

25-ヒドロキシコレカルシフェロール  
概要書

2019（平成 31）年 2 月 15 日

〔申請者〕

D S M株式会社

〔開発者〕

D S M

## 《目 次》

	頁
はじめに-----	1
I. 添加物の概要-----	2
1. 名称及び用途-----	2
(1) 名称-----	2
(2) CAS 登録番号-----	2
(3) 用途-----	2
2. 起源又は発見の経緯-----	2
3. 我が国及び諸外国における 25(OH)D <sub>3</sub> の使用状況（関連物質「ビタミンD」を含む）	2
(1) 日本-----	2
(2) コーデックス委員会-----	3
(3) EU-----	3
(4) 米国-----	3
(5) カナダ-----	3
(6) オーストラリア・ニュージーランド-----	4
4. 我が国及び国際機関等による 25(OH)D <sub>3</sub> の評価（関連物質「ビタミンD」を含む） --	4
(1) 安全性評価-----	4
① 日本-----	4
② FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）-----	6
③ EU-----	6
④ 米国-----	6
⑤ オーストラリア・ニュージーランド-----	7
⑥ 国際栄養補助食品協会団体連合（IADSA）-----	7
⑦ 米国栄養評議会（CRN）-----	8
⑧ 英国ビタミン・ミネラル専門委員会（EVM）-----	8
(2) 我が国及び諸外国におけるビタミンDの食事摂取基準-----	9
① 日本-----	9
② EU（EFSA）-----	10
③ 米国（National Academy of Medicine（米国医学アカデミー））-----	10
④ オーストラリア・ニュージーランド（NHMRC・MoH）-----	11
5. 物理化学的性質-----	11
(1) 構造式-----	11
① 構造式-----	11
② 分子式及び分子量-----	11
(2) 製造方法-----	11
(3) 成分規格-----	12

① 成分規格案-----	12
② 試薬・試液-----	15
③ 成分規格案の設定根拠-----	16
④ 試験法の検証データ及び試験成績書-----	17
(4) 食品添加物の安定性-----	17
(5) 食品中の食品添加物の分析法-----	18
6. 使用基準案-----	18
(1) 使用基準案-----	18
(2) 使用基準案の設定根拠-----	19
7. 食品中での安定性-----	19
(1) 長期安定性試験（加速試験）-----	19
(2) 実用性試験-----	20
(3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響-----	20
II. 安全性に係る知見-----	20
1. 体内動態試験（関連物質「ビタミンD」を含む）-----	20
(1) ヒトの体内動態-----	20
① ビタミンDの代謝-----	20
② 25(OH)D <sub>3</sub> の体内動態-----	21
(2) 動物を対象とした薬物動態試験-----	22
2. ヒトにおける知見-----	24
(1) ヒトを対象にした 25(OH)D <sub>3</sub> の投与試験-----	24
① 25(OH)D <sub>3</sub> 50 μg/日投与-----	24
② 25(OH)D <sub>3</sub> 20 ～約 40 μg/日投与-----	25
③ 25(OH)D <sub>3</sub> 7、20 μg/日投与-----	26
④ 25(OH)D <sub>3</sub> 20 μg/日投与-----	27
⑤ 25(OH)D <sub>3</sub> 20 μg/日投与-----	27
⑥ 25(OH)D <sub>3</sub> 15 μg/日投与-----	28
⑦ 25(OH)D <sub>3</sub> 10 μg/人/日投与-----	29
⑧ 25(OH)D <sub>3</sub> 10 μg/人/日投与-----	29
⑨ 25(OH)D <sub>3</sub> 20 μg/日、140 μg/週、140 μg 単回投与-----	30
⑩ 25(OH)D <sub>3</sub> 1.5～10.0 μg/kg 体重 単回経口投与-----	31
(2) 血中 25(OH)D 濃度による評価-----	31
(3) ヒトにおける知見のまとめ-----	32
3. 毒性試験-----	34
(1) 急性毒性試験-----	34
(2) 亜急性毒性試験-----	34
① 90日間反復投与毒性試験-----	34
② 6ヶ月間反復投与毒性試験-----	35

