

添加物（酵素） に関する食品健康影響評価指針

2017年7月

食品安全委員会

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 酵素量の考え方	5
2 安全性に係る評価の流れ	5
3 NOAEL の決定	5
4 食品健康影響評価	6
5 その他	6
第4 評価に必要な資料等の考え方	7
第5 再評価	8
第2章 各論	8
第1 評価対象品目の概要	8
第2 安全性に係る知見	9
1 基原生物の安全性	9
2 酵素の消化管内での分解性に関連する事項	9
3 酵素の毒性	10
(1) 90 日間反復投与毒性試験（げっ歯類）	10
(2) 遺伝毒性試験	10
(3) アレルゲン性	10
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	11
第3 一日摂取量の推計	12
別紙：略称	13
参照	14

<審議の経緯>

2016年 9月30日 第154回添加物専門調査会
2016年 10月31日 第155回添加物専門調査会
2016年 11月30日 第156回添加物専門調査会
2016年 12月19日 第157回添加物専門調査会
2017年 1月23日 第158回添加物専門調査会
2017年 3月 7日 第641回食品安全委員会（報告）
2017年3月8日から4月6日まで 国民からの意見・情報の募集
2017年 7月12日 添加物専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2017年 7月18日 第658回食品安全委員会（報告）
「添加物（酵素）に関する食品健康影響評価指針」として決定、
公表

<食品安全委員会委員名簿>

（2017年1月6日まで）

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

（2017年1月7日から）

佐藤 洋 （委員長）
山添 康 （委員長代理）
吉田 緑
山本 茂貴
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<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>

梶山 浩（汚染物質等専門調査会専門委員）
鎌田 洋一（岩手大学農学部共同獣医学科教授）
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）

第 1 章 総則

第 1 背景

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 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。

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・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。

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、安全性評価を行ってきたところであるが、酵素を含む加工助剤¹については、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、特に酵素の基原である基原生物の安全性、アレルゲン性（アレルギー誘発性及びアレルギー感作性を意味し、グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同じ。）、消化管内での分解性等について検討する必要がある。

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（JECFA²）、米国食品医薬品庁（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）

食品安全委員会では、梅村班の研究成果を基に、添加物（酵素）に関する食品健康影響評価指針を取りまとめたことから、今後の添加物のうち酵素に関する食

¹ 本指針においては、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う。
（食品の安全性に関する用語集（第 5.1 版）（平成 28 年 4 月食品安全委員会）から）

- 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

² 本文中で用いられた略称については、別紙に名称等を示す。

品健康影響評価については、本指針に基づき行う。

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。

第2 目的

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、同法第 10 条により人の健康を損なうおそれのない場合として定める場合及び同法第 11 条第 1 項により基準又は規格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

食品健康影響評価に際しての基本的な考え方については、以下に示すとおりとする。詳細や留意事項については、第2章「各論」で示す。

1 酵素量の考え方

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）³を用いることとする。

2 安全性に係る評価の流れ

評価対象品目について、基原生物の安全性及び酵素の安全性を評価する。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。

酵素の安全性の評価に当たっては、まず、当該酵素について、第2章 第2の2「酵素の消化管内での分解性に関連する事項」を検討する。検討した結果、2「酵素の消化管内での分解性に関連する事項」の（1）から（5）までを満たす場合には、次に毒性の評価を行う。毒性については、90日間反復投与毒性試験（げっ歯類）、遺伝毒性試験及びアレルギー性を評価する⁴。

3 NOAEL の決定

ある試験において NOAEL を決定するに当たっては、適正な用量が設定され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、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、

³ TOS を用いるに当たって、%TOS は以下の式で算出する。

%TOS = 100 - (A + W + D) (A : %灰分、W : %水分、D : %賦形剤その他の製剤成分)

⁴ 他に安全性に係る知見がある場合は、併せて評価を行う。

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 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、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。

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。この場合、最終的な評価には、原則としてそれらのうち最も低い用量のものを NOAEL として用いる。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、最終的な評価に用いる NOAEL を決定する際、より長期でより妥当な試験に特別な比重をおく。また、代謝及び薬物動力学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、最終的な評価に用いる NOAEL を求めることもできる。

4 食品健康影響評価

食品健康影響評価については、基原生物の安全性、酵素の消化管内での分解性に関連する事項、酵素の毒性に係る知見及び一日摂取量の推計から総合的に判断する。

当該酵素が第 2 章 第 2 の 2 「酵素の消化管内での分解性に関連する事項」の (1) から (5) までを満たす場合は、毒性に係る知見として 90 日間反復投与毒性試験 (げっ歯類)、遺伝毒性試験及びアレルゲン性を評価し⁴、NOAEL を決定した後に、摂取量と比較してばく露マージンの評価を行う。

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た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・除去される場合⁵には、過剰な見積もりになることがある。また、酵素は反復投与毒性試験の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も考慮して、総合的にばく露マージンの評価を行う。

5 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広く一般的に実施され、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、ヒト培養細胞を用いた *in vitro* 試験や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。

⁵ 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。

- (3) 現在、JECFA 等でほとんど利用されておらず、食品安全委員会においても一般的に利用されていない試験（遺伝子改変動物を利用した試験等）は、慎重な取扱いが必要である。
- (4) 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。
- (5) 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。

第 4 評価に必要な資料等の考え方

- 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。
 - (1) 評価対象品目の概要
 - (2) 安全性に係る知見（第 1 章 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」も参照する。）
 - (3) 一日摂取量の推計
- 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。
 - 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、GLP 対応施設等の適正に運営管理されている試験施

設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及び科学的に信頼できる文献等を提出することを原則とする。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 要請に用いた動物試験に関する現存する生データ及び標本は、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。

