

# 資料 3

## 肥料・飼料等専門調査会における審議状況について

### 1. 審議状況

農林水産省及び厚生労働省から食品安全委員会に意見を求められた、飼料添加物アスタキサンチン及びカンタキサンチンに係る食品健康影響評価（平成15年8月25日付け15消安第1321号及び同日付け厚生労働省発食安第0825002号）については、平成15年11月14日に開催された肥料・飼料等専門調査会（座長：唐木英明）において審議された。今般、農林水産省より提出のあった補足資料（平成15年12月18日及び平成16年1月15日受理）に関しても精査され、審議結果（案）がとりまとめられた。

また、審議結果（案）については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

### 2. 飼料添加物アスタキサンチン及びカンタキサンチンに係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集

肥料・飼料等専門調査会における審議結果（案）を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

#### 1) 募集期間

平成16年2月5日（木）開催の食品安全委員会（第31回会合）終了後、平成16年3月3日（水）までの4週間。

#### 2) 受付体制

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

#### 3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、肥料・飼料等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

## 飼料添加物アスタキサンチンに係る食品健康影響評価について

### 1 はじめに

食品安全委員会は、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）に基づき、農林水産大臣から飼料添加物アスタキサンチンに関する基準・規格を改正することに係る食品健康影響評価（平成 15 年 8 月 25 日付け 15 消安第 1321 号）について、厚生労働大臣から当該飼料添加物の食品中の残留基準の設定に係る食品健康影響評価（平成 15 年 8 月 25 日付け厚生労働省発食安第 0825002 号）について意見を求められた（平成 15 年 8 月 25 日に関係書類を接受。）。

本件に関しては、農林水産省の第 6 回及び第 8 回農業資材審議会飼料分科会安全性部会（平成 15 年 2 月 18 日及び平成 15 年 6 月 27 日開催）第 2 回同部会養魚委員会（平成 15 年 3 月 13 日開催）において審議されており、その結果、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号。以下「飼料安全法」という。）の対象家畜等に養殖水産動物を追加することに伴う、当該飼料添加物に係る飼料一般の成分規格を改正することについて了承されている。

### 2 農林水産省の飼料添加物アスタキサンチンに関する基準・規格等の改正の概要

#### (1) 対象家畜等の拡大

飼料安全法の規制対象となる「家畜等」は、食用に供すること等を目的とした経済動物であり、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律施行令（昭和 51 年政令第 198 号）に定められている。現在、水産動物では、「ぶり、まだい、ぎんざけ、こい（農林水産大臣が指定するものを除く。）うなぎ、にじます及びあゆ」の 7 魚種が指定されている。

しかしながら、近年の養殖技術の確立、種苗供給の国際化等により、飼料安全法の対象外の養殖水産動物の生産量が増加し、種類が多様化していることから、養殖水産動物の安全性を確保するため、食用に供する目的で養殖されている水産動物を包括的に規制の対象とする予定である。

#### (2) 飼料添加物アスタキサンチンに関する飼料一般の成分規格の改正

飼料添加物アスタキサンチンは、平成 3 年 6 月に飼料添加物として指定され、養殖水産動物の色調強化を目的として、飼料の栄養成分その他の有効成分の補給の用途に用いられており、現在、飼料一般の成分規格として次の事項が定められている。

まだい、ぎんざけ及びにじますを対象とする飼料以外の飼料は、飼料添加物であるアスタキサンチンを含んではならない。

飼料添加物であるアスタキサンチンの飼料中の含有量は、飼料 1 トン当たり 100g 以下でなければならない。

(1)の飼料安全法の規制対象家畜等の拡大にあわせて飼料一般の成分規格を改正し、飼料添加物アスタキサンチンを含有する飼料の対象魚種を「魚類及び甲殻類」に拡大するとともに飼料 1 トンあたりの含有量を定める予定である。

### 3 飼料添加物アスタキサンチンの概要

#### (1) 名称【参照文献 1、2】

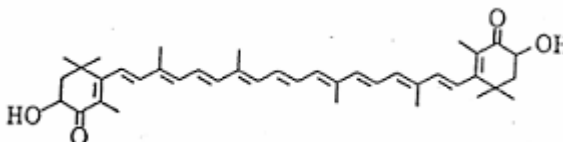
アスタキサンチン (astaxanthin; 3,3'-dihydroxy-β,β'-carotene-4,4'-dione)

(2) 構造及び性状【参照文献 1、2】

分子式：C<sub>40</sub>H<sub>52</sub>O<sub>4</sub>

分子量：596.86

構造式：



含 量：製造用原体を定量するとき、アスタキサンチン 97.0～102.0%を含む。

(3) 起源または発見の経緯並びに外国における許可状況及び使用状況等【参照文献 1、3】

アスタキサンチンは自然界に広く存在するカロテノイドの一種で、1933年 R.Kuhn らによりザリガニ (*Astacus gammarus*) 中に含まれていることが発見され、1935年、P.Karrer らによってその酸化物であるアスタシンの構造が、1938年には R.Kuhn らによってアスタキサンチンの構造が解明された。

アスタキサンチンは、エビ、タイ、マス等の海産動物、緑藻ヘマトコッカス、微生物ファフィア等に含まれている。自然界におけるアスタキサンチンの存在型には、遊離型とエステル型があり、一般的には魚類の体表ではエステル型で存在している。

合成は Leftwick, Weedon ら (1967年) によって成され、その後工業的製造が可能となった。サケ、マスの筋肉や皮膚等の色調強化を目的に 1982年にビタミン A と類似の方法による顆粒状製剤が開発された。

EU諸国においては、1990年2月に飼料添加物として Council Directive 70/524/EEC Annex に記載され、養殖サケ、マス(飼料中 100ppm 以下)に使用されている。また、米国(サケ科の魚用飼料中 80ppm 以下)をはじめ、カナダ、メキシコ等の国々で養殖サケ、マス、エビ類の色調強化に使用されている。

(4) 我が国における食品添加物としてのアスタキサンチンの許可状況等

我が国においては、アスタキサンチンを主成分とする、エビ色素、オキアミ色素、カニ色素、ファフィア色素及びヘマトコッカス藻色素が、食品衛生法(昭和 22 年法律第 233 号)に基づく既存添加物として、既存添加物名簿(平成 8 年 4 月 16 日付け厚生省告示第 120 号)に記載されており、着色料として使用されているが、使用基準は設定されていない。

