

(案)

添加物（酵素）
に関する食品健康影響評価指針

2016年12月

食品安全委員会添加物専門調査会

目次

	頁
<審議の経緯>	2
<食品安全委員会委員名簿>	2
<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>	2
第1章 総則	4
第1 背景	4
第2 目的	5
第3 酵素の食品健康影響評価に際しての基本的な考え方	5
1 安全性に係る評価の流れ	5
2 食品健康影響評価	7
3 酵素量の考え方	9
4 その他	11
第4 評価に必要な資料等の考え方	13
第5 再評価	15
第2章 各論	16
第1 評価対象品目の概要	16
第2 安全性に係る知見	17
1 基原生物の安全性	17
2 酵素の消化管内での分解性に関連する事項	19
3 酵素の毒性	23
(1) 90日間反復投与毒性試験(げっ歯類)	23
(2) 遺伝毒性試験	23
(3) アレルゲン性	23
4 酵素の消化管内での分解性及びアレルゲン性に係る試験	27
第3 一日摂取量の推計	27
<別紙1:略称>	28
<参照>	29

1 <審議の経緯>

2 2016年 9月30日 第154回添加物専門調査会

3 2016年10月31日 第155回添加物専門調査会

4 2016年11月30日 第156回添加物専門調査会

5 2016年12月19日 第157回添加物専門調査会

6

7

8 <食品安全委員会委員名簿>

(2015年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長)

山添 康 (委員長代理)

熊谷 進

吉田 緑

石井 克枝

堀口 逸子

村田 容常

9

10 <食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

(2015年10月1日から)

梅村 隆志 (座長)

頭金 正博 (座長代理)

石井 邦雄

石塚 真由美

伊藤 清美

宇佐見 誠

久保田 紀久枝

佐藤 恭子

祖父江 友孝

高須 伸二

高橋 智

塚本 徹哉

戸塚 ゆ加里

中江 大

西 信雄

北條 仁

松井 徹

森田 明美

山田 雅巳

<参考人>

穂山 浩（汚染物質等専門調査会専門委員）

鎌田 洋一

柘植 郁哉（遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

手島 玲子（遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

中島 春紫（遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

山川 隆（遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

1 第1章 総則

2 第1 ~~背景~~

3 食品安全委員会は、食品安全基本法第21条第1項に規定する基本的事項（平
4 成24年6月29日閣議決定）において、食品健康影響評価に関するガイドライン
5 の作成に努めることとなっており、既に、「遺伝子組換え食品（種子植物）の安
6 全性評価基準（平成16年1月29日）」、「普通肥料の公定規格に関する食品健
7 康影響評価の考え方（平成16年3月18日）」、「遺伝子組換え微生物を利用し
8 て製造された添加物の安全性評価基準（平成16年3月25日）」、「遺伝子組換
9 え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方（平成16年5月6日）」、「家畜等
10 への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価
11 指針（平成16年9月30日）」、「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基
12 準（平成20年6月26日）」、「添加物に関する食品健康影響評価指針（平成22
13 年5月27日）」（以下「添加物評価指針」という。）（参照1）及び「香料に
14 関する食品健康影響評価指針（平成28年5月17日）」を策定した。

15 食品健康影響評価に関するガイドラインは、食品健康影響評価の科学的妥当性
16 ・公平性の確保のため、また、国内外に評価の透明性を確保しながら、申請者等
17 に対して必要なデータの明確化を図るためにも、必要性が高いものと考えられる。

18 【以上の段落の記載は他の指針と同様】

19 これまで添加物として用いられる酵素については添加物評価指針に基づき、安
20 全性評価を行ってきたところであるが、~~また、~~酵素を含む加工助剤¹については、
21 国際的には食品添加物とは分類されていない場合がある。また、酵素の場合、特
22 に酵素の基原である基原生物の安全性、アレルギー性、消化管内での分解性等に
23 ついて検討する必要がある。

佐藤専門委員：

この段落では、酵素について、「新たな評価指針の設定が求められている」とい
うことまで記載した方がよいのではないのでしょうか。

事務局より：

研究班の記載を基に追記いたしました。

佐藤専門委員：

この段落の2行目の「…ところである。また、酵素を含む…」については「また」
ではなく、「しかしながら」あるいは、「一方」などの接続語の方がよいのではな

¹食品の加工の際に使われる食品添加物のうち、次の条件のいずれかに合うものをいい、表示を省略
することができる。

- 1) 最終的に食品として包装する前に食品から除去されるもの
- 2) 食品中に通常存在する成分に変えられ、かつ、その成分の量が食品中に通常存在する量を有意
に増加させないもの
- 3) 最終食品中に、ごく僅かなレベルでしか存在せず、その食品に影響を及ぼさないもの

いでしょうか。

事務局より：

ご指摘を踏まえ、記載を修正いたしました。

1
2 今般、食品安全委員会の食品健康影響評価技術研究として、「栄養成分・加工助
3 剤に関するリスク評価方法の確立に関する研究」（主任研究者：梅村隆志 国立医
4 薬品食品衛生研究所）が実施され、研究成果として、これまでの酵素の食品健康
5 影響評価結果（参照 2、3）、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA²）、
6 アメリカ食品医薬品局（FDA）、欧州食品安全機関（EFSA）及びオーストラリ
7 ア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）における、加工助剤に関する国際
8 的評価手法に係る調査報告書（参照 4）を参考に、加工助剤に関するリスク評価
9 指針案が取りまとめられた。（参照 5）

10 本専門調査会では、梅村班の研究成果を基に、酵素の食品健康影響評価指針を
11 取りまとめたことから、今後の酵素に関する食品健康影響評価については、本指
12 針に基づき行う。【以上の段落は本指針案で新たに記載】

13 なお、本指針については、国際的な評価基準の動向、国内外の科学的知見等を
14 勘案し、必要があると認めるときは、本指針の規定について検討を行い、その結
15 果に基づいて所要の改訂を行う。【本段落の記載は他の指針と同様】

16
17 **第 2 目的** **第 155 回添加物専門調査会で審議済**【本項は本指針案で新たに記載】

18 本指針は、添加物（食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 4 条第 2 項に
19 規定する食品の製造の過程において又は食品の加工若しくは保存の目的で、食品
20 に添加、混和、浸潤その他の方法によって使用する物）のうち酵素について、~~食~~
21 ~~品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）~~第 10 条により人の健康を損なうおそれの
22 ない添加物として定める場合及び同法第 11 条第 1 項により規格基準を定める場
23 合並びに食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 3 項により食品の
24 安全性の確保に関する施策を策定する場合の食品健康影響評価に必要とされる資
25 料の範囲及び評価の指針を定めることを目的とする。

26
27 **第 3 酵素の食品健康影響評価に際しての基本的な考え方**

28 **1 安全性に係る評価の流れ**

29 評価対象品目についての基原、製造方法、成分等から、基原生物の安全性及び
30 酵素酵素活性を示すタンパク質の安全性を評価する。なお、混在する不純物等
31 についても必要に応じて検討を行う。

佐藤専門委員：

1 文目の「基原生物の安全性及び酵素の安全性」ですが、評価指針の表題が「酵

² 本文中で用いられた略称については、別紙 1 に名称等を示す。

素」なので、「酵素」は、酵素全体を示すものと思われます。ここで安全性を評価するのは、「評価対象品目」あるいは「産生されるタンパク質」ではないでしょうか。

事務局より：

ご指摘を受け、文章を整理いたしました。

1

事務局より：

研究班の原案の記載のうち、「ただし、評価対象品目が遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物である場合には、遺伝子組換え食品等専門調査会と連携を図り評価を行う。」については、食品安全委員会の運営に係る内容ですので本案では削除しております。また、「なお、混在する不純物等についても必要に応じて検討を行う。」の一文を追加したほか、記載整備しております。

