

(案)

添加物（酵素）
に関する食品健康影響評価指針

2016年11月

食品安全委員会添加物専門調査会

目次

	頁
<審議の経緯>	2
<食品安全委員会委員名簿>	2
<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>	2
第1章 総則	4
第1. 背景	4
第2. 目的	5
第3. 酵素の食品健康影響評価に際しての基本的な考え方	5
1 安全性に係る評価の流れ	5
2 食品健康影響評価	7
3 酵素量の考え方	9
4 その他	10
第4. 評価に必要な資料等の考え方	12
第5. 再評価	15
第2章 各論	15
第1. 評価対象品目の概要	15
第2. 安全性に係る知見	16
1 基原生物の安全性	16
2 酵素の消化管内での分解性に関連する事項	19
3 酵素の毒性	23
(1) 90日間反復投与毒性試験(げっ歯類)	23
(2) 遺伝毒性試験	23
(3) アレルゲン性	23
4 酵素の消化管内での分解性及びアレルゲン性に係る試験	29
第3. 一日摂取量の推計	31
<別紙1:略称>	32
<参照>	33

1 <審議の経緯>

2 2016年 9月30日 第154回添加物専門調査会

3 2016年10月31日 第155回添加物専門調査会

4 2016年11月30日 第156回添加物専門調査会

5

6

7 <食品安全委員会委員名簿>

(2015年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長)

山添 康 (委員長代理)

熊谷 進

吉田 緑

石井 克枝

堀口 逸子

村田 容常

8

9 <食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

(2015年10月1日から)

梅村 隆志 (座長)

頭金 正博 (座長代理)

石井 邦雄

石塚 真由美

伊藤 清美

宇佐見 誠

久保田 紀久枝

佐藤 恭子

祖父江 友孝

高須 伸二

高橋 智

塚本 徹哉

戸塚 ゆ加里

中江 大

西 信雄

北條 仁

松井 徹

森田 明美

山田 雅巳

<参考人>

穉山 浩（汚染物質等専門調査会専門委員）

鎌田 洋一

柘植 郁哉（遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

手島 玲子（遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

中島 春紫（遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

山川 隆（遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

久保田専門委員：

第1章及び第2章 第1. 「評価対象品目の概要」のところまで、佐藤先生および事務局案に異論ございません。

1

2 第1章 総則

3 第1. 背景

4 食品安全委員会は、食品安全基本法第21条第1項に規定する基本的事項（平
5 成24年6月29日閣議決定）において、食品健康影響評価に関するガイドライン
6 の作成に努めることとなっており、既に、「遺伝子組換え食品（種子植物）の安
7 全性評価基準（平成16年1月29日）」、「普通肥料の公定規格に関する食品健
8 康影響評価の考え方（平成16年3月18日）」、「遺伝子組換え微生物を利用し
9 て製造された添加物の安全性評価基準（平成16年3月25日）」、「遺伝子組換
10 え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方（平成16年5月6日）」、「家畜等
11 への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価
12 指針（平成16年9月30日）」、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基
13 準（平成20年6月26日）」、「添加物に関する食品健康影響評価指針（平成22
14 年5月27日）」（以下「添加物評価指針」という。）（参照1）及び「香料に
15 関する食品健康影響評価指針（平成28年5月17日）」を策定した。

16 食品健康影響評価に関するガイドラインは、食品健康影響評価の科学的妥当性
17 ・公平性の確保のため、また、国内外に評価の透明性を確保しながら、申請者等
18 に対して必要なデータの明確化を図るためにも、必要性が高いものと考えられる。

19 **【以上の段落の記載は他の指針と同様】**

20 これまで添加物として用いられる酵素については添加物評価指針に基づき、安
21 全性評価を行ってきたところであるが、~~また、~~酵素を含む加工助剤¹については、
22 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。また、酵素の場合、特
23 に酵素の基原である基原生物の安全性、アレルギー性、消化管内での分解性等に
24 ついて検討する必要がある。

佐藤専門委員：

この段落では、酵素について、「新たな評価指針の設定が求められている」とい
うことまで記載した方がよいのではないのでしょうか。

事務局より：

研究班の記載を基に追記いたしました。

¹食品の加工の際に使われる食品添加物のうち、次の条件のいずれかに合うものをいい、表示を省略することができる。

- 1) 最終的に食品として包装する前に食品から除去されるもの
- 2) 食品中に通常存在する成分に変えられ、かつ、その成分の量が食品中に通常存在する量を有意に増加させないもの
- 3) 最終食品中に、ごく僅かなレベルでしか存在せず、その食品に影響を及ぼさないもの

佐藤専門委員：

この段落の2行目の「…ところである。また、酵素を含む…」については「また」ではなく、「しかしながら」あるいは、「一方」などの接続語の方がよいのではないのでしょうか。

事務局より：

ご指摘を踏まえ、記載を修正いたしました。

今般、食品安全委員会の食品健康影響評価技術研究として、「栄養成分・加工助剤に関するリスク評価方法の確立に関する研究」（主任研究者：梅村隆志 国立医薬品食品衛生研究所）が実施され、研究成果として、これまでの酵素の食品健康影響評価結果（参照 2、3）、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）²、アメリカ食品医薬品局（FDA）、欧州食品安全機関（EFSA）及びオーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）における、加工助剤に関する国際的評価手法に係る調査報告書（参照 4）を参考に、加工助剤に関するリスク評価指針案が取りまとめられた。（参照 5）

本専門調査会では、梅村班の研究成果を基に、酵素の食品健康影響評価指針を取りまとめたことから、今後の酵素に関する食品健康影響評価については、本指針に基づき行う。【以上の段落は本指針案で新たに記載】

なお、本指針については、国際的な評価基準の動向、国内外の科学的知見等を勘案し、必要があると認めるときは、本指針の規定について検討を行い、その結果に基づいて所要の改訂を行う。【本段落の記載は他の指針と同様】

第2. 目的 **第155回添加物専門調査会で審議済** 【本項は本指針案で新たに記載】

本指針は、添加物（食品衛生法（昭和22年法律第233号）第4条第2項に規定する食品の製造の過程において又は食品の加工若しくは保存の目的で、食品に添加、混和、浸潤その他の方法によって使用する物）のうち酵素について、食品衛生法（~~昭和22年法律第233号~~）第10条により人の健康を損なうおそれのない添加物として定める場合及び同法第11条第1項により規格基準を定める場合並びに食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第3項により食品の安全性の確保に関する施策を策定する場合の食品健康影響評価に必要とされる資料の範囲及び評価の指針を定めることを目的とする。

第3. 酵素の食品健康影響評価に際しての基本的な考え方

1 安全性に係る評価の流れ

評価対象品目の基原、製造方法、成分等から、基原生物の安全性及び酵素の安

² 本文中で用いられた略称については、別紙1に名称等を示す。

1 全性を評価する。なお、混在する不純物等についても必要に応じて検討を行う。

事務局より：

研究班の原案の記載のうち、「ただし、評価対象品目が遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物である場合には、遺伝子組換え食品等専門調査会と連携を図り評価を行う。」については、食品安全委員会の運営に係る内容ですので本案では削除しております。また、「なお、混在する不純物等についても必要に応じて検討を行う。」の一文を追加したほか、記載整備しております。

なお研究班の原文は以下のとおりです。

酵素は微生物から得られるタンパク質であることが多いことから、酵素の基原、製造方法、成分等から、基原生物の安全性及び産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー性を評価する。ただし、評価対象品目が遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物である場合には、遺伝子組換え食品等専門調査会と連携を図り評価を行う。

中江専門委員：

遺伝子組換えである酵素の評価については、本指針だけで網羅できているのでしょうか。もし書かれていない観点があるのでしたら、その旨を少なくとも脚注に記載すべきではないでしょうか。