#### 4 安全性に関する試験成績の概要

(1) 短期反復投与毒性試験

10 日間短期反復投与毒性試験(ラット)

アスタキサンチンを落花生油に懸濁し、0、125、250、500、1000、2000mg/kg 体重の用量で Füllinsdorf アルビノ系ラット(性別不明、一群 10 匹)に 1 日 1 回 10 日間経口投与し、一般症状、体重、死亡率について検討した結果、いずれの群も死亡は認められず、アスタキサンチンの LD<sub>50</sub> 値は 2000mg/kg 体重以上であった。【参照文献 4】

13 週間短期反復投与毒性試験(ラット)

Füllinsdorf アルビノ系ラット(雌雄共一群 16 匹)を用い、0、310、620、1240mg/kg 体重/日の用量で 13 週間混餌投与した結果、アスタキサンチン投与群において、アスタキサン

チンに由来する便及び脂肪組織の赤～黄色化が認められた以外、臓器重量、組織学的所見において異常は認められなかった。【参照文献 5】

なお、対照群及び全ての投与群において、供試動物に脱毛が認められたという結果に関し、当専門調査会はその詳細に係る補足資料を求めた。提出された資料を検討した結果、脱毛がアスタキサンチン投与に起因するものではないと判断した。補足資料の要旨は次のとおりであった。

#### 補足資料要旨

本短期毒性試験では、投与群には、アスタキサンチンを水溶性のコンスターチで被覆した顆粒状の製剤として飼料中に混合し、投与していた。また、対照群には、与える飼料量を投与群のそれと同用量にするため、プラセボ（擬似薬）顆粒を与えていた。顆粒全量は飼料全量の 25%を超えないようにしたものの、全群において、栄養不良が原因となる脱毛が見られた。

#### 3ヶ月間短期反復投与毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（雌雄共一群 3 匹）を用い、0、40、80、160mg/kg 体重/日の用量で、3ヶ月間混餌投与したところ、アスタキサンチン投与群において、アスタキサンチンに由来する脂肪組織の橙黄色化が認められた以外、異常は認められなかった。【参照文献 6】

### (2) 催奇形性試験

#### ラット

Füllinsdorf アルビノ系ラット（一群の雌 40 匹）を用い、0、250、500、1000mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7 日目から 16 日目に混餌投与したところ、母動物、胎児とも異常は認められなかった。【参照文献 7】

#### ウサギ

スイスウサギ（一群の雌 20 匹）を用い、0、100、200、400mg/kg 体重/日の用量で妊娠 7 日目から 19 日目に、強制経口投与したところ、母動物、胎児とも異常は認められなかった。【参照文献 8】

なお、ウサギの催奇形性試験に係る Wilson 法による頭部の連続断面の評価検査において、供試動物の一部に延髄の部分的欠損が認められたという結果に関し、当専門調査会はその詳細に係る補足資料を求めた。提出された資料を検討した結果、延髄の部分的欠損がアスタキサンチン投与に起因するものではないと判断した。補足資料の要旨は次のとおりであった。

#### 補足資料要旨

本試験の延髄の部分的欠損は、頭部切断の際に、延髄を人為的に傷つけたためである。延髄は壊れやすく、このような欠損は対照群にも認められている。【参照文献 9】

### (3) 変異原性試験

#### 復帰変異試験

アスタキサンチン 0.03～5mg / プレート濃度範囲内で *S.typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100 の 5 株を用いた復帰突然変異試験を行った結果、5 株のいずれに対しても、ラット肝ホモジネート分画（S9-Mix）添加による代謝活性化の有無に関わらず、突然変異を誘発せず、変異原性は認められなかった。【参照文献 10】

#### 小核試験

アスタキサンチンを 500、1000、2000mg/kg 体重の用量で 2 回（標本作製の 30 及び 6 時間前）Füllinsdorf アルビノマウス（雌雄共一群 3 匹）に経口投与した結果、骨髄細胞に染色体切断あるいは有糸分裂不分離を誘導せず、陰性と判定された。【参照文献 11】

#### (4) 対象魚種を用いた飼養試験

##### マダイ

マダイを用い、アスタキサンチンとして 40 及び 400 mg/kg（飼料中）の用量で 91 日間飼育した飼養試験の結果、アスタキサンチン投与による異常は認められなかった。【参照文献 12】

##### ニジマス

ニジマスを用い、アスタキサンチンとして 20 mg/kg から 400 mg/kg（飼料中）までの用量で 8 週間飼育した飼養試験の結果、アスタキサンチン投与による異常は認められなかった。【参照文献 13】

#### (5) 長期毒性試験、世代繁殖試験及び催腫瘍性試験

アスタキサンチンの長期毒性試験、世代繁殖試験及び催腫瘍性試験については、「飼料添加物の評価基準」（平成 4 年 3 月 16 日付け 4 畜 A 第 201 号農林水産省畜産局長、水産庁長官連名通知）の のなお書きに基づき、このものの豊富な使用経験、短期毒性試験、催奇形性試験、変異原性試験の結果及び既知の知見等から悪影響が疑われないものと判断され、長期毒性試験等の実施が省略されている。

当専門調査会は、アスタキサンチンの食品健康影響については、短期毒性試験、催奇形性試験、変異原性試験の結果をもって評価が可能であると判断し、追加試験の実施を求めなかった。

#### (6) アスタキサンチンの摂取量と網膜内におけるこのものの結晶の発達及び沈着

当専門調査会は、アスタキサンチンの摂取量と実験動物又はヒトの網膜内におけるこのものの結晶の発達及び沈着について、補足資料を求めた。提出された資料を検討した結果、アスタキサンチンは網膜内に沈着しにくいと判断した。補足資料の要旨は次のとおりであった。

##### 補足資料要旨

ヒトの眼におけるカロテノイドの分布及び量の調査によると、ヒトの眼から食事由来するルテイン及びゼアキサンチンは検出されたが、 $\beta$ -カロテン、 $\gamma$ -カロテン及びアスタキサンチンは検出されなかった。また、ラットによる代謝試験及びヒト血中動態試験では、アスタキサンチンの血漿中の濃度はカンタキサンチンと比較して有意に低かった。これらの成績からアスタキサンチンは網膜内に沈着しにくいことが示唆される。【参照文献 14～17】

