

内閣府食品安全委員会事務局 御中

海外における食品添加物のリスク評価手法に関する
実態調査

平成30年3月

株式会社 NTT データ経営研究所

目 次

第1章 本調査の概要	1
1. 調査テーマ	1
2. 調査目的	1
3. 調査項目	2
4. 調査期間	3
第2章 乳児に対する添加物のリスク評価方法ガイダンス等の収集・整理	5
1. 調査概要	5
2. 乳児に対する食品添加物のリスク評価に係る概要	6
(1) 全般動向	6
(2) 主要なガイダンス・ガイドライン	10
3. 調査対象国・地域別の動向	12
(1) WHO、CODEX 委員会、JECFA（国際機関）	12
(2) 欧州の動向（EFSA）	16
(3) 北米の動向（米国、カナダ）	20
(4) その他の動向（オーストラリア、ニュージーランド）	24
4. 国際評価機関・諸外国等にて実施されたリスク評価結果の具体的事例	25
(1) リスク評価手法等全般に係る事例	25
(2) 個別食品添加物に係るリスク評価結果の事例	29
5. 収集した文献について	39
(1) 文献探索、収集方法	39
(2) 文献情報の整理	41
(3) 収集した文献情報の概要	44
第3章 各種毒性試験の実施方法に関する調査	46
1. 調査概要	46
2. 日本語訳が公開されていない OECD テストガイドラインの調査	51
(1) 亜急性吸入毒性試験（28 日試験）：TG412（反復毒性試験）	53
(2) 亜急性吸入毒性試験（90 日試験）：TG413（反復毒性試験）	53
(3) 生殖/発生毒性スクリーニング試験：TG421（生殖毒性試験）	54
(4) 反復毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験：TG422（生殖毒性試験）	54
(5) 哺乳類の <i>in vitro</i> 染色体異常試験：TG473（遺伝毒性試験）	55
(6) 哺乳類赤血球小核試験：TG474（遺伝毒性試験）	55
(7) 哺乳類骨髄染色体異常試験：TG475（遺伝毒性試験）	55
(8) Hprt 遺伝子と xprt 遺伝子を用いる哺乳類細胞の <i>in vitro</i> 遺伝子突然変異試験	56

(9) げっ歯類を用いる優性致死試験：TG478（遺伝毒性試験）	56
(10) 哺乳類の精原細胞を用いる染色体異常試験：TG483（遺伝毒性試験）	57
(11) 哺乳類細胞を用いた <i>in vitro</i> 小核試験：TG487（遺伝毒性試験）	57
(12) <i>in vivo</i> 哺乳類アルカリコメットアッセイ：TG489（遺伝毒性試験）	57
(13) チミジンキナーゼ遺伝子を用いた哺乳類細胞の <i>in vitro</i> 遺伝子突然変異試験： TG490（遺伝毒性試験）	58
(14) <i>in vitro</i> ヒト細胞株活性化試験（h-CLAT）：TG442E（感作性試験）	58
3. OECD テストガイドラインに掲載されていない毒性試験	59
(1) 調査対象機関	59
(2) 一般薬理試験	62
(3) 免疫毒性試験	64
第4章. ナノマテリアルに対する毒性試験やリードアクロスについての調査	67
1. ナノマテリアルに対する毒性試験の調査	67
2. リードアクロスに関する調査	70
第5章 調査のまとめ	74

第1章 本調査の概要

1. 調査テーマ

「海外における食品添加物のリスク評価手法に関する実態調査」

2. 調査目的

添加物のリスク評価を行うに当たっては、原則として「添加物に関する食品健康影響評価指針」（2010年5月食品安全委員会）（以下「添加物指針」という。）に基づき行っているが、添加物指針の見直しを行うため、以下の（1）及び（2）についての調査を行うことを目的とする。

（1）乳児を対象とした添加物のリスク評価

生後3～4ヶ月までの離乳食開始前の乳児に関する添加物のリスク評価方法については、現時点では科学的知見が十分でない点があるものの、乳児は代謝等のメカニズムが成人とは異なると考えられることから、それらを考慮した評価方法について、国際的に検討が始まっており、2014年に、FAO/WHO合同食品添加物専門家会議（Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：JECFA）において、生後12週未満の乳児を対象として、乳児用調整乳に使用する添加物のリスク評価手法の考え方が示された。また、欧州食品安全機関（European Food Safety Authority：EFSA）においても、2017年に、生後16週未満の乳児を対象としたリスク評価手法に関するガイダンスが示されたところである。従って、我が国においても、この時期の乳児を対象とした添加物の最適なリスク評価を行うにあたり、海外ではどのようなデータを収集し、どのような手法でリスク評価を行っているかについて整理・分析を行い、我が国における乳児に対する添加物のリスク評価手法の検討に活用する。

（2）毒性試験の実施方法

添加物指針においては、一部の毒性試験等に関する試験方法について「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」（平成8年厚生省）（以下「平成8年厚生省指針」という。）を参照することとしているが、各種毒性試験の実施方法にあたっては、最新の動向に基づく必要がある。

このため、国際評価機関や諸外国の評価機関等において採用されている試験方法を確認するとともに、現在の添加物指針で示している試験方法を改正する必要があるかについて整理・分析を行うことにより、我が国において添加物のリスク評価を行うに際しての適切な試験方法の検討に活用する。

3. 調査項目

(1) 乳児に対する添加物のリスク評価方法ガイダンス等の収集・整理

- ① 乳児に対する添加物のリスク評価方法についてガイダンス又は考え方（以下「ガイダンス等」という。）を示している国際評価機関・諸外国等（ア）のガイダンス等を収集し、当該ガイダンス等に記載されている調査項目（イ）について整理し、分析を行う。

（ア）国際評価機関・諸外国等

乳児に対するリスク評価手法のガイダンス等として公表している国際評価機関等（JECFA、WHO 等）、諸外国等（EFSA、ドイツ連邦リスク評価研究所（BfR）、フランス食品環境労働衛生安全庁（ANSES）等の欧州機関、米国（FDA、EPA）等）

（イ）調査項目

- a. 対象とする添加物に関する情報の収集・整理
- ・ 添加物の用途
 - ・ 添加物の化学形態
 - ・ 添加物の規格基準
- b. リスク評価に必要な資料に関する情報の収集・整理
- ・ 体内動態試験
 - ・ 毒性試験（動物試験）
 - ・ ヒトの知見
 - ・ 摂取量推計（一日推定摂取量等）
- c. リスク評価の判断の方法に関する情報の収集・整理
- ・ 評価値（MOE、ADI、UL 等）
 - ・ 評価値算出の根拠

- ② ①において収集した国際評価機関・諸外国等のガイダンス等で引用されている文献等（200 報程度）を収集する。

- ③ 国際評価機関・諸外国等において実施された、乳児に対する添加物のリスク評価結果の具体的事例を収集し、当該評価結果に記載されている調査項目（上記①（イ））について整理し、分析を行う。

- ④ ③において収集した国際評価機関・諸外国等のリスク評価結果の具体的事例について、そのリスク評価で引用されている文献等（100 事例程度）を収集する。

(2) 各種毒性試験の実施方法に関するガイドラインの収集・整理

添加物指針第2章の「第2 安全性に係る知見」に示す各種毒性試験について、試験の実施方法のガイドライン又は考え方（以下「ガイドライン等」という。）を示している国際評価機関・諸外国等（ア）のガイドライン等を収集し、当該ガイドライン等に記載されている調査項目（イ）について整理し、分析を行う。

（ア）国際評価機関・諸外国等

各種毒性試験の実施方法について、経済協力開発機構（OECD）が該当するガイドラインを公表しているかどうかを確認し、OECD ガイドラインが公表されていない毒性試験については、国際評価機関（JECFA、WHO 等）、諸外国等（EFSA、BfR、ANSES 等の欧州機関、米国（FDA、EPA）等）についてガイドラインが公表されているかどうか確認する。

（イ）調査項目

- a. OECD ガイドラインが公表されている試験については、日本語訳の有無を確認する。
- b. OECD ガイドラインが公表されていない試験については、OECD ガイドラインに準じて項目を整理する。

4. 調査期間

平成 29 年 9 月 20 日～平成 30 年 3 月 30 日

5. 検討会

本調査を実施するにあたり、添加物のリスク評価、毒性学等に関する専門家からなる有識者検討会を設置し、2 回の検討会を経て助言を得た。

① 検討会の開催日時

第 1 回検討会	2017 年 11 月 24 日（金）	10:00～12:00
第 2 回検討会	2018 年 2 月 19 日（月）	16:00～18:00

② 開催場所

内閣府食品安全委員会 大会議室
（東京都港区赤坂 5-2-20 赤坂パークビルディング 22F）

③ 検討会委員

- | | |
|---------|--|
| 石井 邦雄 | 横浜薬科大学薬学部教授 |
| ○ 佐藤 恭子 | 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長 |
| 高須 伸二 | 国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部
第一室主任研究官 |
| 田中 亮太 | 公益財団法人食品農医薬品安全性評価センター常務理事 |
| 戸塚 ゆ加里 | 国立研究開発法人国立がん研究センター研究所
発がん・予防研究分野ユニット長 |
| 中江 大 | 東京農業大学応用生物科学部食品安全健康学科教授 |

○は座長

第2章 乳児に対する添加物のリスク評価方法ガイダンス等の収集・整理

1. 調査概要

本項目では、乳児に対する添加物のリスク評価方法ガイダンスを収集し、そこに示されている乳児に対する添加物のリスク評価に係る参照 200 以上、具体的な文献による事例 100 以上の収集、整理、分析を実施した。

具体的な作業としては、下記を実施した。

- ①： EFSA (2017)、JECFA (2014) を中心に、各国のガイダンスを収集（米国科学アカデミー (National Academy of Sciences : NAS) (2004) を含め、3 ガイダンス）
- ②： EFSA (2017) に示されている 275 文献、その他、ガイダンスに類する内容を含む文献 66 文献、計 341 文献収集
- ③： 乳児用調整乳に用いられている食品添加物の中で、JECFA (2014、2016) がリスク評価を実施している 6 物質（カラギーナン、ペクチン、CITREM、OSA 加工デンプン、キサンタンガム、イナゴマメガム (carob bean gum)）につき事例、文献を収集（144 文献）

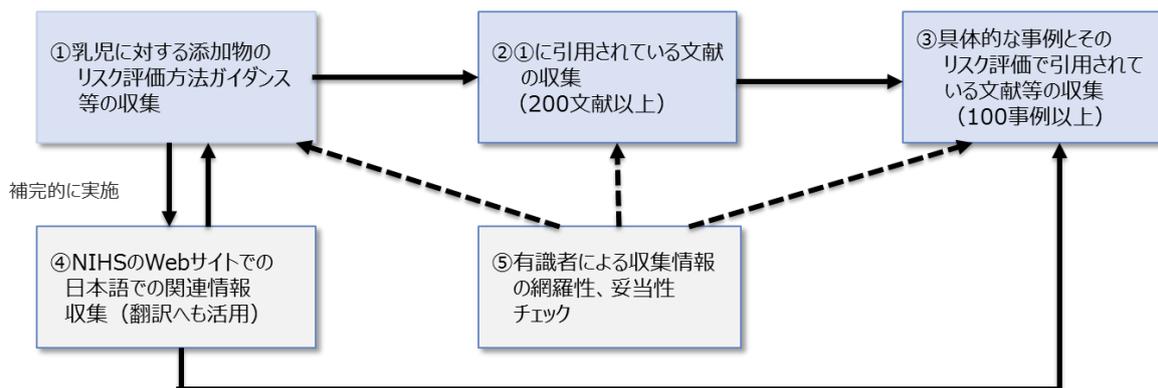


図 1 乳児に対する添加物のリスク評価方法ガイダンス等の収集・整理の方法、手順

2. 乳児に対する食品添加物のリスク評価に係る概要

(1) 全般動向

1) 乳児向け食品に使用されている食品添加物とそのリスク評価方法における特徴

乳児に対する食品添加物のリスク評価方法における特徴については、以下の点が挙げられる（詳細については、国・地域別、もしくは対象別等の視点から後述する）。

① 乳児の範囲（対象とする年齢、その根拠等）

一般的な乳幼児ではなく、主に母乳またはその代替物である乳児用調整乳のみを栄養源とする乳児が対象とされており、具体的には、1972年以降、CODEX（FAO / WHO）及びJECFAは12週齢未満を、欧州EFSAは16週齢未満を対象に検討している。

JECFAとEFSAとで対象とする年齢が異なっている。この相違に関して、SCF（1998）において、JECFAにより12週未満を対象と考えることについての詳細が提示されていないが、母乳または乳児用調整乳が唯一の栄養源であることを考慮して16週未満を提唱するとされた旨が、EFSA（2017）において言及されている。

② 乳児向け食品に使用されている食品添加物の範囲

この点については、各地域・国の法制度にもよるが、乳児用調整乳に含まれる食品添加物はほぼ特定されている。具体的には表1に示すとおりである。

表 1 乳児用調整乳に利用可能な食品添加物

国・地域名	CODEX (WHO、FAO)	米国	カナダ	欧州	豪州・NZ	日本
利用できる食品添加物	・乳児用調製乳に使用できる添加物は CAC/GL 10-1979 に規定	・食品に直接添加できる物質として、食品添加物、GRAS 物質、着色料	・カナダ食品医薬品規制 (Canada, 2001) の乳児用調整乳 (B. 25. 062) に、加えられる食品添加物の包括的なリストが含まれている。	・乳児用調製乳に使用できる添加物は Commission Directive 2006 /141/EC に規定	・食品全般における使用できる食品添加物に関して STANDARD 1. 3. 1 に規定	
	<p>【増粘剤】 グアーガム、イナゴマメガム、リン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、ヒドロキシプロピルデンプン、カラギーナン、オクテニルコハク酸デンプンナトリウム</p> <p>【酸化調節剤】 水酸化ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸水素カリウム、炭酸カリウム、水酸化カルシウム、L-(+)-乳酸、クエン酸、クエン酸二水素ナトリウム、クエン酸三ナトリウム、クエン酸カリウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸三ナトリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸三カリウム</p> <p>【乳化剤】 レシチン、モノ及びジグリセリド、グリセリンクエン酸脂肪酸エステル</p> <p>【抗酸化物質】 トコフェロール濃縮剤、パルミチンアスコルビル</p> <p>【充填剤】 二酸化炭素、窒素</p>	<p>【食品添加物】 食品の生産、製造、梱包、加工、調理、化学的処理、包装、運搬、保存における使用を対象としたあらゆる物質</p> <p>【着色料】 すべての染料、顔料、その他の合成または類似の方法で製造された物質、または野菜・動物・鉱物・その他の原料から析出・分離・生成された物質で、色を与える物。</p> <p>【GRAS 物質】 専門家の知見や食品として使用されてきた経験により一定の使用目的における条件が安全であると証明されている物質。</p>	<p>【乳化剤、ゲル化剤、安定剤、増粘剤】 モノグリセリドおよびジグリセリドのアセチル化酒石酸エステル、アルギン、カラギーナン、モノおよびジグリセリドのクエン酸エステル、グアーガム、レシチン、モノグリセリド、モノおよびジグリセリド、ヘキサメタリン酸ナトリウム</p> <p>【食品酵素】 アミラーゼ</p> <p>【その他の食品添加物】 過酸化ベンゾイル、リン酸カルシウム、三塩基性硫酸カルシウム</p> <p>【pH 調整剤、酸反応物質、水矯正剤】 クエン酸カルシウム、クエン酸、塩酸、重炭酸カリウム、クエン酸カリウム、水酸化カリウム、重炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、水酸化ナトリウム</p> <p>【防腐剤】 パルミチン酸アスコルビル、トコフェロール (α-トコフェロール、トコフェロール濃縮剤、混合物)</p>	<p>【増粘剤】 グアーガム</p> <p>【酸化調節剤】 乳酸、L-アスコルビン酸パルミチン酸、クエン酸、クエン酸ナトリウム、クエン酸カリウム、リン酸、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム、</p> <p>【抗酸化物質】 トコフェロールを多く含む抽出物、α-トコフェロール、γ-トコフェロール、δ-トコフェロール</p> <p>【乳化剤】 レシチン、モノ及びジグリセリド、モノ及びジグリセリドの脂肪酸のクエン酸、ショ糖脂肪酸エステル</p>	<p>【増粘剤】 グアーガム、イナゴマメガム、カラギーナン、</p> <p>【酸化調節剤】 乳酸、クエン酸、クエン酸ナトリウム、クエン酸カリウム、水酸化カルシウム</p> <p>【抗酸化物質】 トコフェロール濃縮剤、パルミチン酸アスコルビル、</p> <p>【乳化剤】 レシチン、モノ及びジグリセリドの脂肪酸、</p>	<p>・乳幼児の発育に必要な栄養素を添加するために、調製粉乳には添加物が使用される。このうち、使用用途が調製粉乳等に制限されているものは以下のとおり (使用基準が定められているもの)</p> <p>・亜セレン酸ナトリウム、グルコン酸亜鉛、グルコン酸第一鉄、グルコン酸銅、ピオチン、硫酸亜鉛、硫酸銅</p>

③ 食品添加物のリスク評価手法（乳児以外との相違点）

乳児における以下のような特性が考慮、検討されてきた。

- ・母乳、もしくはその代替物である調整乳がほぼ唯一の栄養源である
- ・乳児はその成長過程において臓器や組織が発達する
 - 胃、膵および胆管機能は、出生時には完全に成熟していないが、出生後変化し、胃腸管での吸収や代謝のパラメーターが変化していく。(EFSA、2017) (参照 1062)
 - 出生後の最初の週は、体重あたりの調整乳の消費量が生涯で最も多くなる。したがって、乳児の曝露評価を行う場合、調整乳の摂取量として、生後 14 日～27 日の期間での報告されている最大の消費量（すなわち、260mL/kg 体重/日）を使用することを提案している。(EFSA、2017) (参照 1062)
 - 発達中の血液脳関門 (BBB) は成人 BBB に類似しているが、トランスポーターおよび代謝酵素の発現/活性は、成人のパターンと異なる。(EFSA、2017) (参照 1062)
 - 胎児期および出生後において、発達中の免疫系は特に敏感であり、免疫毒性物質への曝露は、免疫系に持続的な影響をもたらし、成人よりも低用量の曝露でも影響が起こり得る。(EFSA、2017) (参照 1062)
- ・上記も踏まえたリスク評価手法が必要だが、限界もある（対応するモデル動物等）
 - 16 週齢以下の乳児のために食品に意図的に添加された物質については、拡張一世代生殖毒性試験 (EOGRTS) (OECD TG 443) が必要 (EFSA、2017) (参照 1062)
 - 乳児用調整乳に使用される食品添加物の評価には、幼年動物での曝露を含む安全性試験の検討が必要である。しかし、比較的高用量で使用される添加物の場合、ヒトでの曝露量より 2 桁以上の高用量に曝露した際の影響を、新生児動物で検討することは困難である。(JECFA、2014) (参照 1059)
- ・上記に基づく、ADI、MOE 等の数値の検討、算出の難しさ等
 - ADI の概念は、12 週齢までの乳児に対しては、より低レベルの曝露でリスクがある可能性があることから、適用されない。これは、未成熟な代謝能、未成熟な腸管での大きな透過性、そしてこれらの急速な成長、発達のためである。従って、乳幼児のリスク判定は、ケースバイケースで検討する必要がある。(JECFA、2014) (参照 1059)
 - MOE の解釈には、POD (point of departure) または曝露推計に存在する可能性のある不確実性または保守性を考慮する必要がある。POD の考慮にあたっては、NOAEL が試験における最高用量である場合がある等の難しさがある。(JECFA、2014) (参照 1059)

④ 上記に基づくガイダンス・ガイドライン整備

乳児用食品添加物のリスク評価を主な対象としたガイダンス・ガイドラインはかなり限定的であるが、モデル動物の検討や解析手法の進展もあり、2000 年代以降 NAS (参照 1014)、JECFA (参照 1059) 及び EFSA (参照 1062) で具体的に検討されてきた。

