

食 品 安 全 委 員 会 添 加 物 専 門 調 査 会

第 61 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 20 年 8 月 29 日（金） 13:30 ～16:10

2. 場所 食品安全委員会大会議室

3. 議事

（１）ソルビン酸カルシウムに係る食品健康影響評価について

（２）プロテイングルタミナーゼに係る食品健康影響評価について

（３）その他

4. 出席者

（専門委員）

福島座長、石塚専門委員、井上専門委員、梅村専門委員、

久保田専門委員、頭金専門委員

（専門参考人）

宇理須参考人、手島参考人、森田参考人

（委員）

見上委員長、小泉委員、長尾委員、廣瀬委員、本間委員

（事務局）

日野事務局次長、北條評価課長、猿田評価調整官、蛭田課長補佐、大竹係長

5. 配布資料

資料 1－1 ソルビン酸カルシウムの補足資料提出依頼に関する調査結果

資料 1－2 添加物評価書「ソルビン酸カルシウム」（案）

資料 2－1 添加物評価書「プロテイングルタミナーゼ」（案）

資料 2－2 加熱処理によるプロテイングルタミナーゼの免疫反応性の変化

資料 3 2,3-、2,5-、2,6-ジメチルピラジンの食品健康影響評価に関する

審議結果に係る資料

6. 議事内容

○福島座長 それでは、定刻となりましたので、ただいまより、第 61 回「食品安全委員会 添加物専門調査会」を開催いたします。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。

現在、井上専門委員、久保田専門委員がまだ御出席になられておりませんが、出席されますと 6 名の専門委員が御出席ということであります。

専門参考人として、藤田保健衛生大学医学部教授の宇理須厚雄先生、国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部長の手島玲子先生に御出席いただいております。どうぞよろしくお願いいたします。

それから、都合により、3 時半ころにお見えになると思いますけれども、国立健康・栄養研究所の森田明美先生にも御出席していただくことになっております。専門委員の今井田、江馬、中江、中島、林、三森、山添、吉池の各先生は御都合により欠席となっております。今日は非常に多い欠席ですけれども、活発な討論をお願いしたいと思います。

それから、食品安全委員会からも委員の先生方に御出席していただいております。

それでは、本日の会議全体のスケジュールにつきまして、お手元に「第 61 回食品安全委員会 添加物専門調査会 議事次第」を配付しておりますので、御覧ください。

事務局から資料の確認をお願いいたします。

○蛭田課長補佐 それでは、資料の確認に入らせていただきます。

議事次第、座席表、専門委員名簿に続きまして、資料 1－1「ソルビン酸カルシウムの 補足資料提出依頼に関する調査結果」。

資料 1－2「添加物評価書『ソルビン酸カルシウム』（案）」。

資料 2－1「添加物評価書『プロテイングルタミナーゼ』（案）」。

資料 2－2「加熱処理によるプロテイングルタミナーゼの免疫反応性の変化」。

資料 3「2,3-、2,5-、2,6-ジメチルピラジンの食品健康影響評価に関する審議結果に係る資料」でございます。

なお、資料 1－1 の検討資料につきましては、大部になりますこと等から、傍聴の方々にはお配りしておりません。公表資料については、調査会終了後事務局で閲覧できるようになっておりますので、必要な方は、この会議終了後に事務局までお申出いただければと思います。

不足の資料等ございますでしょうか。

○福島座長 よろしいですか。

それでは、議題 1 に入らせていただきます。「ソルビン酸カルシウムに係る食品健康影響評価について」でございます。事務局より説明をお願いいたします。

○蛭田課長補佐 資料の説明に入ります前に、提出された資料中に本日御欠席でございますが、林専門委員及び吉池専門委員の論文が含まれていることを御報告いたします。

それでは、資料 1－1 及び資料 1－2 に基づいて御説明をさせていただきます。

ソルビン酸カルシウムにつきましては、第 58 回及び第 59 回添加物専門調査会において御審議いただき、一通り審議がなされております。その際、ADI の設定に当たり、JECFA において設定根拠とされた試験成績の和訳を確認する必要があるとの判断がなされたことから、本年 6 月 23 日付けで要請者の厚生労働省に対して、補足資料の提出依頼を行ったところでございます。

今般、厚生労働省より回答が提出されましたので、審議の再開をお願いするものでございます。

資料 1－1 を御覧になっていただけますでしょうか。質問項目の順に御説明をさせていただきます。

まず、1 でございますが、ソルビン酸カルシウムは保存料でございますけれども、微生物との共存下で副生成物が産生するという報告がございまして、それに関しまして、関連する文献、例えば通常の食品加工の条件下でそのようなことがあるのかといったような追加情報を求めているものでございます。

1. の 1) は、ソルビン酸カルシウムが添加されるような食品で 25℃で 7 日間培養した真菌と 3 日間共存するような条件は通常起こり得るかということでございます。

これは特定の文献上そういう記載があったものでございまして、結論から申しますと、かびや細菌が高濃度に増殖した状態の食品に保存料としてのソルビン酸類が添加使用されることは実際にはあり得ないという回答をいただいているところでございます。

2) は、ソルビン酸カルシウムまたはそういった塩類が添加されている食品中において、Penicillium 属、今回の評価書の中には Penicillium 属というものが産生されておりますけれども、これらの真菌が存在・繁殖する可能性はあるかということでございます。

調査結果でございますが、ソルビン酸が使用される食品の多くは加熱加工の工程があり、その工程で Penicillium 属の等の真菌を含め、微生物のほとんどは死滅する。ただし、真菌が芽胞の形で存在し、発育生成する可能性はある。しかし、ソルビン酸塩類は本来広範

な抗菌性を有する保存料として微生物の増殖を抑制する目的で食品の製造加工時に使用するものであり、ソルビン酸が一定量含まれた状態においては、かびが保存期間中に目視される程に増殖することは考え難いということでございます。

3) は、この文献中、*Penicillium* 属と、ソルビン酸を一緒に入れると、1,3-ペンタジエンという物質ができるということございまして、その毒性についての情報があるかという質問でございます。

調査結果でございますが、1,3-ペンタジエンが生成するというデータは、文献 21 以外には承知していないとしております。

1,3-ペンタジエンの毒性については、OECD の SIDS の中に、1,3-ペンタジエンのモノグラフが収載されているということで、概要を以下のとおりであるということでございます。

先生方にお配りされている資料中には、OECD の SIDS のモノグラフが添付されておりますが、その 29 ページに conclusions というところで記載がございまして、presently of low concern ということで、このモノグラフ中は結論づけされているところでございます。

4) は、*Mucor* 属真菌、乳酸菌が共存すると生じる化学物質の生成条件はどのようなものかということでございます。これも先ほど出ております文献 21 の中に記載されてございますが、調査結果としては、*Mucor* 属菌は、ソルビン酸を超えた培地内で土壌から分離した菌株を培養した場合に、1～2 日でソルビン酸が消失し、報告書に記載する物質が生成する。また、乳酸菌に関しましては、これはソルビン酸入りのワインから生成するということが報告されているようでございます。

このような分解反応は、ソルビン酸により成育が抑制されていた微生物が何らかの原因で徐々に繁殖し、食品の腐敗が進んだために起きるということでございます。

5) は、この *Mucor* 属真菌、乳酸菌と共存した場合の化学物質についての毒性情報があるのかということございまして、調査結果でございますが、3 つの物質が文献の中には記載されています。*t*, *t*-2,4-ヘキサンジエノール、*t*-4-ヘキセノールにつきましては、*Mucor* 属菌とソルビン酸が一緒にいると、分解されて産生されるものでございます。2-エトキシヘキサ-3,5-ジエンについては乳酸菌と共存した場合でございます。

これらの 3 品目について、文献検索等を行ったということでございますが、これらの物質の毒性に関する情報は確認できなかったということでございます。

ただしこの中の、*t*, *t*-2,4-ヘキサンジエノールにつきましては、香料として用いられているものということございまして、JECFA で評価済みということございました。

「2. JECFA における ADI の設定根拠となった試験成績を和訳すること」ということで

ございまして、今回要請者の方から原著及び和訳の提出がございました。

先生方にお配りされているものでありますと、82 ページからドイツ語の和訳が入っております。既に、御確認をいただいておりますので、御紹介は省略させていただきます。

次に「3. 米国におけるソルビン酸類の摂取量に関する情報（文献 22）について、引用されている文献を入手し、概要をまとめること」ということでございます。

これは評価書中の米国の一日摂取量の根拠文献を確認すべきということでございました。調査結果でございますけれども、この Hartman PE の報告、これは 1983 年のものではございますが、いわゆる遺伝毒性でありますとか、もろもろの安全性に関する記載も含めた中で、ソルビン酸の推定摂取量の記載があるものでございます。

この 3 ページの下のところ、米国におけるソルビン酸推定摂取量に関する記述の要点ということでございますが、4 ページの頭を見ていただきますと、米国の成人一日 1 人当たりのソルビン酸の摂取量は成人で 25 mg ということでございます。

2) としては、別の調査でございますが、6～24 か月齢の乳幼児の摂取量は 23～26 mg/kg 体重ということで、この推定摂取量は JECFA の設定した ADI に近い値であるということでございます。

3) としては、米国では 1960 年～1970 年の間に、ソルビン酸と同カリウム塩の摂取量は、約 13 倍と 5 倍に増加しているということでございます。

4) としては、摂取量の推定は最近なされていないが、多くの食品に高濃度で使用されているということで調査が望まれるということでございます。

「4. ソルビン酸カリウムを用いた発がん性試験に関する報告のフルレポートを入手し、概要をまとめること」ということでございました。

これにつきましては、要請者の方が発行元の研究所に確認を取ったということでございますが、当時の厚生省がん研究助成の年次報告の内容を求めたものであって、原著論文として発表された報告はございませんという報告でございます。

以上が、資料 1－1 の説明でございます。

これにつきまして、既に専門委員の先生方にお送りしているところでございますけれども、御指摘いただいた中江専門委員ほか、三森専門委員等から了解をいただける旨の御連絡をいただいております。

その他については、特段の意見はいただいていないところでございます。

次に、資料 1－2 の評価書（案）でございます。こちらにつきまして、前回までの調査会で御指摘いただいた内容を踏まえ修正したものを御提示させていただきます。

まず、7 ページでございますが、こちらについては、片仮名表記でございましたが、アルファベットの表記に修正をさせていただいております。

10 ページ、15 行目から、前回の調査会の御審議を踏まえて追記をしています。NOAEL の正確な評価が不可能ということでございます。

このページの 18 行目からのラットの試験でございますが、前回、中江専門委員から御提案のあった記載内容を踏まえて修正をさせていただいております。

11 ページ以降の発がん性試験のところでございますが、被験物質による腫瘍発生がないということを明確に記載しております。

12 ページの一番下の脚注でございますけれども、これについては、前回、本試験が厚生労働省のがん研究の取り決めに従って行ったということを明記するということでございましたので、追記をさせていただいております。この部分はつきましては、後ほど梅村専門委員の方から御意見をいただければと思います。

