

绿茶提取物 EGCG 预防龋病的动物实验研究

李芳¹, 刘亚军¹, 刘泽婷¹, 陈永翔¹, 王烈成², 王一君³, 王元银¹

摘要 目的 通过大鼠龋齿模型探讨表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)对龋病的预防效果,为天然药物EGCG预防龋病的临床研究提供试验和理论依据。方法 选择SD大鼠24只,随机分成EGCG、氟化钠(NaF)、醋酸氯己定(CHX)及蒸馏水(对照)组,每组6只。接种变形链球菌(*S. mutans*)标准菌株并给予致龋饲料2000#和5%蔗糖水,分别用浓度为最小抑菌浓度(MIC)的EGCG、250 mg/L NaF溶液、0.12% CHX溶液及蒸馏水对大鼠口腔进行冲洗涂药。连续处理6周后处死大鼠,收集大鼠颌骨,Keyes记分法分析,评估大鼠上颌磨牙患龋情况。结果 经龋齿Keyes记分显示与对照组相比,各组药物对大鼠龋齿的形成和严重程度均有不同程度的抑制效果,其中EGCG组显示对大鼠上颌窝沟面龋的釉质龋($P < 0.01$)及牙本质龋均有较好的防治效果,对牙本质深龋的防治效果更好($P < 0.001$)。但对牙本质浅、中龋的防治效果低于CHX组。结论 MIC浓度的EGCG降低龋齿的发生率和严重程度,对大鼠龋损发生

具有较好的抑制作用。

关键词 表没食子儿茶素没食子酸酯; EGCG; 变形链球菌; SD大鼠; 龋病

中图分类号 R 781.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)12-1903-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.12.011

龋病是一种细菌感染性疾病,由含有变形链球菌(*streptococcus mutans*, *S. mutans*)的口腔生物膜诱导下牙体硬组织发生的病变。现有研究^[1]表明大量的致龋细菌是龋病的致病因素,而*S. mutans*是龋病的主要病原微生物。*S. mutans*黏附于牙面获得性膜上,迅速繁殖、代谢碳水化合物产酸,溶解牙体硬组织进而形成龋洞,这是其致龋特性^[2]。表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)在儿茶素中含量最多,具有广泛的生物学和药理活性。它还具有较高的抗龋功效,这一特性主要来源于它的抗菌活性,其作用机制与它的化学结构有关^[3-5]。有研究^[6]表明,EGCG对口腔主要致龋细菌的产酸、耐酸以及黏附等致龋毒力因子有较好的抑制作用。且有学者证实^[7]EGCG在抑菌、保护神经系统及抗氧化等方面起重要作用。该课题前期研究^[8]表明EGCG对*S. mutans*的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)为6.25 mg/L。该研究利用大鼠龋病模型对绿茶提取物EGCG在MIC时的防龋效能进行综合评估,为绿茶提取物EGCG进入临床试验提供数据基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 EGCG、氨苄西林钠购自北京索

2021-08-28 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81271162); 安徽省人口健康领域项目(编号: 201904a07020062); 安徽农业大学茶树生物学与资源利用国家重点实验室开放基金资助项目(编号: SKLTOF20160110)

作者单位: 安徽医科大学¹口腔医学院、²基础医学院生理学教研室 合肥 230032

³安徽农业大学茶与食品科技学院, 合肥 230036

作者简介: 李芳, 女, 硕士研究生;

王烈成, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wangliecheng@ahmu.edu.cn;

王一君, 男, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: yijun@ahau.edu.cn;

王元银, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wyy1970548@sohu.com

Results Compared with the control group, the levels of HbA1c, blood pressure, creatinine, urea nitrogen and uric acid in DN group significantly increased, and the levels of serum inflammatory cytokines TNF- α , IL-1 β and MCP-1 significantly increased. Compared with the control group, the expression of TNF- α , the infiltration of macrophages and the activation of BTK significantly increased in DN group, and the expressions of iNOS and p-BTK in renal macrophages also increased. In DN group, BTK and p-BTK expression were positively correlated with 24 hour urinary protein, serum creatinine and blood urea nitrogen, and negatively correlated with estimated glomerular filtration rate (eGFR). **Conclusion** The activation of BTK in renal macrophages is increased in DN patients and is correlated with renal function progression.

