サバにおけるヒスタミン代謝に関する生化学的研究—I

活魚サバ胃中へのヒスタミン注入の組織崩壊に及ぼす影響

大竹茂夫・前田利真・福井公一

(1976 年 10 月 14 日受理)

Biological Investigation on the Metabolism of Histamine in Mackerel

(*Scomber japonicus*)—IInfluence of Histamine Injection into Stomach
on the Breakdown of the Tissues

Shigeo OTAKE*, Toshimasa MAEDA*, and Koichi FUKUI*

Investigations were made to clarify whether the rapid softening of the muscle of mackerel (*Scomber japonicus*) after cathing was caused by the histamine accumulated in the stomach.

Comparing the activity of pepsin in the stomachs of mackerel administered L-histamine with that in the stomachs of control mackerel administered only physiological salt solution, it was observed that the increase in the pepsin activity in the control stopped within 50 min after administration, whereas that in the treated stomach continued thereafter.

On the other hand, when L-histamine was administered in the stomach of mackerel, the activity of cathepsin D was lowered in the spleen, and increased in the liver and the muscle.

Although breakdown and/or swelling were commonly observed in the muscles, intestines, livers and kidneys in the control and in the treated mackerels with the lapse of time after sacrifice, the breakdown and/or swelling of all tissues in the treated mackerel were more severe than in the control.

A softening mechanism related to the accumulation of histamine in the stomach was discussed.

サバは多量のヒスタミンを含有し、死後このヒスタミンがヒスタミンに変じ、食中毒の原因となる場合すらあるといわれる。死後におけるこの変化は、主として細菌によるヒスタミンの脱炭酸作用によるといわれており、^{1,2)} また、一部は自己消化によるともいわれている。^{3,4)} さらに、サバは死後短時間内に筋肉の軟化現象、いわゆる“生きぐされ”を表わす。

以上の現象のうち、著者らはサバの自己消化と筋肉の早期軟化現象とのあいだになんらかの関連があるのではないかと考えた。すなわち、哺乳動物においてはヒスタミンが胃液酸分泌に対し促進効果を有することが認められ、^{5,6)} 胃液酸はペプシノーゲンを活性化し、ペプシンを生成することが広く知られている。サバにおいて一部これに類似する現象が現われ、死後短時間内に活性化されたペプシンはそれと等特異性の⁷⁾ 細胞内消化酵素であるカテプシンDの活性化に関与し、このものの活性化を促進してサバ筋肉の軟化現象が生ずると考えられないであらうか。

われわれは、この点についての裏付けを得たいと考え、活魚サバの胃中にヒスタミンを経口的に注入し、

* 日本大学農獣医学部 (College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, 3-34-1, Shimomura, Setagaya-ku, Tokyo).

サバの筋肉および諸臓器の軟化が自然状態よりも激しくなるか否かを組織学的に観察し、その結果に基づいて考察を行なった。

実験材料および方法

材料 マサバ (*Scomber japonicus*); 東海区水産研究所荒崎庁舎のいけすで昭和 47 年に飼育されていた体重 450~600 g の活魚を使用した。

マアジ (*Trachurus trachurus*); 昭和 47 年秋に神奈川県三崎沖で釣った体重 100~200 g の活魚を使用した。

魚体処理方法 対照魚には生理的食塩水 (1 ml/100 g 体重), 試験魚には 0.1% L-ヒスタミン溶液 (1 ml/100 g 体重) をそれぞれ注射器を用いて胃中に注入した。

注入直後延髄刺殺し,⁸⁾ 1~3°C に保存し, 所定時間ごとに魚体各部位から組織片を採取した。

検鏡試料の調製 ブアン氏液で固定し, 脱水後ヘマトキシリン・エオジン二重染色を行なった。

ペプシンの活性度測定 深瀬によつて記述された方法⁹⁾ によつた。

カテプシン D の活性度測定 FOLIN 試薬を使用する方法によつた。

胃内塩酸の検出 胃の噴門部と幽門部を紐で結束し, 注射器を用いて胃内に蒸留水を注入し, しばらくの後これを再び注射器に吸引し, この蒸留水稀釈胃液中の HCl の存否を硝酸銀法および TÄPFER-MICHAELIS 法⁹⁾ で調べた。

Fig. 1. Relative increases in the activities of pepsin in the stomachs of mackerels (*Scomber japonicus*) administrated with (treated) and without (control) L-histamine. The activities of pepsin in the stomachs of the mackerels at the killing are taken as zero percentage.

—○—; Control, ---●---; Treated.

