

(案)

特定保健用食品評価書

ピルクル400

2020年1月

食品安全委員会新開発食品専門調査会

目 次

	頁
<審議の経緯>	2
<食品安全委員会委員名簿>	2
<食品安全委員会新開発食品専門調査会専門委員名簿>	2
要 約	3
I. 評価対象品目の概要	4
1. 製品	4
2. 関与成分	4
3. 作用機序等	4
II. 安全性に係る試験等の概要	4
1. 食経験	4
2. 4週間反復経口投与試験（ラット）	5
3. ヒト試験	5
(1) 2週間連続摂取試験（対象者：便秘傾向の人）①	5
(2) 2週間連続摂取試験（対象者：便秘傾向の人）②	6
(3) 12週間連続摂取試験（対象者：健常者）	6
(4) 4週間連続3倍過剰摂取試験（対象者：健常者）	6
4. その他	7
(1) <i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> NY1301 の定着性について	7
(2) バクテリアルトランスロケーションの可能性について	7
(3) 抗生物質耐性遺伝子の存在及びその伝播の可能性について	7
III. 食品健康影響評価	8
<参照>	9

<審議の経緯>

2019年7月3日 内閣総理大臣から特定保健用食品の安全性の審査に係る食品健康影響評価について要請（消食表第156号）、関係書類の接受

2019年7月9日 第749回食品安全委員会（要請事項説明）

2019年7月25日 第121回新開発食品専門調査会

2020年1月28日 第771回食品安全委員会（報告）

<食品安全委員会委員名簿>

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

<食品安全委員会新開発食品専門調査会専門委員名簿>

（2019年9月30日まで）

清水 誠（座長）

脇 昌子（座長代理）

石見佳子 玉腰暁子

梅垣敬三 林 道夫

奥田裕計 平井みどり

尾崎 博 本間正充

小堀真珠子 山本精一郎

佐藤恭子 和田政裕

酒々井眞澄

（2019年10月1日から）

脇 昌子（座長）

高橋祐次（座長代理）

石見佳子 中島孝則

小堀真珠子 林 道夫

佐藤隆一郎 本間正充

杉本直樹 山本精一郎

玉腰暁子 和田政裕

豊田武士

<専門参考人>

五十君静信

（東京農業大学 応用生物科学部 農芸化学科 応用微生物学研究室教授）

要 約

Lactobacillus paracasei subsp. *paracasei* NY1301 を関与成分とし、おなかの調子を良好に保つ旨を特定の保健の用途とする乳酸菌飲料である「ピルクル 400」について、申請者提出の資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

本食品一日当たりの摂取目安量 65mL に含まれる関与成分は *L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301、400 億個 (4.0×10^{10} cfu) 以上である。

本食品の評価では、食経験、ラットを用いた 4 週間反復経口投与試験、ヒト試験（便秘傾向の人を対象とした 2 週間連続摂取試験、健常者を対象とした 12 週間連続摂取試験及び 4 週間連続 3 倍過剰摂取試験）、その他の試験等を用いた。

上記試験結果等を用いて評価した結果、「ピルクル 400」については、提出された資料に基づく限りにおいて安全性に問題はないと判断した。

I. 評価対象品目の概要

1. 製品

- (1) 商 品 名：ピルクル 400
(申請者：日清ヨーク株式会社)
- (2) 食 品 の 種 類：乳酸菌飲料
- (3) 関 与 成 分：*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NY1301
400 億個 (4.0×10^{10} cfu) 以上
- (4) 一日摂取目安量：65 mL
- (5) 特定の保健の用途：おなかの調子を良好に保つ

2. 関与成分

本食品の関与成分は、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 であり、同じ関与成分を 150 億個 (1.5×10^{10} cfu) 以上 / 65 mL 含有する乳酸菌飲料が 2001 年に特定保健用食品として許可されている。なお、既許可の特定保健用食品の関与成分は、*L. casei* NY1301 としていたが、2008 年に国際細菌分類委員会が出した見解により、*L. paracasei* subsp. *paracasei* に分類された (参照 1, 2)。

