

平成30年度終了
食品健康影響評価技術研究課題の
事後評価結果について

令和元年8月
食品安全委員会
研究・調査企画会議事後評価部会

研究課題番号	1607	研究期間	28年度～30年度 (3年間)	研究費総額	30,310千円
主任研究者名	桑形 麻樹子	所属機関名	元(一財)食品薬品安全センター		
研究課題名	発生毒性試験における胎児形態異常に関するデータ収集と骨格変異の毒性学的意義に関する研究：フルシトシン誘発性過剰肋骨の発現機序からの考察				
研究概要	<p>本課題では、ラット生殖発生毒性試験の胎児骨格観察において、しばしば自然発生性に観察される骨格変異である過剰肋骨の毒性学的意義を調べた。2011年から2015年に国内24機関（15施設の製薬企業、9施設の受託機関）にて実施された生殖発生毒性試験の背景データを収集した。この背景データには、帝王切開所見、胎児の外表、内臓、骨格所見が含まれる。この調査によると過剰肋骨は比較的高頻度に観察され、系統差もあった。SDラットでは0.07～12.98%、Wistar Hannoverラットでは4.98～58.10%の発現頻度であった。過剰肋骨を有した胎児は、胸椎骨化不全やHox遺伝子発現異常を示唆させる仙椎前椎骨数増加を併発していた。薬剤誘発性による過剰肋骨動物モデルとして、フルシトシンの前後軸を決定するHox発現に対する影響を調べるために、75 mg/kgのフルシトシンをラットの妊娠9日あるいは13日に経口投与し、13日の午後の胎児を用いて評価した。その結果、妊娠9日投与にてHoxa10の尾方化が確認され、その結果として過剰肋骨が発現した。妊娠13日投与により、Hox11-13遺伝子発現異常による肢芽の形態異常が認められた。これらの結果により、フルシトシン投与時期に一致したHox遺伝子の発現異常が起こっていることが明らかになった。また、生後の過剰肋骨の形態推移を調べるためにフルシトシン5胎生期暴露出生児を用いてCT撮影にて追跡した。第13肋骨及び第14肋骨（過剰肋骨）の長さは成長とともに伸長したが、その割合（第13肋骨に対する第14肋骨の比）は一定であった。即ち、過剰肋骨は生後に正常範囲を逸脱するような伸長はしないことがわかった。また、過剰肋骨の型（痕跡、短小、完全）は胎生期における観察と生後観察では同様であることが明らかになった。これは過剰肋骨の評価は胎児期で可能であることを示している。今回の結果は、自然発生性及び5-FC誘発性の過剰肋骨はともにHox遺伝子発現異常に起因した変化であることを示している。このHox遺伝子発現異常を起こす機序の解明が自然発生性と薬剤誘発性の過剰肋骨を識別するだろう。さらなる研究が必要である。</p>				
評価所見	<p><総合コメント></p> <p>フルシトシン投与群、非投与群のいずれにおいても過剰肋骨が生じ得ること、また、いずれもHox遺伝子発現異常が影響を与える可能性が示されたことは、発生毒性試験の評価において、重要な知見であり、更なる研究の進展を期待したい。</p> <p><その他></p> <ul style="list-style-type: none"> ・背景データの収集整理、モデル実験による過剰肋骨の発現機序解明ともに、所期の目標をほぼ達成していると評価できる。 ・用語や分類の国際的な統一にもつながるデータが得られており、今後のリスク評価に有用な成果が得られたと評価できる。 ・今後は食品安全委員会の食品健康影響評価における発生毒性試験の毒性学的理解に利用されることが期待される。 				
評価点	総合 (20点)	研究の妥当性 (5点)	研究目標の達成度 (5点)	研究成果の有用性 (10点)	
	17.7	4.8	4.5	8.3	

研究課題番号	1702	研究期間	29年度～30年度 (2年間)	研究費総額	20,000千円
主任研究者名	岩丸 祥史	所属機関名	(国研) 農業・食品産業技術総合研究機構		
研究課題名	試験管内プリオン増幅系を用いた「種の壁」の定量的評価のための研究				
