

課題3. 昆虫食のアレルゲン性に関する検討

研究分担者 安達 玲子

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「昆虫食」における大規模生産棟産業化に伴う安全性過酷のための研究」
分担研究報告書（令和5年度）

昆虫食のアレルゲン性に関する検討

研究分担者： 安達 玲子 国立医薬品食品衛生研究所 生化学部 第二室長
研究協力者： 爲廣 紀正 国立医薬品食品衛生研究所 生化学部 第三室長

研究要旨

甲殻類の主要アレルゲンタンパク質は昆虫類のアレルゲンタンパク質と交差反応性を示すことから、昆虫食は甲殻類アレルギー患者においてアレルギー症状を誘発する可能性がある。本課題では、国内で現在市販されている昆虫食のアレルゲン性について甲殻類主要アレルゲン（トロポミオシン）との交差反応性、ならびにアレルギー患者血清との反応性、そして加工工程におけるアレルゲン性の変化について検討する。本年度は、公定検査法として定めている甲殻類アレルゲンの定量検査法（ELISA法）を用いて、昆虫食に含まれるタンパク質の交差反応性について検討した。昆虫の種類や加工度が異なる12検体を解析に供したところ、すべての検体において甲殻類トロポミオシン特異的抗体が認識するタンパク質が含まれていた。今後、甲殻類アレルギー患者血清を用いた検討を中心に、昆虫食に含まれるタンパク質の健康被害に与える影響について、さらなる科学的知見を集積することが必要と考えられる。

A. 研究目的

2013年に国際連合食糧農業機構(FAO)が発表した報告書において、多くの昆虫はタンパク質やミネラル等が豊富であり、食用等に利用する上でも環境への負担が少ないこと等が公表されたことにより、昆虫食は人口増加による食糧不足を補う食糧源として注目されている。このため、欧州では持続可能な開発目標(SDGs)の取り組みとして事業化に向けた技術整備や安全性試験が進められており、日本でも2020年頃から市場規模が徐々に拡大している。

昆虫食が新たなタンパク源として注目される中、昆虫には甲殻類に似たアレルゲンが含まれており、「えび」や「かに」にアレルギーを持つ人ではアレルギー反応を引き起こす可能性があることが指摘されている。また、国内において、昆虫を喫食したことによるアナフィラキシー

症状を呈した症例の報告があり、海外では同様のアナフィラキシー発症事例が多数報告されている。したがって、昆虫食に対する需要の拡大は、国民に健康被害の生じる懸念が残るため、安全性に関する研究を進展させ、毒性にかかわる科学的知見を収集することが望まれる。

昆虫食のアレルゲンは、甲殻類のアレルゲンと構造が非常によく似た相同タンパク質が含まれている。主要アレルゲンの一つにトロポミオシンがあり、これは熱に強い性質をもつため、加熱調理してもアレルギー反応を引き起こす可能性が残る。研究分担者である安達らは、昆虫を原料とする健康食品には甲殻類トロポミオシン特異的抗体が反応するタンパク質が含まれていること、そして、甲殻類アレルギーの患者が昆虫食を喫食することにより、アレルギー症状が誘発される可能性があること等をこ

れまで示してきた。そこで、本分担研究では、国内で現在流通している市販昆虫食のアレルゲン性について甲殻類主要アレルゲン（トロポミオシン）との交差反応性、ならびにアレルギー患者血清との反応性、そして加工工程におけるアレルゲン性の変化について検討する。

食物アレルゲンを含む加工食品は、食品表示法にてアレルゲンの表示が義務付けられており、表示を検証するための公定検査法が定められている。令和5年度は、公定検査法を用いて、入手可能な昆虫食12検体について、昆虫食に含まれるタンパクの甲殻類アレルギーにおける交差反応性を検証した。

