

令和元年5月31日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2014～2018

課題番号：26310310

研究課題名(和文) 昆虫を利用した新たな食料循環モデルに基づく魚類養殖技術の開発

研究課題名(英文) Development of the fish culture techniques based on a new food circulation system using an insect

研究代表者

三浦 猛 (MIURA, Takeshi)

愛媛大学・農学研究科・教授

研究者番号：00261339

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：世界人口が爆発的に増える中、大量のバイオマスを誇る「昆虫」が新たな食料資源として世界的に注目集めている。本研究では、昆虫原料を用いた、天然資源への負荷が少なく、抗病性や高成長が期待できる高機能性魚類養殖用飼料の開発に挑戦した。その結果、養殖飼料中の全ての動物性タンパクを昆虫ミールに置き換える技術の開発に成功するとともに、双翅目昆虫および鱗翅目昆虫から動物の免疫賦活化に作用する機能性多糖の単離精製に成功、さらに、これらの機能の分子機構の一端を明らかにすることに成功した。これらは、昆虫を飼料原料として用いた、新たな持続可能な食料循環モデルの構築に道筋をつける成果であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、昆虫の養殖飼料原料としての特徴を明らかにし、実用化の道筋をつけた。また、これまでに知られていなかった昆虫の動物に対する機能を発見し、その原因物質の同定にはじめて成功した。これらの結果は、天然資源に負荷をかけない養殖の実現に大きく貢献でき、養殖の食料生産としての社会的意義を飛躍的に向上させることができる成果であるとともに、将来の食料生産の根本を変革させる原動力となる可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：With the rapid increase in the world's population, insects are attracting worldwide attention as new food and feed resources. In this study, we challenged the development of highly functional fish feeds using insect meal that can be expected to be resistant to diseases and have high growth potential. The use of insects for feed material can contribute to the reduction of environmental impact. As a result, we succeeded in the developing technology to replace all animal protein in culture feed with insect meal, the isolation and purification of functional polysaccharides that act on immune activation of animals from dipteran and lepidopteran insects, and the clarifying one of the molecular mechanisms of the functions of insect-derived polysaccharides. These results contribute to the realization of a new sustainable food production model using insects as feed material.

研究分野：水族生理学

キーワード：昆虫 動物性タンパク 機能性物質 免疫賦活化物質 多糖 魚類養殖 イエバエ カイコ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19（共通）

### 1．研究開始当初の背景

世界人口は2050年には90億人に達すると考えられている。この人口爆発の時代においては、人々の生命を支える食料資源の確保が人類にとっての最重要課題の一つである。このような状況のもと、全人類の約15倍のバイオマスを誇る「昆虫」が、新たな食料資源として世界的に注目されはじめている。

国際連合食料農業機関（Food and Agriculture Organization, FAO）は、2013年5月に行われた「食料安全保障・栄養のための森林に関する国際会議」において、報告書「Edible insects -Future prospects for food and feed security」を発表した。今まで非主流であった昆虫食を世界の食糧危機を解決する手段として位置づけ、昆虫を食料や飼料原料に積極的に利用することを提唱する内容となっている。

水産養殖の分野でも、新たな飼料原料の開発が求められている。水産養殖の飼料原料にはカタチイワシ等の魚類を乾燥した魚粉（フィッシュミール）が必須であるが、近年の過剰漁獲や環境変動、さらに養殖新興国の増産から、魚粉の価格が急騰しており、養殖業者の経営を圧迫している。また、大量の天然魚を用いて少量の高級魚を生産するという現在の養殖の抱える矛盾から脱却しなければ、魚類養殖が持続的な食料生産であるとは言い難い。したがって、海洋を活用した意義のある食料生産の手段としての魚類養殖技術の開発のためには、その基盤技術として、天然資源に負荷を与えない新たな飼料用動物性タンパク質を生み出す循環モデルが求められている。

私たちはこれまでイエバエ（*Musca domestica*）を魚粉代替のための昆虫原料として着目し、その幼虫およびサナギの経口投与が魚類に与える影響を調べてきた。その結果イエバエサナギには魚類に対する成長促進、摂餌誘引および免疫賦活化効果があることが明らかとなった。このことは、イエバエを含めた昆虫原料には、魚粉代替としての動物性タンパクの利用のみならず、抗病性や成長促進といった、養殖効率の向上につながる機能を有していることが明らかとなっている。

