

栄養成分に関するリスク評価指針案

第1 はじめに

現在、添加物の評価は、「添加物に関する食品健康影響評価指針（2010年5月 食品安全委員会）」に基づき実施している。しかしながら、ビタミン、ミネラル等の栄養成分については、国際的には食品添加物とは分類されていない場合がある。さらに、食事摂取基準における推奨量や目安量とヒトでのNOAEL又はLOAELとの適切なマージンに関する問題や耐容上限量が設定されている栄養素の場合の無毒性量との関係など、その特殊性を考慮する必要がある。現在、上記のような問題点や特殊性に関して、「添加物に関する食品健康影響評価指針」の中で一定の考慮の必要性は述べられているが、具体的な指針は示されていない。

以上のことから、栄養成分に対しては通常の商品添加物安全性評価方法を一律に適用できないとの認識に立ち、我が国での今後の栄養成分の安全性評価に適用する評価方法の指針案を提起する。

第2 定義

最大観察摂取量（HOI : highest observed intake）

適切な科学的水準の研究において報告されている最大摂取量。本指針案では、ヒトにおける有害影響が出ていないという前提で用いる。

一日摂取許容量（ADI : acceptable daily intake）

食品の生産過程で意図的に使用するもの（残留農薬、食品添加物等）について、ヒトがある物質を一生にわたって毎日摂取し続けても、健康への悪影響がないと推定される一日当たりの摂取量のこと。体重1kg当たりの物質の摂取量で示される（mg/kg体重/日）。毒性学的ADIともいうこともあり、慢性毒性試験や生殖発生毒性試験等から得られる無毒性量（NOAEL）を安全係数（SF）で除して算出する。

第3 評価対象品目の概要

栄養成分とは摂取不足により健康上の問題が生じる成分である。本指針案は、添加物として用いられる栄養成分の内、生物学的に必須であることが立証されているビタミン・ミネラル等¹とその関連物質の評価に適用する。対象となる具体的なビタミン・ミネラルとその関連物質は厚生労働省により策定された「日本人の食事摂取基準」に準じる。評価品目は添加物単体を対象とするが、評価にあたり、その化合物単体の知見が不十分

な場合は、化合物の特性や体内動態等を十分に考慮し、評価対象化合物と同等と考えられる化合物の知見も用いる。原則として、評価対象品目に関する知見は「添加物に関する食品健康影響評価指針」に準ずる。

第4 安全性に係る知見

1 体内動態

実験動物の栄養要求性や吸収性はヒトと異なる場合があることから、原則としてヒトにおける体内動態を検討した知見を重視する。しかし、ヒトにおける体内動態の知見が十分得られない場合は、各栄養成分に関してヒトの体内動態を予測するのに適した科学的根拠のある実験動物種の知見、あるいはヒト培養細胞等の *in vitro* の系の知見を用いてヒトでの体内動態を予測する。また、実験動物のデータは、詳細な体内動態メカニズムや有害作用の発現の推定、バイオマーカーの選択等にも用いる。加えて、最終評価の根拠に実験動物の試験を用いる場合には、毒性評価に用いた当該動物種の体内動態の知見が必要である。

栄養成分を含む添加物の化学形態²が利用性や有害作用に影響する可能性があることから、化学形態による代謝・作用の類似点や相違点を検討する必要がある。

乳児、小児、妊婦・授乳婦、高齢者等の特定の下位集団における評価を行う際に、各下位集団における体内動態の知見がある場合にはそれらも考慮する。

2 動物における有害影響の知見

原則として、動物における有害影響の知見は「添加物に関する食品健康影響評価指針」に準ずる³。評価の際に乳児、小児、妊婦・授乳婦・高齢者等の特定の下位集団における評価を行う際に、各下位集団に相当する動物における有害影響の知見がある場合にはそれらも考慮する。

3 ヒトにおける有害影響の知見

ヒトにおける有害影響の知見に関して、栄養成分の摂取による生理的な変化と有害影響を判断する必要があることから、「栄養成分の許容上限摂取量の決め方」(A Model for Establishing Upper Levels of Intake for Nutrients and Related Substances, Report of a Joint FAO/WHO Technical Workshop on Nutrient Risk Assessment WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, 2-6 May 2005) を参照して、ヒトにおける影響を以下のように分類する⁴。

- 1 恒常性範囲内で続発症のない生化学的変化
- 2 恒常性の範囲外だが続発症の不明な生化学的変化
- 3 過剰による有害影響の可能性を示すバイオマーカーによって表される恒常性の範囲外の生化学的変化
- 4 軽度で可逆的な変化を示す臨床的徴候または症状
- 5 重要であるが可逆的な変化を示す臨床的徴候または症状
- 6 重要であり可逆的な臓器損傷を示す臨床的徴候または症状
- 7 不可逆的な臓器損傷を示す臨床的徴候または症状

その結果認められる3（過剰による有害影響の可能性を示すバイオマーカーによって表される恒常性の範囲外の生化学的変化）以上の変化をADI設定のための有害影響とする。しかし、十分な情報がある場合は、2（恒常性の範囲外だが続発症の不明な生化学的変化）をADI設定のための有害影響とできる。

得られたヒトにおける有害影響に関する知見は、「栄養成分の許容上限摂取量の決め方」を参照に、有害影響毎に被験者の年齢、性別、健康状態、人種／民族などの背景、研究の規模、対象とする栄養成分の性質、摂取量、摂取期間、背景食および食品、サプリメント、飲料水からの摂取、摂取評価方法、調査のエンドポイント、摂取と反応の関係（有害影響）、重要な有害影響の性質（選択したエンドポイントの妥当性確認および質的基準、すなわちバイオマーカーまたは臨床的に観察される作用）、作用の規模（摂取、下位集団、他の要因との関係）、交絡因子（感受性や薬物の使用）や作用の修飾要因などの情報をまとめるとともに、それぞれの知見の科学的水準を評価し、エビデンステーブルを作成し検討する。

科学的水準の評価は、前述の「栄養成分の許容上限摂取量の決め方」で用いられている分類を基本とし、本指針案ではエビデンスレベルを以下のように分類する。ただし、症例報告に関しては、エビデンステーブル作成の対象には含めず、エビデンステーブルとは別にとりまとめ科学的水準の評価は行わないものとする。

- A バイアスを考慮した試験デザインが用いられており、結果が有効である研究：実験計画の妥当性に関し、一般的な高い水準を持った研究；集団や研究対象、設定、摂取、比較群の明確な記述；結果の適切な測定；適切な統計学的、分析的手法および記述；記述に誤りがない；脱落者に関する明確な記述。原則として無作為割付比較介入試験（randomized controlled trial, RCT）、二重盲検法により実施された研究とする。
- B いくつかのバイアスは影響するが、結果が無効とはならない研究：カテゴリ-Aのすべての基準は満たしていない研究。いくつかの欠落はあるものの、大きなバ

イアスを引き起こさないと考えられる。研究の情報が不十分である可能性があり、研究の限界・潜在的な問題の解析が困難である。

- C 結果を無効にするかもしれない重要なバイアスがある研究：計画や解析、記述に重大な誤りのあるかもしれない研究。これら研究には多くの情報の欠落や矛盾があるかもしれない。

ただし、ヒトにおける有害影響は一つの知見から判断することが困難である場合もあることから、最終的なNOAELを判断する際には、個々の知見の科学的水準を考慮することに加えて、複数の知見がある場合には総合的に判断する。また、研究デザインや結果の記述内容と言った科学論文としての質のみならず、人種／民族や地域など有害影響の性質に影響を与える要因がバイアスとなる可能性についても十分留意する必要がある⁵。

ヒトにおける知見ではNOAEL等が設定できない場合⁶、HOIを検討する。本指針では基本的に健康な集団を対象にした投与量または観察された摂取量の上位1%または5%をHOIとして用いる。

乳児、小児、妊婦・授乳婦・高齢者等の特定の下位集団における評価を行う場合には、各下位集団における有害影響の知見があるならばそれらも考慮する。

第5 一日摂取量の推計等

我が国における一日摂取量を推計する。推計に当たっては、摂取量の推計値が過小にならないように留意する。原則として、使用対象食品の喫食量に添加物の使用量を乗じて求める摂取量と、バックグラウンドとして食品等から摂取する量を合わせて推計する。食品等からの摂取量を併せて考慮する場合には、その平均値のみならず中央値や分布も検討するとともに、摂取量の上限值も検討する。食品の一日摂取量は、国民健康・栄養調査の食品群別摂取量又はその他の資料等により適切に推定する。また、マーケットバスケット調査や生産量統計を基にした調査など信頼できる手法によって得られたデータに基づく推定も採用が可能である⁷。

第6 食品健康影響評価

食品健康評価は基本的に摂取量、臨床試験、疫学研究、症例報告等のヒトにおける知見を踏まえて、総合的に評価されるのが望ましく、ADIの設定は、ヒトにおける知見により求められるLOAEL 又はNOAELを根拠に評価されるのが最適である。

ヒトにおける有害影響の知見において、栄養成分の摂取によるヒトでの有害影響が特

定でき、NOAEL又はLOAELが設定できる場合には、認められる有害事象や推定一日摂取量を勘案し、ADIを設定する。ヒトにおける知見においてNOAEL等が設定できない場合は、HOIと実験動物のデータを合わせて検討することができる⁸。HOIが、実験動物のNOAELから適切な安全係数を用いて求められる値よりも高い場合、HOIをADIの設定の根拠に用いることを基本とする。HOIが、実験動物のNOAELから適切な安全係数を用いて求められる値よりも低い場合には、実験動物におけるNOAELの根拠となる有害事象のヒトへの外挿性を検討し、総合的に評価する。ただし、ヒトおよび実験動物における知見の何れにおいても有害影響が認められない場合⁹には、ADIを設定する必要はないと考える。

ただし、HOIを超える摂取量は直ちに有害影響を引き起こすものではないことから、HOIを根拠として求められるADIはNOAELから求められるADIと異なる指標であること¹⁰、およびヒト知見におけるNOAELから求められるADIよりも通常は低くなると考えられる指標であることには十分留意する必要がある。

なお、ADIを設定する際には、ヒトにおける知見を踏まえて総合的に評価を行うが、その際、知見の背景要因や研究の質のばらつき等を考慮し、メタアナリシスから得られた知見を重視し、また「4.ヒトにおける有害影響の知見」の項において評価された知見の科学的水準を踏まえ、適切な安全係数を適用する必要がある。また、ヒトにおける必要量や摂取量の範囲は、ヒトにおいて報告されたLOAEL 又はNOAEL と比較的近いことが多いことに留意する必要がある。

「3.体内動態」の項において、化学形態が利用性や有害作用に与える影響を評価した結果、大きな相違があるとする明瞭な科学的根拠がある場合には、それぞれ異なるADIを設定するものとする。それ以外の場合は、必要に応じて効力（国際単位、IU）や相当量として評価する。

また、厚生労働省により策定された「日本人の食事摂取基準」において、耐容上限量が示されている栄養成分については、その値や背景データ等についても考慮する。

乳児、小児、妊婦・授乳婦、高齢者等における評価は、ヒトでの各下位集団における知見を重視するが、特別なエビデンスが無い場合は実験動物の知見を用いて下位集団における差異を検討する¹¹。

栄養成分健康影響評価シミュレーション (ロイシン)

I. 評価対象品目の概要

1. 用途

栄養強化剤・調味料

2. 主成分の名称

和名：ロイシン

英名：Leucine

CAS登録番号：61-90-5

3. 分子式

$C_6H_{13}NO_2$

4. 分子量

131.17

5. 起源又は発見の経緯

(1) 起源

- ・ 1819年に Proust はロイシンをチーズから白色の物質として見出し、翌年に Braconnot は筋肉や羊毛のたんぱく質加水分解物として単離した(参照 1)。

(2) 栄養成分としての機能(生体内の存在形態、生理機能)

- ・ ロイシンは、バリンやイソロイシンとともに分枝した側鎖を有する分枝アミノ酸(BCAA)であり、たんぱく質を構成するアミノ酸の一つである。また、他の BCAA や芳香族アミノ酸などとともに LNAA (large neutral amino acid) と呼ばれている。たんぱく質構成アミノ酸のうちロイシンをはじめとする 8 種類のアミノ酸については、生体内で合成できないため、必須アミノ酸とされている(参照 2, 3, 4)。
- ・ ロイシンは動物の細胞内でプロテインキナーゼの 1 つである mTOR (mammalian target of rapamycin) の活性化を介して、たんぱく質の合成を促進するとともに、たんぱく質分解を抑制することが報告されている(参照 5)。BCAA による膵臓からのインスリン分泌促進(参照 6) やインスリン非依存的な筋肉へのグルコース取り込み促進(参照 7) も動物試験で

報告されており、ロイシンはたんぱく質代謝や糖代謝の調節を行っている
とされている。

- 中枢では、ロイシンの脱アミノ反応と神経伝達物質でもあるグルタミン酸
生合成が共役しており、中枢で生合成されたグルタミン酸ならびにグルタ
ミンのアミノ基の 30-50%がロイシン由来であるとされている（参照 8）。
- 運動選手にロイシンを与えることによって、持久力が高まること（参照 9）、
ロイシンを含む BCAA を摂取すると、運動による筋肉の消耗が低減するこ
と（参照 10）、高齢の慢性透析患者がバリン、ロイシン、イソロイシンを
含む BCAA を摂取すると、食欲不振・全体的な栄養状態を改善すること（参
照 11）、1 型糖尿病患者において、ロイシン摂取量が高まるにつれて、ヘ
モグロビン A1c 値が改善すること（参照 12）、また、2 型糖尿病患者にお
いても、ロイシンを含むアミノ酸・たんぱく質混合物を摂取すると、血中
インスリン濃度が上昇するとともにインスリン感受性が改善すること（参
照 13）、メタアナリシスにより、肝性脳症患者における BCAA 摂取は、
肝性脳症の改善と関連が認められること（参照 14）などが報告されている。
しかし、2 型糖尿病患者に対するロイシン補給は、インスリン感受性、ヘ
モグロビン A1c 値に影響しないという報告（参照 15）、ロイシンを含むア
ミノ酸・たんぱく質混合物を補給すると肝性脳症はわずかに改善するが、
肝性脳症の既往歴のある肝硬変患者に対する補給は、肝性脳症の再発リス
クに影響しなかったという報告がある（参照 16）。また、EFSA はロイシ
ンを含む BCAA の健康強調表示（Health claim）として、筋肉増強・維持、
強度の運動後の筋肉量減少低減、運動後の筋肉疲労からの早い回復、運動
後の認知機能の向上、運動中の自覚的運動強度の減少、健全な免疫機能は
根拠が十分ではないとしている（参照 17）。
- 発展途上国型、日本型ならびに先進国型の食事では、ロイシンは不足してい
ないとされている（参照 18）。他の必須アミノ酸と同様に、ロイシン欠乏
は体たんぱく質減少により、窒素出納が負となることがヒトで報告されて
いる（参照 19）。細胞培養試験において、他のアミノ酸の欠乏よりもロイ
シン欠乏は、mTOR 活性化を抑制することによりヒトの軟骨芽細胞腫の増
殖・腫瘍化を軽減するとされている（参照 20）。しかし、ヒトにおいてた
んぱく質構成成分として以外の機能に特異的な必要量は確認されていない
（参照 21）。

(3) 食品中に存在する形態

- 食品に含まれるロイシンはその多くはたんぱく質の構成成分であり、食品中

たんぱく質に最も多く含まれているアミノ酸である（参照 18）。また、チーズなどの発酵食品ではその熟成過程でたんぱく分解産物としてアミノ酸が産生されており、チーズに含まれる遊離アミノ酸のなかではロイシンが最も多い（参照 22）。

6. 我が国及び諸外国における使用状況等

(1) 我が国における使用状況

- ・ ロイシンは国内では「医薬品的効果効能を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）」に区分されている〔平成 26 年 6 月 1 日〕（参照 23）。また、ヒトの健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして、L-ロイシンが既存添加物に収録されており、食品添加物（調味料・強化剤）としての使用が認められている〔最終改正 平成 26 年 1 月 30 日〕（参照 24）。使用基準は定められていない。ヒト用医薬品としては、L-ロイシンが、低たんぱく血症、低栄養状態等におけるアミノ酸補給を目的として用いられている（対象外物質評価書 ロイシン 2012 年 2 月（参照 25）から引用）。実際には、バリン、イソロイシンとともに BCAA として、サプリメント、飲料などに使用されている。

(2) 諸外国における使用状況

（対象外物質評価書 ロイシン 2012 年 2 月（参照 25）から引用）

- ・ JECFA では、L-ロイシンが、**flavouring agent** として使用される場合において、現在の摂取量では安全性上の懸念はないとされ、使用が認められている（参照 26）。
- ・ EFSA では、L-ロイシンは、多量栄養素であること及びたんぱく質の構成要素であることから、食品を通じたヒトへのばく露量は **flavouring substance** としての使用を通じた推定ばく露量よりはるかに多いため、安全性評価手順は適用しないが、**flavouring substance** として使用された場合の推定摂取量では安全性上の懸念はないと結論している（参照 27）。
- ・ FDA は、GRAS 届出制度により、申請者の規定した使用基準に準拠すれば、L-ロイシンは GRAS であるとするに問題はないとしている（参照 28）。
- ・ 諸外国でも、日本と同様に、バリン、イソロイシンとともに BCAA として、サプリメント、飲料などに使用されている。また、ロイシン単独で健康食品としても販売されている。

引用終わり

7. 国際機関等における評価

(1) 添加物としての評価

① 我が国における評価（厚生労働省）

- ・ 国内では、ロイシンは「医薬品的効果効能を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）」に区分されている（参照 23）。また、ヒトの健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして、既存添加物に収録されており、食品添加物（調味料・強化剤）としての使用が認められている（参照 24）。