なお研究班の原文は以下のとおりです。

酵素は微生物から得られるタンパク質であることが多いことから、酵素の基原、製造方法、成分等から、基原生物の安全性及び産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー性を評価する。ただし、評価対象品目が遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物である場合には、遺伝子組換え食品等専門調査会と連携を図り評価を行う。

中江専門委員：

遺伝子組換えである酵素の評価については、本指針だけで網羅できているのでしょうか。もし書かれていない観点があるのでしたら、その旨を少なくとも脚注に記載すべきではないでしょうか。

鎌田専門参考人：

最近、遺伝子操作技術の中で、「ゲノム編集」という用語が浸透しています。微生物だけでなく、動植物を含め、ゲノムを操作し、有用な生物を作り出す技術です。遺伝子操作に詳しい人は、「遺伝子組換え」と「ゲノム編集」を識別して使用する用です。今後の、微生物由来酵素の添加物としての利用を考えた場合、基原生物が、「ゲノム編集生物」となる可能性は高いと予想します。「遺伝子組換え微生物」について記載する場合は、遺伝子工学の専門家に、「遺伝子組換え微生物」の文言だけで、今後対応できるものか、確認する必要があるように考えます。

中江専門委員：

たいへん重要な御指摘だと思います。私のコメントと併せて、審議していただくよう、お願いいたします。

2

1 酵素の安全性の評価にあたっては、まず、当該酵素について、第2章 第2
2 ~~II-2~~「酵素の消化管内での分解性に関連する事項」~~について~~を検討する。検討し
3 た結果、~~II-2~~「酵素の消化管内での分解性に関連する-事項」の(1)～(5)
4 を満たす場合には、次に毒性の評価を行う。~~なお毒性に関する知見としてついで~~
5 ~~は、90日間反復投与毒性試験(げっ歯類)、遺伝毒性試験及びアレルギー性試~~
6 ~~験を評価する³。なお、混在する不純物等についても必要に応じて検討を行う。~~
7 ~~検討した結果、II「消化管内での分解性に関連する事項」の(1)～(5)を満~~
8 ~~たさない場合は、当該酵素の安全性の評価については、添加物評価指針に準じ~~
9 ~~て行う。【本段落は本指針案で新たに記載】~~

事務局より：

評価の全体の流れがわかりやすくなるよう、場合分けして総則の章に記載いたしました。また、他に安全性に係る知見がある場合について、脚注3に記載いたしました。記載ぶりについてご検討ください。

事務局より：

「2 酵素の消化管内での分解性に関連する-事項」の(1)～(5)を満たさない場合は、添加物評価指針に準じるとしておりましたが、実際には、そのような場合はケース・バイ・ケースで判断することになるかと思いますので、最後の一文を削除いたしました。

10 2 食品健康影響評価

11 酵素の食品健康影響評価は、基原生物の安全性、酵素の消化管内での分解性、
12 酵素の毒性に係る知見(90日間反復投与毒性試験(げっ歯類)、遺伝毒性試験及
13 びアレルギー性)及び一日摂取量の推計から総合的に判断する。
14

事務局より：

研究班の原案では以下の記載でした。

酵素の健康影響評価は、基原生物の安全性、食品中及び消化管内での分解性、酵素(タンパク質)の毒性およびアレルギー性に係る知見から総合的に判断するのが適当である。

15
16 酵素のうち、第2章 第2 ~~II-2~~「酵素の消化管内での分解性に関連する-事
17 項」の(1)～(5)を満たすものに関しては、90日間反復投与毒性試験(げ
18 っ歯類)、遺伝毒性試験及びアレルギー性試験を評価し³、NOAELを算定決定
19 した後に、摂取量と比較してばく露マージンの評価を行う。

森田専門委員：

「難分解性でないもの」という条件は、研究班の原案での「2. 1 消化管内での

³ 他に安全性に係る知見がある場合は、併せて評価を行う。

分解性の（１）～（５）を満たしたもの」という条件ではないかと考えますので、これも申し添えます。

事務局より：

森田専門委員のご意見を踏まえ記載を変更しております。なお、研究班の原案では以下の記載でした。

酵素のうち、難分解性でないものに関しては、90日間反復投与毒性試験（げっ歯類）、遺伝毒性試験およびアレルギー性試験の知見を評価し、NOAELを算定した後に、摂取量と比較してばく露マージンの評価を行う。

事務局より：

以降で引用する添加物指針の記載と表現を統一するため、「NOAELを算定」を「NOAELを決定」と変更しました。

1
2 ある試験において NOAEL を決定するにあたっては、適正な用量が設定され
3 ているかを検討する必要がある。具体的には、毒性試験においては、最高用量は
4 毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、
5 かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定すべきである。ただし、
6 混餌投与の場合は、栄養障害が起こらないように配慮し、通常、飼料添加濃度
7 5% (W/W) を超える投与量で実施する必要はない。また、強制投与の場合には、
8 通常、技術的に投与できる最大量又は 1,000 mg/kg 体重で何ら毒性影響が認め
9 られないときは、それ以上の投与量で実施する必要はない。

事務局より：

添加物指針の第1章 第7 2「NOAELの決定」より、前半部分の記載を引用いたしました。後半部分の原文は以下のとおりですが、この記載は ADI の設定を前提としたものかと思いますが、梅村班報告書では酵素はマージン評価を行う案とされておりますので、この記載は引用しませんでした。

なお、異なる動物種で2つ以上の試験が行われている場合には、各々の試験から NOAEL が求められる。ADIを算出するための NOAEL は、最も低い用量で毒性影響を示した動物試験から求められた NOAEL である。しかしながら、ある試験が明らかにその他の試験よりも試験設計やその結果において妥当なものであり、それらの試験期間が異なっているときには、ADIを算出するための NOAEL を決定する際には、より長期でより妥当な試験に特別な比重をおく。また、代謝及び薬物動学的データを利用できるときには、毒性影響に関してヒトに最も類似した動物種を用いた試験に基づき、ADIを算出するための NOAEL を求めることもできる。

中江専門委員：

- [1] 異なる動物種で 2 つ以上の試験が行われている場合に各々の試験から NOAEL が求められること
 - [2] 最終的な評価に用いる NOAEL は原則として最も低い用量で毒性影響を示した動物試験から求められた NOAEL であること
 - [3] ある試験が明らかにその他の試験よりも試験設計やその結果において妥当なものでありそれらの試験期間が異なっているときには最終的な評価に用いる NOAEL を決定する際により長期でより妥当な試験に特別な比重をおくこと
 - [4] 代謝及び薬物動力的データを利用できるときには毒性影響に関してヒトに最も類似した動物種を用いた試験に基づいて最終的な評価に用いる NOAEL を求めること
- は、記載しておくべきだと思います。

1
2 ただし、酵素の一日摂取量の推計は全量がそのまま最終食品に移行して消費
3 されるとした場合を想定し推計されるものであり、酵素が最終食品内で変性・
4 失活する又は分解・除去されている場合⁴には、過剰な見積もりになることに留
5 意してばく露マージンの評価を行う。また、酵素は反復投与毒性試験で最高用
6 量においても毒性を示さないことが多く、最高用量が NOAEL となる場合が多
7 いことにも留意し、ばく露マージンの評価を行う。

(前回と同じです)