#### 5 食品健康影響評価について

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、飼料添加物アスタキサンチンに関する飼料一般の成分規格の改正及び当該飼料添加物の食品中の残留基準の設定に係る食品健康影響評価について、審議を行った結果、

- 1) 飼料添加物アスタキサンチンの安全性試験の成績に問題を認めなかったこと、
  - 2) アスタキサンチンは自然界に広く存在し、食品として通常に摂取していること、
  - 3) アスタキサンチンは食品添加物及び飼料添加物として使用実績があること、
- から、一日摂取許容量(ADI)を設定しないとした。

【参照文献】

- 1 起源又は発見の経緯並びに外国における許可状況及び使用状況（未公表）
- 2 アスタキサンチンの規格及び試験方法とその設定理由（未公表）
- 3 H. Hencken, “ 養殖産業におけるアスタキサンチンの役割 ” ,p.79 - p.99, “ 第 16 回口シユ飼料ゼミナール講演集 ” ,(1991).
- 4 アスタキサンチンラセミ体のラットにおける 10 日間経口毒性試験（未公表）
- 5 アスタキサンチンラセミ体のラットにおける混餌投与による 13 週間経口毒性試験（未公表）
- 6 アスタキサンチンラセミ体のイヌにおける 13 週間混餌経口投与毒性試験（未公表）
- 7 ラットにおけるアスタキサンチンラセミ体の経口投与による胎仔毒性ならびに催奇形性試験（未公表）
- 8 ウサギにおけるアスタキサンチン混餌経口投与による胎仔毒性並びに催奇形性試験（未公表）
- 9 Joosten, H.F.P., Hoekstra, A., Geelen,J.A.G., and Yih, T. D., “ Cysts in Rabbit Foetal Brains / Malformation or Artefacts?”, *Toxicology* 47, 25-37(1981).
- 10 アスタキサンチンラセミ体の Ames のサルモネラ菌 / 哺乳類ミクロゾーム系寒天平板法による変異原性試験（未公表）
- 11 アスタキサンチンラセミ体のマウスを用いた小核試験による *in vivo* 突然変異誘発性試験(未公表)
- 12 アスタキサンチンのマダイに対する体色改善試験（未公表）
- 13 アスタキサンチンによるニジマス筋肉の色調改善試験（未公表）
- 14 Bernstein, P.S. *et al*, “Identificaion and Quantitation of Carotenoids and their Metabolites in the Tissues of the Human Eye”, *Exp. Eye Res.*72(3), 215-223(2001).
- 15 Khachik, F. *et al*, “Transformation of Selected Carotenoids in Plasma, Liver, and Ocular Tissues of Humam and in Nonprimate Animal Models”, *IOVS.* 43 (11) 3383-3392 (2002).
- 16 Glatzle, D. and Bausch, J.,”Comparison of Astaxanthin and Canthaxanthin balance studies (1988) .(未公表)
- 17 Bausch, J., “Plasmakinetics of Astaxanthin and Canthaxanthin in Humans(1987) .(未公表)

(案)

## 飼料添加物カンタキサンチンに係る食品健康影響評価について

### 1 はじめに

食品安全委員会は、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）に基づき、農林水産大臣から飼料添加物カンタキサンチンに関する基準・規格を改正することに係る食品健康影響評価（平成 15 年 8 月 25 日付け 15 消安第 1321 号）について、厚生労働大臣から当該飼料添加物の食品中の残留基準の設定に係る食品健康影響評価（平成 15 年 8 月 25 日付け厚生労働省発食安第 0825002 号）について意見を求められた（平成 15 年 8 月 25 日に関係書類を受け）。

本件に関しては、農林水産省の第 6 回及び第 8 回農業資材審議会飼料分科会安全性部会（平成 15 年 2 月 18 日及び平成 15 年 6 月 27 日開催）、第 2 回同部会養魚委員会（平成 15 年 3 月 13 日開催）において審議されており、その結果、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号。以下「飼料安全法」という。）の対象家畜等に養殖水産動物を追加することに伴う、当該飼料添加物に係る飼料一般の成分規格を改正することについて了承されている。

### 2 農林水産省の飼料添加物カンタキサンチンに関する基準・規格等の改正の概要

#### (1) 対象家畜等の拡大

飼料安全法の規制対象となる「家畜等」は、食用に供すること等を目的とした経済動物であり、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律施行令（昭和 51 年政令第 198 号）に定められている。現在、水産動物では、「ぶり、まだい、ぎんざけ、こい（農林水産大臣が指定するものを除く。）うなぎ、にじます及びあゆ」の 7 魚種が指定されている。

しかしながら、近年の養殖技術の確立、種苗供給の国際化等により、飼料安全法の対象外の養殖水産動物の生産量が増加し、種類が多様化していることから、養殖水産動物の安全性を確保するため、食用に供する目的で養殖されている水産動物を包括的に規制の対象とする予定である。

#### (2) 飼料添加物カンタキサンチンに関する飼料一般の成分規格の改正

飼料添加物カンタキサンチンは、平成 14 年 4 月に飼料添加物として指定され、養殖水産動物等の色調強化を目的として、飼料の栄養成分その他の有効成分の補給の用途に用いられており、現在、飼料一般の成分規格として次の事項が定められている。

鶏、ぎんざけ及びにじますを対象とする飼料以外の飼料は、飼料添加物であるカンタキサンチンを含んではならない。

飼料添加物であるカンタキサンチンの飼料中の含有量は、飼料 1 トン当たり 80g 以下でなければならない。

(1)の飼料安全法の規制対象家畜等の拡大にあわせて飼料一般の成分規格を改正し、飼料添加物カンタキサンチンを含有する飼料の対象魚種を「さけ科魚類及び甲殻類」に拡大するとともに飼料 1 トンあたりの含有量を定める予定である。

