

# 食品安全委員会添加物専門調査会

## 第 89 回会合議事録

1. 日時 平成 22 年 9 月 27 日（月） 14:00～15:14

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

（１）3-メチル-2-ブテナールに係る食品健康影響評価について

（２）その他

4. 出席者

（専門委員）

今井田座長、石塚専門委員、伊藤専門委員、梅村専門委員、江馬専門委員、久保田専門委員、塚本専門委員、頭金専門委員、中江専門委員、三森専門委員、森田専門委員、山添専門委員、山田専門委員

（食品安全委員会委員）

小泉委員長、見上委員、長尾委員、廣瀬委員

（事務局）

栗本事務局長、大谷事務局次長、坂本評価課長、前田評価調整官、角井課長補佐、竹口係長、小山係員、藤田技術参与

5. 配布資料

資料 1-1 3-メチル-2-ブテナールの概要

資料 1-2 添加物評価書 3-メチル-2-ブテナール（案）

6. 議事内容

○今井田座長 それでは、定刻になりましたので、ただいまから第 89 回「添加物専門調査会」を開催いたします。先生方には、御多忙中にもかかわらず、御出席いただきまして、ありがとうございます。

います。

本日は、13名の専門委員が御出席です。林専門委員、井上専門委員は、都合により御欠席との連絡をいただいております。また、食品安全委員会からも委員の先生方が御出席でございます。

本日の会議全体のスケジュールにつきましては、お手元に「食品安全委員会添加物専門調査会（第89回会合）議事次第」を配付しておりますので、御覧ください。

では、議事に入ります前に、事務局から資料の確認をお願いいたします。

○角井課長補佐 それでは、資料の御確認をお願いいたします。

まず、議事次第の4.に配付資料の一覧がございます。

めくっていただきまして、座席表ですが、御案内のとおり井上先生がお休みでございまして、また、委員のうち野村先生がお休みだということで、この点、座席表の修正をさせていただきます。

それから、専門委員名簿がございます。

資料1-1「3-メチル-2-ブテナールの概要」。

資料1-2「添加物評価書 3-メチル-2-ブテナール（案）」でございます。

資料の過不足等がございましたら、事務局の方に随時御指示をいただければと思います。

なお、傍聴の方に申し上げますが、以上、申し上げました資料以外で専門委員等のお手元にあるものにつきましては、大部になりますこと等から傍聴の方にはお配りしておりません。調査審議中に引用されたもので、公表のものにつきましては、専門調査会終了後、事務局で閲覧できるようにしておりますので、傍聴者の中で必要とされる方は、この会議終了後に事務局までお申し出いただければと思います。

以上でございます。

○今井田座長 ありがとうございます。

本日は、当初2品目の予定でしたが、1品目になりました。よろしくお願いいたします。

それでは、議事（1）「3-メチル-2-ブテナールに係る食品健康影響評価について」でございます。

では、この品目について、事務局から説明をお願いいたします。

○角井課長補佐 わかりました。資料1-1と1-2をお出しいただければと思います。

資料1-1は「3-メチル-2-ブテナールの概要」ということで、評価要請者から提出されたものでございます。適宜御参照いただければと思います。説明の方は、資料1-2の評価書（案）を中心にさせていただきたいと存じます。

まず、資料1-2の2ページでございます。

経緯でございますが、9月10日に厚生労働大臣から関係書類をいただきまして、9月16日、第

348 回食品安全委員会で厚生労働省の方から要請事項の説明があったところでございます。

4 ページ「Ⅰ．評価対象品目の概要」でございます。

用途は、香料でございます。

主成分の名称、分子式、分子量、構造式は、「2.」から「5.」に記載させていただいているとおりでございます。

「6. 評価要請の経緯」でございます。

この物質は、ラズベリー、ホップ等の食品中に存在しておりまして、鶏肉等の加熱調理により生成する成分でございます。添加物（香料）「3-メチル-2-ブテナール」としましては、欧米におきまして、チューインガム、ハード・キャンデー類、焼菓子等様々な加工食品において香りの再現、風味の向上等の目的で添加されているところでございます。いわゆる国際汎用香料ということでございまして、厚生労働省は企業等からの指定要請を待つことなく、主体的に指定に向けた検討を行うとしているもののうちの1つでございまして、今般、評価資料が取りまとめられたということで、食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものでございます。資料の取りまとめにつきましては「国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について」に基づいて行われているところでございます。

「Ⅱ．安全性に係る知見の概要」でございます。

「1. 反復投与毒性」でございます。

5 週齢の SD ラット（各群雌雄各 10 匹）に、この添加物を、対照群のほか 0.08、0.8、8 mg/kg 体重/日の投与群を設けまして、90 日間強制経口投与した試験でございます。その結果、8 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例につきまして、投与開始 69 日目に瀕死状態となったためと殺された。これについて、試験担当者は、切歯の脱落による出血と摂餌困難によるものであり、被験物質の投与に関連したものではないと推察しているところでございます。

血液学的検査では、8 mg/kg 体重/日投与群の雌で赤血球数の高値及び平均赤血球ヘモグロビン量の低値が認められております。試験担当者は、関連する検査項目や病理組織学的検査で変化が認められていないことから、被験物質の投与に関連したものではないとしております。

器官重量につきましては、8 mg/kg 体重/日投与群の雄で前立腺の絶対重量及び相対重量の低値が認められております。試験担当者は、病理組織学的検査で関連する変化は認められていないことから、被験物質の投与に関連した変化ではないとしております。

剖検では、8 mg/kg 体重/日投与群の雄 2 例で精巣及び精巣上体の萎縮が認められております。病理組織学的検査では、これらの肉眼変化は精細管の萎縮、精巣上体の精子数の減少でございました。

これらについて、試験担当者は、発現例数が少なく、かつ、精巣及び精巣上体の重量に変化が認

められなかったことから、被験物質の投与に関連したものではないとしております。

そのほか、一般状態、体重、摂餌量、尿検査、眼科学的検査において、被験物質の投与に関連した変化は認められておりません。試験担当者は、NOAEL を本試験の最高用量である 8 mg/kg 体重/日としております。