鎌田専門参考人：

最近、遺伝子操作技術の中で、「ゲノム編集」という用語が浸透しています。微生物だけでなく、動植物を含め、ゲノムを操作し、有用な生物を作り出す技術です。遺伝子操作に詳しい人は、「遺伝子組換え」と「ゲノム編集」を識別して使用する用です。今後の、微生物由来酵素の添加物としての利用を考えた場合、基原生物が、「ゲノム編集生物」となる可能性は高いと予想します。「遺伝子組換え微生物」について記載する場合は、遺伝子工学の専門家に、「遺伝子組換え微生物」の文言だけで、今後対応できるものか、確認する必要があるように考えます。

中江専門委員：

たいへん重要な御指摘だと思います。私のコメントと併せて、審議していただくよう、お願いいたします。

2

3 酵素の安全性の評価にあたっては、まず、当該酵素の第2章 第2 ~~H-2~~「消
4 化管内での分解性に関連する事項」について検討する。検討した結果、~~H-2~~「消
5 化管内での分解性に関連する 事項」の(1)～(5)を満たす場合には、次に
6 毒性の評価を行う。なお毒性に関する知見として、90日間反復投与毒性試験(げ

1 っ菌類)、遺伝毒性試験及びアレルギー性試験を評価する³。検討した結果、**II**
2 **2**「消化管内での分解性に関連する事項」の(1)～(5)を満たさない場合は、
3 当該酵素の安全性の評価については、添加物評価指針に準じて行う。**【本段落は**
4 **本指針案で新たに記載】**

事務局より：

評価の全体の流れがわかりやすくなるよう、場合分けして総則の章に記載いたしました。また、他に安全性に係る知見がある場合について、脚注3に記載いたしました。記載ぶりについてご検討ください。

5 6 2 食品健康影響評価

7 酵素の食品健康影響評価は、基原生物の安全性、**酵素の**消化管内での分解性、
8 **酵素の**毒性に係る知見**(90日間反復投与毒性試験(げっ菌類)、遺伝毒性試験及**
9 **びアレルギー性)**及び一日摂取量の推計から総合的に判断する。

事務局より：

研究班の原案では以下の記載でした。

酵素の健康影響評価は、基原生物の安全性、食品中及び消化管内での分解性、酵素(タンパク質)の毒性およびアレルギー性に係る知見から総合的に判断するのが適当である。

10
11 酵素のうち、第2章 第2 **II 2**「消化管内での分解性に関連する 事項」の
12 (1)～(5)を満たすものに関しては、90日間反復投与毒性試験(げっ菌類)、
13 遺伝毒性試験及びアレルギー性試験を評価し³、NOAELを**算定決定**した後に、
14 摂取量と比較してばく露マージンの評価を行う。

森田専門委員：

「難分解性でないもの」という条件は、研究班の原案での「2. 1 消化管内での分解性の(1)～(5)を満たしたもの」という条件ではないかと考えますので、これも申し添えます。

事務局より：

森田専門委員のご意見を踏まえ記載を変更しております。なお、研究班の原案では以下の記載でした。

酵素のうち、難分解性でないものに関しては、90日間反復投与毒性試験(げっ菌類)、遺伝毒性試験およびアレルギー性試験の知見を評価し、NOAELを算定した後に、摂取量と比較してばく露マージンの評価を行う。

³ 他に安全性に係る知見がある場合は、併せて評価を行う。

事務局より：

以降で引用する添加物指針の記載と表現を統一するため、「NOAEL を算定」を「NOAEL を決定」と変更しました。

1
2 ある試験において NOAEL を決定するにあたっては、適正な用量が設定され
3 ているかを検討する必要がある。具体的には、毒性試験においては、最高用量は
4 毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、
5 かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定すべきである。ただし、
6 混餌投与の場合は、栄養障害が起こらないように配慮し、通常、飼料添加濃度
7 5% (W/W) を超える投与量で実施する必要はない。また、強制投与の場合には、
8 通常、技術的に投与できる最大量又は 1,000 mg/kg 体重で何ら毒性影響が認め
9 られないときは、それ以上の投与量で実施する必要はない。

事務局より：

添加物指針の第1章 第7 2「NOAEL の決定」より、前半部分の記載を引用いた
しました。後半部分の原文は以下のとおりですが、この記載は ADI の設定を前提
としたものかと思いますが、梅村班報告書では酵素はマージン評価を行う案とされ
ておりますので、この記載は引用しませんでした。

なお、異なる動物種で2 つ以上の試験が行われている場合には、各々の試験から NOAEL が
求められる。ADI を算出するための NOAEL は、最も低い用量で毒性影響を示した動物試験
から求められた NOAEL である。しかしながら、ある試験が明らかにその他の試験よりも試験
設計やその結果において妥当なものであり、それらの試験期間が異なっているときには、ADI
を算出するための NOAEL を決定する際には、より長期でより妥当な試験に特別な比重をお
く。また、代謝及び薬物動力的データを利用できるときには、毒性影響に関してヒトに最も
類似した動物種を用いた試験に基づき、ADI を算出するための NOAEL を求めることもでき
る。

中江専門委員：

- [1] 異なる動物種で 2 つ以上の試験が行われている場合に各々の試験から
NOAEL が求められること
- [2] 最終的な評価に用いる NOAEL は原則として最も低い用量で毒性影響を示
した動物試験から求められた NOAEL あること
- [3] ある試験が明らかにその他の試験よりも試験設計やその結果において妥
当なものでありそれらの試験期間が異なっているときには最終的な評価に用いる
NOAEL を決定する際により長期でより妥当な試験に特別な比重をおくこと
- [4] 代謝及び薬物動力的データを利用できるときには毒性影響に関してヒト
に最も類似した動物種を用いた試験に基づいて最終的な評価に用いる NOAEL
を求めること

は、記載しておくべきだと思います。

ただし、酵素の一日摂取量の推計は全量がそのまま最終食品に移行して消費されるとした場合を想定し推計されるものであり、酵素が最終食品内で変性・失活する又は分解・除去されている場合⁴には、過剰な見積もりになることに留意してばく露マージンの評価を行う。また、酵素は反復投与毒性試験で最高用量においても毒性を示さないことが多く、最高用量が NOAEL となる場合が多いことにも留意し、ばく露マージンの評価を行う。

(前回と同じです)

事務局より：

平成 26 年度「添加物のうち、加工助剤（殺菌剤、酵素、抽出溶媒等）及び栄養成分に関するリスク評価手法の開発に関する調査・研究」報告書（平成 27 年 3 月株式会社三菱化学テクノリサーチ）（文献 4 p18～20、表 10）によると、海外のリスク評価機関の評価のうち酵素について、ばく露マージンは 96～約 20,000 の範囲です。

中江専門委員：

「ただし、酵素の一日摂取量の推計は全量がそのまま最終食品に移行して消費されるとした場合を想定し推計されるものであり、酵素が最終食品内で変性・失活する又は分解・除去されている場合には、過剰な見積もりになることに留意してばく露マージンの評価を行う。」の記載について、「留意する」とはどのように留意するのか、議論をするべきではないでしょうか。

3 酵素量の考え方【本項は本指針案で新たに記載】

酵素は濃縮の程度によって重量が変動することから、酵素量を示す際には原則として総有機固形分（TOS）に換算した値を用いることとする。TOS とは酵素全体の量から灰分、水分、賦形剤その他の製剤成分の量を引いたものである。
(参照 6)

事務局より：

過去の評価書を参照し、記載いたしました。ご検討をお願いします。

なお、JECFA (2006)の General Specifications and Considerations for Enzyme Preparations used in Food Processing では以下のように記載されています。

In order to distinguish the proportion of the enzyme preparation derived from the source material from that contributed by diluents and other additives and ingredients, individual specifications may require a statement of percentage

⁴食品の製造工程等で変性・失活する又は分解・除去されている場合も含む。

Total Organic Solids (T.O.S.) which is defined as follows:

$$\% \text{ T.O.S.} = 100 - (A + W + D)$$

(※原文では「-」が抜けていたので、事務局で追記しました。)

Where

A = % ash, W = % water and D = % diluents and/or other additives and ingredients.