### 3 飼料添加物カンタキサンチンの概要

#### (1) 名称【参照文献 1、2】

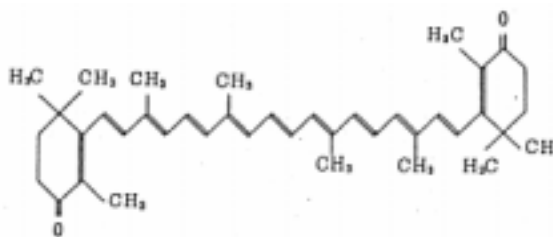
カンタキサンチン（canthaxanthin；C40H56O2、-carotene-4,4'-dione）

(2) 構造及び性状【参照文献 2】

分子式：C<sub>40</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub>

分子量：564.86

構造式：



CAS : 514-78-3

含 量：製造用原体を定量するとき、カンタキサンチン 96.0～102.0%を含む。

溶解性：クロロホルムに溶けやすく、シクロヘキサンに極めて溶けにくく、エーテル及び水にほとんど溶けない。

融 点：約 209（分解）

(3) 起源または発見の経緯並びに外国における許可状況及び使用状況等【参照文献 1】

カンタキサンチンは自然界に存在するカロテノイドの一種で、1950 年食用キノコ (*Cantharellus cinnabarinus*) 中に含まれていることが見出され、フラミンゴ等の赤色羽毛中やサケ、マスの体中からも検出されている。合成は O.Isler らによって 1956 年になされ、その後工業的製造が可能となり、鶏の卵黄色や皮膚等の色調強化に効果を有することから、ビタミン A と類似の方法による顆粒状製剤が開発され、1963 年にスイスで流通されてから世界的に販売されるようになった。我が国では、1966 年より販売が開始されている。

EU 諸国においては、Council Directive 70/524/EEC Annex に記載され、養殖サケ、マス類、採卵鶏以外の家きん（飼料中 25mg/kg 以下）及び採卵鶏（飼料中 8mg/kg 以下）に使用されている。

また、欧米では食品の着色料として使用が認められている。FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）では 1995 年に安全性の評価を終了し、その一日摂取許容量(ADI)は 0-0.03mg/kg 体重/日とされた。

(4) 我が国における食品添加物としてのカンタキサンチンの許可状況等

我が国においては、カンタキサンチンは食品添加物として指定されておらず、使用実績はない。

4 安全性に関する試験成績の概要

(1) 吸収、分布、排泄に関する試験

ラット

ラットの雄を用い <sup>14</sup>C で標識したカンタキサンチン(以下「<sup>14</sup>C-カンタキサンチン」という。)のリポソーム調製液 2 mL を 1 回胃内へ強制投与し、又は飼料に混合して 1 回経口投与し、放射性物質の分布を調査した。肝臓、脾臓、心臓、肺、胸腺、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、眼、脳、皮膚、胃、小腸及び大腸の組織中の分布パターン並びに糞便及び尿への排泄パターンは、製剤の調製方法と投与方法に関わらず類似していた。1 日後、放射性物質の 46-89% が排泄され、7 日後には 98% 以上が排泄された。【参照文献 3】

ラット

有色系 (PGV/LacIbm 系) ラットの雄とアルビノラットの雄を用い、カンタキサンチンと



して 100 mg/kg を含有した飼料を 5 週間連続投与した。有色ラットのカンタキサンチンの組織蓄積量は、アルビノラットの組織蓄積と比較して、脾臓、肝臓、皮膚で 10 分の 1 以下、小腸と腎臓の脂肪で約 2 分の 1、眼で 6 分の 1 であった。【参照文献 3】

#### カニクイザル

カニクイザルの雌雄を用いて、<sup>14</sup>C-カンタキサンチン 0.2 又は 0.6 mg/kg 体重を 1 回投与した。<sup>14</sup>C-カンタキサンチンの排泄の主な経路は糞便であり投与量の 84 ~ 89% が、尿からは 1.6% ~ 3.6% が排泄された。また、1.6% ~ 4.6% が組織に保持され、約 3% ~ 7% が吸収された。血液および血漿のプロファイルは、雄および雌で類似していた。

吸収された <sup>14</sup>C-カンタキサンチンのうち、副腎への蓄積量が最も高く、脾臓、肝臓、骨髄、皮膚、脂肪への蓄積は中程度であった。高投与量群の眼及び脳で低レベルの放射能蓄積が確認された。【参照文献 3】

#### ラット及びサル

ラット及びサルを用いて、<sup>14</sup>C-カンタキサンチン 0.2 又は 0.6 mg/kg 体重を 1 回経口投与し、2 つの動物種でカンタキサンチン代謝を比較した。<sup>14</sup>C-カンタキサンチンの代謝及び排泄は、サルよりもラットで速かった。96 時間後の放射能量は、ラットの組織中で 1% 以下、サルの組織中で 7.4% だった。また両種の眼に低レベルの放射能蓄積が確認できたが、ラットはサルの約 100 分の 1 であった。【参照文献 3】

## (2) トキシコロジー（毒性試験）

### 1) 急性毒性試験

#### マウス

1 群雌雄各 10 匹のマウス（ICR-SLC 系）を用い、経口投与（投与量：1,250、2,500mg/kg）と腹腔内投与（投与量：500、1,000mg/kg）で検体の急性毒性を検討した。観察期間は 14 日であった。両投与経路で、死亡例は 1 例もなく、LD<sub>50</sub> 値は経口投与で 2,500mg/kg より高値、腹腔内投与で 1,000mg/kg より高値と推定された。経口投与の一般症状では、雄の投与群に用量に相関したごく軽度の体重増加抑制がみられたのみであった。腹腔内投与の一般症状では、全群に投与後自発運動の低下がみられ、この回復は投与群の方がやや遅かった。さらに、投与群では、一時的な体温の低下傾向と皮膚の白色化がみられ、また、一時的な体重減少と飼料摂取量の低下も認められた。【参照文献 4】

#### ラット

1 群雌雄各 10 匹のラット（SD-SLC 系）を用い、経口投与（投与量：2,500、5,000mg/kg）と腹腔内投与（投与量：500、1,000mg/kg）で検体の急性毒性を検討した。観察期間は 14 日間であった。両投与経路で、死亡例は 1 例もなく、LD<sub>50</sub> 値は経口投与で 5,000mg/kg より高値、腹腔内投与で 1,000mg/kg より高値と推定された。経口投与の一般症状では、投与翌日のみに投与群全例に用量に相関した検体色の便が観察されたのみであった。腹腔内投与の一般症状では、投与群に自発運動の低下傾向がみられ、その他投与群の一部に流涙、目のうるみ、流涎、鼻周囲血様物、検体色の便が一時的に認められた。投与群の雌雄とも投与直後に用量相関性が見られる体重減少を示した。【参照文献 4】

