

令和6年度 食品衛生基準科学研究費補助金（食品安全科学研究事業）

分担研究報告書

課題3 昆虫食のアレルゲン性に関する検討

研究分担者 爲廣 紀正 国立医薬品食品衛生研究所 生化学部

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漿との反応性、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。今年度は、昆虫食に含まれるタンパク質と甲殻類トロポミオシンの交差反応性やアレルギー患者血漿との反応性について検討した。その結果、解析対象とした47種類すべての昆虫食製品に甲殻類のトロポミオシン様タンパク質が含まれていることが明らかとなった。また、12種類の昆虫食製品について患者血漿との反応性を検討したところ、含有される成分が甲殻類アレルギー患者のIgE抗体と結合し、マスト細胞を活性化できることが示された。今後、甲殻類アレルギー患者血漿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。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所生化学部

田口 千恵

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」と指摘されている。また、昆虫を喫食したことによるアナフィラキシー症例が国内で報告されており、海外でも同様のアナフィラキシー発症事例が認められている。したがって、昆虫食に対する需要の拡大は、国民の健康被害を生じる懸念があるため、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には、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。加えて、甲殻類の主要アレルゲンであるトロポミオシン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。先行研究では、昆虫を原料とする健康食品に甲殻類トロポミオシン特異的抗体と反応するタンパク質が含まれており、甲殻類アレルギーの患者が昆虫食を喫食するとアレルギー症状が誘発される可能性があることを報告している。そこで、本分担研究では、現在国内で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漿との反応性、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 6 年度は、令和 5 年度に引き続き公定検査法を用いて昆虫食 35 検体について昆虫食に含まれるタンパク質の甲殻類アレルギーにおける交差反応性を検証するとともに、いくつかの昆虫食製品について甲殻類アレルゲン患者血漿との反応性を検証した。

B. 研究方法

検体

国内で市販されている昆虫食製品 47 種類 (昨年度入手した 12 種類、今年度入手した 35 種類) を検体として使用した (表 1)。検体からのタンパク質抽出は、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、加熱抽出法 (100℃、30 分) とした。

甲殻類 ELISA キットによる検討

本年度に入手した昆虫食製品 35 種類を対象とした。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、各キットにおける反応性を検討した。

ウェスタンブロット法による検討

昨年度入手した昆虫食製品のうち、4 種類 (カイコ、ミルワーム、ヨーロッパイエコオロギ、ワタリバッタ) 及びエビの計 5 検体を対象とした。検体抽出液に含まれるタンパク質を電気泳動によって分離し、メンブレンに転写した。甲殻類アレルギー患者血漿 (IgE) を用いて抗体反応を行い、反応するタンパク質を検出した。

EXiLE (IgE Crosslinking-induced Luciferase Expression) 法による検討

昨年度に入手した昆虫食製品 12 種類を対象とした。ヒト高親和性 IgE 受容体を発現させたラット培養マスト細胞を甲殻類アレルギー患者血漿 (IgE) で一晩感作した後、昆虫食で刺激した。昆虫食の刺激による IgE の架橋を介したマスト細胞の活性化を、レポータ遺伝子により検出した。抗原刺激時の応答が無刺激時の 2 倍を超えた場合にマスト細胞の活性化がみられたと判断した。

C. 結果

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 47 種類を検体として使用した (表 1)。検体は、カイコ、ミルワーム、コオロギ、ハチ、アリ、バッタ、ワーム、オケラ、ハエ、カメムシ、タガメ、及びセミを原料とし、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、多様な試料となるよう選択した。

検体となる市販の製品に抗甲殻類トロポミオシン抗体と反応するタンパク成分が含まれているかについて、昨年度に解析した昆虫食 12 製品に引き続き、今年度の本事業で収集した昆虫食 35 製品を対象に調査を行った。35 検体の測定結果を図 1 に示す (定量値はエビ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)。その結果、M キットでは 31 種類の検体で反応が見られ、S キットでは 35 種類全ての検体で反応が認められた。したがって、解析したすべての昆虫食製品において抗甲殻類トロポミオシン抗体が反応する成分が検出された。

