

# 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会 第131回議事録

1. 日時 平成30年2月2日（金）14:34～15:38

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 飼料添加物（*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼを原体とする飼料添加物）の食品健康影響評価について

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

新井専門委員、荒川専門委員、今井専門委員、今田専門委員、植田専門委員、  
桑形専門委員、小林専門委員、佐々木専門委員、下位専門委員、高橋専門委員、  
宮島専門委員、山田専門委員、山中専門委員

(食品安全委員会委員)

山添委員、山本委員、吉田委員

(事務局)

小平事務局次長、吉岡評価第二課長、大倉課長補佐、水野評価専門官、中村係長、  
橋爪技術参与

5. 配布資料

資料1 意見聴取要請（平成30年2月2日現在）

資料2 (案) 飼料添加物評価書 *Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼを原体とする飼料添加物

6. 議事内容

○今井座長 それでは、時間になりましたので、ただいまより第131回肥料・飼料等専門調査会を開催いたします。

本日は、川本専門委員、菅井専門委員、中山専門委員、吉田専門委員が御欠席で、13名の専門委員が御出席です。

また、専門参考人の唐木専門参考人も、本日は御欠席です。

それでは、議題に入ります前に、事務局から議事、資料の確認と「食品安全委員会にお

ける調査審議方法等について」に基づき、必要となる専門委員の調査審議等への参加に関する事項について御報告をお願いいたします。

○大倉課長補佐 それでは、議事、資料の確認をいたします。

本日の議事は「飼料添加物（*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼを原体とする飼料添加物）の食品健康影響評価について」と「その他」になります。

資料につきましては、本日の議事次第、委員名簿、座席表、議事次第の裏に記載をしている資料が2種類です。

評価書の参考資料をタブレットにて1人に1台ずつ机の上に置かせていただいております。

不足の資料等はありませんでしょうか。もし何かありましたら、事務局にお知らせいただければと思います。

また、専門委員の先生方から御提出いただいた確認書を確認したところ、平成15年10月2日委員会決定の2の（1）に規定する、調査審議等に参加しないこととなる事由に該当する専門委員はいらっしゃいません。

以上です。

○今井座長 提出いただいた確認書について、相違はございませんか。

ありがとうございます。

それでは、議事の「(1) 飼料添加物（*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼを原体とする飼料添加物）の食品健康影響評価について」です。

事務局は資料の説明をお願いいたします。

○水野評価専門官 資料2を御用意ください。「*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼを原体とする飼料添加物」の評価書案になります。

3ページ一番上の審議の経緯ですけれども、農林水産省から飼料添加物の基準及び規格並びに飼料添加物を含む飼料の基準の改正に係る食品健康影響評価の要請を受けたものになっております。

5ページをお願いいたします。「I. 評価対象飼料添加物の概要」になります。まず、原体なのですが、先ほどから申し上げておおり、*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼとなります。一般名はアルカリ性プロテアーゼ、化学名はセリンプロテアーゼと記載させていただいております。

15行目からのボックスにつきまして、メーカーから提出されております資料につきまして、化学名のところに「Chymotrypsin」と記載してございました。その根拠を事務局からメーカーに確認しまして、参照5のとおり回答が出てきたところです。そちらの回答を見ましても、「Chymotrypsin」と完全に同定する明確な回答ではありませんでした。それで、特に「Chymotrypsin」と同定する必要性がそれほど高くないといえますか、回答が不明瞭な部分もありますので、あえて化学名で「Chymotrypsin」と書く必要性はさほど

高くない、記載しなくてもいいのではないかと事務局は考えている部分がございます。御検討をお願いいたします。

6ページが「(3) 製造方法の概要」になります。*Bacillus licheniformis* Si-3株を宿主株として、*Nocardiopsis prasina*由来のアルカリ性プロテアーゼ遺伝子を挿入しているものとなっております。

7行目からは製剤についての説明でして、剤形としましては固形と液状の2種類がございます。

固形につきましては、セルロース、デキストリン、ショ糖、炭酸カルシウム、植物油、水、硫酸ナトリウムを混合したものとなっております。

液状製剤につきましては、水、グリセリン、ソルビトール、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸カリウムを混ぜた水溶性液状物となっております。

用途につきましては、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進となっております。

添加する飼料及びその添加量ですけれども、鶏用の飼料1 kgあたりに15,000タンパク質分解酵素単位を添加するというものが、要請者の推奨添加量となっております。

26行目から使用目的及び使用状況を記載しております。30行目ですけれども、プロテアーゼにつきましては、その至適pHに基づきまして、酸性、中性又はアルカリ性と分類されるとなっております。

その下ですけれども、プロテアーゼにつきましては、日本で既に飼料添加物として使用されておまして、酸性、中性またはアルカリ性プロテアーゼ等が使われております。

7ページの9行目になりますけれども、今回評価要請されております飼料添加物につきましては、Novozymes A/S社が開発したアルカリ性プロテアーゼを原体としまして、DSM株式会社、共同申請者としてノボザイム ジャパン株式会社がございますが、こちらの会社が申請したものとなっております。