（対象外物質評価書 ロイシン2012年2月（参照28）から引用）

② JECFAによる評価

- ・ JECFA では、第 63 回会議（2004 年）において、L-ロイシンは、天然に存在するアミノ酸で、多量栄養素であるたんぱく質の構成要素であること、さらに、**flavouring agent** として摂取する量よりはるかに多くの量を食品から摂取していることから、**flavouring agent** の安全性評価に関する手順を適用しないこととした。L-ロイシンが、**flavouring agent** として使用される場合において、現在の摂取量では安全性上の懸念はないとされ、現在の使用を認める（Acceptable）と結論している（参照 26）。

③ EFSAによる評価

- ・ EFSA では、L-ロイシンは、多量栄養素であること及びたんぱく質の構成要素であることから、食品を通じたヒトへのばく露量は **flavouring substance** としての使用を通じた推定ばく露量よりはるかに多いため、安全性評価手順は適用しないが、**flavouring substance** として使用された場合の推定摂取量では安全性上の懸念はないと結論している（参照 27）。

引用終わり

④ FDAによる評価

- ・ FDA は、GRAS 届出制度により、申請者の規定した使用基準に準拠すれば、L-ロイシンは GRAS であることに問題はないとしている。ただし、FDA 自体が L-ロイシンは GRAS であると決定したのではなく、申請者は、市場が安全とし、または総ての法律や規制の要求に即した添加量を確保しなければならぬとしている（参照 28）。

(2) 栄養成分としての評価、耐容上限量（UL）等について

① 我が国における評価（厚生労働省）

- ・ 2014 年、「日本人の食事摂取基準（2015 年版）策定検討会」報告書は、たんぱく質について、その耐容上限量（UL）を設定し得る明確な根拠となる報告は十分には見当たらないので、耐容上限量は設定しないとしており、ロ

イシンの UL も設定されていない（参照 29）。

② IOM/FNBにおける評価

- 2005 年、米国医学研究所/食品栄養委員会（IOM/FNB）は、通常の食事に含まれるロイシンを含む BCAA や、健康なヒトへの単回の多量な（9.75 g）BCAA 投与が健康を害するとする報告はなく、UL の算定の基礎となるロイシン過剰投与の用量反応試験の報告もない。また、ラットにおける膀胱がんプロモーション作用は人に対するリスクを評価するには不十分であることから、UL を示さないとしている（参照 30）。

③ The Joint FAO/WHO Expert Committee on Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutritionによる評価

- 2002 年の「The Joint FAO/WHO Expert Committee on Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition」報告書は、成人でのたんぱく質の安全な上限について、推奨量の 2 倍程度の摂取は以前に安全な上限であると確認されているとしており、食物のたんぱく質含量に上限はあるが、その正確な限度については確認されておらず、推奨摂取量の 3-4 倍を比較的長い期間にわたって摂取しても、ウサギで観察された悪心・下痢といった症状を示さないヒトも多いと推定している。有害であるという根拠は無いが、リスクが無いという確証もない。このような多量の摂取量は有益でないので、避けるべきであるとしている（参照 31）。

II. 安全性に係る知見の概要

1. 体内動態

- 摂取したたんぱく質は胃に流下し、胃酸による変性とペプシンによる消化を受け、プロテオースやペプトンとなる。プロテオースやペプトンは小腸に移行し、膵臓由来のトリプシンやキモトリプシン、エラスターゼ、カルボキシペプチダーゼにより、さらに消化される。次いで、小腸粘膜上皮細胞の刷子縁膜で発現しているアミノペプチダーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、トリペプチダーゼやジペプチダーゼにより、遊離アミノ酸または小ペプチドとなり、添加された遊離のロイシンとともに、上皮細胞に取り込まれる（参照 4）。ロイシンを取り込む刷子縁膜トランスポーターとしては、rBAT・b⁰+AT の複合体、ATP⁰+などが知られており、これらは他の BCAA を含む LNAA や含硫アミノ酸も輸送している。また、ジペプチドやトリペプチドを取り込む PEPT1 も刷子縁膜で発現している（参照 32）。ヒトではロイシンを含むジペプチドは遊離型のロイシンより速やかに吸収される（参照 35）。吸収されたペプチドは細胞内でジペプチダーゼやトリペプチダーゼによりア

ミノ酸となる。ロイシンは細胞内からは側底膜上で発現している y^+ LAT1、 y^+ LAT2 や LAT2 と 4F2hc 複合体などにより汲み出される (参照 32)。

- ヒトの静脈内にロイシンを投与した試験では、55%が骨格筋、25%が肝臓、10%が中枢に取り込まれるとされている (参照 34)。高齢者では、消化管・肝臓におけるロイシン取り込みが多い結果、循環血に移行するロイシンが少ないため食事時のロイシン利用能が低いとされている (参照 35)。
- ロイシンはたんぱく質を構成するアミノ酸として重要であるが、余剰なロイシンは異化される。ロイシンは、分枝アミノ酸アミノトランスフェラーゼによって可逆的に脱アミノを受け α -ケトイソカプロン酸となり、次いで、ロイシン異化の律速酵素である分枝 α -ケト酸デヒドロゲナーゼにより不可逆的にイソバレリル CoA に変換される。イソバレリル CoA はその後いくつかの酵素の作用により、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル CoA となる。ヒドロキシ-3-メチルグルタリル CoA は、アセチル CoA に変換され脂肪酸合成の基質となり、また TCA 回路に入り酸化される。したがって、ロイシンは純粋なケト原性アミノ酸である。
- 分枝アミノ酸アミノトランスフェラーゼ活性は心臓、胃、膵臓、乳腺、腎臓、次いで骨格筋で活性が高いが、肝臓における活性は低い。したがって、他の多くのアミノ酸と異なり、ロイシンを含む BCAA の異化は肝臓では起こりにくい。
- 骨格筋では、ロイシン由来のアミノ基はグルタミン酸を介してアラニン合成に用いられるとともに、グルタミン酸・アンモニアを介してグルタミン合成に用いられる。骨格筋で合成されたアラニンは肝臓で代謝される。グルタミンは腎臓で代謝されるとともに、消化管でアラニンに変換され、肝臓で代謝される (参照 36)。
- ロイシンの異化に関連する分枝 α -ケト酸デヒドロゲナーゼの先天性欠損によるメープルシロップ尿症が知られている。メープルシロップ尿症では、ロイシン代謝産物である α -ケトイソカプロン酸やその他の BCAA 由来の α -ケト酸が過剰に蓄積し、その結果、グルタミン生合成が抑制される (参照 8)。ロイシンの血中濃度上昇により、中枢への他の LNAA 輸送が抑制され、中枢が2次的なたんぱく質不足となる。また、中枢におけるエネルギー産生不足が生じ、昏迷、食欲不振、易刺激性、運動失調、嘔吐、幻覚などの神経障害が生じる。脳内ロイシン濃度が高まるため、脳では水分代謝が異常となり、灰白質のびまん性浮腫や細胞の膨化が生じる (参照 8)。
- 食事時のロイシンの形態がその利用性に影響を及ぼすことが報告されている：ヒトでは消化吸収が遅いカゼイン中ロイシンは、消化吸収が速い乳清たんぱく質中ロイシンよりも利用されやすく、サプリメントとしてのロイシンは

乳清たんぱく質中ロイシンよりも利用されにくいとされている（参照 37）。また、カゼインとして摂取したロイシンはサプリメントとして摂取したロイシンよりも異化を受けにくいとされている（参照 38）

- 上述のように、ロイシンは、他の中性アミノ酸と同じトランスポーターによって輸送される。また、ロイシンと他の BCAA の異化を行う酵素は重複している。その結果、ロイシンと他の BCAA の代謝は密接に関連している。ヒトに対してロイシンを経口負荷すると、イソロイシンやバリンの血中濃度が低下する。また、イソロイシンを経口負荷すると、ロイシンの血中濃度が低下する（参照 39）。一方、ロイシン欠乏では、イソロイシンやバリンの血中濃度が増加する（参照 40）。
- 脳血管関門には、ロイシンなど BCAA やトリプトファンやチロシン、フェニルアラニンなど芳香族アミノ酸を輸送する LNAA トランスポーターである LAT1・4F2hc 複合体が発現しており（参照 32）、これらアミノ酸の脳内への輸送は拮抗している。ラットでは、ロイシンを過剰摂取すると、ロイシンの血中濃度が上昇し、その結果、トリプトファン、チロシン・フェニルアラニンの脳内への輸送が抑制され、これら芳香族アミノ酸からのセロトニンやカテコールアミンの生合成が抑制されるとされている（参照 41）。

体内動態まとめ

たんぱく質の消化の後、ロイシンは他の LNAA や含硫アミノ酸と同じトランスポーターにより吸収される。その後、多くが骨格筋において異化され、そのアミノ基はアラニンやグルタミン合成に用いられる。食事の形態によって、ロイシンの利用性は異なっており、サプリメントとして摂取された遊離型ロイシンは、たんぱく質に含まれるロイシンよりも異化されやすい。ロイシン代謝は他の LNAA 代謝と拮抗することが多く、実験動物ではロイシンを過剰摂取させると血中ロイシン濃度上昇により、トリプトファン、チロシン・フェニルアラニンの脳内への輸送が抑制され、これら芳香族アミノ酸からのセロトニンやカテコールアミンの生合成が抑制される。このような変化がヒトのロイシン過剰摂取で生じるかは不明である。

2. 動物における有害影響の知見

（対象外物質評価書 ロイシン2012年2月（参照25）から引用）

（1）遺伝毒性

Escherichia coli (*uvrB*, *uvrB umuC*, *uvrB LexA*) を用いた L-ロイシンの変異原性試験は陰性であった。また、ヒトリンパ球を用いた姉妹染色分体交換

試験は陽性であったが、この試験では細胞毒性が測定されておらず、また、用量依存性がないことから、EFSA ではこの結果は結論付けられないとしている（参照27, 42）。

(2) 急性毒性

ラットを用いたL-ロイシンの経口投与による急性毒性試験におけるLD₅₀ は、>16,000 mg/kg 体重であった。

(3) 反復投与毒性

ラット13週間経口投与試験 (Tsubukuら (2004) (EFSA (2006) で引用))

Sprague-Dawleyラット(雌雄)にL-ロイシンを表のような投与群を設定して、13週間混餌投与する試験が実施されている。

| | |
|--------------------|--|
| 用量設定 | 0 (対照群)、1.25、2.5、5.0% |
| mg/kg体重/日と して換算 | 雄：0、833、1660、3330 mg/kg 体重/日 雌：0、961、1900、3840 mg/kg 体重/日 |

その結果、全投与群で毒性所見が認められなかったとされている。EFSAはNOAELを本試験の最高用量である5.0 % (雄で3,330 mg/kg 体重/日、雌で3,840 mg/kg 体重/日) としている (参照43)。

本研究班も、本試験におけるNOAELを雌雄ともに最高用量である5% (雄で3,330 mg/kg 体重/日、雌で3,840 mg/kg 体重/日) と判断した。

引用終わり

3. 発がん性

発がん性試験は実施されていない。

参考資料

ラット二段階膀胱発がん試験 (Nishio ら (1986) (IOM (2005) で引用))
ラットにBHBNを処置した後にロイシンを表のような投与群を設定し、60週間混餌投与する試験が実施されている。

| 群番号 | 投与方法 |
|-----|----------------------------|
| 1 | ロイシン混餌投与 (0、2、4%) |
| 2 | イソロイシン混餌投与 (0、2、4%) |
| 3 | BHBN処置 |
| 4 | BHBN処置+イソロイシン混餌投与 (0、2、4%) |
| 5 | BHBN処置+ロイシン混餌投与 (0、2、4%) |

その結果、1群および2群の何れの用量並びに3群において、膀胱がんの発生は認められなかった。4群および5群において膀胱がんの発生が認められた。これら結果から、ロイシンまたはイソロイシンはラット膀胱においてプロモーション作用を示す可能性が考えられた (参照44)。

4. 生殖発生毒性

① ラット生殖毒性試験 (Matsuedaら (1982) (IOM (2005) で引用))

Matsueda、Niiyama (1982) らは、BCAAの日常的な投与がラット妊娠に与える影響を報告している。5%のロイシン、イソロイシンまたはバリンを補充した低たんぱく食 (6%カゼイン食) 妊娠ラットに与え、対照群には低たんぱく食 (6%カゼイン食) を与えた実験を行っている。対照群は (記載されていないが)、BCAA群に対応した量の6%食が与えられたと考えられる。その結果、ロイシンまたはイソロイシンを与えたラットにおいて、20例中11例の妊娠が維持された。バリン投与雌親ラットを除いて、食事摂取量や体重増加には影響が認められなかった。BCAA投与群における胎児の体重は対照群に比して小さく、イソロイシンまたはバリン投与群における胎児の体重はpair-fed対照群に比して小さかった。これらと同様の現象は、胎児の脳重量でも認められた。BCAA投与群の脳内におけるBCAA、ヒスチジン、アルギニン量は顕著に増加していたが、グルタミンやフェニルアラニンにおいては、これらの変化は認められなかった。これらの結果から、BCAAを高用量 (5%、2,000 mg/kg体重/日) で妊娠ラットに投与した場合、胎児の体重、脳重量が減少し、脳内におけるある種のアミノ酸濃度が上昇する可能性が考えられるとされる (参照45)。

② ラットBCAA経口投与三世代試験 (Thoemkeら (1984)) (IOM (2005) で引用)

Thoemke and Huether (1984) らは、BCAA食 (各アミノ酸10 g/kg) の3世代にわたる影響およびトリプトファン、チロシン、フェニルアラニンの影響を検討している。雌雄それぞれに交配2週間前からアミノ酸含有食を給餌し、3世代にわたり継続したところ、BCAAはF3世代の雌親において、血中トリプトファン、チロシン濃度が減少し、グリシン濃度が上昇したとされる。F1の雌親およびF2世代においてはこのような変化は見られず、すべての世代において、BCAA濃度に変化は認められなかった。F1世代において、BCAA食は生後5および10日後の脳重量が減少させたが、20日後には正常であったが、F2およびF3世代においては児動物の脳重量は5日齢で有意に減少し、20日齢までに回復しなかった。神経伝達物質の濃度は3世代すべての脳において減少し、最も顕著な減少はアスパラギン酸において認められた。しかし、神経伝達物質濃度に対するこれら減少の影響を検討するための機能的な解析は行っていない。

このように、脳化学的な変化、特に神経伝達物質濃度と脳重量の減少は、BCAA食 (30 g/kg食、各アミノ酸10 g/kg) を与えた児動物に見られることは明らかである。雌ラットの体重を妊娠中平均200g、一日当たり15g餌を摂取す

ると仮定すると、BCAAは450 mg/日 (2,250mg/kg/日、各アミノ酸750mg/kg/日) 摂取すると想定される。しかし、この試験では単用量の試験であることから、NOAELは特定できないとされている (参照46)。

参考資料

以降の知見については、腹腔内投与で行われた実験であることから、ロイシンの生殖発生毒性を検討する資料にはならないものであるが、参考資料として掲載する。

ラット発生毒性試験 ((Persaud ら (1969)) (IOM (2005) で引用))

Persaud (1969) らは、妊娠ラットに15 mg/kg 体重の用量で腹腔内投与した場合、ロイシンは催奇形物質であることを報告している。この多様で重篤な作用は、胚発生期において、アミノ酸不均衡がたんぱく合成に影響を与えている結果であると考えられている。BCAAの経口投与におけるこのような作用は不明である (参照47)。

3. ヒトにおける有害影響の知見

(1) メープルシロップ尿症

ヒトの先天性疾患であるメープルシロップ尿症では、BCAA代謝の律速酵素であるケト酸デカルボキシラーゼ (EC 1.2.4.4) 欠損のために、ロイシン代謝産物である α -ケトイソカプロン酸が過剰に蓄積し、その結果、グルタミン酸消費が増加する (参照8)。また、ロイシンの血中濃度上昇により、中枢への他のLNAA (large neutral amino acids) 輸送が抑制され、たんぱく質不足・エネルギー不足となり、昏迷、食欲不振、易刺激性、運動失調、嘔吐、幻覚などの神経障害が生じる。また中枢でのロイシン濃度が高まるため、脳における水分代謝が異常となり、灰白質のびまん性浮腫や細胞の膨化が生じる (参照8)。メープルシロップ尿症における中枢の異常は、過剰量のBCAA摂取の影響を推定する一助になると考えられるが、メープルシロップ尿症の陰性症状発生は、血中ロイシン (ならびにBCAA) 濃度と関連が無いので、血中ロイシン濃度は健常人におけるロイシン過剰による脳への悪影響を示す指標とすることはできないとされている (参照41)

(2) ヒトを対象にした知見 (介入研究、症例報告など)