2) 時系列の検討経緯

表 2 に、主にリスク評価の視点からの、乳児に対する食品添加物に関する検討の経緯を示す。

表 2 乳児用食品添加物に対する取り組みの経緯

年	組織	検討の概要
1972 年	JECFA (FAO/WHO)	<ul style="list-style-type: none"> 乳児用食品とそれに利用する食品添加物のリスク評価について以下を含む基本的な考え方を示した。 ① 12 週未満の乳児とそれ以上の乳幼児を区別し検討（12 週未満の乳児の無毒化のメカニズム、特定の組織の透過性、その他の保護作用等が十分に検討されていないため） ② 12 週未満の乳児向けの食品には、添加物を全く含まないことが望ましい ③ 12 週未満の乳児への使用にあたっては、幼年動物における安全性確認を行うべき
1987 年	WHO (IPCS)	<ul style="list-style-type: none"> 上記 JECFA の見解をより詳細に検討。 新生児や乳児は、外部の化合物の有害影響に特に敏感であることが科学的に示されているとしている。その根拠として、酵素による解毒機構が未成熟であること、排泄器官の機能が不完全であること、有害物質と結合できる血漿中タンパク量が少ないこと、血液脳関門のような生理学的バリアの形成が不完全であることを挙げている。 上記の要因に加えて、組織の成長が急速であることによる感受性の増加を示唆しており、神経系の発達に関しては特に重要な点だとしている。
2004 年	米国 NAS (2004)	<ul style="list-style-type: none"> ガイダンスとはされていないが、米国 FDA と Health Canada の要請により検討。 前臨床試験、臨床試験、および市販後調査につき詳細に検討。階層的アプローチで安全性を評価することを提案している。
2009 年	WHO (IPCS)	<ul style="list-style-type: none"> 乳児は、その代謝能力がまだ十分に発達していないため、特に敏感なサブグループであるとする従来の見解を維持。 12 週未満の乳児の化学物質への曝露（乳児用調整乳中の食品添加物または汚染物質等）のリスク判定は、ケースバイケースで考慮する必要がある。
2014 年	JECFA 第 79 回会議 (FAO / WHO)	<ul style="list-style-type: none"> 乳児用調整乳に使用する 4 種類の食品添加物を評価し、そのような添加物の評価に MOE を使用する際の一般的な考察を報告。 ADI の概念は、より低用量の物質への曝露でも健康へのリスクが生じる可能性があることから、年齢が 12 週未満の乳児には適用されない。 添加物の評価には、新生児動物への直接経口投与による研究が必要だが、比較的高用量で使用される添加物の場合、ヒトでの曝露量より 2 桁以上の高用量に曝露した際の影響を、新生児動物で検討することは困難であることが指摘されている。 乳児については ADI の概念を適用できず、NOAEL と食品添加物への推定 1 日曝露量の間の MOE を検討。
2017 年	EFSA	<ul style="list-style-type: none"> 食品添加物を含む様々なハザードについて、16 週未満の乳児に対する安全性評価を行う際の留意点を示すガイダンス。 乳児の生体機能、臓器・組織の成人との差異を検討。ディンジョン・ツリーに基づくリスク評価のアプローチ、モデル動物（特にブタの重要性を指摘）での知見によるリスク評価手法についても提示。

※ 過去の取り組みの経緯について、2017 年 EFSA の記載を中心に作成

(2) 主要なガイダンス・ガイドライン

(1) に示した経緯等を踏まえた、乳児用食品添加物のリスク評価に関する主要なガイダンス、ガイドライン、レポート等を表3に示す。

乳児用食品添加物のリスク評価、安全性評価に係る検討が各組織でなされているが、乳児用の食品添加物についてリスク評価、安全性評価のガイダンス、ガイドライン等を示している事例は、米国NAS、JECFA (WHO)、EFSA (EU)の3つとなる。

表3 乳児用食品添加物のリスク評価に関する主要なガイダンス、ガイドラインの抽出

組織、発行年	ガイダンス、レポート名	検討の概要
JECFA (FAO / WHO, 1972)	Evaluation of food additives: some enzymes, modified starches, and certain other substances: Toxicological evaluations and specifications and a review of the technological efficacy of some antioxidants (WHO Technical Report Series, No. 488, 1972.) (参照 1066)	<ul style="list-style-type: none"> 乳児用食品とそれに利用する食品添加物のリスク評価について以下を含む基本的な考え方を示した。 ① 12 週未満の乳児とそれ以上の乳幼児を区別し検討 ② 12 週未満の乳児向けの食品には、添加物を全く含まないことが望ましい ③ 12 週未満の乳児への使用にあたっては、幼年動物における安全性確認を行うべき
WHO (IPCS, 1987)	Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food (Environmental Health Criteria (EHC) 70) (参照 1069)	<ul style="list-style-type: none"> 化学物質の安全性評価の視点で、食品添加物と汚染物質について検討しており、乳児についての言及も含む
EU-SCF (1998)	Opinion of the Scientific Committee on Food on the applicability of the ADI (Acceptable Daily Intake) for food additives to infants (expressed on 17/09/1998) (参照 1070)	<ul style="list-style-type: none"> 0-16 週齢の乳児用食品に使用するための食品添加物の ADI (Acceptable Daily Intake) の適用性を検討 通常の ADI の評価に加え、特別な評価が必要としているが具体的な記述はない
NAS (2004)	Infant Formula: Evaluating the Safety of New Ingredients (参照 1014)	<ul style="list-style-type: none"> ガイダンスとはされていないが、米国 FDA と Health Canada の要請により検討 200p 以上の詳細な記述により、リスク評価の考え方に関する具体的記述が多い
WHO (IPCS, 2006)	PRINCIPLES FOR EVALUATING HEALTH RISKS IN CHILDREN ASSOCIATED WITH EXPOSURE TO CHEMICALS (EHC 237) (参照 1071)	<ul style="list-style-type: none"> 乳児を含む小児に対する化学物質の曝露時の健康へのリスクを評価する際の考え方
WHO (IPCS, 2009)	PRINCIPLES AND METHODS FOR THE RISK ASSESSMENT OF CHEMICALS IN FOOD (EHC 240) (参照 1072)	<ul style="list-style-type: none"> 食品中の化学物質のリスク評価の原則、手法について述べており、乳児にも言及している (1987 年と同様の内容)
JECFA (FAO / WHO, 2014)	JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES Seventy-ninth meeting, Geneva, 17-26 June 2014 (参照 1059)	<ul style="list-style-type: none"> 乳児用の食品添加物の安全性評価についての全般的な記述は数ページだが、基本的考え方が示されている 具体的な品目の評価は、下記の WHO Technical Report Series 990(参照 1060) および 1000 (参照 1061) に記載。

組織、 発行年	ガイダンス、レポート名	検討の概要
JECFA (FAO / WHO、2014-2)	WHO Technical Report Series (TRS) 990 Evaluation of certain food additives (2014) (参照 1060)	<ul style="list-style-type: none"> 上記の考え方に基づき、具体的な品目の評価を実施
JECFA (FAO / WHO、2016)	WHO TRS 1000 Evaluation of certain food additives (2016) (参照 1061)	<ul style="list-style-type: none"> 上記につき、一部再評価を行うとともに、新たな食品添加物の評価を加えている。
欧州 EFSA (2017)	Guidance on the risk assessment of substances present in food intended for infants below 16 weeks of age (EFSA Scientific Committee、2017) (参照 1062)	<ul style="list-style-type: none"> 16 週未満の乳児に対する食品添加物等の安全性評価に関するガイダンス 参照文献も含め、最新の知見が反映されている

以上から各ガイダンス、ガイドラインの比較の点で重要なポイントは、以下のとおりと考えられる。

① 対象となる乳児の年齢

調査した国・地域の中では、カナダ、オーストラリア、ニュージーランドを除いて、乳幼児の中でも 12 週齢か 16 週齢までの乳児に対しては、特別なリスク評価が望ましいと指摘されており、そのためのガイダンス・ガイドラインが作成されつつある。

カナダ、オーストラリア、ニュージーランドでも、12 週齢か 16 週齢までの世界的な基準に合ったガイドラインの必要性等が検討されている。

12 週齢と 16 週齢の相違については、いずれも母乳または調整乳のみが栄養源となる週齢とされているが、明確な基準を発見できなかった。

② ガイドライン、ガイダンスの位置づけ

乳児向けの調整乳を対象とした食品添加物を主対象とし、そのリスク評価を行うガイダンス・ガイドラインとして明確に位置付けられているのは、EFSA のガイダンスのみである。

JECFA は JECFA (FAO / WHO、2014) (参照 1059) において、乳児向けの添加物を評価する際に考慮する事項について述べている。

また、米国には明確なガイダンスが存在しないが、2004 年時点での FDA 等からの要請に対するレポートをここでは調査対象とした。

3. 調査対象国・地域別の動向

(1) WHO、CODEX 委員会、JECFA (国際機関)

1) 乳児用調整乳のリスク評価について

1972 年 JECFA は乳児用食品とそれに利用する食品添加物のリスク評価について以下を含む基本的な考え方を示した。

- ① 12 週未満の乳児とそれ以上の乳幼児を区別し検討
- ② 12 週未満の乳児向けの食品には、添加物を全く含まないことが望ましい
- ③ 12 週未満の乳児への使用にあたっては、幼年動物における安全性確認を行うべき。

12 週未満の乳児は、解毒機構や特定の組織の透過性、その他保護作用等が未成熟であるといった点で、それ以上の年齢の乳幼児と区別して検討する必要があることを示した。乳児用食品 (baby food) とされているが、12 週齢未満では乳児用調整乳とほぼ同義であると考えられる。

なお、CODEX は乳児用調整乳に利用できる食品添加物の範囲について示しており、製品 100mL 中の許容量を含めて表 4 に示す。

表 4 乳児用調整乳に利用できる食品添加物と許容量

INS	食品添加物	製品 100ml 中の最大許容量
4.1 増粘剤		
412	グアーガム	加水分解タンパクを含む液状調整乳に 0.1g
410	イナゴマメガム	0.1 g
1412	リン酸架橋デンプン	・単品またはこれらの組み合わせで 0.5g (大豆から作られる調整乳) ・単品またはこれらの組み合わせで 2.5g (加水分解タンパク、アミノ酸から作られる調整乳)
1414	アセチル化リン酸架橋デンプン	
1413	リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン	
1440	ヒドロキシプロピルデンプン	
407	カラギーナン	・0.03 g (通常の乳と大豆から作られる液状調整乳) ・0.1 g (加水分解タンパク、アミノ酸から作られる液状調整乳)
1450	オクテニルコハク酸 (OSA) デンプンナトリウム	2g (加水分解タンパク、アミノ酸から作られる調整乳)
4.2 乳化剤		
322	レシチン	・0.5 g
471	モノ、ジグリセリド	・0.4 g
472c	グリセロールのクエン酸および脂肪酸エステル (CITREM)	・0.9 g (液状調整乳) ・0.75 g (調製粉乳)
4.3 pH 調整剤		
524	水酸化ナトリウム	・単品または組み合わせで 0.2 g (栄養強化目的で添加されるナトリウム、カリウム、カルシウムも含める)
500 ii	炭酸水素ナトリウム	
500 i	炭酸ナトリウム	
525	水酸化カリウム	
501 ii	炭酸水素カリウム	
501 i	炭酸カリウム	
526	水酸化カルシウム	
270	L-乳酸	・GMP 限定
330	クエン酸	・GMP 限定
331 i	クエン酸二水素ナトリウム	・GMP 限定
331 iii	クエン酸三ナトリウム	・GMP 限定
332	クエン酸カリウム	・GMP 限定
339 i, ii, iii	リン酸二水素ナトリウム、リン酸水素二ナトリウムおよびリン酸三ナトリウム	・単品または組み合わせでリンとして 45mg (栄養強化目的で添加されるナトリウム、カリウム、リンも含める)
340 i, ii, iii	リン酸二水素カリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸三カリウム	
4.4 抗酸化剤		
307b	トコフェロール濃縮混合物	・単品または組み合わせで 1 mg
304 i	パルミチン酸アスコルビル	・単品または組み合わせで 1 mg
4.9 充填用ガス		
290	二酸化炭素	・GMP 対応
941	窒素	・GMP 対応

出所) STANDARD FOR INFANT FORMULA AND FORMULAS FOR SPECIAL MEDICAL PURPOSES INTENDED FOR INFANTS (CODEX STAN 72-1981) (参照 1009) より作成

1987年、WHO（IPCS）が1972年のJECFAの基本的な考え方を引き継ぎつつ、より具体化する形で化学物質の安全性評価の視点で、食品添加物と汚染物質について検討している（参照1069）¹。そこでは、乳児については酵素による解毒機構が未成熟であること、排泄器官の機能が不完全であること、有害物質と結合できる血漿中タンパク量が少ないこと、血液脳関門のような生理学的バリアの形成が不完全であること、組織の成長が急速であり特に神経系では感受性の増加への考慮が必要であること等の内容を記述している。この考え方は、2000年以降の米国や欧州における乳児用食品添加物のリスク評価につながっている。

WHO（IPCS）は2009年にも食品中の化学物質のリスク評価の原則、手法について述べている。乳児についても以下の言及があるが、1987年と同様の内容である。（参照1072）²

- 乳児は、その代謝能力がまだ十分に発達していないため、特に敏感なサブグループとして区分
- 12週未満の化学物質への曝露（乳児用調整乳における食品添加物または汚染物質等）のリスク評価は、ケースバイケースで考慮する必要がある。

JECFAは、リスク評価結果を含む会合内容についてのレポートを作成している

乳児用食品添加物についても継続的に検討し、2014年の79回会合（JECFA2014、参照1059）³では、MOEを解釈する際の毒性学、曝露評価等の一般的な留意事項をまとめている。

（表5参照）

¹ PRINCIPLES FOR THE SAFETY ASSESSMENT OF FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS IN FOOD
(www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc70.htm)

² Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food Environmental Health Criteria 240
(<http://www.who.int/foodsafety/publications/chemical-food/en/>)

³ JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES Seventy-ninth meeting Geneva, 17-26 June 2014

表 5 乳児用調整乳に用いる食品添加物における毒性学、曝露評価的視点での考慮事項

項目	考慮事項
毒性学的視点	・ 新生児における ADME（乳児での吸収や代謝活性化、解毒能力の違い等）
	・ 物質の全体的な毒性プロファイル（重大な影響の特定を含む）
	・ ヒト乳児のモデルとなる実験動物における、乳児期の曝露が各ライフステージに及ぼす潜在的影響
	・ 毒性試験に使用された新生児動物モデルでの毒性をヒト乳児に外挿する妥当性
	・ 新生児動物の試験において有害影響が確認されたか、それとも最高用量が NOAEL であったのか
	・ 乳児を対象とした臨床研究の設計と結果（人数、年齢、発育度合い、耐容性、観察された有害事象の種類）
	・ 市販後調査での有害事象報告（添加物を含む乳児用調整乳を既に使用している国がある場合。）
食品曝露評価の視点	・ 乳児用調整乳は、母乳で育てられない 12 週未満の乳児の唯一の栄養源
	・ 食品添加物は、許容された最大限のレベルで使用されると想定する
	・ 1 日に摂取される乳児用調整乳の量とエネルギーの換算には、67 kcal /100 mL（280 kJ /100 mL）が用いられる
	・ 高用量摂取群には 95 パーセントイル値を用いる
	・ 乳児間の曝露量の相違、変動は少ない
	・ 曝露期間は限られ、曝露期間中に体重ベースで曝露量は徐々に減少

出所) JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES Seventy-ninth meeting Geneva, 17-26 June 2014
 (<http://www.fao.org/3/a-at861e.pdf>) より作成

これらの考慮事項を踏まえて、JECFA では、2014 年に以下の 4 つの食品添加物について評価を行っている。（参照 1060）

- ・ カラギーナン
- ・ CITREM(Citric and fatty acid esters of glycerol、グリセリンクエン酸脂肪酸エステル)
- ・ OSA (Octenyl succinic acid、オクテニルコハク酸) 加工澱粉
- ・ ペクチン

さらに、JECFA (WHO、FAO) では 2016 年に、一部 2014 年の再評価を行うとともに、新たに対象も加えて、以下の評価を行っている。（参照 1061）

- ・ イナゴマメガム
- ・ キサンタンガム
- ・ ペクチン（再評価）

(2) 欧州の動向 (EFSA)

EU では、着色料や保存料、酸化防止剤、その他乳化剤・安定剤などの食品添加物と、香料および食品酵素とを区別し、これらを合わせて「食品改良剤 (Food Improvement Agents)」と総称している。そのうち、食品添加物に関わる規制は、欧州議会・理事会規則 (EC) No 1333/2008 (Regulation (EC) No 1333/2008) およびその改正規則による。その中に、乳児向けの食品 (食品カテゴリー13.1) に利用できる食品添加物が示されている。

乳児用を含む食品添加物関連の規制としては、以下がある。

- European Communities (Infant Formulae and Follow-on Formulae) Regulations, 1998 (FSAI, 1999)
- Regulation (EC) No 1333/2008、Council Directive 89/107/EEC (EEC, 1989)
- European Parliament and Council Directive 94/34/EC (EEC, 1994) (食品添加物)
- Regulation EC No. 258/97 (EC, 1997) (新規食品、新規食品用食品添加物)

EFSA (欧州食品安全機関) は、欧州委員会から食品添加物等のリスク評価を要請され、その見解を示すといった役割を有する。

2002年6月、乳幼児用食料品業界、欧州委員会、欧州連合 (EU) 加盟国の食品規制機関、消費者団体の代表が集まり、乳児用調整乳の新しい成分の安全性の評価について議論した。欧州委員会は、規則 (EC) No 178 / 2002, 6 の 29 条 (1) (a) に従い、EFSA に、乳児用の食品添加物のリスク評価に関する科学的および技術的指針に関する意見を提供するように要請した。

その後、EFSA は乳児用調整乳について「母乳を与えない場合では少なくとも生後4か月までの独占的栄養源」とし、16週齢までの乳児に対する食品添加物について検討した。

表6に示す2017年のガイダンス (参照1062) では、16週齢までの乳児に対する食品添加物について、多くの参照文献とともに示されており、以下の点に特徴がある。

- 臓器・組織、生体機能の点での16週齢の乳児の特性を考慮した判断
- ディシジョン・ツリー法の提示 (リスク評価手法やデータの読み取り方等、場合に応じた対応を提示、図2参照)
- 乳児に対応する動物モデルの利用の重要性

具体的には、表6のような提言、課題提起がされている。

また、16週齢以下の乳児の脆弱性等を考慮して、臓器・組織、生体機能別の留意点が示されている。(表7参照)

表 6 EFSA Scientific Committee (2017) の概要

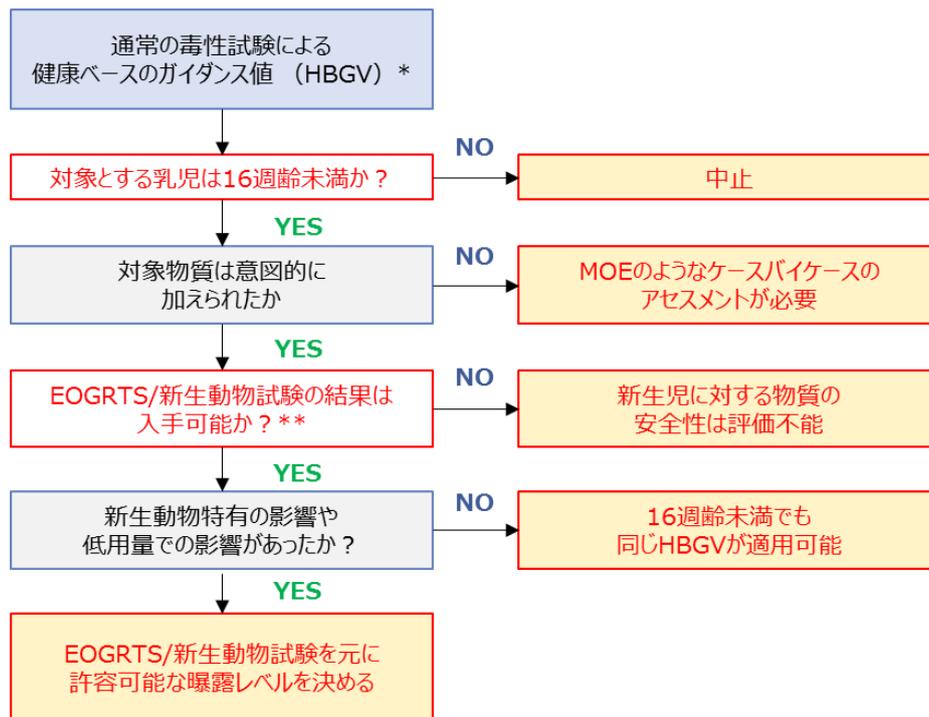
<p>ガイダンスの概要</p>	<ul style="list-style-type: none"> • 出生から 16 週間までの期間、乳児は母乳および乳児用調整乳のみから栄養を得る。 • 16 週齢未満の乳児に対し、以下を重視する必要がある。 <ul style="list-style-type: none"> • 安全性試験に使用される実験動物とヒトとの間における、対応する臓器系の発達段階の相違や、発達に必要とされる外部からの刺激に最も敏感に反応する時期の相違を考慮する必要 • 基本的に 16 週齢以上の幼児や成人の安全性評価の一般原則、ガイドライン、法律に準拠（ADME、亜慢性毒性および慢性毒性、遺伝毒性、発癌性および生殖毒性に関する情報が必要） • 16 週齢未満の乳児の特性を考慮した研究、試験が必要
<p>ガイダンスの提言</p>	<ul style="list-style-type: none"> • ディシジョン・ツリー手法を開発 • 拡張 1 世代生殖毒性試験 (EOGRTS) (OECD TG 443) を要求 <ul style="list-style-type: none"> • 生殖系、発生系、神経系、免疫系に及ぼす影響の評価が必要 • 新生児動物への直接投与は、出生後できるだけ早く実施 • 標準的な毒性研究において物質が成体動物に有害作用を示さず、ADME 試験で物質が検討すべき用量で吸収されない場合、新生動物（例：仔豚モデル）への直接経口投与による反復投与試験のみ必要 <ul style="list-style-type: none"> • 上記試験には、胃腸管への局所的影響、乳児の食物に通常含まれる栄養素（ミネラルやビタミン）のバイオアベイラビリティの低下の可能性について分析が必要 • ヒトデータ（疫学、臨床試験、症例報告等）は入手可能であれば評価に含めるべき • 科学的正当性が示される場合は、ガイダンスに記載した推奨試験から逸脱可能 • リスク評価を裏打ちする基本原則（他の EFSA パネル等によるガイダンス及び勧告や法令）を適用する必要 • 意図的に添加していない物質は、調整乳中の存在を可能な限り避けるべき • 成人データの活用 <ul style="list-style-type: none"> • 代謝の知見が成人で分かる場合、物質のトキシコキネティクスが予測可能 • 代謝が詳細に分かっていなくても、成人集団と乳児の違いを説明する、体内動態に係る追加の不確実係数を使用することによって、乳児における体内動態の不確実性に対処可能 • しかし、乳児における有害影響の完全な定量的、定性的予測はできず、トキシコダイナミクスに係る不確実性に対処できないことから、適切な追加の不確実係数の設定は不可能との意見も存在 • したがって、健康上の懸念があるかどうかを判断するには、ケースバイケースで追加の検討が必要。新生動物に関する研究の知見がある場合には、このような課題が克服されることが期待される

