

肥料・飼料等専門調査会における審議結果について

1. 審議結果

農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた *Trichoderma reesei* Morph ΔE8 BP17 4c 株が生産するフィターゼを原体とする飼料添加物（平成 30 年 7 月 3 日付け 30 消安第 1618 号）については、平成 30 年 9 月 14 日に開催された第 138 回肥料・飼料等専門調査会において審議結果（案）がとりまとめられた。

2. *Trichoderma reesei* Morph ΔE8 BP17 4c 株が生産するフィターゼを原体とする飼料添加物に係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成 30 年 10 月 23 日（火）開催の食品安全委員会（第 717 回会合）の翌日、平成 30 年 10 月 24 日（水）から平成 30 年 11 月 22 日（木）までの 30 日間。

2) 受付体制

電子メールフォーム（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等をとりまとめ、肥料・飼料等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果をとりまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

飼料添加物評価書

Trichoderma reesei

Morph Δ E8 BP17 4c 株が生産する
フィターゼを原体とする飼料添加物

2018年10月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目 次

○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	3
○ 要 約	4
I. 評価対象飼料添加物の概要	5
1. 用途	5
2. 原体の名称等	5
3. 原体の製造方法の概要	5
4. 製剤	5
5. 対象飼料及び添加量	5
6. 使用目的及び使用状況	6
II. 安全性に係る知見の概要	8
1. 体内動態試験	8
(1) フィターゼ BP-17 に対する人工胃液による消化試験（参考資料） ...	8
2. 残留試験	8
3. 遺伝毒性試験	8
4. 急性毒性試験	9
5. 亜急性毒性試験	9
(1) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）	9
6. 慢性毒性及び発がん性試験	10
7. 生殖発生毒性試験	10
8. 対象動物ににおける飼養試験	10
(1) 耐容試験	10
(2) 飼養試験（有効性確認試験）	10
9. 製剤に含まれる物質に関する安全性	11
(1) 液状製剤	11
(2) 固形製剤	11
10. その他の試験	12
(1) 皮膚刺激性試験	12
(2) 眼刺激性試験	12
(3) 皮膚感作性試験	12
III. 国際機関等における評価	13
1. EFSA における評価	13
2. 米国における状況（参考資料）	14
3. カナダにおける状況（参考資料）	14

4. オーストラリアにおける状況（参考資料）	14
IV. 食品健康影響評価	15
・ 別紙：検査値等略称	16
・ 参照	17

〈審議の経緯〉

2018 年 7 月 4 日農林水産大臣から飼料添加物の基準及び規格並びに飼料添加物を含む飼料の基準の改正に係る食品健康影響評価について要請（30 消安第 1618 号）、関係資料の接受

2018 年 7 月 10 日第 704 回食品安全委員会（要請事項説明）

2018 年 7 月 26 日第 136 回肥料・飼料等専門調査会

2018 年 9 月 14 日第 138 回肥料・飼料等専門調査会

2018 年 10 月 23 日第 717 回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2018 年 7 月 1 日から）

佐藤 洋 （委員長*）

山本 茂貴 （委員長代理*）

川西 徹

吉田 緑

香西 みどり

堀口 逸子

吉田 充

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2017 年 10 月 1 日から）

今井 俊夫（座長*）

山中 典子（座長代理*）

新井 鐘蔵 下位 香代子

荒川 宜親 菅井 基行

今田 千秋 高橋 和彦

植田 富貴子 中山 裕之

川本 恵子 宮島 敦子

桑形 麻樹子 山田 雅巳

小林 健一 吉田 敏則

佐々木 一昭

*：2017 年 10 月 25 日から

〈第 136 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）

〈第 138 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）

要 約

飼料添加物である *Trichoderma reesei* Morph ΔE8 BP17 4c 株が生産するフィターゼについて、飼料添加物指定審査用資料等を用いて、食品健康影響評価を実施した。

Trichoderma reesei Morph ΔE8 BP17 4c 株が生産するフィターゼ（フィターゼ BP-17）を原体とする飼料添加物には、液状及び固形の 2 種類の製剤があり、推奨添加量は鶏、うずら及び豚用飼料 1 kg 当たり 250～2,000 フィチン酸分解力単位（FTU）である。