この飼料添加物につきましては、既に2009年にEFSA、2011年にFDAの評価を受けて、海外で使用されているものでございます。

17行目ですけれども、海外におきまして、2016年からは食品添加物として販売もされているとなっております。

19行目からは、先ほど審議の経緯のところでも御説明した内容を記載しております。

24行目ですけれども、こちらは遺伝子組換え技術を利用したものですので、その評価要請もなされている旨を記載しております。

8ページに参りまして、「Ⅱ. 安全性に係る知見の概要」になります。まず、体内動態試験と残留試験は実施されておられません。しかし、残留試験のところになりますけれども、代わりに消化試験が実施されております。こちらは人工胃液、人工腸液を用いた消化試験を行っておりますが、結果としましては、人工胃液で30分間処理した場合は、アルカリ性プロテアーゼは消化されており、人工腸液で6時間処理しても消化されていなかったとい

うことになっております。

19行目に宮島先生から御修文をいただいております。

また、こちらの消化試験のところにおきまして、24行目ですけれども、下位先生から、消化試験につきまして、一般的な消化液であるにしても、人工消化液の記述があった方がいいように思います。酵素反応では、どこ由来のどのメーカーの酵素を用いたかとか、酵素活性が重要と思いますというコメントをいただいております。

消化液、人工胃液、人工腸液の内容を詳しく書いたものが13行目からの修文になっております。また、用いましたペプシン、パンクレアチンにつきましては、下の脚注に参考として記載させていただいております。ただ、参考として記載させていただいておりますが、具体的な企業名が出ていたり、他の評価書でここまで詳しく書いていることがございませんので、こちらは削除をさせていただきたいと思っております。

26行目から「3. 遺伝毒性試験」を記載しております。結果につきましては、次のページになります。こちらは*in vitro*の試験しかございませんが、復帰突然変異試験、染色体異常試験が実施されておきまして、いずれも陰性となっております。

こちらの表の中におきまして、山田先生から御修文をいただいております。

遺伝毒性試験の結果のまとめとしまして、5行目からになりますけれども、*in vivo*の遺伝毒性試験は実施されておきませんが、*in vitro*の復帰突然変異試験及び染色体異常試験の結果は陰性であったこと及び消化試験の結果から、本アルカリ性プロテアーゼに生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断したと記載しております。

この内容でよいでしょうかということで、10行目から事務局からのボックスを設けさせていただきました。山田先生からコメントをいただきまして、記載どおりで結構ですといただいております。

次のページに移りまして、下位先生からもコメントをいただいております。本プロテアーゼは消化試験で分解されることから遺伝毒性は問題ないという点について、分解後のアミノ酸類も遺伝毒性はほぼ問題ないと思われまますので、ほぼ問題ないかと思っておりますというコメントをいただいております。

その下から、「4. 急性毒性試験」ですけれども、実施されておきません。

5行目が「5. 亜急性毒性試験」になります。こちらは「(1) 13週間亜急性毒性試験（ラット）」になります。最高用量は500.1 mg総有機固形分(TOS)/kg体重/日となっております。

試験結果につきましては、一般状態、体重、飲水量、血液学的検査におきまして、被験物質の投与による影響はみられておきません。

血液生化学的検査におきましては、24行目になりますけれども、最高用量の雄でアルカリホスファターゼの高値、被験物質の全投与群の雌でALTの低値、最高用量の雌でASTの低値がみられておきます。

ただ、これらは一方の性だけにみられた所見でありまして、毒性学的に有意な変動ではなかったこと、病理組織学的検査において被験物質の投与による影響がみられなかったこ

とから、これらの所見は偶発的なものと考えられたとしております。

こちらは、毒性学的に有意な変動ではなかったという御修文を山中先生からいただいております。その下の32行目になりますけれども、山中先生からコメントをいただいております。まず、アルカリホスファターゼの高値につきましては、この記述のみでは、雄のみとはいえ、最高用量でALTが高くなっていることになるというコメントをいただいております。そして、参照4の記述によれば22%の上昇ということで、ラットのこの時期のALPとしては通常の変動の範囲内ということになりますというコメントをいただいております。

また、被験物質の全投与群の雌でALTの低値というところにつきましても、参照4では用量依存性と記述されております。ただし実際には1%ずつの差異で、いずれも通常の変動の範囲内ですというコメントをいただいております。

その下の2行目からの臓器重量、6行目からの病理組織学的検査におきましても、被験物質の影響はみられておりません。

12行目ですけれども、JECFAにおきましては、本試験におきまして、NOAELは最高用量の500 mg TOS/kg体重/日と判断しております。

18行目からですけれども、本専門調査会は、本試験で被験物質の投与による毒性所見がみられなかったことから、本試験におけるNOAELを最高用量の500.1mgTOS/kg体重/日、括弧して酵素活性の単位を付しておりますが、287,469 PROT/kg体重/日相当と判断したとしております。

その下の「6. 慢性毒性及び発がん性試験」「7. 生殖発生毒性試験」は実施されておられません。

28行目から、「8. 対象動物における飼養試験」ということで、「(1) 耐容性試験 (鶏)」を記載しております。こちらは、最高用量150,000 PROT/kg飼料、推奨用量の10倍量まで投与する試験となっております。投与期間は37日間となっております。