4 その他

(1) 妊婦、胎児、乳幼児、小児、高齢者等における検討は、リスクを考え得る知見がある場合に必要に応じて行う。

(2) 医薬品の開発等他の分野において実施され、酵素でも実施が推奨されるような *in vitro* 試験等（例えば、動物を用いた試験において代謝物による有害作用が懸念される場合、ヒトの代謝酵素を用いた *in vitro* 試験等により、ヒトへの外挿を検討する等）は、必要に応じて検討することが望ましい。

(3) 評価の対象となる酵素に医薬品との相互作用が考えられる場合、そのような事象が起こり得る者は基本的には医療従事者の監視下にあると考えられることから、医薬品との相互作用に関する事項の検討は、リスクを考え得る知見がある場合に必要に応じて行う。

(4) 酵素を複数摂取した場合の有害な影響については、食品安全委員会の平成 18 年度食品安全確保総合調査「食品添加物の複合影響に関する情報収集調査」報告書に基づき、個々の酵素の評価を十分に行うことで、酵素の複合摂取による影響についても実質的な安全性を十分確保することが可能と考えられる。ただし、酵素を複数摂取した場合のリスクに関する知見がある場合は、必要に応じて評価を行う。

(5) 遺伝子改変動物を用いた試験は、現在、食品安全委員会において一部リスク評価に用いられている事例はあるが、JECFA 等でもほとんど利用されておらず、慎重な取扱いが必要である。

事務局より：

前回のご審議を踏まえ、添加物指針での第4 「添加物の食品健康影響評価に際しての考え方」のうち、酵素の指針にも関連すると思われる6、7、8、10、11を、「添加物」を「酵素」と読み替えて記載いたしました。

なお、添加物指針での第4 「添加物の食品健康影響評価に際しての考え方」での記載は以下の参考のとおりです。

松井専門委員：

(2) について、「*in vitro*」は専門分野により意味が異なります。生理学では、組織・細胞培養試験や無細胞系試験となりますが、分子生物学では、無細胞系試験のみを示すと思います。「ヒトの代謝酵素」を用いた試験は、どちらの分野でも「*in*

vitro」です。「ヒト培養細胞を用いた *in vitro* 試験」でも問題がないならば、それを例としてあげられることにより明瞭になると思います。

中江専門委員：

(3) について、「そのような事象が起り得る者は基本的には医療従事者の監視下にあると考えられる」というのは、あまりに楽観的な「予想」であると思います。実際には単なる「希望」に過ぎない、こんなおぼろげなものを根拠にしているものでしょうか？

中江専門委員：

(5) のような対応を取りつつ、(2) のような対応を取ることは、ダブルスタンダードじゃないでしょうか？

(参考)

第4 添加物の食品健康影響評価に際しての考え方 (添加物指針より抜粋)

- 1 安全係数については、今後、食品安全委員会として考え方を整理した上で、添加物の食品健康影響評価に応用する。なお、現時点における安全係数の取扱いについては、専門調査会の評価に委ねる。
- 2 JECFA の安全性評価が終了し、欧米諸国で長期間使用が認められているいわゆる国際汎用添加物 (国際汎用香料を除く。) については、最新の科学的知見も調査した上で、原則として JECFA 及び欧米諸国で行われた評価書に基づく評価 (評価書評価) を行う。
- 3 遺伝毒性発がん物質については、閾値の存在に関して、国際的な議論が行われているが、なお合意に達していないことから、当面、原則として閾値が存在しないとの考えに基づき評価を行う。なお、遺伝毒性発がん物質か否かの判断においては、MOA 及び WOE を考慮し、慎重に検討する必要がある。
- 4 遺伝毒性発がん物質との評価のなされた添加物については、前項により、当面、原則として承認すべきではない。一方、添加物の製造等においてやむを得ず含有される不純物 (天然に存在するものを含む。以下同じ。) 又は副生成物が遺伝毒性発がん物質である場合には、その含有量を技術的に可能な限り低減化させるべきであるが、VSD 等の考え方に基づき総合的に評価を行う。
- 5 食品の通常成分の代替物質として用いようとする物質又は栄養強化の目的や栄養機能食品として用いる物質については、栄養学的観点から、栄養成分としての質及び他の食品由来の当該栄養成分摂取量を考慮し、「食事摂取基準」等を参照して、評価を行う。
- 6 妊婦・胎児、乳幼児、小児、高齢者等における検討は、リスクを考え得る知見がある場合に必要に応じて行う。
- 7 医薬品の開発等他の分野において実施され、添加物でも実施が推奨されるような *in vitro* 試験等 (例えば、動物を用いた試験において代謝物による有害作用が懸念される場合、ヒトの代謝酵素を用いた *in vitro* 試験等により、ヒトへの外挿を検討する等) は、必要に応じて検討することが望ましい。
- 8 評価の対象となる添加物に医薬品との相互作用が考えられる場合、そのような事象が起り得る者は基本的には医療従事者の監視下にあると考えられることから、医薬品との相互作用に関す

る事項の検討は、リスクを考え得る知見がある場合に必要に応じて行う。

9 添加物の分解物、混在する不純物及びヒトで特徴的に生じる代謝物についても、評価の必要性の有無について検討を行う。添加物の安定性及び食品中における安定性についても確認し、安定でない場合には、主な分解物の種類及び生成程度について検討を行う。

10 添加物を複数摂取した場合の有害な影響については、食品安全委員会の平成18年度食品安全確保総合調査「食品添加物の複合影響に関する情報収集調査」報告書に基づき、個々の添加物の評価を十分に行うことで、添加物の複合摂取による影響についても実質的な安全性を十分確保することが可能と考えられる。ただし、添加物を複数摂取した場合のリスクに関する知見がある場合は、必要に応じて評価を行う。

11 遺伝子改変動物を用いた試験は、現在、食品安全委員会において一部リスク評価に用いられている事例はあるが、JECFA等でもほとんど利用されておらず、慎重な取扱いが必要である。

12 ナノマテリアル等の新技術に基づく添加物について、JECFAでは、毒性学的特性が異なる可能性があり、一般にこれまでの規格やADIを適用できるものではないと考えられており、評価の必要が生じた際には、適宜検討することとする。

第4. 評価に必要な資料等の考え方

1 1 評価に必要とされる資料については、以下に示すとおりとする。各項目の内容や留意事項については第2章「各論」で示す。具体的な試験の実施方法については、原則として、国際的に認められた経済協力開発機構（OECD）等のテストガイドラインに準拠するものとする。

2 (1) 評価対象品目の概要

3 (2) 安全性に係る知見（第1章 第3 1「安全性に係る評価の流れ」も参照する。）

4 (3) 一日摂取量の推計

5 2 使用基準又は成分規格の改正に当たっての留意事項については、以下のとおりとする。

6 (1) 使用基準の改正に当たっては、以下の点に留意する。

7 ① 当該酵素が食品安全委員会による食品健康影響評価が終了している酵素である場合には、要請した使用対象食品の追加、使用量の変更等に基づく一日摂取量の推定に関する資料を提出し、その場合であって毒性学的に新たな知見があるときには、当該知見に係る資料も併せて提出する。

8 ② 当該酵素が食品安全委員会による食品健康影響評価のなされていない酵素である場合には、原則として、添加物の指定のための評価に必要なとされる資料を提出する。

9 (2) 成分規格の改正に当たっては、改正される成分規格の妥当性及び安全性上の問題を生じないことを示す必要がある。

10 3 評価に必要な資料は要請者の責任において提出されるものであり、当該資料の内容の信頼性も要請者によって確保されなければならない。なお、要請者は、

1 評価に必要な資料として、原則として、適正に運営管理されていると認められ
2 る試験施設（GLP 対応施設）等において信頼性が保証された試験方法によって
3 実施された試験結果、国際機関における評価書等の科学的に信頼できる文献等
4 を提出するものとする。ただし、酵素の安全性に懸念があるとする資料につい
5 ては、検討に必要な場合があるので、当該資料の信頼性等にかかわらず提出す
6 るものとする。