### 2．研究の目的

本研究では、私たちが発見したイエバエをはじめとする昆虫が持つ魚類への機能の実体とその分子機構を明らかにし、これらの機能性を増強させる昆虫生産法を開発するとともに、これらの昆虫原料を用いた、天然資源への負荷が少なく、抗病性や高成長が期待できる高機能性魚類養殖用飼料の開発を行い、新たな食料循環モデル構築のための道筋をつけることを目的として行われた。

### 3．研究の方法

#### 1）昆虫に含まれる免疫賦活化物質の単離・同定

イエバエサナギをはじめとする昆虫に含まれる免疫賦活化物質の単離・同定を試みた。

#### 2）昆虫の摂食性および成長に及ぼす影響の解明

イエバエをはじめとする昆虫の飼料原料としての特性を、養殖生物の飼育実験により明らかにした。また、養殖飼料中に含まれる動物性タンパクを全て昆虫原料に置き換えることができるか否かを明らかにする。

#### 3）機能性を向上させる昆虫生産方法の確立と実証

昆虫の持つ機能性のうち、特に魚類およびエビ類に対する免疫賦活可能に着目し、昆虫の免疫賦活能を向上させる昆虫生産方法の開発を行なった。また、養殖への昆虫の利用法を開発し、実証実験を行った。

#### 4. 研究成果

##### 1) 昆虫に含まれる免疫賦活化物質の単離・同定

イエバエサナギに含まれる免疫賦活化物質の単離・同定を試みた。マウスマクロファージ由来 RAW264.7 細胞の一酸化窒素産生活性 (NO 活性) を免疫賦活化の指標としてイエバエサナギに含まれる免疫賦活化物質の単離を行ったところ、分子量 30 万から 180 万の間に複数の免疫賦活化能を有する多糖が存在することが明らかとなった。しかしながら、イエバエサナギ中に含まれる免疫賦活化多糖の含有量が少なく、単糖の構成を明らかにすることはできなかった。イエバエ以外の昆虫種にも同様の作用を示す機能性物質が存在することが予想されたので、入手可能な 13 種類の昆虫の免疫賦活化作用を、NO 活性を指標として調べた。その結果、調査したほとんどの昆虫で免疫賦活化作用が認められた。そこで、比較的免疫賦活可能が高いヤマモユ、カイコ、ウリミバエおよびアメリカミズアブのサナギから免疫賦活化物質の単離を試みた。その結果、これらの昆虫種の免疫賦活化物質は、いずれも酸性多糖であり、その分子量はそれぞれ  $3.15 \times 10^5$ 、 $1.15 \times 10^6$ 、 $1.01 \times 10^6$  および  $1.47 \times 10^5$  で、それらの単糖の構成も明らかにした。私たちはこれらの多糖を、Silkrose-AY、Silkrose-BM、Dipterose-BC および Dipterose-BSF とそれぞれ命名した。

##### 2) 昆虫の摂食性および成長に及ぼす影響の解明

イエバエサナギを 10% および 25% 添加した飼料および対照としてイエバエサナギを含まない飼料を作製し、それらをマダイ稚魚に給餌し成長を調べたところ、サナギ 10% 添加飼料を給餌したマダイの増重量が対照に比較して有意に高かったのに対し、サナギ 25% 添加飼料を給餌した群では、対照に比較して、明らかに成長していなかった。実験群と対照群の飼料は、アミノ酸組成や脂質に関しては補正をしているので、イエバエサナギの飼料への添加による成長抑制は、サナギ中に含まれる成長を抑制する因子が存在するためと考えられた。サナギの抽出物を細胞培養系 (Raw264.7 細胞) に添加したところ、細胞の増殖とその細胞機能を抑制する物質が存在することが明らかとなり、これを分離精製したところ分子量 110 前後の脂溶性物質であることが明らかとなった。この物質を核磁気共鳴装置によりその構造を決定したところ、ベンゼンジオール (カテコール) であることが判明した。また、カテコールのマダイに対する作用を給餌飼育試験により調べたところ、飼料への高濃度のカテコールの添加は、マダイの成長を著しく遅滞させた。