事務局より：

平成 26 年度「添加物のうち、加工助剤（殺菌剤、酵素、抽出溶媒等）及び栄養成分に関するリスク評価手法の開発に関する調査・研究」報告書（平成 27 年 3 月株式会社三菱化学テクノリサーチ）（文献 4 p18～20、表 10）によると、海外のリスク評価機関の評価のうち酵素について、ばく露マージンは 96～約 20,000 の範囲です。

8
9
10
11
中江専門委員：
「ただし、酵素の一日摂取量の推計は全量がそのまま最終食品に移行して消費されるとした場合を想定し推計されるものであり、酵素が最終食品内で変性・失活する又は分解・除去されている場合には、過剰な見積もりになることに留意してばく露マージンの評価を行う。」の記載について、「留意する」とはどのように留意するのか、議論をするべきではないでしょうか。

3 酵素量の考え方【本項は本指針案で新たに記載】

酵素は濃縮の程度によって重量が変動することから、酵素量を示す際には原

⁴ 食品の製造工程等で変性・失活する又は分解・除去されている場合も含む。

1 則として総有機固形分（TOS）の割合⁵でに換算した値を用いることとする。
2

事務局より：

過去の評価書を参照し、記載いたしました。ご検討をお願いします。

なお、JECFA (2006)の General Specifications and Considerations for Enzyme Preparations used in Food Processing では以下のように記載されています。

In order to distinguish the proportion of the enzyme preparation derived from the source material from that contributed by diluents and other additives and ingredients, individual specifications may require a statement of percentage Total Organic Solids (T.O.S.) which is defined as follows:

$$\% \text{ T.O.S.} = 100 - (A + W + D)$$

(※原文では「-」が抜けていたので、事務局で追記しました。)

Where

A = % ash, W = % water and D = % diluents and/or other additives and ingredients.

佐藤専門委員：

現在の文案については、2文目を以下のようにしてはいかがでしょうか。

% T.O.S.は酵素製剤全体の量を 100 とし、灰分、水分、賦形剤その他の製剤成分の量を引いたものである。

ただ、求めるのは、%T.O.S.であり、文章で表すより式で示した方が分かりやすいような気がします。

松井専門委員：

2文目は脚注とした方がよいと思います。

事務局より：

ご意見を受け、TOS について、脚注として式を記載いたしました。

佐藤専門委員：

酵素製剤中の「酵素量」は、化合物の「含量」に相当するものだと思います。そのため、「酵素量を示す際には原則として総有機固形分（TOS）を用いることとする。」で良いのではないのでしょうか。また、脚注に式を記載していただくのが良い

⁵ % TOS は以下の式で算出する。

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

と思います。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

4 その他

- (1) 妊婦、胎児、乳幼児、小児、高齢者等における検討は、リスクを考え得る知見がある場合に必要に応じて行う。
- (2) 医薬品の開発等他の分野において実施され、酵素でも実施が推奨されるような *in vitro* 試験等（例えば、動物を用いた試験において代謝物による有害作用が懸念される場合、ヒトの代謝酵素を用いた *in vitro* 試験等により、ヒトへの外挿を検討する等）は、必要に応じて検討することが望ましい。
- (3) 評価の対象となる酵素に医薬品との相互作用が考えられる場合、そのような事象が起こり得る者は基本的には医療従事者の監視下にあると考えられることから、医薬品との相互作用に関する事項の検討は、リスクを考え得る知見がある場合に必要に応じて行う。
- (4) 酵素を複数摂取した場合の有害な影響については、食品安全委員会の平成 18 年度食品安全確保総合調査「食品添加物の複合影響に関する情報収集調査」報告書に基づき、個々の酵素の評価を十分に行うことで、酵素の複合摂取による影響についても実質的な安全性を十分確保することが可能と考えられる。ただし、酵素を複数摂取した場合のリスクに関する知見がある場合は、必要に応じて評価を行う。
- (5) 遺伝子改変動物を用いた試験は、現在、食品安全委員会において一部リスク評価に用いられている事例はあるが、JECFA 等でもほとんど利用されておらず、慎重な取扱いが必要である。

事務局より：

前回のご審議を踏まえ、添加物指針での第4 「添加物の食品健康影響評価に際しての考え方」のうち、酵素の指針にも関連すると思われる6、7、8、10、11を、「添加物」を「酵素」と読み替えて記載いたしました。

なお、添加物指針での第4 「添加物の食品健康影響評価に際しての考え方」での記載は以下の参考のとおりです。

松井専門委員：

(2) について、「*in vitro*」は専門分野により意味が異なります。生理学では、組織・細胞培養試験や無細胞系試験となりますが、分子生物学では、無細胞系試験のみを示すと思います。「ヒトの代謝酵素」を用いた試験は、どちらの分野でも「*in vitro*」です。「ヒト培養細胞を用いた *in vitro* 試験」でも問題がないならば、それを例としてあげられることにより明瞭になると思います。

中江専門委員：

(3) について、「そのような事象が起こり得る者は基本的には医療従事者の監

視下にあると考えられる」というのは、あまりに楽観的な「予想」であると思います。実際には単なる「希望」に過ぎない、こんなおぼろげなものを根拠にしているものでしょうか？

中江専門委員：

(5) のような対応を取りつつ、(2) のような対応を取ることは、ダブルスタンダードじゃないでしょうか？

(参考)

第4 添加物の食品健康影響評価に際しての考え方 (添加物指針より抜粋)

- 1 安全係数については、今後、食品安全委員会として考え方を整理した上で、添加物の食品健康影響評価に応用する。なお、現時点における安全係数の取扱いについては、専門調査会の評価に委ねる。
- 2 JECFA の安全性評価が終了し、欧米諸国で長期間使用が認められているいわゆる国際汎用添加物(国際汎用香料を除く。)については、最新の科学的知見も調査した上で、原則として JECFA 及び欧米諸国で行われた評価書に基づく評価(評価書評価)を行う。
- 3 遺伝毒性発がん物質については、閾値の存在に関して、国際的な議論が行われているが、なお合意に達していないことから、当面、原則として閾値が存在しないとの考えに基づき評価を行う。なお、遺伝毒性発がん物質か否かの判断においては、MOA 及び WOE を考慮し、慎重に検討する必要がある。
- 4 遺伝毒性発がん物質との評価のなされた添加物については、前項により、当面、原則として承認すべきではない。一方、添加物の製造等においてやむを得ず含有される不純物(天然に存在するものを含む。以下同じ。)又は副生成物が遺伝毒性発がん物質である場合には、その含有量を技術的に可能な限り低減化させるべきであるが、VSD 等の考え方に基づき総合的に評価を行う。
- 5 食品の通常成分の代替物質として用いようとする物質又は栄養強化の目的や栄養機能食品として用いる物質については、栄養学的観点から、栄養成分としての質及び他の食品由来の当該栄養成分摂取量を考慮し、「食事摂取基準」等を参照して、評価を行う。
- 6 妊婦・胎児、乳幼児、小児、高齢者等における検討は、リスクを考え得る知見がある場合に必要に応じて行う。
- 7 医薬品の開発等他の分野において実施され、添加物でも実施が推奨されるような *in vitro* 試験等(例えば、動物を用いた試験において代謝物による有害作用が懸念される場合、ヒトの代謝酵素を用いた *in vitro* 試験等により、ヒトへの外挿を検討する等)は、必要に応じて検討することが望ましい。
- 8 評価の対象となる添加物に医薬品との相互作用が考えられる場合、そのような事象が起り得る者は基本的には医療従事者の監視下にあると考えられることから、医薬品との相互作用に関する事項の検討は、リスクを考え得る知見がある場合に必要に応じて行う。
- 9 添加物の分解物、混在する不純物及びヒトで特徴的に生じる代謝物についても、評価の必要性の有無について検討を行う。添加物の安定性及び食品中における安定性についても確認し、安定でない場合には、主な分解物の種類及び生成程度について検討を行う。
- 10 添加物を複数摂取した場合の有害な影響については、食品安全委員会の平成18年度食品安全確保総合調査「食品添加物の複合影響に関する情報収集調査」報告書に基づき、個々の添加物

