

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	井戸篤史
審査委員	主査 三浦 猛 副査 深田 陽久 副査 松本 由樹 副査 三浦 智恵美 副査 橋 哲也

論文名 Function analysis of insects for effective use in aquaculture.  
(水産養殖における昆虫の有効利用を目指した機能解析)

### 審査結果の要旨

急激に増加する世界人口を支えるためには、持続的に生産できる新たな動物性タンパク資源が必要となる。昆虫は地球上最大の分類学上の“綱”であり、知られているものだけでも150万種以上、分類がなされていないものを含めれば、3,000万種を超える種類が存在すると考えられている。また、そのバイオマスは全人類の15倍を優に超えると推測されている。しかし、昆虫は、アジア・アフリカの一部の地域を除いては、食料あるいは飼料用資源としてほとんど使用されていない。この昆虫を食料資源として有効に活用することは、人類存続のための重要課題である。

昆虫には、古来漢方薬の原料としてヒトを含む動物に対する様々な機能性物質が含まれていることから、動物性タンパクの供給源としてのみでなく、様々な薬理効果を持つ食料、あるいは飼料原料としても期待できる。

食料あるいは飼料としての昆虫の利用を促進するためには、昆虫の持つヒトあるいは動物に対する機能性の詳細を解析し、その有効利用方法を検討する必要がある。本研究は、このような観点から、2種の双翅目昆虫、すなわちイエバエ (*Musca domestica*) およびウリミバエ (*Bactrocea curcurbitae*) の機能性の解析とその有効利用法について検討した。

第1章では、イエバエサナギの魚類に対する効果を解析した。イエバエは、食品残渣や家畜糞尿等の廃棄物から人為的に大量培養できる昆虫種の一つで、次世代の動物性飼料原料として期待されている。本研究ではイエバエサナギに魚類に対する成長促進効果、および免疫活性化効果があることを明らかにした。

イエバエサナギの成長への作用を、実験水槽でのマダイ (*Pagrus major*) を用いた試験によって調べた。イエバエサナギを0.05%、0.5%、5%の濃度で添加した飼料を40日間給餌し、マダイの成長に及ぼすイエバエサナギの効果を観察した。その結果、イエバエサナギ0.5%および5%添加飼料で飼育したマダイの体長および体重が、イエバエサナギを含まない飼料で飼育した対照区のマダイに比較して有意に増加するとともに、飼料効率を示す増肉係数も著しく減少した。また、この成長促進効果は、イエバエサナギを加熱処理しても減少するこ

とはなかった。イエバエサナギの成長促進能は、0.5%という低濃度でも効果があることから、栄養条件の向上によるものではなく、何らかの熱に強い機能性物質によるものと推察された。このイエバエサナギの成長促進効果は、海面養殖生簀でのマダイの6ヶ月間に渡る長期飼育試験によっても確認された。以上の結果から、イエバエサナギには、魚類に対する著しい成長促進効果があることが明らかとなった。

イエバエサナギの魚類の免疫活性化に対する作用を、マダイを用いて調べた。イエバエサナギを給餌したマダイの腹腔から好中球を採集し、その貪食活性を調べたところ、イエバエサナギを給餌したマダイの好中球は、給餌していないマダイの好中球に比較して、貪食活性が向上していた。続いて実際に病原菌に対する耐病性が付与されているか否かを調べる目的で、エドワジェラ症の原因菌である*Edwadsielliella tarda*のマダイに対する強制感染試験を行った。その結果、イエバエサナギの給餌により、マダイのエドワジェラ菌に対する耐性が向上することが明らかとなった。以上の結果から、イエバエサナギには、魚類の免疫系を活性化し、魚病に対する耐性を付与する効果があることが明らかとなった。

イエバエサナギには、上に示した成長促進能および免疫賦活化能に加え、ほ乳類に対する血中LDL-コレステロール低減能があることも示された。これらのことより、イエバエサナギは、成長促進や耐病性が期待できる魚類用の飼料原料、更には、機能性の健康食品の原料としての可能性が示された。

第2章ではイエバエを含む双翅目昆虫サナギの免疫賦活化能のメカニズムについて明らかにした。イエバエサナギの免疫賦活化能は上述した好中球の貪食活性の向上によるものに加え、貪食細胞の一酸化窒素（NO）産生能の向上によるものであることが、マウスのマクロファージ由来細胞：RAW264を用いた生体外培養系での試験で明らかとなった。NOは、活性酸素種（ROS）の一種で、貪食細胞に取り込まれた病原菌を積極的に死滅させる作用がある。そこで、このNO活性能を指標に、昆虫サナギに含まれる免疫賦活物質の単離同定を試みた。精製に先立ち、イエバエ以外の昆虫のNO活性を調べたところ、ウリミバエのNO活性がイエバエより100倍以上高かったことから、免疫賦活物質の精製にはウリミバエサナギを原料として使用することとした。NO活性を指標に、ウリミバエのNO活性を誘導する免疫賦活物質を陽イオン交換クロマトグラフィーおよびゲルろ過クロマトグラフィーにより精製した結果、同物質は分子量101万の多糖であることが明らかとなった。この多糖の構成糖をガスクロマトグラフィー質量分析計で解析したところ、デオキシ糖を含む9種類の単糖から構成される新規の酸性多糖であることが明らかとなった。私たちは、この多糖を“Dipterose”と命名した。Dipteroseの作用機序を、RAW264細胞で調べたところ、Toll様受容体（TLR）-4を介して炎症性サイトカインやインターフェロン- $\beta$ の発現を誘導し、自然免疫系を向上させることが明らかとなった。この新規の機能性多糖は、その作用機序から、様々な感染性の疾病に対して効果があるものと推察された。以上の結果から、双翅目サナギによる免疫賦活化能の一端は、サナギ中に含まれる自然免疫賦活物質 Dipterose によることが示された。

以上本論文では、昆虫の持つ様々な機能性を明らかにするとともに、その原因となる物質の単離・同定に成功した。また、本研究により、昆虫は、機能性飼料、更には健康食品としての利用可能であることが示された。この様に本論文は、豊富な実験データから、昆虫の食料資源としての新しい利用方法を提言することができたことから、世界的な食料問題の解決への貢献度の高い極めて価値のある業績であると判断される。

本論文に関する公開審査会は、平成27年2月7日に愛媛大学農学部で開催され、申請者の論文発表と適切な質疑応答が行われた。引き続き行われた学位論文審査会で、本論文の内容を慎重に審議し、審査委員全員一致して、井戸篤史に対し、博士（学術）の学位を授与するに値するものと判定した。