3. 作用機序等

in vitro 試験において *L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 は、酸耐性及び胆汁耐性を有しているため生菌の状態で腸管に到達すること、有害菌の増殖を抑制、有用菌の増殖を促進することが示唆された (参照 3, 4)。

また、ヒト試験において、腸内の *Lactobacillus* 属及び *Bifidobacterium* 属の菌数の占有率が増加し、腸内環境を改善することで、排便が促進されることが示唆された (参照 5, 6)。

II. 安全性に係る試験等の概要

1. 食経験

L. paracasei subsp. *paracasei* NY1301 を 150 億個 (1.5×10^{10} cfu) 以上 / 65 mL 含有する既許可製品は、1993 年から販売されており、2001 年に特定保健用食品として許可されて以降の 17 年間における販売液量は約 40 万 kL である。その間に健康被害に関する情報は 46 件 (下痢、嘔吐等) 認められているが、現物回収品や社内保管品の検査を実施したところ、いずれも異常がないことを確認していることから、申請者は、既許可製品が原因ではない一時的な体調不良であるとしている。

2. 4週間反復経口投与試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 14 匹）に *L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 含有（ 2.3×10^8 cfu/mL）乳酸菌飲料を 10、20 又は 50 mL/kg 体重/日の用量で強制経口投与した 4 週間反復投与試験が実施されている。対照群には蒸留水が用いられた。なお、本試験は、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 を 150 億個（ 1.5×10^{10} cfu）以上/65 mL 含有する乳酸菌飲料を特定保健用食品として表示許可申請した際の資料である。

その結果、投与に起因する死亡はなく、一般状態及び体重に異常は認められていない。雌雄の 50 mL/kg 体重/日投与群では、摂餌量が対照群と比べて有意な低値を、雌雄の 20 mL/kg 体重/日投与群及び 50 mL/kg 体重/日投与群では、摂水量が対照群と比べて有意な低値を、それぞれ示している。申請者は、摂餌量の低下は乳酸菌飲料の投与による糖の過剰摂取に対する生理的適応のためであり、摂水量の低下は消化管による水吸収が増大したためであると推測している。

血液生化学的検査では、投与期間終了時、雄の 20 mL/kg 体重/日投与群において、クレアチニンが対照群と比べて有意な低値を示している。

臓器重量では、投与期間終了時、雄の 10 mL/kg 体重/日投与群の精巣（右）の相対重量で対照群と比べて有意な増加が、50 mL/kg 体重/日投与群の副腎（右）の相対重量で対照群と比べて有意な減少が、それぞれ認められている。雄の副腎（右）については、病理組織学的検査を行い、組織変化は認められていない（参照 7）。

3. ヒト試験

（1）2週間連続摂取試験（対象者：便秘傾向の人）①

便秘傾向（一週間の排便回数 2～5 回）の成人男女 39 名を対象に、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 を 8.0×10^{10} cfu 以上含有する乳酸菌飲料、 4.0×10^{10} cfu 以上含有する乳酸菌飲料又は含有しない飲料（対照食）を、1 日 1 本（65 mL）、2 週間摂取させるクロスオーバー二重盲検無作為試験が実施された。なお、脱落者を除く試験完了被験者は 38 名であった。

その結果、有害事象として、 8.0×10^{10} cfu 以上含有飲料の摂取で 7 例 11 件（感冒、頭痛等）、 4.0×10^{10} cfu 以上含有飲料の摂取で 4 例 6 件（胃腸炎、頭痛等）及び対照食の摂取で 3 例 4 件（胃腸炎、頭痛等）認められたが、いずれも試験食との因果関係は「なし」又は「おそらくなし」と試験責任医師により判断された（参照 8）。

(2) 2週間連続摂取試験（対象者：便秘傾向の人）②

便秘傾向（一週間の排便回数 2～4 回）の成人男女 119 名を対象に、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 を 4.0×10^{10} cfu 以上含有する乳酸菌飲料又は含有しない飲料（対照食）を、1 日 1 本（65 mL）、2 週間摂取させるランダム化二重盲検並行群間比較試験が実施された。なお、脱落者等がいなかったため、試験完了被験者は、乳酸菌飲料群 59 名、対照食群 60 名であった。

