

令和 3 年 6 月 5 日現在

機関番号：17601
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2018～2020
課題番号：18K05521
研究課題名(和文) ヒスタミンは脂質酸化物の関与で生成するか？

研究課題名(英文) Is histamine produced by lipid oxidation?

研究代表者

田中 竜介 (TANAKA, RYUSUKE)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：30399654

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではヒスタミンの生成において脂質酸化物が関与するかどうかについて検討を行った。脂質酸化物としては様々なアルデヒド類に着目した。アルデヒド類とヒスタミンの前駆物質であるヒスチジンの反応性について検討を行った結果、反応性が高いアルデヒドは分鎖構造、二重結合を持つ炭素数6または7のアルデヒド類であった。これらのアルデヒドは植物油、畜肉、魚肉に含まれる脂肪酸の酸化によって生成されるため、品質が劣化した食品ではその存在が予測される。なお、これらの反応によってヒスタミンそのものの確認には至らなかったが、反応条件などを変化させることによりヒスタミン生成の可能性が予測される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒスタミンは食品の品質劣化に伴い増殖するヒスタミン生成菌によってヒスチジンから生成されると言われている。しかし、ヒスタミンの生成はこの生成菌によるものだけではなく、他の要因も提唱されている。本研究はヒスタミンの新たな生成機構を解明するものであり、その要因として脂質酸化物の関与を示した。2020年11月に「カツオ節だしパック」の煮過ぎによってヒスタミン中毒が発生するという事例があったが、本研究結果はその原因の一端を示すものとして考えられ、その原因を解明する一つの参考データとなることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated whether histamine are generated by lipid oxides. We focused on various aldehydes as lipid oxides. The reactivity of aldehydes and histidine, which is a precursor of histamine, was investigated. As a result, the highly reactive aldehydes had chain structure, double bond, and 6 or 7 carbon atoms. Since these aldehydes are generated by the oxidation of fatty acids contained in vegetable oil, animal meat, and fish meat, their presence is predicted in foods with deteriorated quality. Although histamine itself could not be confirmed by this study, the possibility of histamine production is predicted by changing the reaction conditions.