### 2) 短期毒性試験（イヌ）

各群 6 匹のイヌ（性別、系統、月齢不明）を用いて、経口投与（1 日 1 頭当たり 0、1、4g）

で15週間連続投与した。その結果、体重、一般症状、血液学的検査、生化学的検査及び病理学的検査（肉眼的観察、器官の重量、組織学的検査）において、検体投与に起因する変化は認められなかった。本試験での無毒性量は、4g/匹/日以上であると考えられた。【参考文献5】

### 3) 長期毒性試験

ラット（催奇形性試験及び催腫瘍性試験との併合試験）

Wistar系ラットを用い、カンタキサンチンを0、0.5、2.0、5.0%の濃度で添加した飼料を93～98週間投与した。動物数は順に雌雄各25匹、25匹、25匹、15匹とした。その結果、死亡率、体重、生殖能、血液学的検査、生化学的検査及び病理学的検査（肉眼的検査、器官重量、組織学的検査）において、検体投与による悪影響は認められず、検体投与群のラットの体脂肪には黄色～橙色の着色が見られたのみであった。

また、同じ実験で、0、0.5及び2.0%添加飼料投与群の雌雄を、6ヶ月目に同居させ生殖能を調べた結果、産仔数、離乳動物数、産仔の出生時及び離乳時体重に検体投与の影響は無く、産仔の半数について出生直後に骨格検査を行ったが異常は認められなかった。

また、組織学的検査において観察された腫瘍は、対象群を含めて全群に同等に分布しており検体の催腫瘍性を認めなかった。【参考文献5】

ラット（催腫瘍性試験との併合試験）

CD Sprague-Dawley系ラットの雄各群50匹を用い、カンタキサンチンを0、0（プラセボ）、5、25、75、250mg/kg体重/日の摂取量になるように添加した飼料を104週間投与した。各群10匹のラットを52週後に、10匹を78週の投与後に剖検に供し、30匹は104週間投与した。26週、51週、78週、104週の投与後に一群当たり10匹について血液学的検査、臨床化学的検査、尿検査を行った。また、全ての群に対して、投与前、51週、104週の投与後に検眼鏡検査を行った。自然死に際しても剖検を行った。すべてのラットの肝臓の組織病理検査を行った。

カンタキサンチンの投与は、生存に関して影響を与えなかった。25mg/kg体重/日以上投与群には体表毛と尾に進行性の赤色の着色が観察された。また、25mg/kg体重/日以上投与群については、プラセボ対照群と比較して最初の17週に若干の体重増加の減少が見られた。飼料摂取量は全ての群で投与期間を通して同じ程度であった。

51週と104週投与後の眼の検査には異常は認められなかった。血液学的検査値については、カンタキサンチン投与に起因する群間差は見られなかった。また、血液の臨床化学変化は、250mg/kg体重/日投与群において血漿コレステロールが若干高いこと、104週以降の75及び250mg/kg体重/日投与群において、アルカリホスファターゼの活性が若干高いことに限られた。また、尿の検査値及び臓器重量に関しては群間の差は観察されなかった。剖検の肉眼的所見では、全ての投与群で胃腸管のオレンジ又は赤の変色並びに皮下及び脂肪細胞のオレンジ変色が見られた。高用量投与群ラット、25mg/kg体重/日投与群の78週のラット、5mg/kg体重/日投与群の実験終了時の少数のラットに、肝臓の変色が観察された。病理組織学検査では、肝臓の病変の発生頻度の増加又は病変の障害の程度の増強が観察された。75及び250mg/kg体重/日投与群の全てのラットで、肝細胞肥大が見られた。25mg/kg体重/日投与群(52週でのみ)、75及び250mg/kg体重/日投与群(52週と104週でのみ)では、肝細胞の空胞化発生頻度の増加が見られた。75及び250mg/kg体重/日投与群ラットの中には、78週以降にすりガラス状肝細胞が観察された。78週以降に、75及び250mg/kg体重/日投与群で門脈

周囲の脂肪蓄積が見られ、104週以降には発症率と程度が拡大していた。また、75及び250mg/kg体重/日投与群では52週以降に、25mg/kg体重/日以上投与群では78週と104週で肝細胞に複屈折性のオレンジ又は茶色の色素がみられた。また、対照群と比較してカンタキサンチン投与群の肝細胞の腫瘍発生の増加は認められなかった。5及び25mg/kg体重/日投与群は、肝臓障害を引き起こさないことが報告されている。

同じ実験条件で雌でも試験が行われており、組織学的所見以外は雄とほぼ同様の結果であった。組織学的検査では雄より低用量から影響が見られている。250mg/kg体重/日投与群では、52週以降に門脈周囲の肝細胞空胞化が高い発症率で見られ、25、75及び250mg/kg体重/日投与群では78週以降に高い割合で広範性の肝細胞空胞化が見られ、無毒性量は5mg/kg体重/日であることが報告されている。【参照文献3、6、7】

#### サル

雌雄のカニクイザル(雄50匹、雌49匹、1-3歳齢、4-11匹/群)を用いて、カンタキサンチン(0、0(プラセボ)、0.2、0.6、1.8、5.4、16又は49mg/kg体重/日)を添加した水溶液を3年間にわたって強制経口投与した。

また、供試サル2-4匹/性/群に対して、植物油にカンタキサンチン(0(植物油)、200、500、又は1000mg/kg体重/日)を混合し投与した。

投与期間を通じて、飼料摂取、体重増加、血液学的及び臨床化学的検査値並びに心血管機能には、投与に関連した影響は認められなかった。

カンタキサンチンの血漿中濃度(3ヶ月毎に測定)は、0.2-49mg/kg体重/日投与群において投与量と相関して増加した。各群における最高値は投与3ヶ月後に認められ、これに対して1年後以降は、試験の終了まで一貫してそれよりは低かった。2年目以降に200-1000mg/kg体重/日投与群のカンタキサンチン血漿中濃度は、概ね高値を示したが濃度は一定しておらず、投与量との相関性を認めなかった。