次に、昆虫食製品に甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体が反応するタンパク質が含まれているかをウエスタンブロット法にて解析した。カイコ、ミルワーム、ヨーロッパイエコオロギ、ワタリバッタを原料とする 4 種類の昆虫食及びエビ抽出タンパク質を検体としたウエスタンブロッティングの結果を図 2 に示す。甲殻類アレルギー患者 2 名と健常者の血漿 (IgE 抗体) を用いて抗体反

応を行ったところ、健常者の IgE 抗体が反応するタンパク質は認められなかった。一方、甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体は、エビだけではなく昆虫食に対して反応を示した。よって、今回検討した昆虫食製品に甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体が反応するアレルゲンが含まれていることが示された。

さらに、昨年度に入手した昆虫食 12 種類を対象として、昆虫食が甲殻類アレルギー患者の IgE を介してマスト細胞の活性化を引き起こすかを EXiLE 法にて検討した (図 3)。甲殻類アレルギー患者 2 名と健常者の血漿 (IgE 抗体) を用いてマスト細胞を受動感作させ、昆虫食で刺激を行ったところ、健常人の IgE 抗体ではマスト細胞の活性化はみられなかった。一方、甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体ではすべての昆虫食においてマスト細胞の活性化が認められた。よって、今回検討した昆虫食 12 製品に含まれる成分は、甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体と結合し、マスト細胞を活性化することが示された。続いて、昆虫食により EXiLE 反応を誘発する濃度について、エビと比較した (図 4)。抗原刺激時の応答が無刺激時の 2 倍となる抗原濃度を比較したところ、昆虫食はエビの 10 倍から 1000 倍のタンパク質濃度が必要であることが明らかとなった。よって、12 種類の昆虫食製品が有するマスト細胞を活性化させる力価はエビの 1/10 から 1/1000 であることが示唆された。

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。35 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。昨年度に検討した昆虫食 12 種類においても同様に甲殻類 ELISA キットにおける反応性が確認されていたことから、本研究で

検討に用いた 47 製品の昆虫食すべてにおいて甲殻類トロポミオシン抗体が反応するトロポミオシン様タンパク質が含まれることが示された。

甲殻類アレルゲン患者血漿との反応性の検討として、ウエスタンブロット法と EXiLE 法による検討を行った。ウエスタンブロット法では昆虫食に含まれるタンパク質が甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体と特異的に反応することが確認され、昆虫食には 35-38kD のトロポミオシン以外にも、高分子量タンパク質等が甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体と反応するアレルゲンとして含まれていることが認められた。また、EXiLE 法の解析において、昆虫食に含まれる成分は甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体と結合してマスト細胞の活性化を引き起こしたことから、甲殻類アレルギー患者が昆虫食によりアレルギー症状を誘発する可能性が示唆された。

今後は、EXiLE 法による試験対象品数を増やし、アレルギー患者血漿との反応性に関する知見を集積するとともに、ヒト化マウスにおけるアレルギー誘発試験等を実施し、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さらに検討を進める。また、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（トロポミオシン）は昆虫類トロポミオシンと相同性が高いことから、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。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と甲殻類トロポミオシンの反応性を検討したところ、すべての昆虫食製品において甲殻類トロポミオシンとの交差反応性があることが確認された。また、甲殻類アレルギー患者由来

IgE 抗体の昆虫食に対する反応性の検討では、昆虫食成分は甲殻類アレルギー患者の IgE 抗体と結合し、*in vitro* でマスト細胞の活性化をひきおこすことが示された。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やヒト IgE 抗体との反応性に関する検討結果は、甲殻類アレルギー患者の昆虫食による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

田口千恵、爲廣紀正、吉田真由美、尾上愛、志田(齊藤)静夏、安達玲子、柴田識人:「甲殻類アレルギー患者において昆虫食が I 型アレルギー症状を誘発する可能性の検討」、第 31 回日本未病学会学術総会(令和 6 年 11 月 2-3 日、石川)