研究分野：食品分析 品質評価

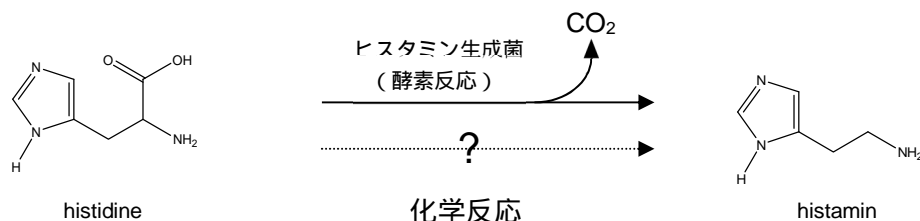
キーワード：ヒスタミン ヒスチジン アミノ酸 アルデヒド 脂質酸化 HPLC

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

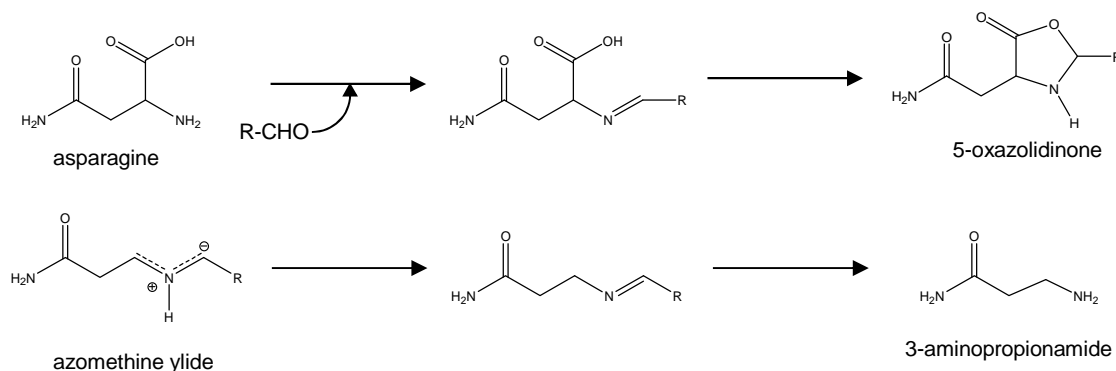
1. 研究開始当初の背景

ヒスタミンは、水産物に含まれるヒスチジンにヒスタミン産生菌が持つ脱炭酸酵素が作用し、ヒスタミンに変換されることによって生成される。そのため、ヒスチジンを多く含む水産物が不適切に管理された場合、水産物のヒスタミン産生菌が増殖し、ヒスタミンが生成される。従って、ヒスタミン中毒の予防は、ヒスタミン産生菌の増殖と酵素作用を抑えることを念頭に置き、原材料から最終製品の喫食までの一貫した温度管理が重要とされている。

ところで、ヒスタミンの生成はヒスタミン産生菌による脱炭酸酵素によるものだけが原因なのか？食品中の成分の変化は、酵素による変化と非酵素（化学反応）による変化が考えられる。非酵素による変化は食品の加工（加熱など）によって起こるため、非酵素的反応によるヒスタミンの生成も予測され、酵素作用を抑えるための温度管理だけではヒスタミン生成の抑制は難しいと考えられる。



Hidalgo et al (2013) はアミノ酸の一つである asparagine に脂質酸化物を反応させることにより、5-oxazolidinone が生成され、脱炭酸、azomethine ylide を経て、3-aminopropionamide が生成されることを示し、この時の脂質酸化物として、アルデヒドの一つである 2,4-alkadienals が、asparagine との反応性が高く 3-aminopropionamide を生成することを示した。この反応を参考にすると、アルデヒド類の存在下でヒスチジンからヒスタミンが生成される可能性も示唆される。



2. 研究の目的

本研究では、これらの研究背景をもとに、ヒスチジンと脂質酸化物（特にアルデヒド類）の反応に着目して、ヒスタミンの生成の可能性を検証し、その反応機構を解明する。さらに、ヒスタミンの生成と同様に、水産物の品質劣化に伴い脱炭酸によってアミノ酸のチロシンからチラミン、リジンからカダベリン、オルニチンからプトレシン等の生体アミン類がそれぞれ生成される。これらチラミン、カダベリン、およびプトレシンは腐敗臭を伴うだけでなく、ヒスタミンの解毒作用を阻害するため、ヒスタミンの作用が持続・増強される。従って、食品の品質・衛生の観点からヒスタミンと同様にチラミン、カダベリン、およびプトレシンの生成についても検討する。なお、これら生体アミン類の分析および評価にあたり HPLC を利用した迅速分析法の開発も行う。

3. 研究の方法

(1) 食品におけるヒスタミンをはじめとする生体アミン類の迅速分析方法の開発

食品におけるヒスタミンのみの分析方法は多く知られているが、本研究ではヒスタミンに限らず他の生体アミン類の分析も必要であることから、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を利用した、生体アミン類の一斉分析法の開発を行う。

(2) ヒスチジンおよびヒスチジン含有ジペプチドとアルデヒド類の反応性の確認

生体アミン類の生成を検討する際に、前駆物質であるアミノ酸とアルデヒド類の反応性を確認する必要がある。そこで、ヒスタミンの前駆体であるヒスチジンとアルデヒド類の反応性について検討する。アルデヒドについては脂質酸化物由来のアルデヒドに限らず糖由来のアルデヒドについても検討を行う。また、ヒスチジンにおいては最近注目されているヒスチジン含有ジペ

プチド（カルノシン、アンセリン、バレニン）の反応性にも着目する。

(3) ヒスチジンと脂質酸化由来のアルデヒドの反応によるヒスタミン生成の確認

Hidalgo et al (2013)の報告を参考にヒスタミンの前駆物質であるヒスチジンと 2,4-alkadienals (hexa-, hepta-, deca-)の反応によりヒスタミンの生成を確認する。

