

事業区分	経常研究(基盤)	研究期間	平成 26 年度～平成 27 年度	評価区分	事後評価
研究テーマ名 (副題)	アレルギー様食中毒を惹起するヒスタミン産生菌及びそのヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) の性状に関する検討 ()				
主管の機関・科(研究室)名	研究代表者名	環境保健研究センター・保健科 蔡 国喜			

<県総合計画等での位置づけ>

長崎県総合計画	1. 人が輝く長崎県 (2) 一人ひとりをきめ細かく支える。 ④ 食の安全・安心の確保
科学技術振興ビジョン	(ライフイノベーション)(2) 食の安全・安心プログラム
環境保健研究センター運営計画 (研究重点目標等)	【重点目標 4:安全・安心な生活の確保を目指す】 ④食品健康被害原因物質(細菌・ウイルス)の究明等に関する研究

1 研究の概要(100 文字)

<p>魚類に付着した HDC 産生細菌 (ヒスタミン産生菌) が生成したヒスタミンを魚肉及びその加工品と共に摂取することにより生じると考えられるアレルギー様食中毒について、魚類を汚染し得る菌種の性状及び産生される HDC の酵素性状等を比較検討することにより食中毒予防対策研究への基盤研究とする。</p>	
研究項目	<ul style="list-style-type: none"> ① 各種ヒスタミン産生菌の性状解析 ② 各菌株における HDC 遺伝子の塩基配列・アミノ酸配列の比較解析およびクローニング ③ 各菌株に由来する HDC 遺伝子各種組換え大腸菌の作製および組換え HDC 発現条件の検討 ④ 組換え HDC の精製法および活性測定系に関する検討 ⑤ ヒスタミン産生菌の菌株性状とこれらに由来する組換え HDC の酵素性状の比較検討

2 研究の必要性

1) 社会的・経済的背景及びニーズ	<p>厚生労働省の食中毒統計では、魚介類によるアレルギー様食中毒が毎年報告されており、生鮮魚類がヒスタミン産生菌により汚染されると、アレルギー症状の直接的原因物質の 1 つであるヒスタミンが流通や加工の段階で産生、蓄積される可能性がある。ヒスタミンは熱処理でほとんど分解されないことから食中毒の原因になるものと考えられているが、直接的に因果関係を証明した事例は殆んど皆無である。</p> <p>水産県である長崎県にとってもアレルギー様食中毒の防止対策は重要な課題である。</p>
2) 国、他県、市町、民間での実施の状況または実施の可能性	<p>魚介類からのヒスタミン産生菌分離や魚肉製品中のヒスタミン含量測定を東京海洋大学や大阪府立大学などが実施しているが、食中毒事例検体からの菌分離やヒスタミン産生菌株の増殖性状や HDC 酵素性状について比較検討した研究例は殆んどない。</p>

3 効率性(研究項目と内容・方法)

研究項目	研究内容・方法	活動指標	H					単位
			26	27	28	29	30	
①	各種ヒスタミン産生菌の性状解析	達成率	目標	100				%
			実績	80	20			
②	各種ヒスタミン産生菌に由来する HDC 遺伝子の塩基配列、アミノ酸配列の比較解析および HDC 遺伝子のクローニング	達成率	目標	100				%
			実績	100				
③	HDC 遺伝子組換え大腸菌における各菌株由来 HDC 発現条件の検討	達成率	目標	100				%
			実績		100			
④	組換え HDC の精製法及び活性測定系に関する検討	達成率	目標	70	30			%
			実績	10	50			
⑤	組換え HDC の分子性状並びに生化学性状に関する比較検討	達成率	目標	10	90			%
			実績	10	30			

1) 参加研究機関等の役割分担

2) 予算

研究予算 (千円)	計 (千円)	人件費 (千円)	研究費 (千円)	財源			
				国庫	県債	その他	一財
全体予算	23,982	17,444	6,538				6,538
26年度	12,169	8,722	3,447				3,447
27年度	11,813	8,722	3,091				3,091
28年度							
29年度							
30年度							

※ 過去の年度は実績、当該年度は現計予算、次年度以降は案

※ 人件費は職員人件費の見積額

(研究開発の途中で見直した事項)

人事異動、退職等により研究提案者及び組換え技術熟練者が不在となったため、遺伝子組換え技術については、長崎大学水産学部と新たな連携体制を構築して実施した。

4 有効性

研究項目	成果指標	目標	実績	H					得られる成果の補足説明等
				26	27	28	29	30	
①	学会発表	1回	2回		○				各種ヒスタミン産生菌の生物学的、生化学的性状や HDC の酵素性状等に関する科学的根拠に基づいた情報を発信することにより、アレルギー様食中毒防止対策の進展に寄与する。
②	論文	1回	1回			○			
③									
④									
⑤									