研究概要	<p>本課題では、バイオアッセイを上回るプリオン検出感度をもつ、試験管内のプリオン増幅法 (PMCA 法) を用いて、プリオンのヒトへの伝播リスク評価法の開発に取り組んだ。</p> <p>ウシ、ヒツジ由来のプリオンを増幅することが可能な PMCA 法 (PMCA/Bov 法、PMCA/Ov 法) を確立した。この PMCA 法を用いた増幅限界希釈法により、ヒトへの伝播リスク評価に用いるプリオンの 50%PMCA 陽性量を Spearman Kärber 計算式に従い計算した。ヒトのプリオンを増幅可能な PMCA 法 (PMCA/Hu 法) を確立し、ウシ由来プリオン (定型 C-BSE、非定型 H-BSE、非定型 L-BSE) の異種間試験管内増幅行い、種の壁を検証した。C-BSE プリオン、H-BSE プリオンは、異種間試験管内増幅が可能であったのに対し、L-BSE プリオンは異種間試験管内増幅されなかった。この結果は、ヒトプリオン蛋白質発現遺伝子改変マウス (TgHu129M) が C-BSE プリオンならびに L-BSE プリオンに感受性を示すのに対し、H-BSE プリオンに対して感受性を示さないという、バイオアッセイの結果と整合性がとれず、種の壁の評価を行うには PMCA/Hu 法の更なる最適化が必要であることが明らかとなった。同時に実施していた TgHu129M を用いたバイオアッセイにより、ヒツジ由来プリオンと新規 BSE プリオンのヒトへの伝播リスクは低いことが示された。</p>				
評価所見	<p><総合コメント></p> <p>バイオアッセイにおける種の壁の評価と、PMCA 法 (タンパク質ミスフォールディング循環増幅法) による評価の整合性が取れなかったことは、成果としては十分ではないが、ヒト由来プリオンの試験管内増殖を可能とする PMCA/Hu 法を確立したことは評価できる。</p> <p><その他></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ ヒツジ・ウシ由来プリオンの伝播リスクが低いことが明らかになったことは有用である。 ・ 研究成果の論文化を期待する。 ・ 今後の展開に期待したい。 				
評価点	総合 (20点)	研究の妥当性 (5点)	研究目標の達成度 (5点)	研究成果の有用性 (10点)	
	12.5	3.8	3.0	5.7	

研究課題番号	1703	研究期間	29年度～30年度 (2年間)	研究費総額	31,000千円
主任研究者名	田村 豊	所属機関名	酪農学園大学		
研究課題名	コリスチン耐性菌の出現状況と特性解析に関する研究				
研究概要	<p>本研究では、家畜に使用する硫酸コリスチンに係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価における不足データを収集することを目的に各種試験を実施した。当初、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子は mcr-1 及び mcr-2 しか報告されていなかったが、研究実施中に他の mcr 遺伝子も報告されたことから追加して実験した。その結果、mcr-1 とともに mcr-3 と mcr-5 が家畜由来大腸菌から検出された。また、市販肉を調べたところ鶏肉 9 検体 (8.7%) 由来大腸菌から mcr-1、鶏肉 1 検体 (1.0%) 由来と豚肉 1 検体 (1.0%) 由来 Aeromonas spp. から mcr-3 が検出された。医療から分離された腸内細菌科細菌を調べたところ、コリスチンに対する耐性率は低く、大腸菌の 1 株でのみ mcr-1 が検出された。mcr-1 と mcr-5 単一保有プラスミドが伝達した接合伝達体では、コリスチン耐性のみが伝達した。mcr-3 保有プラスミドが伝達した接合伝達株では、コリスチン耐性以外の耐性も伝達した。mcr-1 遺伝子保有細菌は同一のプラスミド上に他の耐性遺伝子を保有するものは認められなかった。また、多剤耐性グラム陰性菌をレシピエントとしても接合伝達体は観察されず、mcr-1 は接合伝達されにくいと思われた。さらに、mcr-1 または mcr-3 保有プラスミドの獲得が生菌数の低下を伴うマウスへの病原性の低下に関与していることに加え、マウス生体内での菌の増殖性の低下をもたらしていることが示唆された。これらの実験成績と既存の公表データを基に定量的な発生評価を実施したところ、現在日本ではと畜場に出荷される肉豚の約 5% で mcr 遺伝子保有コリスチン耐性大腸菌が腸管内で優勢であると推定された。以上の研究成果は、今後、既存の硫酸コリスチンに関する食品健康影響評価書を再評価する際に有用な情報を提供するものと思われた。</p>				