出所) Guidance on the risk assessment of substances present in food intended for infants below 16 weeks of age (<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4849>) (参照 1062)

表 7 組織・臓器、生体機能の点からの検討

分野	乳児に係る問題点、検討すべき事項等
<ul style="list-style-type: none"> ・ 胃、膵および胆管機能 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 胃、膵および胆管機能は、出生時に完全に成熟していない。
<ul style="list-style-type: none"> ・ ADME 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 一般的に物質の吸収速度は、16 週齢未満の乳児ではより遅くなるが、吸収量は年齢に依存しない。 ・ 体組成が異なることから、吸収後の体内の分布は、成人と異なる可能性がある。このほか、局所血流、臓器に出入りする血液等の液体の流量、心拍出量、全血漿タンパク質結合能（特にアルブミン）に相違がある。 ・ 乳児では代謝に関わる酵素の能力が低いが、基質特異性がオーバーラップしているのでその影響は限定的。また、腎機能は、出生直後は弱く、1 歳までに成長する。 ・ 正確な代謝経路、排泄経路が知られていない場合は、追加の不確実係数として 3 を使用すれば十分である。 ・ 遺伝子多型が関わるような経路で代謝されることが知られている場合や非常に早産の乳児を念頭に置く場合は、ケースバイケースのアプローチが必要
<ul style="list-style-type: none"> ・ 血液脳関門 (BBB) ・ 中枢神経系 (CNS) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 発達中の血液脳関門 (BBB) は成人のものとそれほど差はない。 ・ ただし、BBB のトランスポーターや代謝酵素の発現、活性は成人と異なっていると考えられ、物質によっては、成人に比べて化学物質に対する脆弱性が高い可能性がある。 ・ 化学物質の中枢神経系 (CNS) への曝露には不確実性がある。これは血液脳脊髄液関門、BBB の発達についての正確な知識が不足していることによる。
<ul style="list-style-type: none"> ・ 免疫系 ・ アレルギー 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 胎児期および出産後の免疫系は、特に敏感 ・ 胎児期あるいは出生後初期の曝露は、通常と異なる予測できない変化を免疫系にもたらすかもしれない。この変化が自己免疫、免疫不全、炎症およびアレルギー反応と結びつく可能性がある。 ・ まとめとして、新生児は、免疫系の発達および成熟に特異的な特徴があり、それに対応する研究が望まれる。
<ul style="list-style-type: none"> ・ 生殖器官 ・ 内分泌、甲状腺 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 女性の生殖器系の発達は比較的少ないが、男性の生殖器官、精巣は発達 ・ 発達過程の生殖器官に対する影響は、通常、成長してから現れる。 ・ 16 週未満の内分泌プロファイルは成人とは異なる。乳児の初期の発達段階でのホルモン系に対する影響は、成長してから現れる可能性があることを考慮したリスク評価が望まれる。

出所) 同上



*：このディシジョン・ツリーでは、成人に対するリスク評価が行われていることを前提としている。

**：拡張1世代生殖毒性試験は評価対象物質が全身循環に移行する場合に用いる。新生動物試験は評価対象物質が消化管で吸収されず全身循環に移行しない場合に用いる。

図 2 食品添加物等のリスク評価に係るディシジョン・ツリー法

また、2017年のガイダンス（参照 1062）では、腸内細菌叢についても以下のように言及されている。

- 乳児の腸内細菌叢は変化が激しく成人とは大きく異なる。（成人の腸内細菌叢は、安定的で一時的に変化があっても元に戻る性質を持つ。）端的に言えば、生後すぐに腸内細菌叢は、通性嫌気性細菌を主とするものから、多様な嫌気性細菌からなるものへ変化する。
- しかし、細菌叢の組成は、出産の方法（通常の出産か帝王切開か）、母乳を与えるか否か（主に母乳摂取を基に、腸内細菌叢が出来上がる可能性がある）、環境（家庭環境から地理的なものまで）、両親の遺伝的背景および抗生物質の使用により大きな影響を受ける可能性がある。抗生物質の使用は、重大にかつ永続的に、発達途上の腸内細菌叢を変化させる可能性がある。強調すべきことは、健康な乳児や成人における理想的な腸内細菌叢がどのような組成であるのかについて、未だ明らかになっていないということである。
- 早産の乳児では、集中治療室の環境に加え、妊娠期間（妊娠何ヶ月で生まれたか）、性別、母乳を与えているか否かが、腸内細菌叢の発達に影響する主要な因子であるようである。端的に言えば、早産の乳児は一般的な共生細菌の定着が遅くなる。そのような乳児では細菌叢の多様性は小さく、偏性嫌気性細菌は少なく、プロテオバクテリアが多い。

(3) 北米の動向 (米国、カナダ)

1) 米国の取り組みの動向

① 乳児用調整乳の位置づけ

- ・米国の大多数の乳児には、6 ヶ月齢まで乳児用調整乳が与えられる。調整乳は、複数の点でヒト母乳よりも劣るが、市販の牛乳よりも効率的な成長、発育、栄養バランスを促進する。
- ・製造業者は、しばしば、乳汁の組成または性能を模倣するために乳児用調整乳に新成分を加える。しかし、バイオアベイラビリティによっては毒性の懸念が生じるなど、これらの成分の添加にリスクがないわけではない。

② 母乳と調整乳の比較に関する問題点

- ・乳児用調整乳を母乳と比較することにより、乳児用調整乳の新しい成分の安全性を評価することは、研究上、規制上の双方の観点から問題がある。
- ・研究の観点からは、以下の問題点がある。
 - 乳幼児を対象に、母乳、調整乳のどちらを与えるかを無作為化した試験を行うことはできないため、新成分の影響を評価する臨床研究は、設計が難しい
 - 母親が母乳育児を選択する要因を含む、非栄養学的な交絡変数が存在する可能性
 - 乳児用調整乳の組成は一般に一定のままであるが、母乳組成物は時間の経過とともに、個人間および個人内でかなり変動する。
- ・規制上の観点からは、以下の課題がある。
 - 乳児用調整乳の新しい成分は、通常、母乳育児の利点を模倣するように選択され、安全性の面で問題はなくても免疫学的、神経学的な乳児の成長面から有効性が劣る場合がある。
 - 乳児用調整乳に新しい成分を添加する際は、添加しない調整乳と母乳の 2 種類の対照群との比較を行う必要がある

③ 母乳と調整乳の比較

- ・当初調整乳は、母乳の組成に類似させていたが、母乳育児の乳児の成長率と一致させる目標設定もなされた。
- ・しかし、時間の経過とともに、母乳育児が乳幼児にいくつかの他の潜在的利点を与える可能性があることが認識された (AAP、1997 のレビュー)
 - 感染症の予防 (Beaudry et al、1995; Dewey et al、1995)
 - 神経発達 (Mortensen et al、2002)
 - 小児慢性疾患からの保護 (Saarinen and Kajosaari、1995; Shu ら、1995)
- ・母乳には乳児用調整乳には含まれていない成分が多く、それが上記の利点を与えている。ただし、母乳にもビタミン D 欠乏症、環境毒素への曝露などのリスクもある。

④ 乳児用調整乳に係る米国の歴史

- ・表 8 のような経緯があるが、主に栄養成分に係る変化である。ただし、製造、品質保持、流通面への対応からの食品添加物の検討も行われた。

表 8 米国における乳児用調整乳への取り組み経緯

<ul style="list-style-type: none">●牛乳ベースの配合物<ul style="list-style-type: none">1867年 - 小麦粉、牛乳、麦芽粉、および重炭酸カリウムを含む配合物1915年 - 牛乳、乳糖、オレオ油および植物油を含む配合物。粉末形態1935年 - 調整乳中のタンパク質含有量を考慮1959年 - 鉄強化の導入1960年 - 腎溶質負荷の考慮、濃縮液形態としての利用が始まる1962年 - ヒト母乳に類似したホエイ：カゼイン比を考慮1984年 - タウリン強化導入1990年代後期 - スクレオチド強化の導入2000年代初期 - 長鎖多価不飽和脂肪酸強化の導入●非牛乳ベースの調合物<ul style="list-style-type: none">1929年 - 大豆調合乳（大豆粉）の市場導入1960年代半ば - 単離された大豆タンパク質の導入

出所) Infant Formula

⑤ 乳児用調整乳のリスク評価に係るガイダンス

FDA 等による、乳児用調整乳に使用する食品添加物のリスク評価を主対象としているガイダンスは見当たらない。

2) カナダの取り組みの動向

カナダ食品医薬品規制（2001）には、乳児用調整乳の成分の特定の要件、乳児用調整乳に加えられる食品添加物の包括的なリストが含まれている。

Health Canada は、以下のような役割を有する。

- ・ 新規の食品添加物の要請を審査し、承認されれば、食品衛生規則の食品添加物のリストに当該成分が追加されることを知事に勧告
- ・ 提出された情報によって、新しい食品を消費することの安全性が確立したことを確認した場合、製造業者に書面で通知

乳児用調整乳に利用される食品添加物のリスク評価についても行うべき役割にあるが、

3) に示す 2004 年の検討では米国 NAS と一部連携し、検討している。

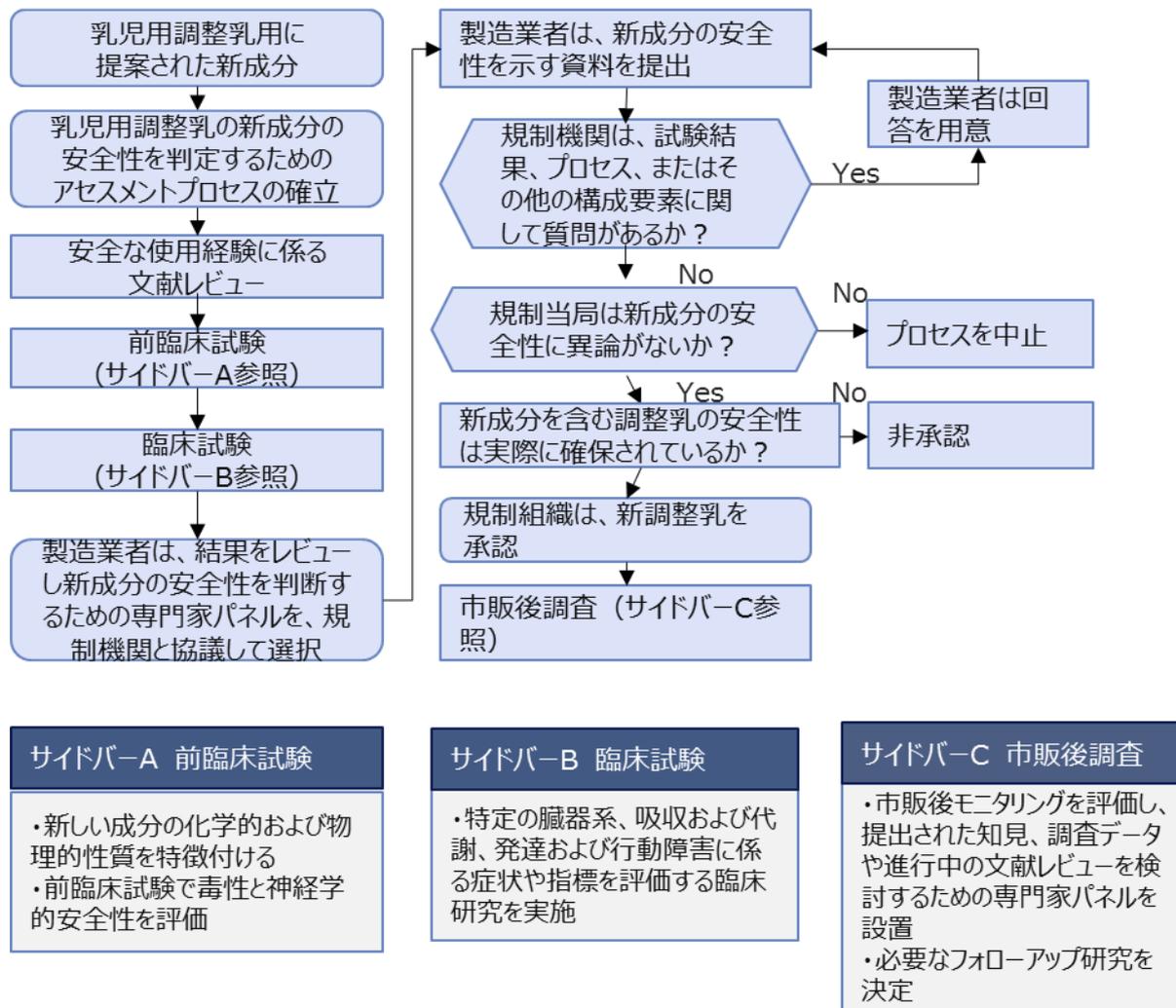
3) 乳児用調整乳に利用される食品添加物のリスク評価について

ガイドラインに相当する検討として、安全性に係る科学的評価は NAS 等で、一部カナダとも連携して実施されている。

Infant Formula（2004）（参照 1014）では、米国政府（カナダ政府とも連携）の見解を踏まえた乳児用調整乳の安全性評価について、乳児用調整乳の概要や、前臨床試験も含めた開発に関する網羅的な記述がある。また図 3 に示すディシジョン・ツリーを用いる考え方や、ブタ等モデル動物を利用した評価の重要性が示されている。

① 提案されている安全性評価プロセス

- 乳児には脆弱性がある。乳児用調整乳に新成分を追加しようとするメーカーのために、意思決定の階層的アプローチのガイドラインが策定されるべきである。
- 安全性評価は、成分の特性に応じて対象を絞る必要がある。厳密で科学的である一方で、柔軟性をもつ必要がある。
- 階層的アプローチの採用により、有害性（毒性等）を考慮した適切な評価を行うことができる。



サイドバーA 前臨床試験

- 新しい成分の化学的および物理的性質を特徴付ける
- 前臨床試験で毒性と神経学的安全性を評価

サイドバーB 臨床試験

- 特定の臓器系、吸収および代謝、発達および行動障害に係る症状や指標を評価する臨床研究を実施

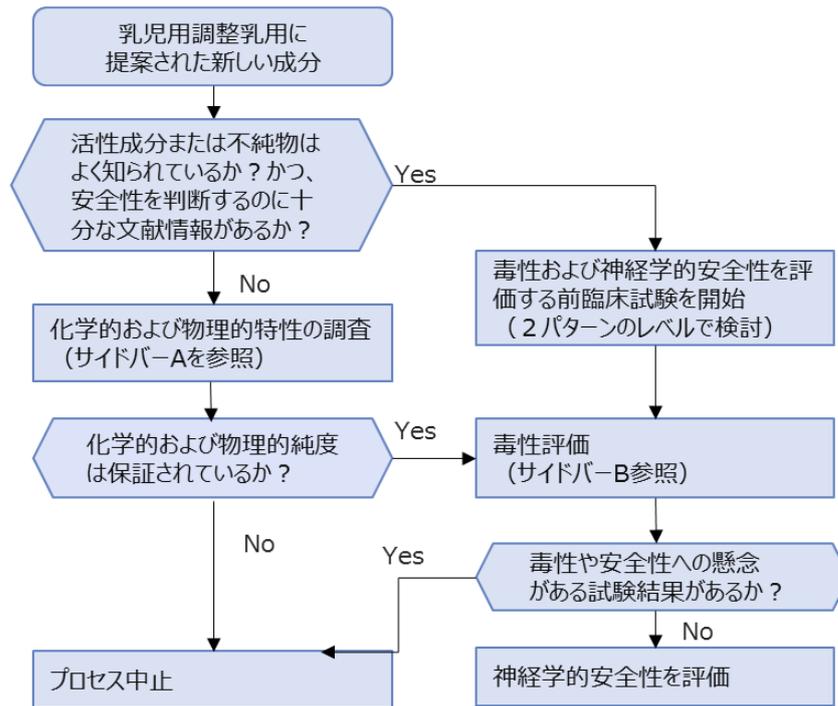
サイドバーC 市販後調査

- 市販後モニタリングを評価し、提出された知見、調査データや進行中の文献レビューを検討するための専門家パネルを設置
- 必要なフォローアップ研究を決定

図 3 提案されている安全性評価プロセス

② 前臨床試験

- 図 4 のような前臨床試験の評価プロセスが示されている。図 5 のように、2 段階に分けて、レベル 1 でスクリーニング的検査、レベル 2 で詳細検査を実施することを提案していることが特徴
- 乳児の発達、脳機能への影響という点から、神経学的検査を重視
- レベル 1 およびレベル 2 の評価にあたり、留意すべき事項についての非常に詳細な記述も含まれている。



サイドバーA 化学的および物理的特性	サイドバーB 毒性評価
構造、安定性、および溶解性 - 高速液体クロマトグラフィー、質量分析、および薄層クロマトグラフィー - 温度および紫外光に対する安定性、成分の溶解特性 - 成分中の特定不可能な物質の割合 - 成分の投与に使用される溶媒、懸濁剤、乳化剤、またはその他の剤 (<i>In vitro</i> 試験または動物試験の別を問わない) - 成分は一連の研究が完了するまで、安定性、品質、および純度を維持する条件下で保存される必要がある - これらの研究は、ヒトの乳児に与える際に用いる溶液またはマトリックス中に成分を含有させて、複数回行うべきである。	1. 遺伝毒性試験 2. 細胞を用いた試験 3. 動物を用いた毒性試験 - 急性毒性、亜慢性毒性および慢性毒性 - 発達毒性 - 吸収、分布、代謝および排泄 4. 臓器レベルの研究 - 消化管、肝臓、腎臓、血液、免疫系、内分泌系、神経

図 4 提案されている前臨床試験評価プロセス

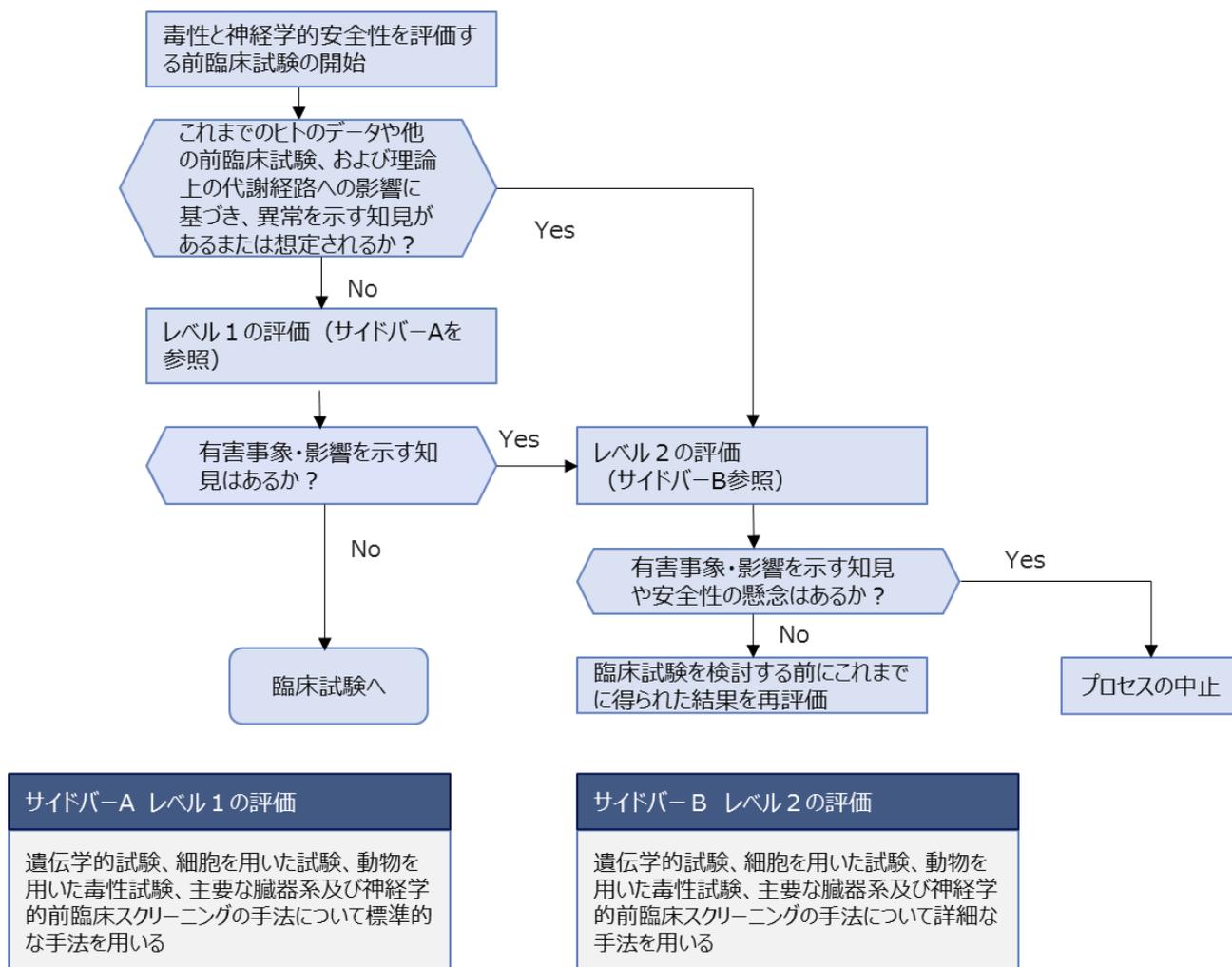


図 5 提案されている前臨床試験実施プロセス

(4) その他の動向 (オーストラリア、ニュージーランド)