13 ページ、27 行目～28 行目でございます。

また、14 ページの 2 ～ 3 行目の記載も、先生方の御指摘に従ったものでございます。

今回、ラングのドイツ語の文献を和訳いただきましたが、その内字を踏まえた記載が 13 ページの 31 行目から 14 ページの 3 行目までの文章でございます。14 ページの 2 ～ 3 行目については、今回原文を御確認いただいて、修正をいただいたものでございます。

14 ページの 21 行目から遺伝毒性の記載でございます。こちらについては、本日お休みでございますが、林専門委員の御指摘を踏まえ、既に修正を行っております。

1 点だけ御説明をさせていただきますと、16 ページの 12 行目からの小核試験でございます。原文においては、こちらは、用時調製したサンプル、これは骨髄サンプルでございますけれども、それを用いた試験と 24 時間保存したサンプルを用いた試験が行われております。こちらにつきましては、小核試験の検体は用時調製が原則であるということで、24 時間保存したものは評価に用いることはできないということで、削除という御指摘をいただいております。

17 ページの 15 行目からでございますけれども、遺伝毒性の結論を記載していただいております。

結論といたしましては、生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないものと考えられたということでございます。

18 ページの 23 行目でございます。前回、井上専門委員から、相互矛盾のために信頼できずという部分と、健康に対するハザードがないというものは、もともと別の文書であっ

て、わかるように記載してくださいということでしたので、そのような修正をさせていただいております。

19 ページの 17～18 行目の生殖発生毒性に関する記載でございます。前回、江馬専門委員の方から、わかりづらい文章であるので見直したいということで、今回このような形で修正を御提案いただいております。

22 ページ、29 行目と 37 行目でございます。こちらの ADI が JECFA のものであることを明記せよということでございましたので、明記しております。

23 ページの 2 行目から、米国における評価ということでございますが、米国の摂取量について、今回の回答も踏まえて微修正を行ったところでございます。

大きなところは、以上でございます。御審議をお願いしたいと思います。

○福島座長 ありがとうございます。それでは、これから審議に入ります。

このソルビン酸カルシウムにつきましては、第 59 回の調査会までに一通りの評価が済んでおります。本日は、厚生労働省から提出されました補足資料の内容を確認した上で、最終的に評価を行っていききたいと思います。

もう一度、資料 1－1 に戻っていただきたいのですが、先ほど、蛭田課長補佐から説明がありましたが、これについてはいかがでしょうか。それぞれ質問を出された先生からは、了解したというコメントをいただいておりますが、質問の大きな 1、質問の大きな 2 は 3 ページにあります。それから質問の 3 も 3 ページにあります。

4 ページ目に行きまして、質問の 4、5 ということですけれども、よろしいですか。

（「異議なし」と声あり）

○福島座長 ありがとうございます。

そうしましたら、資料 1－2 に戻りまして、訂正された箇所を中心に、これから審議していただきたいと思います。

まず、7 ページ（2）微生物による分解のところで、ここを英語表記に直したということと、一部字句の訂正が加わっております。ここもよろしいですか。久保田専門委員、よろしいですか。

○久保田専門委員 はい。

○福島座長 ほかの先生よろしいですね。

それでは、体内動態のところに入りまして、8 ページで一部字句の訂正がございます。ここも良いですね。

（「はい」と声あり）

○福島座長 9 ページで、毒性のところですよ。ここで訂正されておりますのは、10 ページのところであります。確認したいのは、反復投与毒性、10 ページに記載しております①のマウスの試験、この試験で加えましたのは、15、16 行目の「本調査会としては、組織学的な検査成績が不明であることから、NOAEL の正確な評価が不可能と考える」としました。

これは前回、NOAEL を取るかどうかというディスカッションをしまして、原著の方を見ましても、組織学的な変化が一切記載していないということ。したがって、NOAEL の参考にはなりませんね、取れませんねということで、そういうことになっております。それをこのような文字で表現したということでございます。

梅村専門委員、よろしいですか。

○梅村専門委員 はい。

○福島座長 ②のラットは大幅に変更になっております。中江専門委員に変更を見てもらって、了解しましたということになっておりますけれども、主なところは、25 行目からです。

「原著論文の著者は、4.0%を NOAEL としながらも、肝臓・腎臓の比重量の増加について、統計学的に有意であるか極めて軽微であり、臓器の組織学的変化もないことから、生物学的意義が少ないものと評価し、8.0%の投与によっても毒性影響が発現する可能性が極めて低いと考察している。JECFA は、本試験の結果を ADI 設定の根拠としていない」としました。

この点については、よろしいですか。ここもディスカッションした結果、このような記載になったということです。改めて確認したいと思いますけれども、よろしいですね。

もう一つ重要なことは、31 行目のところですが「本調査会としては、それらに加えて肝臓及び腎臓重量の記載がないことから、NOAEL の正確な評価が不可能と考える」というのが我々の、JECFA 以外に加えたことであります。

よろしいですね。では、次に行きます。

11 ページ 20 行目「(3) 発がん性」のところですよ。そのところに関しましては、言葉として、いずれもこれは発がん性試験ですから、腫瘍の発生を認めなかったという前に、被験物質投与による腫瘍の発生を認めなかったということで、発がん性が陰性であるということを明確にしたということでもあります。

このような記載方法は、以下もずっと統一しております。

11 ページの 36 行目のところは、単なるミスで 7,500 を入れたということです。

12 ページは、梅村専門委員いかがでしょうか。

○梅村専門委員 12 ページ、24 行目からの試験についてだと思うのですけれども、この試験自体が当時の厚生省の科学研究費で行われた試験で、たしか投与期間がきっちり書いていなかったと記憶しております。実は前回のこの会議を私は欠席していたので、よくわからないのですけれども、少なくとも脚注の記載で、厚生省科学研究での取り決めにより行われたと、そのような取り決めというのが大体存在していないのではないかという話になりまして、こんな取り決めはないと思うのです。ただ、厚生省の科研費で行った試験だということであって、想像すれば当然そういうのは当時の発がんのガイドラインに沿っているものだろうと思うのですけれども、データ自身恐らく信頼のおけるものだと思いますが、このような記載をしてしまうと、このような取り決めがあるような誤解を与えてしまうので、できればこの脚注の表現は削除された方がよいのではないかと考えております。

○福島座長 梅村専門委員の言われるように、取り決めはないです。私も記憶をたどりますと、厚労科研での発がん性研究というのは、小田島先生が病理部長のときに始まって、次に林先生に主任研究者が移っているのです。最初、小田島先生のスタートのときに、書類にはないのですけれども、研究がスタートするときに、ネズミの週齢に関しては、5～7 週齢にしましょう。1 群は何匹にしましょう。投与期間は 104 週にしましょうというような、一応内々のディスカッションをして決めたということであり、文字には一切ないと思うのです。その後、この厚労科研の試験というのは、現在まで脈々として行われておりますけれども、104 週ということをやっております。

そういう意味からすると、投与期間がレポートの方に明記されていないというのは、その分担者の責任でもあり、主任研究者の責任でもあるということになりますけれども、104 週であるということには間違いはない。あえてここには投与期間が明記されていないと何回も書かなくても、我々としてはこれについても、要するに被験物質投与による腫瘍の発生は認めなかったということは了解してもよいと思います。

梅村専門委員が言われるように、脚注のようなことは書かない方がいいだろうと思います。よろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○福島座長 それでは、そういうことにいたします。

12 ページ、13 ページでいかがでしょうか。

私から 1 つ提案したいのですが、12 ページの 35 行目からの研究です。ソルビン酸カリウムの SD ラットを用いた 104 週間混餌投与試験です。このところで、13 ページの方に行きますと、104 週間混餌投与し、その後 1 週間経過を観察した試験においては、雄の

5.0%投与群で体重増加抑制を示し云々と書いてあります。

ところが、実際にはそうではないことがわかりまして、104週の前のところで体重増加抑制があったらしいということがわかりました。

いずれにしても、この発がん性試験で、腫瘍発生に関しては被験物質投与による影響を認めず、発がん性の結論はネガティブですので、体重増加抑制云々という記載は、事務局にらせていただいて、字句の修正をしたいと思います。

腫瘍の発生に関しては、影響はネガティブであるという結論です。

○梅村専門委員 104週が終わってから105週の間ではなくて、確かにこれは5%投与群の雄ではなくて、雌なのですが。

○福島座長 雌雄ではないのですか。

○梅村専門委員 雌では投与後30週目から抑制が見られた。これは83番の文献です。雄に関しては、記載のままですと92週目以降に2.5%群で減少なのです。

○福島座長 私の記憶違いですね。

○梅村専門委員 雄での体重減少が同じ92週目以降から摂餌量ががたと落ちたという記載も同時にあって、いずれにしてもそういう記載です。

○福島座長 104週の混餌投与試験において、雌の30週以後ということですか。

○梅村専門委員 5%投与群に関してはです。雄は2.5%投与群で92週目以降です。

○福島座長 わかりました。そこは事務局でしっかり確認していただけますか。今の梅村専門委員の言われたこと。別に先生を疑っているわけでありませんが、確認して、先生の言われるような記載に直したいと思います。

もう一度確認しますが、発がん性はなかったということです。よろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○福島座長 次は13ページの27行目です。「本調査会としては」のところで「JECFA及びFDAの評価資料における記載に矛盾があり、また」というところまでは削除して、「本試験結果は非公表でありその詳細を確認できないことから、NOAELの正確の評価は不可能と考える」ということで、18～26行目までの試験については、NOAELを求めないということにしました。これはもう一度確認です。

13ページ31行目から、14ページの4行目までの試験です。試験で用いられる最高用量であります5%のソルビン酸を1,000日間、3年弱投与しているという実験です。それぞれの生殖毒性試験で、成長・一般状態・生存期間・繁殖性に差が全くなかったということでございます。

また、第2世代のラットで、これは5%だけですけれども、そちらについても変化が認められなかったということです。

前回のこの調査会でこれについてはNOAELを十分求め得るということに至ったと思います。

この記載からしますと、NOAELは2,500 mg/kg 体重/日となります。そのことをここには書いておりませんが、ここに記載したいと思います。NOAELは幾つであるということです。基本的に、これまで求め得るNOAELについては書くことになっていますので、これは書いていきたいということでもあります。