動物性原料として、ヘキサノール/エタノール (9:1) 混合液により処理することによってカテコールを完全に除去したイエバエ幼虫を使用した飼料によるマダイの飼育試験を 1 ヶ月間行った。その結果、カテコール除去イエバエ飼料を給餌した魚は、魚粉による通常飼料を給餌した魚と同様の成長を示し、両群間で統計的有意差は認められなかった。以上より、カテコールの除去により養殖用飼料中の魚粉をイエバエに完全に置き換えられる可能性が示された。

### 3) 機能性を向上させる昆虫生産方法の確立と養殖魚を用いた実証試験

先に述べたように、イエバエは他の昆虫に比較して、免疫賦活化能が極めて低いことが明らかとなった。そこでイエバエ幼虫のエサが免疫賦活可能に与える影響を調べた。通常イエバエの飼育には、豚糞を飼料として使用する。そこで豚糞に副素材を添加することによって、免疫賦活化能が向上するか否かを調べた。検討した素材は、免疫賦活化能が高いヤマモの主要な飼料であるクヌギ、および材料として量的に多く供給可能な米ヌカおよびフスマである。豚糞にクヌギを重量として等量添加した飼料でイエバエ幼虫を飼育したところ、豚糞のみで飼育したイエバエに比較して約 5 倍、米ヌカまたはフスマを豚糞に等量添加した場合は、約 10 倍高い免疫賦活化能が観察された。このことより、昆虫の飼料を改良することにより、高い機能性を付与することが可能であることが明らかとなった。

本研究の項目(1)でカイコおよびヤマモのサナギから得られた、新規免疫賦活化多糖 Silkrose の魚類に対する作用を、メダカを用いて調べたところ、Silkrose の給餌により病原性バクテリアの *Edwasiera tarda* に対する、耐病性が有意に向上した。また、Silkrose を給餌したメダカ腸の発現遺伝子変動を DNA マイクロアレイにより分子レベルで解析したところ、自然免疫系、獲得免疫系および細胞間結合に影響を及ぼす可能性が示された。次に、Silkrose を添加した飼料をブリ幼魚に給餌し、その影響を生理学的に調べたところ、Silkrose の投与により、ストレスを示す指標である、血中コルチゾール量が有意に低下し、またストレス耐性を示す指標である次亜塩素酸消去能が有意に向上した。この結果は、実際の養殖漁場で育成されているブリおよびマダイに関しても同様であった。

以上より、昆虫由来免疫賦活化多糖の飼料への添加は、魚病の削減および養殖魚のストレス削減効果により、養殖の生産性の向上につながるものと期待できる。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

1. Ohta, T., Ido, A., Kusano, K., Miura, C. and Miura, T.: A novel polysaccharide in insects activates the innate immune system in mouse macrophage RAW 264 cells. *PLoS ONE* 9 (12) : e114823 (2014). 査読あり
2. Ido, A., Iwai, T., Ito, K., Ohta, T., Mizushige, T., Kishida, T., Miura, C. and Miura, T.: Dietary effects of housefly (*Musca domestica*) (Diptera: Muscidae) pupae on the growth performance and the resistance against bacterial pathogen in red sea bream (*Pagrus major*) (Perciformes: Sparidae). *Appl. Entomol. Zool.* 50: 213-221 (2015). 査読あり
3. 三浦 猛, 太田史, 三浦智恵美, 高橋隆行, 井戸篤史: 魚粉に代わる養魚飼料原料 昆虫ミールの可能性と機能性. *養殖ビジネス* 52(3): 35-39 (2015).
4. Ohta, T., Kusano, K., Ido, A., Miura, C. and Miura, T.: Silkrose: A novel acidic polysaccharide from the silkworm that can stimulate the innate immune response. *Carbohydr. Polym.* 136: 995-1001 (2016). 査読あり
5. 三浦猛, 井戸篤史, 橋爪篤史, 三浦智恵美: 昆虫由来免疫賦活化物質「シルクロース®」の魚類養殖への利用. *アクアネット* 20 (5): 48-54 (2017).
6. 三浦猛, 井戸篤史, 橋爪篤史, 高橋隆行, 三浦智恵美: 機能性多糖「シルクロース」による養殖魚類の免疫機能向上と肉質改善. *養殖ビジネス* 54(10): 37-39 (2017).
7. Ali M. F. Z., Yasin, I. A., Ohta, T., Hashizume, A., Ido A., Takahashi T., Miura C. Miura T.: The

silkrose of *Bombyx mori* effectively prevents vibriosis in penaeid prawns via the activation of innate immunity. *Scientific reports* 8 (1) 8836, (2018). 査読あり