ロイシンはバリン、イソロイシンとともに、BCAAとしてその効果が検討されたものがほとんどであり、単独での効果を検討した報告は少ない。

現在ロイシンが注目されているのは筋の健康に対してであり、サルコペニア

の予防、改善効果が注目されている。運動器に対するロイシン（BCAA）の効果を検討した論文を含め以下に示す。

| 文献 | 対象数 | 対象者特性 | 摂取量 期間 | 背景食 | 効果評価方法 | 有害影響のレベル/エビデンスレベル |
|----|--------------------|--------------------------------------|--|------------------------------------|---|-------------------|
| 1 | 29名 (ロイシン群15名) | 成人男性 71±4歳 | ロイシン7.5 g/日 12週間 | 基準食 44kJ/kg PFC= 12:28:60 | 骨格筋量、骨格筋力、 インスリン感受性、 血糖化ヘモグロビン量、 血漿脂質に影響なし | 無/B |
| 2 | 57名 (ロイシン群29名) | II型糖尿病 高齢男性 平均71±1歳 | L-ロイシン7.5g/日 6ヶ月間 | 基準食 | 除脂肪量、体脂肪率、 筋力、筋線維タイプ、 インスリン感受性、 血糖化ヘモグロビン量、 血漿脂質に影響なし | 無/B |
| 3 | 45名 (ロイシン群22名) | 前十字靭帯断裂のため再建術を受けた運動選手 平均23.8±5.6歳 | ロイシン330 mg×4個/日 平均2.7週間 | 通常食 | 大腿筋肉量の増加が認められた筋力の回復に影響はなし | 無/B |
| 4 | 24名 (ロイシン群12名) | 高齢者24名 平均85±8歳 | ロイシン10 g/日を12週間+週4日のレジスタンス運動 | 通常食 | 身体機能評価4項目中1項目で改善が認められたが、脚の等尺性運動最大強度、健康関連QOL指標(SF-36)に影響は認められなかった | 無/B |
| 5 | 25名 (ロイシン群8+8名) | 高齢者25名 平均71.1±2.7歳または平均71.9±3.0歳 | ロイシン20%または40%含有必須アミノ酸を0.21 g/kg/日、3ヶ月間 | 通常食 | 運動機能テスト、身体活動量に影響なし | 無/B |

| | | | | | | |
|---|----|------------------|---|----------------------|--|---------------|
| 6 | 5人 | 健康成人男性 20-35歳 | ロイシン50, 150, 250, 500, 750, 1000, and 1250 mg/kg/日 摂取量を段階的に増やす | 基準食タンパク質は体重kgあたり1.0g | 500 mg/kg/日のロイシン摂取で高アンモニア血症を生じる 750 mg/kg/日を上回ると尿中ロイシン排泄が増加する | 4/B |
| 7 | 5人 | 健康成人男性 20-35歳 | ロイシン50, 150, 250, 500, 750, 1000, and 1250 mg/kg/日 摂取量を段階的に増やす | 基準食タンパク質は体重kgあたり1.0g | 2相線回帰モデルに当てはめると、550 mg/kg/日でブレークポイントに達し、その後は一定となる。 550 mg/kg/dをロイシンのULと推定 | 4/B |
| 8 | 6人 | 高齢者72.2 ± 3.5歳 | ロイシン50, 150, 250, 500, 750 mg/kg/日 摂取量を段階的に増やす | | 2相線回帰モデルに当てはめると、431 mg/kg/日でブレークポイントに達し、その後は一定となる。 ロイシンのULは430 mg/kg/日と推定 | 4/C (学会発表) |

1 (参照48)、2 (参照49)、3 (参照50)、4 (参照51)、5 (参照52)、6 (参照53)、7 (参照54)、8 (参照55)

注6,7は同一のデータを用いて、異なる解釈を行っている。

健康な5名の男性 (27.2 ± 2.1歳) に対して段階的なロイシン過剰による影響を検討した報告では、500 mg/kg/日のロイシン補給で血中アンモニア濃度が正常値を上回り、750 mg/kg/日を上回るロイシン摂取では血漿中ロイシン濃度と尿中ロイシン排泄が増加するとされている (参照53, 54)。しかし、血中アンモニア濃度は試験翌日には基準値範囲にもどっていたことから一過性の上昇といえる。

また、段階的なロイシン過剰によるロイシンの代謝速度の変化を2相線回帰モデルに当てはめると、550 mg/kg/日まではロイシン摂取量に応じて直線的に増加するが、550 mg/kg/日を上回ると一定となるとしている (参照54)。この時の95%信頼区間の下値は454mg/kg/日と示されている。

同様の試験を6名の男性高齢者（72.2 ± 3.5 歳）で行った試験でも、成人と大きな差が無く、550 mg/kg/日から血中アンモニア濃度は正常値を上回り、ロイシンの代謝速度の変化のブレイクポイントは431 mg/kg/日であるとしている（参照55）。

ヒトにおける有害影響の知見のまとめ

500 mg/kg/日のロイシン過剰で血中アンモニア濃度が正常値を上回るとされているが、500 mg/kg/日摂取時における血中アンモニア濃度は、50 mg/kg/日摂取した場合と有意な差は無く、血中アンモニア濃度は750 mg/kg/日摂取以上で有意な差となる。また、この血中アンモニア濃度の上昇は、翌日には消失している可逆的な影響である。血漿中ロイシン濃度の上昇は、750 mg/kg/日以上で認められている。一方、ロイシン代謝速度の変化からは、ヒト（若年成人）を対象としたULを、550 mg/kg/日としている（参照53, 54）。また、高齢者でも同様の試験が行われており、ロイシン代謝速度の変化から、430 mg/kg/日をULとしている（参照55）。

本研究班は、健常人男性を対象とした試験（参照53）において認められた高アンモニア血症を基に、ロイシンのNOAELを250 mg/kg/日と考えた。

Ⅲ. 一日摂取量の推計等

1. 我が国における摂取量

佐藤らによる生産量統計調査によれば、平成22年のL-ロイシンの生産量は、輸入量と併せて119,926トンである。これがすべて摂取されたと考え、これを国民全員が毎日摂取したと仮定すると、1日摂取量は、2.6 g/日、PCTT法で計算すると、その10倍の26 g/日となる（参照56）。

伊藤らは、マーケットバスケット方式で求めた、加工食品からのL-ロイシン摂取量を269 mg、生鮮食品からのL-ロイシン摂取量を64.2 mgとしており、合計で333 mg/日を一日摂取量と推計している（参照57）。

また、加藤らは地域在住高齢者の食事調査より、ロイシン摂取量を推計しており、これによると平均男性5.97 g、女性5.04 gを一日摂取量と推計している（参照58）。

この調査で行われた方法と同様に、食事成分表のアミノ酸量から主要なものを抜粋し、国民健康栄養調査による食品別タンパク質摂取量を掛け合わせて、計算すると、ロイシン摂取量は7.4 g/日（134 mg/kg/日）と推計された。

本研究班としては、L-ロイシンの一日摂取量を7.4 g/日（134 mg/kg/日）と判断

した。

IV. 食品健康影響評価

ロイシンは、たんぱく質の消化の後、他のLNAAや含硫アミノ酸と同じトランスポーターにより吸収される。その後、多くが骨格筋において異化され、そのアミノ基はアラニンやグルタミン合成に用いられる。食事中の形態によって、ロイシンの利用性は異なっており、サプリメントとして摂取された遊離型ロイシンは、たんぱく質に含まれるロイシンよりも異化されやすい。ヒトにおけるロイシン過剰摂取時には、血中アンモニア濃度が高値となるとともに、尿中に排泄されるロイシンが増加する。ロイシン異化の律速段階である分枝 α -ケト酸デヒドロゲナーゼの先天性な欠損によるメープルシロップ尿症では、神経伝達物質でもあるグルタミンの脳内における生合成が抑制される。また、中枢への他のLNAA輸送が抑制され、脳がたんぱく質・エネルギー不足となる。その結果、昏迷、食欲不振、易刺激性、運動失調、嘔吐、幻覚などの神経障害が生じる。

本研究班としては、L-ロイシンについて生体にとって特段の問題となる遺伝毒性の懸念はないと判断した。

本研究班としては、ヒトにおける知見を検討した結果、ヒトにおける知見を基にNOAELが設定できると考え、健常人男性を対象とした試験結果より、250 mg/kg/日をL-ロイシンの毒性に係るNOAELと判断した。

本研究班としては、認められた有害影響及びL-ロイシンの我が国における推定一日摂取量(134 mg/kg/日)を勘案すると、L-ロイシンのADIを特定することが必要と判断した。

本研究班としては、健常人男性を対象とした試験のNOAEL 250 mg/kg/日を根拠とし、安全係数1で除した250 mg/kg 体重/日をL-ロイシンのADI と評価した。

なお、ヒトの先天性疾患であるメープルシロップ尿症では、ロイシン代謝産物である α -ケトイソカプロン酸が過剰に蓄積し、その結果、グルタミン酸生合成が抑制される。また、ロイシンの血中濃度上昇により、中枢への他のLNAA輸送が抑制され、たんぱく質不足・エネルギー不足となり、昏迷、食欲不振、易刺激性、運動失調、嘔吐、幻覚などの神経障害が生じる。また、中枢でのロイシン濃度が高まるため、脳における水分代謝が異常となり、灰白質のびまん性浮腫や細胞の膨化が生じるとされていることから、適切な注意喚起が行われるべきである。

参照論文

- 1) Guoyao W. Discoverey and chemistry of amino acids. [Amino acids-biochemistry and nutrition]. (2013) pp 1-32. CRC Press.
- 2) 日本栄養・食糧学会編. 分枝アミノ酸. [栄養・食糧学用語辞典 [第2版]] (2015) p 579. 建帛社.
- 3) 下村吉治. 分岐鎖アミノ酸 (BCAA) の生理機能. Nestlé Nutrition Council, Japan. (2009)
- 4) 野口忠. タンパク質・アミノ酸. [最新栄養化学] (2000) pp 85-111. 朝倉書店.
- 5) Dodd KM, Tee AR. Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* (2012) 302(11): 1329-1342.
- 6) Malaisse WJ, Sener A, Malaisse-Legae F, Hutton JC, Christophe J. The stimulus-secretion coupling of amino acid-induced insulin release. Metabolic interaction of L-glutamine and 2-ketoisocaproate in pancreatic islets. *Biochim Biophys Acta.* (1981) 677(1):39-49.
- 7) Nishitani S, Takehana K, Fujitani S, Sonaka I. Branched-chain amino acids improve glucose metabolism in rats with liver cirrhosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* (2005) 288(6):1292-1300.
- 8) Yudkoff M, Daikhin Y, Nissim I, Horyn O, Luhovyy B, Lazarow A, Nissim I. Brain amino acid requirements and toxicity: the example of leucine. *J Nutr.* (2005) 135(6 Suppl):1531-1538.
- 9) Crowe MJ, Weatherson JN, Bowden BF. Effects of dietary leucine supplementation on exercise performance. *Eur J Appl Physiol.* (2006) 97(6):664-672.
- 1 0) MacLean DA, Graham TE, Saltin B. Branched-chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown during exercise. *Am J Physiol.* (1994) 267(6 Pt 1):1010-1022.
- 1 1) Hiroshige K, Sonta T, Suda T, Kanegae K, Ohtani A. Oral supplementation of branched-chain amino acid improves nutritional status in elderly patients on chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* (2001) 16(9):1856-1862.
- 1 2) Lamichhane AP, Crandell JL, Jaacks LM, Couch SC, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. Longitudinal associations of nutritional factors with glycated hemoglobin in youth with type 1 diabetes: the SEARCH Nutrition Ancillary Study. *Am J Clin Nutr.* (2015) 101(6):1278-1285.
- 1 3) van Loon LJ, Kruijshoop M, Menheere PP, Wagenmakers AJ, Saris WH, Keizer HA. Amino acid ingestion strongly enhances insulin secretion in patients with long-term type 2 diabetes. *Diabetes Care.* (2003) 26(3):625-630.

- 1 4) Gluud LL, Dam G, Borre M, Les I, Cordoba J, Marchesini G, Aagaard NK, Risum N, Vilstrup H. Oral branched-chain amino acids have a beneficial effect on manifestations of hepatic encephalopathy in a systematic review with meta-analyses of randomized controlled trials. *J Nutr.* (2013) 143(8):1263-1268.
- 1 5) Leenders M, Verdijk LB, van der Hoeven L, van Kranenburg J, Hartgens F, Wodzig WK, Saris WH, van Loon LJ. Prolonged leucine supplementation does not augment muscle mass or affect glycemic control in elderly type 2 diabetic men. *J Nutr.* (2011) 141(6):1070-1076.
- 1 6) Les I, Doval E, García-Martínez R, Planas M, Cárdenas G, Gómez P, Flavià M, Jacas C, Mínguez B, Vergara M, Soriano G, Vila C, Esteban R, Córdoba J. Effects of branched-chain amino acids supplementation in patients with cirrhosis and a previous episode of hepatic encephalopathy: a randomized study. *Am J Gastroenterol.* (2011) 106(6):1081-1088.
- 1 7) Tetens I. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to branched-chain amino acids (BCAA) and growth or maintenance of muscle mass (ID 442, 444, 445, 447, 448, 451, 1478), attenuation of the decline in muscle power following exercise at high altitude (ID 443), faster recovery from muscle fatigue after exercise (ID 447, 448, 684,1478), improvement of cognitive function after exercise (ID 446), reduction in perceived exertion during exercise (ID 450) and “healthy immune system” (ID 449) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal.* (2010). 8(10):1790.
- 1 8) 鈴木敦士, 渡部終五, 中川弘毅 編集. 5. タンパク質の栄養科学 [タンパク質の科学] (1998) pp 186-201. 朝倉書店.
- 1 9) Rose WC, Warner DT, Haines WJ. The amino acid requirements of man. IV. The rôle of leucine and phenylalanine. *J Biol Chem.* (1951) 193(2):613-620.
- 2 0) Yang X, Yang ZJ, Liu FX, Zeng K, Qian MQ, Chen G, Shi L, Zhu GX. Inhibition of mTOR and HIF pathways diminishes chondro-osteogenesis and cell proliferation in chondroblastoma. *Tumour Biol.* (2013) 34(5):3111-3119.
- 2 1) WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Protein and amino acid requirement in human nutrition. 8. Amino acid requirements of adults. (2007) 135-160. World Health Organization.
- 2 2) Puchades R, Lemieux L, Simard RE. Evolution of free amino acids during the ripening of Cheddar cheese containing added lactobacilli strains. *Journal of Food Science.* (1989) 54(4):885-888.

- 2 3) 厚生労働省. 医薬品の効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質 (原材料) リスト.
- 2 4) 日本食品化学研究振興財団. 既存添加物名簿収載品目リスト. (2014) 1-20.
- 2 5) 食品安全委員会 動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書 「ロイシン」 2012年2月
- 2 6) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives : L-LEUCINE (2004).
- 2 7) European Food Safety Authority (EFSA). SCIENTIFIC OPINION Flavouring Group Evaluation 79, (FGE.79). Consideration of amino acids and related substances evaluated by JECFA (63rd meeting) structurally related to amino acids from chemical group 34 evaluated by EFSA in FGE.26Rev1. The EFSA Journal (2008) 870: 1-46.
- 2 8) Food and Drug Administration (FDA) Title 21, Volume 3 Food additives permitted for direct addition to food for human consumption. (2015)
- 2 9) 厚生労働省. 1-2 たんぱく質 [日本人の食事摂取基準2015年版] (2015) pp 88-109.
- 3 0) IOM Food and Nutrition Board (FNB) 10. Protein and amino acids Tolerable Upper Intake Levels for Individual Amino Acids [Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)] (2005) 695-737. National Academy Press.
- 3 1) WHO/FAO/UNU Expert Consultation. 13. Protein intake and health [Protein and amino acid requirement in human nutrition] (2007) pp 223-239. World Health Organization.
- 3 2) 日本栄養・食糧学会 監修. 2. アミノ酸のトランスポーター [栄養・食品機能とトランスポーター] (2011) pp. 39-80. 建帛社.
- 3 3) Adibi SA, Soleimanpour MR. Functional characterization of dipeptide transport system in human jejunum. J Clin Invest. (1974) 53(5):1368-1374.
- 3 4) Matthews DE. Observations of branched-chain amino acid administration in humans. J Nutr. (2005) 135(6 Suppl):1580-1584.
- 3 5) Boirie Y, Gachon P, Beaufrère B. Splanchnic and whole-body leucine kinetics in young and elderly men. Am J Clin Nutr. (1997) 65(2):489-495.
- 3 6) Harper AE, Miller RH, Block KP. Branched-chain amino acid metabolism. Annu Rev Nutr. (1984) 4:409-454.
- 3 7) Bilsborough S, Mann N. A review of issues of dietary protein intake in humans. Int J Sport Nutr Exerc Metab. (2006) 16(2):129-152.