さかのぼりますけれども、NOAELのことになりますと、11ページに戻って、9行目①ラットです。ここでは被験物質投与による毒性影響を認めなかったということで、これはNOAELが求められるのではないかということになると思うのですが、ソルビン酸カリウムのところで10%、次のイヌのところでも2%で取れるのですが、10%でやっても影響がないということで、実際にNOAELを求められない。昔で言えば10%超という表現になるのですね。20%かもわかりません。30%かもわかりませんということなのです。そういうことから言うと、ここについては、NOAELはあえて書かないことにしておきたいと思います。

同じことが、14ページの生殖発生毒性試験のところで、6行目の「ソルビン酸カリウム」と14行目のWistarラットでの2つの試験です。前はCD1マウス、2つ目がWistar系ラット、いずれも最高用量で変化が出ていません。そうしますと、NOAELは460、340ですかということになるのですが、1,000 mg/kg かもわかりませんし、2,000 かもしれないということなのです。

したがって、このところも、あえてNOAELを求めなくてもいいだろうと私は解釈します。そこら辺のところについて、御意見があったらいただきたいのです。

○石塚専門委員 今までですとNOAELは460 mg/kg 以上とか、何とか以上とか決めたことがあったかと思うのですが、今回は特にそれは必要ないということですか。

○福島座長 前にそういうことがありましたか。昔は「超」ということも使っていました。事務局どうですか。そういうのを使っていましたか。

○蛭田課長補佐 そういう例は今のところないと思います。福島座長がおっしゃった「超」というものを含めて、例えば2,500であれば、2,500 mg/kg ということでNOAELを取っていただいております。

○梅村専門委員 そうすると、最高用量に変化が出なかった場合は、ADIの根拠になるような試験としては使えないという考え方ですか。

○福島座長 この場合、一番重要視したのは、先ほどの2世代の試験で1,000日間の試験です。これも上ではないかということになると思うのですが、しかし1,000日間もやって、最高用量の5%という量をして、水に混ぜた場合は5%というのが一応ガイドライン上基本となっています。それでも変化がないから、これはむしろ2,500以上とやらなくても、5%ということで切っていいだろうという考えです。

ほかのものに関しては、例えば14ページ目のソルビン酸カリウムを投与したCD1マウスでは、強制投与で460となっておりますけれども、餌に換算したらもっと低い、5%以下だろうということになるのです。そういう意味で、あえて書かなくてもいいだろうと考えたのです。

よろしいですか。

(「はい」と声あり)

○福島座長 それでは、そういうふういたします。

14ページ、21行目以下で「(5) 遺伝毒性」のところですか。ここは林先生に既に見ていただいたということで、前回も遺伝毒性については特段問題ありませんね、ということで終わっていると思います。

先生方に確認したいのは16ページ、15行目「24時間保存サンプルでは小核出現頻度の増加が見られた」です。しかし、普通こんなことをしませんねということで、林先生としてはこんなのは削除すべきであるということで、陰性だった、それでよろしいでしょうということですが、よろしいですか。

(「はい」と声あり)

○福島座長 ありがとうございます。

それから、16ページの32~36行目のDNA切断試験。これも削除したというか、後ろへ持って行ったということです。17ページに持って行っています。

そして最終結論として、19行目の最後のところですが、これも「ソルビン酸カルシウムには生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた」という結論にしたいと思います。

よろしいですね。

18ページ、腫瘍な発生は認められなかったとか、一部字句の訂正があります。その辺りはよろしいですか。

19ページのところも、発がん性に関しては、被験物質投与による腫瘍の発生を認めなかった。

生殖発生毒性のところも一部字句の修正をしております。

19～20 行目、ソルビン酸類と亜硝酸塩の組み合わせです。その結果が記載されております。

20～22 ページの「ヒトにおける知見」までのところですが、御意見ございますか。

ないようでしたら、「ヒトにおける知見」に入ります。そこでの訂正は「5. 一日摂取量の推計等」のところを、JECFA を入れたということと、「されている」を「である」に直したということとあります。これに関しては吉池先生の方から、これで結構ですという回答をいただいております。よろしいですね。

23 ページに行きまして、米国における評価を一部変えております。文献を追加したということとあります。よろしいですか。

24 ページの EU における評価で 24 行目、一部字句の訂正をしております。

26 ページ以後、テーブルのところを一部修正しております。

文献も追加して、42 ページのところに、追加文献という形で入れております。

文献については、ナンバリングをきちっとしていただけるわけですね。お願いいたします。

御意見ございますか。

○廣瀬委員 12 ページの下から 2 行目からの実験で、雌の 5 % 投与群で 30 週から体重増加抑制が見られたということは、この試験での LOAEL が 2,500 になるということではないのですか。

○福島座長 これで LOAEL、NOAEL を求めるかということなのですが、私としては、これは発がん性試験であるということと、原著を探しても、血液生化学のデータが全くないのです。

したがって、LOAEL、NOAEL を求めない方がいいだろうと思っています。

○廣瀬委員 5 % で有意差があるかどうかはわかりませんが、体重増加抑制が見られていることは確実なわけですね。

○梅村専門委員 この時点の記載だけでいきますと、30 週目ごろより体重増加の抑制が見られるようになり、曖昧な表現なのです。最終的には 12% の減少があったということです。

○廣瀬委員 有意差検定はやっていないのですか。

○梅村専門委員 その記載はありません。

○福島座長 ここでは血液及び生化学検査や、臓器また云々については認めなかったとい

うことで、実際に生化学のデータはないです。

○梅村専門委員　ないです。ただ腫瘍は陰性です。

○福島座長　それから、血液生化学のデータは一切ないです。

○廣瀬委員　それで言うと、2世代試験でも同様に、慢性毒性とは違い十分なデータはないはずです。

○福島座長　片方の方は1,000日です。

○廣瀬委員　1,000日かもしれないけれども、ラットのストレインも違うかもしれない。

○福島座長　ましてや、生殖発生毒性試験では普通求めません。あくまでもこちらの方は、発がん性試験では、普通発がん性試験をやるけれども、血液生化学データを求めますね。

○廣瀬委員　これは用量が2つだけの発がん性試験ですから、生化学試験はやっていないかもしれませんが、さっきも言ったように、5%で有意ならの話ですけれども、体重増加抑制が見られることは確かだということになると、LOAELが2,500ということにならざるを得ないのかなという気はしているのです。

○福島座長　そうすると、わざわざこういうものにLOAELを求めるということですか。

○廣瀬委員　それは当然ではないのですか。

○福島座長　これは発がん性試験となっています。発がん性／一般毒性併合試験という扱いにはなっていません。

○廣瀬委員　でも、できる限り多くの情報をそういう試験から取ることは非常に重要なことだと思います。

○福島座長　ただし、きちっとした値がある場合には、今、先生が言われるような形で求めていくことは良いと思うのです。

○廣瀬委員　体重増加抑制が本当に正しいのかどうか。そこがクリティカルなポイントになると思うのです。これは単に傾向であって、有意差もないということであれば、それはそれで構わないと思うのです。

○梅村専門委員　その辺のデータはないということです。

○廣瀬委員　それでは、仕方がないでしょう。

○福島座長　廣瀬先生が言われるように、それはそうだと思うのです。

○廣瀬委員　そうなら、ここに体重増加抑制があったけれども、有意差はなかったとか、有意差は検討していないとか、そういうことを入れておけば、次の2世代試験で2,500がNOAELだということでは納得はできるかと思うのです。

○福島座長　それでは、その中に入れておきますか。要するに、有意差検定の結果の記載

がないということです。それはより正確になりますから、入れますか。それから、データ不足のことも入れますか。入れても良いですよ。そこら辺、反対に廣瀬先生の御見解を聞かせたいと思います。

○廣瀬委員 有意差検定が行われていなくて、試験全体の信頼性というかね。

○福島座長 今、ここで問題になっているのは、体重増加抑制が云々ということですから、有意差検定の結果の記載はないということを入れましょう。

○梅村専門委員 ほかの試験のところでも、所見がないという記載で、NOAEL を使わなかったという記載があるので、そういう意味でこの試験も本当のデータが出ているのは、腫瘍のインシデンスだけなので、血液生化学等も含めて、ほかのものと同様に、その辺りのデータがちゃんと出ていないということを含めての記載を一言入れれば良いのではないのでしょうか。

○福島座長 すべてについてですね。わかりました。

○梅村専門委員 ただ、発がん性がなかったということだけは、この試験で明らかになっています。

○福島座長 そうすると、体重、血液生化学、臓器重量等については、正確なデータがない。記載がないというようにしましょうか。それでよろしいですか。

(「はい」と声あり)

○福島座長 ほかは良いですか。

そうしましたら、まとめに入りたいと思います。

ソルビン酸カルシウム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とりまとめたいと思います。ソルビン酸カルシウムについて審議を行った結果、ADI を設定できるということによろしいでしょうか。ADI の設定が可かどうかということです。よろしいですね。

(「はい」と声あり)

○福島座長 ありがとうございます。

そうしますと、今度は ADI を幾つにするかということでもあります。ずっと審議していただいた結果から、ADI を先ほどの 13 ページの 31 行目以下の実験、ソルビン酸の雌雄のラットを用いた生殖発生毒性試験としますか、その試験から NOAEL を 2,500 mg/kg 体重/日というふうにしたいと思います。よろしいですか。

NOAEL がそれですから、ADI は安全係数 100 をとって、25 mg/kg 体重/日にしたいと思います。よろしいですか。

結論としますと、JECFA が用いた ADI の設定根拠と一部違いますが、量的には一緒という形になります。

もう一度確認しますが、このソルビン酸カルシウムの ADI を 25 mg/kg 体重/日と設定するというにしたいと思います。よろしいですね。

（「はい」と声あり）

○福島座長 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して、食品安全委員会に報告したいと思いますが、よろしいですか。

（「はい」と声あり）

○福島座長 それでは、本件に関する評価の報告書を作成して、一部字句の訂正がありますので、この報告書については、事務局にお任せいただき、食品安全委員会に報告することにいたします。

その報告書の原案の作成は、事務局に書いていただいて、私がしっかり見るということ、座長に御一任いただきたいと思います。

また、本日の審議を踏まえ、報告書に盛り込むべきとお考えの事項については、事務局に御連絡いただくようお願いいたします。よろしくお願いいたします。

そうしましたら、事務局から今後の進め方について説明していただけますか。

○蛭田課長補佐 先生方には、評価の報告書（案）ができ次第、その確認をしたいと思います。御確認いただきました報告書（案）につきましては、食品安全委員会に報告した後、ホームページ等を通じまして、広く意見の募集を行う予定でございます。