Key words diabetic nephropathy; macrophages; BTK; inflammation

莱宝科技有限公司; 氯化钠、醋酸氯己定(洗必泰)、紫脲酸铵指示剂均购自上海易恩化学技术有限公司; 头孢拉定胶囊购自石家庄石药集团欧意药业有限公司; 蔗糖购自美国 Sigma 公司; SYTO 9 染料购自美国赛默飞世尔科技公司; NEST 801001 35 mm 玻底培养皿(玻底直径 20 mm) 购自无锡耐思生物科技有限公司; SYJ-160 型低速金刚石切割机购自沈阳科晶自动化设备有限公司; 激光扫描共聚焦显微镜购自德国卡尔·蔡司公司; 荧光正置显微镜 DMI6000B 购自德国徕卡仪器有限公司。

1.2 细菌与培养基 国际标准变异链球菌株 ATCC 25175 (血清型 C 型); 牛脑心浸出液培养基 (brain heart infusion, BHI) 购自青岛高科技工业园海博生物技术有限公司; 轻唾琼脂培养基 (MS 琼脂)、杆菌肽 (bacitracin) 均购自北京索莱宝科技有限公司等。

1.3 实验动物 SD 大鼠 24 只购自安徽医科大学实验动物中心; 2000# 致龋饲料购自常州鼠一鼠二生物科技有限公司。

1.4 细菌复苏及培养 按照说明书配制 BHI 琼脂培养基和 MS 琼脂培养基。将于 -80°C 冻存的 *S. mutans* 株室温复苏 24 h 后接种于 BHI 琼脂培养基和 MS 琼脂培养基, 取 0.5 ml 菌液和 4.5 ml BHI 液体培养基放入 15 ml 离心管中混匀, 37°C 厌氧环境 (10% CO_2 、90% N_2) 培养 48 h。BHI 琼脂培养基形态学观察为无特征性乳白色菌落; 在超净工作台用移液枪移取适量菌液涂片革兰染色后显微镜观察为蓝色链球状。确认是纯培养后接种于 BHI 液体培养基中 37°C 厌氧培养 24 h, 使用 BHI 液体培养基调节菌液浓度备用, 使其达到吸光度值 $\text{OD}_{590} = 0.6$ 。

1.5 EGCG 混悬液的配制 将 EGCG 粉用灭菌蒸馏水配制成 100 mg/L 的母液, 用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤除菌, 4°C 避光保存待用。使用前用灭菌蒸馏水按设定浓度稀释后使用。

1.6 动物实验

1.6.1 实验分组及细菌接种 选择均于出生后第 21 天断乳的 SD 雄性大鼠 24 只, 随机分成 4 组 ($n = 6$): EGCG、氯化钠 (NaF)、氯己定 (CHX) 及蒸馏水 (对照组) 组, 给大鼠打耳标、记录体质量。给予大鼠普通饲料适应性喂养 2 d, 之后给予致龋饲料 2000# 和 5% 蔗糖水溶液, 直至整个实验结束。鼠龄 22 d, 异氟烷吸入麻醉, 用无菌棉签蘸取大鼠唾液, PBS 稀释后涂 BHI 琼脂平板和 MS 琼脂平板, 观察大鼠口