担当の先生方の方でおまとめいただきました内容が、次のパラグラフでございます。

本専門調査会としては、8 mg/kg 体重/日投与群の 2 例にみられた精巣及び精巣上体の萎縮や、精巣上体の精子数の減少については、1 例においては片側にのみ発現しており、残る 1 例においても左右の精巣で病変の程度は異なることから、投与に関連して誘発された変化とはみなすべきではなく、本品目に精巣毒性作用はないと判定した。ただし、8 mg/kg 体重/日投与群の雄の前立腺重量の減少については、組織学的な異常はみられなかったとしているが、対照群に比べて絶対重量で 23%、相対重量で 26% 減少していることから、投与との関連性が推察された。

以上のことから、本専門調査会としては、本試験における NOAEL を 0.8 mg/kg 体重/日と評価した、とおまとめいただいております。

「2. 発がん性」でございます。

評価要請者は、発がん性試験は行われておらず、国際機関等による発がん性評価も行われていないとしているところでございます。

「3. 生殖発生毒性試験」は、2 つございます。

まず 1 つ目は、OECD の SIAR における引用によりますと、33～35 日齢の Wistar ラット（各群雌雄各 25 匹）に 3-メチル-2-ブテナール 0、50、200、800 ppm という投与群を設けまして、交配前から児動物の離乳まで 18 週間飲水投与する一世代生殖毒性試験（OECD TG415）が実施されております。その結果、親動物への影響に関しましては、投与開始後 10 週（交配前）に 800 ppm 投与群の雌 1 例が死亡しております。剖検の結果、腺胃粘膜のびらん/潰瘍が認められましたが、SIAR では、当該病変が死因ではないとされております。

摂餌量については、800 ppm 投与群の雄で投与開始後 4 週間低値が認められておりますが、その後は対照群と同様でございました。また、摂水量につきましては、800 ppm 投与群の交配前雌雄及び妊娠雌に低値が認められたが、SIAR では、被験物質の忌避が原因とされているところでございます。親動物の一般状態、体重並びに剖検及び病理組織学的検査において、被験物質の投与に関連した変化は認められておりません。親動物の生殖及び児動物の発生への影響に関しましては、出生率について、800 ppm 投与群で低値が認められております。これについて、SIAR では、当該低値は 2 匹の母動物に各 4 匹の死産児があったことによるものであること、当該投与群の児動物の生存率及び生育率への影響は認められないこと、当該低値は当該動物種の生物学的な変動の範囲内であ

ることから、被験物質の投与に関連したものではないとされております。そのほか、交尾率、受胎率、妊娠期間等々のパラメータにおきまして、被験物質の投与に関連した変化は認められておりません。また、児動物の一般状態及び剖検においても被験物質の投与に関連した変化は認められなかったとされております。以上より、SIAR では、NOAEL は親動物及び児動物ともに 800 ppm とされております。

担当の先生の方からは、本専門調査会としては、本試験における親動物に対する NOAEL を 800 ppm における出生率低下に基づいて 200 ppm と評価し、児動物に対する NOAEL を本試験の最高用量である 800 ppm と評価した、とおまとめいただいております。

2 つ目の試験でございますが、こちらでも SIAR において引用されているものでございます。Wistar ラット（各群雌 25 匹）に対照群のほか、50、150、300、450 mg/kg 体重/日投与群を設定いたしまして、交尾後 6～19 日に強制経口投与する出生前発生毒性試験が実施されております。母動物への影響に関しましては、450 mg/kg 体重/日投与群におきまして、腹這い位、流涎、流涙、無関心、立毛、摂餌量及び体重の減少等が認められております。妊娠 8～10 日には 5 例が死亡しまして、残る動物も瀕死状態となったため全てがと殺されまして、当該投与群はその後の試験から除外されております。150 mg/kg 体重/日以上投与群におきまして、一過性の流涎等が認められております。これについて、SIAR では、被験物質の味が原因であり、有害影響ではないとされております。また、50、150 mg/kg 体重/日投与群の各 1 例に立毛が見られております。そのほか、300 mg/kg 体重/日以下の投与群の体重、摂餌量及び剖検におきまして、被験物質の投与に関連した変化は認められておりません。また、受胎率、黄体数、着床数、吸収数、着床前／後胚損失率、生存胎児数並びに胎児の性比、体重及び生存率に被験物質の投与に関連した変化はみられなかったとされております。被験物質の投与に関連した奇形及び変異の増加も認められておりません。

以上より、SIAR では、NOAEL は母動物及び児動物ともに 300 mg/kg 体重/日であるとされております。

担当の先生の方でも、本専門調査会としても、SIAR と同様、本試験における母動物及び児動物に対する NOAEL を 300 mg/kg 体重/日と評価した、とおまとめいただいております。

「4. 遺伝毒性」でございます。

(1) 微生物を用いる復帰突然変異試験は、4 つほど試験を並べさせていただいております。

まず 1 つ目は、SIAR における引用によるものでございます。サルモネラの TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 の株を用いて復帰突然変異試験が最高用量 2.5 mg/plate まで実施されておりますが、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性の結果であったとされております。また、別途行われております TA98、TA100 株のみの復帰突然変異試験が最高用量 6 mg/plate まで実施されております。

すが、代謝活性化系の有無にかかわらず復帰突然変異コロニー数の増加が報告されております。SIAR では、後者の試験につきまして、反応に一貫性がないこと及び用量相関性が明確でないことが指摘されております。

3 つ目としまして、添加物 3-メチル-2-ブテナールについての TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び大腸菌の WP2 *uvrA* 株を用いて復帰突然変異試験が最高用量 5 mg/plate まで実施されております。代謝活性化系の有無にかかわらず、TA100 株においてのみ陽性の結果が報告されております。その他の菌株では、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性の結果が報告されております。

4 つ目としまして、TA100 株を用いた復帰突然変異試験です。こちらは用量が不詳でございますけれども、1  $\mu\text{mol}$  当たり 78 個の復帰突然変異コロニーを誘発したとされております。