血液検査及び尿検査では、一部有意差を示す項目が認められたが、いずれも基準値内の変動であり、試験食による影響は認められなかった。

有害事象として、乳酸菌飲料群で 5 例 7 件（風邪、腹痛等）、対照食群で 6 例 9 件（下痢、頭痛等）認められたが、いずれも試験食との因果関係は「なし」又は「おそらくなし」と試験責任医師により判断された（参照 9）。

(3) 12週間連続摂取試験（対象者：健常者）

健常な成人男女 32 名を対象に、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 を 4.0×10^{10} cfu 以上含有する乳酸菌飲料又は含有しない飲料（対照食）を、1 日 1 本（65 mL）、12 週間摂取させるランダム化二重盲検並行群間比較試験が実施された。なお、脱落者を除く試験完了試験者は、乳酸菌飲料群 16 名、対照食群 15 名であった。

血液検査では、一部有意差を示す項目が認められたが、いずれも基準値内の変動であり、試験食による影響は認められなかった。

有害事象として、乳酸菌飲料群で 7 例 10 件（頭痛、胃腸炎等）、対照食群で 3 例 6 件（頭痛、風邪等）認められたが、試験開始前から認められた症状又は一過性の症状であり、いずれも試験食との因果関係は「なし」と試験責任医師により判断された（参照 10）。

(4) 4週間連続3倍過剰摂取試験（対象者：健常者）

健常な成人男女 32 名を対象に、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 を 4.0×10^{10} cfu 以上含有する乳酸菌飲料又は含有しない飲料（対照食）を、1 日 3 本（65 mL を 1 回で 3 本）、4 週間摂取させるランダム化二重盲検並行群間比較試験が実施された。なお、脱落者を除く試験完了試験者は、乳酸菌飲料群 16 名、対照食群 15 名であった。

血液検査では、一部有意差を示す項目が認められたが、いずれも基準値内の変動であり、試験食による影響は認められなかった。

有害事象として、乳酸菌飲料群で 4 例 5 件（腹痛、頭痛等）、対照食群で 1 例 1 件（頭痛）認められたが、いずれも試験食との因果関係は「なし」と試験責任医師により判断された（参照 11）。

4. その他

(1) *L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 の定着性について

健康な成人男性 6 名を対象に、*L. gasei* NY0509 を 2.0×10^6 cfu/mL 以上及び *L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 を 5.8×10^8 cfu/mL 以上含有する乳酸菌飲料 65 mL/日を 11 日間摂取後に、継続して 195 mL/日 (3 倍過剰) を 9 日間摂取させ、糞便中の菌数を測定した結果、65 mL/日の摂取後に *Lactobacillus* 属菌の菌数増加が認められたが、摂取終了後一定期間経つと菌数は減少した。摂取前には検出されなかった *L. paracasei* が、3 倍過剰摂取後の 27 日目に 3.2×10^5 cfu/g、摂取後の 42 日目には 3.2×10^4 cfu/g 検出された被験者が認められ、この菌は *L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 であると試験実施者により推測された (参照 5)。

また、3 (2) の試験においても、乳酸菌飲料群の糞便中の菌数を測定した結果、摂取前には検出されなかった *Lactobacillus* 属菌が、摂取後に検出された被験者が認められた (参照 9)。

乳酸菌飲料の摂取により、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 の腸管内における定着性が認められたが、摂取中止後には菌数が減ることから、新開発食品専門調査会では、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 の腸管定着性によるヒトへの健康影響はないと考えた。

(2) バクテリアルトランスロケーションの可能性について

国際酪農連盟 (International Dairy Federation) が発行する IDF Bulletin 495 (2018) において、*Lactobacillus paracasei* は食品に利用されてきた微生物として収載されていることから、新開発食品専門調査会では、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 によるバクテリアルトランスロケーションの可能性は低いと考えた。