- 3 8) Metges CC, El-Khoury AE, Selvaraj AB, Tsay RH, Atkinson A, Regan MM, Bequette BJ, Young VR. Kinetics of L-[1-(13)C]leucine when ingested with free amino acids, unlabeled or intrinsically labeled casein. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* (2000) 278(6):1000-1009.
- 3 9) Schauder P. Pharmacokinetic and metabolic interrelationships among branched-chain keto and amino acids in humans. *J Lab Clin Med.* (1985) 106(6):701-707.
- 4 0) Hambraeus L, Bilmazes C, Dippel C, Scrimshaw N, Young VR. Regulatory role of dietary leucine on plasma branched-chain amino acid levels in young men. *J Nutr.* (1976) 106(2):230-240.
- 4 1) Fernstrom JD. Branched-chain amino acids and brain function. *J Nutr.* (2005) 135(6 Suppl):1539-1546.
- 4 2) European Food Safety Authority (EFSA). Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to Flavouring Group Evaluation 26: Amino acids from chemical group 34. *The EFSA Journal* (2006) 373: 1-48.
- 4 3) Tsubuku S, Hatayama K, Katsumata T, Nishimura N, Mawatori K, Smriga M, Kimura T. Thirteen-week oral toxicity study of branched-chain amino acids in rats. *Int. J. Toxicol.* (2004) 23:119-126.
- 4 4) Nishio Y, Kakizoe T, Ohtani M, Sato S, Sugimura T, Fukushima S. L-isoleucine and L-leucine: Tumor promoters of bladder cancer in rats. *Science* (1986) 231:843-845.
- 4 5) Matsueda S, Niiyama Y. The effects of excess amino acids on maintenance of pregnancy and fetal growth in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* (1982) 28:557-573.
- 4 6) Thoemke F, Huether G. 1984. Breeding rats on amino acid imbalanced diets for three consecutive generations affects the concentrations of putative amino acid transmitters in the developing brain. *Int J Dev Neurosci* (1984) 2:567-574.
- 4 7) Persaud TV. The foetal toxicity of leucine in the rat. *West Indian Med J* (1969) 18:34-39. (論文無し)
- 4 8) Verhoeven S, Vanschoonbeek K, Verdijk LB, Koopman R, Wodzig WK, Dendale P, van Loon LJ. Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men. *Am J Clin Nutr.* (2009) 89(5):1468-1475.
- 4 9) Leenders M, Verdijk LB, van der Hoeven L, van Kranenburg J, Hartgens F,

- Wodzig WK, Saris WH, van Loon LJ. Prolonged leucine supplementation does not augment muscle mass or affect glycemic control in elderly type 2 diabetic men. *J Nutr.* (2011) 141(6):1070-1076.
- 5 0) Laboute E, France J, Trouve P, Puig PL, Boireau M, Blanchard A. Rehabilitation and leucine supplementation as possible contributors to an athlete's muscle strength in the reathletization phase following anterior cruciate ligament surgery. *Ann Phys Rehabil Med.* (2013) 56(2):102-112.
- 5 1) Trabal J, Forga M, Leyes P, Torres F, Rubio J, Prieto E, Farran-Codina A. Effects of free leucine supplementation and resistance training on muscle strength and functional status in older adults: a randomized controlled trial. *Clin Interv Aging.* (2015) 10:713-723.
- 5 2) Ispoglou T, White H, Preston T, McElhone S, McKenna J, Hind K. Double-blind, placebo-controlled pilot trial of L-Leucine-enriched amino-acid mixtures on body composition and physical performance in men and women aged 65-75 years. *Eur J Clin Nutr.* (2016) 70(2):182-188.
- 5 3) Elango R, Chapman K, Rafii M, Ball RO, Pencharz PB. Determination of the tolerable upper intake level of leucine in acute dietary studies in young men. *Am J Clin Nutr.* (2012) 96(4):759-767.
- 5 4) Pencharz PB, Elango R, Ball RO. Determination of the tolerable upper intake level of leucine in adult men. *J Nutr.* (2012) 142(12):2220-2224.
- 5 5) Elango R, Rasmussen S, Madden K. Safety and tolerability of leucine supplementation in elderly adults. Abstract in the 9th Amino acid assessment workshop. 10/15/2015. Paris, France
- 5 6) 佐藤 恭子、北村 陽二、山田 雅巳他. 食品添加物の規格試験法の向上及び摂取量推定等に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金 健康安全確保総合研究 食品の安全確保推進研究報告書. (2015) <http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/research/NIDD00.do?resrchNum=201327025A>
- 5 7) 伊藤誉志男. 日本人の食品添加物の一日摂取量調査研究 マーケットバスケット方式 (25年間のまとめ) . *FFI JOURNAL*, (2007) 212(10):815-839.
- 5 8) 加藤友紀、大塚礼、今井具子他. 地域在住中高年者のアミノ酸摂取量—食品アミノ酸成分表の新規構築による推定—, *栄養学雑誌* (2013) 71(6): 299-310.

栄養成分健康影響評価シミュレーション (ビタミンD)

I. 評価対象品目の概要

1. 用途

栄養強化剤

2. 主成分の名称

和名：ビタミンD₂ (エルゴカルシフェロール、) とビタミンD₃ (コレカルシフェロール)

英名：Vitamin D₂ (Ergocalciferol) ; Vitamin D₃ (Cholecalciferol)

CAS登録番号： Vitamin D₂ (50-14-6) ; Vitamin D₃ (67-97-0)

3. 分子式

Vitamin D₂ C₂₈H₄₄O) ; Vitamin D₃ C₂₇H₄₄O)

4. 分子量

Vitamin D₂ (396.65) ; Vitamin D₃ (384.64)

5. 起源又は発見の経緯

- 1922年に McCollum は、タラ肝油が抗くる病因子を含むことを見出し、この抗くる病因子をビタミン D と名づけた。その後、食品に紫外線照射を行うと、抗くる病成分が産生されることが明らかになり、Windaus と Askew は 1932年に個別にビタミンD₂の構造を決定した。次いで、Windaus が 1936年にビタミンD₃の構造を決定した。(参照 1)

(1) 栄養成分としての機能 (生体内の存在形態、生理機能)

- ビタミンDには脂溶性ビタミンであり、植物性食品に含まれるビタミンD₂と主に動物性食品に含まれるとともに皮膚で合成されるビタミンD₃の2種がある。ビタミンDの効力はビタミンD₃を基準とし、0.025 µgのビタミンD₃が有する効力を1国際単位(IU)としている。(参照 1) ビタミンD₂とD₃の分子量はわずかに異なっているが、ビタミンD₂効力も同じ換算を行う。
- ヒトを含む多くの動物ではプロビタミンD₃である7-デヒドロコレステロールが皮膚において紫外線ばく露によりプレビタミンD₃となり、次いで、体温による熱異性化でビタミンD₃に変化する。(参照 1,2) ビタミンDは活性型のホルモンである1α,25-ジヒドロキシビタミンD (1α,25(OH)₂D)^{1,2}の前駆物質であるとされている。皮膚で生合成されたビタミンD₃と吸収されたビタミンDは肝臓に取り込まれる。肝臓において、ビタミンDは25-ヒ

ドロキシビタミン D (25(OH)D) ¹³に効率的に変換された後に速やかに、血液中を運搬される。25(OH)D は腎臓で水酸化され、1α,25(OH)₂D に変換される。この水酸化は厳密に調節されている。(参照 1,2)

- 1α,25(OH)₂D は標的組織の核内に存在する転写因子であるレセプターと結合し、ビタミン D 依存性タンパク質の発現を促進する。その主な作用は腸管や腎臓におけるカルシウムとリンの吸収促進であるが、骨に対する直接的な骨吸収ならびに骨形成促進作用があることも知られている。(参照 1, 2) その他、免疫系、筋肉、膵臓 β 細胞、神経系、皮膚への作用もあるとされている。(参照 2)

(2) 欠乏症に関する情報

- ビタミン D 欠乏の原因としては、皮膚への日光のばく露不足、摂取不足ならびに、ビタミン D の活性化不全がある。欠乏症に陥りやすいのは、しばしば栄養不良にあり、日光へのばく露が不十分な高齢者や、家に閉じこもっている成人や小児などである。一般的なビタミン D 欠乏症としては、骨や神経筋の異常があるとされている。(参照 3) 成長中ではビタミン D 欠乏により、骨端線の閉鎖以前の骨格の石灰化障害によって、骨の成長障害や骨・軟骨の変形を主症状とするくる病が生じる。生後間もない乳児では頭蓋骨全体の軟化(頭蓋癆)が、年長の幼児では頭蓋骨の隆起、肋軟骨の肥大、脊柱の前彎症、後彎症、側彎症が、年長の小児や青年では歩行時の痛み、内反膝や外反膝が発現することがある。(参照 4) 成人では、骨の石灰化障害により、類骨が過剰に骨組織中に出現する骨軟化症が生じる。骨軟化症は、骨痛や筋力低下などを主症状とする。また、高齢者では骨折の原因となることがある。(参照 5) 骨の構成成分である骨塩と骨基質の割合が変化することなく骨の量が減少し、骨折の危険性が高まる骨粗鬆症の発症とビタミン D 欠乏も関連しているとされている。(参照 2)
- ビタミン D 欠乏では、骨の異常を伴わない神経筋痛も生じる場合があるとされている。(参照 2) その他、ビタミン D レセプターは、カルシウムやリン恒常性とは関係がない多くの組織でも発現しており、多くの生理機能を調節していると想定される。(参照 2) 乳癌(参照 6)、大腸癌(参照 7)、前立腺癌(参照 8)、心血管疾患(参照 9)、2型糖尿病(参照 10)、転倒と身体能力(参照 11)、1型糖尿病(参照 12)や炎症性腸疾患(参照 13)など自己免疫疾患とビタミン D 欠乏の関連が報告されているが、IOM/FNB (2011) (参照 14) は、これら疾患とのビタミン D 欠乏の関係を示す科学的根拠は不十分であるとしている。

(3) 食品中に存在する形態

- 一般的に、植物性食品はビタミン D₂ならびにその前駆物質であるエルゴステロールを含み、動物性食品はビタミン D₃ならびにその前駆物質である7-デヒドロコレステロールを含む。(参照 1) ビタミン D は、魚類に多く含

まれており、きのこ類や卵類にもかなりの量が含まれている。しかし、アヒルやカモを除く畜産物では、肝臓を含めその含量はきわめて低い。また、イカ、タコ、貝類、エビなどの魚介類、穀物、イモ類、豆類、野菜類、果物にはほとんど含まれていない（参照 1）。食品中のビタミン D 前駆物質は紫外線照射によりビタミン D となる（2）。（参照 1）ナス属（*Solanum*）に属する数種の植物などは $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ をグリコシドまたはアグリコンとして含んでおり、ハーブである *Solanum glaucophyllum* に含まれる $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ グリコシドのヒトにおける体内動態が検討されており（参照 15）、*Solanum Malacoxylon* の葉を慢性腎臓疾患時のカルシウム代謝改善薬として用いる試みがある。（参照 16）

6. 我が国及び諸外国における使用状況等

(1) 我が国における使用状況

- ・ ビタミン D は、医薬品的な傾向が強く、食品添加物としては、調整粉乳、乳飲料、栄養ドリンクなどに使われている。ビタミン D（カルシフェロール）は国内では「医薬品的効果効能を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）」に区分されている。（参照 17）
- ・ 食品添加物としては、エルゴカルシフェロール及びコレカルシフェロールが指定添加物（強化剤）として使用されており、使用食品及び使用量は定められていない。（参照 18）
- ・ 医薬品としてのビタミン D は活性型のものが広く用いられている。また、近年ビタミン D のアナログ合成品が使用されるようになってきている。これらは主に、骨粗鬆症の治療に用いられる。
- ・ サプリメントとして、ビタミン D 単独、あるいは他のビタミンと混合した形で販売されている。
- ・ ビタミン D が添加された食品としては、乳飲料やヨーグルトなどの乳製品が普及している。栄養表示基準では 100 g あるいは 100 ml あたり 1.50 μg 、100 kcal あたり 5.0 μg 以上を充たす場合には、高い旨の表示が認められている。（参照 19）

(2) 諸外国における使用状況

医薬品、サプリメント、添加食品に関してはわが国と同じ状況にある。

7. 国際機関等における評価

(1) 欧州食品安全機関（EFSA, 2012）（参照20）

- ・ ビタミン D の長期間摂取による全死因による死亡率、心血管系疾患、がん、骨折および腎結石等への影響を検討したが、血清中 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度とこれら疾患に関する研究報告の結果は一貫性が認められず、有害な影響を示す血清中 25-ヒドロキシビタミン D 濃度は多様であるので、長期間摂取による有害リスクの評価指標として、血清中 $25(\text{OH})\text{D}$ 濃度を使用することは不適

切であるとしている。成人男性において、234 と 275 µg/日のビタミン D 摂取は、高カルシウム血症を生じないとした Barger-Lux ら (参照 21) と Heaney ら (参照 22) の論文を基に、NOAEL を 250 µg/日とし、これら報告に関わる不確実性を考慮して、妊婦と授乳婦を含めた成人における UL を 100 µg/日としている。

- ・ 小児や思春期の青年におけるビタミン D の多量摂取に関する根拠が不足しており、この時期の速い骨形成と成長を考慮すると、成人と比べてビタミン D に対する許容範囲は低くないと考えられるので、11~17 歳では成人同様に UL を 100 µg/日とした。1~10 歳の小児においても同様にビタミン D に対する許容範囲は低くないと考えられるが、体の大きさを考慮し UL を 50 µg/日としている。
- ・ 幼児においては、前回のリスク評価以降の新規データは限られているので、多量のビタミン D 摂取と成長抑制や高カルシウム血症の関連を示した前回の根拠を基にした SCF (2003) (参照 23) と同じ 25 µg/日の UL としている。

(2) National Health and Medical Research Council (NHMRC) 、2005)
(参照24)

- ・ Vieth ら (参照 25) のデータを基に、100 µg/日をビタミン D の NOAEL とし、彼らの試験では、ビタミン D 栄養状態が最低限であった比較的少数の被験者が用いられており、また、95 µg/日のビタミン D 補給により、高カルシウム血症を示したとする Narang ら (参照 26) のデータもあることから不確実性因子 1.2 を採用し、成人の UL を 80 µg/日としている。
- ・ 乳児における NOAEL を 45 µg/日としたが、この NOAEL の基礎とした Fomon ら (参照 27) および Jeans & Stearns (参照 28) のデータは、サンプル数が小さく、エンドポイントとして用いた成長の反応性が低いことから、IOM/FNB (1997) (参照 29) に準じて不確実性因子を 1.8 とし、0~12 月齢の乳児の UL を 25 µg/日としている。
- ・ 小児や思春期の青年における利用可能なデータはほとんど無いため、成人における UL を適用した。
- ・ 妊婦ならびに授乳婦は他の成人と異なっているとする根拠はなく、これら生理状態でビタミン D に対する感受性が高まってはいないと考えられるので、妊婦ならびに授乳婦における UL を他の成人と同じ 80 µg/日としている。

(3) Council for Responsible Nutrition (CRN, 2013) (参照30)

- ・ Heaney ら (参照 22) が高カルシウム血症を基に示したビタミン D の NOAEL は 250 µg/日以上であること、ビタミン D サプリメントを摂取していないヒトにおけるビタミン D 摂取量は 9 µg/日以下であると推定されること (IOM /FNB, 2011 (参照 14))、通常のサプリメントのビタミン D 量

は 10 µg/日以下であること、さまざまな規模・試験期間ならびに被験者の状態の下で行われた臨床試験では悪影響が生じていないことから、250 µg/日のビタミン D 補給は安全であると考え（参照 21）、不確実性因子 1 を適用して、成人の UL を 250 µg/日としている。

(4) 食事摂取基準2015 (43) (参照32)

- ・ ビタミン D 摂取量の増加に伴い、血中 25(OH)D 濃度は量・反応関係を有して上昇するが、血中 25(OH)D 濃度が上昇しても必ずしも過剰摂取による健康障害が見いだされない場合もあるとし、ビタミン D の過剰摂取による健康障害は、高カルシウム血症を指標とするのが適当であるとした。
- ・ 成人においては、多くの論文で、250 µg/日未満のビタミン D 摂取では高カルシウム血症の報告はみられないため、これを健康障害非発現量とするとともに、IOM/FNB, 2011 (参照 14) に準拠して不確実性因子を 2.5¹⁴とし、耐容上限量を 100 µg/日としている。さらに、1,250 µg/日のビタミン D 摂取で高カルシウム血症を来した症例報告があり（参照 33, 34）、これを最低健康障害発現量とし、不確実性因子を 10 とし耐容上限量を算出しても、ほぼ同等の値となることから、上記の算定はほぼ妥当なものとしている。
- ・ 高齢者における耐容上限量を別に定める根拠がないことから、成人と同じ 100 µg/日としている。
- ・ 妊婦に対して、100 µg/日までの介入を行った研究において、高カルシウム血症を含む健康障害を認めなかったことが報告されている（参照 35）。また特に、妊婦・授乳婦に高カルシウム血症発症リスクが高いという報告がないことから（参照 14, 20）、成人と同じ 100 µg/日を耐容上限量としている。IOM/FNB (2011) (参照 14) と同様に、0~12 月齢の乳児におけるビタミン D の NOAEL を 44 µg/日、不確実性因子を 1.8 とし、24.4 µg/日（丸め処理を行って 25 µg/日）を耐容上限量としている¹⁵。
- ・ 小児に関しては参考とすべき有用な報告が存在しない。そのため、18~29 歳の値（100 µg/日）と乳児の値（25 µg/日）の間を、参照体重を用いて体重比から外挿した。計算は男女別に行い、その後、それぞれの年齢階級について、男女において数値が少ない方の値を採用した。すなわち、男女同じ値とした。

(5) 欧州食品科学委員会 (SCF, 2002) (参照32)

- ・ Tjellesen ら（参照 36）と Vieth ら（参照 25）の疫学研究を基礎に、100 µg/日のビタミン D を摂取した成人では、高カルシウム血症ならびに高カルシウム尿症が生じるリスクが高まること、この摂取量を超えると血清中 25-ヒドロキシビタミン D 濃度が参照範囲上限を超えることから、ビタミン D の NOAEL を 100 µg/日とするとともに、不確実性因子を 2 と設定し、50 µg/日のビタミン D を UL としている。