4行目のグロワー飼料というところにつきまして、山中先生から御修文いただいております。グロワー飼料に変更させていただいております。ここの部分に関する山中先生のコメントが9行目になりまして、鶏の飼料の名称については、日本で用いられる言い方に変えました。もし、一般の人がわかりやすいようにということであれば、公定規格にある「肥育前期用」「肥育後期用」がいいと思いますというコメントをいただいております。

その下の11行目から、死亡率等を記載しておりますが、違いはみられておりません。

ただ、12行目から、最高用量群におきまして体重が、その他の群と比較して有意に高かったというということになっております。

しかし、血液生化学的検査等には違いはみられておりません。

本試験のまとめで、23行目ですけれども、推奨添加量の10倍量まで37日間混餌投与しても、鶏の安全性に懸念はないと考えられたとなっております。

27行目から「9. 製剤に含まれる物質に関する安全性」ということで、まず「(1) 固形製剤」に含まれる物質について記載しております。固形製剤の製造に使用されております

物質につきましては、水以外の物質につきましては、「飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令」におきまして、既に賦形物質及び希釈物質として使用が認められている物質となっております。

また、この情報のほかに、硫酸ナトリウム、セルロース、デキストリン、ショ糖、炭酸カルシウム、植物油といったことに関する情報を記載しております。

19行目からは「(2) 液状製剤」ということで、液状製剤にはグリセリン、ソルビトール、安息香酸ナトリウム、ソルビン酸カリウムが使用されております。このうちグリセリン、ソルビトールは、先ほどの省令におきまして既に賦形物質及び希釈物質として使用が認められているものとなっております。

そのほかに、各物質の情報をそれぞれ記載してございます。

安息香酸ナトリウムにつきましては、国内では食品添加物に指定され、JECFAではADIが設定されております。

ソルビン酸カリウムにつきましては、国内で食品添加物に指定されておきまして、また食品安全委員会においてもADIが設定されております。

これらの物質に関するまとめとしまして、14ページの3行目になりますけれども、本製剤に含まれている物質につきましては、その使用状況等を考慮しますと、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できる程度と考えたとしております。

7行目から「10. その他の試験」ということで、「(1) 皮膚刺激性試験」「(2) 眼刺激性試験」がEFSAの評価書に情報がございましたので、記載しております。

皮膚刺激性試験につきまして、刺激性があるといったことになっております。

15ページに移りまして、「Ⅲ. 国際機関等における評価」ということで、まず、飼料添加物の評価ということで、EFSAの評価を記載しております。2009年に鶏の肥育用飼料への使用に関する評価を実施したということになっております。

こちらは、推奨添加量に対しまして鶏は耐容であったことから、この製剤は鶏に対して安全と考えられております。

また、遺伝毒性試験が陰性の結果であったことや、90日間の亜急性毒性試験で投与による影響はみられなかったことなどから、消費者へのリスクはないと考えられております。

20行目からは、「2. JECFAにおける評価」を記載しております。こちらは、食品添加物としての評価が2012年に行われております。まず、産生菌につきまして、遺伝学的に安定しており、抗生物質耐性遺伝子及び異種DNAを含んでいないということになっております。

また、経口摂取によるアレルギー性は予期されないとされております。

28行目から遺伝毒性試験の結果を記載しております。31行目からはラットの13週間亜急性毒性試験を記載しております。この試験におけるNOAELは、最高用量の500 mg TOS/kg体重/日としております。

また、こちらを食品添加物として使用した際のばく露量を推定しております。そちらが16ページの上からになります。JECFAの掲載におきまして、一日食事ばく露量は1.5 mg

TOS/kg体重/日となったということになっております。この値は、ラットの試験のNOAEL（500 mg TOS/kg体重/日）と比較して、ばく露マージンは350倍であったということになっております。ADIにつきましては「not specified」という結論になっております。

9行目は「3. FDAにおける評価」ということで、2011年に飼料添加物として認可されているということになっております。

また、食品添加物としても、2015年にGRASとされていることを記載しています。

18行目からは「4. FSANZにおける評価」ということで、こちらもFDAと同じ内容になっておりまして、2011年に飼料添加物として認可されておりますが、2015年、食品添加物として認められたということ、その評価内容をその下に記載してございますが、JECFAの評価書とほぼ同様の内容となっております。

なお、ADIは「not specified」と結論されております。

食品健康影響評価の手前は、以上になります。

○今井座長 ありがとうございます。

事務局より、*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼを原体とする飼料添加物の食品健康影響評価の前まで御説明をいただいたところです。

事務局に確認しましたところ、酵素が本肥料・飼料等専門調査会で審議されてきたことは今までほとんどなかったということ、適宜、事務局に、他の専門調査会、例えば食品添加物の専門調査会等でどのような取りまとめをされているかということもお問い合わせをしながら審議を進めてまいりたいと思いますので、どうぞよろしくお願いいたします。