「(2) ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」でございます。

この添加物についての CHL/IU を用いた染色体異常試験、観察対象とした最高用量として、代謝活性化系非存在下では 0.11 mg/mL (1.3 mM) まで、代謝活性化系存在下では 0.22 mg/mL (2.6 mM) まで、実施されておりますが、代謝活性化の有無にかかわらず、陽性の結果が報告されております。

「(3) げっ歯類を用いる小核試験」としては、2 つ試験が行われております。

1 つ目は、SIAR における引用でございます。NMRI マウス（各群雌雄各 5 匹）への単回強制経口投与による *in vivo* 骨髓小核試験（最高用量 700 mg/kg 体重）では、陰性の結果であったとされております。

2 つ目は、添加物（香料）「3-メチル-2-ブテナール」についての 9 週齢の ICR マウス（各群雄 5 匹）への 2 日間強制経口投与による *in vivo* 骨髓小核試験でございますが、最高用量 1,000 mg/kg 体重/日まで実施されておまして、陰性の結果が報告されております。

「(4) UDS 試験」でございます。

SIAR における引用でございますけれども、Wistar ラット（各群雄 3 匹）への単回強制経口投与による *in vivo* の UDS 試験（最高用量 700 mg/kg 体重）では、陰性の結果が報告されております。

「(5) その他」でございます。

大腸菌株を用いた SOS 修復誘発性についての試験で、SOS 修復の誘発が認められておまして、陽性の結果が報告されております。

DNA の付加体形成に関する試験が行われておまして、3-メチル-2-ブテナールは、2'-デオキシグアノシン及び 2'-デオキシグアノシン-5'-リン酸と付加体を形成したが、その他のヌクレオシドやヌクレオチドとの付加体を形成することはなかったとされております。

担当の先生の方では、以上の結果から、細菌を用いた復帰突然変異試験では代謝活性化系の有無にかかわらず、TA100 で陽性の結果が複数得られているが、その他の菌株では代謝活性化系の有無

にかかわらず陰性の結果が報告されている。また、TA100 で陰性の結果の報告もあることから、SIAR でも指摘されているように TA100 に関しては反応に一貫性がないといえる。また、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験でも、代謝活性化系の有無にかかわらず陽性の結果が報告されており、一部の核酸に対して付加体の形成が認められているものの、異なるマウスを用いた個別の系で、最大耐量まで実施された骨髄小核試験その他 UDS 試験等 *in vivo* 試験で陰性の結果が報告されていることから、添加物（香料）「3-メチルー2-ブテナール」には、少なくとも香料として用いられる低用量域では、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられた、とおまとめいただいております。

「5. その他」でございます。

評価要請者は、内分泌かく乱性に関する試験は行われていないとしております。

「6. 摂取量の推定」でございます。

JECFA の PCTT 法によりますと、1987 年の米国及び 1995 年の欧州における一人一日あたりの推定摂取量は、それぞれ 0.5 µg 及び 3.9 µg である。我が国と欧米の推定摂取量が同程度ということとしますと、我が国での本品目の推定摂取量は、およそ 0.5 µg から 3.9 µg の範囲になると推定されますと、担当の先生の方でおまとめいただいております。

「7. 安全マージンの算出」でございます。

先ほどの 90 日間反復投与毒性試験における NOAEL 0.8 mg/kg 体重/日と推定摂取量（0.00001 ~ 0.00008 mg/kg 体重/日）とを比較し、安全マージン 10,000 ~ 80,000 が得られるということでございます。

「8. 構造クラスに基づく評価」でございます。

10 ページの構造クラス分類の表をたどりますと、この物質は構造クラス I に分類されるということになります。本物質についての直接の知見はないが、カルボン酸に代謝され、さらに β 酸化を受けて、最終的には二酸化炭素に分解され则认为られている、とおまとめいただいております。

「9. JECFA における評価」でございます。

JECFA は、本品目を、飽和及び不飽和の分岐鎖脂肪族のアルコール、アルデヒド、酸及び関連エステルのグループとして評価しておりまして、推定摂取量は構造クラス I の摂取許容値を下回るため、本品目は、現状の摂取レベルにおいて安全性に懸念をもたらすものではないとしているところでございます。

9 ページ「10. 国際的に汎用されている香料の我が国における安全性評価法に基づく評価」でございます。

添加物（香料）「3-メチルー2-ブテナール」には、少なくとも香料として用いられる低用量域

では、生体にとって特段問題となる毒性はないものと考えられる。また、国際的に汎用されている香料の我が国における安全性評価法により、構造クラスⅠに分類され、安全マージンは90日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる1,000を上回り、かつ、推定される推定摂取量が構造クラスⅠの摂取許容値を下回る、という案とさせていただきます。

なお、いくつかの厚生労働省の委託試験におきまして用いられております被験物質の確認を国立医薬品食品衛生研究所の方で行っておりますので、詳細な説明について、小山の方からさせていただきます。

○小山係員 それでは、青い表紙の冊子のタグ6番を御覧ください。

「被験物質 3-メチル-2-ブテナールの確認結果」ということで、評価書（案）では参照7として引用してございます。

従前の御指摘に従い、厚労省委託試験に用いられました被験物質につきまして、3-メチル-2-ブテナールであるかどうかの確認が行われております。今回、90日間反復投与毒性試験、復帰突然変異試験、染色体異常試験につきましては、シグマアルドリッチ社製のロット番号27107BB、小核試験につきましてはジボダン社製のロット番号8004049179の2種類の製品がございました。

シグマアルドリッチ社製品につきましては、保存されていた被験物質の一部が入手できたということで、GC/MS、IR、<sup>13</sup>C-NMR、<sup>1</sup>H-NMRのスペクトル測定を行い、得られたデータと産総研の公開データを比較した結果、スペクトル値は、ほぼ産総研のデータと一致したということでございます。

なお、この被験物質につきまして、GC/MSの主成分以外に幾つかのピークが確認されたということでございまして、そのうち保持時間24.2分のピークにつきましては、MSスペクトルのパターン等から3-メチル-2-ブテン酸と推定されたということでございます。この被験物質と同等品（ロット番号S72761）を別途購入し、GC/MSの測定を行ったところ、同じピークは検出されましたが、その強度は低かったということで、長期にわたる保存期間中に3-メチル-2-ブテナールが酸化されて、3-メチル-2-ブテン酸が増加したことが推測されたということでございます。