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.	名称	状態	加熱の有無	原産国
23-001	カイコ (サナギ)	姿、乾燥	加熱	タイ
23-002	ミルワーム	姿、乾燥	加熱	タイ
23-003	ヨーロツパイエ コオロギ	パウダー	加熱	タイ
23-004	ヨーロツパイエ コオロギ	姿、冷凍	非加熱	日本
23-005	カイコ (幼虫)	姿、冷凍	非加熱	日本
23-006	ジャイアント ミルワーム	姿、冷凍	非加熱	日本
23-007	コガタズメ バチ (成虫)	姿、冷凍	非加熱	日本
23-008	ツムギ アリ	姿、乾燥	加熱	タイ
23-009	ツムギ アリ	姿、冷凍	非加熱	タイ
23-010	キイロスズメ バチ (幼虫)	姿、冷凍	非加熱	日本
23-011	ワタリ バッタ	パウダー	加熱	タイ
23-012	スーパースローテッド・グラスホッパー (ノド バッタ)	姿、冷凍	非加熱	タイ
24-001	オケラ	姿、乾燥	加熱	タイ
24-002	ヨーロツパイエ コオロギ	姿、乾燥	加熱	タイ
24-003	ジャマイカン コオロギ	パウダー	加熱	タイ
24-004	ヨーロツパイエ コオロギ	パウダー	加熱	ベトナム
24-005	ヨーロツパイエ コオロギ	パウダー	不明	日本
24-006	カイコ (成虫)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-007	スーパー ワーム	姿、乾燥	加熱	タイ
24-008	バンブー ワーム	姿、乾燥	加熱	タイ
24-009	イエ バエ (幼虫)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-010	イエ バエ (サナギ)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-011	フタホシ コオロギ	姿、冷凍	非加熱	日本
24-012	ジャイアント コオロギ	パウダー	加熱	タイ
24-013	フタホシ コオロギ	姿、乾燥	加熱	タイ
24-014	ジャマイカン コオロギ	姿、乾燥	加熱	タイ
24-015	ワタリ バッタ	姿、乾燥	加熱	タイ
24-016	カメムシ	姿、乾燥	加熱	タイ
24-017	コガタズメ バチ (サナギ)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-018	キイロスズメ バチ (サナギ)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-019	キイロスズメ バチ (成虫)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-020	オオスズメ バチ (サナギ)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-021	オオスズメ バチ (幼虫)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-022	グラスホッパー	パウダー	加熱	タイ
24-023	ジャマイカンフィールド コオロギ	パウダー	加熱	タイ
24-024	タイワンオオ コオロギ	パウダー	加熱	タイ
24-025	バッタ	パウダー	加熱	タイ
24-026	ヨーロツパイエ コオロギ	パウダー	不明	タイ
24-027	フタホシ コオロギ	パウダー	加熱	タイ
24-028	カイコ (サナギ)	パウダー	加熱	タイ
24-029	ツムギ アリ (卵)	姿、缶詰	缶詰	タイ
24-030	スジアカクマゼミ (幼虫)	姿、乾燥	加熱	タイ
24-031	カイコ (サナギ)	姿、冷凍	非加熱	日本
24-032	オケラ	姿、冷凍	不明	タイ
24-036	タガメ	姿、乾燥	加熱	タイ
24-040	カイコ	パウダー	加熱	タイ
24-041	カイコ (サナギ)	姿、乾燥	加熱	タイ