結 果

サバの胃中へヒスタミンを注入した処理魚の胃中ペプシン活性と対照魚のそれと比較した結果を Fig. 1 に示す。ヒスタミン注入後 40~50 分においてもなお処理魚におけるペプシンの活性度は増大し続けることが明らかに認められる。

なお、前述の方法により対照魚胃中における塩酸の存否を検したところ、その存在が確認された。

サバ胃中へヒスタミンを注入してから 30 分（サバ腸管では 1 時間）、3 時間（サバ肝臓については 6 時間）および 10 時間後における筋肉、胃、腸、肝臓および腎臓の各組織切片の顕微鏡写真（×100 または ×400）および対照魚のそれらと比較して Plate I~V に示す。

また、アジについても同様に実験したが、ここには筋肉、腸および腎臓についての 30 分後の組織の検鏡結果のみを Plate VI に示す。

サバの筋肉では内筋筋膜および筋繊維鞘に顕著な変化が対照魚および処理魚の双方に認められ、とくに処理魚における変化は著しく、コラーゲンを主成分とする部分が膨潤している。

内臓諸器官についてみると、胃では 30 分後にすでに処理魚の上皮はほとんど消失し、上皮のつぎの層を形成する固有層も破壊されている。

腸管では 1 時間後において、処理魚の上皮および粘膜下組織が対照魚におけるよりもとくに著しくおかされていることが認められる。

肝臓では毛細胆管および肝細胞索がおかされている。

Fig. 2. Changes in the ratios of the activities of the enzymes in the tissues with time elapsed after the death. The ratios are the quotients of the enzyme activities of the tissues of a mackerel treated with L-histamine divided by those of the control, respectively.

●; Pepsin in the stomach, ○; cathepsin D in the muscle, ◇; cathepsin D in the liver, ⊙; cathepsin D in the spleen, ◆; cathepsin D in the pyloric caeca.

腎臓の 30 分後の検鏡結果によると、腎小体囊が処理魚においては、対照魚のそれよりも一層膨潤して不分明となり、また実質細胞の細胞膜と思われる部分の膨潤が著しく、尿細管についても両者のあいだにかなりの相違が認められる。

以上の観察において共通に認められることは、筋繊維または細胞をとりまいてる膜に相当する部分が、30 分、3 時間または 6 時間後に対照魚に比較して、処理魚において著しく膨潤ないしは破壊されているということである。これらの組織は、筋肉においてはコラーゲンを主成分とする部分であり、臓器においてはタンパク質—多糖類錯体を含む部位のようである。また、時間の経過が大きくなると、概して処理魚と対照魚との差は顕著ではなくなり、後者にも分解が生じることが明らかである。

アジについては、30 分後の筋肉、腸および腎臓について処理魚と対照魚とを比較した。サバの場合に比較し、両者の差はあまり顕著でないようである。

つぎに、胃中ペプシンの増大と他の組織の膨潤ないしは崩壊の現象との関連を追及するいと口として、サバの致死後の経過時間にともなう胃中ペプシン活性の変化と、筋肉、肝臓、脾臓および幽門垂におけるカテプシン D 活性の変化の様相を調べた。それらの結果を Fig. 2 に示す。図における活性の比とは、処理魚におけるそれぞれの酵素の活性度を、対照魚における相当する酵素の活性度で割った値を示す。

胃中ペプシン活性が対照に比較して約 2 倍に増大すると共に、筋肉中のカテプシン D 活性は約 2.5 倍、肝臓中のそれは 2 時間後に約 10.5 倍となり、7 時間後に再び対照とほぼ同レベルに低下した。

これに反して幽門垂におけるカテプシン D 活性は 2 時間後にほぼ消失し、また脾臓では 20% 程度のカテプシン D 活性の減少が認められた。

考 察

以上の結果より、処理魚においてはコラーゲン質部分ならびにタンパク質—多糖類錯体を含む部分がとくにおかされていることが明らかである。

このことは、われわれが最初に予想した点、すなわち、サバにおいても胃中へ塩酸が分泌され、この胃液酸の分泌をヒスタミンが促進する効果を有するものではなからうかとする考えは一応考慮に値するものと考えられる。

サバにおいて、ヒスタミンが胃液酸分泌を促進し、このことが早期肉質軟化といかに関係するかにつき、得られた結果に基づき以下にそれを論議する。

ヒスタミンが哺乳動物において胃液酸分泌促進剤として著名なガストリンと同様な役割をもつことが明らかにされ、^{8,10,11)} またこれによつて分泌された塩酸が、ペプシノーゲンを活性化してペプシンにすることはよく知られている。前述の実験結果にみられるとおり、サバにおいてはその胃中に塩酸が存在し、またヒスタミンを胃に注入した処理魚にては、対照魚に比較して注入後長時間にわたつて胃中のペプシンが増加した。これらの結果から、サバにおいても哺乳動物と類似した機構にて、胃液酸の分泌およびペプシノーゲンの活性化が生じるものと考えられる。

また、本実験にみられるように、ヒスタミンのサバ胃中への注入により、胃中ペプシンの増加にともない、脾臓中のカテプシン D が減少し、また、幽門垂のそれはほとんど消失した。一方、筋肉内および肝臓内においてはカテプシン D の活性は増大することが認められる。これら 2 種の酵素の消長には何らかの関連があるかとも思われるが、その機作などについては明らかでない。