体内動態及び残留試験は実施されていない。

遺伝毒性試験では、*in vivo* の試験は実施されていないが、*in vitro* の復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験の結果は陰性であった。これに加え、フィターゼ BP-17 がタンパク質であり、かつ飼料添加物として使用されることを考慮し、畜産物を介したばく露では、ヒトにおいて特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験ではフィターゼ BP-17 の投与による毒性影響はみられなかったことから、本試験における NOAEL は最高用量である 144 mg 総タンパク質/kg 体重/日（151.35 mg 総有機固形分(TOS)/kg 体重/日、52,500 FTU/kg 体重/日相当）と判断した。

フィターゼ BP-17 製剤を用いた鶏及び豚の飼養試験では、推奨添加量の 100 倍量（200,000 FTU/kg 飼料）を混餌投与しても、投与による毒性影響はみられなかった。

製剤に含まれているフィターゼ BP-17 以外の物質は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として使用された場合の、食品を介するヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

以上から、フィターゼ BP-17 を原体とする飼料添加物が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

なお、本飼料添加物については、農林水産省から、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）別表第 2 の 2 の規定に基づき、遺伝子組換え飼料添加物の安全性に関しても評価要請がなされていることから、農林水産省における本飼料添加物の取扱いについては、当該食品健康影響評価の結果も踏まえる必要がある。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 用途

飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進である。(参照1)

2. 原体の名称等

和名：*Trichoderma reesei* Morph ΔE8 BP17 4c 株を用いて生産された
Buttiauxella P1-29 由来 6-フィターゼ

英名：6-Phytase from *Buttiauxella P1-29* expressed in *Trichoderma reesei* Morph ΔE8 BP17 4c

EC 番号：3.1.3.26 (Myo-inositol-hexakisphosphate 6-phosphohydrolase
(6-フィターゼ)として)

(参照 1)

3. 原体の製造方法の概要

糸状菌 *T. reesei* の改変型 *T. reesei* 株を宿主とし、*Buttiauxella* P1-19 由来フィターゼ遺伝子を挿入した組換え Morph ΔE8 BP17 4c 株を培養し、培養物をろ過することで菌体を除去する。限外ろ過及び製剤によっては、その後、透析ろ過の工程を加え精製・濃縮する。(参照 1)

4. 製剤

剤形としては、液状及び固形がある。(参照 1)

(1) 液状製剤

原体に、塩化ナトリウム等及び精製水を混合した水溶性液状物である。

(2) 固形製剤

原体に、ポリビニルアルコール等を混和した後、硫酸ナトリウム等を加え混和又は造粒された小片、粉末又は粒子状物である。

5. 対象飼料及び添加量

評価要請者によれば、本飼料添加物の飼料への推奨添加量は、豚¹、鶏及びうずら用飼料 1 kg 当たり 250～2,000 フィチン酸分解力単位 (FTU)²である。(参照 1)

¹ 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、飼料添加物の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

² FTU は、フィチン酸分解力単位のことであり、1 FTU はフィターゼがフィチン酸に 37℃で作用するとき、1 分間に 1 μmol のリン酸を遊離させる酵素量に相当。(参照 1)

6. 使用目的及び使用状況

フィターゼは、フィチン酸³を加水分解することで無機リン酸を遊離する酵素群の総称であり、今回の評価対象である遺伝子組換え体 *Trichoderma reesei* Morph ΔE8 BP17 4c 株が生産するフィターゼ（フィターゼ BP-17）を原体とする飼料添加物は、飼料に含有される栄養成分の有効な利用の促進を目的として、豚、鶏及びうずらの飼料に添加して使用される（250～2,000 FTU/kg 飼料）。（参照 1）

フィターゼの酵素活性は、フィチン酸のイノシトール環にあるリン酸エステル結合の加水分解であり、6-フィターゼは第 6 位、3-フィターゼは第 3 位にあるリン酸エステル結合を優先的に加水分解する。（参照 2、3）フィターゼ BP-17 は、6-フィターゼとしての酵素活性を有する。（参照 1）

反すう動物では、消化管内に存在する微生物が生産するフィターゼによりフィチン酸が消化されるが（参照 4、5）、鶏等の家きん及び豚等の単胃動物ではフィターゼの活性が弱いため、飼料中のフィチン酸に含まれるリンの利用率は低いとされている。必要とされるリンを補充するためには、飼料に無機リンを添加することで対応可能ではあるが、利用率が低く、排泄されるリンも多くなる。そこで、飼料中のリンの利用率を改善するため、飼料添加物としてのフィターゼが開発された。フィターゼを鶏又は豚用飼料に添加することで、飼育成績を損なうことなく、糞便中へのリンの排泄量が低減される。（参照 4、6）