B. 研究方法

検体

国内で市販されている昆虫食製品12種類を入手し、検体として使用した（表1）。

甲殻類 ELISA キットによる測定

アレルゲンを含む食品の表示制度における義務表示品目であるえび・かにの表示を検証するための ELISA キット2種（FA テスト EIA-甲殻類（島津ダイアグノスティクス（株）製、以下 S キット）、及び、甲殻類キット II「マルハニチロ」（マルハニチロ（株）製、以下 M キット）を用い、上記の昆虫食12検体について各キットにおける反応性を検討した。検体からのタンパク質抽出に関しては、通常の方法（室温で一晩（12 時間以上）振とう）に加えて、昆虫が含有するプロテアーゼによるタンパク質分解の可能性を考慮し、プロテアーゼ阻害剤（Halt Protease Inhibitor Cocktail（Thermo Fisher Scientific 社製））を添加する方法、及び加熱抽出法（100℃、30 分）も合わせて検討した。

C. 結果

検体としては、日本国内において通信販売等で入手可能な市販の昆虫食製品12種類を使用した（表1）。カイコ、ミルワーム、コオロギ、

ハチ、アリ、及びバッタを原料とし、本来の形状のままの冷凍品や乾燥品、あるいはパウダー状の製品、また、加熱された製品あるいは非加熱の製品等、多様な製品を選択した。

甲殻類アレルゲンと昆虫アレルゲンとの間には交差反応性が見られることが知られている。また、わが国の食品表示制度における「アレルゲンを含む食品の表示」では、甲殻類であるえび及びかにが義務表示品目に指定されており、その表示を検証するためのスクリーニング検査法として2種類の ELISA キット（S キット及び M キット）が指定されている。これら2種類の ELISA キットでは、甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシンに対するモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体が使用されている。従って、これらの甲殻類 ELISA キットに対して反応性を示す昆虫食製品は、甲殻類アレルギー患者のトロポミオシンに対する IgE 抗体に結合しアレルギー症状を誘発する可能性が考えられる。そこで、これらの甲殻類 ELISA キットに対する各検体の反応性を検討した。その際、昆虫が含有するプロテアーゼによるタンパク質分解の可能性を考慮し、検体からのタンパク質抽出に関しては、キット取扱説明書に記載されている通常の方法（室温で一晩（12 時間以上）振とう）に加えて、プロテアーゼ阻害剤を添加する方法、及び、加熱抽出法（100℃、30 分）も合わせて検討した。加熱抽出法は、プロテアーゼを多く含有する非加熱のえび・かにを検体とする際に推奨されている方法である（「生のえび、かに（非加熱の乾燥品を含む）測定用推奨プロトコール— 抽出操作」

（<https://industrial-diagnostics.biz.sdc.shimadzu.co.jp/products/pickup/fa-test-eia/>）参照）。

3 種の抽出方法を用いた 12 検体の測定結果を表 2 及び図 1 に示す。（定量値はえびタンパク質を標準として算出された値であり、昆虫トロポミオシンの定量値ではない。）S キットでは全ての検体で反応が見られた。一方 M キット

ではSキットと比較して反応性が低かった。検体からのタンパク質抽出に関してプロテアーゼ阻害剤の効果は特に見られなかった。一方、加熱抽出の場合、他の抽出方法と比較して大きな測定値が得られた。

そこで、検体からのタンパク質抽出方法として加熱抽出法を採用し、ELISA キットにおける測定結果の再現性について検討した。表3及び図2に、3回の測定結果の平均値及び標準偏差(SD)を示す。SDの大きな検体もあったが、Sキット、Mキットともに測定結果の再現性が確認された。検体の種類や加工工程における加熱/非加熱との相関は特に見られなかった。

D. 考察

本研究では、甲殻類アレルゲンと昆虫アレルゲンの交差反応性の1つの指標として、甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシンに対する抗体を用いたELISAキットにおける昆虫食検体の反応性について検討した。12種類の市販の昆虫食製品について検討したところ、どの検体においても甲殻類ELISAキットにおける反応性が確認されたことから、これらの製品が甲殻類アレルギー患者においてアレルギー症状を誘発する可能性があることが示された。