の評価を十分に行うことで、添加物の複合摂取による影響についても実質的な安全性を十分確保することが可能と考えられる。ただし、添加物を複数摂取した場合のリスクに関する知見がある場合は、必要に応じて評価を行う。

- 1 1 遺伝子改変動物を用いた試験は、現在、食品安全委員会において一部リスク評価に用いられている事例はあるが、JECFA 等でもほとんど利用されておらず、慎重な取扱いが必要である。
- 1 2 ナノマテリアル等の新技術に基づく添加物について、JECFA では、毒性学的特性が異なる可能性があり、一般にこれまでの規格や ADI を適用できるものではないと考えられており、評価の必要が生じた際には、適宜検討することとする。

第4 評価に必要な資料等の考え方

1 評価に必要とされる資料については、以下に示すとおりとする。各項目の内容や留意事項については第2章「各論」で示す。具体的な試験の実施方法については、原則として、国際的に認められた経済協力開発機構（OECD）等のテストガイドラインに準拠するものとする。

(1) 評価対象品目の概要

(2) 安全性に係る知見（第1章 第3 1「安全性に係る評価の流れ」も参照する。）

(3) 一日摂取量の推計

2 使用基準又は成分規格の改正に当たっての留意事項については、以下のとおりとする。

(1) 使用基準の改正に当たっては、以下の点に留意する。

① 当該酵素が食品安全委員会による食品健康影響評価が終了している酵素である場合には、要請した使用対象食品の追加、使用量の変更等に基づく一日摂取量の推定に関する資料を提出し、その場合であって毒性学的に新たな知見があるときには、当該知見に係る資料も併せて提出する。

② 当該酵素が食品安全委員会による食品健康影響評価のなされていない酵素である場合には、原則として、添加物の指定のための評価に必要なとされる資料を提出する。

(2) 成分規格の改正に当たっては、改正される成分規格の妥当性及び安全性上の問題を生じないことを示す必要がある。

3 評価に必要な資料は要請者の責任において提出されるものであり、当該資料の内容の信頼性も要請者によって確保されなければならない。なお、要請者は、評価に必要な資料として、原則として、適正に運営管理されていると認められる試験施設（GLP 対応施設）等において信頼性が保証された試験方法によって実施された試験結果、国際機関における評価書等の科学的に信頼できる文献等を提出するものとする。ただし、酵素の安全性に懸念があるとする資料については、検討に必要な場合があるので、当該資料の信頼性等にかかわらず提出す

1 るものとする。

2
3 4 剖検及び病理組織学的評価は、十分な経験を有する者による実施を推奨する。

4
5 5 動物試験の生データ及び標本は、GLPに規定された期間又は評価が終了する
6 までの間保管し、必要に応じ提出できるようにする。

7
8 6 評価に当たっては、原則として、要請者から提出された資料を使用すること
9 とし、評価に必要な資料について不足があると判断された場合、要請者に追加
10 資料を要求する。

事務局より：

前回のご審議を踏まえ、添加物指針での第5 「評価に必要な資料等の考え方」を基に、酵素の指針にも関連すると思われるものを1～6として記載いたしました。引用した箇所については「添加物」を「酵素」と読み替えております。

なお、添加物指針での第5 「評価に必要な資料等の考え方」での記載は以下の参考のとおりです。

松井専門委員：

3の「国際機関における評価書等の科学的に信頼できる文献等を提出するものとする。」の「国際機関における評価書等の」は不要ではないでしょうか。「国際機関における評価書」は、「評価対象品目の概要」の「国際機関等における評価」で示すものだと思います。なお、「国際機関における評価書」で参照論文の引用、数値が間違っていることもあり得ます。「国際機関における評価書」で参照されている論文を根拠とする場合でも、当該論文自体を確認する必要があると思います。

中江専門委員：

松井専門委員のご指摘の通りだと思います。

中江専門委員：

3に関して、以前から気になっていたことですが、どうもGLPに関する誤解があるようです。GLPは、施設そのものやそこでの諸手続・手段・取扱などを標準化するものであって、得られた結果や、そこから導き出される考察・結論の正しさや信頼性を保障するものじゃありません。すなわち、GLP対応施設で得られた結果や考察・結論の信頼性が高く、非対応施設で得られたそれらの信頼性が低いわけではないし、言葉を換えれば、対応施設で得られた結果や考察・結論の正しさや信頼性が非対応施設で得られたものより優れているわけではありません。今更で恐縮ですが、今からでもいいので、GLPの意味を誤解した対応は、改めるべきだと思います。

(参考)

第5 評価に必要な資料等の考え方 (添加物指針より抜粋)

- 1 評価に必要な資料の範囲や留意事項については、第2章各論及び別表1及び2に示すほか、以下のとおりとする。具体的な試験の実施方法については、原則として、国際的に認められた経済協力開発機構 (OECD) 等のテストガイドラインに準拠するものとする。
 - (1) 当該添加物が食品常在成分であること又は食品内若しくは消化管内で分解して食品常在成分となることが科学的に明らかでない場合には、試験の一部について省略することができる。科学的に明らかか否かは、平成8年厚生省ガイドラインの表2の事項について検討の上判断する。
 - (2) 当該添加物が国際汎用添加物である場合にはヒトでの長い食経験を考慮して (第1章 第4の2を参照)、国際汎用香料、酵素又は栄養成分である場合にはその物質の特性を考慮して (第2章 第5、第6及び第7を参照)、評価を行う。
 - (3) 当該添加物が既に指定されている添加物と塩基部分においてのみ異なる場合、その異性体である場合その他科学的に合理的な理由がある場合には、当該理由を明示した上で、試験の一部について省略することができる。
- 2 使用基準又は成分規格の改正に当たっての留意事項については、以下のとおりとする。
 - (1) 使用基準の改正に当たっては、以下の点に留意する。
 - ① 当該添加物が食品安全委員会による食品健康影響評価が終了している添加物である場合には、要請した使用対象食品の追加、使用量の変更等に基づく一日摂取量の推定に関する資料を提出し、その場合であって毒性学的に新たな知見があるときには、当該知見に係る資料も併せて提出する。
 - ② 当該添加物が食品安全委員会による食品健康影響評価のなされていない添加物である場合には、原則として、添加物の指定のための評価に必要な資料を提出する。
 - (2) 成分規格の改正に当たっては、改正される成分規格の妥当性及び安全性上の問題を生じないことを示す必要がある。
- 3 評価に必要な資料は要請者の責任において提出されるものであり、当該資料の内容の信頼性も要請者によって確保されなければならない。なお、要請者は、評価に必要な資料として、原則として、適正に運営管理されていると認められる試験施設 (GLP 対応施設) 等において信頼性が保証された試験方法によって実施された試験結果、国際機関における評価書等の科学的に信頼できる文献等を提出するものとする。ただし、添加物の安全性に懸念があるとする資料については、検討に必要な場合があるので、当該資料の信頼性等にかかわらず提出するものとする。
- 4 剖検及び病理組織学的評価は、十分な経験を有する者による実施を推奨する。
- 5 動物試験の生データ及び標本は、GLPに規定された期間又は評価が終了するまでの間保管し、必要に応じ提出できるようにする。
- 6 評価に当たっては、原則として、要請者から提出された資料を使用することとし、評価に必要な資料について不足があると判断された場合、要請者に追加資料を要求する。