いただいた意見等につきましては、座長と相談させていただきたいと考えております。

○福島座長 それでは、議題 2 に入りたいと思います。宇理須先生、手島先生、よろしくお願いいたします。

それでは、議題 2 に入らせていただきます。「プロテイングルタミナーゼに係る食品健康影響評価について」でございます。

○蛭田課長補佐 資料 2－1、資料 2－2 に基づきまして、その概要を御説明させていただきます。

プロテイングルタミナーゼにつきましては、前回、第 60 回添加物専門調査会において御審議いただき、生産菌の安全性のところまで御審議をいただいているところでございます。まず、資料 2－1 の 5 ページを御覧になっていただきます。

5 ページの脚注でございますけれども、酵素活性の単位の定義を追記したところでございます。

6 ページの 2 行目から、酵素の反応を示した式でございますが、専門委員からおかしいという御指摘をいただきまして、中島専門委員と御相談の上、一部修正させていただいております。

6 ページの 24 行目以降、DSMZ 分類というものがございまして、これにつきましては、専門調査会として判断しないということでございまして、要請者の類推の部分を削除するという御指摘をいただいたものでございます。

7 ページの 3 行目以降につきましては、要請者の方で、この生産菌を継代維持している中で関係者に健康上の問題はなかったという記載でございますけれども、本評価書の「ヒトにおける知見」という部分に移行することとされましたので、ここの部分については削除しております。

8 ページ、22 行目以降でございます。今回提出いただきました。マウスの試験の結果をこの非病原性の確認という部分について、詳細に記載する形にしております。

結論といたしましては、この評価書の 30～31 行目のところでございますが、通常の動物においては、病原性は緑膿菌と比べて、極めて低いと考えられるというものになっております。

9 ページ、19 行目、本調査会の結論を記載しているところでございます。

前回の御審議はここまででございますけれども、これ以降につきましても、専門参考人の先生方から事前にいただいた御意見を踏まえて修正を行っております。

10 ページ、12～13 行目までの御修正でございますけれども、本酵素が消化管内で速やかに分解され、食品常在成分と同一になるという記載でございましたが、この食品常在成分をどこまで言うのかという御質問があつて、必ずしもすべてアミノ酸になるわけではない。ということで、この部分を削除したところでございます。

12 ページ、18 行目以降、今回専門参考人の先生方に御出席いただいておりますが、アレルギー誘発性の部分でございます。この評価書においては、遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準に従いまして、ここに記載しておりますとおり、既知のアレルゲンと相同性の比較でありますとか、人工胃液、腸液における分解実験、更に熱への安定性という形で整理をしているところでございます。

今回追加資料といたしまして、資料 2-2 が提出されております。そちらを御覧になっていただけますでしょうか。

こちらは、プロテイングルタミナーゼを加熱処理した場合の反応性に関するものでございます。

プロテイングルタミナーゼを加熱処理もしくは煮沸処理ということで、ここで 70℃、30 分、100℃、10 分ということでそれぞれ行っておりますけれども、処理した後に、ドットブロットウェスタン解析及び ELISA 解析を行ったところ、いずれの場合でも免疫反応性が低下したということでございます。

この内容をこの評価書の 14 ページになりますけれども、28 行目から追記したということでございます。

その他、こちらのアレルギー性のものについては、事前に先生方から御意見をいただいたので修正をさせていただいております。

この評価書上は、14 ページの 36 行目から「4. ヒトにおける知見」ということで、前の部分に記載していたものを移動したということでございます。

最後でございますけれども、専門参考人の方から、事前に御意見をいただいておりますので御紹介させていただきます。

1 点目、先ほどもございましたけれども、本評価書の 9 ページの 29 行目の食品常在成分というところ、更に 10 ページの 13 行目の食品常在成分というところでございますけれども、この食品常在成分について、低分子になることを言っているのか、アミノ酸になることを言っているのかよくわからないということで、酵素の試験の省略条件について、アレルギーの観点からは、消化管内で分解しやすいことが確認できるという場合のところまでと思われるということでございます。

このところについては、毒性の先生方にも御意見をいただきたいということをお願いしております。

2 点目でございますけれども、夾雑物のアレルギー誘発性に関するものでございます。前回、山添専門委員の方から、酵素以外の、今回のプロテイングルタミナーゼ以外の、夾雑物の安全性の問題について御指摘をいただいております。これに対して要請者の方から回答をいただいておりますので、かいつまんで御説明いたします。

夾雑タンパクによるアレルギー誘発性の有無については、各食品の非プロテイングルタミナーゼタンパクの濃度を計算したところ、最大値が 0.863 $\mu\text{g/g}$ であり、これは厚生労働省がアレルギー物質を含む食品に関する表示についてに示されている、一般にアレルギーを起こし得るアレルギー物質の含有量に比べて低いということです。

更にプロテイングルタミナーゼを用いた毒性試験においても、アレルギー性をうかがわせる所見は認められておらず、プロテイングルタミナーゼ及び夾雑タンパクによるアレルギー誘発性の可能性は低いと考えられるということでございます。

以上でございます。

○福島座長 それでは、これから審議に入ります。前回までのところで直っているところ、それから、これから審議するところでも一部訂正が加わっております。

審議の仕方ですが、先ほど、全体について蛭田課長補佐から説明してもらいましたが、生産菌の病原性については、今日これから審議していただきますアレルギーのことを審議した後、審議するという方法をとりたいと思います。

今日は、宇理須先生と手島先生に来ていただいておりますので、アレルギーの方を先に審議するということでもあります。そういうことで行きたいと思いますので、よろしくお願いいたします。

一つだけ、評価対象品目の概要というところを確認したいと思います。5、6ページの辺りについて、久保田先生いかがですか。

○久保田専門委員 これは非常に適切な追記だと思います。酵素活性というのは測り方によっていろいろですから、適切に記載した方がよいと思います。

○福島座長 次のところもどうですか。

○久保田専門委員 その次も、それで結構でございます。

○福島座長 7ページもこういう形でよろしいですか。そうすると、8ページの12行目まではよろしいですね。

○久保田専門委員 私の方は結構です。

○福島座長 ほかの先生方よろしいですか。このように訂正になったということです。

○本間委員 酵素活性の基質は何を使っているのですか。

○久保田専門委員 下の方に註がございます。こういうものが加わったということで、適切な訂正ではないかと思います。

○福島座長 ありがとうございます。

そうしましたら、8ページの13行目以降について、これからディスカッションしていただきますが、まず、9ページの22行目以降「2. 酵素の消化管内での分解性等」。それが11ページの6行目まであります。酵素の毒性のところは後回しにしまして、12ページの「(3) アレルギー誘発性」について、これから議論していただきたいと思います。

それでは、最初に手島先生から御意見をいただいて、引き続き、宇理須先生にお願いしたいと思います。それから、頭金先生からも後で御意見をいただきたいと思います。

それでは、手島先生お願いいたします。

○手島参考人 それでは、アレルギー誘発性の試験のところ、12ページの18行目から

のところを説明させていただきます。

この申請者は、アレルギー誘発性の評価を遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準に従って行ったとあります。実際、遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準の中には、アレルギー誘発性試験の細かい項目というのは書かれてはいないので、実際には種子植物の安全性基準の中のアレルギー誘発性の試験の項目があるのですが、それに基づいて行われているということでございます。

その種子植物の場合の安全性基準のアレルギー誘発性の中でも、産生されたタンパク質の既知のアレルゲンと相同性の検索をするということ。

そのタンパク質が、人工胃液とか、腸液での分解性がよいということ。それから、物理的に安定であるかどうかということ調べるようになっておりまして、今回申請者らが検討している2つの項目というのは、妥当な項目であると考えます。

個々の項目の解析結果についての解説を行いたいと思います。

最初に、既知のアレルゲンとの一次配列の相同性の比較ということでございますが、これは27行目からでございます。タンパク質を既存のアレルゲンのデータベースとの相同性検索を行ったということで、4つのデータベースの検索サイトを用いております。

そして、相同性検索の基準といたしましては、35行目からになります。1つは、6、7及び8アミノ酸の連続一致検索、これは部分配列が一致するところがあるかどうかというものを検索するものであります。

2番目が、80アミノ酸スライディングウインドウ検索で、35%以上の相同性を示すものの検索を行ったということで、これは比較的広いタンパク質の相同性を見るという方法でございます。

13ページ、まず部分アミノ酸の配列結果の相同性の結果からは、13ページの3行目、連続6アミノ酸の一致が3件認められています。あと7及び8アミノ酸の一致は認められていないということであります。連続6アミノ酸が一致して3件は、卵由来のオボムコイド、ラテックスアレルゲンであるクラスIキチナーゼ、それから、かびの *Aspergillus fumigatus* 由来の機能未知タンパク質、Aspf9 と Aspf16 ということでございます。

この6残基が一致した3つのタンパク質と、今回のタンパク質の全体の一次構造の相同性は認められていないということであります。

80アミノ酸スライディングウインドウ検索の結果からも、35%以上の相同性は認められなかったということで、この6アミノ酸一致タンパク質については、部分的な一致は認められるのですけれども、タンパク全体としての相同性は極めて低いということで、相同性

という意味では、かなり低いという可能性が考えられたのですが、こういう部分アミノ酸が一致したという場合には、エピトープになり得るかということを考察するということが必要になってまいるわけで、14 ページになりますけれども、連続 6 アミノ酸の一致した部分が、エピトープとして知られているものであるかどうかということ調べております。

14 ページ目の 3 行目になりますけれども、クラス I キチナーゼ、オボムコイド、それから、かびの *Aspergillus*、どれにおきましても、この 6 アミノ酸が明らかなエピトープであるということが報告されていないということが書かれています。

11 行目になりますけれども、この 6 残基がタンパク質の中では 1 個しか存在しない。通常は、抗原となるにはタンパク質の中に 2 つ以上存在するということが 1 つの条件になるわけですが、それは満たしていないということでございまして、6 残基の一致は見られましたが、このタンパク質がアレルギー様誘発するであろうという可能性はかなり低いと考えます。

14 ページの 18 行目になりますけれども、人工胃液及び人工腸液での分解実験の結果でございます。アレルゲンタンパク質の場合は、消化性に対して抵抗性があるという傾向がありますので、分解消化性に対して、どのような結果を示すかということが非常に重要なポイントになるわけです。

まず、人工胃液の実験系の中で、pH1.2 という条件の中で 0.5 分後に、ほとんどのタンパク質が分解され、2,500Da 以下のペプチド、又はアミノ酸レベルに分解されているということでございます。