そうしましたら、いつものように、前にお戻りいただきまして、順次、確認をしてまいりたいと思います。

まず、5ページをご覧ください。15行目のボックスに事務局よりということ、現時点で原体が*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼであるということ、一般名はアルカリ性プロテアーゼ、そして事務局案としては、現時点では化学名の和名はセリンプロテアーゼとされているところですが、下のボックスのところ、各国際機関における化学名の記載について列記されていますけれども、ポイントは、セリンプロテアーゼに括弧して「Chymotrypsin」というものが入っているかどうかというあたりですが、こちらに関しましては、事務局からの御説明の繰り返しになって恐縮ですが、「Chymotrypsin」と申請者が記載している理由を事務局から問い合わせさせていただきましたところ、回答が十分な説明に至っていないということが一つあります。

もう一つ、事務局からの説明は、セリンプロテアーゼに加えて「Chymotrypsin」まで追加して記載する必要があるかどうかということに関しての御説明がございました。こちらも冒頭に申し上げましたように、他の専門調査会などとの横並びということも含めまして、また、今後の本専門調査会におけるこのような酵素に関する評価書案の取りまとめとして、特に原体のところ、申し上げましたけれども、何回も出てきている*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼであって、その化学名がセ

リンプロテアーゼということで十分であろうということで、括弧などで「Chymotrypsin」ということを追記しないという方向性で取りまとめをさせていただきたいと思いますが、先生方からこの点に関しまして、特段の御意見はございますか。

お願いいたします。

○今田専門委員 「Chymotrypsin」というのは膵液に含まれていて、芳香族アミノ酸の後ろを切断する酵素なのです。この資料に、それがきちんと裏付けされているかどうか、多分、されていないと思うのです。しかもバクテリアがつくるということですので、これは「Chymotrypsin」というのは適当ではないと考えます。

事務局の判断が正しいと思いますので、「Chymotrypsin」というのは記述しないほうがよろしいかと思います。

以上です。

○今井座長 どうもありがとうございました。

事務局からの御説明に加えまして、ただいま化学的な、大変重要な御説明をいただいたところであります。

そういうことで、結論としましては、化学名のところはセリンプロテアーゼということで取りまとめさせていただきます。

6ページ目にお進みください。こちらにつきましては、2点ほど脚注での説明が加えられているページですけれども、特に問題がなければ7ページに進んでまいりたいと思います。

7ページにおきましても、特に先生方から事前のコメント等はいただいておりませんので、特に問題がなければ先に進んでまいります。

8ページをご覧ください。こちらに関しましては、13行目から16行目まで、残留試験の中に記載されている内容として、人工胃液と人工腸液を使った試験の結果が示されています。この点に関しまして、下位先生からコメントをいただいております。そのコメントは2点ございまして、まず1点として、酵素反応を行った際の酵素の由来、メーカー等についての説明あるいは酵素活性が重要なポイントだということを指摘いただいております。

この点につきましては、具体的な由来とかメーカー名をこの議論のポイントとして、事務局で脚注のような形で加えていただいておりますが、先ほど事務局からありましたように、他の専門調査会の評価書案を見ましても、ここまで具体的に記載されていないということが一つと、もう一つは、我々専門調査会の専門委員としては、提出されている資料を見て、酵素活性なども十分な活性があるという内容を確認して、評価書案として簡潔にその内容を取りまとめるということですので、基本的には13行目から16行目に記載されている事務局案の文章で取りまとめてまいりたいと考えています。

また、下位先生からのコメントで、*in vitro*の人工胃液、人工腸液を使ったそれらの条件が、鶏とか豚の消化を反映しているかということにつきましても、提出された資料に基づいて評価をしていくということで、酵素に限らず、タンパク質全般にこのような試験がなされ、評価がなされているということを確認しておりますので、こちらも現時点での事務

局案どおりを基本として御議論いただければと考えています。

ただいまの説明に関してでも結構ですし、そのほかのポイントでも結構ですけれども、先生方からこのページに関しまして追加の御発言があればお願いいたします。

山中専門委員、お願いします。

○山中専門委員 人工胃液、人工腸液の試験なのですけれども、この場合、鶏用ということですが、これは鶏や豚のために考えられたことではなくて、あくまでヒトだと思われま。ただ、もちろん鶏でも筋胃の後、いわゆる消化するための胃があって、そこでは酸性になっていて、ペプシンもあってということなのですが、人工胃液、人工腸液というのはあくまでヒトのためのものなので、そこまでわかっているということではないと思います。

ただし、その後に亜急性の試験をやっていますので、その結果、胃液の中で多分壊れるだろうにすぎませんけれども、筋胃のところは傷んでいないとか、そういうことはわかっているということで、これはあくまで残ってしまったときに、ヒトが食べても消化されるだろうということであろうと思います。

○今井座長 ただいま、大変重要なポイントを御説明いただきまして、ありがとうございました。

先ほどの座長からの説明としては、時々この専門調査会でも議論の中に入ってまいりますけれども、あくまでも食品安全委員会における食品健康影響評価ということで、人工胃液、人工腸液がヒトの胃液、腸液を想定したものであるということで、しっかりした評価書案としての文書が成り立っているということ、土台をしっかり御説明いただいたところでございます。