使用した2種類のELISAキットを比較したところ、Sキットの方がMキットよりも大きな測定値が得られた。これは、筆者らが以前報告した、甲殻類ELISAキットにおける蜂の子及び蟻を原材料とする健康食品の反応性の検討結果と同様であり(参考論文参照)、2種類のELISAキットで使用されている抗体の特性の違いによるものと考えられる。

検体からのタンパク質抽出において、プロテアーゼ阻害剤の効果は特に見られなかったことから、今回使用した検体に関してはプロテアーゼの影響を特に考慮する必要はないと考えられた。一方、加熱抽出を行った場合に甲殻類ELISAキットでの測定値が最も大きかった。トロポミオシンは線維状のアクチン結合タンパ

ク質であり、2本の α ヘリックスからなるコイルドコイル構造をとっている。これまでに、加熱によって、 α ヘリックスがほどける、溶解性が増大する等の報告があることから、加熱抽出ではトロポミオシンの溶解性の増大がELISA測定値の増大につながったのではないかと考えられる。

今後は、甲殻類アレルギー患者血清を使用し、ウェスタンブロッティングやヒト化培養マスト細胞活性化試験等を実施し、昆虫食によりアレルギー症状が誘発される可能性について検討を進めるとともに、加熱等の加工によるアレルゲン性の変化についても解析を行う予定である。

E. 結論

甲殻類の主要アレルゲンはトロポミオシンであり、昆虫類トロポミオシンと交差反応することから、昆虫食は甲殻類アレルギー患者にアレルギー症状を誘発する可能性がある。そこで、甲殻類トロポミオシンを特異的に認識する抗体を用い、国内で流通している昆虫食に含まれるタンパク質の中に抗体が認識するタンパク質が存在するかを検証した。甲殻類トロポミオシン特異的抗体を構成試薬とする甲殻類ELISAキットを用い実施したところ、12種類の市販昆虫食製品すべてから、トロポミオシン抗体が反応するタンパク質が検出され、評価した昆虫食にはトロポミオシン様タンパク質が含まれていることが示唆された。また、非加熱の製品に比べ、加熱加工処理による抗原性の低下は認められなかったほか、昆虫タンパク質を抽出する際、加熱抽出法を採用することで昆虫トロポミオシンを感度よく検出できる傾向が観察された。本研究により得られた昆虫食の交差反応性に関する検討結果は、甲殻類アレルギー患者の健康被害の防止につながる知見となると考えられる。今後、臨床学的にアレルゲンが与える影響について、さらなる科学的根拠を集積することが必要である。

(参考論文)

酒井信夫, 安達玲子, 中村厚, 柴原裕亮, 上坂良彦, 清木興介, 織田浩司, 穂山浩, 手島玲子, いわゆる健康食品に含まれる甲殻類様タンパク質量の実態調査. 日本食品化学学会 16, 118-122 (2009)

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

安達玲子、爲廣紀正、甲斐明美、吉田健介、穂山浩、柴田識人、近藤一成:「特定原材料くるみに対する特異的定量及び定性検査法の妥当性評価」、日本食品衛生学会第 119 回学術講演会(令和 5 年 10 月 12-13 日、東京)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表 1 使用した昆虫食検体