カテプシン D はコラーゲン・フィラメントを分解する作用を有している。すなわち、生体組織において、コラーゲン繊維が collagenase によつてコラーゲン・フィラメントとなり、このものがリソゾームのカテプシン D によつてペプチッドへ分解する。⁷⁾

今回行つたヒスタミン投与魚の組織の検鏡結果において、筋肉における内筋周膜および筋繊維鞘、腸における腸上皮および粘膜下組織、肝臓および腎臓の細胞膜など、いずれもコラーゲン性物質またはタンパク質—多糖類錯体を含有する組織がおかされていた。後者もまたカテプシン D によつて分解されるものである。胃

における上皮および固有層の崩壊はカテプシンDによるものではなく、ヒスタミン注入によるペプシンの増大にともなうものと考えられる。

以上をとりまとめると、サバは他魚種と異なり、死後ヒスタミンが内因的に蓄積されるような代謝系を有し、蓄積されたヒスタミンは胃液酸の分泌を増大させ、これにともなつてペプシンがある期間増大し続け、この際、機作は現在のところ不明であるが、筋肉、肝臓およびその他の組織内のカテプシンDが増大し、各種組織のコラーゲンおよび（または）タンパク質—多糖類錯体を分解し、サバが漁獲後急速に筋肉の軟化現象をおこすものと推定される。

最後に、活魚サバ試料を提供して下さった東海区水産研究所小川良徳技官、組織の検鏡技術をご指導下さった本学助教授東嶺三博士に厚く御礼申し上げます。

なお、活魚サバ胃中の塩酸の検出の実験は佐々木武厚君が実施した。

文 献

- 1) 木俣正夫・河合 章：京大食研報，(5)，21-28 (1951).
- 2) 清水 亘・黒川慶昭・池田静徳：同誌，(12)，40-48 (1953).
- 3) 木俣正夫・河合 章：同誌，(6)，23-29 (1951).
- 4) 木俣正夫・河合 章：同誌，(11)，88-95 (1953).
- 5) J. S. EDKINS: *J. Physiol.*, **34**, 133-144 (1906).
- 6) G. KAHLSON, A. ROSENGREN, D. SVAHN and R. THUNBERG: *J. Physiol.*, **174**, 400-416 (1964).
- 7) J. F. WOESSNER, Jr.: *Tissue Proteinases, Proc. Roy. Soc. wates symp.*, **1970**, pp. 291-311.
- 8) 天野慶之・尾藤方通・河端俊治：本誌，**19**，487-498 (1953).
- 9) 深瀬欣也：東京慈恵医大誌，**72**，2018-2026 (1957).
- 10) T. M. LIN and D. C. EVANS: *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **188**, 145-155 (1970).
- 11) M. I. GROSSMAN: *Fed. Proc.*, **27**, 1312-1313 (1968).

Explanation of Plate I~VI

- Plate I.** Comparison of sections of the muscles of mackerels administrated with (treated) and without (control) L-histamine solution in the stomachs. Left; control and right; treated.
En; Endomysium, Sa; Sarcolemma, Mf; Muscle fiber, At; Adipose tissue, Bv; Blood vessel, Ne; Nerve.
- Plate II.** Comparison of sections of the stomachs of mackerels administrated with (treated) and without (control) L-histamine solution in the stomachs. Left; control, right; treated.
Ep; Epithelium, Tp; Tunica propria, Fu; Fundus gland, Mu; Muscular tunic of the mucous membrane, Su; Submucous coat.
- Plate III.** Comparison of sections of the intestines of mackerels administrated with (treated) and without (control) L-histamine solution in the stomachs. Left; control, right; treated.
Vi; Vili intestinales, Su; Submucous coat, Mu; Muscularis mucosae, Se; Serous membrane.
- Plate IV.** Comparison of sections of the livers of mackerels administrated with (treated) and without (control) L-histamine solution in the stomachs. Left; control, right; treated. Each section shows the parts of the lobes.
In; Intralobular biliary duct, Vc; V. centralis, Bc; Bile canalicule, Hc; Hepatic cell cords.
- Plate V.** Comparison of sections of the kidneys of mackerels administrated with (treated) and without (control) L-histamine solution in the stomachs. Left; control, right; treated.
Kc; Kidney corpuscle, Gl; Glomerulus, Bc; Bowman's capusule.
- Plate VI.** Comparison of sections of the muscles, intestines and kidneys of horse-mackerel (*Trachurus trachurus*) administrated with (treated) and without (control) L-histamine solution in the stomachs. Left; control, right; treated. All sections show the states at 30 min after the administration.

Plate I

After 30 min. X400

After 3 h. X100

After 10 h. X400

Plate II

After 30 min. X400

After 3 h. X100

After 10 h. X400

Plate III

After 1 h. X100

After 3 h. X100

After 10 h. X100

Plate IV

After 30 min. X400

In or Vc

Hc

Bc

After 6 h. X100

After 10 h. X400

Plate V

After 30 min. X4 00

After 3 h. X1 00

After 10 h. X4 00

Plate VI

Muscle X400

Intestine X100

Kidney X400