評価所見	<p><総合コメント> 目的に沿った研究が適切に行われ、目標を達成した。コリスチン耐性菌に関する各種データの収集と、これを活用して生産段階でのコリスチン耐性菌発生リスクの定量的評価を行った点は高く評価できる。今後は、モデルの精緻化に向けたデータの収集・蓄積を期待する。</p> <p><その他></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 各種の耐性遺伝子の実態やマウスモデルにおける耐性菌の定着性や治療効果も研究され、論文や学会発表の実績も充実している。 ・ 市販肉におけるコリスチン耐性菌汚染が明らかになったこと及び定量的リスクモデルの作成は有用である。 ・ コリスチン耐性菌に関する出現実態調査、特性解析について精力的に研究が進められ、多くの成果が得られている。 ・ 今後のモニタリング・フォローアップにつながっていくことを期待したい。 				
評価点	総合 (20点)	研究の妥当性 (5点)	研究目標の達成度 (5点)	研究成果の有用性 (10点)	
	17.3	4.8	4.3	8.2	

研究課題 番号	1704	研究期間	29年度～30年度 (2年間)	研究費総額	24,710千円
主任 研究者名	吉永 淳	所属機関名	東洋大学		
研究課題名	無機ヒ素ばく露評価およびその手法に関する研究				
研究概要	<p>無機ヒ素 (iAs) はヒトに発がん性のあるメタロイドであるが、いくつかの基本的な情報が不足しているために、わが国においてリスク評価は完遂していない。リスク評価には量 - 影響関係を確立する必要があり、そのためには定量的なばく露評価をとまなう疫学調査が必須である。陰膳法は確立されたばく露評価手法であるが、調査にコストや手間がかかるので、大規模疫学調査に適用することは困難である。</p> <p>本研究では、バイオマーカー法によるばく露評価の蓋然性を評価するとともに、疫学調査への適用を前提とした、iAs ばくろ評価のための簡便な調査票の開発を目的とした。陰膳とスポット尿サンプルを 150 人の対象者から入手し、iAs 及びメチルアルソン酸 (MMA) (尿のみ) 濃度を LC-ICPMS 法で測定した。iAs 一日摂取量及び尿中 iAs+MMA 濃度の中央値は、それぞれ 0.387 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$、5.58 ng As/mL (比重補正) あるいは 4.30 ng As/mg creatinine (クレアチニン補正) であった。日本人の iAs 摂取源である米飯とひじきの煮物の摂取量を聞く簡単な調査票を開発し、150 人中の 71 人に回答してもらった。調査票の回答と、コメとひじきの iAs 含有量に関する農林水産省のデータを用いて、iAs 一日摂取量を推定した。陰膳データに基づく iAs 一日摂取量と、尿中 iAs+MMA 濃度、及び陰膳データと調査票から推定した一日摂取量との間には正の有意な相関がみられ、バイオマーカー法、調査票とも日本人の iAs ばく露評価に適用可能であることがわかった。バイオマーカー法では、摂取量と尿中濃度の関係に多少の乱れがみられ、対象者による iAs 代謝のばらつきが原因であると考えられた。調査票による方法では、米飯とひじきの摂取量質問法を改善したり、ひじきの iAs 含有量情報の蓄積によってよりよい推定が可能であると考えた。</p>				