7
8 4 剖検及び病理組織学的評価は、十分な経験を有する者による実施を推奨する。

9
10 5 動物試験の生データ及び標本は、GLP に規定された期間又は評価が終了する
11 までの間保管し、必要に応じ提出できるようにする。

12
13 6 評価に当たっては、原則として、要請者から提出された資料を使用すること
14 とし、評価に必要な資料について不足があると判断された場合、要請者に追加
15 資料を要求する。

事務局より：

前回のご審議を踏まえ、添加物指針での第5 「評価に必要な資料等の考え方」を
124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 1000

124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 1000

松井専門委員：

3の「国際機関における評価書等の科学的に信頼できる文献等を提出するものとする。」の「国際機関における評価書等の」は不要ではないでしょうか。「国際機関における評価書」は、「評価対象品目の概要」の「国際機関等における評価」で示すものだと思います。なお、「国際機関における評価書」で参照論文の引用、数値が間違っていることもあり得ます。「国際機関における評価書」で参照されている論文を根拠とする場合でも、当該論文自体を確認する必要があると思います。

中江専門委員：

松井専門委員のご指摘の通りだと思います。

中江専門委員：

3に関して、以前から気になっていたことですが、どうもGLPに関する誤解があるようです。GLPは、施設そのものやそこでの諸手続・手段・取扱などを標準化するものであって、得られた結果や、そこから導き出される考察・結論の正しさや信頼性を保障するものじゃありません。すなわち、GLP対応施設で得られた結果や

考察・結論の信頼性が高く、非対応施設で得られたそれらの信頼性が低いわけではないし、言葉を換えれば、対応施設で得られた結果や考察・結論の正しさや信頼性が非対応施設で得られたものより優れているわけではありません。今更で恐縮ですが、今からでもいいので、GLP の意味を誤解した対応は、改めるべきだと思います。

(参考)

第5 評価に必要な資料等の考え方 (添加物指針より抜粋)

- 1 評価に必要とされる資料の範囲や留意事項については、第2章各論及び別表1及び2に示すほか、以下のとおりとする。具体的な試験の実施方法については、原則として、国際的に認められた経済協力開発機構 (OECD) 等のテストガイドラインに準拠するものとする。
 - (1) 当該添加物が食品常在成分であること又は食品内若しくは消化管内で分解して食品常在成分となることが科学的に明らかな場合には、試験の一部について省略することができる。科学的に明らかか否かは、平成8年厚生省ガイドラインの表2の事項について検討の上判断する。
 - (2) 当該添加物が国際汎用添加物である場合にはヒトでの長い食経験を考慮して(第1章 第4の2を参照)、国際汎用香料、酵素又は栄養成分である場合にはその物質の特性を考慮して(第2章 第5、第6及び第7を参照)、評価を行う。
 - (3) 当該添加物が既に指定されている添加物と塩基部分においてのみ異なる場合、その異性体である場合その他科学的に合理的な理由がある場合には、当該理由を明示した上で、試験の一部について省略することができる。
- 2 使用基準又は成分規格の改正に当たっての留意事項については、以下のとおりとする。
 - (1) 使用基準の改正に当たっては、以下の点に留意する。
 - ① 当該添加物が食品安全委員会による食品健康影響評価が終了している添加物である場合には、要請した使用対象食品の追加、使用量の変更等に基づく一日摂取量の推定に関する資料を提出し、その場合であって毒性学的に新たな知見があるときには、当該知見に係る資料も併せて提出する。
 - ② 当該添加物が食品安全委員会による食品健康影響評価のなされていない添加物である場合には、原則として、添加物の指定のための評価に必要とされる資料を提出する。
 - (2) 成分規格の改正に当たっては、改正される成分規格の妥当性及び安全性上の問題を生じないことを示す必要がある。
- 3 評価に必要な資料は要請者の責任において提出されるものであり、当該資料の内容の信頼性も要請者によって確保されなければならない。なお、要請者は、評価に必要な資料として、原則として、適正に運営管理されていると認められる試験施設 (GLP 対応施設) 等において信頼性が保証された試験方法によって実施された試験結果、国際機関における評価書等の科学的に信頼できる文献等を提出するものとする。ただし、添加物の安全性に懸念があるとする資料については、検討に必要な場合があるので、当該資料の信頼性等にかかわらず提出するものとする。
- 4 剖検及び病理組織学的評価は、十分な経験を有する者による実施を推奨する。
- 5 動物試験の生データ及び標本は、GLP に規定された期間又は評価が終了するまでの間保管し、必要

に応じ提出できるようにする。

6 評価に当たっては、原則として、要請者から提出された資料を使用することとし、評価に必要な資料について不足があると判断された場合、要請者に追加資料を要求する。

第5. 再評価

許可された酵素であっても、有害な影響の可能性について継続的に監視すべきであり、科学技術の進歩等によって有害な影響が指摘された場合は、その酵素を再評価すべきである。

過去に評価された酵素について、安全性を疑われる重要なデータが新たに得られた場合には、当該酵素について迅速な再評価を行うべきである。

事務局より：

前回のご審議を踏まえ、添加物指針での第8 「再評価」を基に記載いたしました。

なお、添加物指針での第8 「再評価」での記載は以下のとおりです。

第8 再評価

許可された添加物であっても、有害な影響の可能性について継続的に監視すべきであり、毒性学の進歩等によって有害な影響が指摘された場合は、その添加物を再評価すべきである。

過去に評価された添加物について、安全性を疑われる重要なデータが新たに得られた場合には、当該添加物について迅速な再評価を行うべきである。

第2章 各論

第1. 評価対象品目の概要【本項は本指針案で新たに記載】

評価に必要とされる資料については、以下に示すとおりとする。~~各項目の内容については添加物評価指針に従う。~~

- 1 名称及び用途
- 2 起源又は発見の経緯
- 3 諸外国における使用状況
- 4 国際機関等における評価
- 5 物理化学的性質

~~名称等（和名、英名、EC（Enzyme Commission）番号、CAS登録番号）、基原、製造方法、成分（質量、等電点、アミノ酸配列を含む）、性状、使用方法、安定性、成分規格案等~~

~~化学名（和名、英名、CAS番号）、分子式、分子量、構造式、製造方法、性状、安定性、成分規格案等~~

事務局より：

物理化学的性質として列挙した項目は、添加物評価指針に準じております。酵素では不要な項目又は追加する項目はありますでしょうか。

なお過去に評価をいただいた、添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用

いて生産されたアスパラギナーゼ」(2014)及び添加物評価書「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」(2015)では EC 番号、基原、成分(アミノ酸配列を含む)、使用方法について記載がありますが、分子式、構造式の記載はありません。

久保田専門委員：

事務局より提示されました酵素に関する先の添加物評価書に倣い、かつ酵素の専門家
の意見を聞いていただき必要事項を決めていただくのが良いと思います。

佐藤専門委員：

分子式、構造式は不要と思います。

アスパラギナーゼ *A.oryzae* 由来の項目に合わせて、以下のようにしても良いのでは
ないでしょうか。

5 物理化学的性質

名称等(和名、英名、EC (Enzyme Commission) 番号、CAS 登録番号)、基原、製造方法、成分(質量、等電点、アミノ酸配列を含む)、性状等、使用方法、安定性、成分規格案等

事務局より：

前回のご議論を踏まえ、「5 物理化学的性質」の記載を変更いたしました。また、
添加物指針から独立した指針としたことを受け、柱書の2文目を削除いたしました。

6 使用基準案

(1) 酵素の安全性及び有効性を総合的に検討し、使用対象食品、使用量等を
限定するため、使用基準を設定する必要があると判断した場合には、当該
使用基準を設定する根拠を明らかにしなければならない。

(2) 使用基準を設定する必要があると判断した場合には、その根拠を明らか
にしなければならない。

7 その他(食品健康影響評価に有用な情報)

第2. 安全性に係る知見

2-1 基原生物の安全性

~~酵素の基原である~~基原生物(動物、植物、細菌微生物等)の安全性について以
下の事項を基に判断する。

事務局より：

前回のご議論を踏まえ、「基原生物(動物、植物、微生物等)」と記載を変更した
ほか、記載整備しております。

1
2 (1) 病原性及び~~毒素有害生理活性物質の~~産生性に関する事項を検討する。

3 ①病原性

4 ~~病原性であることの確認は、~~原則として、添加物製造への利用経験又は
5 食品としての食経験等の必要な事項を確認するした上で、病原性がないと
6 判断できること。