1) 従来技術・先行技術と比較した新規性、優位性

2008年に県内で発生したアレルギー様食中毒において、ヒスタミン産生菌との因果関係を他に先駆けて証明し、その際の検体と分離菌株並びに各種ヒスタミン産生菌標準株を保有していることは性状の比較解析を行う上で優位である。

また、HDC 遺伝子の比較解析および HDC 遺伝子のクローニングについて、長崎大学水産学部の海洋生物化学研究室のご協力を得て、HDC の組換え体を用いて酵素性状を比較解析する上で遺伝子クローニング、組換え体作製および精製法に関するノウハウおよび卓越した技術の蓄積は明らかな独創性と優位性をもたらす。

2) 成果の普及

■ 研究成果の社会・経済への還元シナリオ

- ・鮮魚および魚肉加工品の貯蔵・流通時における温度管理の適正化に提言する
- ・学会等成果発表によるヒスタミン産生菌及び HDC の簡便な検出系等の予防対策技術の開発促進に貢献できる

■ 研究成果による社会・経済への波及効果の見込み

- ・経済効果：魚肉製品の安全性の向上
アレルギー様食中毒患者の発生予防

(研究開発の途中で見直した事項)

種類	自己評価	研究評価委員会
事前	<p>(25年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 S ヒスタミンはアレルギー症状を直接誘引する物質である。ヒスタミン産生菌が鮮魚または魚肉加工品で増殖し、生成したヒスタミンを摂取することにより発症する食中毒はアレルギー様食中毒と呼ばれ、全国で毎年発生しているが、その因果関係は殆んど明らかにされていない。 <p>本県は漁業が主要な産業の一つであり、鮮魚または魚肉加工品を喫食する機会が多いことから、アレルギー様食中毒を生じる潜在的リスクが高いと考えられ、食中毒を予防するためにはヒスタミン産生菌の性状を解析することが不可欠である。</p> ・効率性 A 2008年に県内で発生したアレルギー様食中毒において、ヒスタミン産生菌との因果関係を他に先駆けて証明し、その際の検体と分離菌株並びに各種ヒスタミン産生菌標準株を保有していることは性状の比較解析を行う上で優位である。また、これらに由来するHDCの組換え体を用いて酵素性状を比較解析する上で遺伝子クローニング、組換え体作製および精製法に関するノウハウおよび卓越した技術の蓄積により効率的に研究を進展させ得る。 ・有効性 A 生鮮魚類および加工原料中のヒスタミン含量を測定する簡便法がなく、流通や加工段階でのヒスタミン蓄積による食中毒を防止することはできなかったが、各ヒスタミン産生菌株の増殖性等の性状解析並びに菌が産生するヒスチジン脱炭酸酵素の性状を比較検討することにより、赤肉魚類やねり製品等の原料となる各魚種におけるヒスタミン産生菌分布傾向を把握することで、鮮魚および魚肉加工品の貯蔵・流通時における温度管理の適正化が図られるとともに、アレルギー様食中毒の予防対策技術の開発研究を促進するものと思われる。 ・総合評価 A 本研究の成果を学会・論文発表することにより、魚肉製品の安全性の向上、ひいてはアレルギー様食中毒予防対策に関する基盤研究として貢献できるものと思われる。 	<p>(25年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 A 水産業が主要な産業の1つである本県において、未だ認知不足であるアレルギー様食中毒に対して、先進的な研究を行うことは、社会的にも重要であり、食中毒に関する基礎研究として必要性が高い。 ・効率性 A 管理指標や予防に応用するために必要な基礎研究と位置づけると合理的な研究であり、標準となる菌体も保有し、これまで蓄積された技術や豊富な経験を活用できることから効率性は高い。2年間でどれだけ成果を出せるか、注視していきたい。 ・有効性 B 健康に与える影響を考えると予防策を講じるための研究を行うことは有効である。一方で、最終的な対策につながるような効率のよい方法が2年間で見つかるか疑問もあり、成果が得られる見通しが明らかとは言い難い。しかしながら、本研究は基礎研究であり、その成果次第で応用性が広がるかどうかが決まるため、有効性に関しては、本研究の成果が鍵となる。 ・総合評価 A アレルギー様食中毒の発生を予防することは有益性が高く、成果の活用法を明確にすることができれば意義がある。このため、できるだけ早く成果をまとめ、応用性について評価していただきたい。
対応	対応	<p>対応</p> <p>常にアウトプットを見据え、効率を考えながら計画的に研究を進める。</p>