評価所見	<p><総合コメント></p> <p>ほぼ計画どおり研究を遂行し、一定の成果が得られた。一方、今後解決すべき課題が明らかになってきたので、さらなる検討に期待したい。</p> <p><その他></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 無機ヒ素 (iAs) 摂取量の推定に 食物摂取頻度調査票 (FFQ)、陰膳及び尿中 iAs+メチルアルソン酸 (MMA) 濃度との関係を調査することは研究として妥当である。 ・ 尿中 iAs+MMA 濃度及び簡易調査票が陰膳と正の相関が得られたことは有用であるが、サンプル数、採尿時期や尿中 iAs+MMA 濃度の時間的变化など、さらなる検討が加えられることを期待する。 ・ 回帰分析による尿中 iAs+MMA 濃度からの摂取量推定は陰膳法による摂取量を反映しているとはいい難い。 ・ コメとひじきの寄与割合については、さらなる検討が必要。 				
評価点	総合 (20点)	研究の妥当性 (5点)	研究目標の達成度 (5点)	研究成果の有用性 (10点)	
	15.0	4.0	4.0	7.5	

研究課題番号	1705	研究期間	29年度～30年度 (2年間)	研究費総額	40,000千円
主任研究者名	木戸 博	所属機関名	徳島大学		
研究課題名	食物アレルギーと経口免疫寛容の成立機序の違いとアナフィラキシーの発症機序から見たリスク評価				
研究概要	<p>本課題では、1. 食物アレルギーと経口免疫寛容の成立機序の違いと、2. アナフィラキシーの発症機序の解析を実施した。</p> <p>1. 食物アレルギーと経口免疫寛容の成立機序の違いの解析では、湿疹等による経皮感作が誘発する食物アレルギーの成立と経口免疫寛容の違いを示すバイオマーカーが明らかになってきた。生理的な経口免疫寛容の成立には、乳児の発育に伴って進むイムノグロブリンクラススイッチは IgM→IgG3→IgG1→IgG2→(IgG4), IgM→low affinity IgE を示した。一方、このクラススイッチ成熟過程で経皮感作が起きると、IgG1 から IgG2→(IgG4)へのクラススイッチの進展が阻害され、蓄積された high affinity IgG1 から high affinity IgE へのクラススイッチが進むことが示唆された。また、重症の食物アレルギー患者に実施する経口アレルギー免疫療法でも、治療応答例では、治療と共に IgG1→IgG2→ high affinity IgG4 のクラススイッチが進み、IgE は high affinity から low affinity に変化することが確認された。このように、クラススイッチとアレルギーに対する affinity のモニターが、食物アレルギーと経口免疫寛容の成立のモニターに重要であることが明らかになった。</p> <p>2. アナフィラキシーの発症機序の解析では、食物アレルギーの症状は原因抗原によって異なることが知られており、ソバやピーナツ、甲殻類などが重篤なアナフィラキシーを発症し易いとされている。しかし、なぜアナフィラキシーを発症し易い抗原とそうで無い抗原があるのかについては全く明らかにされていない。本研究では、アナフィラキシーを惹起する可能性のある機序の一つとして、抗体の抗原分子への結合力 (affinity) に着目し、抗原による high affinity IgE の産生機序を、モデル動物と培養細胞系を用いて解析した。①経皮感作において重要な役割を演じる TSLP が抗原提示細胞の食胞内の蛋白分解酵素活性に及ぼす影響を検討した。その結果、酵素活性の低下を認めたが、その詳細な機序は不明である。②各種サイトカインが B 細胞におけるクラススイッチと somatic hypermutation を誘導する酵素である AICDA の発現に与える影響を検討し、IL-4 と TSLP が AICDA の発現を増強することを見いだした。③IgE 依存性食物アレルギー患者の IgE 抗体の Affinity をアナフィラキシーの有無で検討している。④経皮感作で誘導される鶏卵アレルギーマウスモデルを樹立した。このマウスの抗原投与時の体温低下や IgE 抗体価、脾細胞の Th2 サイトカイン産生や皮膚の透過性などは全て皮膚局所の IL-33 の発現と相関しており、IL-33 の発現は年齢依存的に、年長のマウスほど高かった。現時点では一部の食品では Affinity が高くなることを直接証明は出来ていない。しかし、食品ごとの抗原提示細胞の食胞内の分解酵素の活性等を測定する系や、マウスの経皮感作による食物アレルギーモデルを樹立した。</p>				