7 ②有害生理活性物質の産生性

8 当該酵素の生産に用いる種について、食経験、文献等の十分な知見の下
9 で、有害生理活性物質を産生することが知られていないこと。有害生理活
10 性物質を産生することが否定できない場合は、生産株、酵素原体又は酵素
11 製剤において、当該有害生理活性物質が試験で検出されないこと。

12 ~~非毒素産生種であることの確認は、マイコトキシン産生種等の毒素産生~~
13 ~~種であるか否かを確認する。毒素産生種のもは、生産株において毒素産~~
14 ~~生がないことを試験で確認する、又は、酵素原体・製剤の最終産物におい~~
15 ~~て試験で毒素が検出されないことを確認する。~~

事務局より：

前回のご議論を踏まえ、記載を変更いたしました。なお、わかりやすくするため、「①病原性」と「②有害生理活性物質の産生性」とに分けた記載としております。この記載でよろしいでしょうか。また、以下の1～4の点についてご検討ください。

1：②「有害生理活性物質の産生性」について、例えば、新しい菌種であって知見が十分そろっておらず、有害生理活性物質を産生することが知られていない場合でも、試験が必要になるかと思いましたので、「食経験、文献等の十分な知見の下で、有害生理活性物質を産生することが知られていないこと。」といたしました。この記載でよろしいでしょうか。

2：「②有害生理活性物質の産生性」については、有害生理活性物質を産生することが知られている場合に、その知られている物質の産生がないことを試験で確認する、との意味合いで「当該有害生理活性物質の産生が試験で検出されないこと」といたしました。試験で確認する物質の範囲について、この記載でよろしいでしょうか。

3：後述の(2)、(4)では「～が明らかであること」との表現を用いておりますが、ここでも例えば、「病原性について明らかであること」のように記載した方がよいでしょうか。

4：「有害生理活性物質等」の「等」の記載が必要かについて、引き続きご検討ください。

石井専門委員：

「有害生理活性物質」の言葉には違和感があります。単に「有害物質」としては
いかがでしょうか。

事務局より：

なお、これまで、非毒素産生種であることの確認については以下の報告を基に評
価いただいております。

(1) 添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラ
ギナーゼ」(2014)

- ・マイコトキシン及びフモニシン (B₁、B₂、B₄、B₆) についての指定等要請者
の実施した試験
- ・トリコテセン類及びコウジ酸についての文献

(2) 添加物評価書「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアス
パギナーゼ」(2015)

- ・アフラトキシン (B₁、B₂、G₁、G₂)、β-ニトロプロピオン酸及びコウジ酸に
ついての指定等要請者の実施した試験
- ・アフラトキシン類及びシクロピアゾン酸 (CPA) についての文献

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14

(2) 寄生性及び定着性に関する事項

基原生物が、ヒトや他の生物に寄生又は定着するか否かが明らかであり、
寄生又は定着する場合、ヒトや他の生物に悪い影響を与えるか否かが明らか
であること。

(3) 病原性の外来因子(ウイルス等)に汚染されていないことに関する事項

基原生物が病原性の外来因子(ウイルス等)に汚染されていないこと。

(4) 基原生物の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産性に関する事
項

基原生物の近縁株において、病原性がある場合や有害生理活性物質を産生
するものがある場合、酵素の製造に用いた当該生物において、同様の病原性
や有害生理活性物質の産生等の有無について明らかであること。なお、有害
生理活性物質の産生が認められる場合には、当該生物を用いた製造に安全性
上の問題がないと判断できる合理的な理由があること。

中島専門参考人、山川専門参考人

「遺伝子組換え食品(微生物)の安全性評価基準」で言及されている以下の事項
については、こちらの指針でも言及しておいた方がよいと思います。

4 寄生性及び定着性に関する事項

- 宿主が、ヒトや他の生物に寄生又は定着するか否かが明らかであり、寄生・定着する場合、ヒトや他の生物に悪い影響を与えるか否かが明らかであること。
- 5 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項
当該組換え体の開発に用いた宿主が病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないこと。
- 6 宿主の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産に関する事項
宿主の近縁株において、病原性がある場合や有害生理活性物質を産生するものがある場合、遺伝子組換え食品（微生物）の製造に用いた当該微生物においては、同様の病原性や有害生理活性物質の産生等の有無について明らかであること。なお、有害生理活性物質等の産生が認められる場合には、当該微生物を用いた製造に安全性上の問題がないと判断できる合理的な理由があること。

事務局より：

前回のご議論を踏まえ、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」を基に（2）～（4）を追記しております。追記に当たっては「宿主」を「基原生物」と読み替えました。

また、（4）の「有害生理活性物質の産生等」の「等」の記載が必要かについても、引き続きご検討ください。

1

事務局より：

（1）、（4）における「株」という表現は微生物を想定していると思われます。本項目では動物、植物も対象ですが、より適切な表現はありますでしょうか。

2

3

Ⅱ-2 酵素の消化管内での分解性に関連する事項

4

酵素の消化管内での分解性に関連する事項として、以下の項目を検討する。

中江専門委員：

「基原生物の安全性」と書き振りを揃えて、「酵素の消化管内での分解性に関連する事項について以下の事項を基に判断する。」とすべきではないでしょうか。

5

6

7

8

9

- （1）~~難分解性ではないこと~~消化管内で容易に分解されること。酵素の分解性は、原則として、Ⅳ-4「酵素の消化管内での分解性及びアレルギー性の評価に係る試験」を用いて、アレルギー性の懸念がなくなる質量まで分解されることを確認する。

事務局より：

前回のご議論を踏まえ、「難分解性でないこと」を「消化管内で容易に分解されること」と変更しました。この記載でよいかご検討ください。また、2文目の記載については前回のご議論の結果、3（3）「アレルギー性」でどのような記載にするかを踏まえて検討することとなりました。

中江専門委員：

前回の調査会で申し上げた通り、「比較的容易」としてはいかがでしょうか。

1

(前回と同じです)

事務局より：

「添加物に関する食品健康影響評価指針（2010）」で参照することとされている、平成8年厚生省ガイドライン表2では、「1. 食品添加物の通常の使用条件下で、当該物質が容易に食品内又は消化管内で分解して食品常在成分と同一物質になること。」と記載されており、本指針案で記載ぶりの変更されておりますのでご検討ください。

なお、3 (3) アレルゲン性③も併せて、ご検討ください。

伊藤専門委員：

JECFA と異なる表現とする理由がよくわかりません。

石井専門委員：

不勉強のため「難分解性」という用語の定義と使用状況等を十分に承知していないのですが、不自然な言い回しでなければ結構かと思えます。ただ、個人的には、今回の「難分解性ではないこと」よりも、従来の言い回しを踏まえて「食品内又は消化管内で容易に分解されること」とする方が、分かりやすいような気がいたします。

森田専門委員：

研究班でもいろいろ議論があったところではありますが、酵素の消化管での分解性の部分で、JECFA の food constituent という表現を全くなくして難分解性でないものと置き換えるのは、やはり大きな変更点であり、添加物専門委員会で十分ご議論いただきたいと考えております。

難分解性ではないという部分は主にアレルゲン性の懸念からの安全性について述べられていますが、食品常在成分というのは、食経験の有無を含み、アレルゲン性だけに焦点をあてた観点ではない、と考えます。

以前から、食品常在成分については定義が明確でなく、パブコメなどでも、いろいろと意見がでておりますので、このあいまいな部分を省き、科学的に検討できる基準にしようという方向性には賛同いたします。

多少あいまいな部分は残りますが、「添加物の通常の使用条件下で、当該添加物又はその分解物が、消化管内で既知の食品成分と同一物質になること」といった表現を残しておく、という方法もあると思います。