途 中	<p>(年度) 評価結果 (総合評価段階:)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 ・効率性 ・有効性 ・総合評価 	<p>(年度) 評価結果 (総合評価段階:)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 ・効率性 ・有効性 ・総合評価
	対応	対応
事後	<p>(28年度) 評価結果 (総合評価段階: B)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 S <p>ヒスタミンはアレルギー症状を直接誘引する物質である。ヒスタミン産生菌が鮮魚または魚肉加工品で増殖し、生成したヒスタミンを摂取することにより発症する食中毒はアレルギー様食中毒と呼ばれ、全国で毎年発生しているが、その因果関係は殆んど明らかにされていない。</p> <p>本県は漁業が主要な産業の一つであり、鮮魚または魚肉加工品を喫食する機会が多いことから、アレルギー様食中毒を生じる潜在的リスクが高いと考えられ、食中毒を予防するためにはヒスタミン産生菌の性状を解析することが不可欠である。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・効率性 B <p>本研究では大きく分けてヒスタミン産生菌の微生物学的性状解析、およびヒスタミン産生に関わる HDC 酵素の遺伝学的・生化学的性状解析の二つに焦点を当てて解析を進めてきた。</p> <p>想定外の研究代表者の異動等により、新たな研究体の構築を余儀なくされたが、長崎大学水産・環境科学総合研究科との効率的な連携により、短い研究期間内に、最大の目標であった HDC 発現系の構築に成功した。</p> <p>本研究では、長崎県内で発生したアレルギー様食中毒事件の原材料から特徴的な 2 種のヒスタミン産生菌の分離と同定に成功した。分離菌株とその標準株を用いて、ヒスタミン産生菌の性状と HDC 遺伝子全長塩基配列・アミノ酸配列の特異性に基づいて菌株を絞りこみ、遺伝子組み換え技術により HDC 酵素の誘導発現はできたものの、本酵素の精製及び性状比較には至らなかった。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・有効性 A <p>1、各ヒスタミン産生菌株の性状解析により、ヒスタミン産生菌の増殖と温度の相関関係を明らか</p>	<p>(28年度) 評価結果 (総合評価段階: B)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 A <p>水産業が主要な産業のひとつである長崎県において、人の健康に加え、食品の加工、流通の安全性は重要な課題であり必要な研究であった。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・効率性 B <p>県内における原因菌の性状解析等がなされており、効率的な研究であったが、研究の最終的な成果(県民への利益の還元など)をより具体的に明示し設定したうえで、それを達成するための効率的な計画立案が必要だった。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・有効性 B <p>県内発生の特徴的な菌の分離同定による食中毒発生防止の基礎データとなったことは妥当であるが、流</p>

<p>にし、流通や加工段階でのヒスタミン食中毒を防止するための基礎データを蓄積できた(学会発表済み)。</p> <p>2、遺伝子組み換え技術により、ヒスタミン産生に関わる HDC 遺伝子の塩基配列及びアミノ酸配列の差異を明らかにし、アレルギー様食中毒予防のための基礎データを提示できた(学会発表済み)。</p> <p>3、HDC 発現系の構築および酵素蛋白質の大量生産に成功した。当該発現系を活用した酵素性状の優位性を証明できれば、基礎研究から応用研究に繋がる可能性が高い。外部研究資金応募に期待できる。</p> <p>・総合評価 B 本研究の成果を日本防菌防黴学会及び日本公衆衛生学会で発表することにより、魚肉製品の安全性の向上、ひいてはアレルギー様食中毒予防対策に関する基盤研究として貢献できたものと思われる。</p>	<p>通や加工段階におけるアレルギー性食中毒の防止策として、管理マニュアルのような資料の発表や、成果の周知・指導等の内容が見えず、詳細な検討がまだ不十分であり、研究途中と思われる。今後の研究展開に期待したい。</p> <p>・総合評価 B 県民の食の安全性とともに、本県の水産業にとっては重要な研究と考えられるので、成果の反映方法を念頭においたうえで、次の研究実施も検討されたい。成果を実用化するためには今後多くの検討が必要であるが、研究課題解決に向けて更なる取組みを期待したい。</p>
<p>対応</p>	<p>対応 今後も共同研究機関や現場と連携し、本研究で得られた成果に基づいて、新たな応用研究または実用化研究を企画・立案、実行することで、県民への利益の還元に繋げたい。</p>