腔内固有菌群情况。在实验第 3~6 天期间给予广谱抗生素抑制口腔菌群, 即 1 000 g 致龋饲料添加 1 g 氨苄西林、1 L 5% 蔗糖水溶液添加头孢拉定 1 g 促进 *S. mutans* 感染大鼠口腔。在实验第 8~12 天期间, 给每只大鼠口腔内接种国际标准变异链球菌株, 菌液浓度为 $\text{OD}_{590} = 0.6$, 每次接种 1 ml/只, 连续处理 5 d^[9]。在大鼠围术期每组随机抽取 3 只大鼠, 用消毒棉签收集大鼠唾液检测菌株接种情况。

1.6.2 大鼠口腔药物处理 自实验第 14 天起分别用浓度为 MIC 的 EGCG、250 mg/L NaF 溶液、0.12% CHX 溶液及蒸馏水冲洗大鼠口腔。取 1 ml 各药液分装至 1.5 ml EP 管, 1 鼠 1 支。每只鼠在用药前放入装有 3~4 个浸满异氟烷棉球的诱导盒内, 随即关闭盒盖, 等待大鼠完全麻醉 (此过程约需 2~3 min)。可通过轻轻摇动诱导盒以检查大鼠是否完全麻醉, 若大鼠身体翻倒为侧姿且没有试着恢复其卧姿状态, 则表明该大鼠已经完全麻醉。将大鼠从诱导盒中迅速拿出, 左手持大鼠并用拇指和食指固定住其头部, 右手拿无菌棉签蘸取药液至饱和, 对大鼠磨牙 (牙合) 面、颊面、舌/腭面及口腔黏膜各处依次清理, 剩余药液用钝头的 1 ml 注射器冲洗大鼠口腔, 以确保药液作用到位。每只鼠的药物处理过程为 1 min, 处理后将大鼠以侧卧位放回鼠笼, 所有大鼠苏醒后禁食 2 h, 如此连续处理 6 周, 早晚各 1 次^[9-10]。整个药物处理过程始终由同一实验员操作完成。同时每天观察并记录大鼠健康状况饮食情况, 每周记录 1 次大鼠体质量。

1.6.3 大鼠磨牙标本的制取 实验第 56 天异氟烷窒息处死大鼠, 称重后用剪刀断颅, 将上下颌骨分开, 用组织剪剔除附在骨面的皮肤肌肉筋膜等软组织获取颌骨标本。清洗干燥置于含有 1%~2% 氢氧化铵溶液的烧杯中浸泡 30 min, 薄膜封口。取出清洗用滤纸干燥, 置于 0.4% 紫脲酸胺溶液中避光染色 12 h, 染色液中加入一定量的 10% 中性甲醛可以防止颌骨腐烂。取出冲洗室温下避光干燥, 将大鼠颌骨用蜡固定在切割机虎钳上, 用低速金刚石切割机沿颌骨磨牙牙合面近远中向矢状半切, 清洗干燥后放入装有苯的玻璃皿中增加确认率, 立即清洁标本, 在体视显微镜下根据 Keyes 评分法评估大鼠磨牙的龋损情况。

1.6.4 龋齿 Keyes 评分法分级计分 Keyes 评分法^[11]是一种评估大鼠磨牙龋损程度的传统的计分系统, 在下颌第一、第二和第三磨牙中检查的窝沟数目分别为 3、2 和 1。在上颌第一、第二和第三磨牙

中分别为 2、1 和 1。分配给每个磨牙窝沟的线性单位分别是: 上颌分别为 7、5 和 2; 下颌分别为 5、3 和 2。其中下颌第一磨牙的前沟被指定 2 个单位的值, 并用作其他沟测量的指导或标准。使用 4 种探诊深度记录方式 [龋损局限于釉质 (E 级); 龋损累及釉质及牙本质外层 1/4 以内 (Ds 级), 会出现牙本质与上层牙釉质略微分离; 龋损累及牙本质厚度 1/4 ~ 3/4 (Dm 级); 龋损累及深度超过牙本质厚度的 3/4, 甚至穿透牙本质全层 (Dx 级)] 评估大鼠磨牙的窝沟龋损情况。对大鼠磨牙的窝沟龋损进行计分, 以此来评定药物抑制龋齿情况。其中镜下呈粉红色处是龋损部位, 不着色或着色很浅处是正常牙体组织。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 23.0 统计软件对实验数据进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间实验数据用单因素方差分析, 组间均数两两比较采用 SNK、LSD 检验和 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *S. mutans* 的培养与鉴定 实验中分别在细菌复苏后, 接种前及接种后都对细菌进行菌落的形态和革兰染色, 形态学观察为无特征性乳白色菌落; 革兰染色后显微镜观察显示细菌呈蓝色链状结构, 见图 1。结果表明接种细菌为 *S. mutans*, 并在大鼠口腔成功定植。