ジボダン社製品につきましては、当時用いた被験物質を入手することができなかったということで、同等品（ロット番号DU00108527）を別途購入し、GC/MS、IRの測定を行ったところ、シグマアルドリッチ社製品と同様の結果を得ることができたということでございます。

以上のことから、国立衛研の食品添加物部第一室として、4つの委託試験に用いた被験物質が、3-メチル-2-ブテナールであると考えられると確認結果をいただいております。説明は以上でございます。

○今井田座長 ありがとうございます。



それでは、最初に戻りまして、審議に入りたいと思います。

最初に「Ⅰ．評価対象品目の概要」でございます。久保田先生、お願いいたします。

○久保田専門委員 このままで結構で、特に付け加えることはございません。

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、次の「Ⅱ．安全性に係る知見の概要」に関しまして、反復投与毒性、発がん性も含めまして、三森先生、何かコメントをお願いいたします。

○三森専門委員 評価書（案）の 5 ページのところですが、用量設定です。1 行目に 0、0.08、0.8、8 mg/kg 体重/日とありますが、これは例の PCTT 法の推定摂取量を体重 50 kg で割った値の 1,000 倍、10,000 倍、100,000 倍量という用量設定でございます。

4～5 行目のところに、1 例最高用量群の死亡がございましたが、切歯の脱落によって摂餌困難になったものだということで、被験物質の投与に関連したものではないと報告書に記載されておりますが、SD ラットではよくあることですので、これは試験担当者の説明で問題ないと思います。

9～10 行目のところに、8 mg/kg 体重/日の雄で前立腺の重量が低下しているということがありますが、これは後で説明させていただきたいと思います。

13 行目のところに、最高用量群の雄 2 例で精巣、精巣上体の萎縮が認められたということで、試験担当者は発現例数が少なくて、精巣、精巣上体の重量に形態学的変化が発現していないということで、被験物質投与との関連性がないと主張していたわけですが、組織学的な変化を見た上で評価しようということで、私と中江先生でチェックさせていただきました。それは本日、お手元に「手持ち参考資料 1」というのがございますが、それが最高用量群の 2 例の精巣と精巣上体の変化です。405 の方が、片側の精巣が萎縮しているという最高用量群でございまして、1 ページ目に載っているのが右の精巣で、異常はない。2 ページの、同じ動物番号の 405 ですが、左精巣には精細管の萎縮があるということで、このような変化が片側に出ていたということでございます。3 ページを見ていただきますと、精巣上体の変化が載っておりますが、右の精巣は異常ないということですから、右の精巣上体も異常はないということで納得できます。左精巣上体は左精巣が萎縮しておりますので、このように精子の数が減少しているという証拠写真が載っており、この 405 の個体については、左の精巣に障害の変化が出て、右は異常がない。このような変化は投与に関連するとは思えない変化です。それともう一例、5 ページを見ていただきますと、410 番の個体が載っております。これは右の精巣の萎縮の程度と、6 ページの左の精巣の萎縮の程度が異なっております。左の方が激しいということでございまして、特に精巣毒性を有するような化学物質を投与いたしますと、ほとんど左右対称性に同じ変化が出現してまいりますので、これもちょっと異なるということでございます。7 ページは、右の精巣上体と左の精巣上体で、左の方が病変が激しいですので、精巣上体の管

の中に精子が見えなくなっています。410の動物番号の方では、左右で病変の程度が異なっているということです。以上のことから、評価書（案）の20行目のところに記載しておりますような形で、本専門調査会としては、投与に関連して誘発された変化とみなすべきではないと判定させていただきました。

残るは、評価書（案）5ページの10行目のところでございますが、前立腺の絶対重量と相対重量の低値があったということで、試験担当者は組織学的に関連する変化が認められていないということで、投与とは関連しないと結論しておりますが、お手持ちのブルーの冊子がございますね。4番の付箋紙のところは、3-メチル-2-ブテナールのラットにおける90日間反復投与毒性試験の報告書でございます。「Table 14」を見ていただきますと、そこに雄の絶対重量と相対重量が網羅されておりますが、一番右下のところに「Prostate」がございます。その一番下の投与群に星印が付いておりますけれども、左側の「mg」の方が絶対重量、右側の方が相対重量ということになっておりまして、絶対重量で23%程度、相対重量でも26%減少していることから、このような場合、形態的に変化が認められていないといっても、やはり有意な減少でございますので、投与との関連性を否定できないとしまして、評価書（案）5ページ目の26行目のところ「投与との関連性が推察された」ということで、前立腺の重量の減少は投与に関連しているものと判断いたしました。

したがって、最高用量群の8 mg/kg 体重/日は最小毒性量ということになりますので、NOAELはその下の0.8 mg/kg 体重/日と評価させていただいたという経緯でございます。

発がん性の方については、該当するデータはございませんでした。

以上でございます。

○今井田座長 ありがとうございます。

副担当は中江先生ですけれども、何か追加のコメントはございますか。

○中江専門委員 ございません。

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、今の点ですが、ほかの委員の先生から何かコメントがございましたらお願いいたします。

私から質問ですが、三森先生、前立腺が最高用量群で重量減少したということと、今回組織写真が提出されている精巣の萎縮ですね。1例は片方だけですし、もう一例は左右で異常があるということですが、この前立腺重量減少と2例の精巣の変化はどうでしょうか。切り離して考えればいいでしょうか。

○三森専門委員 当初は精巣傷害性の二次的な変化で前立腺が萎縮したのだらうと思いました。それにしても9例生存しており、ほとんどの症例で精巣萎縮がみられてもよろしいのではないかと思います。

いました。にもかかわらず 2 例しか発現していなかったということから、実際に組織写真を見せていただいた上で判定しようということで、当初は関連性を考えていたのですが、投与とは関連のない独立したものとみなされました。精巣の方は偶発性に出た変化ということですが、前立腺については何らかの影響があったとみなさざるを得ないのではないかと思います。