- 他の年齢階級では、ビタミン D の過剰摂取に対する悪影響が特に高まるとする根拠はない。母親が 25 または 50 µg/日のビタミン D を摂取している胎児および母乳保育児では、血中ビタミン D 濃度は血中カルシウム濃度にわずかな影響しか及ぼさないことから、この時期では、ビタミン D 過剰に対する感受性が高まってはいないとし、妊婦および授乳婦においても UL として 50 µg/日のビタミン D が適用可能であるとした。
 - 母乳とともに 1000 IU (25 µg) /日のビタミン D₂ を与えられた幼児でも、高カルシウム血症は認められず、また、血清中 25-(OH)D 濃度が参照範囲上限を上回らなかったことから (参照 37)、この用量は高カルシウム血症発生の閾値を下回っており、不確実性因子を 1 とすることが適切であり、25 µg/日のビタミン D を 0~24 月齢の幼児の UL としている。
 - 2~17 歳の子供における UL を設定するための高いビタミン D 摂取量に関する根拠はない。10 µg/日のビタミン D₂ を与えた試験では、思春期前の子供では 25-(OH)D 濃度が高かったことから、加齢にともないビタミン D に対する感受性が変化する可能性があるとし、2~10 歳までの子供における UL を 25 µg/日とし、11~17 歳までの思春期の子供における UL は成人同様に 50 µg/日としている。
- (6) 米国医学研究所/食品栄養委員会 (IOM/FNB, 2011) (参照14)
- 0~12 月齢の乳児にビタミン D を平均 1,775 USP unit (IU, 44.3 µg) /日与えても、成長速度、血清中カルシウム濃度に影響はないとする報告 (参照 27) を基に、NOAEL を 1800 IU (45 µg) /日としている。出生後数日以内にビタミン D 補給が行われている現状 (参照 38) に配慮し、小さな新生児においても有害作用が生じないようにするため、不確実性因子を 0.5¹⁶ とし、UL を 1,000 IU (25 µg) /日としている。この UL は体重換算すると約 400 IU/kg 体重/日となっており、過去の UL (IOM, 1997 (参照 29)) と同一となっている。
 - 成長段階が進んだ乳児におけるリスク評価を行うための根拠は不足しているが、より高い UL が適切であると考え、6~12 月齢の乳児における UL を 1,500 IU (38 µg) /日としている。この UL は 1997 年に設定した 0~12 月齢の乳児における UL (25 µg) (IOM, 1997 (参照 29)) よりも大きくなっているが、より成長が進んだ乳児の耐性はより大きいとしている毒物学の原則と一致しているとしている。
 - Aloia ら (参照 39) の報告から、血清中カルシウム濃度では成人の UL を設定できないとしている。全死因死亡率の上昇、数種のがんや心血管疾患のリスク、転倒と骨折から血清中 25(OH)D 濃度が 125~150 nmol/L を上回らないようにすべきであるとしている。この濃度には、紫外線ばく露のみではビタミン D 中毒が生じるとする報告はなく、紫外線ばく露により夏季には、血清中 25(OH)D 濃度のメジアンは 122 nmol/L となること (参照 40)、習慣的に太陽光を浴びるヒトでは、血清中 25(OH)D 濃度が最大 155

nmol/L となる場合があることも考慮されている。また、長期の 5,000 IU/日のビタミン D 摂取では血清中 25(OH)D 濃度は 100 と 150 nmol/L の範囲であり、150 nmol/L を超えることはない (参照 22)。この試験のような長期にわたりビタミン D 補給を行い、血清中 25(OH)D 濃度を評価した報告は他にない。単一の報告を用いることの信頼性の低さのため、不確実性因子を 1.25¹⁷とし、成人における UL を 4,000 IU (100 µg) /日としている。なお、4,000 IU (100 µg) /日の摂取では、血清中 25(OH)D 濃度の平均値は 91 nmol/L、その上限は 105 nmol/L となるとしている。

- 300 ~2,000 IU/日のビタミン D を授乳婦に与えてもその乳児の血清中 25(OH)D 濃度は変化しないこと (参照 37, 41, 42, 43, 44)、妊婦に 10,000 IU/日のビタミン D を与えた試験において、臍帯血中の 25(OH)D 濃度は上昇するが、出生時体重に影響はなかったことから (参照 45)、妊娠または授乳婦における UL が妊娠・授乳していない成人と異なることを示す根拠はないので、UL を成人と同じく 4,000 IU (100 µg) /日とした。

(7) 栄養機能食品としての規格基準

- ビタミン D の栄養機能食品としての規格基準としては、1 日当たりの摂取目安量に含まれる栄養成分量が 1.50 µg から 5.0 µg とされている。(参照 19)

II. 安全性に係る知見の概要

1. 体内動態

- ビタミン D には、植物性食品由来のビタミン D₂ と主に動物性食品由来と皮膚で合成されるビタミン D₃ の 2 種がある。植物ではプロビタミン D₂ であるエルゴステロールが紫外線ばく露 (UVB) によりビタミン D₂ に変化する。人ではプロビタミン D₃ である 7-デヒドロコレステロールが皮膚において紫外線ばく露によりプレビタミン D₃ となり、次いで、体温による熱異性化でビタミン D₃ に変化する (参照 1, 2)。皮膚におけるビタミン D₃ 生合成は、季節・緯度による日照量、皮膚色の影響を受ける。(参照 29)
- 摂取したビタミン D は受動輸送により主に小腸から吸収される。この吸収は膵リパーゼや胆汁酸存在下でのミセル形成に依存しており、通常の場合、吸収率は約 50% であるとされている (参照 2)。したがって、ビタミン D は脂肪を多く含む食事とともに摂取すると効率的に吸収され、体重減少を目的として脂肪吸収抑制剤 (リパーゼ阻害剤) を投与すると、ビタミン D の吸収も抑制される (参照 46)。
- ビタミン D₂ およびビタミン D₃ を 14 日間にわたり健常人に補給した試験において、血清中 25(OH)D 濃度上昇を指標とすると、ビタミン D₃ の活性はビタミン D₂ の活性の 1.7 倍であるとされている (参照 47)。また、メタアナリシスでも、ビタミン D₃ はビタミン D₂ よりも効率的に血清中 25(OH)D 濃度を

上昇させることが示されている（参照 48）。しかし、IOM/FNB（2011）（参照 14）は、これらビタミン D の毒性の相違に関する根拠は十分ではないとしており、ビタミン D₂ と D₃ を区別していない。同様に、SCF（2002）（参照 23）もビタミン D₂ と D₃ の差を重要であるとしているが、リスク評価においては直接的には考慮していない。

- 皮膚で生合成されたビタミン D₃ はビタミン D 結合タンパク質（DBP）と結合する。吸収されたビタミン D はキロミクロンとしてリンパ管を介して血液中を運搬される。また、この一部はキロミクロンから DBP に移行する。DBP と結合したビタミン D ならびにキロミクロンレムナント中のビタミン D は肝臓に取り込まれる。肝臓において、ビタミン D は 25(OH)D に効率的に変換された後に速やかに、DBP と結合した形態で血液中を運搬される。
- 25(OH)D は腎臓で水酸化され、1 α ,25(OH)₂D に変換される。血中のカルシウムやリン濃度変化は、副甲状腺ホルモンや線維芽細胞成長因子 23（FGF23）を介して、この水酸化（活性化）を厳密に調節している。血清中の 1 α ,25(OH)₂D 濃度は、25(OH)D と比べると著しく低い。ビタミン D 欠乏時には、血中カルシウム濃度低下などにより、続発性副甲状腺機能亢進症が生じ、PTH 濃度が上昇する（参照 1, 2）。
- 1 α ,25(OH)₂D も DBP と結合し、血液中を標的組織に運搬される。1 α ,25(OH)₂D は標的組織の核内に存在する転写因子であるレセプターと結合し、ビタミン D 依存性タンパク質の発現を促進する。その主な作用は腸管や腎臓におけるカルシウムとリンの吸収促進であるが、骨に対する直接的な骨吸収ならびに骨形成促進作用があることも知られている。また、1 α ,25(OH)₂D 処理の数秒から 1 時間以内に、カルシウム吸収や膵臓 β 細胞からのインスリン分泌が促進され、骨芽細胞の細胞内カルシウムイオン濃度上昇が認められることから、遺伝子発現調節が直接関与しない作用もあるとされている（参照 2）。
- ビタミン D ならびに 25(OH)D は、肝臓で特異的に蓄積されることはなく、その疎水性のため脂肪組織に蓄積されやすい（参照 2）。脂肪組織に蓄積されたビタミン D とその代謝産物は血液中に放出されにくく、そのため、肥満者は血中 25(OH)D 濃度が低いとされている（参照 49）。
- 25(OH)D は血清中で最も濃度が高く、皮膚で産生されたビタミン D と食物から摂取されたビタミン D の合計量を反映して変動するので（参照 14, 32）、ビタミン D 栄養状態のバイオマーカーとして用いられている。
- ビタミン D ならびにその代謝産物は、酸化的な側鎖の切断、水酸化、グルクロン酸抱合、硫酸抱合を受け、最終的には主に胆汁を介して消化管内へ排泄される（参照 2）。

体内動態まとめ

ビタミンDには、植物性食品由来のビタミンD₂と主に動物性食品由来と皮膚で合

成されるビタミンD₃の2種がある。皮膚におけるビタミンD₃生合成は、季節・緯度による日照量、皮膚色の影響を受けるとされているが、本専門調査会は、国内においてはこれらビタミンD₃生合成に影響を及ぼす要因を考慮する必要性は低いと考えた。また、ビタミンD₂とD₃の毒性には相違がある可能性はあるが、これらをリスク評価に用いるには定量的な根拠が不足していると考えた。

2. 動物における有害影響の知見

ビタミンDの毒性を評価するに当たって、ビタミンDは肝臓において25(OH)Dに変換され、25(OH)Dは腎臓で水酸化され、活性化体である1 α ,25(OH) $_2$ Dに変換されることを踏まえ、ビタミンDに加えて、225(OH)Dの知見も参照することとした。

(1) 遺伝毒性（動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」（2014）（参照50）参照）

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果概要 | 参照 |
|---------|------------------------------|--|--------------|---|-----------------------------|--------|
| 遺伝子突然変異 | 復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>) | <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537 | ビタミンD $_3$ | 0.033 ~ 10 mg/plate (\pm S9) | 陰性 (1 mg/plate 以上の用量で僅かな毒性) | (参照51) |
| 染色体異常 | 染色体異常試験 (<i>in vitro</i>) | ヒト培養末梢血リンパ球 | 25(OH)D $_3$ | 2.0、3.5、6.1、10.7、18.7、32.7 μ g/mL (-S9) 22 h 培養 5.7、10.0 μ g/mL (-S9) 46 h 培養 18.7、32.7、57.1 μ g/mL (+S9) 22 h 培養 10.7、18.7、32.7、57.1 μ g/mL (+S9) 46 h 培養 | 陰性 | (参照52) |

以上より、本専門調査会としては、ビタミンDに生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと考えた。

(2) 急性毒性（動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」（2014）（参照50）参照）

| 動物種・性別 | 被験物質 | LD $_{50}$ |
|---------------|--------------|---------------|
| マウス (雌雄不明) | ビタミンD $_3$ | 42 mg/kg 体重 |
| ラット (雄不明) | ビタミンD $_3$ | 42 mg/kg 体重 |
| ラット (雄不明) | 25(OH)D $_3$ | >200 mg/kg 体重 |
| ラット (雄不明) | 25(OH)D $_3$ | >320 mg/kg 体重 |
| イヌ (雄不明) | ビタミンD $_3$ | 80 mg/kg 体重 |

- (3) 反復投与毒性（動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」（2014）（参照50）で引用）

① ラット6か月経口投与試験

SDラット（雌雄各15匹/群）に25(OH)D₃を表のような投与群を設定して、6か月経口投与する試験が実施されている。

| | |
|------|-----------------------------------|
| 用量設定 | 0（対照群）、0.012、0.04、0.12 mg/kg 体重/日 |
|------|-----------------------------------|

一般状態、血液学的検査、臓器重量に投与に起因する影響はみられなかった。摂餌量が、0.04 mg/kg 体重/日以上投与群で、対照群及び0.012 mg/kg 体重/日投与群に比べ低下した。病理組織学的検査で、腎の石灰化が対照群を含む全群の雌でみられた。結石が0.04 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で膀胱に、0.12 mg/kg 体重/日投与群の雄で腎盂にみられた（参照56）。

本研究班は、投与群で見られた腎の石灰化および膀胱、腎盂の結石は器質的な障害を伴っていないことから、本試験におけるNOAELを最高用量である0.12 mg/kg 体重/日と判断した。

- ② イヌ7～21日間経口投与試験（動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」（2014）（参照50）（EMEA（1998）（参照53）で引用、引用元不明）

イヌ（性別、頭数等不明）にビタミンD₂を表のような投与群を設定して、6か月経口投与する試験が実施されている。

| | |
|------|----------------------|
| 用量設定 | 500、1,000 µg/kg 体重/日 |
|------|----------------------|

高カルシウム血症を伴う腎症

本研究班は、試験の詳細が不明であることから、本試験におけるNOAELは判断できないと考えた。

- ③ ブタ4か月間経口投与試験（動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」（2014）（参照50）（EFSA（2006）（参照57）で引用）（参照58）

ブタ（2か月齢）にビタミンD₃を表のような投与群を設定して、4か月経口

投与する試験が実施されている。

| | |
|---------------|---------------------------|
| 用量設定 | 0.025、0.075、0.05、0.01 ppm |
| µg/kg 体重/日に換算 | 0.15、0.45、3、6 µg/kg体重 |

特に6 µg/kg体重/日投与群で冠状動脈血管内膜の肥厚がみられ、同部で脂肪を含有した細胞及び変性細胞の増加もみられた。

本研究班は、試験の詳細が不明であることから、本試験におけるNOAELは判断できないと考えた。

- ④ サル経口投与試験（動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」（2014）（参照50）、食品添加物公定書解説書 第8版（2007）（参照59）で引用）（参照60）

アカゲザル（性別、頭数等不明）にビタミンD₃（1,250～10,000 µg/匹）を反復経口投与（日数不明）した試験が実施されている。その結果、全例に高カルシウム血症が生じて死亡し、軟部組織に高度の石灰化が認められた。

本研究班は、試験の詳細が不明であることから、本試験におけるNOAELは判断できないと考えた。

参考資料

以下の文献は、ビタミンD₃と副腎の増殖性病変との関係を検討する目的で行われた研究であり、全身臓器の検査が行われていないことから反復投与毒性を検討する資料にはならないものであるが、参考文献として記載する。

ラット4及び26週間経口投与試験（EFSA（2006）（参照57）で引用）（参照61）

CrI:CD BRラット（10週齢）にビタミンD₃を表のような投与群を設定して、26週間経口投与する試験が実施されている。

| | |
|------|---|
| 用量設定 | 0（対照群）、125、250、500 µg/kg 体重/日 ¹⁸ |
|------|---|

ラット（CrI:CD BR、10週齢）にビタミンD₃を26週間反復経口投与（0、125、250又は500 µg/kg 体重/日）し、亜急性毒性試験が実施された。全投与群でカルシウム及びリンの血清中濃度及びカルシウムの尿中排泄が増加した。

投与開始4 週後に、125 及び250 µg/kg体重/日投与群で腎尿細管の散発的な石灰沈着巣がみられ、500 µg/kg 体重/日投与群ではさらに明瞭な変化がみられた。投与開始26 週後には、500 µg/kg 体重/日投与群では全例で腎に軽度又は中等度の腎石灰沈着が、250 µg/kg 体重/日投与群では軽度の石灰沈着がみられたが、125 µg/kg 体重/日投与群ではほとんど石灰沈着はみられなかった。

投与開始26 週後の250 µg/kg および500 µg/kg 体重/日投与群において、副腎髄質における巣状過形成の発生頻度が上昇し、500 µg/kg 体重/日投与群において有意に上昇した。また250 又は500 µg/匹投与群で、各1 例ではあるが褐色細胞腫の発生がみられた。

3. 発がん性

発がん性試験は実施されていない。

参考資料

① ラット26 週間経口投与試験（参照61）（再掲）

種々の糖アルコール類の高用量投与により誘発される褐色細胞腫の発がん機序として推察される、血中カルシウム濃度の上昇による髄質細胞の増殖を解析するため、ラット（CrI:CD）にビタミンD₃を26 週間反復経口投与（125、250 又は500 µg/匹）する試験が実施されている。

その結果、血中カルシウム濃度が上昇し、副腎褐色細胞の細胞増殖が増加するとともに、限局性過形成が誘発され、また250 又は500 µg/匹投与群で、各1 例ではあるが褐色細胞腫の発生がみられたことから、副腎褐色細胞腫誘発に関連している可能性が示唆されたとされている。

② ラット大腸二段階発がん性試験

1,2-ジメチルヒドラジン（DMH）によりイニシエーション処置され、20%脂肪食を付加することにより結腸腫瘍が誘発されたラットにビタミンD₃ を混餌投与したところ、結腸腫瘍や前腫瘍性病変の発現は抑制された（参照59）。

③ ラット乳腺二段階発がん性試験

50 mg/kg 体重のメチルニトロソ尿素（MNU）を50 日齢のラット（SD 系、雌）に投与することにより誘発された乳腺腫瘍は、ビタミンD₃と9-シス-レチン酸を150 日間混餌投与することにより発生頻度が44%減少した（参照59）。