日本では、食品安全委員会が、2015 年に、飼料添加物として使用される *Schizosaccharomyces pombe* ASP595-1 株が生産する 6-フィターゼについて、「飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる」と評価している。（参照 4）

日本での飼料添加物としてのフィターゼの利用については、1996 年 9 月に *Aspergillus niger* を培養して得られたフィターゼが指定され（参照 4）、その後、現在（2018 年 10 月現在）までに、4 製剤のフィターゼが指定されている。一方、これらのフィターゼを含有する対象家畜用飼料については、飼料中の含有量に関する規格及び基準は定められておらず、動物用医薬品としては、製造販売承認されていない（参照 1）。食品添加物としては、*A. niger* の培養液から得られるフィターゼが、既存添加物名簿に収載されている。（参照 7）

海外でも、フィターゼは飼料添加物又は食品添加物として使用されている。（参照 8、9）

今回、農林水産省から評価要請された飼料添加物は、DANISCO USA 社が

³ myo-Inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis(dihydrogen phosphate) (CAS 83-86-3)。穀物等の植物種子に多く含まれる。植物にとっては主要なリン酸の貯蔵物質。（参照 4）

開発したフィターゼ BP-17 を原体とした飼料添加物製剤（フィターゼ BP-17 製剤）について、ダニスコジャパン株式会社が国内販売を企図しているものである。（参照 1）

本製剤は、2015 及び 2016 年に EFSA の評価を受け、2016 年に EU 域内で認可及び販売されているほか（参照 1、8、10）、米国等で販売されている。（参照 11～13）

今回、農林水産省から、フィターゼ BP-17 を原体とする飼料添加物について、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号）第 3 条第 1 項の規定に基づく飼料添加物の製造の方法等の基準及び成分の規格並びに当該飼料添加物を含む飼料の製造の方法の基準の設定することについて食品健康影響評価の要請がなされた。

なお、本飼料添加物は、遺伝子組換え技術を用いて生産していることから、農林水産省から、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）別表第 2 の 2 の規定に基づき、遺伝子組換え飼料添加物の安全性に関しても評価要請がなされている。

Ⅱ．安全性に係る知見の概要

本評価書は、飼料添加物指定審査用資料等を基に、フィターゼ BP-17 の毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称を別紙に示した。

1．体内動態試験

実施されていない。

なお、参考資料ではあるが、胃酸に対するフィターゼ BP-17 の影響に関する *in vitro* 試験が実施されている。

(1) フィターゼ BP-17 に対する人工胃液による消化試験（参考資料）

pH の異なる 2 種類の人工胃液を用いた消化試験が実施されている。

フィターゼ BP-17 を pH 1.2 又は pH 3.5 の人工胃液を用いて、それぞれ 20、40 若しくは 60 分間又は 20、40、60、120、240 若しくは 360 分間処理し、SDS 電気泳動で分離、染色した。

その結果、pH 1.2 では 40 分間処理後フィターゼは消化されたが、pH 3.5 では 360 分間処理後においてもフィターゼタンパク質は安定しており、消化されなかった。（参照14、15）

2．残留試験

残留試験は実施されていない。

3．遺伝毒性試験

フィターゼ BP-17 原体を用いた遺伝毒性試験の結果を表 1 に示した。

表 1 フィターゼ BP-17 原体の遺伝毒性試験結果

試験系		対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、 TA102、TA1535、 TA1537	46.8、150、468、 1,500、4,680 μg/plate ^a (±S9)	陰性	1、8、 16
	染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	試験 I 36.6、73.2、146、 293、585、1,170、 2,340、4,680 μg/plate (±S9、3 時間処理後 17 時間培養)	陰性	1、8、 17