恐らく、これ以上御意見は出てこないと考えますので、8ページはこの事務局案どおりという取りまとめで進めさせていただければと思います。

ありがとうございます。

9ページにお進みください。遺伝毒性試験の表に入っておりますけれども、山田先生から若干の修正をいただいているということと、10行目にあります事務局からの質問として、*in vivo*の試験は実施されていないけれども、*in vitro*の試験及び消化試験の結果から、評価書案としての取りまとめ、事務局案でよろしいかという問いかけに関して、山田先生並びに下位先生から、問題ないと思うということで御回答いただいていますので、もしも追加の御発言がなければ、よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

10ページ目にお進みください。急性毒性試験は実施されていない。

亜急性毒性試験が、13週間のラットを使った亜急性毒性試験です。若干、事務局のほうで単位の修正があったということと、27行目に用量依存性が認められなかったというところは、毒性学的に有意な変動ではなかったという形で山中先生から修文をいただいている、その内容についても、概略は事務局から御説明いただいたところですが、山中先生から御説明お願いできますでしょうか。

○山中専門委員 コメントに書いたとおりなのですが、最高用量で出てしまっているということから用量依存性がないという言い方ができないのと、FASに戻ってみると、(用量依存性が)ありますと書いてあるのです。でも、実際には、ここに書きましたように変動の範囲内におさまっているということ、それから、毒性学的に有意な変動ではなかったというのもFASに書いてあるので、それを持ってきました。

○今井座長 ありがとうございます。

先ほどのポイントとも共通する点ですけれども、本専門調査会における評価書案の取りまとめ、より適切に簡潔に取りまとめるという内容に従って、山中先生から、元の資料を確認して、中身も評価していただいた上で、毒性学的に有意な変動ではなかったという形でまとめていただいたということでもあります。

この試験に関しましては、11ページ目にも続いていくわけですが、11ページ目については、新井先生から、雄と雌の誤記に関して修正されているということではありますが、最終的に本専門調査会としては、本試験におけるNOAELは500.1 mg TOS/kg体重/日ということで取りまとめられていますけれども、先生方から特に追加の御発言がなければ、先に進んでまいりますけれども、よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

11ページに進んでおりますけれども、22行目の慢性毒性及び発がん性試験と25行目の生殖発生毒性試験は実施されていないということです。

28行目から、対象動物における飼養試験ですけれども、まずは、11ページ目の29行目から始まります鶏を使った耐容性試験の結果が取りまとめられています。

12ページ目までお進みいただきまして、鶏用の飼料としてスターター飼料あるいはグロワー飼料という飼料名がわかりづらいのではないかとということで、山中先生から9行目の四角の中で、ブロイラーの飼料の名称についてということで、公定規格にある「肥育前期用」及び「肥育後期用」がいいと思うということで御意見をいただいている、確かに、私自身も鶏の飼料の内容にはあまり詳しくないので、スターター、グロワーに関して、日本語で前期用、後期用と記載していただくと、非常にわかりやすいと思えました。ありがとうございます。

一方で、事務局と情報交換をさせていただきまして、この試験自体、欧州で行われている試験で、欧州の飼料にはスターターとグロワーとフィニッシャーという飼料もあるというようなことで、前期用、後期用に分けると、場合によっては、よく知っている方が読まれると少し混乱する可能性もあるということで、私は、当初は山中先生の御提案を受けて、スターター、グロワーの後ろに括弧して前期用、後期用と加えれば随分わかりやすくなると思ったのですが、事務局で脚注をつけていただいて、それでよりわかりやすい形にということで進めさせていただければと考えています。

したがって、事務局の作業として、脚注を作成いただいて、まず山中先生に御確認をいただいて、それで全員の最終確認を行うという形で進めていただければと思います。

山中先生、そのようなことで御了解いただければと思います。よろしく願いいたします。

引き続きまして、今の点で、鶏の耐容性試験で、先生方から追加の御発言がもしあればお願いしたいと思いますが、いかがでしょうか。よろしいでしょうか。

そうしましたら、12ページ目の27行目からは、製剤に含まれる物質に関する安全性ということで、この剤は固形製剤と液状製剤の両方がございまして、それぞれ賦形物質、希釈物質などの安全性に関して記載されていますが、ここは事務局に事実に基づいて簡潔に取りまとめていただいていますので、特に御指摘はないかと思えます。よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

14ページにお進みいただきまして、その他の試験ということで、皮膚刺激性試験と眼刺激性試験が行われていまして、眼刺激性はないと判断されていますけれども、一方で皮膚刺激性に関しては、15行目になります。本製剤はヒトの皮膚に対して刺激性であると判断したということで、取りまとめられています。この点に関しましてはいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

それでは、次に国際機関等における評価にお進みください。15ページです。

2行目に、EFSAにおける評価がありまして、20行目からJECFAにおける評価とあります。

事務局から詳細に御説明いただいた後で、JECFAの評価が16ページの1行目になりますけれども、実はここの文章がヒト1日当たりの必要タンパク質量が1 g/kg体重/日というところから、少し冗長な書き方になっているのですが、こちらに関しましても、食品添加物等ほかの専門調査会における資料の取りまとめの状況を確認しますと、3行目にあります1日食事ばく露量は1.5 mg TOS/kg体重/日という部分しか通常、記載しないということですので、上の2行は、本剤の評価書案としても削除いただく方向で考えております。