(3) 慢性毒性及び発がん性試験-----	35
(4) 生殖発生毒性試験-----	35
① 生殖毒性試験 (ラット) -----	35
② 発生毒性試験 (ラット) -----	36
③ 発生毒性試験 (ラット) -----	36
④ 発生毒性試験 (ラット) -----	36
⑤ 発生毒性試験 (ウサギ) -----	37
(5) 遺伝毒性試験-----	37
4. 一日の摂取量の推計等-----	38
(1) 食品中からの一日推定摂取量-----	38
(2) 指定後添加物としての一日推定摂取量 (サプリメントを除く) -----	39
(3) 指定後添加物としてのサプリメントからの一日推定摂取量-----	40
(4) 一日推定摂取量のまとめ-----	40
III. 引用文献-----	41

別紙1 ヒトを対象とした 25(OH)D<sub>3</sub> 投与試験のエビデンステーブル

はじめに

本申請品目である 25-ヒドロキシコレカルシフェロール（以下、「25(OH)D<sub>3</sub>」という。）は、摂取または体内合成されたコレカルシフェロール（以下、「ビタミン D<sub>3</sub>」という。）が肝臓中で、25-ヒドロキシラーゼにより水酸化された代謝物であり、さらにこの 25(OH)D<sub>3</sub> が腎臓に送られ、1 位が水酸化された 1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール（以下、「1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>」という。）に代謝され、カルシウムの吸収・維持などの生理機能を有するようになる。また、食品からのビタミン D 摂取源にはエルゴカルシフェロール（以下、「ビタミン D<sub>2</sub>」という。）もあるが、体内ではビタミン D<sub>3</sub> と同様に代謝される（引用文献 1、ビタミンの事典（1996））。

近年、高齢化に伴い、骨粗鬆症に対する関心が高まるなか、小腸及び腎臓でのカルシウムとリンの吸収促進作用と骨形成作用のあるビタミン D（ビタミン D<sub>2</sub> 及びビタミン D<sub>3</sub>）は、健康維持に欠かせない栄養素の一つである（引用文献 2、「日本人の食事摂取基準（2015 年版）」策定検討報告書（2015））。

厚生労働省策定の「日本人の食事摂取基準」では、ビタミン D の摂取量を反映する血清 25-ヒドロキシビタミン D（以下、「25(OH)D」いう。）濃度及びビタミン D 欠乏により上昇する血清副甲状腺ホルモン（以下、「PTH」いう。）濃度を栄養生化学的な指標とし、骨折や骨粗鬆症予防の観点から、血清 PTH 濃度が上昇しない血中 25(OH)D 濃度を維持するのに必要なビタミン D 摂取量を根拠として、成人（18 歳以上）の目安量が 5.5  $\mu$ g/日に設定されている。（引用文献 2、「日本人の食事摂取基準（2015 年版）」策定検討報告書（2015）、引用文献 3、「日本人の食事摂取基準（2010 年版）」策定検討報告書（2010））。

日本では、ビタミン D<sub>2</sub> 及びビタミン D<sub>3</sub> が食品添加物公定書に記載され（引用文献 4、第 9 版食品添加物公定書（2018））、また、栄養機能食品成分としても規格基準が設定され、骨形成を助ける旨の栄養機能表示が認められており、種々の食品や栄養機能食品に使用されている（引用文献 5、食品表示基準における栄養機能食品とは（2018））。

日本内分泌学会では、血清 25(OH)D 濃度と骨及びミネラルとの相関における日本のデータを収集、分析し、世界で公表されたガイドラインと統合し、ビタミン D が充足していると判断する血清 25(OH)D 濃度は 30 ng/mL（75 nmol/L（要請者による換算））以上であると提言した（引用文献 6、Okazaki ら（2017））。しかし、Nakamura らが、新潟県内の 9,084 人の成人を対象に、ビタミン D の充足率を調査した結果、血漿 25(OH)D 濃度が 30 ng/ml（75 nmol/L）を超えた割合は僅か 9.1%であった（引用文献 7、Nakamura ら（2015））。「II. 2. ヒトにおける知見」項で述べているように、血清 25(OH)D 濃度はビタミン D<sub>3</sub> や 25(OH)D<sub>3</sub> 摂取により増加するが、25(OH)D<sub>3</sub> 摂取の方が増加量が多いことが観察されている。ビタミン D<sub>3</sub> の代謝物である 25(OH)D<sub>3</sub> は、食品や添加物由来ビタミン D と比較すると肝臓中の酵素活性に左右されないことから、吸収後効率的且つ迅速に血清 25(OH)D 濃度の増加・維持をもたらすため、ビタミン D<sub>3</sub> の代替用栄養成分としての利用が考えられる。