2.2 大鼠的饮食与健康状况 实验过程中对大鼠的水和食物消耗进行记录, 各组间未见较大差异。口腔药物处理期间, 大鼠的健康活动状况良好, 口腔黏膜未见异常表现, 各组大鼠的体质量相对均匀增加, 实验结束时各组大鼠体质量增加差异无统计学意义 ($F = 1.83, P > 0.05$)。结果见表 1。

2.3 大鼠上颌磨牙窝沟龋损的 Keyes 记分 观察大鼠上颌磨牙牙合面, 各组大鼠磨牙窝沟均出现不同程度的龋损。在 E 级龋齿计分中, 与对照组相比, EGCG 组计分降低 ($F = 22.09, P < 0.001$); 在

表 1 实验中大鼠的体质量变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	体质量记录时间 (d)								
	1	7	14	21	28	35	42	49	56
EGCG	51.81 ± 4.21	100.45 ± 8.34	127.81 ± 9.72	153.07 ± 11.47	180.47 ± 9.85	206.23 ± 10.38	226.82 ± 10.23	256.29 ± 9.21	289.25 ± 8.62
NaF	52.31 ± 6.42	103.73 ± 3.60	135.81 ± 6.70	164.94 ± 7.08	189.63 ± 7.03	196.70 ± 11.03	230.71 ± 2.97	266.07 ± 6.21	298.06 ± 8.67
EF	53.64 ± 3.26	103.40 ± 6.92	129.66 ± 9.26	149.54 ± 6.20	171.75 ± 7.82	192.96 ± 15.02	219.45 ± 6.75	278.36 ± 11.25	286.43 ± 7.66
CHX	49.27 ± 5.51	101.90 ± 4.67	130.03 ± 9.71	153.77 ± 13.93	177.37 ± 11.47	206.70 ± 9.73	224.77 ± 7.82	250.57 ± 10.74	287.70 ± 8.92
对照	53.75 ± 3.21	103.23 ± 5.22	136.35 ± 3.94	166.95 ± 5.22	191.70 ± 6.29	197.60 ± 7.00	232.05 ± 5.69	264.48 ± 4.53	295.33 ± 9.41

表 2 各组大鼠上颌磨牙窝沟龋损的 Keyes 计分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	磨牙数 (颗)	龋损分级			
		E	Ds	Dm	Dx
EGCG	36	16.75 ± 0.69**	8.50 ± 2.31*	2.50 ± 1.47*	1.42 ± 0.61***
NaF	36	15.75 ± 1.52*	9.67 ± 2.41*	2.33 ± 1.52**	0.50 ± 0.50**
CHX	36	15.33 ± 1.62*	7.00 ± 1.53**	2.42 ± 0.98***	0.17 ± 0.24***
对照	36	19.00 ± 0.87	15.25 ± 1.68	9.08 ± 1.67	4.42 ± 1.13