評価所見	<p><総合コメント></p> <p>高親和性 IgE と低親和性 IgE の分別定量を確立し、食物アレルギーと経口免疫寛容のイムノグロブリンクラススイッチの成立に関する有益な情報を得たと評価できる。</p> <p><その他></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 前向きコホートにより、腸管免疫を介した早期の免疫記憶があると経皮感作があってもアレルギーを発症しないことを、牛乳アレルギーで確認したことは有用である。 ・ 食物アレルギーの解明及びアナフィラキシーの機序の解明は、食品の安全、特殊な状況(アレルギー)にある児の健康な発育にとって重要である。現時点では食品のリスク評価に直結する研究ではないが、食品に及ぼす影響に関する基盤的研究として評価でき、今後は、リスク評価に結び付く研究の進展に期待したい。 ・ 臨床研究における、新規性のある領域として評価したい。 				
評価点	総合 (20点)	研究の妥当性 (5点)	研究目標の達成度 (5点)	研究成果の有用性 (10点)	
	15.2	4.2	3.7	7.3	

研究課題 番号	1805	研究期間	30年度 (1年間)	研究費総額	6,900千円
主任 研究者名	梅村 隆志	所属機関名	ヤマザキ動物看護大学		
研究課題名	食品添加物のリスク評価手法に関する研究—乳児を対象とした評価手法及び毒性試験全般に関する最新の国際動向等を踏まえた提言—				
研究概要	<p>本課題では、乳児を対象とした評価手法及び毒性試験全般に関する最新動向を踏まえた指針案の策定を目的に挙げた。国際動向として、JECFA ならびに EFSA において乳児を対象にしたリスク評価手法を提言していることを確認した。毒性試験全般に対しては OECD テストガイドラインと比較した結果、一般薬理試験・免疫毒性試験がガイドラインに対応していないことが判明した。乳児を対象にした添加物のリスク評価に関して、暴露量推定の根拠となる調整乳摂取量の把握を目的に乳児検診時の記録を管理栄養士からの聞き取り調査により収集した。その結果、4ヶ月以降の乳児では体重あたりの摂取量が同等あるいは減少し、2ヶ月齢の乳児の摂取量が最も高値を示すことが明らかとなった。今回収集した個別の数値を国際機関がエネルギー所要量から推定している数値と比較した結果、ほぼ一致していた。毒性学的面から乳児の特殊性を考慮すると、適切な実験動物として新生児ブタが考えられ、食品健康影響評価の際には MOE 評価が妥当であると考えられた。毒性試験実施方法については概ね OECD テストガイドラインを参照することが可能であるが、動物種の選択、アレルゲン性試験、食品常在成分の具体的な定義など、一部改訂が必要な項目があった。毒性評価手法については、今後は NOAEL 設定のための試験条件、リードアクロスなどについて検討していく必要があると考えられた。これらの結果を基に指針案を提案した。</p>				
評価所見	<p><総合コメント> テーマは重要であり、当初計画に従って結果は積み上げられている。しかしながら、報告書だけでは具体的な提案（乳児を対象とした評価手法の指針案や、現行の指針の毒性試験等に対する修正案）が分かりにくいいため、具体的にその成果を示してほしかった。</p> <p><その他> ・ 乳児を対象とした評価への適用を目的とした毒性試験の検討は必要である。</p>				
評価点	総合 (20点)	研究の妥当性 (5点)	研究目標の達成度 (5点)	研究成果の有用性 (10点)	
	11.2	3.8	2.7	4.7	