No.	品名	主原料産地	状態	加熱の有無
23-001	昆虫食 (カイコサナギ)	タイ	姿、乾燥	加熱
23-002	昆虫食 (ミルワーム)	タイ	姿、乾燥	加熱
23-003	昆虫食 (ヨーロッパイエコオロギ)	タイ	パウダー	加熱
23-004	食用昆虫 (ヨーロッパイエコオロギ) (加熱調理専用)	国産	姿、冷凍	非加熱
23-005	食用昆虫 (カイコ幼虫) (加熱調理専用)	国産	姿、冷凍	非加熱
23-006	食用昆虫 (ジャイアントミルワーム) (加熱調理専用)	国産	姿、冷凍	非加熱
23-007	食用昆虫 (コガタズメバチ成虫) (加熱調理専用)	国産	姿、冷凍	非加熱
23-008	WeaverAnts(ツムギアリ)	タイ	姿、乾燥	加熱
23-009	昆虫食調理用 【冷凍昆虫】 ツムギアリ	タイ	姿、冷凍	非加熱
23-010	【国産】 冷凍 キロスズメバチ 幼虫	日本	姿、冷凍	非加熱
23-011	Locust Powder (ワタリバッタパウダー)	タイ	パウダー	加熱
23-012	昆虫食調理用 【冷凍昆虫】 スパースローテッド・グラスホッパー (ノドバッタ)	タイ	姿、冷凍	非加熱

表 2 甲殻類 ELISA キットにおける測定結果-1 : 3 種の抽出方法

($\mu\text{g/g}$)

検体	Sキット			Mキット					
	室温	室温+ 阻害剤	加熱	室温	室温+ 阻害剤	加熱			
23-001	カイコサナギ	姿、乾燥	加熱	113	74.2	262	2.1	2.0	2.3
23-002	ミルワーム	姿、乾燥	加熱	1077	829	1883	16.3	14.4	31.8
23-003	ヨーロッパイエコオロギ	パウダー	加熱	1106	802	2306	19.4	17.0	38.7
23-004	ヨーロッパイエコオロギ	姿、冷凍	非加熱	1471	1283	2359	ND	ND	2.0
23-005	カイコ幼虫	姿、冷凍	非加熱	17.3	58.0	323	ND	ND	ND
23-006	ジャイアントミルワーム	姿、冷凍	非加熱	ND	0.7	302	ND	ND	0.8
23-007	コガタズメバチ成虫	姿、冷凍	非加熱	2.2	1.6	3868	ND	ND	1.6
23-008	ツムギアリ	姿、乾燥	加熱	1342	1012	2125	6.0	5.0	6.8
23-009	ツムギアリ	姿、冷凍	非加熱	962	996	1302	0.9	1.2	1.1
23-010	スズメバチ幼虫	姿、冷凍	非加熱	64.7	29.0	181	ND	ND	ND
23-011	ワタリバッタ	パウダー	加熱	6319	6758	8534	1.5	1.7	1.9
23-012	スパースローテッド・グラスホッパー (ノドバッタ)	姿、冷凍	非加熱	ND	ND	1012	ND	ND	ND

※阻害剤：プロテアーゼ阻害剤, ND: <0.3 $\mu\text{g/g}$

表 3 甲殻類 ELISA キットにおける測定結果-2 : 加熱抽出

($\mu\text{g/g}$)

検体				Sキット		Mキット	
				平均	SD	平均	SD
23-001	カイコサナギ	姿、乾燥	加熱	219	37.8	1.3	0.3
23-002	ミルワーム	姿、乾燥	加熱	1573	276	21.3	9.3
23-003	ヨーロッパイエコオロギ	パウダー	加熱	3268	869	25.2	11.7
23-004	ヨーロッパイエコオロギ	姿、冷凍	非加熱	1744	541	1.4	0.7
23-005	カイコ幼虫	姿、冷凍	非加熱	387	150	ND	
23-006	ジャイアントミルワーム	姿、冷凍	非加熱	290	54.3	0.7	0.2
23-007	コガタスズメバチ成虫	姿、冷凍	非加熱	3950	948	1.7	0.1
23-008	ツムギアリ	姿、乾燥	加熱	3112	926	4.1	0.5
23-009	ツムギアリ	姿、冷凍	非加熱	1988	662	1.1	0.3
23-010	スズメバチ幼虫	姿、冷凍	非加熱	287	128	ND	
23-011	ワタリバッタ	パウダー	加熱	9520	1274	1.9	0.4
23-012	スパースローテッド・グラスホッパー (ノドバッタ)	姿、冷凍	非加熱	1575	564	ND	