弊社では、我が国を含め諸外国において飼料添加物としての認可を受けてきたが（I. 3 項参照）、生産能力向上により食品添加物やサプリメント用原料としての供給も可能になった。現在、日本では 25(OH)D<sub>3</sub> の食品やサプリメントへの添加は許可されていないため、食品添加物の新規指定を要請するものである。

## I. 添加物の概要

### 1. 名称及び用途

#### (1) 名称 (引用文献 9、官報 (2016))

和名 : 25-ヒドロキシコレカルシフェロール

英名 : 25-hydroxycholecalciferol

化学名 : (1S,3Z)-3-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-1-[(2R)-6-hydroxy-6-methylheptan-2-yl]-7a-methyl-2,3,3a,5,6,7-hexahydro-1H-inden-4-ylidene]ethylidene]-4-methylidenecyclohexan-1-ol monohydrate

#### (2) CAS 登録番号

63283-36-3

#### (3) 用途

栄養強化剤

### 2. 起源又は発見の経緯

1960年代よりビタミンD<sub>3</sub>の合成が可能になり、生体内におけるビタミンD<sub>3</sub>の動態が観察されるようになった。その後25(OH)D<sub>3</sub>が単離・同定され、ビタミンD<sub>3</sub>の生体内代謝産物であることが判明し、さらにこの25(OH)D<sub>3</sub>が、腎臓で1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>等に代謝され、生理機能を有することが解明された。同時に25(OH)D<sub>3</sub>及び1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の化学的合成法が確立された(引用文献10、ビタミン学I(1980))。

25(OH)D<sub>3</sub>は、1970年代米国で医薬品として開発され、その後諸外国で医薬品及び飼料添加物として利用されている(I.3項参照)。

1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>は、ビタミンD代謝異常疾患の諸症状の改善薬として1985年に国内で医薬品として承認されている(引用文献11、活性型ビタミンD<sub>3</sub>製剤(2015))。

### 3. 我が国及び諸外国における25(OH)D<sub>3</sub>の使用状況 (関連物質「ビタミンD」を含む)

#### (1) 日本

##### ①25(OH)D<sub>3</sub>

飼料添加物としての使用が認められているが(引用文献9、官報(2016))、食品添加物としては認可されていない。

##### ②ビタミンD

ビタミンD<sub>2</sub>及びビタミンD<sub>3</sub>が食品添加物公定書に記載されており、使用基準は設定されていない(引用文献4、第9版食品添加物公定書(2018))。また栄養機能食品成分としても規格基準が設定され、骨形成を助ける旨の栄養機能表示が認められており、種々の食品や栄養機能食品に使用されている。ビタミンDの栄養機能食品としての規格基準は、1日当たりの摂取目安量に含まれる栄養成分量の下限値が1.65  $\mu$ g、上限値が5.0  $\mu$ gである(引用文献5、食品表示基準における栄養機能食品とは(2018))。

## (2) コーデックス委員会

### ①25(OH)D<sub>3</sub>

コーデックスの食品添加物一般規格 (General Standard for Food Additives (以下、「GSFA」という。))のリストには収載されておらず、食品添加物として規定されていない(引用文献12、GSFA online Food Additive Index (2018))。

### ②ビタミンD

GSFA では、栄養素は食品添加物の定義に該当しないため (引用文献 13、GSFA、Codex (2017))、食品添加物として規定されていない (引用文献 12、GSFA online Food Additive Index (2018 年))。

## (3) EU

### ①25(OH)D<sub>3</sub>

食品・栄養成分としての使用は認められていないが、飼料添加物として認可されており、使用基準が設けられている (引用文献 14、EC 887/2009 (2009))。また、欧州薬局方 (European Pharmacopoeia (以下、「EP」という。)) に収載されており (名称: Calcifediol)、医薬品として承認されている (引用文献 15、EP9.0 (2017))。

### ②ビタミンD

EU ではビタミン等の栄養素は食品添加物として定義されていないため(引用文献 16、EC 1333/2008 (2008))、食品添加物としての規定はない。

## (4) 米国

### ①25(OH)D<sub>3</sub>

食品添加物としての使用は認められていない (引用文献 17、Food Additive Status List(2018)) が、一般に安全と認められる物質 (Generally Recognized As Safe (以下、「GRAS」という。)) として飼料添加物としての使用が認められている (引用文献 18、21CFR Part584 (2007))。また、米国薬局方 (United States Pharmacopoeia (以下、「USP」という。)) に収載 (名称: Calcifediol) されており (引用文献 19、USP41 (2018))、医薬品として承認されている。