オーストラリア国立保健医療研究評議会の幼児摂食ガイドライン、ニュージーランド保健省保健栄養ガイドライン (0-2 歳を対象) は、乳児が完全に、または部分的に授乳を受けていない場合、12 ヶ月齢まで母乳の代用として調整乳を使用する必要があるとしている。

オーストラリアとニュージーランドでは、乳児用調整乳に利用できる食品添加物が、CODEX との比較で、Food Standards (Safety & Food Technology - Proposal P1028 Infant Formula) という基準で示されている。(参照 1065)¹

2017 年 11 月、FSANZ (オーストラリア・ニュージーランド食品安全庁) は、基準 2.9.1 (乳幼児用調整乳を規制する基準) を見直す方針を公表し、現在検討を進めている。その目的は、乳児用調整乳の規制に最新の科学的証拠を反映することである。この規範を国際的な規制と調和させることも検討している。

¹ <http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/Documents/P1028-Consult-SD2-SafetyTechnology.pdf>

4. 国際評価機関・諸外国等にて実施されたリスク評価結果の具体的事例

(1) リスク評価手法等全般に係る事例

1) 乳児用調整乳の食品添加物のリスク評価に係る全般的な事項を述べた論文の事例

「An integrated approach to the safety assessment of food additives in early life」(2017年)(参照1001)にて挙げられているリスク評価手法を紹介する。本事例は以下のような背景、特徴を有する。

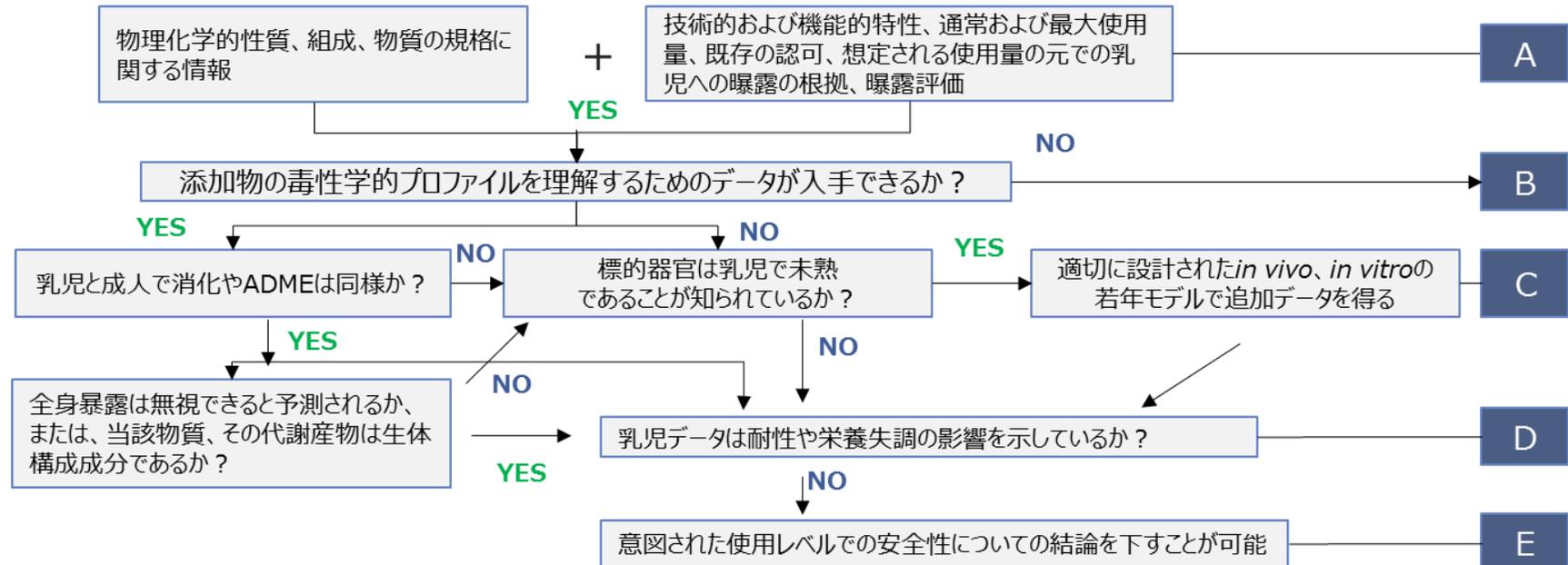
- 2017年のEFSAのガイダンスを受け、そのガイダンス作成に係った研究者等を著者に含む(ディシジョン・ツリー、ブタやミニブタ等のモデル動物の利用という点でEFSAと共通点がある。)
- Nestec、Abbott Nutrition等、民間企業の者が参加していることから、事業者寄りの視点が存在している可能性がある。
- JECFA(2014)及びJECFA(2016)で評価された6物質に関する個別評価・検討を含んでいる。

① ディシジョン・ツリーによる乳児の安全性検討

次ページの図6のようなプロセスでどのような安全性データが必要かを検討することを提案している。

② モデル動物の活用

全般にブタ、ミニブタの有用性が示されているが、臓器・組織の種類や成長段階により適切なモデル動物を選定すべきであること、また複数のモデル動物の活用による検討が望ましいこと等が示されている。



- A** 機能特性、乳児への曝露、製造工程、物質の規格、同定法、マトリックス効果、安定性、物理化学的特性、構造アラート（QSAR）、不純物に対するTTCの使用に関するデータ
- B** ヒトの薬物動態と動物のADME、遺伝毒性、栄養と成育に関する動物研究、細胞を用いたアッセイ（アドバースアウトカムパスウェイ）、反復投与毒性、生殖発生毒性、作用機序、臨床の情報（成人および乳児）、アレルギー性評価、乳児での安全な使用歴、市販後調査に関するデータ
- C** TIM（TNO gastrointestinal model）、PBPKモデリング、または適切な若年動物モデルにより、乳幼児の消化および代謝を再現する
- D** 想定される使用量での乳児の耐容性、栄養妥当性を管理された臨床試験で確認する
- E** オプション：1) 標的器官が特定されているが、若年データが入手できない：100より大きい安全係数を使用すべき
 2) 若年データを入手可能またはそのような試験を実施：許容可能なMOEは1～10である。
 3) 若年データが必要なく、意図された使用レベルでのしっかりした小児臨床データが入手可能：MOEは1でよい。

図 6 ディシジョン・ツリーによる乳児の安全性検討において必要なデータの考え方

表 9 成長段階や臓器・組織に関するヒトとの比較（実験動物としての利用可能性）

項目		ヒト以外の霊長類	ブタ	ラット	マウス	イヌ
発達段階	妊娠期間 (ヒト 34~37 週)	16.8~17.8 週	18 週	7 日以内		8.2~9.2 週
	新生児 (ヒト 0~28 日)	0~14 日	0~14 日	10~12 日		0~14 日
	乳幼児 (ヒト 1 か月~2 年、4~6 か月で離乳)	14 日~6 ヶ月 (7.5 か月で離乳)	14~28 日 (21~35 日で離乳)	10~21 日 (ラット: 21~28 日で離乳、マウス: 21 日で離乳)		1~14 か月 (3~5 週で離乳)
臓器組織	消化管 (消化管の成熟期間は、妊娠期間と相関)	<ul style="list-style-type: none"> 比較可能、脂肪の多い乳児用調整乳を消費可能 	<ul style="list-style-type: none"> 膵臓および消化酵素のプロファイルおよび胆汁は比較可能、大腸は出生時に若干未成熟 小腸下部の腸内細菌密度が高く、出生後 48 時間は巨大分子の腸管透過性が高い 	<ul style="list-style-type: none"> 限定された比較可能性、出生から離乳までは全体的に大きな違いがある。 人間の早産に類似、離乳時の腸の早い成熟 出生後、消化酵素のプロファイルは同じでない 標準的なげっ歯類の食餌咀嚼力が少ないことから、調整乳混合液を用いて試験を行うには向いておらず、乳児用調整乳に直接添加物を加えて試験するためには不向き 	<ul style="list-style-type: none"> 構造/組織は人間と同様 消化管は出生時に完全に形成し、完全な腸管壁の形成は 24~48 時間で完了 ブタとイヌでは分泌される酵素が異なる (出生以降のラクターゼなど) 新生児のヒトやイヌでは塩酸の分泌が起こらない 	
	肝臓	<ul style="list-style-type: none"> 比較可能 	<ul style="list-style-type: none"> 比較可能、薬物代謝酵素は類似するが、すべての酵素系について完全な知見があるわけではない 	<ul style="list-style-type: none"> ラットは胆汁嚢を有していないので完全には比較できない 	<ul style="list-style-type: none"> 肝臓の脂質代謝に相違 	<ul style="list-style-type: none"> 完全には比較できない 肝臓の構造は出生時に、胆管機能は出生時から 3 日以内に成熟
	腎臓	<ul style="list-style-type: none"> 比較可能 出生前に腎形成は完了 (ヒトと同様) 	<ul style="list-style-type: none"> 限られた比較可能性 出生後の腎形成は 3 週間で完了 機能の成熟については不明 	<ul style="list-style-type: none"> 限られた比較可能性、出生後の腎形成は速く 2 週間で完了 腎機能の成熟はラットでは 21-42 日、ヒトでは 1~2 年 	<ul style="list-style-type: none"> 比較可能 出生前に腎形成は完了 	<ul style="list-style-type: none"> 限られた比較可能性 出生後の腎形成は 2 週間で完了
	生殖系	<ul style="list-style-type: none"> 比較可能 雄ではヒトと異なり、出生時に精巣下降が起こるが、出生後に戻る。完全な降下は 3 年以内に起こり、思春期後期は生後 3~5 年で定着する 	<ul style="list-style-type: none"> 初期の性成熟は 3-4 ヶ月 (雄)、4-5 ヶ月 (雌) だが、げっ歯類の動物として頻用 	<ul style="list-style-type: none"> 限られた比較可能性だが、ラットモデルが最も頻繁に使用される。 雄では、新生児の精巣期はヒトの相当 雄ではテストステロンの産生時期は胎児期の後期であり、胎児期初期から産生しているヒトとの間に相違 精巣下降は生後 15 日で完了 精囊や前立腺の構造の発達に相違 		<ul style="list-style-type: none"> オス: 精巣下降は出生後に起こる、副生殖腺の相違 メス: 発情周期に関しては比較できない

項目		ヒト以外の霊長類	ブタ	ラット	マウス	イヌ
臓器組織	内分泌腺	• 比較可能	• 比較可能	• ヒトよりも後に下垂体 - 生殖腺の成熟が起こる		• より高い成長ホルモンの分泌
	免疫系	• 比較可能	• 比較可能 • 造血系、リンパ系臓器発達（胸腺と脾臓は成体での表現型に相当）、リンパ節の発達はヒトよりわずかに遅い（パイエル板や粘膜関連リンパ組織）	• 限られた比較可能性 • 造血機能は脾臓に存在する。胸腺発達はヒトと同様、脾臓は出生時に未成熟、リンパ節は未成熟 • 児童期から思春期への移行時には、形態的には成体と同じ • 幼児期から児童期への移行時に成熟が観察される • パイエル板や粘膜関連リンパ組織が存在 • 成熟はヒトよりわずかに遅いが、げっ歯類はヒト新生児の免疫応答を合理的に予測するとする論文あり		• 出生時にヒトと比べより成熟
	脳・中枢神経系、神経発達	• 比較可能 • 1ヶ月の霊長類の脳は4ヶ月のヒト乳幼児に相当する	• 比較可能 • 脳の成長や神経発生の主要な段階はヒトと類似しており、出生前後期～出生後初期に起こる	• 限定的な比較可能性 • 神経発生はげっ歯類でほとんどが出生後に起こる • 新生児ラット（生後7日）の脳は、第2/第3期のヒト胎児の脳に相当し、ヒトの成長段階に追いつくまでに生後数日を要する • 血液脳関門の発達は遅い • しかし、ラットとヒトの脳構造の比較に関する十分な知識があり、ラットはしばしば適したモデルとされる		• データが限られている。 • 小脳はヒトの乳児よりも早い時期に急速に収縮（誕生からイヌでは2.5ヶ月、ヒトでは1歳から）
	認知機能の発達、行動	• 比較可能	• 認知機能の発達は完全に評価されていないが、げっ歯類と同じ試験を用いることが可能	• 限られた比較可能性だが、ラットは良好な行動学的モデルとされている。 • 感覚と反射機能は、ヒトよりも出生時に成熟していない		• 感覚と反射機能は、ヒトよりも出生時に成熟していない

(2) 個別食品添加物に係るリスク評価結果の事例

1) 対象の抽出と分析の概要

個別食品添加物のリスク評価事例については、以下の視点から対象を検討した。

- ✓ 乳児用食品添加物として、国際的に幅広く利用されていること
- ✓ NOAEL、MOE、ADI 等の定量指標を含む検討、分析がされていること
- ✓ 信頼のある国際機関による検討が行われていること
- ✓ 可能であれば、新規のモデル動物の利用等のリスク評価手法が利用されていること

最初の3つは必須要件、最後は付加的要件といえる。

上記の視点で、以下の6物質を対象にした。

- ① カラギーナン
- ② CITREM (Citric and fatty acid esters of glycerol、グリセリンクエン酸脂肪酸エステル)
- ③ OSA (Octenyl succinic acid、オクテニルコハク酸) 加工澱粉
- ④ ペクチン
- ⑤ キサンタンガム
- ⑥ イナゴマメ (Locust bean) ガム

これらの物質を、前述の主要国の乳児用食品添加物リストの表 1 と照らし合わせると、これらの物質が共通して多くの国で利用が可能であることがわかる。

①～④は JECFA2014 「Evaluation of certain food additives 990」 (参照 1060) で検討がなされている。また、⑤、⑥は、JECFA2016 「Evaluation of certain food additives 1000」 (参照 1061) で検討がなされている。

これらの対象の分析結果のまとめについても、表 10、表 11 で示すが、乳児用食品添加物の評価で重要なポイントとしては、動物での毒性評価が重要 (ヒト乳児に対応するモデル動物、特にブタ) とされていること、が挙げられる。

表 10 個別物質評価のまとめ

物質名	用途	公的機関の乳児用評価	ADI、NOAEL 等	乳児用調整乳への利用国	参照
カラギーナン (INS 407、CGN)	増粘剤、ゲル化剤、安定剤、艶出し剤	・ JECFA (2014 年)	・ NOAEL430 mg / kg bw/日	・ 欧州、米国等	(参照 1060)
CITREM (INS 472c)	抗酸化剤	・ JECFA (2014 年)	・ 提案された使用条件下で安全性に懸念なし (JECFA)	・ ヨーロッパ、米国、カナダ、スイス、トルコ、メキシコ、ロシア、ブラジル、中国	(参照 1060)
OSA 加工澱粉 (INS1450、CAS66829-29-6)	安定剤、乳化剤、増粘剤	・ JECFA (2014 年)	・ ADI 特定せず	・ 2012 年から全世界で販売	(参照 1060)
ペクチン (INS 440、CAS No 9000-69-5)	ゲル化剤、増粘剤、安定化剤	・ 米国では GRAS ・ JECFA (2014 年) ・ JECFA (2016 年)	・ 提案された使用条件下で安全性に懸念なし (JECFA、2016 年) NOAEL1049 mg / kg bw / d (JECFA、2016 年)	・ 欧州 ・ 米国 (GRAS)	(参照 1060、1061)
キサントガム (INS 415)	増粘剤、安定剤、乳化剤、発泡剤	・ JECFA (2016 年)	・ ADI 特定せず NOAEL500~1,000 mg / kg bw / d	・ (乳児用での利用は限定的)	(参照 1061)
Locust 豆 (イナゴマメ) ガム (LBG、INS 410、CAS 9000-40-2)	増粘剤、安定剤、乳化剤、ゲル化剤	・ JECFA (2016 年)	・ ADI 特定せず NOAEL2500mg / kg bw / d (ラットの慢性、発癌性試験)	・ 欧州、中国、ロシア、カザフスタン - ベラルーシ	(参照 1061)

表 11 リスク評価に関する JECFA (2014) 及び JECFA (2016) の検討

項目	カラギーナン	ペクチン	CITREM	OSA 加工澱粉	キサントガム	イナゴマメガム
In vitro 研究	<ul style="list-style-type: none"> 炎症反応経路へのカラギーナンの関与を示唆する <i>in vitro</i> 研究について、前回の評価までに検討（新たな研究はなし） 	<ul style="list-style-type: none"> 遺伝毒性試験を検討、懸念なし 	<ul style="list-style-type: none"> 胃と十二指腸を再現したモデルで加水分解を検討（完全には加水分解されない） 遺伝毒性は AMES 試験（陰性）のみ 	<ul style="list-style-type: none"> 消化管での加水分解を検討（少なくとも部分的な加水分解を受ける） 遺伝毒性試験を検討、懸念なし 	<ul style="list-style-type: none"> 消化管で消化されるかを検討（ほぼされない） マウスの免疫系に対する影響を示唆（ヒトでの意義は不明） 	<ul style="list-style-type: none"> 一部のミネラルの吸収を阻害する可能性あり 遺伝毒性は AMES 試験（陰性）のみ
動物での研究、毒性評価	<ul style="list-style-type: none"> 前回の評価以降の新たな研究として、ヒト乳児に対応する新生児ブタ、ミニブタの試験データが有効である 	<ul style="list-style-type: none"> ラット（短期毒性、生殖毒性） 新生児ブタ等の研究 	<ul style="list-style-type: none"> 参考になる研究がほとんどない 	<ul style="list-style-type: none"> ラット、イヌ、ブタのデータ 新生児ブタ、ビーグル犬のデータ 	<ul style="list-style-type: none"> ラット、イヌのデータ 新生児ブタのデータ 	<ul style="list-style-type: none"> マウス、ラットのデータ 離乳直後のブタのデータ
ヒト臨床研究	<ul style="list-style-type: none"> 2 例のデータを参照（研究が少ない） 	<ul style="list-style-type: none"> 4 つの研究を参照 	<ul style="list-style-type: none"> かなり多い クエン酸の曝露の検討 	<ul style="list-style-type: none"> 2 つの無作為化多施設二重盲検臨床試験等存在 	<ul style="list-style-type: none"> 複数の研究のほか、市販後調査結果も入手可能 	<ul style="list-style-type: none"> 13 の試験で約 400 人の乳児を調査
結果	<ul style="list-style-type: none"> NOAEL、MOE を特定 	<ul style="list-style-type: none"> NOAEL、MOE を特定 	<ul style="list-style-type: none"> NOAEL、MOE を特定できず 	<ul style="list-style-type: none"> NOAEL、MOE を特定 	<ul style="list-style-type: none"> NOAEL、MOE を特定 	<ul style="list-style-type: none"> NOAEL、MOE を特定できず

2) 個別分析例

① カラギーナン

NOAELは新生児のブタ試験の結果から430mg/kg bw（新生児ヒヒ（baboon）での検討結果もほぼ同じ）である。MOEは低い数値だが、腸や免疫パラメーターへの有害影響はない。また、ADIは特定していない。

総合的にみて、1000 mg/Lまでの濃度での乳児用調整乳への利用は問題ない（カラギーナンが吸収されにくいことにより、未成熟の腸に直接影響を及ぼす可能性があるのではないかとする、当初の懸念が和らいだとしている）