		試験Ⅱ① 293、585、1,170、 2,340、4,680 μg/plate (-S9、20 時間処理及 び培養)	陰性	
		試験Ⅱ② 293、585、1,170、 2,340、4,680 μg/plate (+S9 ^b 、3 時間処理後 17 時間培養)	陰性	

a: 4,680 μg/plate は、1,788 FTU/plate に相当 (1、14)

b: S9 添加量は試験Ⅰの2倍量

フィターゼ BP-17 については、*in vivo* の遺伝毒性試験は実施されていないが、*in vitro* の復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験の結果は陰性であった。これに加え、フィターゼ BP-17 がタンパク質であり、かつ飼料添加物として使用されることを考慮し、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、畜産物を介したばく露では、ヒトにおいて特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。

4. 急性毒性試験

ラットにおける、フィターゼ BP-17 の急性毒性試験の結果を表 2 に示した。

表 2 フィターゼ BP-17 の急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重/日)	参照
ラット	雌 全 6 匹 (用量設定試験 2 匹＋本試験 4 匹)	経口 (原体)	LD ₅₀ : ≤5,000 mg/kg 体重 ^a (GHS カテゴリー 5)	18
	雌雄各 5 匹	経鼻 ^b (製剤)	LC ₅₀ : >13,500 FTU/kg 体重/日	1、8、19

a : 5 段階の評価のうち最も有害性が小さいカテゴリー。カテゴリー 5 の LD₅₀ は、≤5,000 mg/kg 体重

b : 吸入毒性に関する試験のため参考とした。

5. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、体重 100～140 g (雄)、90～130 g (雌)、雌雄各 10 匹/群) にフィターゼ BP-17 原体を混餌 (19.2、48.0 又は 144.0 mg 総タンパク質/kg 体重/日、20.18、50.45 及び 151.35 mg TOS/mL 並びに 7,000、17,500 及び 52,500 FTU/kg 体重/日に相当) し、少なくとも 91 日間強制経口投与

する亜急性毒性試験を実施した。対照群には水を同量投与した。

その結果、本試験条件において、フィターゼ BP-17 原体の投与に関連する、臨床観察所見、摂餌量、摂水量及び体重増加について毒性影響はみられず、オープンフィールド試験を含む行動試験、眼底検査、臨床生化学検査及び尿検査の結果についても毒性影響はみられなかった。また、肉眼的及び組織学的病理検査においても、毒性影響はみられなかった。

以上から、試験者は、NOEL を本試験の最高用量である 144.0 mg 総タンパク質/kg 体重/日 (151.35 mg TOS/kg 体重/日、52,500 FTU/kg 体重/日に相当)とした。(参照 8、20)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験で被験物質の投与による毒性所見がみられなかったことから、本試験における NOAEL を最高用量の 144.0 mg 総タンパク質/kg 体重/日 (フィターゼとして 52,500 FTU/kg 体重/日) と判断した。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

実施されていない。

7. 生殖発生毒性試験

実施されていない。

8. 対象動物における飼養試験

(1) 耐容試験

豚 (繁殖豚・子豚)、鶏 (肉用鶏・産卵鶏) 及び七面鳥に高濃度のフィターゼ BP-17 中間製品⁴を混餌投与する耐容試験が実施されている。

各試験において、最高用量を推奨添加量の 100 倍となる 200,000 FTU/kg 飼料と設定し、豚では最長 143 日間、鶏では肉用鶏で 42 日間及び産卵鶏で 56 日間並びに七面鳥では 42 日間混餌投与した結果、いずれもフィターゼ BP-17 の投与による毒性影響はみられなかった。(参照 1、8、21、22)

(2) 飼養試験 (有効性確認試験)

豚 (肥育豚・繁殖豚・子豚)、鶏 (肉用鶏・産卵鶏) 及び七面鳥に、推奨添加量のフィターゼ BP-17 製剤を混餌投与する飼養試験が実施されている (投与期間は、豚で最長 96 日間、鶏で最長 34 週間及び七面鳥で最長 28 日間)。

いずれの試験においても、フィターゼ BP-17 の投与による毒性影響はみられなかった。(参照 1、8、23～30)

⁴ 試験に用いるため、原体に安息香酸ナトリウム等を混合したもの。製品よりもフィターゼ濃度が高い。

9. 製剤に含まれる物質に関する安全性

(1) 液状製剤

液状製剤は、塩化ナトリウム、ソルビトール、ソルビン酸カリウム及び安息香酸ナトリウムを含有している。

塩化ナトリウム及びソルビトール⁵は、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）の規定に基づき、賦形物質及び希釈物質として使用が認められている物質である。（参照31）