4. 研究成果

(1) 食品におけるヒスタミンをはじめとする生体アミン類の迅速分析方法の開発

食品におけるヒスタミンの分析については、ヒスタミンを蛍光誘導体化後 HPLC で分析する方法が一般的であることから、これらの報告を参考に開発を行った。はじめに、ヒスタミンを含む生体アミン類の混合標準物質を試料とし、HPLC の分析条件を検討したところ、移動相にアセトニトリルと水を使用した方法で分析が可能となった。次に、生体（サバ）から抽出した生体アミン類を分析したところ、生体アミン類の検出後に様々な妨害物質が検出されたため、これら除去する必要があるが生じた。そこで、カラムスイッチ法を利用することによって、妨害物質の除去が可能となり 45 分間の分析サイクルでの連続分析が可能となった（図 1）。

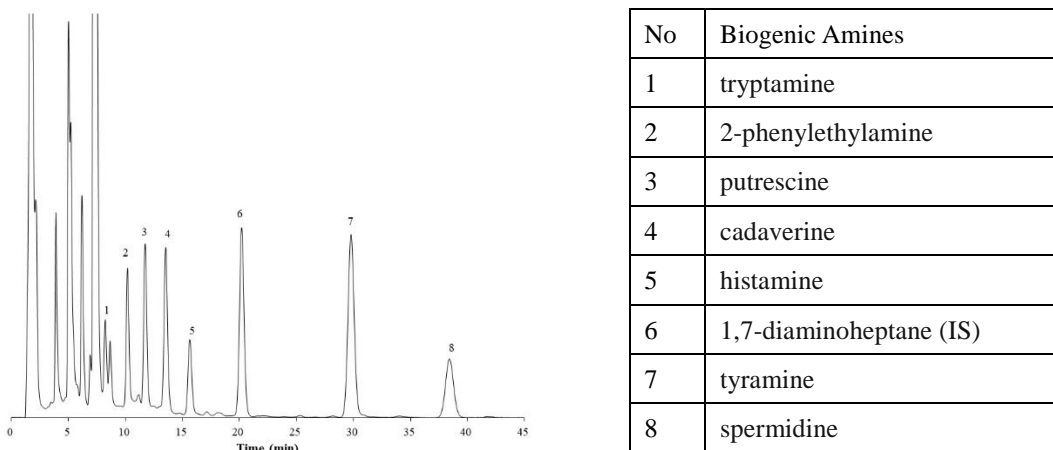


図 1. HPLC-カラムスイッチ法を利用した生体アミン類の一斉分析法

(2) ヒスチジンおよびヒスチジン含有ジペプチドとアルデヒド類の反応性の確認

ヒスチジンおよびヒスチジン含有ジペプチドとアルデヒド類の反応性を確認した結果、ヒスチジン含有ジペプチドが高い反応性を示した。そこで、ヒスチジン含有ジペプチド（カルノシン、アンセリン、バレニン）とアルデヒドの反応性について着目した。ヒスチジン含有ジペプチドの分析を迅速に行うにあたり、HPLC による迅速分析法の開発も行った（図 2）。

開発した HPLC 法を利用し反応性を評価した結果、カルノシンは、不飽和脂肪酸由来のアルデヒドと糖由来のアルデヒドの両方に対して高い反応性を示した。アンセリンは不飽和脂肪酸由来のアルデヒドに対して高い反応性を示したが、糖由来のアルデヒドの場合、カルノシンやバレニンより劣っていた。バレニンは、メチルグリオキサールやグリセロアルデヒドなどの糖由来のアルデヒドに対して、カルノシンと同等またはそれ以上の高い反応性を示した。ただし、不飽和脂肪酸由来のアルデヒドに対しては高い反応性は見られなかった。以上の結果を表 1 に示す。これまで、カルノシンとアルデヒド類との反応性は多く報告されているが、アンセリンおよびバレニンとアルデヒド類との相互作用について報告した初めての報告である。