検眼鏡検査(3ヶ月毎に実施)では、検体投与群で、供試サルの網膜に結晶性沈着物の兆候は認められなかった。しかし、約3年後に細隙燈顕微鏡(slit-lamp biomicroscopy)検査を行うと、200mg/kg体重/日以上投与群の18匹中8匹と、レーザー処理した1000mg/kg体重/日投与群のサルには、網膜の周辺と中心部に単一または複数の光反射スポットが認められた。片方の眼にレーザー処理し、49mg/kg体重/日を投与した2匹中の1匹にも網膜中に光反射スポットの存在が認められた。しかし、1、2及び3年後の網膜グラフィック試験では、いずれの投与群でも視覚機能の障害を示す証拠は認められなかった。

全てのサルの剖検における肉眼的観察では、投与に起因するような病変や異常は認められなかった。全てのカンタキサンチン投与サルの胃腸管粘膜、脂肪及び結合組織において、オレンジレッド色の変色が認められた。

投与群サルの臓器重量はプラセボ対照群のそれと同等であり、主要組織と器官の組織学的変化はカニクイザルのこれまでの所見と一致していた。肝臓の凍結切片では、1.8及び5.4mg/kg体重/日投与群の一部と16及び49mg/kg体重/日投与群の全例に濃いオレンジ色の複屈折性色素の封入体が認められたが、肝臓の脂質含量との相関性は見られなかった。

網膜の全体標本及び凍結切片の顕微鏡的観察では、多型性複屈折性封入体が、0.6mg/kg体重/日以上投与群のサルの周辺網膜の環状帯と2.5年後と3年後の49mg/kg体重/日以上投与群のサルの網膜中心に認められた。0(プラセボ対照群)及び0.2mg/kg体重/日投与群に

は複屈折性封入体は認められなかった。複屈折性封入体は 1 年目に行った 49mg/kg 体重/日投与群のサルでも認められた。

16 mg/kg 体重/日以上投与群では、封入体が網膜の遠位周辺部で密度が高く、また拡散していた。封入体は神経線維、神経節細胞層、網状内層及び内顆粒層に多く、網状外層には少なかった。網状内層では複屈折性封入体は分離した神経節細胞とおそらく無軸索細胞と結びついており、核周囲部の内側または内部細胞突起に局在していた。内顆粒層外、桿状/円錐状分節または色素沈着した上皮には封入体は認められなかった。

高投与量群のサルの肝臓と網膜において顕微鏡で確認した結晶性封入体は、化学的分析によって供試化合物であるカンタキサンチンと関連していることが認められた。しかし、このような沈着物が肝臓及び眼の生理学的機能や形態におよぼす有害な影響は認められなかった。

本試験における無毒性量は 0.2mg/kg 体重/日であった。【参照文献 3、8】

#### 4) 世代繁殖試験

雌雄各 20 匹の Wistar 系ラットを用いて、経口投与（飼料中カンタキサンチン含量 0 及び 1,000mg/kg）し、試験開始後 16 週目に交尾させ F<sub>1</sub>（母動物数 15）を得た。F<sub>1</sub> は 39 週目または 43 週目に交尾させ F<sub>2</sub>（母動物数 13）を得た。F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> はそれぞれ 2 年、1 年半、1 年を試験期間として、検体を連続投与した。3 世代を通じて、死亡率、体重、飼料摂取量、一般症状、血液学的検査及び病理学的検査において検体投与の悪影響は認められなかった。検体添加群の肝臓には色素の顆粒が観察された。また、F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub> の生殖能にも検体投与の影響はなかった。【参照文献 5】

#### 5) 変異原性試験

##### 修復試験

枯草菌 H17 (rec<sup>+</sup>) と M45 (rec<sup>-</sup>)、大腸菌 WP2B/r hcr<sup>+</sup> と hcr<sup>-</sup>、及び大腸菌 W3110 (thy<sup>+</sup>、pol<sup>+</sup>) と P3478 (thy<sup>-</sup>、pol<sup>-</sup>) を用いて、検体濃度 2,000 µg/disc より 2 倍希釈 10 段階で修復試験を行った結果、いずれの濃度でも増殖の阻止を示さず陰性であった。【参照文献 9】

##### 復帰変異試験

サルモネラ TA98 及び TA100 による復帰変異試験を行った。検体濃度は 4、40、400、4,000 µg/plate とし、陽性対照にジメチルニトロサミンと 2 - アセチルアミノフルオレンを用いて試験した結果、何れの濃度でも自然復帰変異頻度と差はなく、ラット S-9Mix 添加 preincubation 法による代謝活性化処理による突然変異頻度にも差は認められなかった。

【参照文献 9】

#### 6) 眼毒性に関する特殊試験

##### *In vitro* (試験管内) での実験

ニワトリの胚の網膜神経を再凝集細胞培養した際にみられるカンタキサンチン結晶の形成を観察した。また、ヒナの網膜神経、網膜色素上皮、脳及び髄膜の定置沈降分離細胞中におけるリソソーム及びミトコンドリアの活動、タンパク合成及び分化等に関してカンタキサンチンの影響を調査した。カンタキサンチンは、カンタキサンチン添加飼料もしくはプラセボで飼育したヒナから得た高密度のリボタンパクと共に定置沈降分離細胞に加えた。網膜神経の再凝集培養基中では、高濃度のカンタキサンチンの存在下で培養されたため、赤又は茶色の複屈折を示す生成物が観察された。細胞培養基中にこの生成物が現れる頻度は、培養基

中のカンタキサンチンの濃度に比例し、カンタキサンチン濃度が、培養基中 1.2mg/L もしくはそれ以上の場合に観察された。カンタキサンチンを加えて培養しても、細胞の生存率及び分化に影響はなかった。【参照文献 3】

#### ニワトリ

ブロイラーのヒナを用いて、カンタキサンチンを 14.2g/kg 含む飼料を 12 週間連続投与した (28g/kg 体重/日相当量を摂取)。投与されたヒナの眼を組織学的に検査したところ、網膜及びその周辺部の末梢部分に複屈折を示す赤茶色を帯びた結晶状構造が存在した。走査顕微鏡画像解析による網膜上の結晶状構造のスペクトルは、カンタキサンチン結晶のスペクトルと類似していた。【参照文献 3】