### ②ビタミンD

ビタミンD (ビタミンD<sub>2</sub>及びビタミンD<sub>3</sub>) は食品添加物として食品への添加が認められており、使用基準が設定されている (引用文献 17、Food Additive Status List(2018))。GRAS 物質としても認められており、ビタミンD<sub>2</sub>及びビタミンD<sub>3</sub>それぞれが連邦規制集 (Code of Federal Regulations (以下、「CFR」という。)) に収載されている (引用文献 20、CFR(2018))。

## (5) カナダ

### ①25(OH)D<sub>3</sub>

医薬品として承認されている (引用文献 79、Health Canada- Prescription Drug List (2018))。

カナダでは医薬品に承認された成分はサプリメントに使用することが出来ない(引用文献 80、Health Canada-Natural Health Products regulations (2018))。

## ②ビタミンD

医薬品やサプリメントに使用が許可されており、使用基準が設定されている(引用文献 21、Health Canada-Vitamin D (2007))。

### (6) オーストラリア・ニュージーランド

#### ①25(OH)D<sub>3</sub>

Food Standards Code の食品添加物リストには記載されておらず(引用文献 22、Schedule 8 (2017))、食品への添加が認められているビタミン・ミネラルのリストにも記載されていない(引用文献 23、Schedule 17 (2017))。また医薬品としても承認されていない。

オーストラリアでは、飼料用途については、用途が栄養補助である場合や、EU で飼料添加物として認可されている、または米国 21CFR584 に記載されている物質については、申請せずに使用が可能である(引用文献 24、Animal Feed Products (2016))。

## ②ビタミンD

Food Standards Code では食品に添加出来るビタミン・ミネラルが規定されており(引用文献 25、Standard 1.3.2 (2017))、ビタミンDについては、ビタミンD<sub>2</sub> (ergocalciferol)及びビタミンD<sub>3</sub> (cholecalciferol)が許可されている。また、食品により最大使用量が設定されている(引用文献 23、Schedule 17 (2017))。

## 4. 我が国及び国際機関等による 25(OH)D<sub>3</sub> の評価 (関連物質「ビタミンD」を含む。)

### (1) 安全性評価

#### ①日本

##### 1)25(OH)D<sub>3</sub>

食品添加物「25(OH)D<sub>3</sub>」としての評価はなされていないが、2014年に食品安全委員会において、25(OH)D<sub>3</sub>の前駆体である飼料添加物「カルシフェロール」及び飼料添加物「25-ヒドロキシコレカルシフェロール」が評価され以下のとおりまとめられている(引用文献 26、動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書 カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール (2014))。

『(引用開始) カルシフェロールは、抗くる病作用を持つ脂溶性ビタミンであり、紫外線の照射を受けてヒトの体内でも生合成される。また、魚肉、バター、卵黄等に含まれており、通常食品を通じて摂取されている。

カルシフェロールはしばしば、過剰投与の害が問題になる。しかし、通常の食事では過剰量のカルシフェロールを摂取することはなく、補助的なサプリメントなどによる過剰摂取によりカルシフェロール過剰症が起こる可能性が高いとされている。



EFSA<sup>1</sup>では、家畜及び家きんの飼料中のコレカルシフェロールの含有量について評価されており、現在認められている最大量のコレカルシフェロールを飼料に添加しても UL<sup>2</sup>を超えないと結論付けている。また、EFSA では、各年齢層における UL は、高 Ca 血症をカルシフェロールの毒性の指標として設定されているが、欧州 14 か国の調査におけるカルシフェロールの摂取のデータから、多量に摂取するヒトにおいても、その摂取量はどの年齢層でも UL 未満であることが示されている。

EMEA<sup>3</sup> では、動物用医薬品としては短期的な治療のためだけに使用され、投与された動物が治療中又は治療直後に食用に供されることは考えにくく、MRL<sup>4</sup>を設定する必要はないとされている。

さらに、カルシフェロールは我が国における飼料添加物、食品添加物等、様々な分野で使用されており、その使用実績においてもこれまでに安全性に関する特段の問題は認められていない。

これらのことから、食品を介してヒトがカルシフェロールを過剰に摂取することはないと考えられる。また、カルシフェロールを含む食品について、長年の食習慣における弊害も認められていない。

25-ヒドロキシコレカルシフェロールは、コレカルシフェロールの代謝物であり、その毒性についてはカルシフェロールより強いとは考えられない。また、食品を介してヒトが 25-ヒドロキシコレカルシフェロールを過剰に摂取することはないと考えられる。

