



# 柿渋ジェルの口腔病原性微生物に対する抗菌活性

王 宝禮<sup>1)</sup> / 大草亘孝<sup>2)</sup> / 益野一哉<sup>1)</sup>

## ● 要旨

**目的**：本研究は柿渋ジェルによる、口腔病原性微生物に対する抗菌活性を検討することを目的とした。

**方法**：米国 CLSI による標準法による薬剤感受性試験（ディスク拡散法）によりう蝕原因菌である *Streptococcus mutans*、歯周病関連細菌である *Porphyromonas gingivalis*、口腔カンジダ症の原因菌である *Candida albicans* の3種の微生物に対して解析を試みた。

**結果**：柿渋ジェルは3種の菌に対して、抗菌活性を示した。

**結論**：柿渋ジェルが、代表的な口腔疾患であるう蝕原因菌、歯周病関連細菌、口腔カンジダ症に対して抗菌活性を示したことから、柿渋ジェルを臨床応用することで、有用性を示す可能性がある。

**キーワード**：柿渋、う蝕症、歯周病、口腔カンジダ症、抗菌活性

## I. 序 章

“柿渋”はカキノキ科カキ（柿 *Diospyros kaki*）のシブを用いる<sup>1)</sup>。柿の未熟な果実（青柿）をつき砕き、水を加えて時々攪拌しながら3週間ほど放置して発酵させ、カスを除くと膠状の赤褐色で半透明の液体が得られる。これを柿漆、あるいは柿渋という。かつては傘や渋紙、渋団扇などの紙や絹糸、皮革などに塗布して防水・防腐等の強化に用いられ、またタンパク質の凝集作用があり、古来皮なめしや下痢止め成分としても用いられていた<sup>2)</sup>。現在では主に日本酒製造における清澄剤として用いられている<sup>3)</sup>。柿渋はポリフェノールを多く含み、そのひとつであるタンニンが含まれる。このタンニンのため柿の果肉には渋みがあるが、熟していくにつれ、タンニン細胞が凝固、収縮して褐色斑に変化し、タンニンが不溶性となって渋みがなくなる<sup>4)</sup>。古来よ

り、柿渋は漢方薬として用いられ、血圧降下作用が認められており、夜尿症にも有効である。その他、扁桃炎や口内炎に対しては含嗽薬として、熱傷や湿疹等に対しては冷湿布として用いられていた<sup>2)</sup>。近年、柿渋には、抗酸化性、抗変異原性、抗菌作用、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用、抗アレルギー作用、血圧降下作用、消臭作用、香味改良効果、悪酔い防止作用など多くの機能性を有することが示唆されている<sup>4)</sup>。しかし、口腔病原微生物に対する報告は少ない<sup>5)</sup>。

本研究では柿渋ジェルの、口腔病原性微生物に対する抗菌活性を検討した。

## II. 実験材料および実験方法

### 1. 実験材料

柿渋ジェル（株式会社ビィ・ソニック、東京）を用いた。本製品の成分として、柿渋、ヒノキチオール、グリセリン、海藻エキス、ポリアクリル酸ナトリウム、キシリトール、炭酸カリウム、酸化チタン、I-メントール、テトラ2ヘキシカルデカン酸アスコルビン、d- $\alpha$ -トコフェロール、ハッカ油が含

1) 大阪歯科大学歯学部歯科医学教育開発室

2) 大阪歯科大学歯学部歯科法医学室

表1 培養条件

試験菌	培養時間/温度	大気条件	測定培地
<i>S. mutans</i>	24 時間 / 35°C	5% CO <sub>2</sub> 培養	ミューラーヒントン 5%ヒツジ血液寒天培地
<i>P. gingivalis</i>	5 日間 / 35°C	嫌気培養	アネロコロンビア RS 血液寒天培地
<i>C. albicans</i>	48 時間 / 35°C	好気培養	ミューラーヒントンII 寒天培地

まれる。

## 2. 試験菌株

本実験には、*Streptococcus mutans* ATCC25175 (*S. mutans*), *Porphyromonas gingivalis* ATCC33277 (*P. gingivalis*), *Candida albicans* ATCC10231 (*C. albicans*) の3微生物を用いた。

## 3. 培養条件

培養条件を表1に示した。

## 4. 測定方法

抗菌活性試験は“Clinical and Laboratory Standards Institute, M02; Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 13th Edition”に準拠した disk 法にて実施した<sup>6)</sup>。各試験菌株を前培養後、滅菌生理食塩水に mcfarland 0.5 となるように懸濁し接種菌液とした。接種菌液に滅菌綿棒を浸し、余液を管壁で取り除いた。測定培地を約 60° に傾けて、3 回以上異なった方向から接種菌液を均等に塗布した。柿渋ジェルは原液のまま使用した。試料あるいは精製水を 8 mm disk に約 50 μL 添加し、菌を接種した寒天培地に置いた。上記条件にて培養後、各 disk 周辺に形成された阻止円を確認した。同様の操作を 3 回繰り返した。