与对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

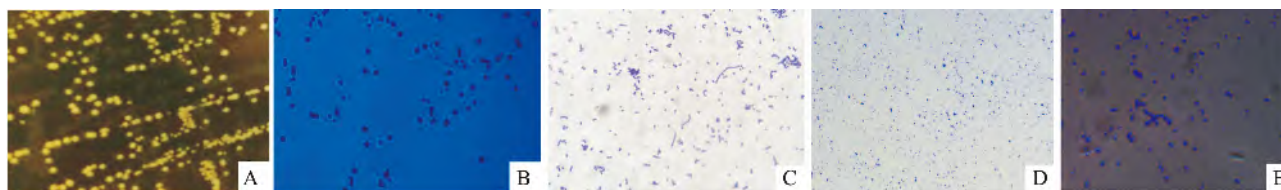


图 1 变形链球菌鉴定

A、B: *S. mutans* (ATCC25175) 的细菌形态在 BHI 和 MSB 培养基上的比较; C: 变形链球菌 (ATCC25175) 革兰染色油镜下的细菌形态 $\times 100$; D、E: *S. mutans* (ATCC25175) 革兰染色荧光正置显微镜下的形态 $\times 5$ 、 $\times 20$

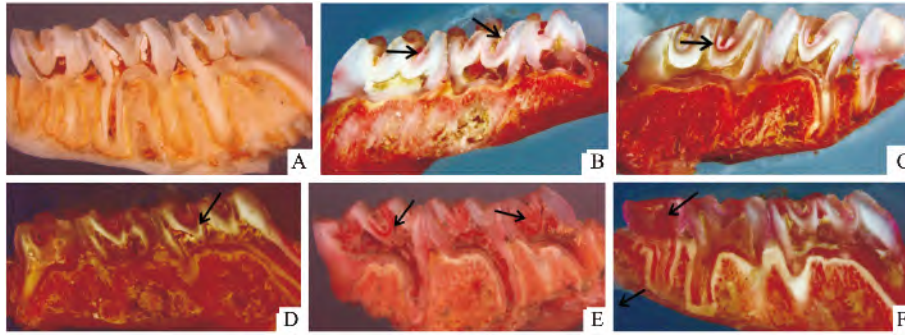


图2 各种龋齿模型 紫脲酸铵染色 × 10

A: 正常牙齿; B: 窝沟龋 E 级龋损; C: 窝沟龋 Ds 级龋损; D: 窝沟龋 Dm 级龋损; E: 窝沟龋 Dx 级龋损; F: 深龋穿髓腔(黑色箭头指示龋损)

Ds、Dm 级龋齿计分中, 3 组用药组上颌磨牙 Keyes 计分分值均降低, 但 CHX 组抑龋效果更好 ($P = 0.0015$; $P = 0.0001$); 在 Dx 级龋齿计分中, 与对照组比较, 其余各组的龋齿计分均降低很多, 且差异有统计学意义 ($F = 31.66$, $P < 0.001$), 显示各用药组都有一定的预防窝沟龋齿的作用(表 2), 各用药组间龋齿计分差异无统计学意义, 大鼠磨牙各种窝沟龋损模型见图 2。

3 讨论

龋齿是最常见的口腔疾病之一, 是一种细菌感染性疾病。 *S. mutans* 被认为是龋齿发病的主要病因, 具有较强的产酸、耐酸性和检出率高等特性。龋齿的发生几乎与细菌对碳水化合物的代谢有关, 特别是 *S. mutans* 代谢碳水化合物后产生的酸, 将降低口腔中的 pH, 反过来对口腔微生物群施加生理压力。由于其耐酸的特性, *S. mutans* 比不耐酸的物种有竞争优势, 当环境条件不太有利时, *S. mutans* 在致龋菌斑数量上占主导地位。它能代谢多种碳水化合物, 黏附在牙齿表面, 形成生物膜。据报道^[2-3] *S. mutans* 的高数量与龋齿率的增加有直接关系。