4. 生殖発生毒性（動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」（2014）（参照59）で引用）

a. ラット生殖毒性試験（非公表）

ラット（SD 系、雄10 匹/群、雌20 匹/群）を用いて25(OH)D₃の強制経口投

与 (0、12 又は40 µg/kg 体重/日、対照群には溶媒 (コーン油) を投与) による生殖毒性試験が実施された。投与は、雄では交配60 日前から交配期間中に、雌では交配14 日前から交配及び妊娠分娩期間中に実施された。母動物では、12 µg/kg体重/日投与群の雌雄で対照群と比べ体重が軽度に減少したが有意差はみられず、40 µg/kg 体重/日投与群では対照群と同様であった。12 µg/kg 体重/日投与群の母動物1 例で児の死産 (産児数10 匹) が認められ、投与群における死産児数は対照群に比べ高値を示したが、用量相関性はみられず投与の影響とはみなされなかった。交配率、妊娠及び分娩に投与に起因する影響はみられなかった (参照62)。

b. ラット発生毒性試験

ラット (SD 系、12 匹/群) の妊娠6~15 日に25(OH)D₃を強制経口投与 (0、12 又は40 µg/kg 体重/日、対照群には溶媒(コーン油)を投与) し、発生毒性試験が実施された。母動物では、投与群の体重が対照群に比べて僅かに低値であった。12 µg/kg 体重/日投与群の同腹児数が対照群に比べて少なかったが、1 例の出産児数が僅か5 匹であったためであり、40 µg/kg 体重/日投与群では対照群と同様であった。胎児では、40 µg/kg 体重/日投与群で、1 匹に4 種の肋骨骨格異常がみられた。また、12 µg/kg 体重/日投与群で、1 例の体重が1.9 g であった胎児に頭蓋骨の未発達及び第5中手骨欠損がみられたが、投与に起因するものとは考えられなかった (参照62)。
催奇形性はみられなかった。

c. ラット発生毒性試験 (非公表)

ラット (SD系、12 匹/群) の妊娠6~15 日に25(OH)D₃を強制経口投与 (0 又は60 µg/kg体重/日、対照群には溶媒(コーン油)を投与) し、発生毒性試験が実施された (Segment II試験の一部)。60 µg/kg 体重/日投与群において、低体重を示した3 例の胎児に骨格異常及び骨化不全がみられたが、異常の出現率は対照群と比べて低いか又は同程度であると考えられた (参照62)。
催奇形性はみられなかった。

d. ラット発生毒性試験

ラット (SD 系、20 匹/群) の妊娠15 日から3 週間の授乳期間を通じて25(OH)D₃を強制経口投与 (0、12、40 又は60 µg/kg 体重/日、対照群には溶媒(コーン油)を投与) し、周産期及び授乳期投与試験が実施された。妊娠、分娩、授乳及び児動物の生存率に投与の影響はみられず、各種測定値は全投与群において対照群と同程度であった。

e. ウサギ発生毒性試験

ビタミンD はヒトの推奨用量の4~15 倍の用量を投与した場合、動物に催奇形性を発現することが判明している。ビタミンD を高用量 (ヒトの推奨用量

の4～15倍) 投与された妊娠ウサギから生まれた児動物に大動脈弁上狭窄症に類似した病変がみられ、この病変のみられない児動物では急性ビタミンD過剰症の成動物と同様の血管の変化がみられた。これらの症状はおそらく高カルシウム血症によるものである(参照57)。

ウサギは催奇形性を検討する上で汎用される動物であるが、ビタミンDに対し極めて感受性が高く要求量以上の過剰なカルシウムを吸収する。このことからビタミンD関連物質のヒトにおける催奇形性を検討するのに適した動物モデルとは言い難い(参照63)。

f. ブタ発生毒性試験

ブタ(雌)にビタミンD₃を混餌投与(8,150又は55,000 ppm: 0.5又は3.4 µg/kg 体重/日、投与期間不明)し、6週齢の児動物の冠状動脈を検査した結果、高用量投与群の児動物では、低用量投与群の児動物に比べ、より多くの平滑筋細胞の変性がみられた(参照57)。

毒性のまとめ

ビタミンDの反復投与毒性に係る試験結果を検討したところ、ビタミンD投与に起因する変化は主に、血中および尿中カルシウム濃度の増加、主に腎臓における石灰沈着、膀胱における結石形成等であった。げっ歯類では、通常でも腎臓において石灰沈着が散見され、容易に石灰沈着が起きることが知られていることから、器質的な障害を伴わない石灰沈着は、ヒトに外挿性はないと考えた。また、げっ歯類においては高カルシウム血症に起因する病変以外の有害影響は認められなかった。

3. ヒトにおける知見

(動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」(2014)(参照50)より引用)(参照57, 59)

① 急性毒性

1～2歳の幼児に、ビタミンDを3～5か月毎に経口投与(15,000 µg/ヒト)した。カルシウム、リン及びビタミンD代謝物が各投与前及び投与2週後に測定された。25(OH)Dは、平均濃度が240～430 nmol/L(範囲: 130～930 nmol/L)まで上昇し、次の投与前には130nmol/L未満にまで回復した。全ての幼児は初回投与前に血清中カルシウム濃度は正常値であったが、14例(34%)で血清中カルシウム濃度が2.80 mmol/L以上(2.81～3.32 mmol/L)となり、25(OH)Dの蓄積性の増加はみられなかったが、ビタミンDの用量が過剰であったことが示された。

上記試験と同様の投与を実施された10名の1.5～14歳の子供が腎石灰沈着症と診断された。しかし、試験の時点においては血清中のビタミンD濃度は

正常であった。これは、反復する一過性のビタミンD 過剰症及び高カルシウム血症の発現であっても、腎石灰沈着症のような不可逆性の毒性影響を誘発することを示唆していると考えられた。（参照7）

子供（年齢不明）にビタミンD₃を3 か月毎に経口投与（2,500、5,000 又は15,000 µg/ヒト）した。各投与群における初回投与2 週後の25(OH)D 濃度はそれぞれ92±42、150±55 及び307±160 nmol/L であった。血清中カルシウム濃度が15,000 µg/ヒト投与群で一過性に上昇したが、他の投与群では上昇しなかった。15,000 µg/ヒト投与群の半数の児においてビタミンD の過剰状態が初回投与6 か月後まで持続した。（参照7）

幼児において、中等度の高カルシウム血症が一度発現すると、数か月にわたり発育障害が生じる可能性がある。（参照7）

② 生殖発生毒性

妊娠期間中、母体の血清中25(OH)D はビタミンD の摂取と相関性があるが、血清中の活性代謝物である1α,25(OH)₂D は、主に胎盤の脱落膜細胞における合成に依存しビタミンD 結合タンパク質（DBP）も増加する。胎児は母体からの25(OH)D の供給に全て依存しており、同時に24,25(OH)₂D も胎盤を通過して容易に拡散すると考えられる。母体と胎児の1α,25(OH)₂D 濃度の関係はより複雑であり、相関性を示す知見と、それを支持しない知見もある。（参照7）

副甲状腺機能低下症の女性及び（遺伝的に）1α,25(OH)₂D 非感受性の女性の妊娠中における1α,25(OH)₂D の投与（それぞれ0.5～2 µg/ヒト/日及び17～36 µg/ヒト/日）に関する報告がある。後者の症例では、母体における血漿中1α,25(OH)₂D 濃度は非常に高かったが、カルシウム濃度は正常であった。出産時に臍帯血清中1α,25(OH)₂D 濃度は著しく上昇し（940 pmol/L、正常値の平均値：47.5 pmol/L）、子供は生後2 日間に軽度の高カルシウム血症を呈した。他の毒性徴候を示す子供はみられなかった。このことから、1α,25(OH)₂D の血中濃度は子宮内のカルシウム濃度にほとんど影響を及ぼさないと考えられる。このことは、妊娠後期にビタミンD を補充（25 µg/ヒト/日）しても発育遅延を呈する乳児の割合は減少することからも裏付けられている。（参照7）

妊娠中に母体が高カルシウム血症を呈した場合、胎児において、ビタミンD に対する感受性、副甲状腺機能の抑制又は妖精顔症候群（syndrome of elfin face）、精神発達の遅滞及び先天性大動脈弁上狭窄症を増加させる可能性がある。

しかしながら、妊婦における試験では対照群の設定がなく、どのくらいの用量でこのような所見が起こるのか不明である。（参照7）

授乳中の女性に冬季にビタミンD₂を投与（25 又は50 µg/ヒト/日）した結果、50 µg/ヒト/日投与群の子供のみで血中のビタミンD 代謝物濃度が正常であった。ビタミンDを10 µg/ヒト/日の用量で投与され、またビタミンD を補充

されていない母親から授乳されている乳児における血中のビタミンDの状態は、50 µg/ヒト/日投与群の母親の子供と同様であった。(参照7)

③ 過剰症について

ビタミンDは、尋常性狼そう等に大量投与されるが、大量連続投与により、ビタミンD過剰症が発現する。小児特に乳児が過剰症に陥りやすく、高カルシウム食は過剰症を促進する。ビタミンDに対する感受性は個人差が大きいため注意を要する。ビタミンDの過剰投与(3,750 µg/日)により、腸管からのカルシウム吸収が促進され、血漿中カルシウム濃度は増加する。これは副甲状腺の機能抑制を招き、尿中リン排泄が抑制され、血漿中のリン濃度が上昇する。このため、リン酸カルシウムが、気管、肺胞、血管壁、腎臓等に沈着し、最終的に尿毒症を招くことがある。また骨から血中へのカルシウム移動を起し、骨粗しょう症や骨破壊も現れる。脂質代謝も阻害され、血漿中コレステロール濃度を上昇させる。臨床症状として食欲不振、便秘、脚気、嘔吐、口渇、多飲、多尿、倦怠感、筋力低下、頭痛、高血圧、体重減少、皮膚がん、痔、色素沈着、排尿障害等がみられる。軽症例ではビタミンDの投与を中止すると治癒するが、重症例には副腎皮質ホルモンが奏効する。(参照8)

ビタミンD過剰症は高カルシウム血症の生理学的影響と関連があり、いったん腎臓におけるカルシウム排泄能の限度を超過すると発現する。最も高頻度にみられるビタミンD過剰症の臨床徴候は、食欲不振、体重減少、虚弱、倦怠感、見当識障害、嘔吐及び便秘である。高カルシウム血症は、また、子供の発育遅延、興奮性、無力症、持続性の発熱、多尿症及び多渴症、脱水、高血圧並びに機能性腎不全をも引き起こす。持続性の高カルシウム血症に伴う長期間にわたる毒性により、軟部組織、特に腎実質、尿管、血管壁、筋肉及び腱でカルシウムの過剰な沈着を招く。(参照7)

通常の食事では過剰量のビタミンDを摂取することはなく、補助的なサプリメントなどによる過剰摂取によりビタミンD過剰症が起こる可能性が高いとされている。(参照5)

④ 血清中25(OH)DとビタミンDの毒性

35報のレポートから、ビタミンDの摂取と投与群における血清中25(OH)D濃度の用量相関性についてまとめられている。試験の多くは投与期間が4週間以下であり、25(OH)Dの半減期が1~2か月であることから、そのような短期間で定常状態に達するとは考えられない。しかし、ビタミンDを20 µg/ヒト/日から250~500 µg/ヒト/日の用量で投与しても、血清中25(OH)D濃度は75~220 nmol/Lの狭い範囲に維持されている。ビタミンDの摂取量がこの生理学的範囲を超えると、25(OH)Dが用量相関的に上昇し、毒性に關与する。明らかに、ビタミンD関連物質の投与に対し、血清中25(OH)D濃度を調節することで、その作用を和らげる恒常性維持機構が存在している。このビ

タミンDの摂取の生理学的範囲は、全身を日光に当てて産生されると考えられる250~625 µg/ヒト/日と同程度である。(参照7)

ビタミンDを月に1回数か月間投与(7,500 µg/ヒト/回)された患者では、血清中25(OH)D濃度が約600 nmol/Lであり、毒性がみられた。これは、25(OH)Dの産生による明らかな恒常性維持機構の一時的な破綻に由来する毒性徴候の発現と考えられる。

ビタミンDの大量単回投与では、血清中25(OH)D濃度が急速に高いピークを示し、その後濃度は徐々に低下した。(参照7)

血清中25(OH)D濃度が約67 nmol/Lの若い健康な男性にビタミンD₃を投与(25、250又は1,250 µg/ヒト/日)した。投与8週後に血清中25(OH)D濃度はそれぞれ29、146(100~225)及び643(400~1,000) nmol/L増加した。25(OH)Dの反応はBMI(Body Mass Index)又は体重との関連性はなかった。BMIが高い場合、投与に対し25(OH)Dの変化は少ないと予測された。この試験における投与期間は短く、25(OH)Dの定常状態に達することはできなかった。(参照7)

高齢者にビタミンD₃の6週間経口投与(50 µg/ヒト/日)試験を二重盲検法により実施した。投与開始7週(最終投与後)に血清中25(OH)D濃度は80.1±6.7 nmol/Lに達したが、定常状態に達しなかったということを完全に否定することはできない。(参照7)

ビタミンDの2.5か月間投与(10、25又は250 µg/ヒト/日)試験が実施された。10及び25 µg/ヒト/日投与群では血清中25(OH)D濃度が約55 nmol/Lの定常状態に達したが、250 µg/ヒト/日投与群では約120~140 nmol/Lに達した。しかし、この場合定常状態には達していないと考えられ、ビタミンDの形態も不明である。(参照7)

4か月以上にわたりビタミンD₂又はビタミンD₃を毎日同量投与され、定常状態に達した128人の血清中25(OH)D濃度を測定した結果、45 µg/ヒト/日投与群では全員が130 nmol/L未満であったが、150 µg/ヒト/日投与群では大部分が130 nmol/L以上200 nmol/L未満であった。60~70 µg/ヒト/日投与群では130 nmol/Lであった。(参照7)

健康ボランティア(33及び28人/群)にビタミンD₃を1~5か月間経口投与(それぞれ25又は100 µg/ヒト/日)した。投与開始4及び5か月時に25 µg/ヒト/日投与群の平均血清中25(OH)D濃度は70 nmol/L(45~120 nmol/L)であったが、100 µg/ヒト/日投与群では100 nmol/L(65~120 nmol/L)であった。(参照7)

健康な閉経前の女性(19人)にビタミンD₂又はビタミンD₃を8週間経口投与(100 µg/ヒト/日)した。被験者にはカルシウムも投与(0.5 g/ヒト/日)された。最終投与後(投与開始8週後)の血清中25(OH)D濃度はビタミンD₂及びビタミンD₃投与群でそれぞれ35.5 nmol/L(19.7~48.3 nmol/L)及び45.4 nmol/L(31.0~55.4 nmol/L)であった。血清中25(OH)D₃濃度の低下がビタミンD₂投与群でみられ、その結果、総25(OH)D濃度は投与前の状態と変化が

なかった。(参照7)

⑤ ビタミンD の摂取と高カルシウム血症

高カルシウム血症は、血清中カルシウム濃度が2.75 mmol/L 以上、または血清中カルシウムイオンが1.35 mmol/L 以上と定義されている。50 µg/ヒト/日のビタミンD を6 か月間投与した場合血清中のカルシウムは正常であり、健康な成人に250 µg/ヒト/日の用量で6 週間投与しても血清及び尿中カルシウム濃度に有意な上昇はみられなかった。1,250 µg/ヒト/日以上投与では、血清中カルシウム濃度は2.82~4.00 mmol/L の範囲であった。中高年の女性の骨粗しょう症の治療にビタミンD が使用される場合について評価された。これらの女性は骨粗しょう症に加え健康問題を抱えており、1,250 µg/ヒト/日の用量で週に1 回の投与から同用量で6 週間から5 年間のビタミンDの投与で腎機能低下及び高カルシウム血症が伴うことが判明した。(参照7)

結核感染者又は非感染者におけるビタミンD 投与の血清中カルシウム濃度に対する影響について調べられた。被験者の食事には3 か月間にわたりビタミンD が添加(10、20、30、60 又は95 µg/ヒト/日)された。21~60 歳の健康な男女30 人を結核非感染群とした。この群では、60 µg/ヒト/日以上投与により血清中カルシウムの有意な上昇がみられた。正常対照におけるビタミンD 60 µg/ヒト/日投与後の血清中カルシウム濃度は2.43 mmol/L から2.62 mmol/L に上昇したが、高カルシウム血症は示さなかった。95 µg/ヒト/日の用量の投与後は、正常対照における血清中カルシウム濃度は2.46 mmol/L から2.83 mmol/L に上昇した。ビタミンD 製剤の性質、ビタミンD 摂取の背景及び血清中25(OH)D 濃度についての情報は得られていない。(参照7)

健康な閉経前の女性(19 人)にビタミンD₂又はビタミンD₃を8 週間経口投与(100 µg/ヒト/日)し、血清中ビタミンD 代謝物及びカルシウム濃度について調べた。ビタミンD₃を投与(100 µg/ヒト/日)した場合、血清中カルシウム濃度はすぐに有意に上昇した(0.05 mmol/L)。尿中カルシウム排泄は僅かに増加し、カルシウム/クレアチニンの平均モル比は0.518 となったが、カルシウム尿症の1.0 を十分に下回っていた。(参照7)

健康ボランティア(33 及び28 人/群)にビタミンD₃を1~5 か月間経口投与(それぞれ25 又は100 µg/ヒト/日)した。全被験者の血清中カルシウム濃度は基準値の範囲内であり、大きく外れた値はみられなかった。同様に、尿におけるカルシウム/クレアチニンモル比にも基礎値から大きく外れた値はみられなかった。25 µg/ヒト/日投与群より100 µg/ヒト/日投与群において、カルシウム/クレアチニンモル比が1.0 を超える被験者が多かった。(参照7)

⑥ 血清中25(OH)D、血清中カルシウム及び高カルシウム血症

くる病患者では、紫外線照射による治療期間において、血清中25(OH)D 濃度及び血清中カルシウム濃度は並行して増加する。投与により、血清中カルシウム濃度は2.5 mmol/L を超えることはなく、血清中25(OH)D 濃度も125 n

mol/L を超えることはなかった。また、ビタミンD を強化したミルクを過剰に摂取した患者では、血清中25(OH)D 濃度及び血清中カルシウム濃度に相関性がみられた。カルシウム濃度が2.75 mmol/L 以上のカルシウム血症の血清では、25(OH)D 濃度が200 nmol/L を超えるという特徴があった。(参照7) 血清中カルシウム濃度は正常であるが、血清中25(OH)D濃度が177±41 (132～222) nmol/Lで高カルシウム尿症であり血清中PTH値が低い4 人の患者の報告がある。