○今井田座長 ありがとうございます。

テストステロン値とか、血中の性ホルモンは測っていないですね。

○三森専門委員 測っていません。

○今井田座長 わかりました。他の委員の方々、今の説明でよろしいでしょうか。

塚本先生、どうぞ。

○塚本専門委員 精巣及び精巣上体の 2 例の萎縮ということなのですが、投与と関係ないということであれば、自然発生と考えてよろしいでしょうか。

「Table 14」の「Testis」の重量を見ますと、前立腺のように有意差はついていないですが、Testis の方も大体 10～10 数%の重量の減少がありますので、投与と関係ない考えるのか、自然発生と考えるのか、その辺のところはいかがでしょうか。

○三森専門委員 この試験ですけれども、「Table 16」を見ていただいてもわかりますように、最高用量群と対照群についてのみ病理組織学的な検査を行っておりまして、それ以外の用量群では検査は行っていないということです。このような片側に精巣萎縮が発現するような変化は、SD ラットのこの程度の週齢ではよくあることであります。したがって、この 2 例に発現したからといって、すぐこれが投与に関連する変化とみなすべきではなく、むしろ、偶発的なものだと思います。「Table 14」で、精巣がもし傷害を受けているのであれば、統計学的に有意な減少が見られるはずですが、起こっておりませんので、やはり投与に関連する変化とみなすべきではないと思います。

○今井田座長 ありがとうございます。そのほかいかがですか。

三森先生、くどくて申し訳ないのですが、この 2 例の個別のデータは多分ないだろうと思うのですが、動物番号 405 とか 410 の前立腺の重量が特に下がっているとかということはわかりませんね。

○三森専門委員 わかりません。

○今井田座長 わかりました。

では、この点はよろしいですか。前立腺の最高用量群で絶対重量、相対重量ともに減少ということで、これを有意な変化としてとらえるということでございます。

ほかに何かございますか。ありがとうございました。

もう一点ですけれども、2～5 行目にかけまして、1 匹動物が少なくなっていることの理由として、

菌のことが書いてあるのですが、先ほど三森先生から説明があったように、SD ではよくあるという事なので、この記載はなくてもいいかなとも思いますけれども、この記載は残しておいた方がよろしいですかね。

○三森専門委員 削除する理由もないのかなと思いました。

○今井田座長 わかりました。丁寧といえば丁寧ですから、よろしいですね。ありがとうございます。

この 90 日間反復投与毒性に関して、ほかに御意見はございませんか。今のことから、今回、全体の NOAEL を 0.8 mg/kg 体重/日と設定している根拠になりますので、よろしいでしょうか。

ありがとうございます。それでは、反復投与毒性と発がん性に関しては、記載のとおりということで行きたいと思います。よろしいですね。

ありがとうございます。では、次に進みます。

「3. 生殖発生毒性試験」のことにに関して、江馬先生、お願いいたします。

○江馬専門委員 一世代の生殖試験が行われていまして、親の一般状態等には影響がありませんでした。児の生存率、体重等にも影響はなかったわけですが、出生率 (Live birth Index) が 800 ppm で有意に低下しております。SIAR では、これは投与の影響ではないとしているのですが、最高用量で有意に低下しているということが重いのではないかと思います。これは被験物質の影響だと判断しました。修文してから気がついたのですが、出生率の低下は親動物の NOAEL に反映させた方がいいのか、児動物の NOAEL に反映した方がいいのか、もう一回考えてみまして、修文して事務局に送りたいと思いますが、よろしいでしょうか。

○今井田座長 よろしくをお願いします。

○江馬専門委員 親動物と児の影響は裏表なので、特に生殖に関する場合は、親動物を単位として Index をとった場合は、親動物の影響。児動物を単位としたパラメータならば、児への影響となるのですが、ちょっとややこしいので、考えたいと思います。

出生前発生毒性試験では、450 mg/kg 体重/日までの強制経口投与では全く影響がありませんでしたので、これは SIAR では NOAEL 300 mg/kg 体重/日のとおりでよろしいかと思います。

それから、修文が足りなかった 6 ページの 32 行目の「吸収数」は「吸収胚数」です。「着床前/後胚損失率」は「～胚死亡率」にしてください。

以上です。

○今井田座長 ありがとうございます。

まず、最初の話で、先ほど江馬先生が言われたのは、6 ページの 16～19 行目の「本専門調査会としては」云々のところですね。

○江馬専門委員　そうです。

○今井田座長　わかりました。いずれにしろ、SIAR では NOAEL を 800 ppm としているのを、ここでは 800 ppm の方は有害として、NOAEL は 200 ppm になるのではないかということですね。それをどちらの方の影響にするかというところで、修文を加えていただくということです。その点をお願いいたします。

2 番目の試験の方は、SIAR と同様に NOAEL を 300 mg/kg 体重/日にするという判断でございます。

これに関しまして、何か御意見はございますか。よろしいでしょうか。何かございませんでしょうか。

では、ちょっと微妙な修文はあるかもしれませんが、全体として NOAEL を設定するというに関しては評価できるという判断で行きたいと思います。よろしいですね。ありがとうございます。

続いて、6 ページの遺伝毒性の方に入ります。遺伝毒性のところは、山田先生、よろしくお願いいたします。

○山田専門委員　遺伝毒性のところは、6 ページの 40 行目から記載があります。

今回は試験の種類がいろいろあるのですが、微生物を用いる復帰突然変異試験については、幾つか試験が行われていまして、陽性に出ているものもあります。しかしながら、同じ用量、同じ株で別の試験の報告では陰性で、一貫性がないということもありまして、SIAR では反応に一貫性がないということで、あまり用量相関性など明確ではないということを指摘しております。私が見ましても一貫性がないということで、そういう判断でいいと思います。

ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験も陽性の結果が報告されているのですが、げっ歯類を用いる小核試験、*in vivo* の結果が陰性ということですので、結論としましては、8 ページの 3 行目からまとめさせていただきました。