表 12 カラギーナンのリスク評価に関する JECFA（2014）の見解

項目		JECFA の判断、見解
リスク 評価 の判断	毒性 (ADME 含む)	<ul style="list-style-type: none"> NOAEL 430 mg/kg bw/day（最高用量）。新生児ブタ試験によるが、別のヒヒ（baboon）の研究結果からもほぼ同様の NOAEL が得られる。 新生児のミニブタおよびブタを用いてカラギーナンが腸管で吸収されるかを調べた試験が行われているが、結果に問題があり吸収性を判断できなかった。 なお、毒性データベースを参照しても、カラギーナンにその他の毒性は知られていない。
	曝露量	<ul style="list-style-type: none"> 調整乳中濃度 300 mg/L： 50%タイル値 37~54 mg/kg bw/day、95%タイル値 65~67 mg/kg bw/day 調整乳中濃度 1,000 mg/L： 50%タイル値 124~180 mg/kg bw/day、95%タイル値 218~222 mg/kg bw/day
	MOE/ADI	<ul style="list-style-type: none"> MOE は体重ベースで 2~12、濃度ベースで 2~8（ブタ試験の NOAEL とヒト乳児の曝露量の比較）。 新生児ブタ試験での最高用量以上の濃度のカラギーナンを用いることは、調整乳の粘性が高くなりすぎるため現実的でない。 MOE は小さいが、新生児ブタ試験で投与した最高用量でも腸や免疫パラメーターへの有害影響はなかったことに留意（腸に影響が認められなかったことから、カラギーナンが吸収されにくいことにより、未成熟の腸に直接影響を及ぼす可能性があるのではないかとする、当初の懸念が和らいだとしている）。
	JECFA の 総合評価	<ul style="list-style-type: none"> 1,000 mg/Lまでの濃度での乳児用調整乳（特殊医療目的含む）におけるカラギーナンの使用は問題ない。 高用量のカラギーナンを含有する特別な医療目的の調整乳を必要とする乳児については、通常は医療監視下にあるとの見解。

② ペクチン

2014年にラット、ブタでの試験、およびヒト臨床研究データから NOAEL や MOE を検討しているが、安全性の懸念があり追加のデータが必要としている。

表 13 ペクチンのリスク評価に関する JECFA (2014) の見解

項目		JECFA の判断、見解
リスク 評価の 判断	ADME	<ul style="list-style-type: none"> 消化されないが、腸内細菌によって発酵し、オリゴガラクトロン酸になる。オリゴガラクトロン酸はさらに代謝を受け、酢酸、プロピオン酸、酪酸のような短鎖脂肪酸になる。 pAOS (pectin-derived acidic oligosaccharides、ペクチンを酵素で加水分解したもので、市場に流通している) を用いた試験データも、ペクチンを用いた試験データによる結論の裏付けとなると判断。
	毒性	<ul style="list-style-type: none"> pAOS の試験結果も含めて検討 pAOS に遺伝毒性の懸念なし ペクチンの NOAEL は 847 mg/kg bw/day 上記の NOAEL は新生児ブタ試験による。新生児ブタは人間の乳児にとって適切なモデル 同じ試験では、NOAEL の上の用量である 3,013 mg/kg bw/day が LOAEL であり、摂餌量の減少および体重増加抑制が見られた ヒトでの研究として、0.2%までのペクチン濃度の調整乳の使用による有害影響がないことが報告されている。
	MOE/ADI	<ul style="list-style-type: none"> MOE は 0.8~0.9 上記 NOAEL からの推計
	曝露量	<ul style="list-style-type: none"> 50%タイル値 0.75~0.91 g/kg bw/day、95%タイル値 1.1 g/kg bw/day (調整乳中の濃度は 5 g/L として計算)
	JECFA の 総合評価	<ul style="list-style-type: none"> 曝露量が NOAEL の値の付近であり、LOAEL の値にも近い。 ヒトの臨床研究は 0.2%以下の濃度のペクチンの使用に懸念がないとするものである。 提案されたペクチンの濃度の上限値は 0.5%だが、この濃度のペクチンを乳児用調整乳に使用することには懸念がある。 新生児ブタで見られた摂餌量の減少および体重増加抑制に対する説明を含む、追加のデータを要求する。

2016年に追加のデータの提出を受けて再度評価している。この際、調整乳中の上限濃度も引き下げられており、変更後の上限濃度では安全性に懸念なしとされている。

表 14 ペクチンのリスク評価に関する JECFA (2016) の見解

項目		JECFA の判断、見解
リスク 評価の 判断	ADME	<ul style="list-style-type: none"> 2014 以降の新しい情報はない。
	毒性	<ul style="list-style-type: none"> 2014 年の評価で用いられた新生児ブタの試験を再解析。NOAEL は同じ用量の 0.3%だが、換算をやり直したところ 1049 mg/kg bw/day とされた。 新生児ブタを用いた別の試験が提出された。0.2%、1%のペクチンを投与し、NOAEL は 0.2% (704 mg/kg bw/day) とされた。1%では、摂餌量の減少と体重増加抑制が見られた。
	MOE/ADI	<ul style="list-style-type: none"> MOE は 2.9 (50%タイル)、2.4 (95%タイル) NOAEL1049 mg/kg bw/day からの算出
	曝露量	<ul style="list-style-type: none"> 50%タイル値 120~360 mg/kg bw/day、95%タイル値 440 mg/kg bw/day (調整乳中の濃度は 2000 mg/L として計算)
	JECFA の 総合評価	<ul style="list-style-type: none"> MOE の値は 1~10 の範囲であり、以下も考慮して 0.2%の濃度までは安全性に懸念なし。 <ol style="list-style-type: none"> ペクチンの毒性が低い NOAEL は新生児ブタ試験から得られているが、これらの試験はヒト乳児に適切なモデルである。 新生児ブタで認められた有害影響は、おそらく 1%ペクチンの粘性に起因している。 臨床研究より、0.2%の濃度までは問題なし。 摂取量の推計が保守的である。 なお、MOE の値が 1~10 程度である場合、健康へのリスクは低いことを示唆するとされている。

③ CITREM

CITREM では、動物での毒性評価データが少なく、*in vitro* のモデルや乳児でのデータは存在するが、NOAEL、MOE は算出されていない。

表 15 CITREM のリスク評価に関する JECFA (2014) の見解

項目		JECFA の判断、見解
リスク 評価の 判断	ADME	<ul style="list-style-type: none"> 胃および十二指腸を再現した <i>in vitro</i> 研究では、完全には加水分解されなかった。 このデータを基に、実際の <i>in vivo</i> においては、(<i>in vitro</i> 研究で再現できていない) 小腸の更に先に至るまで加水分解は続き、CITREM は調整乳中の脂肪由来のグリセリドや脂肪酸とミセルを形成して、主に近位空腸で吸収されるだろうとしている。
	毒性	<ul style="list-style-type: none"> 胃および十二指腸を再現した <i>in vitro</i> 研究では、不完全な加水分解がみられたが、生体での消化過程の再現が不十分。JECFA としては、CITREM は消化管内ではほぼ完全に加水分解されると考えられ、部分加水分解物 (グリセロールクエン酸エステル) が生じたとしても安全性の懸念はないと考える。 クエン酸を投与物質とした研究を含め、ヒト臨床研究は複数あり、500 mg/kg bw/day のクエン酸投与で特段の影響が見られなかったとする報告がある一方で、400~700 mg/kg bw/day のクエン酸の投与で下痢が見られたとするものもある。 ヒト臨床研究では、1.6 g/L までの濃度の CITREM に問題はなかったが、提案された上限濃度である 9 g/L の CITREM についての研究はない。
	MOE/ADI	<ul style="list-style-type: none"> 検討されていない
	曝露量	<ul style="list-style-type: none"> CITREM に含まれるクエン酸についての曝露評価が必要 調整乳中濃度 2.7 g/L : 50%タイル値 120~360 mg/kg bw/day、95%タイル値 440 mg/kg bw/day 調整乳中濃度 9 g/L : 50%タイル値 230~930 mg/kg bw/day、95%タイル値 1,140 mg/kg bw/day (すべてクエン酸として)
	JECFA の 総合評価	<ul style="list-style-type: none"> 乳児用調整乳中の濃度が 9 g/L までであれば、安全上の懸念はない。 高用量ではクエン酸による下痢の可能性はあるが、リスクは低いと考えられる

④ OSA 加工澱粉

種々の動物（新生児動物を含む）、ヒトでの研究、市販後調査の情報等の多数のデータが存在することで、NOAEL や MOE も含め評価値が出されている。

表 16 OSA 加工澱粉のリスク評価に関する JECFA（2014）の見解

項目		JECFA の判断、見解
リスク 評価の 判断	ADME	<ul style="list-style-type: none"> 消化管において、少なくとも部分的には消化酵素によって加水分化され、OSA とデンプンになる。 デンプンは通常の炭水化物と同様に消化・吸収される。OSA は吸収された後、一部はそのまま排泄され、一部は他の枝分かれした脂肪酸と同様の代謝を受けてから排泄される。 ラット、イヌ、ヒトの間での差は、排泄された未変化体の量のみであり、検出された代謝産物も同様であることから、ラットやイヌの試験からヒトの安全性を評価できる。
	毒性	<ul style="list-style-type: none"> NOAEL は 10g / kg bw（新生児ブタの試験、最高用量） 新生児モデル動物（ブタ、ビーグル犬等）のデータがある 新生児のブタと乳児のヒトの消化器系が類似しており、新生児ブタの試験を活用するのが適当 ヒト乳児での研究及び市販後調査の結果より、乳児用調整乳中 2%（ある研究では 2.5 g/kg bw/day とされている）までの濃度であれば問題がないことが明らかになっている。
	MOE/ADI	<ul style="list-style-type: none"> MOE は 2.3～2.7（上記新生児ブタ NOAEL からの数値）
	曝露量	<ul style="list-style-type: none"> 50%タイル値 3.7 g/kg bw/day、95%タイル値 4.4 g/kg bw/day（調整乳中の濃度は 20 g/L として計算）
	JECFA の 総合評価	<ul style="list-style-type: none"> OSA 加工デンプンの毒性は非常に低い。 20g / L までの使用量では懸念はない。

⑤ キサンタンガム

種々の動物（新生児ブタを含む）、ヒトでの研究、市販後調査の情報等の多数のデータが存在することで、NOAEL や MOE も含め評価値が出されている。

表 17 キサンタンガムのリスク評価に関する JECFA（2016）の見解

項目		JECFA の判断、見解
リスク 評価の 判断	ADME	<ul style="list-style-type: none"> ・ 大部分は消化管上部で消化されずほとんど吸収もされない。 ・ 消化管下部の腸内細菌により一部は分解される。このため、ラット、イヌ、ヒトにおいて、糞便中および盲腸内容物中の短鎖脂肪酸濃度が変化する。
	毒性	<ul style="list-style-type: none"> ・ NOAEL は 750 mg/kg bw /day（新生児ブタの試験、最高用量） ・ 上記の試験の 1 つ上の用量である、3750 mg/kg bw /day では、体重低下と腸の組織の変化が観察された。 ・ ヒト乳児を対象にした研究より、1500 mg/L（232 mg/kg bw/day）までは問題なく摂取できる。
	MOE/ADI	<ul style="list-style-type: none"> ・ MOE は 3.4（上記新生児ブタ NOAEL からの数値）
	曝露量	<ul style="list-style-type: none"> ・ 50%タイル値 60～180 mg/kg bw/day、95%タイル値 220 mg/kg bw/day （調整乳中の濃度は 1000 mg/L として計算）
	JECFA の 総合評価	<ul style="list-style-type: none"> ・ MOE の値は 1～10 の範囲であり、以下も考慮して 1000 mg/L の濃度までは安全性に懸念なし。 ① キサンタンガムの毒性が低い。 ② NOAEL は 2 つの新生児ブタ試験から得られているが、新生児ブタはヒト乳児での評価への外挿に適切なモデルである。 ③ 臨床研究より、1500 mg/L の濃度までは問題なし。 ④ 5 年間以上の市販後調査において、1000 mg/L の濃度までの製品に対する有害事象報告がない。 ・ なお、MOE の値が 1～10 程度である場合、健康へのリスクは低いことを示唆するとされている。

⑥ イナゴマメガム

それまでに評価済みの試験を含め、各動物試験で有害影響は特に見られないが、新生児動物での試験データがなかったことから、評価を行うのに十分なデータがないとされている。

表 18 イナゴマメガムのリスク評価に関する JECFA (2016) の見解

項目		JECFA の判断、見解
リスク 評価の 判断	ADME	<ul style="list-style-type: none"> 消化されず吸収もされないが、腸内細菌の発酵作用によりイナゴマメガムからオリゴ糖や単糖が生成し、それらは短鎖脂肪酸に変換される。これらの脂肪酸は通常の生体の経路で吸収や代謝を受ける可能性がある。
	毒性	<ul style="list-style-type: none"> 発がん性はない。 離乳直後の仔ブタを用いた試験は提出されているが、新生児期以降の動物を用いたものである。 ヒトでの研究で、6,000 mg/L までの濃度であれば特に有害影響はないが、腸における影響を評価するのに適したデザインではない。
	MOE/ADI	<ul style="list-style-type: none"> 検討されていない。
	曝露量	<ul style="list-style-type: none"> 50%タイル値 600~1,800 mg/kg bw/day、95%タイル値 2,200 mg/kg bw/day (調整乳中の濃度は 10,000 mg/L として計算)
	JECFA の 総合評価	<ul style="list-style-type: none"> 提出された試験結果は評価を行うのに不十分。 新生児動物を用いた毒性試験のデータを要求。

5. 収集した文献について

(1) 文献探索、収集方法

文献収集については、以下の手順で行った。

① 乳児に対する食品添加物のリスク評価方法ガイダンス等の収集

以下の表 19 に示す国・地域と対応する機関を調査対象とした。ただし、リスク評価に関するガイダンスやガイドラインは少なかったことから、ガイダンスやガイドラインの形式をとっていないものであっても、乳児用調整乳のリスク評価に関係すると考えられるものは収集対象に含め、全部で 66 文献を収集した。

これらの資料は、WHO のような国際機関、各国政府と関係機関等から出されている場合が多いため、公表情報を中心に収集した。

表 19 調査対象と収集文献

国・地域	調査対象機関	ガイダンスの有無	国・地域別のガイダンスを中心とした主要文献
世界	WHO, CODEX, JECFA 等	あり	・ 1059 ・ 1060、1061 (個別評価中心)
欧州	EFSA	あり	・ 1062
米国、カナダ	米国 NAS カナダ Health Canada	あり	・ 1014
豪州、NZ	FSANZ	なし	・ 1065 (リスク評価含まず)
その他	ドイツ BfR フランス ANSES 等	なし	

2000 年以降に示され、乳児用調整乳に利用される食品添加物のリスク評価を含む検討を行っているという条件により、以下の 3 ガイダンスを対象とし、重要な箇所を翻訳した。

- JECFA (FAO / WHO) : JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES Seventy-ninth meeting Geneva, 17-26 June 2014 (参照 1059)
- 欧州 EFSA: Guidance on the risk assessment of substances present in food intended for infants below 16 weeks of age (EFSA Scientific Committee, 2017) (参照 1062)
- 米国 NAS: Infant Formula: Evaluating the Safety of New Ingredients (2004) (参照 1014)

①に引用されている文献として、EFSA(2017)で参照されている文献について、全文献(275文献)について概要を示し、pdf 資料等が無償で入手可能な文献は全文献について原資料を抽出した。

また、概要をチェックし、以下のような資料を基本的に除外した上で、乳児用調整乳対象の添加物に係るリスク評価、およびそれに必要な情報と関連度の高いと推測される文献を中心に有償文献を収集した。

- ・ 書籍
- ・ 1970年代以前の文献
- ・ 有償でも入手不可能な情報（未公開レポート等）

② 具体的な事例とそのリスク評価で引用されている文献等の収集

乳児用調整乳向けの食品添加物として利用され、そのリスク評価が JECFA (2014、2016)で実施されている 6つの食品添加物について、その評価で引用されている文献等を収集した。収集した文献の中には対象食品添加物のリスク評価が記載されている WHO の技術レポート等を含む。

(2) 文献情報の整理

(1) で収集した文献等について、それぞれ以下の図 7, 図 8 に示す項目で整理を行った。

① ガイダンスを含む全般的な文献情報の整理

EFSA(2017)のガイダンスに示されている 275 文献の他、乳幼児の食品添加物リスク評価全般に係る文献 (68 文献) を抽出し、情報を整理した。(図 7 参照)

基本的に以下に示す項目で整理したが、EFSA ガイダンスに示されている文献とその他の全般的な文献等で、記述内容が異なるため、項目も一部変えている。抽出した文献の概要は別紙のエクセル表で示す。

② 個別食品添加物のリスク評価情報等の整理

6 つの食品添加物の評価で引用されている文献について、情報を整理した。(図 8 参照)

番号	対象者	対象物	対象地域	評価項目、指標	対象臓器、機能	手法	著者	文献名	出所	URL	入手	概要	概要（和訳）
	<ul style="list-style-type: none"> ・乳児 ・ヒト全般 ・動物 ・細胞 等 	特定されている場合に記述	<ul style="list-style-type: none"> ・国 ・地域 	<ul style="list-style-type: none"> ・ADI ・暴露 等 	<ul style="list-style-type: none"> ・対象臓器、組織 ・一部生体機能で記述 	実際の試験・評価のみでなく、レビュー等も含む	著者名（一部機関名等）	論文名等	論文雑誌名、一部書籍等	参照URL	<ul style="list-style-type: none"> ●：入手済 ●：未入手 ●：不明 	主に論文アブストラクトから抽出	英文概要を和訳

- ・乳児中心であるが、その他も含む場合がある
- ・乳児に対応する動物モデル利用もあり、ブタが多い

- ・前ページの分野の区分にほぼ相当

- ・WHO、JECFA、EFSA等の一般的なレポートを含む

- ・pdfで全文入手可能な場合等、そのURLを提示

- ・医薬品、環境汚染物質、化学物質等を含んでいる
- ・特定されていない場合も多い

- ・書籍や一部論文では不明で空欄

図 7 抽出した文献の項目別整理（ガイダンスを含む全般的な文献）

番号	対象食品添加物	対象者	用途	実施試験、検討方法	評価結果	評価項目、指標	国際機関の評価	著者	文献名	出所	URL	入手	概要	概要(和訳)
	化合物等の名称	<ul style="list-style-type: none"> ・乳児 ・ヒト全般 ・動物 ・細胞 等 	食品添加物としての用途	<ul style="list-style-type: none"> ・実験とその手法 ・レビュー 	毒性、有効性等の評価	<ul style="list-style-type: none"> ・MOE、ADI等 	主にJECFA	著者名(一部機関名等)	論文名等	論文雑誌名、一部書籍等	参照URL	<ul style="list-style-type: none"> ●：入手済 ●：有料 ●：未入手 ●：空欄 ●：不明 	主に論文アブストラクトから抽出	英文概要を翻訳

・乳児中心であるが、その他も含む場合がある
 ・乳児に対応する動物モデル利用もあり、ブタが多い

・食品添加物以外の機能性的な用途等も含む

・当該論文での検討以外にレビュー等での引用を含む

・JECFA、EFSA等の評価機関での引用等

・pdfで全文入手可能な場合等、そのURLを提示

・書籍や一部論文では不明で空欄

図 8 抽出した文献の項目別整理（個別の食品添加物のリスク評価情報を含む文献）

(3) 収集した文献情報の概要

収集した文献の概要を、以下に示す。

① 全般に係る文献 (346 文献)

- ・ ガイダンスを含むリスク評価等全般 (72 文献) (参照 1001~1072)
- ・ EFSA ガイダンスに引用されている文献 (274 文献) (参照 2001~2274)

② 個別添加物のリスク評価に係る文献 (144 文献)

- ・ カラギーナン (51 文献) (参照 3001~3051)
- ・ CITREM (18 文献) (参照 4001~4018)
- ・ ペクチン (15 文献) (参照 5001~5015)
- ・ OSA 加工澱粉 (5 文献) (参照 6001~6005)
- ・ キサンタンガム (33 文献) (参照 7001~7033)
- ・ イナゴマメガム (22 文献) (参照 8001~8022)

表 20 収集した文献の概要

大分類	分類	概要 収集	原文献 収集	備考
全般に係る文献 (341 文献概要収集、 211 原文献収集)	リスク評価等全般	72	65	・ 一部ガイダンスや背景資料を含む
	EFSA (2017) 参照文献	274	153	
個別対象、事例に係る 文献 (144 文献概要、110 原 文献収集)	カラギーナン	51	37	・ 一部 JECFA、WHO 資料を含む
	CITREM	18	13	
	ペクチン	15	11	
	OSA-加工澱粉	5	5	
	キサンタンガム	33	22	
	イナゴマメガム	22	21	
計		490	328	