1 許可された酵素であっても、有害な影響の可能性について継続的に監視すべき
2 であり、科学技術の進歩等によって有害な影響が指摘された場合は、その酵素を
3 再評価すべきである。

4 過去に評価された酵素について、安全性を疑われる重要なデータが新たに得ら
5 れた場合には、当該酵素について迅速な再評価を行うべきである。

事務局より：

前回のご審議を踏まえ、添加物指針での第8 「再評価」を基に記載いたしました。

なお、添加物指針での第8 「再評価」での記載は以下のとおりです。

第8 再評価

許可された添加物であっても、有害な影響の可能性について継続的に監視すべきであり、毒性学の進歩等によって有害な影響が指摘された場合は、その添加物を再評価すべきである。

過去に評価された添加物について、安全性を疑われる重要なデータが新たに得られた場合には、当該添加物について迅速な再評価を行うべきである。

6

7 第2章 各論

8 第1 ~~__~~ 評価対象品目の概要 **【本項は本指針案で新たに記載】**

9 評価に必要とされる資料については、以下に示すとおりとする。各項目の内容
10 ~~については添加物評価指針に従う。~~

11 1 名称及び用途

12 2 起源又は発見の経緯

13 3 諸外国における使用状況

14 4 国際機関等における評価

15 5 物理化学的性質

16 名称等（和名、英名、EC（Enzyme Commission）番号、CAS登録番号）、
17 基原、製造方法、成分（質量、等電点、アミノ酸配列を含む）、性状、使用方
18 法、安定性、成分規格案等

19 ~~化学名（和名、英名、CAS番号）、分子式、分子量、構造式、製造方法、性~~
20 ~~状、安定性、成分規格案等~~

事務局より：

物理化学的性質として列挙した項目は、添加物評価指針に準じております。酵素
では不要な項目又は追加する項目はありますでしょうか。

なお過去に評価をいただいた、添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用
いて生産されたアスパラギナーゼ」（2014）及び添加物評価書「*Aspergillus oryzae*
NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2015）では EC 番号、基原、
成分（アミノ酸配列を含む）、使用方法について記載がありますが、分子式、構造
式の記載はありません。

久保田専門委員：

事務局より提示されました酵素に関する先の添加物評価書に倣い、かつ酵素の専門家の意見を聞いていただき必要事項を決めていただくのが良いと思います。

佐藤専門委員：

分子式、構造式は不要と思います。

アスパラギナーゼ *A.oryzae* 由来の項目に合わせて、以下のようにしても良いのではないのでしょうか。

5 物理化学的性質

名称等（和名、英名、EC（Enzyme Commission）番号、CAS登録番号）、基原、製造方法、成分（質量、等電点、アミノ酸配列を含む）、性状等、使用方法、安定性、成分規格案等

事務局より：

前回のご議論を踏まえ、「5 物理化学的性質」の記載を変更いたしました。また、添加物指針から独立した指針としたことを受け、柱書の2文目を削除いたしました。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

6 使用基準案

（1）酵素の安全性及び有効性を総合的に検討し、使用対象食品、使用量等を限定するため、使用基準を設定する必要があると判断した場合には、当該使用基準を設定する根拠を明らかにしなければならない。

（2）使用基準を設定する必要がないと判断した場合には、その根拠を明らかにしなければならない。

7 その他（食品健康影響評価に有用な情報）

第2章 安全性に係る知見

1 基原生物の安全性

基原生物（動物、植物、微生物等）の安全性について以下の事項を基に判断する。

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

①病原性

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

1 ②有害生理活性物質の産生性

2 ~~当該酵素の生産に用いる種について、~~食経験、文献等の十分な知見の下
3 ~~で、また、基原生物の近縁種における有害物質の産生性の知見も考慮した~~
4 ~~上で、当該酵素の生産種について有害生理活性物質を産生することが知ら~~
5 ~~れていないこと。有害生理活性物質を産生することが否定できない場合は、~~
6 ~~生産種株、酵素原体又は酵素製剤において、当該有害生理活性物質が健康~~
7 ~~影響を与える範囲で試験で検出されないこと。~~

8 (2) 寄生性及び定着性に関する事項

9 基原生物が、ヒトや他の生物に寄生又は定着するか否かが明らかであり、
10 ~~しないこと。~~寄生又は定着することが否定できない場合、ヒトや他の生物に
11 ~~悪い影響を与えるか否かを考慮した上で、当該生物を用いた製造に安全性上~~
12 ~~の問題がないと判断できる理由があること。~~が明らかであること。

13 (3) 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項

14 基原生物が病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないこと。

15 ~~(4) 基原生物の近縁株の病原性及び有害生理活性物質の生産性に関する事~~
16 ~~項~~

17 ~~基原生物の近縁株において、病原性がある場合や有害生理活性物質を産生~~
18 ~~するものがある場合、酵素の製造に用いた当該生物において、同様の病原性~~
19 ~~や有害生理活性物質の産生等の有無について明らかであること。なお、有害~~
20 ~~生理活性物質の産生が認められる場合には、当該生物を用いた製造に安全性~~
21 ~~上の問題がないと判断できる合理的な理由があること。~~

事務局より：

前회のご審議を踏まえ、また、分かりやすくなるよう、記載を修正いたしました。特に、病原性と有害物質産生性については、最終的には、酵素製造に用いる当該生物について確認することから、中島専門参考人とご相談の上、(4)を(1)と統合いたしました。ご確認ください。

中島専門参考人：

(1)の病原性および有害物質、(2)の寄生性および定着性について、起原生物が動植物の場合は種レベル、微生物の場合は株のレベルで考慮することが明確に読み取れる書きぶりに訂正されており、これで良いと考えます。

また、(1)②の有害物質の産生性について、「生産の可能性が否定できない場合」と隙のない書き方になっている点、および「健康影響を与える範囲で検出されない」と現実的な書きぶりに訂正されており、これで良いと考えます。

山川専門参考人：

この記載で結構です。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118
119
120
121
122
123
124
125
126
127
128
129
130
131
132
133
134
135
136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156
157
158
159
160
161
162
163
164
165
166
167
168
169
170
171
172
173
174
175
176
177
178
179
180
181
182
183
184
185
186
187
188
189
190
191
192
193
194
195
196
197
198
199
200
201
202
203
204
205
206
207
208
209
210
211
212
213
214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224
225
226
227
228
229
230
231
232
233
234
235
236
237
238
239
240
241
242
243
244
245
246
247
248
249
250
251
252
253
254
255
256
257
258
259
260
261
262
263
264
265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381
382
383
384
385
386
387
388
389
390
391
392
393
394
395
396
397
398
399
400
401
402
403
404
405
406
407
408
409
410
411
412
413
414
415
416
417
418
419
420
421
422
423
424
425
426
427
428
429
430
431
432
433
434
435
436
437
438
439
440
441
442
443
444
445
446
447
448
449
450
451
452
453
454
455
456
457
458
459
460
461
462
463
464
465
466
467
468
469
470
471
472
473
474
475
476
477
478
479
480
481
482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541
542
543
544
545
546
547
548
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573
574
575
576
577
578
579
580
581
582
583
584
585
586
587
588
589
590
591
592
593
594
595
596
597
598
599
600
601
602
603
604
605
606
607
608
609
610
611
612
613
614
615
616
617
618
619
620
621
622
623
624
625
626
627
628
629
630
631
632
633
634
635
636
637
638
639
640
641
642
643
644
645
646
647
648
649
650
651
652
653
654
655
656
657
658
659
660
661
662
663
664
665
666
667
668
669
670
671
672
673
674
675
676
677
678
679
680
681
682
683
684
685
686
687
688
689
690
691
692
693
694
695
696
697
698
699
700
701
702
703
704
705
706
707
708
709
710
711
712
713
714
715
716
717
718
719
720
721
722
723
724
725
726
727
728
729
730
731
732
733
734
735
736
737
738
739
740
741
742
743
744
745
746
747
748
749
750
751
752
753
754
755
756
757
758
759
760
761
762
763
764
765
766
767
768
769
770
771
772
773
774
775
776
777
778
779
780
781
782
783
784
785
786
787
788
789
790
791
792
793
794
795
796
797
798
799
800
801
802
803
804
805
806
807
808
809
810
811
812
813
814
815
816
817
818
819
820
821
822
823
824
825
826
827
828
829
830
831
832
833
834
835
836
837
838
839
840
841
842
843
844
845
846
847
848
849
850
851
852
853
854
855
856
857
858
859
860
861
862
863
864
865
866
867
868
869
870
871
872
873
874
875
876
877
878
879
880
881
882
883
884
885
886
887
888
889
890
891
892
893
894
895
896
897
898
899
900
901
902
903
904
905
906
907
908
909
910
911
912
913
914
915
916
917
918
919
920
921
922
923
924
925
926
927
928
929
930
931
932
933
934
935
936
937
938
939
940
941
942
943
944
945
946
947
948
949
950
951
952
953
954
955
956
957
958
959
960
961
962
963
964
965
966
967
968
969
970
971
972
973
974
975
976
977
978
979
980
981
982
983
984
985
986
987
988
989
990
991
992
993
994
995
996
997
998
999
1000

