



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on Histamine Production Properties and Control of Morganella psychrotolerans [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	王, 迪
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第14185号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/80003
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Di_Wang_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名： 王 迪

審査委員	主査 教授	佐 伯 宏 樹
	副査 教授	川 合 祐 史
	副査 准教授	山 崎 浩 司
	副査 助教	山 木 将 悟

学 位 論 文 題 目

Studies on Histamine Production Properties and Control of *Morganella psychrotolerans*

(*Morganella psychrotolerans* のヒスタミン産生特性と制御に関する研究)

水産物のヒスタミン食中毒は、ヒスタミン産生菌によって魚肉に蓄積された高レベルのヒスタミンの摂取によって引き起こされる。代表的なヒスタミン産生菌は腸内細菌科に属する中温性の *Morganella morganii* であるが、それと同属で極めて系統的に近縁な低温増殖性を有する新興のヒスタミン生成菌 *M. psychrotolerans* による水産物の汚染が全国に広範囲に広がっていることが明らかになっている。*M. psychrotolerans* によるヒスタミン食中毒の防止のためには、低温保存だけでは十分ではないため、漁獲物の衛生化（産生菌の除殺菌）とヒスタミン生成酵素の阻害を検討する必要がある。申請者は、十分な知見がない本菌 *M. psychrotolerans* のヒスタミン産生特性を明らかにし、その実地的な制御戦略を提案している。

第1章では、*M. psychrotolerans* のヒスタミン産生能について、培養液系と魚肉系で、典型的中温性ヒスタミン産生菌 *M. morganii*、海洋性の低温性産生菌 *Photobacterium phosphoreum* と比較した。*M. psychrotolerans* は、20℃では *M. morganii* と同等の増殖とヒスタミン産生を示し、4℃では *P. phosphoreum* と同等の増殖性にもかかわらず、ヒスタミン産生能が高いことを観察し、*M. morganii* と同等の高レベルのヒスタミンを低温環境下でも蓄積することを明らかにした。

ヒスタミンは細菌のヒスチジン脱炭酸酵素（HDC）によって遊離ヒスチジンから生成するが、*M. psychrotolerans* の HDC をコードする遺伝子 *hdc* の発現は、pH 5 のような低 pH 条

件で大きく誘導された。また、*M. psychrotolerans* 細胞から抽出した HDC の至適温度は 30℃ であり、10℃でも 45%の活性を維持すること、また、至適 pH は 7 であり、pH 5 でその 50%、pH 4 でも 20%の活性を維持することを確認した。NaCl 非存在下での HDC 活性は高く、5%NaCl 条件下でも約 40%の活性を有した。このように、*M. psychrotolerans* の HDC は比較的広い環境条件に適応可能であることを明らかにした。また、HDC の阻害成分についても検討を行い、茶カテキンの 4 つの主要物質のうち、エピガロカテキンガレート (EGCG) が、*M. psychrotolerans* HDC に対して最も高い阻害活性を示し、2mM 濃度の作用で完全阻害することを確認した。

第 2 章では、*M. psychrotolerans* の除殺菌のために、殺菌剤として過酢酸製剤による処理について、*in vitro* 系とサンマを用いたチャレンジテストにおいて有効性を検討した。*in vitro* 系では過酢酸製剤 (過酢酸 20 ppm) は次亜塩素酸ナトリウム (有効塩素濃度 40 ppm) と同等の殺菌効果を有し、サンマを用いたチャレンジテストにおいても、過酢酸製剤 (80 ppm) による 5 分間処理は、次亜塩素酸ナトリウム (100 ppm) と同等に *M. psychrotolerans* の生菌数を約 2 log CFU/cm² 減少させた。過酢酸製剤による抗菌作用機構についても検討し、実用的な殺菌条件においては細胞膜の損傷が主たる要因であることを確認し、食品業界で一般的に使用されている次亜塩素酸ナトリウムの代替として過酢酸製剤が魚体の表面殺菌剤として使用できることを提案した。

第 3 章では、さらに、有機酸と過酢酸製剤の組合せによる抗菌効果を評価した。実際的使用条件を想定して、各種有機酸のなかでも乳酸が *in vitro* 系で *M. psychrotolerans* に対して有意に高い抗菌活性を示すことを確認し、その抗菌作用機構が細胞膜機能の崩壊に関係することを明瞭に示した。サンマ体表の除殺菌における 2%乳酸と低濃度の過酢酸製剤 (10 ppm) の組合せ処理は、過酢酸製剤 (200 ppm) 処理に匹敵する効果を有することを明らかにし、より環境と人間に優しい水産物の表面除殺菌法を提案した。

本研究では、新興の低温性ヒスタミン産生菌 *M. psychrotolerans* のヒスタミン産生特性を初めて明らかにした上で、冷蔵のみでは制御できない *M. psychrotolerans* の増殖とヒスタミン産生を、乳酸-過酢酸系殺菌剤による除殺菌と EGCG のような HDC 活性阻害物質の活用によって制御できることを実証しており、これらの成果は新たなヒスタミン産生菌による食中毒の防止を通じて、水産物の安全確保に貢献するものと高く評価される。よって審査員一同は、申請者が博士(水産科学)の学位を授与される資格のあるものと判定した。