ただ、結論としましては、この1日食事ばく露量はラットを用いた亜急性毒性試験のNOAELと比較して、ばく露マージンは350倍となっています。この結論はきちんと明記するという形での取りまとめを進めたいと思いますが、この点に関しまして、先生方から御意見はございますか。よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

そうしましたら、9行目、FDAにおける評価、19行目、FSANZにおける評価ということで続いておりますけれども、特に御意見がないようでしたら、事務局にお渡しして、食品健康影響評価のほうに進みたいと思えます。

事務局、お願いいたします。

○水野評価専門官 1点だけ確認させていただいてよろしいでしょうか。

先ほど、消化試験の部分で、山中先生から、鶏、豚の胃での消化を考慮して実施されたものではなく、ヒトの胃での消化を考えた試験でしようという御意見をいただきまして、遺伝毒性試験の結果のまとめのところ、9ページの7行目なのですが、消化試験の

結果から本酵素は動物の消化管では消化されると考えられることから」という部分で、「動物の」と入れてあるのですけれども、こちらは「動物の」を削除したほうがよろしいでしょうか。

○山中専門委員 難しいですね。

○大倉課長補佐 先ほど座長からも、他の評価書等の記載を参考にしてくださいという御発言をいただきまして、事務局で最近、動物用医薬品専門調査会でタンパク質を有効成分とする免疫賦活剤の評価をした際には、「本酵素は消化管では消化されると考えられる」という記載しておりますので、並びをとらせていただく形で修正をさせていただければと思います。

○今井座長 ありがとうございます。

他の調査会との横並びでということで、今、山中先生から御考慮いただいたところではありますけれども、最終的には、本酵素は消化管では消化されるということで、取りまとめにさせていただきます。

その他のポイントで、よろしいでしょうか。

お願いいたします。

○山中専門委員 ちょっと戻るのですけれども、耐容性試験のところなのですけれども、何か問題があるということではなくて、逆に、これがプロテアーゼだということが、もしや毒性がということを考えなければいけないところだと思うのです。

胃の中では、酸性条件で分解されるけれども、特に鶏などでは、筋胃までがそういう条件ではない。それから人間も、食道までは別段、酸性でもない。分解するものもない。タンパク質はあるわけで、プロテアーゼが何か悪さをする可能性があるわけなのですけれども、でも実際に10倍量という耐容性の試験をやっていて、病的にも何の問題も起こらないということがわかっているというのが、このプロテアーゼについて言えば非常に大事なところだと思うのですが、この全体の流れの中では、それが必ずしも読めない。理由がわかっている人はそうだなと思えると思うのですけれども、何か書きようがないかなと思うのです。

○今井座長 お願いいたします。

○山添委員 山中先生が心配をしておられるのも尤もなのかもわからないのですけれども、肥料・飼料で最終的な安全の保障はヒトなのです。そうすると、鶏は消化管のところでは若干、加水分解が起きている可能性は完全には否定できないけれども、その鶏を食べたヒトのところには、吸収もされないのです。現実には、お肉の可食部のところには、このプロテアーゼは全然存在しないと考えられるわけですね。

そこなので、実際にはヒトの安全性については問題がないと、従来的にはタンパク質については判断をしてきたという経緯があります。

今回のものについても、特段、生体の中に取り込まれて、プロテアーゼが残るといってもないと考えられますし、可食部に限り問題はないと私は思うのですけれども、その辺

のところの懸念があるのであれば、その辺のところを記載することになる。

○山中専門委員 実には、鶏だというのが問題で、鶏の砂肝を食べるのです。砂肝の中にこのプロテアーゼが混ざっている餌が入って、もちろん洗うわけですがけれども、吸収されないということだけでは、実はヒトの口に入らないということが言えないのです。でも、実際にこのように鶏は大丈夫だったので、ヒトでも大丈夫だろうということが言えるということはあるのですが。

砂肝の中に入っていて、洗って、幾らの量でもない。もちろんそうなのです。でも、そういうことを調べていないので、どれだけ残るかがわからないのです。でも、どう考えても安全性に問題はないのですけれども。

○今田専門委員 砂肝は、生で食べるのですか。加熱するのですよね。そうしたら、プロテアーゼは失活しませんか。

○山添委員 失活します。

○今田専門委員 余り関係ないのではないですか。

○山中専門委員 ありがとうございます。

○今井座長 お願いいたします。

○荒川専門委員 専門ではないのでよくわからないのですけれども、10ページの亜急性毒性試験で、投与した中で4例が死亡しているけれども、その原因は、投与過誤によると考えられたというのですけれども、具体的にどのような投与過誤だと死んでしまうのかということの評価が記載されていないような気がします。それから、検査の中身が眼底検査とか血液の検査とか、そういうのが中心なのですけれども、実際、これは餌にまぜて食べさせるので、食道とか胃とか消化管の粘膜に対してどのような影響を及ぼしているのかどうかという試験が本当はあるといいかなという気がするのですが、14ページには、確かに皮膚刺激性試験とか眼の試験があるのですけれども、消化管に対する、特に消化管の粘膜とか、あるいはこれは固形製剤という形になっているので、恐らくペレットか何かにして、餌に混ぜたりしているのかなと推測するのですけれども、その場合、ペレットにしてあるものを袋に入れて運んでいけば、お互いにこすれて、一部は粉末になって、飛んで、それが餌を与えるときに家畜の呼吸器に吸引されて、気管支炎や、肺の炎症などをどの程度起こすかというデータがあると、この物質の安全性について理解しやすいかなという気がするのです。