1 分以内での分解というのは非常に早い分解ということで考えておりまして、そういう意味で、消化性が早いタンパク質であると考えられました。

もう一つ、物理的な安定性ということで、加熱処理の実験を 3 番で行っております。25 行目でございしますが、70℃、1 時間の酵素活性が消失するという条件の中で、先ほど蛭田課長補佐から御説明がありましたけれども、配付資料 2-2 で、ドットブロットウェスタン解析、ELISA 解析、これは抗体とのタンパクの反応を見るものですが、その反応性が低下しているということで、免疫反応性が低下していることが示されております。

このことから、既知のアレルゲンとの相同性が低いということ。

それから、物理的実験をしたときに、それに対する抵抗性が低いということがございますので、本品のアレルゲン性は極めて低いということで、この結果で妥当であると考えております。

夾雑物等の話がありますので、そこのところは、宇理須先生の方からお願いします。

○福島座長 手島先生、こちらの方は宇理須先生にお話しいただけるのですか。9ページの酵素の消化管内での分解性等の辺りはどうですか。

○手島参考人 遺伝子組換えの方のアレルギー誘発性試験の中では、人工腸液、人工胃液の実験というのは、アレルギー誘発性の方に入ってきているところであるのですが、今回の場合、前の方に出されてきているということでございますけれども、酵素の消化管内での分解性ということで、通常用いるのが人工胃液であります。それが9ページの上の方に書かれているということですので、9ページの32行目からなのですが、SGFという人工胃液、pH1.2という条件でございます。

人工胃液による分解というのは、10ページの4行目でございますが、pH1.2で反応開始後0.5分で、pH2.0で5分後に2,500Da以下のペプチド又はアミノ酸レベルに分解されたとあります。

ここで用いている人工胃液の方は、ILSIのバリデーション試験で行って条件で行っております。この場合には、分解されやすいタンパクとして、ハウレンソウのルビスコを、分解されにくいタンパクとして、卵白オボムコイドとラクトグロブリンを用い、それらを対照として比較し、分解がどの程度行われるかということを調べているわけですが、非常に分解されやすいルビスコと同程度の分解性を示した結果でございます。

人工腸液の方は、アメリカの薬局法に基づいた分解性試験を行っておりまして、これもルビスコ、卵白オボムコイドと同等の速やかな分解性を示したということで、この酵素が人工胃液、人工腸液の両方において、速やかに分解されるということが示されているものであります。

アレルギー性から考えますと、分解性が早いということは、それが抗原になる可能性は非常に低いわけで、アレルギー性誘発性は極めて低いと考えられるわけでありまして。

○福島座長 以上ですか。

○手島参考人 はい。

○福島座長 宇理須先生、お願いできますか。

○宇理須参考人 今の手島先生の追加をさせていただきたいと思います。6個のアミノ酸が一致していたところがございます。それから、14ページの上から6行目、卵由来のオボムコイドにおいては、複数の研究報告を総合したところ、推定エпитープが含まれていたとなっているのですが、これを実際に見てみますと、データベースによっては拾っていないデータベースもあるのです。実際のデータを見ると、エピトープのところは、途

中に3つ余分なものが入っていて、そこも省いて見ると一致しているということなのです。

そういう意味では、このオボムコイドに関しても、含まれているとはっきり断言しない方がよいのではないかなと思います。その辺、手島先生たちがつくられたデータベースと他の国がつくっているデータベースの違いなので、手島先生の意見も聞かないといけないかなと思いますが、そういうことから、このオボムコイドに関しましても、含まれていたと断言する必要があるのかどうかということは疑問に思いました。

14 ページ（3）の11行目、1個のエピトープしかない場合には惹起しないという文言がございますけれども、これは正しいことですが、我々臨床医からいたしますと、複数のものに対してアレルギーを持っている患者さんがおられるわけです。そうしますと、1つのタンパク質には、1個しかないわけですが、複数のアレルゲンに対してアレルギーを持っている患者さんがおられれば、1個の場合でも、複数あってもクロスリンクしないから大丈夫ですね。

あとは重合という現象があるので、1個だから大丈夫とは言えないと我々は理解をしています。確かに1分子に1個であれば、肥満細胞上のIgEをクロスリンクすることはできないのですが、タンパク質が、運悪く複合物をつくった場合には、惹起し得るということで、1個だから大丈夫ですよという論理は、組換え食物のときには使ってはけません。

もう一つ、蛭田課長補佐の方から御指摘がありました夾雑物の件ですが、この製品は、プロテイングルタミナーゼは95%で、5%の夾雑物があるという話でございました。

その件ですが、その夾雑物に関する安全性の根拠といたしまして、私たちがいただいた資料によりますと、非プロテイングルタミナーゼの食品中の含量が1g当たり0.863 $\mu\text{g/g}$ と非常に微量だということと、もう一つは、毒性試験で異常な反応が起きなかったということが根拠のように聞きましたけれども、ちょっとそこは当てはまらないのではないかと思います。

と申しますのは、アレルゲンの惹起というときには、2つの過程があるのです。1つは、感作を引き起こすかどうかという感作能です。

もう一つは、感作が成立したあとにもう一度アレルゲンが体内に入ると起こるアレルギーの惹起能、この2つがあるのです。そして惹起能に関しましては、これも推測なのですが、WHOでそういった会議があったときにも議論になったのですが、きちんとしたエビデンスは今のところありません。推測ですが、ngでは惹起は多分しないだろう。mgではするだろう。その中間で μg ではないかということで、 μg という数値が出てきてい

るのです。

しかし、もう一つの感作能という観点からいたしますと、非常に微量でも起こし得る。ですから、その閾値のようなものを言うのは無理だということになっているのです。

そういったようなこともありますし、もう一つは、組換えの指針の中にも、量が少ないからアレルギーは大丈夫だろうという論理は使っていません。

先ほど、表示の方では 10 $\mu\text{g/g}$ という表示をする、しないの閾値になっているわけですが、それを決定したところに私は出ていないのですが、聞くところによりますと、先ほどのような惹起能というようなところで μg をオーダーであろうということで、測定ができるような値、いろいろなことを考えて、10 $\mu\text{g/g}$ という数値が出たと聞いております。

そういう意味でこの感作能にいたしましても、惹起能にいたしましても、だれもが認めるようなコンセンサスのある、きちんとした数値というのはいないのです。

そういうことから、微量だから大丈夫だろうということは言えないのではないかとということが一つです。

それから、毒性試験でアレルギー反応を起こさなかったから大丈夫だろうというのも、これは毒性試験を見る検査であって、アレルギーを見る検査ではないわけです。

動物モデルというのも、アレルゲン性評価ということでいろいろな評価が検討されておりますけれども、現時点において動物モデルを用いたアレルギー性の評価かというものがまだ確立したものがないという現状です。

そういう意味で、この夾雑物というものを量の問題と毒性試験の2つで大丈夫だろうというには、やはり不十分ではないかと思えます。

この調査会で、非プロテイングルタミナーゼである夾雑物を評価しなければいけないという結論であるならば、先ほどのような、物理生化学的な抵抗性はどうとか、あるいはそれがタンパクであれば、食経験があるかないとか、先ほどの手島先生がおっしゃったような評価をするのが妥当ではないかと思えます。

この調査会が夾雑物は評価の対象にしないというルールがあれば、またちょっと話が違ふのではないかと思います。

以上です。

○福島座長　ありがとうございます。宇理須先生の今の夾雑物の問題については、頭金先生に追加説明していただいた後でディスカッションしたいと思います。先生、お願いします。

○頭金専門委員 手島先生と宇理須先生の御説明でカバーされているかと思いますが、1点だけ追加させていただきます。消化管内での人工胃液及び人工腸液の分解実験についてですが、この酵素を人工胃液あるいは人工腸液と一定時間反応させた後、ゲルの電気泳動を行いまして、この酵素のバンドが消失したという検出方法を取っています。その際の分子量のスタンダードの一番小さなものが、2,500Da だったという実験でございます。

したがいまして、分解されたときにどこまで小さく分解されたかということについては、正確にはわからないということが言えるかと思います。

そこで、評価書案 14 ページの 21 行目～22 行目には、分解断片も検出されなかったという表現になっており、全ての酵素がアミノ酸まで完全に分解されたような印象がありますので、「2,500Da 以下のペプチド又はアミノ酸レベルに分解された」と修文いたしました。

10 ページの方の 5～6 行目に修文したと同様の表現があります。その点だけ追加させていただきます。

以上です。

○福島座長 ありがとうございます。

そうしますと、この本体、プロテイングルタミナーゼそのもののアレルギー惹起能に関しては、先ほど手島先生の方から構造相同性の試験データ、あと物理的な要因で加熱処理のデータから見ますと、惹起能はないだろうと言ってよろしいわけですか。

手島先生、本体に関してはそれでよろしいでしょうか。

○宇理須参考人 微妙な表現なのですがけれども、アレルギー性の評価ではアレルギー性がないと断定はしないことにしています。現時点において食経験のないようなものに関して、現在使える方法だけでアレルギー性はないと断定するほどの、確固とした評価法がまだないというのが現状です。そういう意味で、非常に低いとか、ちょっとあいまいな表現をするようにしています。

○福島座長 そうすると、14 ページの 32 行目のところに、ここでは本品のアレルギー誘発性について書いていますから、全体になってしまいますけれども、プロテイングルタミナーゼのアレルギー誘発性は極めて低いと結論できるということでよろしいわけですか。

○手島参考人 はい。よろしいと思います。

○福島座長 その点に関しまして、ほかの先生いかがでしょうか。御意見ございますか。

○石塚専門委員 手島先生からお話があった 14 ページの 7 行目の「推定エピトープが含まれていた」という文章は、変更されるのですか。

○手島参考人 我々のデータベースの中では、連続のエピトープとしては出てきておりま

せんので、エピトープにおいても、連続した形では含まれていなかったという形で、もう少し推敲する必要があるのと思うのですけれども、そういう形にさせていただければと思います。

○福島座長 その6行目ですけれども「複数の研究報告を総合したところ、推定エピトープが含まれていた」のところをどういうふうに修文するのですか。

○手島参考人 連続するアミノ酸としての推定エピトープは含まれていなかった。

○福島座長 わかりました。事務局よろしいですか。

○蛭田課長補佐 はい。

○福島座長 先ほど宇理須先生が言われました重合との問題で、(3)のところは何か修文が必要ですか。ここはこれで良いのですか。このとおりで良いのですね。

○宇理須参考人 これをもってして、アレルギー性云々というふうには言わない方がいいかなと思います。

○福島座長 もう一度確認しますが、このプロテイングルタミナーゼそのものに関するアレルギー誘発性は極めて低いということであります。そうすると、先ほど宇理須先生の言われた夾雑物の問題をどうするか。5%ですか。