#### ニワトリ

雌のブロイラーのヒナ (1 群 4 羽) を用いて、カンタキサンチンを 0.2、0.5、1.3、8、20 及び 50mg/kg 含む飼料を 42 日間連続投与した。

網膜中、血漿中及び肝臓中のカンタキサンチンの濃度が投与量に相関して増加していることが、高速液体クロマトグラフィーにより確認された。8 mg/kg 投与群 (0.5mg/kg 体重/日に相当) の網膜のフラットマウント切片を観察したところ、偏光顕微鏡では典型的なカンタキサンチン粒子を確認できた。粒子数は、血漿中のカンタキサンチン濃度に高い相関を示したが、網膜中の濃度に対しては相関が低かった。粒子は、20 又は 50mg/kg 投与群において増加した。対照群及び 0.2、0.5 または 1.3mg/kg 投与群では、網膜中に粒子は観察されなかった。【参照文献 3】

#### フェレット

18 匹のフェレットを用いて、カンタキサンチンとして 50mg/kg 体重/日相当量を含む水溶液 (水溶性のカンタキサンチン顆粒を溶解したもの) を 1 週間に 5 日、12 ヶ月間にわたり強制経口投与した。対照群にはカンタキサンチンを含まない顆粒を水に溶解して投与した。

カンタキサンチンを 12 ヶ月連続投与した後、網膜電図を観察したところ、群内に大きなばらつきがあったが、投与群と対照群には差が見られなかった。【参照文献 3】

#### サル

4 頭のカニクイザルを用いてカンタキサンチン 11mg/kg 体重/日を 40 ヶ月間の連続投与 (全投与量 34.5 g) した。対照群に 1 頭のサルを用いた。

血清中のカロテノイドは、カンタキサンチンを投与した全てのサルにおいて上昇した。緑内障、静脈血栓症又は汎光凝固などの網膜上の結晶の誘発をする疾病素因と考えられるものが、投与群 3 頭の動物の片方の眼に観察された。検眼鏡による検査、眼底撮影、蛍光眼底造影では、網膜上にいくつかの結晶が、実験的により誘発された緑内障とともに観察されたが、標準的なカンタキサンチンによる網膜症は観察できなかった。しかし、組織学的検査では、全てのサルにおいて後極から周辺部にかけて網膜全体に複屈折を示す粒子が観察された。粒子の網膜上の蓄積は、光受容細胞の外辺部分を除く網膜層の全体に広がって存在したが、この蓄積が細胞内にも及んでいるかどうかは、不明だった。また、細胞毒性につながるものは、見出されなかった。【参照文献 3】

#### ヒトとサルにおけるカンタキサンチンの集積

サルの網膜のカンタキサンチン濃度と、日焼け用錠剤を摂取し (総摂取量 16 g) 網膜上にカンタキサンチン結晶の蓄積を示している (網膜中に 20-30 µg/g) ヒトの網膜のカンタ

キサントシン濃度を比較した。

カンタキサントシンとして 49mg/kg 体重/日を 36～83 週間連続投与された（総摂取量：54 g/頭）7 匹のサルの網膜神経におけるカンタキサントシンの平均蓄積濃度は、154ng/g であったことから、比較対象としたヒトの網膜中のカンタキサントシン濃度は、サルの網膜中に観察された濃度の 100 倍以上であった。【参照文献 3】

## 7) ヒトにおける所見

### ヒトの網膜上における結晶の蓄積

ヒトに対するカンタキサントシンの使用と網膜上の結晶の蓄積に関し、医療上もしくは美容上の理由でカンタキサントシンを服用していたヒトを対象に、レトロスペクティブ生物統計研究<sup>注</sup>により、用量と作用の関係を調査した。

32 レポート（このうち公表されたものは 25、未公表のものは 7）から集めたデータ 411 例を解析した結果、95 例(23.1%)には、網膜における結晶の蓄積が見られた。各被験者の摂取量は、15～240mg/日（平均値 58.1 mg/日、中央値 45mg/日）で 1～14 年間（平均値 3.1 年、中央値 2 年）に合計 0.6～201g（平均値 30.3g、中央値 13.9g）に及んだ。用量と強い相関関係が認められ（ $p < 0.0001$ ）一人当たり一日 30mg、合計 3,000mg 以下の摂取量であれば、網膜にカンタキサントシンの結晶が蓄積しないことが示された。【参照文献 3、10】

### 網膜電図における b 波の振幅の変化

27 人のポルフィリン症患者を被験者として、カンタキサントシンを治療目的で投与した。最初の 5 週間は 15mg/日、次の 5 週間は 60mg/日投与し、さらに引き続き夏期は 90～120mg のカンタキサントシンを与え、冬期は治療を行わなかった。被験者の中には、初めてカンタキサントシンを服用した患者もいたが、10 年にわたって服用していた患者(合計 170g)もいた。

5 週間 15mg/日のカンタキサントシンを与えても、網膜電図記録検査法において b 波の振幅に系統だった変化は見られなかった。しかし、さらに 5 週間 60mg/日投与したところ、b 波の振幅に減少が見られた。さらに 5 週間 90mg/日投与した後は、b 波の振幅のより明白な減少が観察された。網膜上にカンタキサントシンの結晶が現れた被験者については、b 波の振幅が顕著に減少したが、b 波の振幅の減少と血液中におけるカンタキサントシンの濃度に相関関係はなかった。b 波振幅の影響は、治療を中断すると回復した。

b 波振幅の減少は、b 波を発生させるミュラー細胞へのカンタキサントシンの濃縮が原因であることが示唆された。

本試験における無毒性量は、15mg/日すなわち 0.25mg/kg 体重/日であった。【参照文献 3、11、12】

### 視覚機能

カンタキサントシンを摂取した 19 人の患者（摂取量は不明。（11 人は黄斑障害にかかり、8 人には異常が見られなかった。）に閾値静的視覚検査によって、視覚機能を評価した。カンタキサントシンを摂取したことの無い患者を対照とした。全ての患者の視力は、6/9 もしくは、それより良かった。