第2章 各論

第1 評価対象品目の概要

評価対象品目の概要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。

- 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、等電点及びアミノ酸配列を含む。）、性状、使用方法、安定性、成分規格案等

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ない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

1 基原生物の安全性

基原生物（動物、植物、微生物等）の安全性について以下の事項を基に判断する。

（1）病原性及び有害物質（有害作用を示す物質であり、代謝物等を含む。以下同じ。）の産生性に関する事項

①病原性

原則として、添加物製造への利用経験又は食品としての食経験等の必要な事項を確認し、また、基原生物の近縁種（微生物の場合は近縁株とする。以下第2章 第2 1「基原生物の安全性」において同じ。）における病原性の知見も考慮した上で、当該酵素の生産種（微生物の場合は生産株とする。以下同じ。）について病原性がないと判断できること。

②有害物質の産生性

食経験、文献等の十分な知見の下で、また、基原生物の近縁種における有害物質の産生性の知見も考慮した上で、当該酵素の生産種について有害物質を産生することが知られていないこと。有害物質を産生することが否定できないときは、生産種、酵素原体又は酵素製剤において、当該有害物質が検出されないこと⁶。

（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しないこと。寄生又は定着することが否定できない場合、ヒトや他の生物に悪影響を与えるか否かを考慮した上で、当該基原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理由があること。

（3）病原性の外来因子（ウイルス等）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。

2 酵素の消化管内での分解性に関連する事項

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。

（1）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、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」を用いて、アレルギー誘発性の懸念がなくなる質量以下までの分解を確認すること。

（2）消化管内での分解に関わる主要な因子（pH、酵素等）が明らかであること。

⁶ 多量を摂取した場合に健康影響を及ぼす可能性がある物質については、当該物質が健康影響を与える範囲で検出されないことが確認されていることを意味する。

- (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を阻害しないこと。
- (4) 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酵素の主要な成分の過剰摂取の問題を起こさないこと。
- (5) 摂取された酵素が消化管内で分解されないまま、未分解物又は部分分解物として大量に糞便中に排泄されないこと。また、未分解物又は部分分解物が生体組織中に蓄積しないこと。

3 酵素の毒性

(1) 90 日間反復投与毒性試験（げっ歯類）

添加物評価指針の第2章 第2の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。

(2) 遺伝毒性試験

添加物評価指針の第2章 第2の2 (6)「遺伝毒性試験」の留意事項に準じる。

(3) アレルゲン性

① 次の a. から d. までの事項を基に、アレルゲン性について懸念がないか、総合的に判断する。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できる。

a. 基原生物のアレルゲン性に関する事項

基原生物のアレルゲン性に関する知見が明らかにされていること。

b. 酵素のアレルゲン性に関する事項

酵素のアレルゲン性に関する知見が明らかにされていること。

c. 酵素の物理化学的性状の変化に関する事項

酵素が、分子量、酵素活性、免疫反応性等の変化から、アレルギー誘発性の懸念がなくなるまで分解されることが明らかにされること。方法は、原則として、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」を用いて、アレルギー誘発性の懸念がなくなる質量以下までの分解を確認すること⁷（参照 6）。

d. 酵素と既知のアレルゲン（アレルゲン性を示すタンパク質をいい、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」という。）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

⁷ Huby (2000) によれば、アレルゲンは最低 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とされている。このため、アレルゲンは 30 アミノ酸残基以上でなければならない、およそ 3 kDa とされる。

ゲン等と構造相同性を有しないこと。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。既知のアレルゲン等との一次構造の比較は、原則として *in silico* で 8 アミノ酸配列の連続一致検索^{8,9}及び 80 残基中 35%以上のホモロジー解析を行う¹⁰（参照 7）。

- ② ①により、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など、アレルゲン性の懸念がないと判断できない場合は、酵素の IgE 結合能を検討する。

使用するアレルギー患者血清の選択は、下記の a. 及び b. に従い行う。ただし、a. 及び b. で適切な血清が得られない場合は、基原生物の近縁種生物に対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清を選択し、なお適切な血清が得られない場合は、主要なアレルゲン（卵、乳、大豆、米、小麦、そば、たら、えび、かに及び落花生）に対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清を選択する。

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

b. 酵素について既知アレルゲンとの構造相同性が認められた場合は、当該アレルゲンを含む生物に対する特異的 IgE 抗体価が高値な血清

- ③ ①及び②を踏まえ、なおアレルゲン性の懸念がないと判断できない場合は、皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験データも考慮して総合的に判断する。

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

以下の（1）から（3）までの処理によって、酵素の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうかを確認する。

なお、これらの確認に当たっては、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法、ウエスタンブロット法又は ELISA 法あるいはこれらと同等の方法を用いる。

（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。）

⁸ 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。

⁹ 連続アミノ酸の一致検索を行うことで、IgE 抗体との結合に関与する B 細胞エピトープに加えて、感作性に関与する T 細胞エピトープとの相同性についても確認を行うことが可能である。

¹⁰ なお、既知のアレルゲンとの一次構造との比較に関するバイオインフォマティクス評価手法は、科学技術の進歩に応じ、その時点での適切な手法に基づくものとする。

第3 一日摂取量の推計

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・失活する又は分解・除去される場合には、過剰な見積もりになることがある。また、一日摂取量の推定に当たっては、最新の食品安全委員会決定に基づく平均体重を用いる。

<別紙：略称>

略称	名称等
CAS	Chemical Abstracts Service
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
ELISA	Enzyme-Linked Immuno-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
GLP	Good Laboratory Practice
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
TOS	Total Organic Solids：総有機固形分

< 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リサーチ、「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 Huby RDJ, Dearman RJ and Kimber I: Why are some proteins allergens? Toxicol. Sci., 2000; 55: 235-46.
- ⁷ 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