平成26年の調査研究では、「新たに評価される食品酵素はほとんど遺伝子組換えのものであり」「その多くが新規物質、あるいは新たな生産法が使用される」と述べられておることからも、分解物が「難分解性でない」＝「食品成分である」という図式が成り立つのかどうか、

ご検討いただければ幸いに存じます。

事務局より：

「難分解性ではないこと。」の記載について、例えば、十分長い時間をかければ分解される場合も、「難分解性ではないこと。」に該当すると解釈される可能性があります。また、JECFAの対応する記載では“Evidence that the substance is readily broken down …”となっております。このため、より誤解を招かないために「易分解性であること」と記載するのも一案ですが、いかがでしょうか。

松井専門委員：

JECFAの Technical reports series 373 では、「Broken down to substance that are common dietary or body constituents」といった表現もされていますので、これを訳すならば、「食品または生体の常在成分」といった表現になるでしょう。

これらは一般的な添加物に関する記述だと思います。

一方、酵素の場合、分解（消化）の結果として生じる「食品中または生体の常在成分」や「食品常在成分と同一物質」が何を意味するかは曖昧だと思います。

「易分解性であること」も曖昧かもしれませんが、「アレルギー性の懸念がなくなる質量まで分解される」ならば明瞭です。さらに、「アレルギー性の懸念がなくなる質量まで分解される」をどのように判断するかを規定したほうが良いかもしれません。

下記の『添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2014）』では、人工消化による速やかな（0.5分未満）「3,500 Da以下の低分子」への分解で判断しています。また、「アレルギーは30アミノ酸残基でなければならず、分子量換算でおおよそ3 kDaの分子量を持つ（Huby, 2000）」ことが脚注に示されています。おおよその消化時間や「アレルギー性の懸念がなくなる質量」まで分解したと判断できる質量の閾値を規定しておけば、さらに理解しやすいでしょう。なお、下記の「4 酵素の消化管内での分解性及びアレルギー性に係る試験」では「ウエスタンブロット法及びELISA法」の記述がありますので、この点に関して同様です。これら判断基準は（基準を示すなら）、「4 酵素の消化管内での分解性及びアレルギー性に係る試験」で示すことになると思います。

伊藤専門委員：

「難分解性ではない」につきましては、ご提案のように「易分解性である」という表現の方がわかりやすいように思います。

手島専門参考人

消化液による消化されやすさは、易消化性と記されることもあります。

なお、消化性試験では、人工胃液(SGF)による分解のされやすさで、基質となるタンパク質の消化されやすさを表すことが多いのですが、例えば、

レベル 1:SGF で 2 分以内に分解される分解の非常にはやいもの

レベル 2:完全長のタンパク質の分解は早いですが断片も伴うもの
レベル 3:完全長が中間程度(2~30分)の時間で分解されるもの
レベル 4:完全長が中間程度で分解され、しかも断片を伴うもの
レベル 5:30分以上でも分解されないもの

に分類することができます (Thomas K. et al., Regul.Tox.Pharmacol. 39,87 (2004), Takagi K. et al, Bio.Pharmacol.Bull., 136,23 (2003))。1 は明らかに易分解性ですが、2~3 も分解の早い方に属すると思われます。

- 1
2 (2) 消化管内での分解に関わる主要な因子 (pH、酵素等) が明らかであるこ
3 と。
4 (3) 酵素の通常の使用条件下で適正な量を使用した場合、当該酵素又はその
5 分解物の体内への吸収が食品成分と同程度であり、他の栄養成分の吸収
6 を阻害しないこと。
7 (4) 摂取された酵素の未加水分解物又は部分加水分解物が大量に糞便中に
8 排泄されないこと。さらに、未加水分解物又は部分加水分解物が生体組織
9 中に蓄積しないこと。
10 (5) 酵素を使用した食品を摂取したとき、当該酵素及びその分解物が当該食
11 品の主要な成分の過剰摂取の問題を起こさないこと。

佐藤専門委員：

(5) の「当該食品の主要な成分の」の記載も「当該酵素の主要な成分の」とするべきではないでしょうか。

伊藤専門委員：

(5) も英文に近い形にすることは検討されないのでしょうか。

中江専門委員：

前回の調査会で申し上げたように、酵素もしくはその分解物が何かの栄養素の摂取を抑制することも考えないといけません。「当該食品にかかわる栄養バランスを変えないこと」ではないでしょうか。

事務局より：

(5) をどのような記載とすべきか、引き続きご検討ください。なお、本項目の(5) は、JECFA Technical reports series 373 における以下に対応するものと考えられます。

(e) Evidence that the most important food components in the additive are metabolized and utilized as effectively when administered in composite form as the food additive as when given separately, and that overloading does not occur.

事務局より：

これまで、項目（5）については以下のとおり評価いただいております。

- ・添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2014）：

「⑤ 添加物を使用した食品を摂取したとき、当該食品の主成分の過剰摂取の問題が起きないこと。」

本品目の最大一日摂取量は、上述のとおり0.549 mgTOS/kg体重/日と推定され、これは日本人のたん白質の平均一日摂取量67.8 gの約0.04%に過ぎず、本品目の主成分の過剰摂取の問題が起これることはないと考えられる。

以上より、本委員会としては、本品目について、⑤の事項が満たされると考えた。」

- ・添加物評価書「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2015）：

「⑤ 添加物を使用した食品を摂取したとき、当該食品の主成分の過剰摂取の問題が起きないこと。」

指定等要請者によれば、上述のとおり、本品目のタンパク質としての一日摂取量は最大で 4.97 mg/人/日と推定され、日本人のタンパク質の平均一日摂取量 68.0 g の約 0.007%に過ぎず、本品目の主成分の過剰摂取の問題がおこることはないとされている。」

2

Ⅲ-3 酵素の毒性

~~1~~ (1) 90 日間反復投与毒性試験（げっ歯類）【本項は本指針案で新たに記載】

添加物評価指針の第2章 第2 2（1）「亜急性毒性試験及び慢性毒性試験」の留意事項に準じる。

8

~~2~~ (2) 遺伝毒性試験【本項は本指針案で新たに記載】

添加物評価指針の第2章 第2 2（6）「遺伝毒性試験」の留意事項に準じる。

12

~~3~~ (3) アレルゲン性⁵

「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準（2008年6月 食品安全委員会決定）」を参考に、次の~~(1)~~①から~~(4)~~④までの事項から総合的に判断し、安全性を確認する。なお~~(1)~~①から~~(4)~~④までの事項で判断できない場合には、~~(5)~~⑤の事項を含め、総合的に判断して安全性が確認されることが必要である。また合理的な理由がある場合には、一部を省略することが

18

⁵ ~~アレルギー誘発性ともいう。~~

1 できる。

事務局より：

研究班の原案では、本項では「酵素（タンパク質）」との記載でしたが、ほかの箇所と表記を統一するため「酵素」に統一しております。

また、研究班の原案では「アレルギー誘発性」と「アレルゲン性」の両方の表現がありましたが、「アレルゲン性」に統一しました。

手島専門参考人：

アレルゲン性は、物質のもつアレルギー誘発性とアレルギー感作性の両方を含めた意味に使われることが多いので、より広い意味を持たせる意図もあり、アレルゲン性に統一することで、問題ないと思います。

事務局より：

添加物評価指針に倣い脚注5を付しておりましたが、手島専門参考人のご意見を踏まえ、同脚注を削除いたしました。

2

中江専門委員：

「アレルゲン性」については、①、②では「～が明らかにされていること。」、③、④では「～に関する事項」、⑤では「～の検討」となっています。書き振りの統一性が損なわれていないでしょうか。

3

4 ~~(1)~~①基原生物のアレルゲン性（グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同
5 じ。）に関する知見が明らかにされていること。

事務局より：

第154回調査会における穂山専門参考人のご意見をふまえ、①を追加しております。なお「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」の対応する箇所から「挿入遺伝子の供与体」を「基原生物」と読み替えております。