○宇理須参考人 私がいただいたデータではそんなふうに書いてありましたけれども、こういった報告書には載っていないです。

○蛭田課長補佐 出ておりませんで、製剤の中の3%がタンパク質画分になっていて、その95%がプロテイングルタミナーゼ。残る5%が何かわからないけれども、タンパク質が含まれているということを要請者の方から聞いております。

○手島参考人 これに関しましては、特にプロテイングルタミナーゼ以外のタンパク質の分子量とか、そういうことのデータはないのですか。

○蛭田課長補佐 ないです。

○福島座長 その夾雑物は何であるかもわからないという状態ですか。

○蛭田課長補佐 聞いておるところによりますと、いわゆる既存添加物たる酵素に比べるとかなり高度な精製を行っているということで、そこまでは現時点でやっていないと聞いております。

○福島座長 先ほどの宇理須先生の言われる、アレルギー性夾雑物とアレルギー性の問題はどうか考えたらよろしいですか。

○宇理須参考人 これは後から添加したものではないわけです。菌体があって、そこから生成しているわけですから、そうすると菌体成分の可能性があるということでしょうか。

菌そのものは食経験がないわけです。恐らくですけども、菌由来であれば、食経験はない未知の物になるというわけですから、組換えですと、N末端アミノ酸配列を決めて、相同性検索をするとか、そういったことが必要になるのかもしれませんが。この調査会が今まで夾雑物というものをどのように扱ってこられたかというところも重要と思います。

○福島座長 この調査会でこういうような物質の評価というのは、今回初めてなのです。そういう意味で、今までと同じスタンスで良いかどうかということについては、またこれは検討する必要があると思うのです。

○蛭田課長補佐 酵素の評価自体は初めてでございますけれども、いわゆる化学物質の評価については、夾雑物、不純物についても安全性に影響を与えるものについては評価を行っておりますので、タンパク質を主成分とする酵素についても、安全性に影響を与えるということであれば、当然評価をするものと考えております。

○手島参考人 遺伝子組換えの場合は、食品添加物としての酵素の場合は、それがどのように生成されてきたかとか、あるいは最終産物の中に生産菌が残らないかとか、そういったものを報告してもらうという項目があるのですけれども、今回の申請書でも、精製の過程というのが書かれていて、菌株はかなり除かれている。検体そのものは除かれているという過程だと思うのですけれども、その辺りは製造工程というものを厳密に書いていただいて、菌株の成分が本当に残っているかどうかということは、正確に調べていただく必要があるのかなと思います。

○福島座長 その辺りをきちっともう一度申請者の方で書いてもらって、この場に出してもらうという形になりますけれども、それでよろしいですか。

○蛭田課長補佐 どこまで詳しく聞くかという問題があると思います。それと、製造方法等にわたりますので、一部、製造工程に係る部分については非公開、委員の先生方限りということで御提出することになるかと思いますが、どこまで、どのくらい詳しく情報が必要かということ、御指示いただければと思います。

○福島座長 手島先生、遺伝子組換えの方の調査会で、そこでリクエストしている範囲内ということで理解して良いですか。

○手島参考人 そうですね。今回ですと、21 ページの図表の方で、菌株を除くというような操作があるので、菌体自身が十分取り除かれているということが示されればよろしいかと思います。組換えで要求しているような程度の製造方法を示していただければと思います。

○宇理須参考人 それは菌体そのものが入っていないということの証明であって、当然製

造過程において、菌体はある程度壊れて、そして菌体成分が入ってくる可能性があります。

5 %の夾雑物をこの調査会がどう問題視するかです。5 %をきちんとしなければいけないよということであれば、それはどういうものかというのが必要になってくると思います。

もう一つは、この酵素が食品の中に入ってくるかどうかということが大事だと思います。食品中に夾雑物も微量ながら入ってくると事業者は報告しています。そういう意味で食するわけです。それなりの評価は必要なのではないかと私は思いました。

○福島座長 そうすると、手島先生の出し得る情報までは申請者から出してもらうということですね。

もう一点、夾雑物をどこまでということですが、基本的な一般毒性に関しましては、先ほど蛭田課長補佐も申しましたが、不純物等が含まれておりましたね。それについて我々は評価しております。ですから、私はアレルギーのところについては専門外ですけども、やはり手島先生が言われるように、夾雑物とアレルギーの問題。そうすると、私もある程度きちっと調べなければならぬと思いますけれども、夾雑物が幾つかあるとする。高分子のもの、低分子のもと、いろいろあると思うのです。その範囲をどうするか。

例えば手島先生が先ほど言われたような、物理的な面、それから相同性の試験を夾雑物についてやるとすると、それをどこまでやるかという問題になってくると思うのです。どの程度のところまでやれば良いのか。その夾雑物がわかれば、そこで類推して、これはアレルギー惹起能がないだろうと結論づけられるか。低いと結論づけられるかということですか。その点はどうですか。

もう一つ、先ほど反復毒性の方で何も影響が出ていないからということですが、それは主体があくまでもプロテイングルタミナーゼですから、反復毒性の一般毒性についての夾雑物な影響を否定できるという形はおかしいと思います。当然、微量にしか入っていないわけですから、試験に用いた用量、そこに含まれている夾雑物の量というのは、低いと解釈できますから、それでも毒性はありませんよとは言えないと思うのです。

それは宇理須先生が言われたのと、私の考えとは同じです。

○梅村専門委員 今までは夾雑物に関する一般毒性の影響は、動物実験をもって。

○福島座長 例えばいろいろな発がん性に、夾雑物が非常に微量に不純物として含まれて、それとある程度一般毒性のときでも、データがないか疑われるときにはやっていませんでしたか。

○梅村専門委員 前日も頭金先生からコメントがあったかと思うのですけれども、全く新しい代謝物として体に入ったときに全く新しいものができたりするよなということでは

ない限りは、検体をもって、その中に含まれる夾雑物の一般毒性もそこで評価したという形でできているかと思うのです。

○頭金専門委員 ただ、その前提としては、種差がないということを以前の調査会の申し上げたことがあります。今回の場合にそれが当てはまるかどうかはわかりません。

○梅村専門委員 そうですね。アレルギーに関しては、楽観はできないと思います。

○福島座長 アレルギーの専門の先生以外からのコメントをお聞きしたいのですが、本間先生どうぞ。

○本間委員 宇理須先生おっしゃるように、これは早い話酵素反応させた後、例えば液を捨ててしまうとかいう場合と、これが全部入ってくる場合とで違うと思いますが、やはりこれ自身が、相手のタンパクも修飾したとき、その中に当然残るものである、そのところの見分けですね。それがもし本当に酵素反応をやって、沈殿等で回収して上澄みを捨てて、1回洗えば相当取れるのなら、心配は少なくなるとは思いますが、そこが確かでない場合には、やはり残るという想定を立てないといけないのではないかと私は思います。

○蛭田課長補佐 今、事業者の方から聞いている範囲では、基本的には食品の中に残ってくる。ただし、調理過程で加熱なり何なりされますから、このタンパクの形で残っているというよりは、もう少し分解された形で入っているようなことを聞いておりますけれども、一応現時点での一日の推定摂取量においては、タンパク質としてすべて残っているという仮定で、推定を出していただいております。

ですから、今の本間委員の御意見に従うと基本的には、食品の中に入ってくるという形でお考えになられた方がよろしいかと思います。

○福島座長 そうしますと、アレルギーの面から見て、もう一度両先生にお伺いいたしますが、夾雑物を同定する。更にその後、どういうものが同定されるかわかりませんが、それなりの相同性等のアレルギーに関する試験が必要でしようと考えてよろしいですか。そこら辺についてどうでしょうか。

○手島参考人 電気泳動でやって、プロテイングルタミナーゼ以外のバンドが見られるかどうかということがまずあると思うのです。何かタンパクが見られたら、それは何かというものの解析くらいの形はやっていくべきではないかと考えます。

○福島座長 今、手島先生の言われたのは、一般的にこういう場合は夾雑物について取る方法ですか。ちょっと教えていただきたいのですけれども、一般的でなくとも良いと思うのです。しっかりそこを突き止めておくことからすれば大事なことだと思うのです。

○手島参考人 そうですね。遺伝子組換えの方の、今までの添加物の酵素からいいました

のも、純度が問題なので、目的のタンパク以外のものが出てきてなかったのも、それ以外のタンパクが見られないことが1つの条件だったりしたこともあって、そういう意味で夾雑物を検査したことはないのですけれども、この添加物の場合に夾雑物があることがある程度前提があるとする、実際、遺伝子組換えの方ではそういったことをやってきてないのですけれども、やはり一般的には、どういうものか提出するべきではないかと思います。

○福島座長 どうぞ。

○宇理須参考人 遺伝子組換えのときに、比較する対照物があるのです。比較するものと比べて差がないとか、比較するものと比べて違うバンドがないとか、そういう比較する対照があったので比較的やりやすいと思うのですけれども、今回の場合は比較する対照がありません。菌が新しい菌だということがありますね。そこも確かに難しいところだなというふうには思います。

○福島座長 そうすると、いずれにしましても、どのような手法を取るにしても、夾雑物に関して、より詳細な、もう少し詳しいデータが欲しいということについてはよろしいですか。

この調査会として、そういうことを申請者にお願いしてよろしいでしょうか。ほかの先生方、いかがですか。

ただし、これは、現在、ディスカッションしておりますのは、あくまでアレルギーとの観点からの話であります。

わかりました。そうしましたら、先ほど提案がありました、宇理須先生と手島先生からの夾雑物の問題、そこについて申請者の方に、より詳しいデータを出してもらうということをお願いしたいと思います。よろしいですね。

(「はい」と声あり)

○福島座長 あとの論議は、そのデータが出てからになりますか。どうなのですか、宇理須先生、手島先生、アレルギーのところですね。

○宇理須参考人 本体に関しましては、ほぼ結論が出たと思いますので。

○手島参考人 夾雑物という話は、今の評価書の中には出てこないですね。

○福島座長 配付資料にも出てこないし、こちらの評価書にも出てきてないですね。

○蛭田課長補佐 今の95%の話であるとか、そこについても評価書の中に現時点でいただいている情報を反映させたいと思います。

○福島座長 本間先生、どうぞ。

○本間委員 たしか遺伝子組換えの調査会で出た話だと記憶しておりますけれども、あの

ときも、例えば新たなアミノ酸をつくって、こういう新しい菌をつくって出した場合に、そのときの条件は高度に精製された精製物ができるということが条件となっていたと思いますので、このときにやはり夾雑物の5%近いというのは、やはり量とすれば簡単に見逃せない対象物だという気がいたしますけれども、やはり内容。