この添加物には、少なくとも香料として用いられる低用量域では生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられた、という結論でいいと思います。

あと、7 ページの最後のところに DNA の付加体が形成したということが書いてある文章があるのですが、最後の行に「～付加体を形成したが、その他のヌクレオシドやヌクレオチドとの付加体を形成することはなかったとされている。」と書いてあります。これについて、最後の「ヌクレオシドやヌクレオチドとの付加体を形成することはなかった」という文章は、なくてもいいのではないかと思います。何と付加体を形成したかという結果だけの記載でいいのではないかと思います。いかがでしょうか。

以上です。

○今井田座長 ありがとうございます。今の点をまとめますと、*in vitro* の系では陽性が出ているのですが、小核試験や *in vivo* の系では両方とも陰性の結果が出ているということですね。

これはなぜかわかりませんが、今回の遺伝毒性に関しての試験は通常の遺伝毒性の試験よりも多くやっておりますね。

○山田専門委員 普段使っていないような試験が出てきていますね。

○今井田座長 そうですね。「(4)」の UDS 試験ですとか、付加体なども出ているのですが、これは *in vitro* の Ames 試験等で陽性であったからこのようにいろいろ検査を加えたと理解できるのですか。たまたまデータがあるということでしょうか。

○山田専門委員 その経緯についてまで論文に書いているわけではないので、そこは判断しかねます。

○今井田座長 江馬専門委員、お願いします。

○江馬専門委員 OECD の高生産量化学物質の会議では、*in vitro* の遺伝毒性試験で、陽性となった場合、陽性と陰性の結果になった場合、そのまま会議に持って行くと、追加試験を要求されることとなりますので、*in vivo* の遺伝毒性試験まで行ったのだと思います。

○今井田座長 なるほど、ありがとうございます。よくわかりました。

UDS の試験の結果では陰性になっているのですが、付加体の形成に関してはこれがあるということですね。これがちょっと気になるのですが、これは代謝のところも絡むとは思いますが、この点についてはいかがですか。

山添先生、お願いします。

○山添専門委員 これは *in vitro* の試験で、 $\alpha$ 、 $\beta$ -不飽和のケトンの化合物が変異原性を示すのは、むしろ普通出るはずのものだと思います。

ただ、この試験のところで、先ほどの記載があった 7 ページの 44~45 行目のところのヌクレオシド、ヌクレオチドとの付加体形成の実験データの元文献がリファレンスの 11 になります。その実験条件を見てみますと、2 ページ目の左上のところにあるのですが、さっと計算しますと低い方で 20.6 mM、高いヌクレオチドになると 182 mM と非常に高い濃度で *in vitro* で処理をしたときに付加体ができるということのデータなのです。

実際に  $\alpha$ 、 $\beta$ -不飽和ですので、グルタチオンとか、アルデヒドの場合にはカルボン酸になるとか、そういう生体の防御系の方に引っかかって、通常は処理されるので、低い濃度の場合には出ないことの方がむしろ多いので、これもその典型的なタイプではないかと思います。

○今井田座長 ありがとうございます。

山添先生、ついでで申し訳ないのですが、今の2ページ目、オリジナルの文献で言うと487ページですか。その左上の方に、この条件というのがあります。上から2段落目以後のところに「The mixture was stirred at 90°C for 5 days with～」とあって、この90°Cを5日間というのは、普通やられるものなのですか。

○山添専門委員 これも無理やり付加体を作るためにやっているのだと思いますので、これはできるとすれば、どんなものができるかということを調べた試験であると *in vitro* で見ればいいのではないかと思います。だから、これが生体の中で即このように反応するとは考えなくていいと思っています。

○今井田座長 ありがとうございます。今のディスカッションでクリアーになったのではないかと思いますけれども、ほかの委員の先生方がでしょうか。

石塚専門委員、どうぞ。

○石塚専門委員 そうなると、(5) その他のところで、今のままだと付加体を形成したということだけが多分記載されることになると思います。実験条件とかをそれほど詳しく記載する必要はないと思うのですが、付加体が生体内でできるような条件ではないということは追記した方がいいのではないかと思います。

○今井田座長 ありがとうございます。ごもっともだと思いますが、山添先生いかがでしょうか。

○山添専門委員 済みません、先ほどそのことを山田先生と議論していて、非常に高濃度の3-メチル-2-ブテナールと反応させるとこういうものができますという文章に変えた方がいいのではないかと話していました。ごめんなさい、忘れてしまいました。

○今井田座長 ありがとうございます。

頭金先生、どうぞ。

○頭金専門委員 *in vitro* の試験のところで代謝系の有無にかかわらず陽性があったという記載があるのですが、代謝系というのは S9mix だけを示しているのですか。もし先生がおっしゃっているような反応系も代謝系の中を含むのであれば、ここで問題になっている「生体では普通に起こらないような反応」を示唆するのではないかと思います。そこまでは判断できるような記載ではないのですか。

○山添専門委員 ここで言っているのは、多分 S9mix を加えたか、加えていないかということの付加なので、細胞の中に本来そのものが持っている系で酸化還元系はあるので、それ以上は考慮していないと思います。

○今井田座長 ありがとうございます。

三森先生、どうぞ。

○三森専門委員 評価書の 8 ページの 9、10 行目のところですが、今の *in vivo* の試験の総括概要が載っていますね。読むと「異なるマウスを用いた個別の系で、最大耐量まで実施された骨髄小核試験その他 UDS 試験等 *in vivo* 試験で陰性の結果が報告されていることから」の「その他」のところなのですが、異なるマウスを用いた個別の系は骨髄小核試験で、UDS 試験はラットを用いています。この文章を読むと、マウスで小核試験と UDS 試験と読めてしまうのですが、ここは山田先生何か理由がございますか。

○山田専門委員 「骨髄小核試験」の後ろに「、」があるつもりで書いたのですけれども、消えていたのかもしれません。あまり全部説明すると、非常にだらだら長くなるので、できるだけまとめたくて書いたのです。UDS 試験はマウスを用いた系ではないので、それでその他 UDS 試験等としたのです。だから「、」を打っても紛らわしいかもしれませんが、その前に「、」が要と思います。