稲山専門参考人：
(1) ②の「当該有害物質が健康影響を与える範囲で検出されないこと。」は、ニュアンスはわかりますが、意味がわからないような気がします。「当該有害物質が健康影響を与える濃度以上で検出されないこと。」でしょうか？しかしマイコトキシンの場合は閾値がないものもあることに留意すべきと考えます。

高須専門委員：

(1) ②の「当該有害物質が健康影響を与える範囲で検出されないこと。」については、このような表現ですと以下の様に課題がいくつかあるように思います。
・健康影響を与える範囲に関する議論が必要ではないでしょうか。量的な比較を行うなら、TDIを考慮するのかMOEを考慮するのかなどどのような基準でどう評価するのかをはっきりさせておく必要があると思います。
・この項目では毒素産生性に関する懸念を評価することが最も重要だと思います。毒素以外の有害性を示す可能性のある物質（前回の審議ではラフィノース）がどの程度の種類あるのかによっては、毒素は検出されないとし、毒素以外の有害性を示す物質に関して別建てするのがいいと思います。

2 酵素の消化管内での分解性に関連する事項

酵素の消化管内での分解性に関連する事項として、以下の項目を検討する。

中江専門委員：

「基原生物の安全性」と書き振りを揃えて、「酵素の消化管内での分解性について以下の事項を基に判断する。」とすべきではないでしょうか。

(1) ~~難分解性ではないこと~~消化管内で容易に分解されること。酵素の分解性は、原則として、~~IV~~4「酵素の消化管内での分解性及びアレルゲン性の評価に係る試験」を用いて、アレルゲン性の懸念がなくなる質量まで分解されることを確認する。

事務局より：

前회のご議論を踏まえ、「難分解性でないこと」を「消化管内で容易に分解されること」と変更しました。この記載でよいかご検討ください。また、2文目の記載については前회のご議論の結果、3 (3)「アレルゲン性」でどのような記載にするかを踏まえて検討することとなりました。

中江専門委員：

前回の調査会で申し上げた通り、「比較的容易」としてはいかがでしょうか。

(前回と同じです)

事務局より：

「添加物に関する食品健康影響評価指針（2010）」で参照することとされている、平成8年厚生省ガイドライン表2では、「1. 食品添加物の通常の使用条件下で、当該物質が容易に食品内又は消化管内で分解して食品常在成分と同一物質になること。」と記載されており、本指針案で記載ぶりが変更されておりますのでご検討ください。

なお、3（3）アレルギー性③も併せて、ご検討ください。

伊藤専門委員：

JECFA と異なる表現とする理由がよくわかりません。

石井専門委員：

不勉強のため「難分解性」という用語の定義と使用状況等を十分に承知していませんが、不自然な言い回しでなければ結構かと思えます。ただ、個人的には、今回の「難分解性ではないこと」よりも、従来 of 言い回しを踏まえて「食品内又は消化管内で容易に分解されること」とする方が、分かりやすいような気がいたします。

森田専門委員：

研究班でもいろいろ議論があったところでありますが、酵素の消化管での分解性の部分で、JECFA の food constituent という表現を全くなくして難分解性でないものと置き換えるのは、やはり大きな変更点であり、添加物専門委員会で十分ご議論いただきたいと考えております。

難分解性ではないという部分は主にアレルギー性の懸念からの安全性について述べられていますが、食品常在成分というのは、食経験の有無を含み、アレルギー性だけに焦点をあてた観点ではない、と考えます。

以前から、食品常在成分については定義が明確でなく、パブコメなどでも、いろいろと意見がでておりますので、このあいまいな部分を省き、科学的に検討できる基準にしようという方向性には賛同いたします。

多少あいまいな部分は残りますが、「添加物の通常の使用条件下で、当該添加物又はその分解物が、消化管内で既知の食品成分と同一物質になること」といった表現を残しておく、という方法もあると思います。

平成26年の調査研究では、「新たに評価される食品酵素はほとんど遺伝子組換えのものであり」「その多くが新規物質、あるいは新たな生産法が使用される」と述べられておることからも、分解物が「難分解性でない」＝「食品成分である」という図式が成り立つのかどうか、ご検討いただければ幸いです。

事務局より：

「難分解性ではないこと。」の記載について、例えば、十分長い時間をかければ分解される場合も、「難分解性ではないこと。」に該当すると解釈される可能性があります。また、JECFA の

対応する記載では”Evidence that the substance is readily broken down ...”となっております。このため、より誤解を招かないために「易分解性であること」と記載するのも一案ですが、いかがでしょうか。

松井専門委員：

JECFA の Technical reports series 373 では、「Broken down to substance that are common dietary or body constituents」といった表現もされていますので、これを訳すならば、「食品または生体の常在成分」といった表現になるでしょう。

これらは一般的な添加物に関しての記述だと思います。

一方、酵素の場合、分解（消化）の結果として生じる「食品中または生体の常在成分」や「食品常在成分と同一物質」が何を意味するかは曖昧だと思います。

「易分解性であること」も曖昧かもしれませんが、「アレルギー性の懸念がなくなる質量まで分解される」ならば明瞭です。さらに、「アレルギー性の懸念がなくなる質量まで分解される」をどのように判断するかを規定したほうが良いかもしれません。

下記の『添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ（2014）』では、人工消化による速やかな（0.5分未満）「3,500 Da 以下の低分子」への分解で判断しています。また、「アレルギーは30アミノ酸残基でなければならない、分子量換算でおおよそ3 kDa の分子量を持つ（Huby, 2000）」ことが脚注に示されています。おおよその消化時間や「アレルギー性の懸念がなくなる質量」まで分解したと判断できる質量の閾値を規定しておけば、さらに理解しやすいでしょう。なお、下記の「4 酵素の消化管内での分解性及びアレルギー性に係る試験」では「ウエスタンブロット法及び ELISA 法」の記述がありますので、この点に関して同様です。これら判断基準は（基準を示すなら）、「4 酵素の消化管内での分解性及びアレルギー性に係る試験」で示すことになると思います。