(3) 抗生物質耐性遺伝子の存在及びその伝播の可能性について

抗生物質存在下で *L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 の最小発育阻止濃度 (MIC 値) を測定した結果、数種の抗生物質等に対し耐性を示したが、同一菌種や亜種と比較して同等であることから、申請者は、プラスミドによる獲得耐性ではなく自然耐性であると考察している。また、*L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 の塩基配列解析の結果、プラスミドを有しているが薬剤耐性遺伝子と相同性を有する配列は認められていないことから、申請者は、薬剤耐性遺伝子の伝播の可能性は極めて低いと考察しており (参照 12~14)、新開発食品専門調査会では、総合的に判断して、ヒトへの健康影響はないと考えた。

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料等を用いて、「ピルクル 400」の食品健康影響評価を実施した。

本食品より菌量の少ない *L. paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 含有乳酸菌飲料を被験物質とし、ラットを用いた 4 週間反復経口投与試験において、摂餌量と摂水量の低下がみられたが、糖質の過剰摂取等によるものであり、毒性影響とは考えられないと判断した。また、副腎及び精巣の相対重量に有意差が認められているが、各器官の片側のみであり、その他の関連所見に異常は認められないことから、毒性影響とは考えられないと判断した。

乳酸菌飲料を用いたヒト試験（便秘傾向の人を対象とした 2 週間連続摂取試験、健常者を対象とした 12 週間連続摂取試験及び 4 週間連続 3 倍過剰摂取試験）、その他の試験等において、問題となる結果は認められなかった。

上記試験結果等を用いて評価した結果、「ピルクル 400」については、提出された資料に基づく限りにおいて安全性に問題はないと判断した。

<参照>

1. 平山洋佑, 遠藤明仁: 乳酸菌分類の現在とビフィズス菌・乳酸菌分類小委員会が提言した新規乳酸菌種提唱のための最少基準. 腸内細菌学雑誌 2016; 30: 17-28
2. Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Bacteria: The type strain of *Lactobacillus casei* is ATCC 393, ATCC 334 cannot serve as the type because it represents a different taxon, the name *Lactobacillus paracasei* and its subspecies names are not rejected and the revival of the name '*Lactobacillus zeae*' contravenes Rules 51b (1) and (2) of the International Code of Nomenclature of Bacteria. Opinion 82. Int J Syst Evol Microbiol 2008; 58: 1764-5
3. 東幸雅, 伊藤和徳, 佐藤学: *Lactobacillus gasseri* NY0509 および *Lactobacillus casei* NY1301 の人工消化液耐性並びに腸内有害菌抑制効果. 日本食品科学工学会誌 2001; 48: 656-63
4. 東幸雅, 佐藤学: *Lactobacillus gasseri* NY0509 および *Lactobacillus casei* NY1301 のビフィズス菌増殖促進効果. 日本食品科学工学会誌 2001; 48: 688-92
5. 東幸雅, 伊藤和徳, 大木篤史, 井上明浩, 井上和久, 佐藤学, 他: *Lactobacillus gasseri* NY0509 および *Lactobacillus casei* NY1301 発酵乳酸菌飲料の健常成人の糞便内菌叢に及ぼす影響. 日本食品科学工学会誌 2001; 48: 35-43
6. 東幸雅, 伊藤和徳, 大木篤史, 上田和彦, 井上和久, 佐藤学, 他: *Lactobacillus gasseri* NY0509 および *Lactobacillus casei* NY1301 含有乳酸菌飲料の健常成人の排便及び糞便内菌叢に及ぼす影響. 健康・栄養食品研究 2000; 3: 63-72
7. 乳製品乳酸菌飲料のラットを用いた1ヶ月反復経口投与毒性試験, 2000. (社内文書)
8. 乳酸菌含有飲料—Aの用量設定試験, 2017, (試験報告書)
9. 乳酸菌含有飲料—Aの有効性確認試験, 2017, (試験報告書)
10. 乳酸菌含有飲料—Aの長期摂取安全性確認試験, 2018. (試験報告書)
11. 乳酸菌含有飲料—Aの過剰摂取安全性確認試験, 2018. (試験報告書)
12. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NY1301株のプラスミドの有無について, 2019 (社内文書)
13. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NY1301株の薬剤感受性, 2019. (社内文書)

14. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NY1301 株の次世代シーケンス及び薬剤耐性の有無について, 2019. (社内文書)