※3回の測定結果の平均値, ND: $<0.3 \mu\text{g/g}$

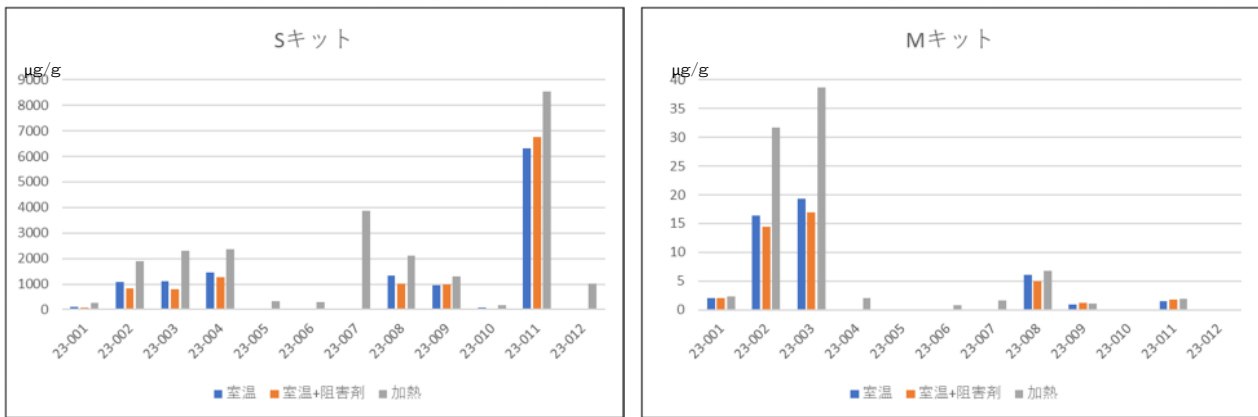


図1 甲殻類 ELISA キットにおける測定結果-1 : 3種の抽出方法を用いた場合

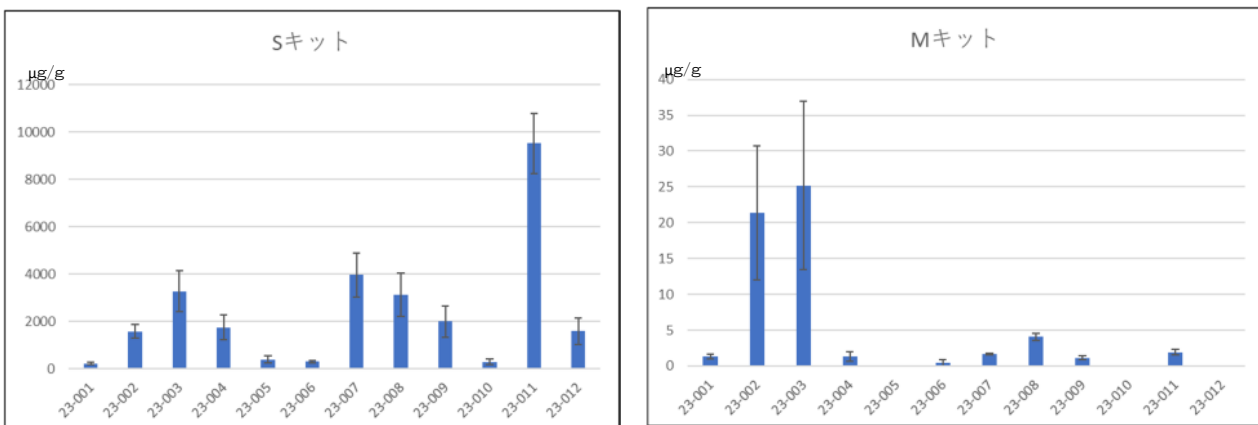


図2 甲殻類 ELISA キットにおける測定結果-2 : 加熱抽出