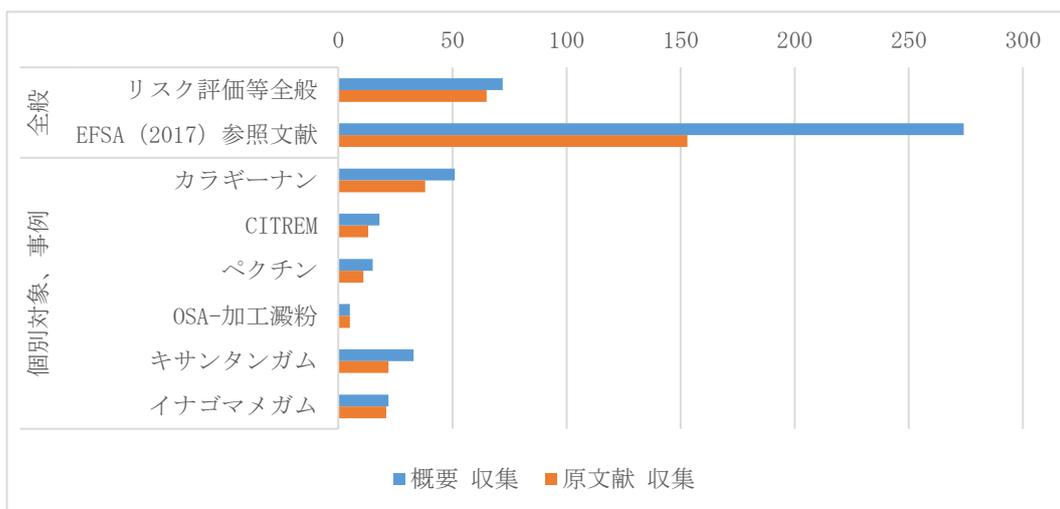


図 9 収集した文献の概要

第3章 各種毒性試験の実施方法に関する調査

毒性試験は食品添加物に対してはもちろんのこと、医薬品や農薬、化成品など非常に幅広い化学物質に対して実施されている。毒性試験を実施する意義は、ヒトが摂取した際の毒性発現リスクを把握し、製品化の可否を判断するための材料を提供することである。

毒性試験の実施方法については国際評価機関や諸外国ごとにガイドラインが制定されているが、その中でも経済協力開発機構（OECD）にて制定されているテストガイドライン¹は、その他の評価機関の多くのガイドラインで採用されている。実際にわが国の食品添加物の毒性試験に関して、具体的な試験の実施方法については、原則として OECD テストガイドラインに準拠することが述べられており、OECD の公表するテストガイドラインは非常に大きな影響を及ぼしている。

本章では、OECD テストガイドラインを中心に、我が国の食品添加物のリスク評価において採用されている毒性試験の海外動向を調査した。

1. 調査概要

各種毒性試験の実施方法に関して、OECD においてガイドラインを公開している毒性試験と、ガイドラインが定められていない毒性試験について分類した。

OECD テストガイドラインの日本語訳は国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部第三室（以下、国衛研ホームページ）にて公開されている。そこで、OECD にてガイドラインが公開されている毒性試験に関しては、国衛研ホームページで日本語訳が公開されているかを確認し、日本語訳が公開されていないガイドラインを明らかにしたうえで、それらに関して収集し（参照 10001～10014、10101～10114）、OECD ガイドラインに準じて項目を整理した。また、OECD にてガイドラインが公開されていない毒性試験に関しては、OECD 以外の評価機関等の公開情報を確認し、ガイドラインの公開の有無を調査した。

¹ <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/section4healtheffects.htm>

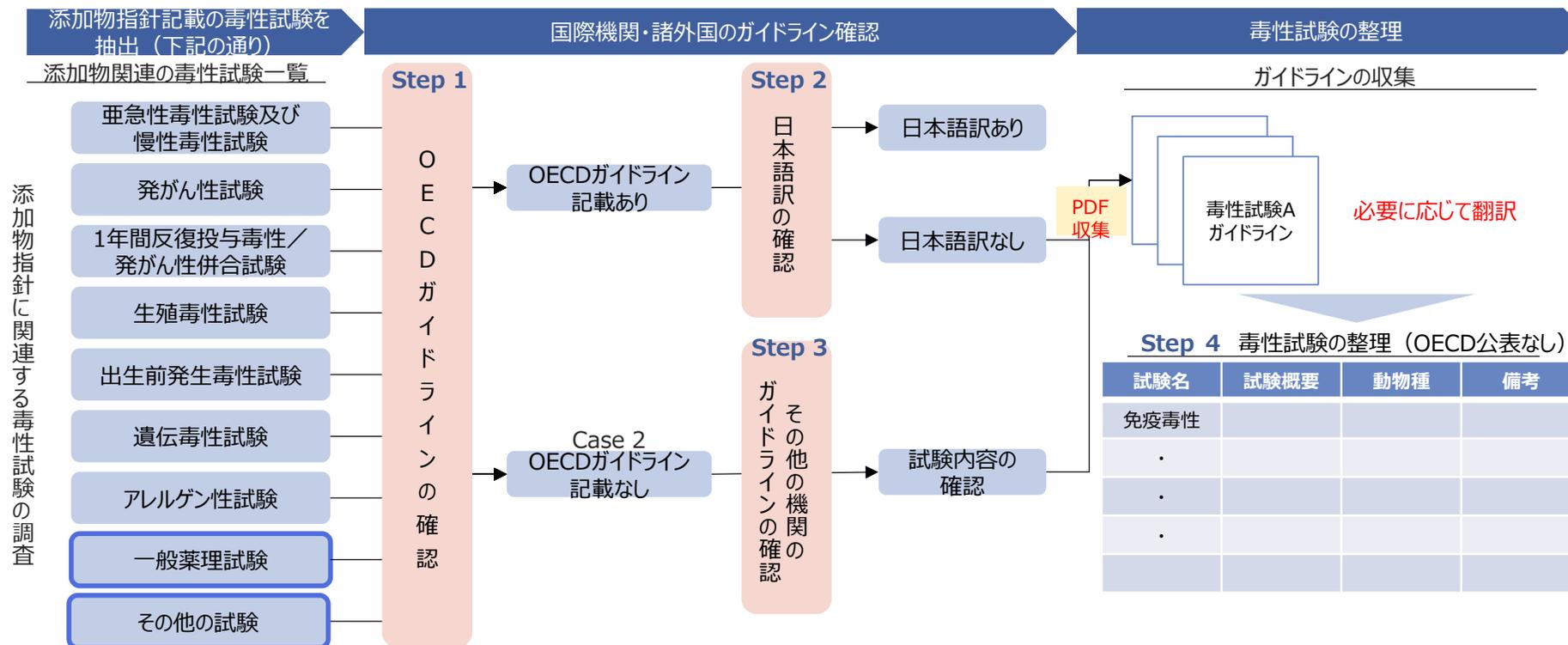


図 10 本事業における毒性試験ガイドラインの調査プロセス

また、調査対象とする毒性試験は、わが国の食品添加物に関する毒性評価に用いられる試験である以下の試験とした。調査結果の概要を表 21 に示す。

表 21 各種毒性試験に関するガイドラインの策定状況

添加物指針記 載の毒性試験	OECD ガ イドラ インの 有無※	番号	試験項目	採択日	日本語 訳の有 無
亜急性毒性 慢性毒性	有	TG407	げっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験	1995. 7. 27 2008. 10. 3	有
		TG408	げっ歯類における 90 日間反復経口投与毒性試験	1998. 9. 21	有
		TG409	非げっ歯類における 90 日間反復経口投与毒性試験	1998. 9. 21	有
		TG410	反復投与経皮毒性試験 21 日または 28 日試験	1981. 5. 12	有
		TG411	亜慢性経皮毒性 90 日試験	1981. 5. 12	有
		TG412	亜急性吸入毒性試験：28 日試験	1981. 5. 12 2009. 9. 7 2017. 10. 9	有 有 無
		TG413	亜慢性吸入毒性：90 日試験	1981. 5. 12 2009. 9. 7 2017. 10. 9	有 有 無
		TG452	慢性毒性試験	1981. 5. 12 2009. 9. 7	有 有
発がん性試験	有	TG451	癌原性試験	1981. 5. 12 2009. 9. 7	有 有
1 年間反復投与 毒性／発がん 性併合試験	有	TG453	慢性毒性／癌原性組合せ試験 慢性毒性／癌原性併合試験	1981. 5. 12 2009. 9. 7	有 有
生殖毒性試験	有	TG415	一世代生殖毒性試験	1983. 5. 26	有
		TG421	生殖／発生毒性スクリーニング試験	1995. 7. 27 2015. 7. 28 2016. 7. 29	有 有 無
		TG422	反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の複合試験	1996. 3. 22 2015. 7. 28 2016. 7. 29	有 有 無
		TG443	拡張一世代生殖毒性試験	2011. 7. 28	有

※無い場合は他のガイドラインの有無

添加物指針記載の毒性試験	OECD ガイドラインの有無※	番号	試験項目	採択日	日本語訳の有無
遺伝毒性試験	有	TG471	細菌復帰突然変異試験	1997. 7. 21	有
		TG472	遺伝毒性試験 大腸菌復帰変異試験	削除	
		TG473	哺乳類の in vitro 染色体異常試験	1997. 7. 21 2014. 9. 26 2016. 7. 29	有 有 無
		TG474	哺乳類赤血球小核試験	1997. 7. 21 2014. 9. 26 2016. 7. 29	有 有 無
		TG475	哺乳類骨髄染色体異常試験	1997. 7. 21 2014. 9. 26 2016. 7. 29	有 有 無
		TG476	哺乳類細胞の in vitro 遺伝子突然変異試験	1997. 7. 21	有
		TG476	Hprt 遺伝子と xpprt 遺伝子を用いる哺乳類細胞の in vitro 遺伝子突然変異試験	2015. 7. 28 2016. 7. 29	有 無
		TG477	遺伝毒性：ショウジョウバエを用いる伴性劣性致死試験	1984. 4. 4	有
		TG478	遺伝毒性：げっ歯類を用いる優性致死試験	1984. 4. 4 2015. 7. 28 2016. 7. 29	有 有 無
		TG479	遺伝毒性：哺乳動物細胞を用いる in vitro 姉妹染色分体交換試験	1986. 10. 23	有
		TG480	遺伝毒性：酵母を用いる遺伝子突然変異試験	1986. 10. 23	有
		TG481	遺伝毒性：酵母を用いる体細胞組み換え試験	1986. 10. 23	有
		TG482	遺伝毒性：DNA 傷害及び修復／哺乳動物細胞を用いる in vitro 不定期 DNA 合成試験	1986. 10. 23	有
		TG483	哺乳類の精原細胞を用いる染色体異常試験	1997. 7. 21 2015. 7. 28 2016. 7. 29	有 有 無
		TG484	遺伝毒性：マウススポットテスト	1986. 10. 23	有
		TG485	遺伝毒性：マウス転座試験	1986. 10. 23	有
		TG486	哺乳類肝細胞を用いる in vivo 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験	1997. 7. 21	有
		TG487	哺乳類細胞を用いた in vitro 小核試験	2010. 7. 22 2014. 9. 26 2016. 7. 29	有 有 無
		TG488	トランスジェニックげっ歯類の体細胞および生殖細胞を用いた遺伝子突然変異試験	2011. 7. 28 2013. 7. 26	有 有
		TG489	in vivo 哺乳類アルカリコメットアッセイ	2014. 9. 26 2016. 7. 29	有 無
TG490	チミジンキナーゼ遺伝子を用いた哺乳類細胞の in vitro 遺伝子突然変異試験	2015. 7. 28 2016. 7. 29	有 無		

※無い場合は他のガイドラインの有無

添加物指針記載の毒性試験	OECD ガイドラインの有無※	番号	試験項目	採択日	日本語訳の有無
アレルギー性試験	有	TG404	急性皮膚刺激性／腐食性	2002.4.24 2015.7.28	有 有
		TG405	急性眼刺激性／腐食性	2002.4.24 2012.10.2	有 有
		TG430	In vitro 皮膚腐食性 経皮電気抵抗試験 (TER)	2004.4.13 2013.7.26	有 有
		TG431	In vitro 皮膚腐食性 ヒト皮膚モデル試験	2004.4.13 2014.9.26	有 有
		TG435	皮膚腐食性評価のための in vitro 膜バリア試験法	2006.7.19	有
		TG437	眼腐食性および強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる混濁度および透過性試験法	2009.9.7	有
		TG437	i) 眼に対する重篤な損傷性を引き起こす化学品、および ii) 眼刺激性または眼に対する重篤な損傷性に分類する必要のない化学品を同定するための、ウシ角膜を用いる混濁度および透過性試験法	2013.7.26	有
		TG438	眼腐食性および強度刺激性物質を同定するためのニワトリ摘出眼球を用いる試験法	2009.9.7	有
		TG438	i) 眼に対する重篤な損傷性を引き起こす化学品、および ii) 眼刺激性または眼に対する重篤な損傷性に分類する必要のない化学品を同定するための、ニワトリ摘出眼球を用いる試験法	2013.7.26	有
		TG439	In vitro 皮膚刺激性 再生ヒト表皮試験法	2010.7.22	有
		TG439	In vitro 皮膚刺激性 再構築ヒト表皮試験法	2013.7.26	有
		TG460	眼腐食性物質および眼に対する重篤な刺激性物質を同定するためのフルオレセイン漏出試験法	2012.10.2	有
		TG491	i) 眼に対する重篤な損傷性を引き起こす化学品、および ii) 眼刺激性または眼に対する重篤な損傷性に分類する必要のない化学品を同定するための、In Vitro 短時間曝露法	2015.7.28	有
		TG406	皮膚感作	1992.7.17	有
		TG429	皮膚感作：局所リンパ節試験	2002.4.24 2010.7.22	有 有
		TG442 A	皮膚感作性：局所リンパ節試験：DA	2010.7.22	有
		TG442 B	皮膚感作性：局所リンパ節試験：BrdU-ELISA	2010.7.22	有
		TG442 C	In Chemico 皮膚感作性：ペプチド結合性試験 (DPRA)	2015.2.4	有
		TG442 D	In vitro 皮膚感作性：角化細胞株レポーターアッセイ (ARE-Nrf2 Luciferase Test Method)	2015.2	有
		TG442 E	In vitro ヒト細胞株活性化試験 (h-CLAT)	2016.7.29	無

添加物指針記載の毒性試験	OECD ガイドラインの有無（無い場合は他のガイドラインの有無）
一般薬理試験	無（平成 8 年厚生省ガイドラインと新医薬品等の製造（輸入）承認申請に必要な一般薬理試験のガイドライン有）
免疫毒性試験	無（JECFA が考え方を述べているほか、EFSA、FDA、EPA、ICH で具体的な試験項目について言及）

※無い場合は他のガイドラインの有無

2. 日本語訳が公開されていない OECD テストガイドラインの調査

調査の結果、日本語訳が公開されていないガイドラインは以下の表 22 に示すとおりであった。

表 22 日本語訳が公開されていないテストガイドライン（食品添加物関連）

番号	項目	OECD項目	試験項目	最新採択日
TG412	亜急性毒性試験および慢性毒性試験	反復毒性試験	亜急性吸入毒性試験（28日試験）	2017.10.09
TG413			亜急性吸入毒性試験（90日試験）	2017.10.09
TG421	生殖毒性試験	生殖毒性試験	生殖／発生毒性スクリーニング試験	2016.07.29
TG422			反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験	2016.07.29
TG473	遺伝毒性試験	遺伝毒性試験	哺乳類のin vitro染色体異常試験	2016.07.29
TG474			哺乳類赤血球小核試験	2016.07.29
TG475			哺乳類骨髄染色体異常試験	2016.07.29
TG476			Hprt遺伝子とxpprt遺伝子を用いる哺乳類細胞のin vitro遺伝子突然変異試験	2016.07.29
TG478			げっ歯類を用いる優性致死試験	2016.07.29
TG483			哺乳類の精原細胞を用いる染色体異常試験	2016.07.29
TG487			哺乳類細胞を用いたin vitro小核試験	2016.07.29
TG489			in vivo哺乳類アルカリコメットアッセイ	2016.07.29
TG490			チミジンキナーゼ遺伝子を用いた哺乳類細胞のin vitro遺伝子突然変異試験	2016.07.29
TG442E			アレルギー試験	感作性試験

以下に、それぞれの試験の概要を、OECD の HP の記載を元に示す。なお、OECD の HP 等では、改訂箇所に焦点を当てた説明を確認できなかった。

(1) 亜急性吸入毒性試験 (28 日試験) : TG412 (反復毒性試験)

本試験ガイドラインは、改訂前の TG412 に、ナノマテリアルに関する項目を追記したものになる。少なくとも 5 匹の雄および雌のげっ歯類において、1 日 6 時間以上、28 日間の曝露を行う。投与群は被験物質について 3 用量以上設定するほか、フィルター済み空気（陰性対照）群、vehicle 群を設定する。

動物は週 5 日での曝露が一般的だが、週 7 日の曝露も許容される。雄と雌の両方が試験に用いられるが、感受性に性差が知られている場合は、異なる曝露濃度による試験を行う。

毒性について詳細に知るために、サテライト群（曝露後の回復を調べる群）の設定や、気管支肺胞洗浄 (BAL)、肺の負荷 (LB)、神経学的試験、追加の臨床病理学および組織病理学的な評価を行うことができる。

(2) 亜急性吸入毒性試験 (90 日試験) : TG413 (反復毒性試験)

本試験ガイドラインは、改訂前の TG413 に、ナノマテリアルに関する項目を追記したものになる。少なくとも 10 匹の雄および雌のげっ歯類において、1 日 6 時間以上、90 日間の曝露を行う。投与群は被験物質について 3 用量以上設定するほか、フィルター済み空気（陰性対照）群、vehicle 群を設定する。

動物は週 5 日での曝露が一般的だが、週 7 日の曝露も許容される。雄と雌の両方が試験に用いられるが、感受性に性差が知られている場合は、異なる曝露濃度による試験を行う。

本試験では、眼科学、肉眼での病理の検査、器官重量の測定、組織病理に加え、毎日の詳細な血液学、臨床化学の測定が要求される、また、毒性について詳細に知るために、サテライト群（曝露後の回復を調べる群）の設定や、投与期間途中で安楽死させての解析、気管支肺胞洗浄 (BAL)、肺の負荷 (LB)、神経学的試験、追加の臨床病理学および組織病理学的な評価を行うことができる。

（３）生殖/発生毒性スクリーニング試験：TG421（生殖毒性試験）

本試験ガイドラインは、改訂前の TG421 に、内分泌かく乱に係るエンドポイント、特に甲状腺の検査および肛門性器間距離、雄の乳頭残留率の指標が更新されたものになる。

被験物質は、雄および雌の複数の群に複数の濃度を設定し投与される。雄には最低 4 週間投与するべきである。雌には研究を通して投与されるべきであり、約 63 日間かかる。

研究においては、通常、「1 匹の雄対 1 匹の雌」の交配を使用すべきである。本ガイドラインには、試験動物としてラットを想定している。各投与群は雄雌 10 匹ずつから始めることが推奨される。一般に、少なくとも 3 つの試験群および対照群を使用すべきである。投与量は、急性毒性試験の情報または反復投与試験の結果に基づいていてもよい。被験物質は、経口で毎日投与される。

この研究の結果には、肉眼での剖検および組織病理観察だけでなく、臨床所見、体重および食物/水の消費量、発情周期のモニタリング、子孫パラメーターの観察および測定、甲状腺ホルモン測定が含まれる。この毒性試験の所見は、観察された影響、剖検および顕微鏡所見の観点から評価されるべきである。雄の投与期間が短いため、雄の生殖効果を評価する際には、精巣および精巣上体の組織病理学を受胎率のデータとともに考慮する必要がある。

（４）反復毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験：TG422（生殖毒性試験）

本試験ガイドラインは、改訂前の TG422 に、内分泌かく乱に係るエンドポイント、特に甲状腺の検査および肛門性器間距離、雄の乳頭の残留率の指標が更新されたものになる。

被験物質は、雄および雌の複数の群に複数の濃度を設定し投与される。雄には最低 4 週間投与するべきである。雌は研究を通して投与されるべきであり、約 63 日間かかる。

研究においては、通常、「1 匹の雄対 1 匹の雌」の交配を使用すべきである。本ガイドラインには、試験動物としてラットを想定している。各投与群は雄雌 10 匹ずつから始めることが推奨される。一般に、少なくとも 3 つの試験群および対照群を使用すべきである。投与量レベルは、急性毒性試験の情報または反復投与試験の結果に基づいていてもよい。被験物質は、経口で毎日投与される。

この研究の結果には、肉眼での剖検および組織病理観察だけでなく、臨床所見、体重および食物/水の消費量、発情周期のモニタリング、子孫パラメーターの観察/測定、甲状腺ホルモン測定が含まれる。この毒性試験の所見は、観察された影響、剖検および顕微鏡所見の観点から評価されるべきである。雄の投与期間が短いため、雄の生殖効果を評価する際には、精巣および精巣上体の組織病理学を受胎率のデータとともに考慮する必要がある。