サプリメントとしてビタミンD を摂取し、摂取量は不明であった。サプリメントの摂取を中止すると尿中カルシウムは正常となり、血清中25(OH)D 濃度も正常 (<130 nmol/L) になった。(参照7)

8～9 月に海辺で働いたイスラエルの救助員45 人について、同様の人数、年齢及び季節の対照群と比較検討した。両群とも血清中カルシウム濃度は同様であったが、救助員群では、血清中PTH 値が有意に低く、血清中25(OH)D 濃度は高く (対照群が65±25 nmol/Lに対し148±105 nmol/L) 、カルシウムの尿中排泄率は高かった。11 人の救助員は腎結石症であり、この発現率は通常の発生率より有意に高かった。救助員群では対照群に比べて僅かに尿量が少なかった。(参照7)

引用終わり

表1 ビタミンD投与のエビデンステーブル
【摂取量が100 µg/日 (4000 IU/日) 以上】

| 文献 | 対象数 | 対象者特性 | 摂取量期間 | 背景食 | 効果評価方法 | エビデンスレベル |
|-----|---|-------------------------------|---|----------|---|----------|
| D-1 | 330名 (VD 40,000 IU/週群114名, 20,000 IU 群104名) | 過体重または肥満の成人 平均49.1 ±11.2歳 /女性 | カルシウム500mg VD ₃ 40,000IU/週 または20,000IU/週 1年間 | 健康な食事を推奨 | 20,000 IU/週摂取群でわずかに収縮期血圧の上昇がみられたが、血糖値、ブドウ糖負荷試験結果、血清脂質濃度には影響なし | A |
| D-2 | 45名 (VD群30名) | ビタミンD欠乏の HIV患者 平均47±8 | VD ₃ 4,000 IU/日 12週間摂取 | 記載なし | 血流依存性血管拡張反応 (FMD) 、血圧、血中脂 | A |

| | | | | | | |
|-----|------------------|--------------------------------------|--|------|---|---|
| | | 歳 | | | 質濃度、糖代謝マーカーに影響なし | |
| D-3 | 46名 (VD群22名) | 初期慢性腎臓病患者(CKDステージ2-3) 平均62.5±9.6歳 | VD ₃ 50,000 IU/週を12週間、その後1週間おきに50,000 IUを40週間 | 記載なし | 血清中の炎症、免疫マーカー(TNF-α、IL-6、MCP-1、IP-10、NGAL、LL-37)に影響なし | A |
| D-4 | 151名 (VD群76名) | ビタミンD不足の成人 平均48.4±11.3歳 | VD ₃ 50,000 IU/週 8週間摂取 | | 血中脂質濃度に影響なし | A |
| D-5 | 90名 (VD群45名) | ビタミンD不足の冠動脈疾患患者 平均55±9.6歳 | VD ₂ 50,000 IU/週 12週間摂取 | 記載なし | 接着分子、血管内皮機能、炎症性サイトカイン、血圧に影響なし | A |
| D-6 | 32名 (VD群16名) | II型糖尿病患者 平均57.7±9.7歳 | VD ₃ 40,000 IU/週 6ヶ月間 | 記載なし | 空腹時血糖、血中のインスリン、C-ペプチド、フルクトサミン、HbA1c濃度に影響なし | A |
| D-7 | 109名 (VD群56名) | 血中ビタミンD濃度の低い糖尿病前症の成人 平均52.3±8.0歳 | VDを平均88,865 IU/週(6473-134446IU) 1年間摂取 | 記載なし | HbA1cは低下 血糖値、インスリン分泌、インスリン感受性、耐糖能の改善または悪化率に影響なし | A |

| | | | | | | |
|------|---|--------------------------------|--|------|---|---|
| D-8 | 26名 (VD群13名) | 妊娠糖尿病の既往がある女性 中央値36歳 | VD ₃ 4,000 IU/日 6ヶ月間摂取 | 記載なし | 空腹時インスリン濃度、トリグリセリド値の上昇 耐糖能、インスリン感受性、空腹時血糖値、HbA1c、Cペプチド、血圧、BMI、ウエスト/ヒップ比、高感度CRP、血清脂質濃度に影響なし | A |
| D-9 | 128名 (VD群63名) | 健康な若年成人平均21.45±2.96歳 | VD ₃ 5,000 IU/日 6週間摂取 | 記載なし | 認識機能や気分に影響なし | A |
| D-10 | 23名 (VD群10名) | 過体重または肥満の成人 平均26.2±5.1歳 | レジスタンス運動3日/週+VD ₃ 4,000 IU/日 12週間摂取 | 記載なし | 血清炎症マーカー (TNF-α、高感度C反応性蛋白、IL-6) に影響なし | A |
| D-11 | 312名 (VD 400 IU/週群110名, 20000IU群97名) | 過体重の成人 平均47.1±11.4歳 | カルシウム 500 mg/日+VD ₃ 40,000 IU/週または20,000/週 1年間摂取 | 記載なし | 骨密度に影響 | A |
| D-12 | 297名 (VD 650 IU/日群149名, 800IU/日群148名) | 閉経後の骨量が減少している女性 平均62.9±7.6歳 | VD ₃ 6,500 IU/日+カルシウム 1,000 mg/日 VD ₃ 800 IU/日+カルシウム 1,000 mg/日 | 記載なし | VD ₃ 800 IU/日+カルシウム 1,000 mg/日を摂取させた群と比較して、骨 | A |

| | | | | | | |
|------|--------------|--------------------------|-----------------------------|-----|--|---|
| | | | 1年間摂取 | | 密度 (BMD) の改善効果および骨代謝回転の低下抑制効果は認められなかった | |
| D-13 | 23名 (VD群10名) | 過体重または肥満の成人 平均26.2 ±5.1歳 | レジスタンス運動 VD 4,000 IU/日 12週間 | 通常食 | 体組成、筋力、最大酸素摂取量、糖代謝の変化に影響なし | A |

D-1 (参照64)、D-2 (参照65)、D-3 (参照66)、D-4 (参照67)、D-5 (参照68)、D-6 (参照69)、D-7 (参照70)、D-8 (参照71)、D-9 (参照72)、D-10 (参照73)、D-11 (参照74)、D-12 (参照75)、D-13 (参照76)

表2 症例報告 【摂取量が100 µg/日 (4000IU/日) 以上】

| 文献 | 対象数 | 対象者特性 | 摂取量 期間 | 背景食 | 効果評価方法 |
|-------|-----|-------------------|--|-----|--------------------------------------|
| D-101 | 1名 | 70歳女性 | VD ₂ 500,00 IU /日 3カ月 | | 高カルシウム血症 急性腎損傷 |
| D-102 | 1名 | 多発性硬化症 骨粗鬆症 | VD ₃ 5,500 IU/日 カルシウム 2020 mg/日 2年間 | | 高度の高カルシウム血症 |
| D-103 | 1名 | 結核でVD欠乏の男性 46歳 | 11.5 mg単回投与、その後0.5 mg/週 4週間 | | 高カルシウム血症 |
| D-104 | 1名 | 腎結石の摘出術を受けた51歳女性 | VD 6,000,000IU /日 4週間 | | ビタミンD中毒 (高カルシウム血症、腎不全、ビタミンA過剰症) を生じた |

D-101 (参照77)、D-102 (参照78)、D-103 (参照79)、D-104 (参照80)

NOAEL等の判断

国際機関によるNOAEL一覧

| 成人 | NOAEL ($\mu\text{g}/\text{日}$) | UF | UL ($\mu\text{g}/\text{日}$) | 主な 参考文献 |
|----------------|-------------------------------------|-----|----------------------------------|------------------|
| EFSA (2012) | 250 | 2.5 | 100 | 21,22 |
| NHMRC (2005) | 100 | 1.2 | 80 | 25,26 |
| CRN (2013) | 250 | 1 | 250 | 22,31 |
| DRI (2015) | 250 | 2.5 | 100 | IOM2011 (1 4) |
| SCF (2002) | 100 | 2 | 50 | 25,36 |
| IOM/FNB (2011) | 250 | | 100 | |

国際機関がNOAEL策定に利用した主な論文

| 文献 | 対象数 | 対象者 特性 | 摂取量 期間 | 背景食 | 効果評価方 法 | エビデンス レベル |
|-------------------------|------|-----------------------------------|--|---|--|--------------|
| D-201 Barger-L ux | 116人 | 健康成 人男性 28 \pm 4歳 | VD ₃ : 25、250 、1250 $\mu\text{g}/\text{日}$ 8週間、 25(OH)D ₃ : 10 、20、50 $\mu\text{g}/\text{日}$ 4週間、 1,25(OH) ₂ D ₃ : 0. 5、1.0、2.0 $\mu\text{g}/$ 日 2週間 | 記載なし 。 牛乳摂取 1日470 m l以上の者 は除く。 | VD ₃ では3 水準とも血 清Caの上 昇は見られ ない。 | A |
| D-202 Heaney | 67人 | 健康人 男性38. 7 \pm 11.2 歳 | VD ₃ : 0、25、1 25、250 $\mu\text{g}/\text{日}$ 最大20週摂取 | 牛乳は1 日1 sv未 満、ビタ ミンサプ リメント の利用な し、食事 からのV D摂取量 は5 $\mu\text{g}/$ 日未満。 | 250 $\mu\text{g}/\text{日}$ でも血清C a濃度の上 昇はみられ ない。 | A |
| D-203 Vieth | 61人 | 健康な 成人男 女 41 \pm 9歳 | VD ₃ : 25または1 00 $\mu\text{g}/\text{日}$ 2-5 ヵ月 | | 100 $\mu\text{g}/\text{日}$ の摂取でも 血清Ca,尿 中Caは変 化せず、安 全な摂取量 | C |

| | | | | | | |
|--------------------|--------|---------------------|---|------|--|---|
| | | | | | である。 | |
| D-204 Narang | 150人 | 21-60 歳、男女 | VD : 400、800、 1200、2400、38 00 IU/日、6か月 | | 3800 IU/日 (95 µg/ 日) で血清 Ca濃度が 上昇。 | B |
| D-205 Tjellesen | 19人 | 閉経前 女性22- 49歳 | VD ₂ ,VD ₃ :4000 IU (100 µg) 、 8週間 Ca : 500 mg/日 | 記載なし | D ₂ とD ₃ でV D代謝物の 血中濃度が 異なる。 血中Ca濃 度の異常高 値は観察さ れない。 | A |
| D-206 Hathcock | Review | | | | 250 IU/日 のVD摂取 では健康影 響はない。 | A |

D-201 (参照21)、D-202 (参照22)、D-203 (参照25)、D-204 (参照26)、D-205 (参照36)、D-206 (参照31)

ヒトにおける知見まとめ

本研究班としては、ビタミンDの経口摂取に関するヒトにおける有害影響の知見を検討した結果、健康成人を対象とした報告で、エビデンスレベルがバイアスの少ない精度の高い研究（エビデンスレベルA）であると判断したBarger-Luxら（参照21）とHeaneyら（参照22）らの知見をもとに、250 µg/日をビタミンDのNOAELと判断した。前述のとおり、日本人の食事摂取基準2015年版、IOM/FNB（2011）、EFSA（2012）では250 µg/日（10,000 IU/日）をNOAELとしており、CRN（2013）もHathcockらのレビュー（参照31）も参考に250 µg/日をNOAELとしている。

NHMRC（2005）はViethらの論文（参照25）を基に100 µg/日（4,000IU/日）をNOAELとしているが、この論文ではビタミンD栄養状態が低い比較的少数の被験者を対象としており、100 µg/日以上摂取試験は行っておらず有害事象を観察していないことなどから、本研究班としては、Viethらの論文（参照25）のエビデンスレベルをバイアスがある研究（エビデンスレベルC）であると判断し、この結果からNOAELを判断することは適切でないと考えた。また、SCF（2002）は同じViethらの論文（参照25）とTjellesenらの論文（参照36）を引用しているが、後者は100 µg/日のビタミンD₂、D₃投与を8週間行ったものであり、血中カルシウムの異常高値は認められていない。また、表1に示したように、こ

の量を超える摂取でも、6,500 IU/日までは特に健康障害はみられていない、
表2に示した症例報告においては、VD₃ 5,500 IU/日以上での摂取で、健康障害が観察されているが、この症例の場合にはカルシウム 2,020 mg /日の摂取も行われていることから、VD₃のみの影響とは言えないと考えられた。
以上より、本研究班はヒトにおける有害影響の知見のNOAELは250 µg/日 (4.54 µg/kg体重/日¹⁹⁾) と判断した。

Ⅲ. 一日摂取量の推計等

1. 我が国における摂取量

佐藤らによる生産量統計を基にした添加物摂取量統計によれば、平成23年の添加物生産量のうち24 kgが摂取されたと考えられ、これを国民全員が毎日摂取したと仮定すると、1日摂取量は0.5µg/日、PCTT法で計算すると、その10倍の5µgとなる（参照81）。

伊藤らは、マーケットバスケット方式で求めた、食品添加物由来のビタミンD摂取量は、1µg/日としている（参照82）。

食事から摂取される一日摂取量は、国民健康・栄養調査（平成22、23の平均）結果によると、7.7µg/日であり、95パーセントタイル値は、24.8µg/日である（参照83）。

本研究班は、ビタミンDの一日摂取量を8.7µg/日（0.158 µg/kg体重/日²⁰）と判断した。

Ⅳ. 食品健康影響評価

ビタミンDの体内動態に係る知見を検討したところ、ビタミンDには、植物性食品由来のビタミンD₂と主に動物性食品由来と皮膚で合成されるビタミンD₃の2種があり、皮膚におけるビタミンD₃生合成は、季節・緯度による日照量、皮膚色の影響を受けるとされているが、本研究班としては国内においてはこれらビタミンD₃生合成に影響を及ぼす要因を考慮する必要性は低いと考えた。また、ビタミンD₂とD₃の毒性には相違がある可能性はあるが、これらをリスク評価に用いるには定量的な根拠が不足していると考えた。

本研究班としては、ビタミンDについて生体にとって特段の問題となる遺伝毒性の懸念はないと判断した。

本研究班としては、ヒトにおける知見を検討した結果、ヒトにおける知見を基にNOAELが設定できると考え、Barger-Lux ら（参照21）とHeaney ら（参照22）の成人男性における試験結果から、250 µg/日（4.54 µg/kg体重/日²¹）をビタミンDの毒性に係るNOAELと判断した。

本研究班としては、認められた有害影響及びビタミンDの我が国における推定一日摂取量8.7µg/日（0.158 µg/kg体重/日²²）を勘案すると、ビタミンDのADIを特定することが必要と判断した。

本研究班としては、Barger-Lux ら（参照21）とHeaney ら（参照22）の知見から得られたビタミンDのNOAELは、成人男性から得られたものであるが、ビタミン

Dには遺伝的背景や季節・緯度による日照量、皮膚の色等が影響することが知られており、個人差が大きい可能性を考慮し、安全係数2.5で除した100 µg/日（1.81 µg/kg体重/日²³）をビタミンDのADI と評価した。

参照論文

- 1) 小林正, ビタミンD [ビタミンの事典 (日本ビタミン学会編)] (1996) pp. 68-90. 朝倉書店.
- 2) Comb GF, Vitamin D [The vitamins] (2008) pp. 145-179. Academic Press.
- 3) 日本栄養・食糧学会編, ビタミンD欠乏症 [栄養・食糧学用語辞典 (第2版)] (2015) p. 531. 建帛社.
- 4) 日本栄養・食糧学会編, くる病 [栄養・食糧学用語辞典 (第2版)] (2015) p.194. 建帛社.
- 5) 日本栄養・食糧学会編, 骨軟化症 [栄養・食糧学用語辞典 (第2版)] (2015) p. 249. 建帛社.
- 6) Chen P, Hu P, Xie D, Qin Y, Wang F, Wang H. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* (2010) 121:469-477.
- 7) Pritchard RS, Baron JA, Gerhardsson de Verdier M. Dietary calcium, vitamin D, and the risk of colorectal cancer in Stockholm, Sweden. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* (1996) 5: 897-900.
- 8) Ahonen MH, Tenkanen L, Teppo L, Hakama M, Tuohimaa P. Prostate cancer risk and prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D levels (Finland). *Cancer Causes Control.* (2000) 11: 847-852.
- 9) Wang L, Manson JE, Song Y, Sesso HD. Systematic review: vitamin D and calcium supplementation in prevention of cardiovascular events. *Ann Intern Med.* (2010) 152: 315-323.
- 10) von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient—a randomised, placebo-controlled trial. *Brit J Nutr.* (2010) 103: 549-555.
- 11) Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Brit Med J.* (2009) 339: b3692.
- 12) Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child.* (2008) 93: 512-517.
- 13) Pappa HM, Gordon CM, Saslowsky TM, Zholudev A, et al. Vitamin D status in children and young adults with inflammatory bowel disease. *Pediatrics* (2006) 118: 1950-1961.
- 14) IOM Food and Nutrition Board (FNB) Review of potential indicators of Adequacy and selection of indicators: Calcium and vitamin D, Tolerable upper intake levels: Calcium and vitamin D (2011) pp. 125-308, 403-455. [DRI dietary reference intakes, Calcium Vitamin D Committee to

- Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium] National Academy Press (2011)
- 1 5) Mathis GA, Toggenburger A, Pokorny R, Autzen S, et al. Human pharmacokinetic profile of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside of herbal origin. *J Steroid Biochem Mol Biol.* (2014) 144 Pt A: 40-43.
 - 1 6) Mautalen CA, Ferraro C, Cabrejas M, Landi E, Gotlieb D. Effects of *Solanum malacoxylon* on calcium metabolism in patients with chronic renal failure. *Calcif Tissue Res.* (1977) 22 Suppl: 534-537.
 - 1 7) 厚生労働省. 医薬品の効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質 (原材料) リスト
 - 1 8) 日本食品化学研究振興財団. 指定添加物リスト. (2014) 1-20.
 - 1 9) 消費者庁告示第9号. 栄養表示基準. 平成21年12月16日
 - 2 0) European Food Safety Authority (EFSA) Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) . Scientific opinion on the tolerable upper intake level of vitamin D. *EFSA J.* (2012) 10: 2813.
 - 2 1) Barger-Lux MJ, Heaney RP, Dowell S, Chen TC, Holick MF. Vitamin D and its major metabolites: serum levels after graded oral dosing in healthy men. *Osteoporos Int.* (1998) 8: 222-230.
 - 2 2) Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr.* (2003) 77: 204-210.
 - 2 3) Scientific Committee on Food (SCF). Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Vitamin D. SCF/C S/NUT/UPPLEV/38 Final. 16 December 2002.
 - 2 4) National Health and Medical Research Council (NHMRC). Vitamin D [Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand] (2006) pp.1 27-138. Commonwealth of Australia and New Zealand Government, Canberra, Australia.
 - 2 5) Vieth R, Chan PC, MacFarlane GD. Efficacy and safety of vitamin D₃ intake exceeding the lowest observed adverse effect level. *Am J Clin Nutr.* (2001) 73: 288-294.
 - 2 6) Narang NK, Gupta RC, Jain MK. Role of vitamin D in pulmonary tuberculosis. *J Assoc Physicians India* (1984) 32: 185-188.
 - 2 7) Fomon SJ, Younoszai MK, Thomas LN. Influence of vitamin D on linear growth of normal full-term infants. *J Nutr.* (1966) 88: 345-50.
 - 2 8) Jeans PC, Stearns G. The effect of vitamin D on linear growth in infancy. II. The effect of intakes above 1,800 USP units daily. *J Pediatr.* (1938) 13: 730-740.
 - 2 9) Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (IOM/FNB). Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fl

- uoride. (1997) National Academy Press.
- 3 0) Council for Responsible Nutrition (CRN). Vitamin D [Vitamin and Mineral Safety 3rd Edition]. (2014) pp. 32-38. Council for Responsible Nutrition.
- 3 1) Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2007; 85: 6-18.
- 3 2) 厚生労働省. ビタミンD [「日本人の食事摂取基準 (2015年版)」 策定検討会報告書]. (2015) pp. 170-175.
- 3 3) Schwartzman MS, Franck WA. Vitamin D toxicity complicating the treatment of senile, postmenopausal, and glucocorticoid-induced osteoporosis. Four case reports and a critical commentary on the use of vitamin D in these disorders. *Am J Med.* (1987) 82: 224-230.
- 3 4) Davies M, Adams PH. The continuing risk of vitamin-D intoxication. *Lancet* (1978) 2: 621-623.
- 3 5) Hollis BW, Johnson D, Hulsey TC, et al. Vitamin D supplementation during pregnancy: double-blind, randomized clinical trial of safety and effectiveness. *J Bone Miner Res* (2011) 26: 2341-2357.
- 3 6) Tjellesen L, Hummer L, Christiansen C, Rodbro P. Serum concentration of vitamin D metabolites during treatment with vitamin D₂ and D₃ in normal premenopausal women. *Bone Miner.* (1986) 1: 407-413.
- 3 7) Ala-Houhala M. 25-Hydroxyvitamin D levels during breast-feeding with and without maternal or infantile supplementation of vitamin D. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* (1985) 4: 220-226.
- 3 8) Wagner CL, Greer FR; American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics* (2008) 122:1142-1152.
- 3 9) Aloia JF. African Americans, 25-hydroxyvitamin D, and osteoporosis: a paradox. *Am J Clin Nutr.* (2008) 88: 545S-550S.
- 4 0) Barger-Lux MJ1, Heaney RP. Effects of above average summer sun exposure on serum 25-hydroxyvitamin D and calcium absorption. *J Clin Endocrinol Metab.* (2002) 87: 4952-4956.
- 4 1) Basile LA, Taylor SN, Wagner CL, Horst RL, Hollis BW. The effect of high-dose vitamin D supplementation on serum vitamin D levels and milk calcium concentration in lactating women and their infants. *Breastfeed Med.* (2006) 1: 27-35.
- 4 2) Wagner CL, Hulsey TC, Fanning D, Ebeling M, Hollis BW. High-dose vitamin D₃ supplementation in a cohort of breastfeeding mothers and their infants: a 6-month follow-up pilot study. *Breastfeed Med.* (2006) 1: 59-70.

- 4 3) Rothberg AD, Pettifor JM, Cohen DF, Sonnendecker EW, Ross FP. Maternal-infant vitamin D relationships during breast-feeding. *J Pediatr.* (1982) 101: 500-503.
- 4 4) Greer FR, Marshall S. Bone mineral content, serum vitamin D metabolite concentrations, and ultraviolet B light exposure in infants fed human milk with and without vitamin D₂ supplements. *J Pediatr.* (1989) 114: 204-212.
- 4 5) Brooke OG, Brown IR, Bone CD, Carter ND, Cleeve HJ, Maxwell JD, Robinson VP, Winder SM. Vitamin D supplements in pregnant Asian women: effects on calcium status and fetal growth. *Br Med J.* (1980) 280: 751-754.
- 4 6) McDuffie JR, Calis KA, Booth SL, Uwaifo GI, Yanovski JA. Effects of orlistat on fat-soluble vitamins in obese adolescents. *Pharmacotherapy* (2002) 22: 814-822.
- 4 7) Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R. Evidence that vitamin D₃ increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D₂. *Am J Clin Nutr.* (1998) 68:854-858.
- 4 8) Tripkovic L, Lambert H, Hart K, Smith CP, et al., Comparison of vitamin D₂ and vitamin D₃ supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* (2012) 95:1357-1364.
- 4 9) Pereira-Santos M, Costa PR, Assis AM, Santos CA, Santos DB. Obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* (2015) 16: 341-349.
- 5 0) 食品安全委員会 動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書「カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール」2014年7月
- 5 1) Mortelmans K, Haworth S, Lawlor T, Speck W, Tainer B, Zeiger E. Salmonella Mutagenicity Tests: II. Results From the Testing of 270 Chemicals. *Environ Mutagen.* (1986) 8(Suppl7): 1-119.
- 5 2) Chromosome aberration test in human lymphocytes in vitro with calcifediol (非公表)
- 5 3) European Medicines Agency (EMA) Committee for veterinary medicinal products, Vitamin D, Summary report. 1998.
- 5 4) 25-hydroxycholecalciferol, Acute LD50 studies in rat and mouse (非公表)
- 5 5) Calcifediol, Acute oral toxicity study in rats (非公表)
- 5 6) 25-hydroxycholecalciferol, Six months oral toxicity in rats (非公表)
- 5 7) European Food Safety Authority (EFSA). Opinion of the scientific committee on food on the tolerable upper intake of vitamin D”, Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals, Scientific Committee on F

- ood, Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies.2006
- 5 8) Toda T, Ito M, Toda Y, Smith T, Kummerow F. (1985), Angiotoxicity in swine of a moderate excess of dietary vitamin D₃. Food Chem Toxicol. (1985) 23:585-592.
- 5 9) 谷村顕雄及び棚元憲一、食品添加物公定書解説書 第8 版、廣川書店、2007
- 6 0) Hunt RD, Garcia FG, Walsh RJ.(1972), A comparison of the toxicity of ergocalciferol and cholecalciferol in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). J Nutr. (1972) 102:975-986.
- 6 1) Tischler AS, Powers JF, Pignatello M, Tsokas P, Downing JC, McClain RM. Vitamin D₃-induced proliferative lesions in the rat adrenal medulla. Toxicol Sci. (1999) 51: 9-18.
- 6 2) 25-hydroxycholecalciferol, Reproduction studies (非公表)
- 6 3) Supplement on 25-hydroxycholecalciferol safety (非公表)
- 6 4) Jorde R, Sneve M, Torjesen P, Figenschau Y. No improvement in cardiovascular risk factors in overweight and obese subjects after supplementation with vitamin D₃ for 1 year. J Intern Med. (2010) 267: 462-472.
- 6 5) Longenecker CT, Hileman CO, Carman TL, Ross AC, Seydafkan S, Brown TT, Labbato DE, Storer N, Tangpricha V, McComsey GA. Vitamin D supplementation and endothelial function in vitamin D deficient HIV-infected patients: a randomized placebo-controlled trial. Antivir Ther. (2012) 17: 613-621.
- 6 6) Alvarez JA, Zughair SM, Law J, Hao L, Wasse H, Ziegler TR, Tangpricha V. Effects of high-dose cholecalciferol on serum markers of inflammation and immunity in patients with early chronic kidney disease. Eur J Clin Nutr. (2013) 67: 264-269.
- 6 7) Ponda MP, Dowd K, Finkelstein D, Holt PR, Breslow JL. The short-term effects of vitamin D repletion on cholesterol: a randomized, placebo-controlled trial. Arterioscler Thromb Vasc Biol. (2012) 32: 2510-2515.
- 6 8) Sokol SI, Srinivas V, Crandall JP, Kim M, Tellides G, Lebastchi AH, Yu Y, Gupta AK, Alderman MH. The effects of vitamin D repletion on endothelial function and inflammation in patients with coronary artery disease. Vasc Med. (2012) 17: 394-404.
- 6 9) Jorde R, Figenschau Y. Supplementation with cholecalciferol does not improve glycaemic control in diabetic subjects with normal serum 25-hydroxyvitamin D levels. Eur J Nutr. (2009) 48: 349-354.
- 7 0) Davidson MB, Duran P, Lee ML, Friedman TC. High-dose vitamin D supplementation in people with prediabetes and hypovitaminosis D. Diabetes Care. (2013) 36: 260-266.
- 7 1) Yeow TP, Lim SL, Hor CP, Khir AS, Wan Mohamud WN, Pacini G. I

- mpact of Vitamin D Replacement on Markers of Glucose Metabolism and Cardio-Metabolic Risk in Women with Former Gestational Diabetes-- A Double-Blind, Randomized Controlled Trial. *PLoS One*. (2015) 10(6): e0129017.
- 7 2) Dean AJ, Bellgrove MA, Hall T, Phan WM, Eyles DW, Kvaskoff D, McGrath JJ. Effects of vitamin D supplementation on cognitive and emotional functioning in young adults--a randomised controlled trial. *PLoS One*. (2011) 6(11): e25966.
- 7 3) Carrillo AE, Flynn MG, Pinkston C, Markofski MM, Jiang Y, Donkin SS, Teegarden D. Vitamin D supplementation during exercise training does not alter inflammatory biomarkers in overweight and obese subjects. *Eur J Appl Physiol*. (2012) 112: 3045-3052.
- 7 4) Jorde R, Sneve M, Torjesen PA, Figenschau Y, Hansen JB, Grimnes G. No significant effect on bone mineral density by high doses of vitamin D₃ given to overweight subjects for one year. *Nutr J*. 2010 9: 1.
- 7 5) Grimnes G, Joakimsen R, Figenschau Y, Torjesen PA, Almås B, Jorde R. The effect of high-dose vitamin D on bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women with low bone mass--a randomized controlled 1-year trial. *Osteoporos Int*. (2012) 23: 201-211.
- 7 6) Carrillo AE, Flynn MG, Pinkston C, Markofski MM, Jiang Y, Donkin SS, Teegarden D. Impact of vitamin D supplementation during a resistance training intervention on body composition, muscle function, and glucose tolerance in overweight and obese adults. *Clin Nutr*. (2013) 32: 375-381.
- 7 7) Jacobsen RB, Hronek BW, Schmidt GA, Schilling ML. Hypervitaminosis D associated with a vitamin D dispensing error. *Ann Pharmacother*. (2011) 45: e52.
- 7 8) Marcus JF, Shalev SM, Harris CA, Goodin DS, Josephson SA. Severe hypercalcemia following vitamin d supplementation in a patient with multiple sclerosis: a note of caution. *Arch Neurol*. (2012) 69: 129-132.
- 7 9) Lavender TW, Martineau AR, Quinton R, Schwab U. Severe hypercalcemia following vitamin D replacement for tuberculosis-associated hypovitaminosis D. *Int J Tuberc Lung Dis*. (2012) 16: 140
- 8 0) Granado-Lorencio F, Rubio E, Blanco-Navarro I, Pérez-Sacristán B, Rodríguez-Pena R, García López FJ. Hypercalcemia, hypervitaminosis A and 3-epi-25-OH-D₃ levels after consumption of an "over the counter" vitamin D remedy. a case report. *Food Chem Toxicol*. (2012) 50: 2106-2108.
- 8 1) 佐藤 恭子、北村 陽二、山田 雅巳他. 食品添加物の規格試験法の向上及び摂取量推定等に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金 健康安全確保総合研究

食品の安全確保推進研究報告書. (2015) <http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIDD00.do?resrchNum=201327025A>

- 8 2) 伊藤誉志男. 日本人の食品添加物の一日摂取量調査研究 マーケットバスケット方式 (25年間のまとめ) . FFI JOURNAL, (2007) 212(10):815-839.
- 8 3) 厚生労働省 国民健康・栄養調査-国民健康・栄養調査特別集計 (平成22年、23年) http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou_eiyou_chousa.html 2016年3月20日 閲覧

注釈

- 1 本指針案はビタミン・ミネラルとその関連物質の評価に用いることを基本とするが、健康影響評価のシミュレーションを行った結果、必須アミノ酸に関しても適用できる可能性が考えられたことから、ビタミン・ミネラル等とした。
- 2 ビタミン同族体、光学異性体などが想定される。
- 3 動物における有害影響の知見に必要な資料としては、「添加物に関する食品健康影響評価指針」に準じた試験としたが、すべての試験が必要であるかの議論は今後の検討課題となった。
- 4 今後の指針審議において、各カテゴリーの具体的な例を示した方がよいとの意見があった。
- 5 なお、得られた NOAEL 等を体重当たりの量や一日当たりの量に換算する場合には、食事摂取基準における参照体重を用いることが妥当であると議論がされたが、kg 体重あたりに換算する場合、食品安全委員会では 55.1kg を用いている（平成 26 年 3 月 31 日 食品安全委員会決定）ことを踏まえると、換算する際に用いる適切な体重に関しては、今後議論をする必要がある。
- 6 ヒトにおける知見において NOAEL 等が設定できない場合として、ヒトにおける有害影響が特定できない場合や有害影響に関する報告がない場合、影響の報告はあるものの NOAEL や LOAEL の特定には至らなかった場合などいくつかの場合について議論がなされた。
- 7 一日摂取量を推計する際に kg 体重あたりに換算する場合は、食品安全委員会では、55.1kg を用いている（平成 26 年 3 月 31 日 食品安全委員会決定）が、食事摂取基準では参照体重を用いていることに留意すべきである。
- 8 ヒトにおける知見において NOAEL 等が設定できない場合として、ヒトにおける有害影響が特定できない場合や有害影響に関する報告がない場合、または影響の報告はあるものの NOAEL や LOAEL の特定には至らなかった場合などいくつかの場合について議論がなされたが、これら NOAEL 等が設定できない場合の要因と ADI の設定の必要性および設定の根拠となるデータの選択については今後検討する必要がある。
- 9 有害影響に関するデータがない場合を有害影響がみとめられないとするかについての議論があったが、今後の検討課題となった。
- 10 最終的な判断として HOI を用いる際に、HOI から ADI を設定するのではなく、HOI として結論する方法も議論されたが、これまでに「HOI」という用語を用いてリスク評価の結論を行っていないことや、それに伴い評価が正確に解りにくくなる可能性があることなどの理由から、HOI での結論は行わずに、HOI を用いて ADI を設定することを基本とした。ただし、その際には、HOI を根拠として求められる ADI は NOAEL から求められる ADI と異なるものであることについて、例えば「HOI を超える摂取量は直ちに有害影響を引き起こすものではないことから、HOI を根拠として求められる ADI は、NOAEL から求められる ADI と異なる指標であり、ヒト知見における NOAEL から求められる ADI よりも通常は低くなると考えられる指標であることには十分留意する必要がある。」といったように但し書きを記載する必要がある。

-
- 1¹ 下位集団における差異が認められない場合に体重または代謝体重を用いた補正を行うのが望ましいとの意見があったが、今後の検討課題となった。
- 1² ヒトの体内においてビタミン D₂ とビタミン D₃ 代謝物は区別することなく測定される場合が多いので、「ビタミン D」と表記されている。
- 1³ ヒトの体内においてビタミン D₂ とビタミン D₃ 代謝物は区別することなく測定される場合が多いので、「ビタミン D」と表記されている。
- 1⁴ IOM/FNB (2011) では、不確実性因子を示していない。
- 1⁵ IOM/FNB (2011) は、NOAEL を 1800 IU (45 µg) /日、不確実性因子を 2、UL を 1,000 IU (25 µg) /日としている。
- 1⁶ 原文では 0.5 となっているが、2 の誤植。
- 1⁷ 原著では、UL を 5,000 IU から 20% 下回る値としたことが示されている。
- 1⁸ 参照資料原文では 12.5、25 又は 50 µg/kg 体重/日
- 1⁹ 体重 55.1kg で換算
- 2⁰ 体重 55.1kg で換算
- 2¹ 体重 55.1kg で換算
- 2² 体重 55.1kg で換算
- 2³ 体重 55.1kg で換算