○三森専門委員 「その他」というのを「及びラットを用いた UDS 試験」で。

○山田専門委員 それで切っていたと思います。

○三森専門委員 そちらの方がわかりやすいのではないかと思いますね。

○山田専門委員 その方がいいと思います。だから、8 ページの 10 行目の真ん中辺りですね。「～骨髄小核試験」の後に「及びラットを用いた UDS 試験等」を入れていただく。「等」はなくてもいいかもしれないですね。「及びラットを用いた UDS」としていただくといいのではないかと思います。

○今井田座長 よろしいでしょうか。

それと、先ほど山添先生が言われた点ですね。付加体の形成は非常に高い用量で行われているという文面も加えてください。事務局方はよろしいでしょうか。

○角井課長補佐 はい。

○今井田座長 中江先生、どうぞ。

○中江専門委員 今のは、修文案を見せていただかないと。内容については別に反対でないのですが、よくわからない部分があります。というのは、例えば、付加体形成の意義を否定して、というか、実際には意味がないということを、8 ページの段落の方でいうのか、あるいはその前の 7 ページの終わりから 8 ページにかけての部分でいうのかによって、大分印象が変わってくると思います。それと、TA100 の話については、これこれこうだから生物学的な意義はないのだと。Adduct についても、山田先生がおっしゃった理由で生物学的な意義がないのだということはよくわかりますが、染色体異常試験はどうするのでしょうか。これについては、*in vivo* で陰性だから無視していいのだということだけになりますか。修文結果を見せていただかないとわからないと言ったのは、それらについてなのです。



○山田専門委員 染色体異常試験については、ここに含めた意味としては、染色体異常試験でも陽性で、一部の核酸に対して付加体の形成が認められているという2つがポジティブだったという意味合いなのですが、「ものの～*in vivo*試験で陰性」だったので、というつなぎにしたつमりの文章なのです。だから、明確に染色体異常試験が陽性でも、理由を否定するようなものとして、ここに個別には書いていないですが、染色体異常試験が陽性であることと、核酸に対して付加体の形成が認められているということに関しては、*in vivo*で陰性なのでというところで否定しているという文章にしたつमりです。

○中江専門委員 先ほどからの議論で、**adduct** 形成について、極めて明確に、これこれの理由で生物学的意義を認めないと判断したことは、修文されればすごくきれいな文章になると思うのです。今の文章だとこれとこれに陽性があるけれども、*in vivo*でネガティブだからいいのだよという書き方であるのが、修文によって変わってしまいますから、そうすると、繰り返しになりますが、染色体だけが否定されずに浮いた状態になるのです。だから修文の結果を見せていただかないとわからないと申し上げたのです。修文していただくときに、多分そこだけが浮いてくると思うので、適切な修文をしていただかないと困ると思います。

○山田専門委員 理由としては大体毎回そうなのですが、染色体異常で陽性が出ているのは最高用量のところだけなのでというのが、陽性といってもそんなに重要視するものではないというのが理由にはなると思うのですが、書いていないので、それも入れて修文したいと思います。

あと、先ほど山添先生が言われていた、高濃度で反応させた条件でできた付加体ですよということに関しては、まとめのところではなくて、7ページの記載のところに書く方がいいのではないかと思います。

○今井田座長 ごめんなさい。今のは、何を7ページだけ、と言われましたか。

○山田専門委員 付加体ができた条件のことを書く、高濃度でという条件を添えるというところは、先ほど中江先生が8ページのまとめに入れるのかそれとも7ページからの最後の記載のところのどちらに入れるのかと言われた部分については、私は7ページの続きで書く方がいいのではないかと考えます。

○今井田座長 中江先生、どうぞ。

○中江専門委員 7ページの上の方のTA100のSIARの話については、SIAR自身が書いていることを記載しておられるので、ここでもいいと思うのです。それを8ページのまとめのところでも再録されるのもいいと思うのです。ただ、染色体異常試験が最高用量だけでしか陽性でないということと、付加体試験が異常なというか、特異な条件でのみの話だということは、専門調査会としての評価なので、そうするとどちらかというと、8ページの方で両者について書かれた方がよろしいかと思

ます。

○今井田座長 山田先生、いかがですか。私も、多分 8 ページの「以上の結果から」というところが、この専門調査会としての判断というか、考察を加えたところだと思うので、先ほどの DNA 付加体の記載も含めて、8 ページのところで記載したらどうかと思うのですが、いかがですか。

○山田専門委員 では、そのように修文させていただきます。それは後でよろしいでしょうか。

○今井田座長 よろしいですね。ただ、今、完全に修文したものを提示してくれ、と言われても、ちょっと難しいですね。ただ、おそらく結論としては、この付加体があるけれども、それは問題ない。要するに、最後の重要なところなのですが、8 ページの 12、13 行目の「少なくとも香料として用いられる低用量域では、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。」という結論に関しては大丈夫ですね。ですので、この線に沿って修文していただいて、山田先生と山添先生に修文をお願いして、それをまた各専門委員の先生方に送るという形でいいですか。あるいは私と事務局の方に一任していただくというのも 1 つです。

○角井課長補佐 事務局の方で両先生にお伺いしまして、修文案を練らせていただきまして、座長先生と相談した上で、ほかの先生方に確認をしていただきたいと思います。

○今井田座長 わかりました。では、そのようにさせていただきたいと思います。よろしいでしょうか。

○角井課長補佐 今の点ですけれども、そうするとまとめのところで新たに出てくる情報が 2 つ増えるといえますか、染色体異常試験では高用量でという点と、付加体形成の部分は生体内では起こり得ないといった情報を、現状でいわれている **fact** の部分を、こちらの 7 ページの、染色体異常でいきますと 15 行目からのパラでどの用量からどんな状況になっているか、付加体の方に関しましては 7 ページの 43 行目からのパラで、**fact** としてどういった条件下で形成したということを書きいただいた上で、それが生物学的に意義がないとか、高用量のみでの反応であるというジャッジを 8 ページのまとめの方でいただくといったような方向でよろしいでしょうか。