伊藤専門委員：

「難分解性ではない」につきましては、ご提案のように「易分解性である」という表現の方がわかりやすいように思います。

手島専門参考人

消化液による消化されやすさは、易消化性と記されることもあります。

なお、消化性試験では、人工胃液(SGF)による分解のされやすさで、基質となるタンパク質の消化されやすさを表すことが多いのですが、例えば、

レベル 1:SGF で 2 分以内に分解される分解の非常にはやいもの

レベル 2:完全長のタンパク質の分解は早いですが断片も伴うもの

レベル 3:完全長が中間程度(2~30 分)の時間で分解されるもの

レベル 4:完全長が中間程度で分解され、しかも断片を伴うもの

レベル 5:30 分以上でも分解されないもの

に分類することができます (Thomas K. et al., Regul.Tox.Pharmacol. 39,87 (2004), Takagi K.

et al, Bio.Pharmacol.Bull., 136,23 (2003)). 1は明らかに易分解性ですが、2~3も分解の早い方に属すると思われま

- 1
2 (2) 消化管内での分解に関わる主要な因子 (pH、酵素等) が明らかであるこ
3 と。
4 (3) 酵素の通常の使用条件下で適正な量を使用した場合、当該酵素又はその
5 分解物の体内への吸収が食品成分と同程度であり、他の栄養成分の吸収
6 を阻害しないこと。
7 (4) 摂取された酵素の未加水分解物又は部分加水分解物が大量に糞便中に
8 排泄されないこと。さらに、未加水分解物又は部分加水分解物が生体組織
9 中に蓄積しないこと。
10 (5) 酵素を使用した食品を摂取したとき、当該酵素及びその分解物が当該食
11 品の主要な成分の過剰摂取の問題を起こさないこと。

佐藤専門委員：

(5) の「当該食品の主要な成分の」の記載も「当該酵素の主要な成分の」とするべきではないでしょうか。

伊藤専門委員：

(5) も英文に近い形にすることは検討されないのでしょうか。

中江専門委員：

前回の調査会で申し上げたように、酵素もしくはその分解物が何かの栄養素の摂取を抑制することも考えないといけません。「当該食品にかかわる栄養バランスを変えないこと」ではないでしょうか。

事務局より：

(5) をどのような記載とすべきか、引き続きご検討ください。なお、本項目の(5) は、JECFA Technical reports series 373 における以下に対応するものと考えられます。

(e) Evidence that the most important food components in the additive are metabolized and utilized as effectively when administered in composite form as the food additive as when given separately, and that overloading does not occur.

松井専門委員：

substance (物質) と additive (添加物) を使い分けているように思えます。食品に添加された酵素製剤と酵素製剤単独の代謝及び利用の差は解析が困難でしょう。

「酵素添加物（または製剤）の主要な成分による過剰摂取の問題を起ささないこと。」が良いかもしれません。

なお、「アスパラギナーゼ評価書」では、「当該食品の主成分の過剰摂取」ではなく、「酵素タンパク質」を検討していると思います。

また、(4)では「加水」を削除した方が良いでしょう。本指針の他の部分では、「分解」のみとなっています。

1

事務局より：

これまで、項目（5）については以下のとおり評価いただいております。

- ・添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2014）：

「⑤ 添加物を使用した食品を摂取したとき、当該食品の主成分の過剰摂取の問題が起きないこと。」

本品目の最大一日摂取量は、上述のとおり0.549 mgTOS/kg体重/日と推定され、これは日本人のたん白質の平均一日摂取量67.8 gの約0.04%に過ぎず、本品目の主成分の過剰摂取の問題が起ることはないと考えられる。

以上より、本委員会としては、本品目について、⑤の事項が満たされると考えた。」

- ・添加物評価書「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2015）：

「⑤ 添加物を使用した食品を摂取したとき、当該食品の主成分の過剰摂取の問題が起きないこと。」

指定等要請者によれば、上述のとおり、本品目のタンパク質としての一日摂取量は最大で4.97 mg/人/日と推定され、日本人のタンパク質の平均一日摂取量68.0 gの約0.007%に過ぎず、本品目の主成分の過剰摂取の問題がおこることはないとされている。」

2

3 酵素の毒性

4 (1) 90日間反復投与毒性試験(げっ歯類)【本項は本指針案で新たに記載】

5 添加物評価指針の第2章 第2 2 (1)「亜急性毒性試験及び慢性毒性試験」の留意事項に準じる。

7

8 (2) 遺伝毒性試験【本項は本指針案で新たに記載】

9 添加物評価指針の第2章 第2 2 (6)「遺伝毒性試験」の留意事項に準

10

11

12

(3) アレルゲン性

13

① 次のa. からd. までの事項を基に、アレルゲン性(アレルギー誘発性及

1 びアレルギー感作性) について懸念がないか、総合的に判断する。また合理的
2 な理由がある場合には、一部を省略することができる。

3 ~~「遺伝子組換え食品（微生物）の安全性評価基準（2008年6月 食品安全~~
4 ~~委員会決定）」を参考に、次の①から④までの事項から総合的に判断し、安全~~
5 ~~性を確認する。なお①から④までの事項で判断できない場合には、⑤の事項を~~
6 ~~含め、総合的に判断して安全性が確認されることが必要である。また合理的な~~
7 ~~理由がある場合には、一部を省略することができる。~~

8 ④ a. 基原生物のアレルゲン性（グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同
9 じ。）に関する事項

10 基原生物のアレルゲン性に関する知見が明らかにされていること。

11 ④ b. 酵素のアレルゲン性に関する事項についてその

12 酵素のアレルゲン性に関する知見が明らかにされていること。

13 ④ c. 酵素の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

14 酵素が消化管内で、分子量、酵素活性、免疫反応性等の変化から、アレ
15 ルギー誘発性の懸念がなくなるまで分解されることが明らかにされるこ
16 と。方法は、原則として、4の「酵素の消化管内での分解性及びアレルゲ
17 ン性に係る試験」を用いてアレルギー誘発性の懸念がなくなる質量以下ま
18 での分解を確認すること⁶（参照6）。

19 ④ d. 酵素と既知のアレルゲン（アレルゲン性を示すタンパク質。グルテン
20 過敏性腸疾患に関するタンパク質を含む。以下「アレルゲン等」という。）

21 との構造相同性に関する事項

22 酵素について、既知のアレルゲン等と一次構造を比較し、既知のアレル
23 ゲン等と構造相同性を有しないこと。~~既知のアレルゲン等と一次構造の比~~
24 ~~較は、原則として *in silico* で8アミノ酸配列の連続一致検索⁶及び80残~~
25 ~~基中35%以上のホモロジー解析を行う（参照8）。抗原決定基（エピトー~~
26 ~~プ）を示す可能性のある配列を明らかにするためには、アミノ酸配列に関~~
27 ~~する相同性検索などを実施する必要がある。その際、用いたアレルゲンデ~~
28 ~~ータベースの名称、検索条件、検索方法及び検索結果を明らかにすること。~~
29 既知のアレルゲン等との一次構造の比較は、原則として *in silico* で8アミ
30 ノ酸配列の連続一致検索^{7,8}及び80残基中35%以上のホモロジー解析を
31 行う⁹（参照7）。

⁶ Huby (2000) によれば、アレルゲンは最低2つの IgE 結合部位をもち、1つの部位は最低でも15アミノ酸残基であるとされている。このため、アレルゲンは30アミノ酸残基以上でなければならない、おおよそ3kDaとされる。