そういう試験は、一般的にはこういうものの評価には必要ないと考えていいのか、どこかでもう実施していて、その点はクリアしているのか、その辺の状況を教えてもらえるとありがたいのです。

○今井座長 ありがとうございます。

実は今、御指摘いただいている議論の中で、私は荒川先生に御指摘いただいた投与過誤のところは付記すべき内容があることを失念していました。

一つ事務局にお願いなのですが、この投与過誤のところ、剖検所見、肉眼所見の

記載がある試験結果があると思うのですが、今、ブックの中で見つけられないので、そこを教えてくださいと思うのですけれども、どこでしたか。

○吉田委員 御指摘はあるのですけれども、死亡したというのは用量相関性がなく、500は死んでいませんね。

○今井座長 そこも重要なポイントだと思っています。

○吉田委員 重要なポイントですし、これは何よりもGLP試験でございますので、食道も含め、全てテストガイドラインに一致しておりますので、中身の有効性とかそういうものも全てGLPですので、SOPに従ったものが行われていると思います。ガイドラインにも多分、従っているでしょうし、荒川先生が御懸念の肺等も全て見ておりますし、食道も確かGLPのテストガイドラインの中の検査項目に入っていたと思います。

いかがでしょうか。

○大倉課長補佐 念のため参照資料をご覧いただきたいと思います。タブレットの参照10、添付資料20と記載されているファイルに結果が記載されております。

○今井座長 今、荒川先生に御指摘いただきました死亡例に関する記載は、今、御説明いただいたところに個別別の記載があります。

ただ、この記載を見ていただいて、御指摘があったのと類似している食道あるいは気管における肉眼所見があるという記載になっています。今、親委員の吉田先生からも御指摘いただいたところもありますので、まずは私のほうで取りまとめをさせていただきまして、それに対して先生方から御意見をいただきたいと思います。

結論的には、私自身も、事務局案としての評価書案10ページの11行目から14行目にかけて、最高投与量群の500.1 mgでは死亡例はないのですけれども、50 mgが1例、165 mgが雌雄各1例、同じ165 mg雌が瀕死状態になったという記載を見て、この記載について、これら死亡4例は投与過誤によると考えられたと。

何か根拠を加えたいなと思ひまして、私の追記案としては、剖検所見に基づき、投与過誤によると考えられたという文章にしたいと当初、思っておりました。

その理由は、先ほど申し上げた26/221ページでございますけれども、それぞれの死亡例につきまして、21番については、胸腔、42番に関しては、腹腔あるいは胸腔に水腫などが見られた。あるいは、次の51番に関しては、血塊が胸腔に見られたということで、投与過誤によることが十分に推察される肉眼所見があるので、先ほど申し上げた肉眼所見に基づき投与過誤によると考えられたとするという事。そして、これが投与に起因するものではないということに関しては、先ほど吉田委員からお話がありましたように、最高用量である500 mgでこのような投与過誤が示唆されるけれども、実際に死亡しているという死亡例は認められなかったということ。それと、荒川先生から御指摘があった眼試験とか、そういうものだけではなくて、評価書案の11ページ目の6行目にあります病理組織学的検査でも被験物質の影響は認められなかったという記載があることなどから、皮膚の刺激性は確かに陽性の結果が出ていますけれども、少なくともラットに投与した際の毒性に関し

ては、何ら認められていないということで、毒性学的観点からのこの剤の懸念される毒性はないということ。それに加えて、先ほどから御議論いただいていますように、食品健康影響評価という観点から、最終的にヒトの口に入るということで、加熱などのプロセスも経るであろうということを踏まえて、ヒトへの健康影響に関しては懸念される事項はないという形に結論づけられると思っています。

したがって、先生方に御意見いただきたいのは、今、申し上げたヒトへの健康影響評価に関しては懸念がなかろうということが一つと、もう一つは具体的な各論になりますけれども、10ページ目の13行目、投与過誤という前に、肉眼所見、剖検所見に基づいて投与過誤によると考えられたという文章にするということ。

2点に関しまして、先生方から御意見をいただきたいと思えますけれども、いかがでしょうか。

本当でしたら、中山先生、吉田敏則先生から、御意見をいただきましたかったですけれども本日はご欠席です。内容的に病理学的な観点が含まれていますので、吉田緑先生に、今の10ページの13行目に肉眼所見に基づきと一言入れることに関して御意見をお伺いしたいです。

○吉田委員 今井座長のおっしゃったとおりだと思います。4匹というのは、数としてはもう少し普通は少ないだろうとは思いますが、今、今井座長がおっしゃったような形で入れることで、読む方に誤解を招かないのであれば。

