gallate, an Ingredient of Green Tea (*Camellia sinensis*). *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 22(12), 1388-1390.
- Takeuchi K, Imai M, Shimada I (2019) Conformational equilibrium defines the variable induction of the multidrug-binding transcriptional repressor QacR. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116 (40), 19963-19972.
- W H Zhao, Z Q Hu, S Okubo, Y Hara, T Shimamura (2001) Mechanism of synergy between epigallocatechin gallate and beta-lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 45(6):1737-1742.
- 荒井優菜、金子聡、佐藤真美、平川青空 (2022) カテキン類と抗生物質. *化学と生物* 60(9), 486-489.
- 乾賢一、赤池昭紀、河野武幸、福井次矢 (2018) 薬物治療総論/症候・臨床検査/個別化医療. 1-336, 中山書店.
- 厚生労働省 (2016) 薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン. 1-71, <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/0000120769.pdf>.
- 山田優衣、住谷夏梨、後藤雪琉、白鳥遥菜、水谷菜月、鈴木理紗、武内温哉、深井聡輔、佐藤託海、遠藤金吾 (2021) 種々の菌株における緑茶成分(-)-エピカテキンと抗生物質アンピシリンの相互作用. *Journal of Science EGGs* 4(2130001), 1-6.