⁷ JECFA の Technical reports series 995 において、8アミノ酸配列の連続一致検索が推奨されている。

⁸ 連続アミノ酸の一致検索を行うことで、IgE抗体との結合に関与するB細胞エピトープに加えて、感作性に関与するT細胞エピトープとの相同性についても確認を行うことが可能である。

⁹ なお、既知のアレルゲンとの一次構造との比較に関するバイオインフォマティクス評価手法は、科

1
2 ② ⑤酵素の IgE 結合能の検討

3 ①から④までの事項等①により、ヒトの健康を損なう恐れ既存のアレルゲン
4 と交差反応性を示すことが否定できないなど、アレルゲン性の懸念がない
5 と判断できない場合は、酵素の IgE 結合能を検討すること。

6 使用するアレルギー患者血清の選択は、下記の a. から及び d. b. のいづ
7 れかまでに従い行う。なお、a. 及び b. で適切な血清が得られない場合は、
8 基原生物の近縁種生物に対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清を選択する
9 が、なお適切な血清が得られない場合は、主要なアレルゲン（卵、ミルク、
10 大豆、米、小麦、そば、たら、えび及びピーナッツ）に対して特異的 IgE 抗
11 体価が高値な血清を選択する。

12 a. 基原生物がアレルゲン性を持つ場合はその生物に対する特異的 IgE
13 抗体価が高値な血清

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

16 ~~c. 既知のアレルゲンとの構造相同性が示されないが、①～③の項目で、~~
17 ~~アレルゲン性を否定しきれない場合は、基原生物の近縁種生物に対して~~
18 ~~特異的 IgE 抗体価が高値な血清~~

19 ~~d. a から c で適切な血清が得られない場合は、主要なアレルゲン（卵、~~
20 ~~ミルク、大豆、米、小麦、そば、たら、えび及びピーナッツ）に対して~~
21 ~~特異的 IgE 抗体価が高値な血清~~

22
23 ③ 基原生物がアレルゲン性を持つ場合で、酵素に対するアレルギー患者血
24 清を用いた IgE 結合能の検討で陰性結果が得られたものの、①及び②を踏
25 まえ、なお安全性の証明が十分ではないと考えられたアレルゲン性の懸念
26 がないと判断できない場合は、皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験
27 データも考慮して総合的にが必要とされる判断する。

事務局より：

前回のご審議を踏まえ、また、手島専門参考人とご意見の上、記載を修正いたしました。ご確認ください。

手島専門参考人：

- ・①「c. 酵素の物理化学的処理に対する感受性に関する事項」について
「4 酵素の消化管内での分解性及びアレルゲン性に係る試験」で書かれていることとの統一性をとった方がよいと思います。
「4 酵素の消化管内での分解性及びアレルゲン性に係る試験」に書かれている方法論を使って、「c. 酵素の物理化学的処理に対する感受性に関する事項」の項

学技術の進歩に応じ、その時点での適切な手法に基づくものとする。

目で酵素の物理化学液処理に対する判断を行うということですので、表現をあわせて以下のようにしてはいかがでしょうか。

酵素が消化管内で分子量、酵素活性、免疫反応性の変化から、アレルギー誘発性の懸念がなくなるまで分解されることが明らかにされること。方法（原則）として、4の「酵素の消化管内での分解性及びアレルゲン性に係る試験」を用いてアレルギー誘発性の懸念がなくなる質量以下までの分解を確認すること（参照7）。

・②のc. について

酵素のアレルゲン性について考えるときに「基原生物の近縁種生物」を考慮する場合はほぼないと思われまますので、②のc. については削除してよいと思います。

・③について

以下のようにしてはいかがでしょうか。

アレルゲン性の懸念がないと判断できない場合は、皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験データも加味して総合的に判断する。

・脚注8、9について

それぞれ以下のようにしてはいかがでしょうか。

脚注8：連続アミノ酸の一致検索を行うことで、IgE抗体との結合に關与するB細胞エピトープに加えて、感作性に關与するT細胞エピトープとの相同性についても確認を行うことが可能である。

脚注9：なお、既知のアレルゲンとの一次構造との比較に關するバイオインフォマティクス評価手法は、科学技術の進歩に應じ、その時点での適切な手法に基づくものとする。

事務局より：

ご意見を踏まえ記載を修正いたしました。また、②のc. については位置づけを明確にするため、柱書中に移動しました。ご検討ください。

柘植専門参考人：

②のc. の移動については賛成いたします。

もう一点、③の「①及び②を踏まえ、なおアレルゲン性の懸念がないと判断できない場合は、皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験データも考慮して総合的に判断する。」は、現実的に、安全性の評価を患者さんの *in vivo* で行うことになり、

難しいのではと考えますがいかがでしょうか。

手島専門参考人：

②のc. の訂正も含めこの内容で異論ありません。

また、柘植先生のコメントですが、*in vivo* 試験は難しいのは事実ですが、おそらく実際に行うことはないとは思いますが、最後の判断のための手段として残しておくという位置づけでよいのではないかと考えます。

4 酵素の消化管内での分解性及びアレルギー性に係る試験

以下の(1)から(3)の処理によって、酵素の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうかが明らかにされていることを確認する。

酵素量が少ない場合には、免疫反応性は処理前の酵素に対するポリクローナル抗体を用いたなお、これらの確認にあたっては、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法、ウエスタンブロット法及び又は ELISA 法あるいはこれらと同等の方法によって示されていることを用いる。

(1) 人工胃液による酸処理及び酵素(ペプシン)処理

(2) 人工腸液によるアルカリ処理及び酵素(パンクレアチン)処理

(3) 加熱処理(加熱条件はヒトが経口摂取する際に処理される場合と同等の条件で行う)

事務局より：

前回のご審議を踏まえて記載を修正いたしました。ご確認ください。

第3 日一日摂取量の推計

原則として、使用対象食品の一日摂取量に酵素の使用量を乗じて求める。食品の一日摂取量は、国民健康・栄養調査の食品群別摂取量又はその他の資料等により適切に推定する。酵素の使用量としては、全量がそのまま最終食品に移行して消費されたとした場合を想定し、一般的に使用される条件下での最大添加量を用いて一日摂取量を推定する。ただし、酵素が最終食品内で変性・失活する又は分解・除去されている場合には、過剰な見積もりになることに留意する。また、一日摂取量の推定にあたっては、最新の食品安全委員会決定に基づく平均体重を用いる。

西専門委員：

各専門委員のご意見をもとに事務局で適切に修正されていると思いますので、特に追加の意見はありません。

1 <別紙1：略称>

略称	名称等
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
ELISA	enzyme-linked immune-sorbent assay：酵素標識免疫測定法
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand：オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
TOS	total organic solids：総有機固形分

2

3

1 <参照>

- 1 食品安全委員会、添加物に関する食品健康影響評価指針（平成 22 年 5 月 27 日）
- 2 食品安全委員会、添加物評価書「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2014 年 1 月）
- 3 食品安全委員会、添加物評価書「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（2015 年 12 月）
- 4 株式会社三菱化学テクノリサーチ、「添加物のうち、加工助剤（殺菌剤、酵素、抽出溶媒等）及び栄養成分に関するリスク評価手法の開発に関する調査・研究」報告書（平成 27 年 3 月）
- 5 梅村 隆志ら、平成 27 年度 食品健康影響評価技術研究「栄養成分・加工助剤に関するリスク評価方法の確立に関する研究」（課題番号 1502）平成 28 年 3 月
- 6 Huby RDJ, Dearman RJ and Kimber I: Why are some proteins allergens? *Toxicol. Sci.*, 2000; 55: 235-46.
- 7 Evaluation of certain food additives and contaminants (Eightieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) WHO Technical Report Series, No. 995, 2016