安息香酸ナトリウムは、日本では食品添加物に指定され、JECFA では ADI⁶が設定されている。（参照32、33）

ソルビン酸カリウムは、日本では食品添加物に指定されており（参照 32）、食品安全委員会において ADI⁷が設定されている（参照34）。JECFA でも ADI⁸が設定されている。（参照35）

(2) 固形製剤

固形製剤が含有する物質のうち、ポリビニルアルコールは、類縁のフィターゼ製剤で既に評価されている。（参照 4）なお、JECFA では ADI を 50 mg/kg 体重/日と設定している。

フィチン酸ナトリウムは、フィターゼの標的物質であり、フィターゼ BP-17 の安定性を高めるために添加されている。なお、フィチン酸は既存食品添加物に指定されている。（参照 7）

そのほか、固形製剤の製造に使用される物質のうち精製水以外の物質は、いずれも飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）の規定に基づき、飼料添加物、賦形物質及び希釈物質として使用が認められている物質であり、これまで飼料添加物の製造において使用されてきたものである。

以上から、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本製剤に含まれている物質は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として対象動物が摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

⁵ 日本では D-ソルビトールとして食品添加物に指定されており、JECFA で ADI は「not specified」とされている。（参照 34、37）

⁶ 安息香酸、安息香酸塩（カルシウム、カリウム、ナトリウム）、ベンズアルデヒド、酢酸ベンジル、ベンジルアルコール及び安息香酸ベンジルのグループ ADI（安息香酸として 0～5 mg/kg 体重/日）

⁷ ソルビン酸及びその塩類（ソルビン酸カリウム、ソルビン酸カルシウム）のグループ ADI（ソルビン酸として 25 mg/kg 体重/日）

⁸ ソルビン酸並びにそのカルシウム塩、カリウム塩及びナトリウム塩のグループ ADI（ソルビン酸として 0～25 mg/kg 体重/日）

10. その他の試験

(1) 皮膚刺激性試験

ウサギ（系統不明、3匹）を用いて、フィターゼ BP-17 原体を被験物として、皮膚刺激性試験が実施された。EFSA は、本試験の結果から、フィターゼ BP-17 は、皮膚への刺激性はないと判断している。（参照 8）

(2) 眼刺激性試験

フィターゼ BP-17 原体を被験物として、眼刺激性試験が実施された。

EFSA は、本試験の結果から、本飼料添加物は眼への刺激性はないと判断している。（参照 8）

(3) 皮膚感作性試験

フィターゼ BP-17 中間製品を被験物として、マウス(CBA/Ca 系)を用いた皮膚感作性試験が実施された。用いた被験物質のいずれの用量とも刺激指標の 3 以下であったことから、EFSA は、本飼料添加物は皮膚への感作性はないと判断している。（参照 8）

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. EFSA における評価

2015 年に、液状製剤について、豚（成豚、妊娠豚、泌乳豚及び子豚）、鶏（肉用種及び産卵鶏）及び七面鳥への使用に関する評価を実施した。また、2016 年には液状製剤の評価資料を基本として、固形製剤について評価を実施した。

本フィターゼは、組換え体により生産される物質であるが、製剤から生成微生物株並びに組換え DNA は検出されなかった。

EFSA は、動物への耐容用量は最大推奨量の 100 倍であり、鶏及び七面鳥、産卵鶏並びに哺乳子豚及び雌親豚へ給与する飼料への最大推奨量（2,000 FTU/kg 飼料）の添加は安全であると結論付けた。また、産卵鶏及び七面鳥の育成・繁殖並びに豚の肥育にも同用量の適用が可能であり、そのほかの家さんや豚の品種にも適用できると結論付けた。

2 つの遺伝毒性試験（*in vitro* の細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験）で遺伝毒性がみられなかったこと及び 90 日間亜急性毒性試験で投与による影響がみられなかったことから、EFSA は、本飼料添加物の食用動物への使用による消費者の健康リスクはないと考えた。

一方、本飼料添加物は皮膚感作物質とは考えられないが、眼、皮膚及び呼吸器への刺激性を有する可能性があるかと判断した。

本飼料添加物の有効成分はタンパク質であり、投与した動物の消化管で分解・不活化されるため、環境へのリスクもないと判断した。（参照 8）

固形製剤については、液状製剤の資料（参照 8）を基本として評価しており、その遺伝子組換え体の微生物株及び DNA は検出されなかったことから、EFSA は、安全性への懸念はないと結論付けた。また、対象動物飼料への推奨添加量（2,000 FTU/kg 飼料）の添加は安全と考えられると結論付けた。