EGCG 是儿茶素的一种, 具有广泛的生物学和药理活性。此外, 它还具有较高的抗菌功效, 其作用机制与它的化学结构有关。此外它还具有很强的抗氧化活性, 可以减少酸性化合物的产生, 并通过对细菌胞质膜的不可逆性损伤, 发挥对口腔链球菌的抗菌作用^[7, 12]。有研究^[5]表明, EGCG 对口腔主要致龋细菌的产酸、耐酸以及黏附等致龋毒力因子有明显的抑制作用。除了已知的抑菌作用外, EGCG 可能还抑制 *S. mutans* 对牙齿表面的黏附, 从而破坏成熟生物膜形成的最初步骤, 减少龋齿的发生^[1]。该课题组的前期体外研究^[8]表明: EGCG 对 *S. mutans*

的 MIC 为 6.25 mg/L, 说明当药物浓度 ≥ 6.25 mg/L 就可以抑制 *S. mutans* 的增殖。MIC 的 EGCG 对 *S. mutans* 的产酸、增殖及黏附有较好的抑制作用。

由于细菌 - 食物 - 宿主间相互作用的复杂性, 研究人员不得不使用动物模型, 在控制条件下研究龋齿病变。当喂食致龋食物时, 啮齿动物的牙齿可发展龋齿, 尽管人类和啮齿动物的牙齿解剖结构不同, 但由于它们较易获得且成本较低, 开始被应用于龋病的研究^[13-14]。目前关于 EGCG 对 *S. mutans* 作用的研究多集中于体外, 尚缺乏 EGCG 对 *S. mutans* 致龋能力影响的体内实验研究。该研究的目的是利用大鼠龋病动物模型研究最低抑菌浓度的 EGCG 在大鼠口腔内对 *S. mutans* 致龋能力的抑制作用。调查 EGCG 对 *S. mutans* 的生长及其体内致龋潜力的影响。Keyes 龋齿计分统计结果显示, EGCG 组窝沟面龋损程度少于对照组, 且对牙本质深龋有较好的防治作用。表明 EGCG 具有抑制龋病发生发展的作用。该研究结果发生的机制可能与前期体外实验的结果一致: EGCG 可以抑制变链菌的生长黏附、降低牙菌斑的聚集及抑制葡萄糖基转移酶 (GTF) 的活性。最后, 对 EGCG 的防龋效能进行了综合评估: Keyes 计分表明 MIC 的 EGCG 能够抑制大鼠窝沟龋损形成和严重程度。此外, 在整个实验过程中, 各组大鼠一般健康状况良好, 体质量均匀增长, 口腔黏膜未见异常表现, 与对照组相比饮食的消耗差异无统计学意义, 结果显示实验药物经口腔局部应用具有良好的安全性。

该研究表明, MIC 的 EGCG 可减少大鼠磨牙窝沟龋的发生并降低龋损严重程度, 且对大鼠饮食和体质量的变化无影响。同课题组前期体外研究结果, 从多方面验证了 EGCG 对口腔致龋菌的抑制作用, 表明天然药物 EGCG 能抑制大鼠口腔变形链菌的生长代谢, 可有效预防龋齿的发生, 为龋病的防治