## III. 結果と考察

う蝕症、歯周病は口腔内の2大疾患であり、両疾患を引き起こす主因はプラークや歯垢と呼ばれる細菌の塊であり、う蝕症にはグラム陽性の通性嫌気性菌である *Streptococcus mutans* や *Streptococcus sobrinus* が、また歯周病には *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* といったグラム陰性偏性嫌気性菌を主体とした複数の細菌が関与することが知られている<sup>7)</sup>。これらの細菌は通常、歯冠や歯根表面に他の細菌と

共にバイオフィーム (biofilm) を形成して存在している。

う蝕症の場合、細菌が糖を基質として酸を産生し、これが歯を構成するエナメル質や象牙質といった硬組織を脱灰することにより破壊が進行する。また、歯周病の場合は細菌由来の外毒素・内毒素により歯肉において炎症が惹起され、これが持続することによって歯を支持する歯槽骨や歯根膜まで組織破壊が進行する<sup>8)</sup>。口腔カンジダ症の主な原因菌は *Candida albicans* であり、それ以外のカンジダ属真菌も病変部から検出される。カンジダは弱毒性、口腔内常在菌であり、存在自体が感染症をもたらすわけではない。宿主の抵抗性が減弱し過大に増殖した結果、粘膜への菌糸侵入による刺激や、カンジダが粘膜に強固に固着することによって粘膜面が汚れ、口腔内環境が悪化する。カンジダの酵母は球形で、大きさは血小板と同じくらいの 3 μm 程度であるため、病変部から血流を介して全身に移行し、到達臓器で増殖するという特徴を有する。真菌性肺炎等の原因は、口腔カンジダ症からの移行という説もある<sup>9)10)</sup>。つまり、う蝕症、歯周病、口腔カンジダ症は細菌感染症であることから、起因菌への対応が疾患の発症の予防や改善につながると考えられる。

接種菌液を培地の上に塗布し、抗菌薬を含浸した disk を置くと、disk の周辺に抗菌薬が濃度勾配をもって分布する。この培地を用いて培養すると、disk の周辺では菌が増殖せず、少し離れた部位では増殖する。菌が増殖しない範囲は通常円形 (阻止円) になる<sup>6)</sup>。本研究で、disk に柿渋ジェルを含浸させ検討したところ、図1に示すように *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans* の3菌種に対して阻止円が観察され、抗菌活性が確認できた。

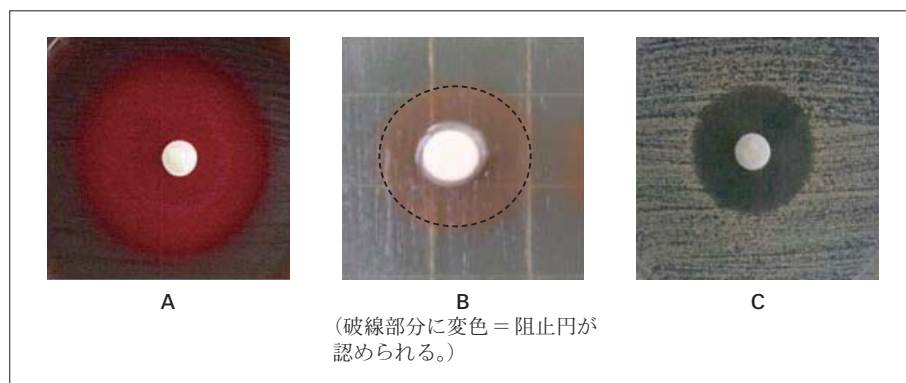


図1 柿渋ジェル感受性試験（ディスク拡散法）による抗菌活性検査  
 (A : *Streptococcus mutans*, B : *Porphyromonas gingivalis*, C : *Candida albicans*)

柿渋に含まれる可溶性タンニンは、エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキン-3-ガレート、エピガロカテキン-3-ガレートの4つの単量体のポリフェノールが構成要素となっている<sup>11)12)</sup>。茶カテキンは抗菌作用を有することが知られている<sup>13)</sup>。カテキンの細菌に対するメカニズムは、細菌の細胞壁や細胞膜の脂質二重層構造を破壊することによって引き起こされ、細胞室内が変性し、膨化することにより菌体の破壊が生じ、抗菌作用を呈する可能性がある<sup>14)</sup>。柿渋タンニンの構造式<sup>15)</sup>は数多くのフェノール基を有する大きな縮合型タンニンであるため、これら数多いフェノール基が微生物の細胞膜や細胞壁と結合し殺菌効果を発揮するものと考えられる。

一方、柿渋ジェルには防腐剤としてヒノキチオールが含まれている。ヒノキチオールは、歯科においては古くから知られている薬剤配合成分である<sup>16)</sup>。ヒバや台湾ヒノキから抽出される成分で、芳香族化合物である。抗菌作用があり化粧品や歯磨き粉、歯周病治療薬に配合されていて、その安全性も高く評価されている。ヒノキチオールには実験的に *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans* に対する高い抗菌性を有することが証明されている<sup>17)18)</sup>。ヒノキチオールの抗菌活性のメカニズムは殆ど明らかにされていないが、細胞に浸透性が高いことから、微生物の細胞増殖への代謝を障害すると考えられている。