(5) 哺乳類の *in vitro* 染色体異常試験：TG473（遺伝毒性試験）

本試験の目的は培養した哺乳動物体細胞において構造的染色体異常を引き起こす因子を同定することである。構造異常は、染色体または染色分体の2種類があり得る。

in vitro 染色体異常試験は、樹立細胞系、細胞株または初代培養細胞を用いることができる。細胞培養物は、約1.5正常細胞周期長の間代謝活性化の有無にかかわらず、試験物質（液体または固体）に曝露される。少なくとも3つの分析可能な濃度の被験物質を使用すべきである。各濃度で、通常はデュプリケートで試験を行うべきである。培養細胞を被験物質に曝露した後、所定の間隔で、細胞を採取し、細胞分裂中期停止物質で処理し、回収し、染色する。分裂中期細胞の染色体異常の有無について顕微鏡下で分析する。

(6) 哺乳類赤血球小核試験：TG474（遺伝毒性試験）

本試験の目的は、被験物質による赤血球の染色体、紡錘体への損傷を検出することであり、げっ歯類（マウス又はラット）の骨髄や末梢血細胞を回収し解析することによって行う。

小核試験の目的は、遅延染色体断片又は染色体全てを含む小核の形成につながるような細胞遺伝毒性を示す物質（液体または個体）を同定することである。小核を含むような多染色赤血球の頻度の増加は、染色体損傷が誘導されたことを示す。

試験動物は被験物質に適切な経路（通常、胃ゾンデ又は適切な挿管カニューレを用いた強制経口投与または腹腔内投与）で曝露される。骨髄や血液細胞を回収、調整し染色する。調整したサンプルを小核が存在するか解析する。雄雌それぞれにつき、解析可能な個体を少なくとも5匹含むよう、被験物質投与群および対照群を設定する。投与は一日単回または2回以上で行う。許容される最高用量は、14日間までの投与であれば2000 mg/kg 体重/日であり、14日間以上の投与であれば1000 mg/kg 体重/日である。

(7) 哺乳類骨髄染色体異常試験：TG475（遺伝毒性試験）

哺乳動物 *in vivo* 染色体異常試験は、通常はげっ歯類（ラット、マウスおよびチャイニーズハムスター）の骨髄細胞における試験化合物によって誘発される構造的染色体異常の検出に使用される。構造的染色体異常は、染色体または染色分体の2種類であり得る。

試験動物は、適切な曝露経路（通常、胃ゾンデまたは適切な挿管カニューレを用いた強制経口投与または腹腔内投与）によって被験物質（液体または固体）に曝露され、処置後適切な時間に安楽死させられる。安楽死の前に、動物を細胞周期中期停止剤で処置する。次いで、染色体調製物を骨髄細胞から作製し、染色し、中期細胞を染色体異常について分析する。各投与群および対照群は、性別当たり少なくとも5つの分析可能な動物を含まなければならない。許容される最高用量は、14日間までの投与の場合は2000mg/kg/体重/日であり、14日間以上の投与の場合は1000mg/kg/体重/日である。

(8) Hprt 遺伝子と xprt 遺伝子を用いる哺乳類細胞の *in vitro* 遺伝子突然変異試験
: TG476 (遺伝毒性試験)

in vitro 哺乳動物細胞遺伝子突然変異試験は、化学物質によって誘発された遺伝子突然変異を検出するために使用することができる。この試験では、ヒポキサンチン - グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HPRT) およびキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (XPRT) の導入遺伝子で、これらの遺伝子の変異をエンドポイントとして測定する。HPRT および XPRT 突然変異試験は、遺伝的事象の異なる検出範囲をカバーしている。

懸濁または単層培養の細胞を、代謝活性化の有無の双方について、被験物質の少なくとも 4 つの分析可能な濃度に適切な時間曝露する。それらは、細胞毒性を判断できるように、また、表現型が発現するようにするために変異体選択の前に継代培養される。細胞傷害性は、通常、処置期間後の培養細胞の相対的なクローニング効率 (生存率) または相対総増殖率を測定することによって決定される。処理された細胞は十分な期間培地中におかれるが、この期間は選択された遺伝子座や細胞種に特異的で、これにより誘発された突然変異がほぼ最適な形で表現型を発現することができる。突然変異頻度は、突然変異細胞を検出するための選択剤を含む培地と含まない培地とに既知の数の細胞を播種し、クローニング効率 (生存率) を測定することで決定する。適切なインキュベーション時間の後、コロニーを数える。

(9) げっ歯類を用いる優性致死試験 : TG478 (遺伝毒性試験)

優性致死 (DL) 試験の目的は、化学物質が生殖細胞の染色体異常に起因する突然変異を引き起こすかについて調べることである。加えて、優性致死試験は遺伝毒性を評価することにもなるが、これは種差があるものの、*in vivo* の代謝、薬物動態と DNA 修復過程に関わる因子が本試験では働いており、反応に寄与するためである。被験物質への曝露後の優性致死変異の誘導は、被験物質が試験動物の生殖細胞に影響を及ぼしたことを表す。この改訂版ガイドラインは 30 年以上の試験経験や、生殖発生毒性や遺伝毒性の試験と本試験とを統合する可能性を反映している。しかしながら、本試験にも限界があることや、多数の動物を使用してしまうことから、この試験法は第一選択ではなく、むしろ、他に要求を満たす適切な選択肢がない場合の補完的な手法である。

(10) 哺乳類の精原細胞を用いる染色体異常試験：TG483（遺伝毒性試験）

この試験は、精原細胞を分裂させる際の染色体の構造異常(染色体型と染色分体型の両方)を測定するものであり、そのため、これらの生殖細胞における次世代に伝わる変異の誘導を予測できることが期待されている。*in vivo*哺乳動物精原細胞染色体異常試験の目的は、哺乳動物精原細胞において構造的染色体異常を引き起こす化学物質を同定することである。加えて、本試験は遺伝毒性を評価することにもなるが、これは種差があるものの、*in vivo*の代謝、薬物動態とDNA修復過程に関わる因子が本試験では働いており、反応に寄与するためである。

この改訂された試験ガイドラインは、この試験の長年の経験と、この試験を他の毒性または遺伝毒性試験と統合または組み合わせる可能性を反映している。

(11) 哺乳類細胞を用いた *in vitro*小核試験：TG487（遺伝毒性試験）

*in vitro*小核試験は、間期細胞の細胞質における小核の検出のための遺伝毒性試験である。小核は、細胞分裂の後期段階の間に極に移動することができないセントロメアがない染色体断片、または全染色体に由来し得る。このアッセイは、被験物質の曝露中または曝露後に細胞分裂した細胞における、染色体異常誘発活性および異数性誘発活性を検出する。この試験ガイドラインでは、アクチン重合阻害剤であるサイトカラシンBの有無しどちらのプロトコールも使用することができる。サイトカラシンBは、有糸分裂を完了した細胞における小核頻度の同定と選択的分析を可能にするが、これはこのような細胞は2つの核を持つためである。この試験ガイドラインではまた、分析対象の細胞が有糸分裂を受けたという証拠があれば、細胞質分裂阻害なしのプロトコールを使用してもよい。

(12) *in vivo*哺乳類アルカリコメットアッセイ：TG489（遺伝毒性試験）

本試験は、真核細胞におけるDNA鎖切断を測定する方法である。

各試験群は、最低5匹の1つの性別（または適切な場合は各性別）の動物からなる。陽性対照および陰性対照群も使用される。被験物質が、標的組織（通常肝臓または腎臓だが、正当な理由があればその他の組織）に確実に到達するように、2日以上にわたって毎日投与する。

目的の組織を切開し、単一細胞/核の懸濁液を調製し、スライド上のアガロース中に包埋する。細胞と核を溶解バッファで処理して細胞膜、核膜を除去する。次いで、寒天中の核DNAを高pHで電気泳動にかける。これにより、適切な蛍光染色を使用することによって蛍光顕微鏡で観察することができる彗星に似た構造が得られる。個々のサイズに基づいて、DNA断片は頭部から尾部に移動し、全強度（頭部+尾部）に対する尾部の強度はDNA破損の量を反映する。

(13) チミジンキナーゼ遺伝子を用いた哺乳類細胞の *in vitro* 遺伝子突然変異試験 : TG490 (遺伝毒性試験)

本試験は、化学物質によって誘発された遺伝子突然変異を検出するために使用することができる。本テストガイドラインには、2 つの特異的チロシンキナーゼ (tk) ヘテロ接合細胞株を必要とする 2 つの異なる *in vitro* 哺乳動物遺伝子突然変異アッセイが含まれる。2 つの tk ヘテロ接合細胞株とは、マウスリンパ腫アッセイ (MLA) のための L5178Y tk +/- 3.7.2C 細胞および TK6 アッセイのための TK6 tk +/- 細胞である。tk 遺伝子座を用いて検出される遺伝子事象には、遺伝子突然変異および染色体異常の両方が含まれる。

懸濁または単層培養の細胞を、代謝活性化の有無の双方について、被験物質の少なくとも 4 つの分析可能な濃度に適切な時間曝露する。それらは、細胞毒性を判断できるように、また表現型が発現するように変異体選択の前に継代培養される。細胞傷害性は、通常、処置期間後の培養細胞の相対的なクローニング効率 (生存率) または相対総増殖率を測定することによって決定される。処理された細胞は、十分な期間培地中におかれるが、この期間は選択された遺伝子座や細胞種に特異的で、これにより誘発された突然変異がほぼ最適な形で、表現型を発現することができる。突然変異頻度は、突然変異細胞を検出するための選択剤を含む培地と含まない培地とに既知の数の細胞を播種し、クローニング効率 (生存率) を測定することによって決定される。適切なインキュベーション時間の後、コロニーを計数する。

(14) *in vitro* ヒト細胞株活性化試験 (h-CLAT) : TG442E (感作性試験)

テストガイドラインに基づく現行のキーイベントは、被験物質への曝露後の皮膚感作という人の健康ハザードに係るエンドポイントについて扱っている。より限定していえば樹状細胞の活性化を取り扱っているが、この活性化は皮膚感作についてのアドバースアウトカムパスウェイ (AOP) におけるキーイベントの 1 つである。国連の「化学品の分類および表示に関する世界調和システム」(GHS) によれば、皮膚感作は被験物質の皮膚接触に続くアレルギー反応に関連している。

このテストガイドラインは、アドバースアウトカムパスウェイの同一の重要事象に係る 3 つの *in vitro* 試験の方法を提供する。すなわち、「(i) ヒト細胞系の活性化試験または h-CLAT 法」、「(ii) U937 細胞系活性化試験または U-SENS」、および「(iii) インターロイキン (IL) -8 レポーター遺伝子アッセイまたは IL-8 Luc アッセイ」である。これらはすべて、GHS ガイドラインの基で皮膚感作物質と非感作物質の区別に使用されている。このテストガイドラインに記載の試験方法は、感作物質 (例えば、CD54、CD86) への曝露後の、単球および樹状細胞 (DC) の活性化プロセスに関係する細胞表面のマーカーの発現の変化または IL-8 (DC の活性化に関連するサイトカイン) 発現の変化を定量する。h-CLAT および U-SENS アッセイにおいて、表面マーカー発現の変化は、蛍光色素標識抗体での細胞染色後のフローサイトメトリーによって測定される。IL-8 Luc アッセイにおいて、IL-8 発現の変化は、IL-8 プロモーターの制御下でのルシフェラーゼ遺伝子の活性を介して間接的に測定される。溶媒対照と比較した処理細胞の相対蛍光または発光強度を計算し、予測モデルにおいて使用することで、感作物質と非感作物質との区別をサポートする。

3. OECD テストガイドラインに掲載されていない毒性試験

食品添加物の毒性試験と OECD テストガイドラインとの対応表を以下に示す（表 23）。この結果より、食品添加物において実施される一般薬理試験と免疫毒性試験については、対応する OECD テストガイドラインが存在しないため、OECD 以外の国際評価機関や諸外国の評価機関から調査する必要があることが判明した。

表 23 添加物指針に記載されている試験と OECD テストガイドラインの対応表

試験名	試験形態	投与形態	概要	OECDガイドラインでの対応する試験
亜急性毒性試験及び慢性毒性試験	in vivo	げっ歯類/非げっ歯類への経口投与	亜急性試験については、28日間、90日間、慢性毒性試験については12ヶ月以上の連投試験	反復投与試験
発がん性試験	in vivo	げっ歯類への経口投与	ラットでは24ヶ月以上30ヶ月以内、マウスでは18ヶ月以上24ヶ月以内の連投試験	がん原性試験
1年間反復投与毒性/発がん性併合試験	in vivo	げっ歯類/非げっ歯類への経口投与	亜急性試験及び慢性毒性試験と、発がん性試験の両方に準じた試験	反復投与試験/がん原性試験
生殖毒性試験	in vivo	げっ歯類への経口投与	週7日の連投試験（期間に関しては特に言及なし）	生殖毒性試験
出生前発生毒性試験	in vivo	妊娠したげっ歯類/非げっ歯類への経口投与	着床日から出産予定日の前日までの連投試験	生殖毒性試験
遺伝毒性試験	in vitro in vivo	特に指定なし	「微生物を用いる復帰突然変異試験」、「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」（マウスリンフォーマTK試験（MLA）またはin vivo小核試験）及び「げっ歯類を用いる小核試験」	遺伝毒性試験
アレルギー試験	in vivo	げっ歯類への経口投与/塗布など	モルモットを用いた皮膚感作性試験（例：OECDテストガイドライン406のうちマキシメーション試験（GPMT））又はマウスを用いたリンパ節反応試験（例：OECDテストガイドライン429（局所リンパ節試験（LLNA）））	刺激性試験
一般薬理試験	in vivo	げっ歯類等への経口投与	平成8年厚生省ガイドラインの「一般薬理試験」に準じる。	記載なし
神経毒性試験	in vivo	鶏への経口投与	亜急性毒性試験等において神経毒性が疑われた場合には、必要に応じ、OECDテストガイドライン等に準拠した追加の試験を行う。	神経毒性試験
免疫毒性試験	in vivo	げっ歯類への経口投与	28日間の反復投与が一般的	記載なし

（1）調査対象機関

添加物に関する食品健康影響評価指針（2010年5月/2017年7月改正）では、一部の毒性試験について平成8年厚生省ガイドラインや OECD テストガイドラインだけではなく、医薬品規制調和国際会議（ICH）といった、医薬品等の審査基準等のハーモナイゼーションに関する国際会議における方法を参考にしているケースが見られる。このような背景から、本調査では調査対象を食品添加物関連の評価機関に限定せず、毒性試験を扱う幅広い機関、法規制等を対象とした。

表 24 食品添加物関連の評価機関

機関名	略称	関連する URL
FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議	JECFA	http://www.fao.org/food/food-safety-quality/scientific-advice/jecfa/en/
米国食品医薬品庁	FDA	https://www.fda.gov/
欧州食品安全機関	EFSA	https://www.efsa.europa.eu/
欧州委員会	EC	https://ec.europa.eu/
フランス食品環境労働衛生安全庁	ANSES	https://www.anses.gob.ar/
オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関	FSANZ	http://www.foodstandards.gov.au/Pages/default.aspx

表 25 食品添加物関連以外の評価機関、法規制等

機関名・制度名	略称	関連する URL
農薬取締法	農取法	https://www.acis.famic.go.jp/eng/glp/6283_j.pdf
化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律	化審法	http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/kashin/hourei/tuuti/hantei.pdf
化学品の分類および表示に関する世界調和システム	GHS	http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/int/files/ghs/ghs_text_6th/GHS_rev6_jp_document.pdf
医薬品規制調和国際会議	ICH	https://www.iso.org/
国際標準化機構	ISO	http://dmd.nihs.go.jp/iso-tc194/guide_sankou.pdf
動物医薬品検査所	VICH	http://www.vichsec.org/ http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/06/s0603-4w.html
化学物質の登録、評価、認可及び制限に関する規則	REACH	http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_en.htm
米国国立がん研究所	NCL	https://ncl.cancer.gov/
米国環境保護庁	EPA	https://www.epa.gov/

これらの機関について、各種毒性試験のガイドラインの有無を確認し、表 26 に示す結果を得た。

表 26 各評価機関や制度に基づき定められている毒性試験一覧

試験名	OECDガイドラインで対応する試験	食品添加物関連の評価機関						食品添加物関連以外の評価機関								
		JECFA (国際)	FDA (米国)	EFSA (欧州)	EC (欧州)	ANSES (仏国)	FSANZ (豪・新)	農取法 (日本)	化審法 (日本)	GHS (国際)	ICH (国際)	ISO (国際)	VICH (国際)	REACH (国際)	NCL (米国)	EPA (米国)
亜急性毒性試験及び慢性毒性試験	反復投与試験	○	○	○		○	○	○			○		○	○	○	○
発がん性試験	がん原性試験	○	○	○		○		○		○	○		○	○		○
1年間反復投与と毒性/発がん性併合試験	反復投与試験/がん原性試験	○		○	○	○	○		○							
生殖毒性試験	生殖毒性試験	○	○	○	○	○	○	○		○	○		○	○		
出生前発生毒性試験	生殖毒性試験	△	○	○	○	○	○	○			○		○	○		
遺伝毒性試験	遺伝毒性試験	○	○	○	○	○	○	○	○		○	○	○	○		○
アレルギー試験	刺激性試験	△		△		△				○		○		○		○
一般薬理試験	記載なし										○					
神経毒性試験	神経毒性試験	△	△													○
免疫毒性試験	記載なし	△	△	△		△					○				○	△
急性毒性試験	急性毒性試験	○			○			○	○		○		○	○	○	○
心毒性試験		△														
高分子結合試験		△														
代謝物試験		△														
光毒性試験		△														
甲状腺毒性試験		△														

試験名：添加物指針に記載されていない試験

○：実施を明記 △：Special studies 空欄：記載なし

※ICHの一般毒性試験は安全性薬理試験を示している。

(2) 一般薬理試験

一般薬理試験とは、被検物質の生体の機能に及ぼす影響を、主に薬理学的手法を用いて明らかにすることを目的とした試験のことである。

添加物に関する食品健康影響評価指針においては、平成8年厚生省ガイドラインに準ずる形で実施すると記載されている¹。さらに、新医薬品等の製造(輸入)承認申請に必要な一般薬理試験のガイドライン(平成3年)(参照9001)にも試験概要が記載されている²。これらのガイドラインを以下に示す。

また、一般薬理試験ではないが、安全性薬理試験に関しては、ICHからガイドライン³が公表されている。

海外における一般薬理試験の実施状況に関する調査を実施したが、現状では関連情報を見つけることはできなかった。

表 27 平成8年厚生省ガイドライン及び新医薬品等の製造(輸入)承認申請に必要なガイドラインにおける一般薬理試験に関する事項

大項目	中項目	補足
一般症状・行動		詳細な症状観察を行い被験物質の作用を十分把握することに努める。多次元観察法等が用いられる
中枢神経系	自発運動量	自発運動量の変化について観察する。自発運動測定装置、回転かご、open field 法等が用いられる。
	麻酔作用	無処置動物について被験物質の作用を検討するとともに、誘発処置との協力及び拮抗作用についても調べる。誘発処置としては、バルビツール酸誘導体等が用いられる。影響が認められた場合、中枢性か否かを考察することが望ましい。
	痙攣作用	無処置動物について被験物質の作用を検討するとともに、誘発処置との協力及び拮抗作用についても調べる。誘発処置としては、電撃、ペンテトラゾールが用いられる。ときにストリキニーネ、ピクロトキシン、ニコチン等が用いられる。
	痛覚への影響	圧刺激法が用いられる。ときに writhing 法、Randall-Selitto 法、hot plate 法、tail flick 法等が用いられる。
	体温への影響	
	自発脳波への影響	自発脳波を測定し、必要に応じ、得られたデータについて機器を用いて解析を行う。
	脊髄反射への影響	
	条件回避反応への影響	
	協調運動への影響	回転棒法等が用いられる。

¹ <http://www.fsc.go.jp/senmon/tenkabutu/index.data/tenkabutu-hyouka-shishin.pdf>

² <https://www.pmda.go.jp/files/000206735.pdf>

³ <https://www.pmda.go.jp/files/000156827.pdf>

大項目	中項目	補足
自律神経系 及び平滑筋	摘出回腸での検証	被験物質単独の作用及びアゴニストとの相互作用を調べる。アゴニストとしてヒスタミン、アセチルコリン、塩化バリウム、セロトニン等が用いられる。
	瞳孔径及び瞬膜収縮	
	血管、気管、輸精管、子宮等の摘出器官・組織での検証	
呼吸・循環器系	呼吸運動、血圧、血流量、心拍数及び心電図に及ぼす影響	通常は麻酔動物が用いられる。必要に応じ、無麻酔動物についても調べる。
	自律神経作用薬並びに迷走神経刺激及び総頸動脈閉塞等による血圧及び心拍数の変化に対する作用	
	生体位心臓を用いて検討	
	心臓、心房、乳頭筋、血管床等の摘出器官・組織を用いて検討	
	消化器系	胃腸管内輸送能に及ぼす影響
	胃液、唾液、胆汁及び膵液分泌に及ぼす影響を検討	
	摘出胃・腸管を用い、その運動に及ぼす影響を検討	
	生体位胃・腸管を用い、その運動に及ぼす影響を検討	
	胃・十二指腸粘膜に対する作用を検討	
水及び電解質代謝に及ぼす影響	尿量、尿中ナトリウム・カリウム・塩素イオン濃度	
体性神経系	神経・筋接合部に及ぼす影響	坐骨神経腓腹筋標本、横隔神経横隔膜標本等が用いられる。
	筋弛緩作用	懸垂法、head drop 法等が用いられる。
	局所麻酔作用	角膜反射、皮膚反射等が調べられている。
その他の重要な薬理作用	類似構造・薬理作用を持ち、上記試験に該当しないもの	
	血液凝固系に及ぼす影響	
	血小板凝集に対する作用を検討	
	溶血作用	
	腎機能に及ぼす影響を検討	