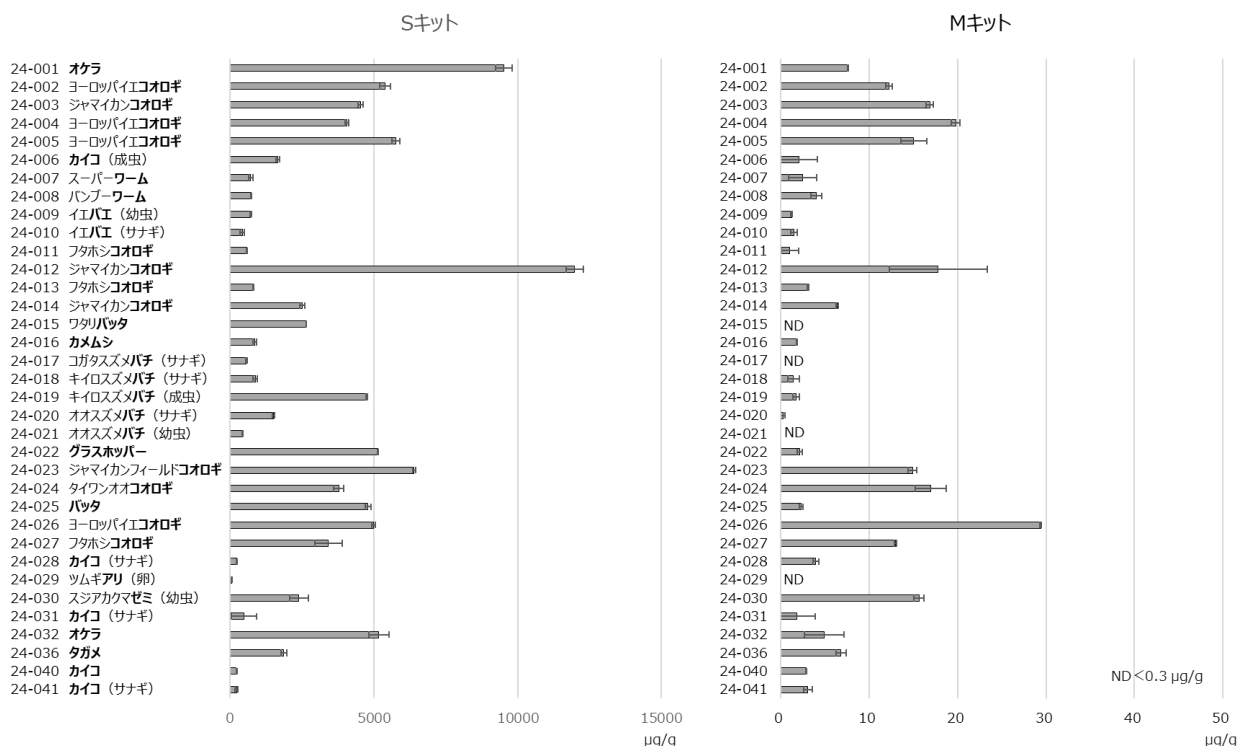


図 1 甲殻類 ELISA キットによる昆虫食に含まれるトロポミオシン様タンパクの検出

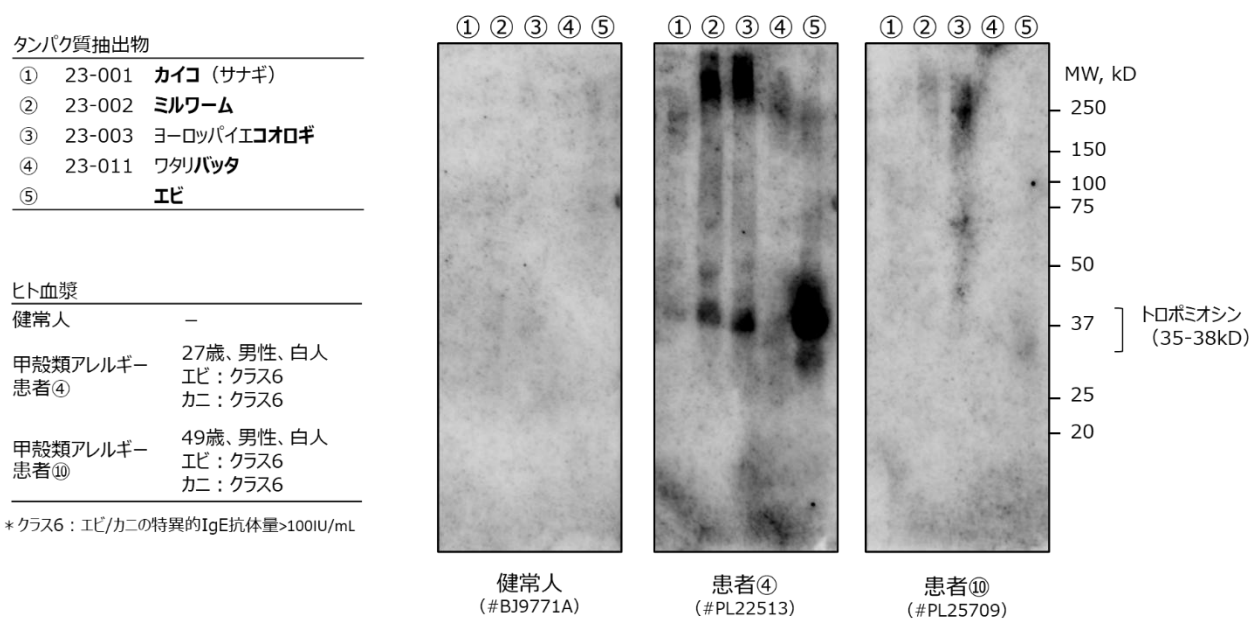


図 2 ウエスタンブロット法による昆虫食の甲殻類アレルギーとの交差反応性の確認