今回、柿渋ジェルが代表的な口腔疾患であるう蝕原因菌、歯周病関連細菌、口腔カンジダ症に対して抗菌活性を有することが示された。こうした柿渋

ジェルの口腔病原性微生物に対する抗菌活性は、柿渋とヒノキチオールとの相乗作用であることが推測される。

本研究により、柿渋ジェルがう蝕症、歯周病、口腔カンジダ症に伴う誤嚥性肺炎や口臭の予防につながる可能性が示唆されたことから、今後臨床応用を含めた検討を進めたい。

※ 利益相反 (COI) に関して開示すべきものはない。

#### 参 考 文 献

- 1) 今井敬潤：園芸学会雑誌 別冊2 園芸学会大会研究発表 **68** : 62-3, 1999.
- 2) 平 智, 板村裕之：カキタンニン (V) カキタンニンの特質を生かした利用法について (総説). 日食保蔵誌 **34** : 291-7, 2008.
- 3) 岩本将稔：清澄剤柿渋の歴史的背景と清酒への応用. 日本醸造協会誌 **108** : 318-25, 2013.
- 4) 島本 整：日本文化に根付いた柿渋の化学. 化学と教育 **64** : 348-9, 2016.
- 5) 原田実佳, 坂上竜資, 渡辺 猛, 鬼塚得也, 永井淳：柿タンニン (パンシル<sup>®</sup>) による消臭・抗菌作用. 日歯保存誌 **48** : 314-9, 2005.
- 6) 堀籠一朗, 白田 亨, 森 兼啓：微生物検査の基本 (2) 薬剤感受性試験. 日臨麻会誌 **37** : 684-6, 2017.
- 7) Kolenbrander PE: Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. Annu Rev Microbiol **54**: 413-37, 2000.
- 8) Listl S, Galloway J, Mossey PA, et al: Global Economic Impact of Dental Diseases. J Dent Res **94**: 1355-61, 2015.
- 9) 阪口英夫：口腔カンジダ症最近の知見. 日歯産会誌 **27** : 3-8, 2013.
- 10) 佐藤 博, 菊池雅彦, 江刺香苗：高齢歯科患者におけ

- る口腔内カンジダ菌の検出に関連する要因. 老年歯医  
**29** : 340-9, 2014.
- 11) Schofield P, Mbugua DM, Pell AN: Analysis of condensed tannins: a review. *Anim Feed Sci Technol* **91**: 21-40, 2001.
- 12) Matsuo T, Ito S: The Chemical Structure of Kaki-tannin from Immature Fruit of the Persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Agric Bio Chem* **42**: 1637-43, 1978.
- 13) 戸田真佐子, 島村忠勝: 茶の抗微生物作用について. 日本食品工業学会誌 **36** : 951-5, 1989.
- 14) Ikigai H, Nakae T, Hara Y, Shimamura T: Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochim Biophys Acta* **1147**: 132-6, 1993.
- 15) Matsuo T, Ito S: The Chemical Structure of Kaki-tannin from Immature Fruit of the Persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Agric Bio Chem* **42**: 1637-43, 1978.
- 16) Domon H, Hiyoshi T, Maekawa T, et al: Antibacterial activity of hinokitiol against both antibiotic-resistant and -susceptible pathogenic bacteria that predominate in the oral cavity and upper airways. *Microbiol Immunol* **63**: 213-22, 2019.
- 17) 上川善昭: 口腔ケアに必要な口腔カンジダ症の基礎知識—診断・治療と口腔ケアによる口腔カンジダ症の予防. 日本口腔ケア学会雑誌 **4** : 17-23, 2010.
- 18) 佐藤則文, 中村盛幸, 泉福英信, 山崎統資: ヒノキチオールを配合した口腔ケア用品の抗菌作用. *デンタルダイヤモンド* **33** : 164-8, 2008.

(公開日 : 2019年9月17日)

---

## Antimicrobial Activity of Persimmon Extract Gel Against Oral Pathogens

WANG Pao-Li<sup>1)</sup> / OKUSA Nobutaka<sup>2)</sup> / MASUNO Kazuya<sup>1)</sup>

1) Department of Innovation in Dental Education, Osaka Dental University

2) Department of Forensic dentistry, Osaka Dental University

### Abstract

The purpose of this study was to investigate the antimicrobial activity against orally-pathogenic microorganisms by gel containing persimmon extract. Antimicrobial activity were analyzed *Streptococcus mutans*, a caries causing bacteria, *Porphyromonas gingivalis*, a periodontitis related bacteria, and *Candida albicans*, a causative bacteria for oral candidiasis, according to the drug susceptibility test (disk diffusion method) according to the standard method by US CLSI. The persimmon extract gel showed antimicrobial activity against 3 kinds of bacteria. The persimmon extract gel is known to have antimicrobial action against typical caries-causing bacteria, periodontal disease-related bacteria, and oral candidiasis, and has potential clinical application.

**Key words:** persimmon extract gel, caries, periodontal disease, oral candidiasis, antimicrobial activity

(Published: Sep 17, 2019)

---