6

事務局より：

「（グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同じ。）」の補足について、必要かご検討ください。

手島専門参考人：

日本人ではグルテン過敏症、いわゆるセリアック病のヒトは少ないですが、補足はあった方がよいと思います。

7

8 ~~(2)~~②酵素についてそのアレルゲン性に関する知見が明らかにされている
9 こと。

1
2 ~~(3)~~③酵素の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

3 酵素が消化管内で~~アレルギー性アレルギー誘発性~~の懸念がなくなるまで
4 分解されることが明らかにされること。原則として、IV 4の「酵素の消化管
5 内での分解性及びアレルギー性に係る試験」を用いて~~アレルギー性アレルギー~~
6 ~~誘発性~~の懸念がなくなる質量以下まで分解を確認すること⁶（参照 7）。

事務局より：

研究班に作成いただいた原案では「アレルギー性の懸念がなくなる最低質量まで分解を確認する。」との記載でしたが、ここで意図しているのは「アレルギー性の懸念がない範囲での最大の質量」と判断し、誤解を招かないよう原案の「最低」を削除しておりますが、よろしいでしょうか。

松井専門委員：

事務局のご提案で問題ないと思います。

手島専門参考人：

“質量” → “質量以下” までとした方がよいと思います。

事務局より：

ご指摘を踏まえ、記載を修正いたしました。

7
穂山専門参考人：

ここで述べている分解性からは、アレルギーの惹起性についてしかわかりません。「アレルギー性の懸念がなくなる」と書いてしまうと、アレルギーの惹起性、感作性が共になくなると解釈されてしまうので、正確な表現ではないと思います。

事務局より：

ご指摘を踏まえ、記載を修正いたしました。

8
事務局より：

本項目は「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」と比較し、本指針案で記載を拡充されたものです。本指針案の脚注 6、次の項目の 4 と併せてご検討ください。

事務局より：

⁶ Huby (2000) によれば、アレルギーは最低 2 つの IgE 結合部位をもち、1 つの部位は最低でも 15 アミノ酸残基であるため、アレルギーは 30 アミノ酸残基でなければならず、~~分子量換算で~~ おおよそ 3 kDa ~~の分子量を持つ~~ とされる。

研究班の原案では、本段落の最後に「また、分解物の生理活性ペプチドとの類似性についても検討すること」の一文が記載されておりましたが、アレルギー性に関する事項ではないので記載を削除しております。なお、当該記述は「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」には記載されていないものです。

松井専門委員：

「分解物の生理活性ペプチドとの類似性」を検討するためには、どのような分解物が生じるかを明らかにする必要がある、現状では困難だと考えます。

1

事務局より：

脚注6につきまして、より正確な表現に修正いたしました。

2

~~(4)~~④酵素と既知のアレルゲン（グルテン過敏性腸疾患に関するタンパク質を含む。以下アレルゲン等）との構造相同性に関する事項

酵素について、既知のアレルゲン等と一次構造を比較し、既知のアレルゲン等と構造相同性を有しないこと。既知のアレルゲン等と一次構造の比較は、原則として *in silico* で8アミノ酸配列の連続一致検索⁷及び80残基中35%以上のホモロジー解析を行う（参照8）。抗原決定基（エピトープ）を示す可能性のある配列を明らかにするためには、アミノ酸配列に関する相同性検索などを実施する必要がある。その際、用いたアレルゲンデータベースの名称、検索条件、検索方法及び検索結果を明らかにすること。

11

事務局より：

「既知のアレルゲン等と一次構造の比較は、原則として *in silico* で8アミノ酸配列の連続一致検索及び80残基中35%以上のホモロジー解析を行う。」の一文は「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」には記載されておらず、研究班で追記されたものですので、記載ぶりをご検討ください。

手島専門参考人：

この部分は、Codexの2003のガイドラインで、脚注に記されていて、case by caseでの運用となっています。また最近の論文(Mirsky HP, Regul.Toxicol.Pharmacol. 67, 232, 2013等)で、8残基アミノ酸配列一致の検索で、擬陽性の多く、アレルギー物質を検索するのは、E-scoreと80残基中35%以上のホモロジー解析を組み合わせた方がよいというような報告もなされています。従いまして、本文中には、“8アミノ酸配列の連続一致検索”という部分は記さないか、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」のように具体的な解析方法に関しては記さない方がよいと思われます。

⁷ JECFAのTechnical reports series 995において、8アミノ酸配列の連続一致検索が推奨されている。

1
2 ~~(5)~~⑤酵素の IgE 結合能の検討

3 ~~(1)~~①から~~(4)~~④までの事項等により、ヒトの健康を損なう恐れがな
4 いと判断できない時は、酵素の IgE 結合能を検討すること。

5 使用するアレルギー患者血清の選択は、下記の④a から④d のいずれかで
6 行う。

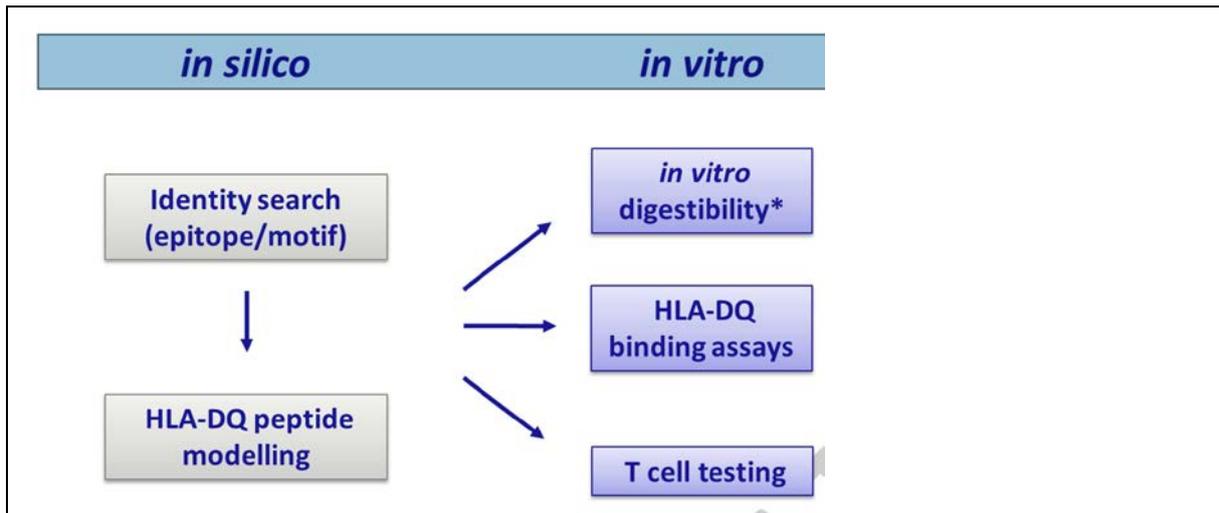
中江専門委員：

ここではなぜ IgE だけに言及しているのでしょうか。この文章から、IgE 以外に関する検討が不要であると解釈してよいのでしょうか？

柘植専門参考人：

IgE 非依存性の食物アレルギーとして、①食物抗原特異的 IgG 抗体によるとされる様々な症状、②T 細胞依存性と考えられる、新生児・乳児消化管アレルギーおよび好酸球性消化管疾患、③セリアック病（グルテン過敏性腸疾患）、があります。それぞれについて、詳細は以下の通りです。

- ① 食物抗原特異的 IgG 抗体によるとされる様々な症状；コマーシャルベースで提供される特異的 IgG 抗体検査と様々な症状が結び付けられ、マスコミに取り上げられなどするが、日本小児アレルギー学会は、「食物アレルギーの原因食品の診断法として IgG 抗体を用いることに対して、「食物アレルギーハンドブック 2014 子どもの食に関わる方々へ」（2014 年日本小児アレルギー学会発刊）において推奨しないことを注意喚起しています。米国や欧州のアレルギー学会でも食物アレルギーにおける IgG 抗体の診断的有用性を公式に否定しています。」とのコメントを HP に掲げ、病的意義は疑問視されている。
- ② T 細胞依存性と考えられる、新生児・乳児消化管アレルギーおよび好酸球性消化管疾患；特に前者は日本に多く、精力的に研究され、T 細胞の病態への関与が疑われているが、詳細は不明である。EFSA の” Draft guidance on allergenicity assessment of genetically modified plants”（2016）でも、この病態に対する安全性の担保については触れられていないが、「③酵素の物理化学的処理に対する感受性に関する事項」の消化酵素に対する反応性は有用であると考えられる。ただ、T 細胞エピトープの分解が必要なため、<9AA（1000Da）になることを確認する必要がある。
- ③ セリアック病（グルテン過敏性腸疾患）；日本では極めてまれで、症例報告が散見される程度であるが、本疾患への安全性を担保するためには、上記 Draft guidance にみられる、以下の検討が必要になる。