これはどうも固形ではなくてBrownish liquidと書いてありますので、粉末として飛ぶということは余りないのかもしれませんが。

今井先生の御提案に賛同いたします。

○今井座長 ありがとうございます。

座長の不手際で、一旦、健康影響評価の前まで進みながら、色々御議論いただきまして、大変ありがとうございます。

さらに追加の御発言がなければ、事務局のほうで食品健康影響評価にお進みいただければと思います。よろしく願いいたします。

○荒川専門委員 用語のことなのですが、16ページの22行目は、英語で書けば「spore」なのですが、こういう菌の場合は芽胞ということを一般的に使うので、カビとかそういうものは孢子と訳しますが、細菌の場合は一般的には芽胞なので、芽胞というほうがいいかと思います。

○今井座長 今の点、事務局はよろしいですか。

今回これを「芽胞」とするということであれば、他の専門調査会の記載も随時、検討いただければと思いますので、よろしく願いいたします。

その他、よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

それでは、事務局から引き続きの説明をお願いいたします。

○水野評価専門官 それでは、17ページの「IV. 食品健康影響評価」を御説明いたします。

2行目から始まります最初の段落につきましては、飼料への推奨添加量を記載しております。

6行目からにつきましては、体内動態及び残留試験が実施されておりましたが、人工胃液による消化試験で30分間の処理で本酵素は消化されたということを記載しております。

9行目からは遺伝毒性試験の結果をまとめております。結論として、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えたとしております。

12行目からは、ラットの13週間亜急性毒性試験において、投与による毒性所見は見られなかったことから、本試験におけるNOAELは最高用量の500.1 mg TOS/kg体重/日(287,469 PROT/kg体重/日相当)であったとしております。

16行目からは、先ほどの鶏の耐容性試験ですけれども、推奨用量の10倍量を混餌投与しても、投与による悪影響はみられなかったとしております。

また、製剤に含まれている物質につきましては、その使用状況等を考慮しまして、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できる程度と考えたとしております。

22行目は、JECFAの食品添加物の評価でございますが、ADIを設定する必要がないとされていると記載しております。

26行目からが結論になりまして、以上のことから、*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼが飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えたとしております。

29行目からのなお書きにつきましては、遺伝子組換えの評価要請に基づきまして、その評価結果も踏まえる必要があるということを記載しております。

以上になります。

○今井座長 ありがとうございます。

ただいま事務局から御説明がありまして、繰り返しになりますので、私からは特に申し上げることはございませんけれども、この結論に関しまして、先生方、御議論いただければと思いますけれどもいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

ありがとうございます。

そうしましたら、結論に入りたいと思います。

最終的な結論としまして、*Bacillus licheniformis* JPBL001株が生産するアルカリ性プロテアーゼを原体とする飼料添加物については、適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えたという結論にさせていただきます。

一部評価書案の修正はございますけれども、事務局で適切な修正等を加えていただきまして、作業を進めていただければと思います。よろしく願いいたします。

○荒川専門委員 1点だけ済みません。先ほどの16ページの22行目ですけれども、生産菌

であるこの株は、JPBL001株と株名を書いておいたほうがいい。多くの株は芽胞をつくつたりしますので、株名を書かないと、一般的にこういうふうだと読めてしまいますので、株名もここに書きこんだほうがいいかと思います。

○今井座長 確認ですけれども、同じパラグラフの24行目にも「さらに、*B. licheniformis* は、既に承認されている数多くの加工助剤目的の酵素の生産菌として安全に使用されてきた歴史がある」という記載は一般的な記載だと認識していますので、こちらはこのままでよろしいという理解です。

22行目にあります「生産菌である*B. licheniformis*は」というところを一般的な名称とするか、荒川先生から御指摘いただきましたようにJPBL001株と特定するかということです。お願いいたします。

○山添委員 これはFSANZの記述をそのまま写しているもので、こちらの意見ではないので。

○今井座長 ありがとうございます。

○荒川専門委員 生産菌であるという言葉で株が特定されるという理解であれば、これでいいかもしれません。

○山添委員 先生のおっしゃることが科学的に正しいと思うのですがけれども、他の機関の文章を勝手に変えるわけにはいきませんので、御容赦願いたいと思います。

○今井座長 そうしましたら、先ほど結論を述べさせていただいたところですがけれども、もし、さらに追加で御発言があれば、よろしくお願いいたします。よろしいでしょうか。

大変申しわけございません。進行の不手際で、十分御意見が出切らないところで結論を申し上げましたけれども、2回繰り返すことになるのはよろしいかと思いますので、先ほどの結論で本会を終了したいと思います。

それでは、引き続き、議事の「(2) その他」に入らせていただきます。

その他について、事務局からございますか。

○大倉課長補佐 特にございません。

次回の肥料・飼料等専門調査会は、3月23日金曜日の午後を予定しております。

議題等に関しましては、改めて御連絡を差し上げますので、またどうぞよろしくお願いいたします。

○今井座長 これで、本日の議事は全て終了いたしました。

以上をもちまして、閉会いたします。どうもありがとうございました。

(了)