8. 三浦猛, 井戸篤史, 三浦智恵美: 代替タンパク源としての昆虫ミールの効果と課題 (業界儲かるエサの生理学: 消化性と摂食因子) *養殖ビジネス* 55(8),10-12.
9. 三浦猛, 橋爪篤史, 井戸篤史, 三浦智恵美: 新たな飼料原料である昆虫が拓く水産養殖の未来. *昆虫と自然* 53(1): 11-15 (2018).
10. 井戸篤史, 橋爪篤史, 三浦猛: 昆虫生産は世界の食糧危機を救うことができるのか?—その秘められた可能性を探る. *昆虫と自然* 53(1): 16-20 (2018).

〔学会発表〕(計7件)

1. 太田史, 草野希枝, 井戸篤史, 三浦智恵美, 三浦猛: ウリミバエサナギ由来免疫賦活化酸性多糖 Dipterose の単離・同定. 平成 26 年度日本水産学会秋季大会, 九州大学 (福岡県・福岡市), 9 月 (2014).
2. 三浦智恵美, 太田史, 草野希枝, 井戸篤史, 三浦猛: 天蚕サナギから得られた新規物質シルククロス. 平成 26 年度日本水産学会秋季大会, 九州大学 (福岡県・福岡市), 9 月 (2014).
3. 三浦猛, 三浦智恵美, 太田史, 井戸篤史: 昆虫由来免疫賦活化物質に関する研究. 平成 27 年度日本水産学会春季大会, 東京海洋大学 (東京都・港区), 3 月 (2015).
4. Miura, Takeshi: Approach for Establishment of Sustainable Aquaculture. International Seminar, Fisheries and Marine Science in Accordance with Sail Tomini and Festival of Boalemo 2015, Gorontalo State University (インドネシア共和国ゴロンタロ市), 9 月 (2015). (招待講演)
5. 三浦猛: 養殖飼料を魚の生理状態から考える. 第 16 回 ACN フォーラム-日本の水産増養殖を考える会-, アークホテルロイヤル天神 (福岡県福岡市), 8 月 (2015). (招待講演)
6. 三浦猛, 太田史, 井戸篤史, 三浦智恵美: カイコ由来免疫賦活化多糖「シルククロス」の単離. 平成 28 年度日本水産学会秋季大会, 近畿大学農学部, (奈良県奈良市), 9 月 (2016).
7. Takeshi Miura: Characteristics of insect as an alternative raw material for fish feed. Perspective on the utilization of insects for feed and food (農林水産省主催), Hibiya Convention Hall (東京都日比谷), 11 月 (2016). (招待講演) (国際学会)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称: 組成物、及び組成物の製造方法  
発明者: 三浦 猛, 三浦智恵美, 太田史, 橋爪篤史  
権利者: 同上  
種類: 特許  
番号: 特願 2016-113379  
出願年: 2016  
国内外の別: 国内、国外

○取得状況 (計3件)

名称: 魚類用飼料  
発明者: 三浦 猛, 三浦智恵美, 伊藤克敏, 串間充崇  
権利者: 同上  
種類: 特許

番号：特許 5759895 号  
取得年：2015  
国内外の別： 国内、国外

名称：機能性養殖飼料及びその製造方法  
発明者：三浦 猛, 三浦智恵美他 10 名  
権利者：同上  
種類：特許  
番号：特許 6010725 号  
取得年：2016  
国内外の別： 国内

名称：多糖類、多糖類を含む組成物、及び免疫賦活剤  
発明者：三浦 猛, 三浦智恵美, 太田史, 岩井俊治, 高橋隆行  
権利者：同上  
種類：特許  
番号：特許 6019505 号  
取得年：2016  
国内外の別： 国内、国外

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：三浦智恵美  
ローマ字氏名：MIURA Chiemi  
所属研究機関名：広島工業大学  
部局名：環境学部  
職名：教授  
研究者番号 ( 8 桁 ): 90518002

研究分担者氏名：太田 史  
ローマ字氏名：OHTA Takashi  
所属研究機関名：愛媛大学  
部局名：南予水産研究センター  
職名：特任助教  
研究者番号 ( 8 桁 ): 40509311

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：井戸篤史  
ローマ字氏名：IDO Atsushi