中江専門委員：

柘植先生の御教示はよく理解いたしました。私のコメントへの対応について、引き続き議論したいと思います。

1

事務局より：

研究班の原案では「使用するアレルギー患者血清の選択は、下記 a から d のいずれか該当するものを選択する」との表現でしたが、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」での表現に合わせました。

2

中江専門委員：

「①から④までの事項等により、ヒトの健康を損なう恐れがないと判断できない時は、酵素の IgE 結合能を検討すること。」の記載について、「ヒトの健康を損なう恐れがないと判断できない時」とは具体的にはどうやって判断するのか、議論をするべきではないでしょうか。

手島専門参考人：

「ヒトの健康を損なう恐れがないと判断できない時」とは、狭義には、「既存のアレルゲンと交差反応性を示すことが否定できないとき」と言い換えることができると思います。

中江専門委員：

手島先生の御教示は、たいへん示唆に富むと思います。私のコメントへの対応について、引き続き議論したいと思います。

3

④ a. 基原生物がアレルゲン性を持つ場合はその生物に対する特異的 IgE 抗体価が高値な血清

4

5

④ b. 既知アレルゲンとの構造相同性が認められた場合は当該アレルゲン

1 を含む生物に対する特異的 IgE 抗体価が高値な血清
2 ④c. 既知のアレルゲンとの構造相同性が示されないが、~~(1)①～(3)~~
3 ③の項目で、アレルゲン性を否定しきれない場合は、基原生物の近縁種
4 生物に対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清

中江専門委員：

c の記載について、「アレルゲン性を否定しきれない場合」とは具体的にはどうやって判断するのか、議論をするべきではないでしょうか。

手島専門参考人：

以前に、難消化性の害虫毒素の Cry 9C が、動物実験の経口感作を引き起こすという事例があり、ヒトでの感作性が疑われた例がありました。

5
6 ④d. ④a から④c で適切な血清が得られない場合は、主要なアレルゲン
7 (卵、ミルク、大豆、米、小麦、そば、たら、えび及びピーナッツ) に
8 対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清

9
10 基原生物がアレルゲン性を持つ場合で、酵素に対するアレルギー患者血清
11 を用いた IgE 結合能の検討で陰性結果が得られたものの、なお安全性の証
12 明が十分ではないと考えられた場合は、皮膚テストや経口負荷試験などの臨
13 床試験データが必要とされる。

事務局より：

本項目の a、c 及び最後の段落においても、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」の対応する箇所から「挿入遺伝子の供与体」を「基原生物」と読み替えております。この読み替えでよいか、ご検討ください。

手島専門参考人：

「基原生物」への読み替えは問題ないと思います。

14 **IV_4 酵素の消化管内での分解性及びアレルゲン性に係る試験**

事務局より：

15 2 (1) と 3 (3) に関連する事項であるため、4 として別立てしております。
16 また 2 や 3 と表現を合わせるため、表題に「酵素の」を追記しております。

17 以下の (1) から (3) の処理によって、酵素の分子量、酵素活性、免疫反応
18 性等が変化するかどうか明らかにされていること。酵素量が少ない場合には、
19 免疫反応性は処理前の酵素に対するポリクローナル抗体を用いたウエスタンブ
20 ロット法及び ELISA 法あるいはこれらと同等の方法によって示されているこ
21 と。

事務局より：

「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準（2008）（2008年6月26日食品安全委員会決定）」では、「分子量は SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって示されていること。」との記載がありますが、本案では削除されております。

手島専門参考人：

「分子量は SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって示されていること。」の一文はあった方が、より具体的で、わかりやすいと思います。

（参考）（「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準（2008）」より抜粋）

（3）遺伝子産物（タンパク質）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

以下の①から③の処理によって、遺伝子産物（タンパク質）の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうかが明らかにされていること。分子量は SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって示されていること。免疫反応性は処理前の遺伝子産物（タンパク質）に対するポリクローナル抗体を用いてウェスタンブロッティング法及び ELISA 法あるいはこれらと同等の方法によって示されていること。

① 人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理

② 人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理

③ 加熱処理（加熱条件はヒトが経口摂取する際に処理される場合と同等の条件で行う。）

1

事務局より：

2 文目の冒頭「酵素量が少ない場合には、」は「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準」には記載されておりません。記載についてご検討ください。

松井専門委員：

「酵素の分子量、酵素活性、免疫反応性」は「酵素の分子量」かつ「酵素活性」かつ「免疫反応性」と読みました。

SDSPAGE ならば、この 3 点は同時に判別できると思います。一方、「免疫反応性は.. ウェスタンブロット法及び ELISA 法等によって示されていること」となっており、「ウェスタンブロット法及び ELISA 法」を用いる場合は、別途「酵素の分子量」と「酵素活性」の変化を調べる必要があるとの意味になると思います。表現を変えたほうが良いでしょう。

加えて、「ウェスタンブロット法または ELISA 法」なのではないでしょうか？

手島専門参考人：

「酵素量が少ない場合には、」の表現はあっても問題ないと思います。

2

3

④ (1) 人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理

- 1 ② (2) 人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理
2 ③ (3) 加熱処理（加熱条件はヒトが経口摂取する際に処理される場合と同
3 等の条件で行う）
4

5 第3．一日摂取量の推計

6 原則として、使用対象食品の一日摂取量に酵素の使用量を乗じて求める。食品
7 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
8 り適切に推定する。酵素の使用量としては、全量がそのまま最終食品に移行して
9 消費されたとした場合を想定し、一般的に使用される条件下での最大添加量を用
10 いて一日摂取量を推定する。ただし、酵素が最終食品内で変性・失活する又は分
11 解・除去されている場合⁴には、過剰な見積もりになることに留意する。また、一
12 日摂取量の推定にあたっては、最新の食品安全委員会決定に基づく平均体重を用
13 いる。

西専門委員：

各専門委員のご意見をもとに事務局で適切に修正されていると思いますので、特
に追加の意見はありません。

14

1 <別紙 1 : 略称>

略称	名称等
EFSA	European Food Safety Authority : 欧州食品安全機関
ELISA	enzyme-linked immune-sorbent assay : 酵素標識免疫測定法
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand : オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives : FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
TOS	total organic solids : 総有機固形分

2

3

1 <参照>

- 1 食品安全委員会、添加物に関する食品健康影響評価指針（平成 22 年 5 月 27 日）
- 2 食品安全委員会、添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2014 年 1 月）
- 3 食品安全委員会、添加物評価書「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2015 年 12 月）
- 4 株式会社三菱化学テクノロジー、 「添加物のうち、加工助剤（殺菌剤、酵素、抽出溶媒等）及び栄養成分に関するリスク評価手法の開発に関する調査・研究」 報告書（平成 27 年 3 月）
- 5 梅村 隆志ら、平成 27 年度 食品健康影響評価技術研究「栄養成分・加工助剤に関するリスク評価方法の確立に関する研究」（課題番号 1502）平成 28 年 3 月
- 6 General Specifications and Considerations for Enzyme Preparations used in Food Processing, JECFA, 2006
(http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/docs/enzymes_en.htm)
- 7 Huby RDJ, Dearman RJ and Kimber I: Why are some proteins allergens? Toxicol. Sci., 2000; 55: 235-46.
- 8 Evaluation of certain food additives and contaminants (Eightieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) WHO Technical Report Series, No. 995, 2016