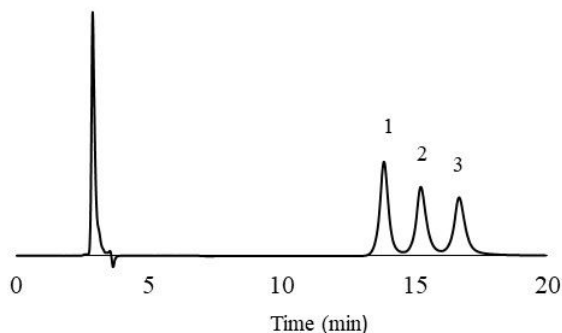


図 2. ヒスチジン含有ジペプチドの HPLC 法
1.カルノシン 2.バレニン 3.アンセリン

表 1. ヒスチジン含有ジペプチドとアルデヒド類の反応性

	カルノシン	アンセリン	バレニン
不飽和脂肪酸酸化由来アルデヒド			
Trans-2-hexenal	84.5	73.4	10.1
4-Hydroxy-2-hexenal	96.2	75.5	25.6
4-Hydroxy-2-nonenal	97.0	76.7	25.6
1-Hexenal	10.3	6.3	8.6
Propanal	3.8	7.5	7.6
糖由来アルデヒド			
3-Deoxyglucosone	2.8	5.8	4.3
Methylglyoxal	10.5	10.1	4.9
Glyceraldehyde	44.4	46.9	76.3

数値は反応割合を示し、100%は全て反応したことを示す。

(3) ヒスチジンと脂質酸化由来のアルデヒドの反応によるヒスタミン生成の確認

研究(2)でヒスチジン含有ジペプチドは不飽和脂肪酸酸化由来アルデヒドとの反応性が高かったことから、不飽和脂肪酸酸化由来アルデヒドに着目しヒスチジンとの反応性に着目した。

その結果、反応性が高いアルデヒドは分鎖構造、二重結合を持つ炭素数 6 または 7 のアルデヒド類であった。これらのアルデヒドは植物油、畜肉、魚肉に含まれる脂肪酸の酸化によって生成されるため、品質が劣化した食品ではその存在が予測される。なお、これらの反応によってヒスタミンそのものの確認には至らなかったが前駆物質であるヒスチジンの減少は確認された。今後は反応条件などを変化させることにより本反応によるヒスタミン生成の可能性が予測される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hikihara R, Yamasaki Y, Shikata T, Nakayama N, Sakamoto S, Kato S, Hatate H, Tanaka R	4. 巻 29
2. 論文標題 Analysis of Phytosterol, Fatty Acid, and Carotenoid Composition of 19 Microalgae and 6 Bivalve Species	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Aquatic Food Product Technology	6. 最初と最後の頁 461-479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/10498850.2020.1749744	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mori Akihiro, Hatate Hideo, Tanaka Ryusuke	4. 巻 26
2. 論文標題 Ability of Three Kind of Imidazole Dipeptides, Carnosine, Anserine, and Balenine, to Interact with Unsaturated Fatty Acid-Derived Aldehydes and Carbohydrate-Derived Aldehydes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Peptide Research and Therapeutics	6. 最初と最後の頁 1651 ~ 1660
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10989-019-09975-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ishimaru Mami, Muto Yuma, Nakayama Akari, Hatate Hideo, Tanaka Ryusuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Determination of Biogenic Amines in Fish Meat and Fermented Foods Using Column-Switching High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Food Analytical Methods	6. 最初と最後の頁 166 ~ 175
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12161-018-1349-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Mori Akihiro, Hikihara Risako, Ishimaru Mami, Hatate Hideo, Tanaka Ryusuke	4. 巻 41
2. 論文標題 Evaluation of histidine-containing dipeptides in twelve marine organisms and four land animal meats by hydrophilic interaction liquid chromatography with ultraviolet detection	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies	6. 最初と最後の頁 849 ~ 854
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/10826076.2018.1526803	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	幡手 英雄 (Hatate Hideo) (10325730)	宮崎大学・農学部・教授 (17601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------