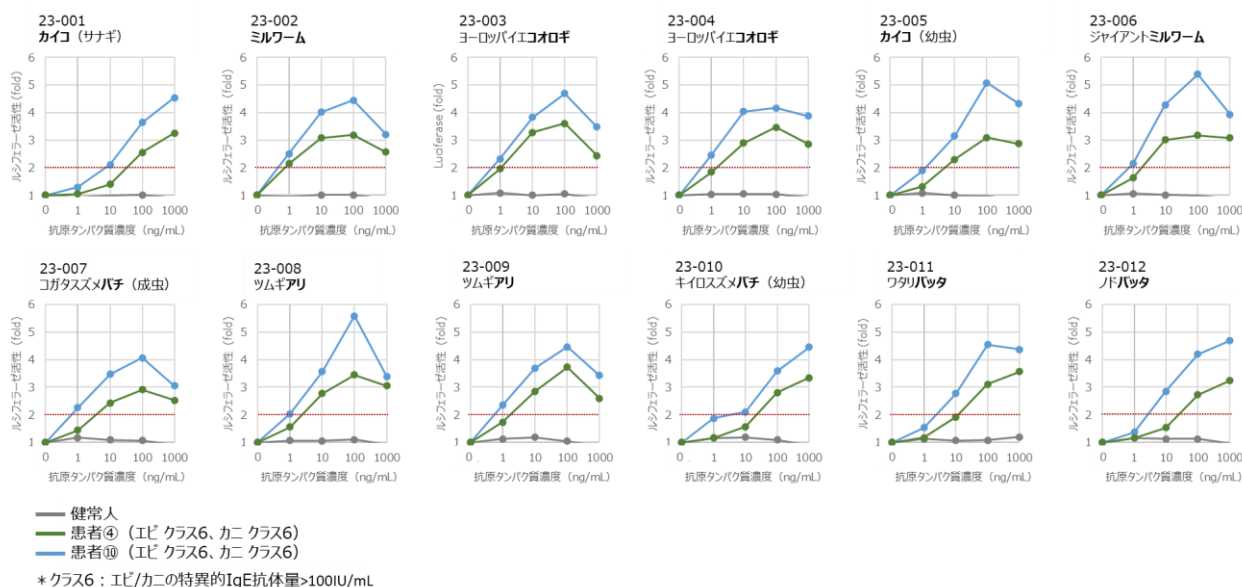


図3 EXiLE 法による昆虫食の甲殻類アレルギーとの交差反応性の確認

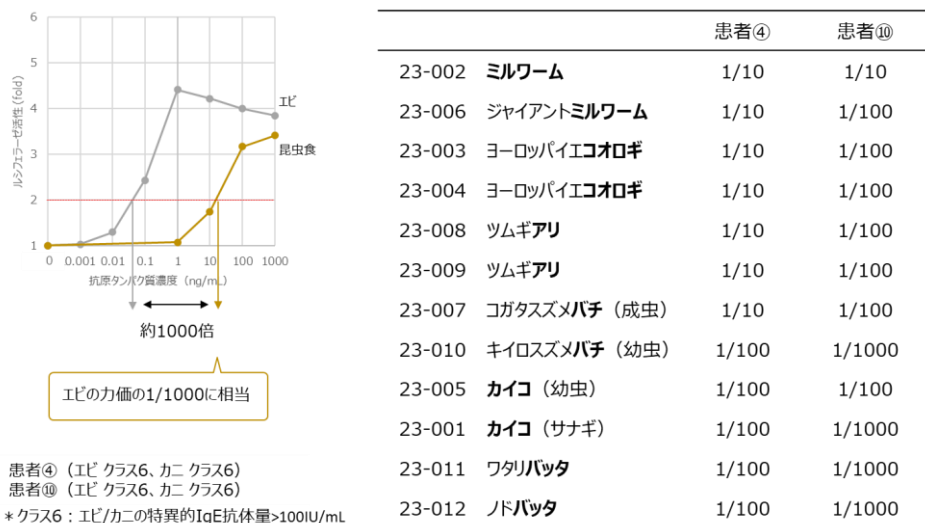


図4 甲殻類アレルギーに対する抗原の力価について昆虫食とエビ抗原の比較