カンタキサントシンの摂取を中断して 2～3 年経過後に閾値静的視野検査を実施した。網膜

<sup>注</sup> 「後ろ向き生物統計研究」のこと。研究者が事後的にその状況を調べて、追跡調査すること。

上にカンタキサンチンの蓄積が認められる患者は、対照よりも網膜の反応度は低かったが、網膜障害の無い患者は、対照に比べて著しい相違は無かった。【参照文献 3、13】

#### 網膜上のカンタキサンチンの蓄積と減少

最大で 12 年間、178g までのカンタキサンチンを投与された 14 人の患者を対象に、網膜上のカンタキサンチンの結晶とその減少を観察した。投与終了 5 年後に網膜上の結晶が最大で 70%減少した。またヒトや霊長類の網膜の黄斑に現れたカンタキサンチンに関係していると考えられるカロテノイドは、ルテインとゼアキサンチンであることが同定された。ヒトの場合は、黄斑上に主に見られたカロテノイドはゼアキサンチンであり、ルテインは網膜全体に分散していた。【参照文献 3】

#### 肝毒性

骨髄性プロトポルフィリン症を治療する目的で、1～12 年間に 3～150g のカンタキサンチンを投与された 10 才から 61 才までの 11 人の患者について、試験方法は不明であったが、肝毒性の兆候は見られないという報告があった。【参照文献 3】

### 8) ヒトの網膜内におけるカンタキサンチン結晶の発達及び沈着メカニズム

当専門調査会は、ヒトの網膜内におけるカンタキサンチン結晶の発達及び沈着のメカニズムに関する所見及び補足資料を求め、その提出された資料を検討した結果、下記の回答を了承した。【参照文献 10～13】

#### 所見及び補足資料要旨

ヒトあるいは霊長類において、血漿中のカンタキサンチンは、低密度リポ蛋白質(LDL)によって運搬されるため、LDL レセプターを介したエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれることが想定される。細胞膜内に取り込まれて過剰に蓄積することにより、脂肪親和性の状態ではカンタキサンチンの溶解性が低下し、結晶化すると考えられる。慢性的に高用量を摂取し、血漿中に高濃度を維持することにより、網膜への沈着を引き起こすと考えられる。

### (3) 各試験における無毒性量

各試験における無毒性量は次表のとおりである。

表 各試験における無毒性量

動物種	試験	無毒性量	備考
イヌ	短期毒性(15週間)試験	4g/匹/日以上	
ラット	慢性毒性(93~98週間)/催奇形性/催腫瘍性併合試験	飼料中の濃度：5%以上 (2500 mg/kg 体重/日に相当)	催奇形性及び催腫瘍性は認められない。
ラット	慢性毒性(104週間)/催腫瘍性併合試験	5mg/kg 体重/日	催腫瘍性は認められない。
サル	慢性毒性(36ヶ月間)試験	0.2mg/kg 体重/日	
ラット	繁殖試験	F <sub>0</sub> 雄：飼料中の濃度 1,000mg/kg 以上 F <sub>0</sub> 雌：飼料中の濃度 1,000mg/kg 以上 F <sub>1</sub> 雄：飼料中の濃度 1,000mg/kg 以上 F <sub>1</sub> 雌：飼料中の濃度 1,000mg/kg 以上 (50 mg/kg 体重/日に相当)	繁殖毒性は認められない。
ヒト	網膜上の結晶形成調査(1-14年間摂取)	30mg/人/日 (60kg のヒト体重で換算すると 0.5mg/kg 体重/日に相当)	
ヒト	網膜電図におけるb波の振幅検査(5週間摂取)	0.25mg/kg 体重/日	

## 5 食品健康影響評価について

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、飼料添加物カンタキサンチンに関する飼料一般の成分規格の改正及び当該飼料添加物の食品中の残留基準の設定に係る食品健康影響評価について、審議を行った。

その結果、カンタキサンチンは自然界にも存在し、諸外国では食品添加物及び飼料添加物として、国内では飼料添加物としての使用実績を有しているが、JECFA において ADI (0-0.03mg/kg 体重/日) を定めたことも考慮して、以下のとおり ADI を設定した。

対象物質      カンタキサンチン

ADI   0.025mg/kg 体重/日

(ADI 設定根拠資料)   視覚検査(網膜電図)

(動物種)      ヒト

(期間)        5週間

(投与方法)   経口

(無毒性量)   0.25mg/kg 体重/日

(安全係数)   10



#### 【参考文献】

- 1 カンタキサンチンの起源又は発見の経緯並びに外国における許可状況及び使用状況（未公表）
- 2 カンタキサンチンの規格及び試験方法とその設定理由（未公表）
- 3 JECFA Monograph 839.Canthaxanthin(WHO Food Additives Series 35)
- 4 カンタキサンチンのマウス及びラットに対する急性毒性試験（未公表）
- 5 カンタキサンチンの生理学的、病理学的作用に関する試験の概要（未公表）
- 6 Buser, S., "Canthaxanthin in a long-term study with male rats (feed mixture)", (1992).（未公表）
- 7 Buser, S., "Canthaxanthin in a long-term study with female rats (feed mixture)", (1992).（未公表）
- 8 Buser, S., Bausch, J., Goralczyk, R., Lenz, B., Schuep, W., Bee, W., and Zuhlke, U., "Canthaxanthin in a long-term study with Cynomolgus Monkeys", (1994).（未公表）
- 9 微生物を利用したアポカロチナル,  $\beta$ -アポ-8'-カロチン酸エチルエステル及びカンタキサンチンの変異原性試験（未公表）
- 10 Kopcke, W, B. F., Schalch W, "Canthaxanthin deposition in the retina : a biostatistical evaluation of 411 patients", J. Toxicol.-Cut & Ocular Toxicol, 14(2) : 89-104(1995) .
- 11 Arden GB, B. F., " Canthaxanthin and the eye : A critical ocular toxicological assessment.", J. Toxicol.-Cut & Ocular Toxicol, 10 : 115-155(1991) .
- 12 Arden GB, Oluwole JOA, Polkinghorne P. *et al*" Monitoring of Patients taking Canthaxanthin and Carotene : An Electroretinographic and Ophthalmological Survey.", Human Toxicol. 8 : 439-450(1989).
- 13 Leyon, H., Ros, A.M., Nyberg, S., and Algvere, P., "Reversibility of Canthaxanthin deposits within the retina.", Acta Ophthalmologica, 68:607-611(1990).