○今井田座長 事実だけを記載するのは、7 ページのところでできると思います。ただ、最終的ないろいろなこの専門調査会としての判断は、8 ページのところで判断したという書きぶりであればいいと思います。中江先生、大丈夫ですか。

○中江専門委員 結構です。

○今井田座長 そのようにお願いします。

そのほか、意見ございますか。

それでは、先ほど確認しましたけれども、遺伝毒性のことにしても、低用量域では生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないという判断は大丈夫だと思います。よろしいですね。

それでは、次に進みたいと思います。8 ページの「5.」のところです。内分泌かく乱性に関する試験は行われていないということでございます。

「6. 摂取量の推定」に進みます。これは森田先生、よろしくお願いします。

○森田専門委員 こちらも香料ということで、JECFA の PCTT 法によりまして 1987 年の米国及び 1995 年の欧州における推定摂取量を求めています。

今回も資料 2 の RIFM のデータベースと JECFA の提出時の香料の推定使用量のけたが違ってありまして、先日のようにデータベースの間違いということもあるかもしれないということで、資料 18 を追加で取り寄せていただきまして、値を確認していただきましたところ、JECFA の資料の方がもとのデータより、より丁寧に細かく計算しているということがわかりましたので、JECFA の方の表上の値を使いました。米国は 2.7 kg、欧州は 27 kg という数値を用いまして計算しましたところ、それぞれ米国は 0.5 µg、欧州では 3.9 µg という結果になりました。

先日お話がありましたように、一応これまでどおり、我が国でも本品目の推定摂取量は同程度であろうと考えまして、およそ 0.5 µg から 3.9 µg の範囲になると推定されるということに文章はなっております。

○今井田座長 ありがとうございます。この摂取量の推定に関しまして、何か御意見ございますか。よろしいですか。

なければ、次に進みます。「7. 安全マージンの算出」でございます。先ほどありましたけれども、90 日間反復投与毒性における NOAEL で 0.8 mg/kg 体重/日というのがありまして、それを体重 50 kg で割って、推定摂取量と比較いたしまして、安全マージンとして 10,000～80,000 という値が得られております。

それでは、次の「8. 構造クラスに基づく評価」のところですか。これは頭金先生、お願いいたします。

○頭金専門委員 わかりました。

まず、構造クラスについての分類であります。先ほど説明がありましたように 10 ページにクラス分類のフローチャートが示されております。各ステップでの YES、No の判断というのは妥当なものであると考えます。したがって、本物質のクラスは I に分類されます。

また、本物質の体内動態なのですが、この物質そのもののデータはないのですが、構造から考えて、カルボン酸に代謝され、さらに β 酸化を受けて、最終的には TCA サイクルで、二酸化炭素に分解されると推測されます。

以上です。

○今井田座長 ありがとうございます。この構造クラス、代謝の件に関しまして、何か追加のこ

ント、質問はございませんでしょうか。

どうぞ。

○頭金専門委員 表現上の問題だけなのですが、36 行目の「本物質についての」というところを「本物質の体内動態についての」としていただいた方がよいと考えております。

○今井田座長 ありがとうございます。大丈夫ですね。

ほかに御意見はございませんか。よろしいですね。

それでは「9. JECFA における評価」に進みます。JECFA としましては、44 行目以降ですが、現状の摂取レベルにおいて安全性に懸念をもたらすのではないとしているということでございます。

それでは「10. 国際的に汎用されている香料の我が国における安全性評価法に基づく評価」に進みます。先ほど議論していただきましたけれども、低用量域では生体にとって特段問題となる毒性はないものと考えられる。国際的に汎用されている香料の我が国における安全性評価法によって、構造クラス I に分類される。安全マージンとしては 10,000～80,000 ということで、90 日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる 1,000 を上回っている。かつ、想定される推定摂取量がクラス I の摂取許容値を下回っている、ということでございます。

以上でございますが、全般を通じまして、何か御意見、追加等はございませんでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、遺伝毒性のまとめのところで少し修文が残りましたがけれども、結論としては判断できると思います。これでよろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、3-メチルー2-ブテナールに係る食品健康影響評価について、添加物専門調査会の審議の結果を取りまとめたいと思います。

添加物（香料）「3-メチルー2-ブテナール」について審議を行った結果、添加物（香料）「3-メチルー2-ブテナール」は、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられるという結論にしたいと思いますが、よろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、ただいまの結果を添加物専門調査会の審議結果といたしまして、食品安全委員会の方に報告することといたします。ありがとうございます。

では、恒例ですけれども、評価書の 10. の題目を「Ⅲ. 食品健康影響評価」として、通例に従っ

て食品健康影響評価の文章に整えたいと思います。

修文等がございますので、細かい文章等については、座長に一任していただきたいと思います。よろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、事務局の方から、今後の進め方について説明をお願いいたします。

○角井課長補佐 それでは、生殖毒性と遺伝毒性、動態につきましては、修文の御指示等がございましたので、担当の先生方と御相談させていただき、座長先生と相談させていただいた上で、修正案を先生方と御相談させていただきたいと思います。

御確認いただきました評価書(案)につきましては、食品安全委員会に報告させていただいた後、諒とされれば、ホームページ等を通じて、広く国民の御意見等を募集させていただきたいと思えます。いただいた御意見等についての対応は、座長先生と相談させていただきたいと存じます。よろしくお願いいたします。

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、議事の「(2) その他」についてですけれども、何かございますでしょうか。

○角井課長補佐 特にございません。

○今井田座長 それでは、全般を通じて結構でございますけれども、何かコメント、御意見がございましたらお願いいたします。よろしいでしょうか。特にないようでございます。

本日は1品目だけになってしまいましたけれども、本日の専門調査会の議事を終了したいと思います。

事務局の方から、次回の予定についてお願いいたします。

○角井課長補佐 次回会合につきましては、10月19日火曜日14時から御審議いただくことを予定しておりますので、よろしくお願いいたします。

○今井田座長 ありがとうございます。

それでは、以上をもちまして、第89回「添加物専門調査会」を閉会いたします。

皆様、どうもありがとうございました。