○福島座長　どうぞ。

○日野事務局次長　組換えの場合は、非タンパク性のアミノ酸類等は、そういった観点で見えていますけれども、タンパク質、酵素製剤とかは、もともとの菌が従来の食品工業で使われていたような場合に、アミラーゼとか、そういったものを遺伝子組換えで同属の菌から持ってきたり、アミノ酸置換したりしてやった場合がありますので、先ほど先生がおっしゃっていた、比べる対照がありますし、非タンパク性のアミノ酸とか核酸の場合は、精製が簡単にできますので、非常に審査が楽になるということでやっています。けれども、今回の場合は宿主が食の経験がないということなので、組換え食品の基準外であり、宇理須先生と手島先生がおっしゃるように組換えがこうやっているから、これもこうやるというのは、なかなかできないのではないかと思います。

○福島座長　しかし、タンパクがあるかどうかは1つの目安になるわけですね。

○蛭田課長補佐　一応、タンパク質画分はあると、ただ、その中身はよくわからないということなので、それがもしかしたら、非常に高分子の、いわゆるアレルギー性になるようなものかもしれないし、もしくは分子量がかなり低くて、一般にはアレルギーとなるようなポテンシャルはないようなものなのかもしれないし、そこもわからないので、今のところは何とも言えないと思います。

○福島座長　わかりました。そうしますと、先ほどこの調査会として申請者をお願いする事項について、再提出された時点において、またこのことに関しまして議論する形にしたいと思います。また先生においでいただくことになりますけれども、よろしくお願いいたします。

どうぞ。

○井上専門委員　例えば医薬品の場合は、アレルギー性試験として、簡単な動物試験を実施します。

今回、そういうことはしないで、アミノ酸シーケンスから相同性を確認したり、エピトープの存在の可能性の有無からアレルギー性のあり・なしを推測するという形を取っていますね。こういうのが一般的なのですか。

というのは、私がもしメーカーの立場だったら、夾雑物が5%のものがどんなものかを

同定するのは、極めて困難だし、それだったら簡単な動物試験をやった方が早いという発想にいくのです。そういう見方はまずいことなのですか。

○手島参考人 タンパクに関しまして、動物試験で感受性が明らかに予測できるというのか、そういった動物レベルモデルがないということです。そういう意味では、まず相同性であるとか、タンパク質の安定性というところで見えておまして、動物モデルの本当に、アレルギー性を正確に反映できるモデルがあれば、その形が良いのですが、まだそういったモデルがないということで、今の段階では、まず相同性等でやっていくという形を取らざるを得ないということで、遺伝子組換えの場合は、その形を取ってきている。

○宇理須参考人 ちょっと追加させていただきますけれども、アレルギーという場合に、特に IgE がメディエートするアレルギーの場合に、そういったモデルがないということで、いわゆる遅延型ですね。ああいうものは、マウスの耳、耳下に添付するような方法が報告されていますね。そういう意味で、IgE がメディエートするようなモデルがないというふうに理解しております。

○福島座長 井上先生、よろしいですか。

○井上専門委員 はい。

○福島座長 わかりました。そうしますと、アレルギーのところについてのディスカッションは、これまでにしたいと思います。

先ほど後回しと言いました、前回のところ、8 ページの安全性に関わる知見の概要のところについて、これから議論したいと思います。事務局からお願いいたします。

○蛭田課長補佐 評価書の 8 ページのところでございますが、前回、マウスの実験結果から、生産菌の病原性について御審議をいただいたところでございます。その後、専門委員から対照群の設定、もしくは用量設定等の実験デザインとして十分でないところがあり、再試験して確認する必要があるのではないかと。また、今回、要請者の実施したマウスの実験で認められた肝臓の局所壊死について、発生機序はどのようなものか。細菌学的に、どういう意味があるのか確認すべきといった御意見をいただいております。

また、座長の方から、肝臓の局所壊死に関して、病理所見の写真の提出依頼がなされております。しかしながら、要請者の方から、得られた所見が巣状壊死のみで、特段重篤な所見でもないという判断を行い、病理所見の個別表を残して、病理切片、パラフィンブロックとも、事業者の通常の保存期限、5 年ということですが、それを終了したということで、廃棄されたという回答をいただいております。

したがいまして、写真は提出できないと回答いただいております。

次に、本日、御出席いただいておりますが、前回、専門参考人として御出席いただきました、国立医薬品食品衛生研究所の鎌田先生の方から御意見をいただいております。鎌田先生からの御意見でございますが、まず1番目に実験デザインに関するものでございます。申請者が用いた実験のデザイン上の不十分さは確かにある。非病原性と認知されているグラム陰性菌を実験に用いていれば、当該生産菌が、それと同程度の成績であった場合に、実験システムの妥当性が保証され、当該生産菌が病原性を持たないと判断できることになる。

一方で、当該生産菌を、 2.9×10^8 個も接種しながら、マウスが死亡しない、体重も変わらない、肝臓や腎臓から検出されないという所見も、当該生産菌の安全性を判断する上で、非常に重要な点である。すなわち、 2.9×10^8 個もグラム陰性菌を静脈内に投与すれば、グラム陰性菌が持つエンドトキシン等で、肝臓に軽度の変化は出るということも、一般論として十分に説得力があるということでございます。

第2に、実験に用いられた細菌の量に関する御意見でございます。細菌の病原性を疫学的に知られているヒトで病気を誘発する菌量で整理すると、以下のようになります。

赤痢菌でございますが、 10^1 個ということです。コロニーフォーミングユニットを、便宜上「個」ということで御説明させていただきます。

腸管出血性大腸菌O157が 10^2 個、ペスト菌が 10^2 個、コレラ菌が 10^3 個、黄色ブドウ球菌が $10^5 \sim 10^6$ 個、腸炎ビブリオが 10^6 個ということでございます。赤痢菌からコレラ菌は少ない菌で病気を起こすが、食中毒菌では $10^5 \sim 10^6$ 個程度とされている。

一方、当該生産菌の実験では、体重20gのマウスに 2.9×10^8 個を接種しております。仮に、成人60kgのヒトに外挿すると、更に3,000倍することになって、 8.7×10^{11} 個、これは8,700億個になりますけれども、接種したことになる。したがって、当該生産菌が病原性を持っている危険性は、限りなく小さいということでございます。

第3に、肝臓の局所壊死の発生機序に関する御意見でございます。細菌は、肝臓における局所壊死の原因の1つになるが、局所壊死は非常に多くの種類の外的及び内的要因によって誘導される。当該、感染実験に関しては、細菌学から言えるのは、接種細菌が保有するある種の特定成分が接種を受けた動物の肝臓実質細胞、あるいは支持細胞を傷害し、肝臓に局所的な壊死をもたらしたことになる。分子メカニズムやマクロレベルの発生機序は、病理学、毒性学等の専門家にお尋ねいただきたいということでございます。

最後に、プロテイングルタミナーゼの製造工程からの御意見でございます。製造工程中に完全に当該生産菌を除去する工程が入っている。すなわちメンブランフィルター、ある

いはセラミックフィルターで無菌ろ過を行っている。それぞれのフィルターの規格は、 $0.45\ \mu\text{m}$ であり、このフィルターを用いて正しく作業すれば、ろ液に当該生産菌の混入は100%ない。ろ液は無菌の状態である。当該生産菌に毒素の生産性がないことと合わせて考えると、細菌学的にはこの酵素製品は安全であると言えるということでございます。

以上でございます。

○福島座長 ありがとうございます。今、蛭田さんの方から紹介していただきましたが、前回このプロテイングルタミナーゼについて議論して、ある一定の結論がこの辺りで得られたのですが、その後、私も含めてもう一度考えて見ますと、こういうことはどうなっているのだろうということが出てまいりまして、その点について、事務局の方が申請者に問い合わせしたり、鎌田先生の方に問い合わせしたりして、そういう結果をずっと紹介していただいたということであります。

基本的には2つありまして、1つは、ドーズ設定の問題で、きちっとした用量相関を持った実験をもう一度やるべきではないかというような意見、それに対して鎌田先生としては、そこまでは必要ないでしょうというようなコメントだったと思います。

もう一点は、前回、中江先生が質問されて、今の局所壊死というのは、フォーカルネクロシスだったと記憶しているのですけれども、巣状壊死。

○蛭田課長補佐 フォーカルネクロシスです。訳が間違えであれば、済みません。

○福島座長 フォーカルネクロシスですね。8ページのところを巣状壊死に直してもらいたいと思います。私から、フォーカルネクロシスの起こるのが、細菌、静脈内注射を多量にして、非常に量の多いものを注射したために起こったのかどうかということで、それはこれだけ多量だったならば起こりますねということで、ああそうですかで済んだのですけれども、よく考えて見ますと、それではそれが感染性なのか、少しでも持っているトキシンによるものなのかとか、そこに疑問が湧いてきまして、標本を見れば、病理学的にある程度推定できるなということで、実は私自身、病理標本を見たいということをお願いしました。

そうしますと、先ほど言いましたように、もう保存期間終了、5年を経っているということで、廃棄しましたということで、実際の写真も見られない状態です。

私自身、そこで、それはそうですかで済めば良いのですけれども、現実問題として、自分の大学で、自分の研究をやっている試験でも、病理標本というのは最終的なもので保存するのですね。しかもある年数は必ず。それを申請者の方が捨ててしまうという辺りが、どうも理解できない。これは、被験物質についての議論とは別のことなのですから、

そこについて、いかなものかなというのが私自身の思っているところです。

だから、紙で出して、そうですかということになると、私も大体そうするのですけれども、それがなくなると、あとは私としては、この被験物質に関しましては、きちっとして、申請者から、フォーカルネクロシスの起こった機序、原因ですね。そこをきちっと答えを出してもらいたいと思います。

先ほど鎌田先生は、細菌学者として云々ということをおっしゃいましたが、それは鎌田先生のコメントですね。したがって、私としては、もうなくなったものはどうしようもありませんので、かといってもう一度再実験して、これについて標本でもう一遍確認してくださいというのも、それほど、ここのところをきちっとすべきかということになると、それについてもまた、強弱の問題がありまして、そこまでは要求しなくても良いと思いますけれども、申請者からきちっとした回答、フォーカルネクロシスの原因についてコメントがもらいたいということなのです。

ほかの先生方、もうそれは必要ないということがあれば、梅村先生、その辺り。毒性の点からどうでしょうか。

○梅村専門委員 実際、フォーカルネクロシスの原因が、多岐にわたるのかもしれませんが、可能であれば同じようにこういう、例えば大量の菌を投与したような実験の中での、同様な所見が見つかれば、それで良いのではないかと思います。つまりこの実験のデザインのミスとして指摘されている、陰性対照がないというところをカバーできるようなデータを、文献でも見つけられれば、それで十分かと思います。