なお、一般薬理試験における各検討項目に共通する手法等は以下に示すとおりである。

<試験動物>

- ✓ マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ等各試験に適した動物種を用いる。なお、系統、性別、年齢等を考慮に入れる。
- ✓ 試験系としては、①丸ごとの動物、②摘出器官及び組織、③血液及び血液成分、④細胞及び細胞下レベル等が想定される。
- ✓ 試験動物及び試験系の選択に当たっては、感受性、再現性、繁用性に留意する。
- ✓ ヒトに対する予測性を考慮し、適切な情報が得られるよう試験動物及び試験系について計画することが望ましい。

<適用法>

- ✓ 適用経路は臨床適用経路又はそれに準ずる経路とする。さらに、試験の種類によっては薬理作用を検知しうる適切な経路を用いる。例えば、麻酔動物では静脈内適用等、摘出器官では栄養液への直接添加等がある。なお、吸収の良くない被験物質の場合、重要な試験項目については、静脈内適用等の適切な経路でも試験を行うことが望ましい。
- ✓ 丸ごとの動物を用いる試験では、単回適用を原則とするが、反復適用による影響が予想される場合には、適切な回数適用を行う。

<用量設定>

- ✓ 用量作用関係を求めうる用量段階を設定する。
- ✓ 薬効薬理作用等を示す量からみて十分な量を用いる。なお、静脈内以外の経路で臨床適用される被験物質については、薬効薬理作用を示す量を適用した時の血中濃度からみて十分な量を用いる。また、選定した用量の妥当性を作用濃度、血中濃度等と関連づけて十分考察しておくことが望ましい。
- ✓ 対照群には、陰性対照(溶媒)群及び陽性対照(標準薬、類似薬)群を適宜設ける。

(3) 免疫毒性試験

免疫毒性試験の評価を実施している評価機関として、JECFA、EFSA、FDA、ANSES、EPA、ICH、NCL が抽出された。この中で、具体的な試験実施項目を明記していたのは EFSA、FDA、EPA、ICH であった。

WHO(IPCS)や EFSA は以下の通り考え方を公表している。

① WHO(IPCS)

Guidance for Immunotoxicity Risk Assessment for Chemicals (2012年、参照 9102)¹にて、免疫毒性のリスクアセスメントについての共通理解を促し、規制当局やリスク評価機関、業界や研究機関が相互に理解して取り組むことで、化学物質による免疫毒性

¹ www.inchem.org/documents/harmproj/harmproj/harmproj10.pdf

リスクを下げていくことを目指している。あわせて、免疫毒性を有する6つの化合物でのケーススタディを紹介している。

② EFSA

Draft Guidance for submission for food additive evaluations¹の中で、ラットへの90日間反復投与試験（OECD TG 408）、拡張一世代生殖毒性試験（OECD TGs 443等）を経た後に、疾患モデルによる検証を行う流れを推奨している。

¹ <http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/consultation/111117.pdf>

表 28 免疫毒性試験一覧

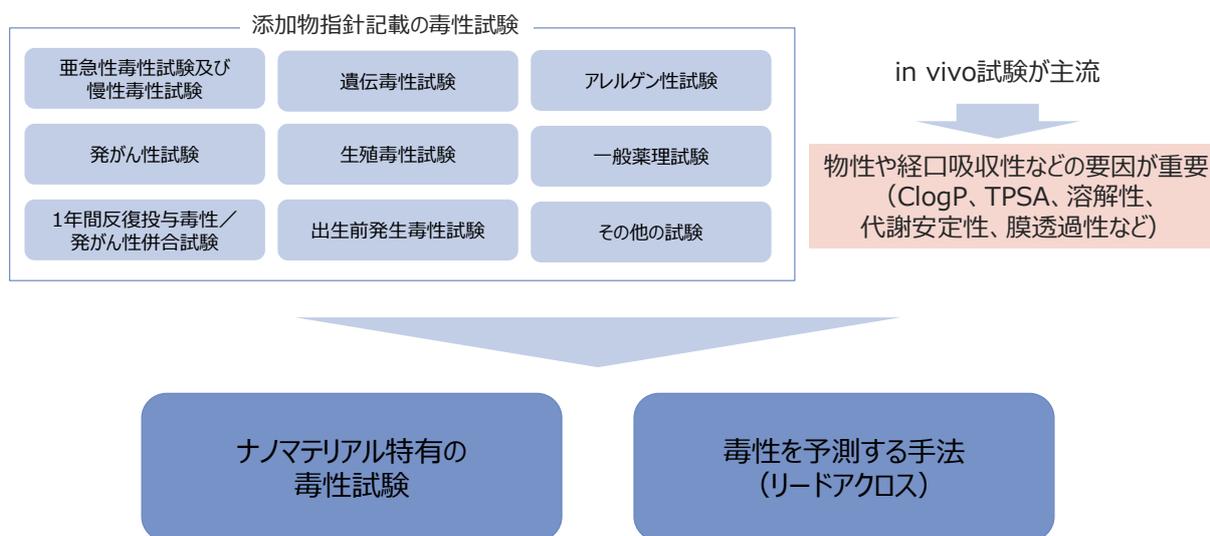
試験項目	試験形態	動物種	投与形態	試験概要	実施機関
T細胞依存性抗体産生 (TDAR) 試験	<i>in vivo</i> <i>ex vivo</i>	マウス ラット サル	静脈内投与	T細胞依存性抗体生産能を測定する。 plaque - forming cell (PFC) /antibody - forming cell (AFC) アッセイと血清中の特異抗体価を測定する酵素免疫測定法 (ELISA) が知られている。	EFSA FDA EPA ICH
イムノフェノタイピング	<i>ex vivo</i>	マウス ヒト		抗体を用いた白血球サブセットの同定や計数を示し、通常はフローサイトメトリーによる解析や免疫組織化学的手法により行われる。	ICH
ナチュラルキラー細胞活性検査	<i>ex vivo</i>	ラット	経口投与 静脈内投与	⁵¹ Crの放射能活性を液体シンチレーションカウンターで測定する方法や、やフローサイトメトリーを用いて細胞障害を受けた死細胞を測定する手法によって、NK細胞活性を測定する。	EFSA FDA EPA ICH
宿主抵抗性試験	<i>in vivo</i>	マウス ラット	腹腔内投与 静脈内投与	ウイルスや細菌を感染させた動物あるいは腫瘍細胞を接種した動物に被験物質を投与し、感染や腫瘍の増悪を調べる。病原性抵抗モデルと腫瘍抵抗性モデルの2種類がある。	ICH
マクロファージ/好中球機能	<i>in vitro</i>			蛍光標識したラテックスビーズの取り込みを蛍光顕微鏡下で観察したりフローサイトメトリーによって測定あるいはマクロファージや好中球の細胞質内で生成される活性酸素についてニトロブルーテトラゾリウムアッセイを改良しマイクロプレート上で調べる	FDA ICH
細胞性免疫能の検査	<i>in vivo</i> <i>ex vivo</i>	マウス サル	経口投与 静脈内投与 塗布	T細胞の免疫反応に及ぼす化合物の作用を調べる	ICH
マイトジェン刺激によるリンパ球増殖活性検査	<i>in vitro</i>			培地で希釈した血液をマイトジェン (Con A, PHAまたはPWM) 刺激下で一定時間培養し、リンパ球の細胞増殖活性を測定	EFSA
血清補体価測定	<i>in vitro</i> <i>ex vivo</i>			全血あるいは個々の補体価について測定する	EFSA
ヒト臍帯由来細胞による評価	<i>in vitro</i>			造血前駆細胞の増殖と分化のパターンを検証する。	EFSA

第4章. ナノマテリアルに対する毒性試験やリードアクロスについての調査

科学技術の進歩に伴い、ナノマテリアルを添加物として用いるケースが増えていくことが今後予想される。ナノマテリアルは化合物サイズに起因して化合物動態特性がこれまでの食品添加物と異なる可能性があることや、ナノマテリアル特有の作用があることが報告されてきており、非常に注目されてきている。

また、動物代替の観点から、毒性を予測するリードアクロスの考え方も注目されてきている。

検討会での助言を受け、ナノマテリアルに関する毒性試験と、食品添加物に対するリードアクロスの活用シーンについての情報収集を追加で行ったので、本章で紹介する。



1. ナノマテリアルに対する毒性試験の調査

ナノマテリアルはナノスケールの1~100nm¹¹程度の大きさを持つ物質のことを示し、特有の物性を示すことが知られている。従来の材料にはない優れた性質を有する新素材が得られる可能性があることから、国際的に積極的な研究開発が進められている。

既にナノマテリアルとしてカーボンブラック、シリカ、酸化チタン、酸化亜鉛等が生産されており、用途もタイヤ、シリコーンゴム、化粧品、医薬品等に使用されている。さらに、近年カーボンナノチューブを中心に研究開発が積極的に行われており、今後更に新しいナノマテリアルが開発され、様々な用途に用いられていくことが予想される。

その一方で、ナノマテリアルに対する毒性の有無についても検討が進められている。本項では、ナノマテリアルの毒性試験に関する現状についての調査結果を報告する。

ナノマテリアルに対する国際評価機関や諸外国の評価機関の毒性試験の実施状況についての調査結果を以下に示す。

¹¹ 各機関のホームページより、JECFA (FAO)、FDA、EC、ANSES、REACH、EMA は1~100nm、EFSA、FSANZ は100nm以下と記載。NCL、ICHは特に記載なし。

表 29 各評価機関におけるナノマテリアルの試験実施状況

試験名	OECDガイドラインに対応する試験	JECFA (国際)	FDA (米国)	EFSA (欧州)	EC (欧州)	ANSES (仏国)	FSANZ (豪・新)	NCL (米国)	ICH (国際)	REACH (欧州)	EMA (欧州)		
急性毒性試験	急性毒性試験	具体的な記載なし	○		具体的な記載なし	具体的な記載なし	具体的な記載なし		具体的な記載なし		具体的な記載なし		
刺激性試験 (皮膚)	刺激性試験		○										
刺激性試験 (眼)	刺激性試験		○	○									
感作性試験 (皮膚)			○	○									
変異原性/遺伝毒性試験	遺伝毒性試験		○	○						○			
生殖毒性試験	生殖毒性試験							○				○	
発生毒性試験	生殖毒性試験											○	
がん原性試験	がん原性試験											○	
反復毒性試験	反復毒性試験		○									○	
慢性毒性試験	反復毒性試験											○	
光毒性試験			△	○									
免疫毒性試験												○	
神経毒性試験	神経毒性試験												
生物濃縮								○					○
マイクロバイオーームへの影響								○					
エンドクライン活性													
細胞毒性試験							○						
酸化ストレス試験							○						
オートファジー							○						

○ : 実施を明記 △ : Special studies 空欄 : 記載なし

調査の結果、FDA、EFSA、NCL、REACH がナノマテリアルに対する毒性試験の評価を実施していることが明らかとなった。特に、FDA と EFSA は食品添加物に関連する機関であり、注目すべきと判断した。

① FDA におけるナノマテリアル毒性試験に関する考え方

FDA ではナノマテリアルに関するガイドラインの制定が進んでいる。現状では、医薬品が検討段階であり、化粧品や動物用食品等が先行している状況である。ナノマテリアルを用いた食品添加物のガイドラインは検討されていない。

FDA のガイドライン（検討中のものも含む）の特徴は、用途ごとにガイドラインを制定する方針を採用している点である。これはすなわち、ある特定の製品が2つ以上の用途での利用を想定している場合、一方の用途ではガイドラインに抵触するが、他方の用途では抵触しない状況が生まれる可能性があることを示している。

② EFSA におけるナノマテリアル毒性試験に関する考え方

EFSA では現在、ナノマテリアルに対するガイダンスを検討中であり、新規食品、食品接触材料、食品および飼料添加物、農薬などの分野を対象としている。このガイダンスは、2011年の以前のガイダンスの発表以降の、ナノマテリアルの曝露評価と毒性評価に関する研究発表内容を反映したものとなっている。2018年1月12日から3月4日にかけてガイダンスのドラフトに対してパブリックコメントを実施しており、2018年3月末時点では、パブリックコメントに対応した最終版は公開されていない。

2. リードアクロスに関する調査

リードアクロスとは、直接取得することが困難な情報に関して、周辺情報や類似事例等の情報を活用して、求める情報を予測する手法のことである。創薬研究において、構造活性相関や *in silico* のデータを活用して高活性化化合物をデザインするケース等と手法に近い。

近年、毒性予測においてもリードアクロスの重要性が 3R の観点などから盛んに発せられており、多くの検討がなされている。食品添加物の毒性試験においてもリードアクロスは非常に注目されており、食品安全委員会でも、評価技術企画ワーキンググループにおいて議論されている。

以下に、現在、国際評価機関や諸外国の評価機関でのリードアクロスの検討状況について示す。

表 30 評価機関におけるリードアクロスの検討状況

機関	活用状況	参考文献
WHO FAO JECFA	<ul style="list-style-type: none"> 農薬での検討に用いられているケースが多数 	<ul style="list-style-type: none"> The Dossier for New Insecticide Active Ingredients¹²
EFSA	<ul style="list-style-type: none"> 農薬における遺伝毒性、代謝の予測 食物に含まれる化合物（残留農薬等）のリスク評価 OpenFoodTox というデータベースを有しており、<i>in silico</i>、構造活性相関、TK データによる複合的な解析が可能 化学物質の発生毒性、生殖毒性の予測 	<ul style="list-style-type: none"> Guidance on the establishment of the residue definition for dietary risk assessment¹³ OpenFoodTox and Tools for Chemical Risk Assessment at EFSA¹⁴
FDA	<ul style="list-style-type: none"> 医薬品における Toxicity Data Mining やジェネリック医薬品の評価に活用 hERG 阻害や肝毒性に活用 	<ul style="list-style-type: none"> The Need for Science and Risk-based Excipient Safety Assessment during generic drug review - Impact on formulation quality and performance¹⁵ Case Study in Computational Prediction of Human Drug¹⁶

¹² www.who.int/entity/pq-vector-control/.../dos_cont_new_ai.pdf

¹³ <https://www.efsa.europa.eu/en/efsa-journal/pub/4549>

¹⁴ <https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/161108a-p4.pdf>

¹⁵ <https://www.fda.gov/downloads/ForIndustry/UserFees/GenericDrugUserFees/UCM506204.pdf>

¹⁶ <https://www.fda.gov/downloads/.../UCM370339.pptx>

機関	活用状況	参考文献
OECD	<ul style="list-style-type: none"> 化学物質のエンドポイントの予測 化学物質の生物特性をカテゴリー分けする際やデータのギャップを埋める際に用いる。 <ul style="list-style-type: none"> Hypothesis and evidence based approaches Choice of qualitative or quantitative read-across Challenges with read-across Qualitative read-across Quantitative read-across タンパク質やDNAとの結合のメカニズム、皮膚腐食性、眼の刺激性、官能基による化合物プロファイリング、生物濃縮等の幅広いシーンで活用 OECD QSAR Toolbox が公開 	<ul style="list-style-type: none"> Grouping of Chemicals: Chemical Categories and Read-Across¹⁷ GUIDANCE ON GROUPING OF CHEMICALS, SECOND EDITION¹⁸ GUIDANCE DOCUMENT FOR USING THE OECD (Q)SAR APPLICATION TOOLBOX TO DEVELOP CHEMICAL CATEGORIES¹⁹ ACCORDING TO THE OECD GUIDANCE ON GROUPING OF CHEMICALS OECD QSAR Toolbox v. 4.1²⁰ The OECD Cooperative Chemicals Assessment Programme An International Programme with Global Reach²¹
FSANZ	<ul style="list-style-type: none"> 食品の包装分野にて、化学物質の毒性予測の手法として紹介 	<ul style="list-style-type: none"> Risk assessment - Proposal P1034 Chemical Migration from Packaging into Food²²
ICH	<ul style="list-style-type: none"> 関連する情報は発見できず 	
食品安全委員会	<ul style="list-style-type: none"> 新たな時代に対応した評価技術の一環として、検討中 2017年に報告書を公表 	<ul style="list-style-type: none"> 『新たな時代に対応した評価技術の検討 -化学物質の毒性評価のための(Q)SAR及びRead acrossの利用-』²³

¹⁷ <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/groupingofchemicalschemicalcategoriesandread-across.html>

¹⁸ https://www.oecd-ilibrary.org/guidance-on-grouping-of-chemicals-second-edition_5jfx677wgg5.pdf?itemId=%2Fcontent%2Fpublication%2F9789264274679-en&mimeType=pdf

¹⁹ <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264221482-en.pdf?expires=1527937171&id=id&accname=guest&checksum=8312F5B595E0F83A57512D5A8483ADDB>

²⁰ <http://www.oecd.org/chemicalsafety/oecd-qsar-toolbox.htm>

²¹ <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecdcooperativechemicalsassessmentprogramme.htm>

²² <http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/Pages/P1034ChemicalMigrationfromPackagingintoFood.aspx>

²³ <http://www.google.co.jp/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwj84oy157TbAhUEU7wKHW9aDOUQFggnMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.fsc.go.jp%2Ffsciiis%2FattachedFile%2Fdownload%3FretreivalId%3Dkai20170630so1%26fileId%3D110&usq=A0vVaw0fJqwkqoTaGXD61K0DwtB>

調査結果より、多くの国際機関にてリードアクロスの検討がなされていることが判明したが、その多くは農薬や医薬分野といった、多くの化合物について研究がなされており、情報量の多い分野での検討が中心であった。そのような中、EFSA では食品添加物に関する検討が行われていることが判明した。

リードアクロスに関する過去 5 年分の論文を調査したところ、多くの評価機関がリードアクロス関連の文献を引用して評価を行っていることが判明した。特に EFSA は他の評価機関よりも評価にあたり引用しているケースが多く、活発な検討がなされていることが示唆された。

実際にリードアクロスを活用している例として、2016 年の Guidance on the establishment of the residue definition for dietary risk assessment (EFSA Journal 2016;14(12):4549) が挙げられる¹。こちらの報告では、食品に含まれる化合物（主に残留農薬やそれに由来する代謝産物）の遺伝毒性や活性代謝物の毒性予測等にリードアクロスが組み込まれていることを、実例を含めて示している。

¹ <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2016.4549>

第5章 調査のまとめ

本事業では乳児に対する添加物のリスク評価方法ガイダンス等の収集を行った。また、各評価機関が評価の対象としている毒性試験の実施方法の実態を調査した。その結果、以下の調査結果が得られた。

■乳児に対する添加物のリスク評価方法ガイダンス等の収集

- ✓ 乳児用食品添加物に関する、JECFA、EFSA、米国の取り組みをと各機関における取り組みの違いや考え方を調査した。
- ✓ リスク評価方法ガイダンス等で示されている文献を別紙のとおり収集した。
具体的な評価事例（カラギーナン、CITREM、OSA 加工澱粉、ペクチン、キサンタンガム、イナゴマメガム）について内容を調査したほか、そのリスク評価で引用されている文献を別紙のとおり収集した。
- ✓ 乳児用食品添加物の評価で重要なポイントとして、ヒト乳児に対応するモデル動物（特にブタ）での検討が重要視されていることが挙げられる。

■各種毒性試験の実施方法に関するガイドラインの収集・整理

- ✓ 添加物指針で対象としている各種毒性試験について、対応する OECD テストガイドラインとその和訳の有無を整理した。
- ✓ 和訳の公開されていない 14 の OECD テストガイドライン（亜急性吸入毒性試験、生殖発生毒性スクリーニング試験、各種遺伝毒性試験等）を確認し、その概要を示した。
- ✓ OECD テストガイドラインに記載されていない一般薬理試験、免疫毒性試験について、OECD 以外の評価機関のガイドラインを調査した。その結果、一般薬理試験については、平成 8 年厚生省ガイドラインと新医薬品等の製造（輸入）承認申請に必要な一般薬理試験のガイドライン以外に適切な情報を発見できなかった。免疫毒性試験については JECFA が考え方を述べているほか、EFSA、FDA、EPA、ICH で具体的な試験項目について言及していることが分かった。

■その他

- ✓ ナノマテリアルに関する毒性試験に関して調査を行った結果 FDA では化粧品、医薬品等の分野で検討を進めているようであったが、添加物に関する検討は発見できなかった。EFSA では添加物を含む食品分野についてガイダンスを検討中であり、本年 1 月から 3 月にかけてドラフトガイダンスのパブリックコメントの実施がなされている。これを受け、近日中にガイダンスの最終版が公表されることが予想される。
- ✓ リードアクロスに関して各評価機関での取り組みや関連する文献を調査した結果、EFSA にて添加物に関する取り組みが昨今精力的になされていることが明らかになった。