遺伝毒性試験及び亜急性毒性試験の結果から、EFSA は本製剤を飼料添加物として使用することについて、消費者の健康に懸念は生じないと結論付けた。

フィターゼ BP-17 の中間製品は、試験の結果、皮膚への刺激性及び感作性を示さなかった。EFSA は、耐熱性固形製剤の製造工程での成分（硫酸ナトリウム、ポリビニルアルコール、タルク及びフィチン酸ナトリウム）の添加は、感作性に変化を与えることはないと考えられるが、これらの成分の性状に基づけば、フィターゼ BP-17 の耐熱性固形製剤が皮膚、眼及び呼吸器系への刺激性を有する可能性は考慮すべきであるとした。また、有効成分はタンパク質性であることから、呼吸器感作物質である可能性が考慮されるが、そのばく露機会は無視し得るとしている。

環境への影響については、EFSA は、本飼料添加物の有効成分はタンパク質であり、投与した動物の消化管で分解・不活化されるため、リスクはないと判断している。（参照 8、10）

2. 米国における状況（参考資料）

フィターゼ BP-17 は、AAFCO（Association of American Feed Control Office：米国飼料検査官協会）の公定書（Official Publication）に記載されており、2013 年から販売されている。推奨添加量等の規定はない。（参照 1、11）

なお、遺伝子組換えで生成されることから、EPA では、2012 年に宿主菌及び生成過程での安全性を確認している。（参照 36）

3. カナダにおける状況（参考資料）

2016 年に、CFIA（Canadian Food Inspection Agency：カナダ食品検査庁）は、液状製剤及び固形製剤を家きん及び豚の飼料添加物として登録の届出を受け付けている。推奨添加量は、250～2,000 FTU/kg 飼料である。（参照 1、12）

4. オーストラリアにおける状況（参考資料）

2015 年に本飼料添加物製剤の輸入について認可している。（参照 1、13）

IV. 食品健康影響評価

フィターゼ BP-17 を原体とする飼料添加物には、液状及び固形の 2 種類の製剤があり、推奨添加量は、豚、鶏及びうずら用飼料 1 kg 当たり 250～2,000 フィチン酸分解単位（FTU）である。

フィターゼ BP-17 について、体内動態及び残留試験は実施されていない。

フィターゼ BP-17 について、*in vivo* の遺伝毒性試験は実施されていないが、*in vitro* の復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験の結果は陰性であった。これに加え、フィターゼ BP-17 がタンパク質であり、かつ飼料添加物として使用されることを考慮し、畜産物を介したばく露では、ヒトにおいて特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験においてフィターゼ BP-17 の投与による毒性影響はみられなかった。

慢性毒性及び発がん性試験、並びに生殖発生毒性試験は実施されていない。

以上から、フィターゼ BP-17 の NOAEL は、ラットの 90 日間亜急性毒性試験の最高用量である 52,500 FTU（144.0 mg 総タンパク質/kg 体重/日又は 151.35 mg TOS)/kg 体重/日相当）と判断した。

フィターゼ BP-17 製剤を用いた鶏及び豚の飼養試験でも、推奨添加量の 100 倍量（200,000 FTU/kg 飼料）を混餌投与しても、毒性影響はみられなかった。

製剤に含まれているフィターゼ BP-17 以外の物質は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として使用された場合における、食品を介するヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

以上から、フィターゼ BP-17 を原体とする飼料添加物が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

なお、本飼料添加物については、農林水産省から、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）別表第 2 の 2 の規定に基づき、遺伝子組換え飼料添加物の安全性に関しても評価要請がなされていることから、農林水産省における本飼料添加物の取扱いについては、当該食品健康影響評価の結果も踏まえる必要がある。

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
AAFCO	Association of American Feed Control Office：米国飼料検査官協会
ADI	Acceptable Daily Intake：一日摂取許容量
CFIA	Canadian Food Inspection Agency：カナダ食品検査庁
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁
FTU	Phytase units：フィチン酸分解力単位
GLP	Good Laboratory Practice：優良試験所基準
JECFA	The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
NOAEL	No observable adverse effect level：無毒性量
NOEL	No observable effect level：無作用量
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
OECDTG	OECD Test Guideline：OECD テストガイドライン
SDS	Sodium dodecyl sulfate：ドデシル硫酸ナトリウム
TOS	Total organic solids：総有機固形分