○福島座長 そういうのも含めて、このフォーカルネクロシスの起こったことを解説してもらおうということですね。

ほかに毒性の先生、石塚先生、いかがですか。

○石塚専門委員 私もそのとおりだと思います。

○福島座長 それでは、そこについてはリクエストしましょう。

もう一つ、再実験の問題は、どういたしますか。

○石塚専門委員 もし参考となる文献があるのであれば、そこまでの要求はなくても良いのではないかと思います。

○福島座長 ここでの非病原性の確認ということは、どうなのですかね。石塚先生が言われるのは、もう少し担保するような文献的なデータを付けてくださいということですが、こういう場合はどうなのですか。私自身、今、理解に困っているのですけれども、もう一つ。

○石塚専門委員 梅村先生がおっしゃっていた、ネクロシスのところを何か担保できるような文献が出た場合はということです。

○福島座長 わかりました。それと同時に、今回の実験を担保する、再現性を見るということで再実験が必要かどうかということなのですから、そこまではと。

○梅村専門委員 ですから、私は、先ほど要求したような文献、つまり大量でなくても良いのかもしれないけれども、こういう菌なりを静脈内接種するという、1つのスタイルが、ある菌の病原性を調べるためにあるのだとすれば、そういう実験も幾つか今までも報告されていて、その中に、例えば毒性のない菌で起きる共通の病変として、こういう病変が上げられていれば、もうそれで再実験する必要はないと思います。

○福島座長 わかりました。そうしましたら、いずれにしましても、このフォーカルネクロシスのところについて、文献的考察も含めて提出していただくということにいたします。

○蛭田課長補佐 事業者の社内での考え方ではなくて、ある程度専門家の御意見も聞きながら、考え方をまとめてくださいという趣旨でよろしいでしょうか。

○福島座長 結構です。よろしいですか。いずれにしても、くどいですが、捨ててしまうなんてね。どうかな。

○廣瀬委員 その標本を捨てたというのは、結局、この実験だけなのでしょうね。後の方で90日試験が出てきますけれども、この辺のことについては。

○蛭田課長補佐 遺伝毒性試験と90日試験は外注しております。多分、受託研究機関の保存期間があると思いますから、気軽に捨てられるものではないと思います。

○福島座長 よろしいですか。そうすると、ここの8ページのところについては、そのような形にさせてもらいます。

現時点で9ページのところの結論についても、きちんとしたコメントに対する回答が出てから、要するに8ページの19、20行目について、またディスカッションしたいと思います。

そうすると、11ページのところに入りまして、3. 酵素の毒性ということです。ここにおきまして、序文のところ、ガイドラインのただし書きにおいて、当該、食品添加物が食品常在成分であるか、または食品内も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である場合には、毒性に関する資料の添付を省略することができるが、げっ歯類の28日間反復投与試験、毒性試験及び変異原性試験は、添加することが望ましいとしているということになっています。

このものに関しましては、修文されておりました、15行目のところですが、2に記載のとおり、本品が他の食品添加物と同様、天然に存在するアミノ酸から成り、人工胃液を用いた試験において、消化管内で速やかに分解されると考えられたというふうに直しております。

ということから、28日間の試験ではなく、毒性学的知見の有無をより正確に得られ、90日間の試験を実施していると。要するに、90日間の試験で、毒性を評価するということによろしいかどうか。もっと長期も要るのだということになるのかということでもあります。

その辺りの御議論を、まずいきたいと思います。その点、今日は毒性の先生が余り見えないのですけれども、石塚先生、梅村先生、どうでしょうか。上の理由からすると、私は90日間の試験を評価するということで、全体の一般毒性に関しまして、評価できるのではないかと思いますけれどもね。

どうぞ。

○蛭田課長補佐 前回の御議論で、入口のデータセットとしては、90日試験と遺伝毒性の3点セットでよいだろうと。ただ、データを見て、必要があれば追加のデータを求めることになるのは当然のことということで、入口の、要は基本的なデータということで御了解をいただいたものと記憶しております。

○福島座長 ということです。よろしいですか。確かにそうでしたね。

○梅村専門委員 私は問題ないと思います。

○福島座長 それでは、反復投与毒性について、ちょっと見ていただきたいと思います。

これは、梅村先生、いかがですか。

○梅村専門委員 この試験は、国内でGLP施設で行われた試験で、ここに書いてありますような投与実験で行いまして、唯一尿検査のところ、雌の最高用量群でナトリウムと塩素の排泄量の高値が見られたということで、施設の方ではその検体中のナトリウム及び塩素の量を測定したようなのですけれども、通常の量の4倍近い量がそこに含まれていたということで、このような考察になったかと思います。

そういう意味では、そのものの毒性学的な意味はないということで、無毒性量を最高用量とする結論になったと思います。

○福島座長 それで、梅村先生としては、その精製過程に由来するナトリウム及び塩素の増加に伴う、体液恒常性維持の結果と解釈して、このプロテイングルタミナーゼ、そのものによる尿の変化ではないという解釈でよろしいですか。

○梅村専門委員 私はそれに同意します。

○福島座長 ほかの先生、いかがでしょうか。どうぞ。

○廣瀬委員 どうしてその精製過程でナトリウムや塩素が、被験物質に入ってくるのでしょうか。

○福島座長 その点、事務局わかりますか。

○蛭田課長補佐 製造工程において、カラムクロマトグラフィーを行っているのですが、その際に塩化ナトリウムを含む緩衝液で溶解させているということで、そこからナトリウムが入ってきているというふうに推察されております。

○廣瀬委員 そうすると、除去できないのですか。

○蛭田課長補佐 最終商品に入っているということでございますので、そういうことだと思います。

○廣瀬委員 そうすると、市販の製品にもこれは入っていることになるのですか。

○蛭田課長補佐 一応、聞いているお話では、今回この90日試験は、市販されるものと同等の製剤を用いて行っていると聞いております。

○廣瀬委員 わかりました。

○梅村専門委員 最後の方の、この実験について、やはりこのところがキーになっていたので、一度事務局の方にお尋ねしたような気がするのですがけれども、そのときに含有量等がはっきりしないような回答だったような気がするのですがけれども、この報告書を読むと、検体自身のナトリウムと塩素の量は測定して、先ほど申しましたように、約4倍近い量があったということなので、少なくともこの実験の結果は原因だと思います。

○福島座長 廣瀬先生、よろしいですか。

○廣瀬委員 はい。

○福島座長 いずれにしても、非常に高い、2,538、餌で言うと、先ほどのあれで大体5%近くの量で、安全性という面からは担保されていると思います。よろしいですか。

そうすると、この90日間ラットを用いた経口反復投与毒性のNOAELは、雌雄ともに2,538 mg/kg/日を上回ると判断している。ここを、著者らは判断しているのですね。我々もそのように解釈してよろしいですね。そこを修文お願いします。

それから、遺伝毒性の方です。遺伝毒性に関しましては、ここは林先生、見てくださっているのですか。

○蛭田課長補佐 林先生はお休みなのですが、これを見ていただきますと、いずれも陰性所見ということで、以前このところについては、特段問題はないであろうというふうに聞いております。ただ、この文章がこれで良いかについては、再度確認をしたいと思いま

す。

○福島座長 わかりました。林先生から、陰性と解釈するというような意見をいただいているということです。よろしいですか。修文の可能性はあるということです。

それから、アレルギーのところは、先ほどのコメントが出ました。

14 ページの方にいきます。36 行目、ヒトにおける知見のところですが、この修文は。

○蛭田課長補佐 これは場所を移動しただけでございまして、基本的には文章は変更されていないと思います。

○福島座長 この前、指摘があったところですね。ここの辺りにおきまして、森田先生、何かございますか。まず、ヒトにおける知見のところ、いかがですか。

○森田参考人 この修文のあった部分に関しましては、あった位置がおかしかったというだけで、実際の培養についての記述だけですので、特に問題はないと思います。

○福島座長 よろしいですね。

それでは、次に 5. 一日摂取量の推計等というところに入ります。ここも森田先生、コメントいただけますか。

○森田参考人 これに関しましても、勿論、食経験がないということで、添加される場合も 2 種類に分けて、推定値ということで出しておりまして、この推定値の出し方そのものは、吉池先生の方から、ほかの添加物とほぼ同等に出しているということです。

今回、文献を 1 つ追加してもらって見てもらったのですけれども、結局、引用している文献は同じということで、値もそのまま、少し値が非常に細かく出ていましたが、実際、この推定だどこまで細かく出すことはないだろうということで、修正を加えていただいております。

以上です。

○福島座長 ほかの先生、この摂取量の推計等について、何か御質問ございますか。①の場合、②の場合というふうに 2 つに分けて出されております。①の場合においては、1 日の推定摂取量は 0.28 mg、2 の場合には 0.35 mg と、少し増えているということでもあります。よろしいですか。

そうすると、Ⅲ. 国際機関等における評価です。ここに書いてあるとおりですね。

JECFA では未評価である。FDA では、申請の準備中である。EU では、こういうことですか。我が国では、脱アミド化能を有するトランスグルタミナーゼ及びグルタミナーゼは、既存添加物として登録されている。こういう記載だということです。この辺り、よろしいですか。何か、もう少し加えた方がよいというのかありましたら、発言していただきたいので

すが、良いですね。

そうしましたら、一応ここで終了しますが、幾つかの宿題が出ておりますので、その宿題の回答をいただいて、また審議したいと思います。

それでは、これからの進め方について、事務局から説明してもらえますか。

○蛭田課長補佐 本日の御議論を踏まえ、追加資料を要請者に依頼したいと思います。資料の整理ができ次第、先生方に資料を送付させていただきたいと考えております。

○福島座長 そうしましたら、これは終わりました、議題3、その他のことについて、何かありますか。

○蛭田課長補佐 1点報告事項がございます。資料3としてお配りしておりますが、6月5日～7月4日まで、広く一般の方からの御意見を募集しておりました、2,3-、2,5-、2,6-ジメチルピラジンにつきましては、御意見・情報はありませんでした。本件につきましては、7月31日開催の食品安全委員会にて報告し、同日付けで評価結果を厚生労働省に通知したところでございます。

以上でございます。

○福島座長 それでは、全般を通じて、何か御意見がございましたら、どうぞ。特になければ、本日の専門調査会のすべての議事を終了いたします。

どうもありがとうございました。

次回についてお願いいたします。

○蛭田課長補佐 次回でございますが、9月29日、月曜日、午後2時からを予定しております。よろしくお願いいたします。

○福島座長 どうもありがとうございました。