提供更多的实验依据。推测 EGCG 可能作为一种天然、安全的防龋药物,在防治龋病方面发挥重要作用。

参考文献

- [1] Bai L, Takagi S, Ando T, et al. Antimicrobial activity of tea catechin against canine oral bacteria and the functional mechanisms [J]. J Vet Med Sci, 2016, 78(9): 1439-45.
- [2] Fakhruddin K S, Ngo H C, Samaranyake L P. Cariogenic microbiome and microbiota of the early primary dentition: a contemporary overview [J]. Oral Dis, 2019, 25(4): 982-95.
- [3] Fialho M P N, Hass V, Nogueira R P, et al. Effect of epigallocatechin-3-gallate solutions on bond durability at the adhesive interface in caries-affected dentin [J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2019, 91: 398-405.
- [4] Abranches J, Zeng L, Kajfasz J K, et al. Biology of Oral Streptococci [J]. Microbiol Spectr, 2018, 6(5): 10.
- [5] Higuchi T, Suzuki N, Nakaya S, et al. Effects of lactobacillus salivarius WB21 combined with green tea catechins on dental caries, periodontitis, and oral malodor [J]. Arch Oral Biol, 2019, 98: 243-7.
- [6] Wu C Y, Su T Y, Wang M Y, et al. Inhibitory effects of tea catechin epigallocatechin-3-gallate against biofilms formed from Streptococcus mutans and a probiotic lactobacillus strain [J]. Arch Oral Biol, 2018, 94: 69-77.
- [7] Braicu C, Ladomery M R, Chedea V S, et al. The relationship between the structure and biological actions of green tea catechins [J]. Food Chem, 2013, 141(3): 3282-9.
- [8] 施秀芳, 刘雨, 杨棕昕, 等. EGCG 对致龋变异链球菌抑制作用的研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(5): 715-8.
- [9] Xu J, Miao C, Tian Z, et al. The effect of chemically modified tetracycline- β on the progression of dental caries in rats [J]. Caries Res, 2018, 52(4): 297-302.
- [10] Bahdila D, Markowitz K, Pawar S, et al. The effect of iron deficiency anemia on experimental dental caries in mice [J]. Arch Oral Biol, 2019, 105: 13-9.
- [11] Galvão L C, Rosalen P L, Rivera-Ramos I, et al. Inactivation of the spxA1 or spxA2 gene of streptococcus mutans decreases virulence in the rat caries model [J]. Mol Oral Microbiol, 2017, 32(2): 142-53.
- [12] Hairul Islam M I, Arokiyaraj S, Kuralarasam M, et al. Inhibitory potential of EGCG on Streptococcus mutans biofilm: a new approach to prevent cariogenesis [J]. Microb Pathog, 2020, 143: 104129.
- [13] 张延清, 童忠春, 李欣, 等. 乳酸链球菌对大鼠人工龋发生的影响 [J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2016, 10(6): 383-8.
- [14] Liu S, Wu T, Zhou X, et al. Nicotine is a risk factor for dental caries: an *in vivo* study [J]. J Dent Sci, 2018, 13(1): 30-6.

Animal experiment study on green tea extract EGCG to prevent dental caries

Li Fang, Liu Yajun, Liu Zeting, et al

(Stomatological College of Anhui Medical University Hefei 230032)

Abstract Objective To explore the preventive effect of epigallocatechin gallate (EGCG) on dental caries through the rat dental caries model, and provide experimental and theoretical basis for clinical research of natural medicine EGCG on preventing caries. **Methods** Twenty-four SD rats were selected and randomly divided into EGCG group, sodium fluoride (NaF) group, chlorhexidine acetate (CHX) group and distilled water (control) group, each with 6 rats. The rats were inoculated with standard strain of *streptococcus mutans* (*S. mutans*) and given cariogenic feed 2000# and 5% sucrose solution. The oral cavity of rats was rinsed and coated with minimum inhibitory concentration (MIC) EGCG, 250 mg/L NaF solution, 0.12% CHX solution and distilled water, respectively. After 6 weeks of continuous treatment, the rats were sacrificed. The jaws of the rats were collected and analyzed by Keyes score method to evaluate the caries of the rats' maxillary molars. **Results** The Keyes scores of caries showed that compared with the control group, drugs in each group had different degrees of inhibition effect on the formation and severity of caries in rats. Among them, the EGCG group had better effect on enamel caries ($P < 0.01$) and dentin caries, and had much better effect on dentin deep caries ($P < 0.001$) of maxillary fossa and fissure caries in rats. However, the prevention and treatment effect of superficial and middle dental caries was lower than that of CHX group. **Conclusion** EGCG with MIC concentration reduces the incidence and severity of dental caries, and has a significant inhibitory effect on the occurrence of dental caries in rats.

Key words epigallocatechin gallate; EGCG; *streptococcus mutans*; SD rats; dental caries