〈参照〉

- 1 ダニスコジャパン株式会社：Morph ΔE86- 4c 株を利用して生産されたフィターゼに関する飼料添加物審査用資料（抄録）（非公表）
- 2 Greiner R, Haller E, Konietzny U and Jany KD: Purification and characterization of a phytase from *Klebsiella terrigena*. Arch Biochem Biophys. 1997; 341(2): 201-6.
- 3 Wyss M, Brugger R, Kronenberger A, Remy R, Fimbel R, IMBEL, Oesterhelt G, Lehmann M and Van Loon APGM: Biochemical Characterization of Fungal Phytases (myo-Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): Catalytic Properties. Applied and Environmental Microbiology. 1999; 65: 367-73.
- 4 食品安全委員会：飼料添加物評価書「Schizosaccharomyces pombe ASP595-1 株が生産する 6-フィターゼ」（2016 年 3 月）
- 5 Haese E, Möhring J, Steingass H, Schollenberger M and Rodehutschord M: Effect of dietary mineral phosphorus and phytate on in situ ruminal phytate disappearance from different concentrates in dairy cows. J Dairy Sci. 2017; 100(5): 3672-84.
- 6 Jacela JY, DeRouchey JM, Tokach MD, Goodband RD, Nelssen JL, Renter DG and Dritz SS: Feed additives for swine: Fact sheets - high dietary levels of copper and zinc for young pigs, and phytase. Journal of Swine Health and Production. 2010; 18: 87-91.
- 7 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（平成 26 年 1 月 30 日）
- 8 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)): Scientific Opinion. Scientific opinion in the safety and efficacy of Axtra®PHY 15000L (6-phytase) as a feed additive for poultry and porcine species. The EFSA Journal. 2015; 13(11): 4275.
- 9 JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Safety evaluation of certain food additives Prepared by the Seventy-sixth meeting of the Joint FAO/WHO. WHO Food Additives Series. 2012; 67.
- 10 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)): Scientific Opinion. Safety and efficacy of Axtra®PHY 20000TPT2 (6-phytase) as a feed additive for poultry and porcine species. The EFSA Journal. 2016; 14(11): 4625.
- 11 ダニスコジャパン株式会社：Morph ΔE86- 4c 株を利用して生産されたフィターゼに関する飼料添加物審査用資料 4（非公表）
- 12 ダニスコジャパン株式会社：Morph ΔE86- 4c 株を利用して生産されたフィターゼに関する飼料添加物審査用資料 5（非公表）。
- 13 ダニスコジャパン株式会社：Morph ΔE86- 4c 株を利用して生産されたフィターゼに関する飼料添加物審査用資料 7（非公表）
- 14 ダニスコジャパン株式会社：Morph ΔE86- 4c 株を利用して生産されたフ

- イターゼに関する飼料添加物審査用資料（追加 1）（非公表）
- 15 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料（追加 2）（非公表）
 - 16 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 26（非公表）
 - 17 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 27（非公表）
 - 18 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料（再追加 1）（非公表）
 - 19 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 24（非公表）
 - 20 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 25（非公表）。
 - 21 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 29（非公表）
 - 22 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 28（非公表）
 - 23 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 16（非公表）
 - 24 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 15（非公表）
 - 25 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 22（非公表）
 - 26 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 23（非公表）
 - 27 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 18（非公表）
 - 28 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 20（非公表）
 - 29 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 20（非公表）
 - 30 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料（追加 3）（非公表）
 - 31 農林水産省：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）
 - 32 厚生労働省：食品衛生法施行規則（昭和 23 年厚生省令第 23 号）別表第 1
 - 33 JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Benzyl derivatives. Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series. 2002; 909.
 - 34 食品安全委員会：添加物評価書「ソルビン酸カリウム」（平成 20 年 11 月）
 - 35 JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Sorbitol. WHO Food Additives Series. 1974; 5
 - 36 ダニスコジャパン株式会社：Morph Δ E86- 4c 株を利用して生産されたフイターゼに関する飼料添加物審査用資料 8（非公表）