以上のことから、カルシフェロール及び 25-ヒドロキシコレカルシフェロールは、動物用医薬品及び飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものであると考えられる。(引用終わり)』

## 2) ビタミン D

厚生労働省策定の「日本人の食事摂取基準」では、血清 25(OH)D<sup>5</sup>濃度はビタミン D<sup>6</sup>の摂取量を反映するが、血清 25(OH)D 濃度が上昇しても必ずしも過剰摂取による健康障害が見出されない場合もあるため、高カルシウム血症を指標として、以下のように成人（18 歳以上（高齢者、妊婦・授乳婦を含む）の耐用上限量を 100  $\mu\text{g}$ /日に設定している（引用文献 2、「日本人の食事摂取基準（2015 年版）」策定検討報告書（2015））。

『(引用開始) 250  $\mu\text{g}$ /日未満では高カルシウム血症の報告はみられないため、これを健康障害非発現量とし、アメリカ・カナダの食事摂取基準に準拠して、不確実性因子を 2.5 として、耐容上限量を 100  $\mu\text{g}$ /日とした。さらに、1,250  $\mu\text{g}$ /日にて高カルシウム血症を来した症例報告があり、これを最低健康障害発現量とし、不確実性因子を 10 として耐容上限量を算出しても、ほぼ同等の値となることから、上記の算定はほぼ妥当なものと考えられた。なお、性別及び年齢階級ごとの違いは考慮しなかった。

現在までのところ、高齢者における耐容上限量を別に定める根拠がないことから、成人と同じ 100  $\mu\text{g}$ /日とした。妊婦に対して、100  $\mu\text{g}$ /日までの介入を行った研究において、高カルシウム血症を

<sup>1</sup> European Food Safety Authority (以下、「EFSA」という。)

<sup>2</sup> Tolerable Upper Intake Level : 許容上限摂取量 (以下、「UL」という。)

<sup>3</sup> The European Medicines Agency : 欧州医薬品審査庁

<sup>4</sup> Maximum Residue Levels : 最大残留基準値

<sup>5</sup> 「25-ヒドロキシビタミン D」 と表記されている。

<sup>6</sup> ビタミン D<sub>2</sub> 及びビタミン D<sub>3</sub>

含む健康障害を認めなかったと報告されている。また特に、妊婦・授乳婦に高カルシウム血症発症リスクが高いという報告がないことから、成人（妊婦・授乳婦除く）と同じ 100  $\mu\text{g}$ /日を耐容上限量とした。（引用終わり）』

## ②FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）

### 1)25(OH)D<sub>3</sub>

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（以下、「JECFA」という。）では 25(OH)D<sub>3</sub> の安全性評価は行われていない（引用文献 27、JECFA データベース検索結果（2018 年 1 月））。

### 2)ビタミン D

ビタミン D（ビタミン D<sub>2</sub> 及びビタミン D<sub>3</sub>）についての安全性評価は行われていない（引用文献 28、JECFA データベース検索結果（2018 年 1 月））。

## ③EU

### 1)25(OH)D<sub>3</sub>

EFSA では食品添加物としての安全性評価は行われていない。

2009 年、家禽及び豚用の飼料に添加される飼料添加物としての再評価が行われ、毒性については、動物実験（*in vivo*）をレビューした結果、ビタミン D またはその代謝物が生理学的に過剰になった場合と完全に一致し、物質の供給源または製造方法から生じる新たな毒性が生じるとは考えにくい。25(OH)D<sub>3</sub><sup>7</sup>を添加した飼料で飼育された動物を摂取することによる、25(OH)D<sub>3</sub> の摂取量については、現実的な消費量から算出した推定摂取量が、成人（11 歳以上）において当時の UL（50  $\mu\text{g}$ /日）の 24 % であり、承認されている最大使用量（鶏・七面鳥の肥育用：0.100 mg/kg、その他の家禽：0.080 mg/kg、豚：0.050 mg/kg）であっても、ヒトの健康に悪影響を及ぼす危険はないと結論付けられた（引用文献 29、EFSA（2009））。

### 2)ビタミン D

欧州委員会（European Commission：以下「EC」という。）からビタミン D<sup>8</sup>の安全性評価の見直しとそれに伴う UL の再設定の依頼を受け、EFSA では 2012 年に再評価及び UL の見直しを行った。ヒトを対象とした二つの試験において、ビタミン D<sub>3</sub> の 234 ~ 275  $\mu\text{g}$ /日投与で高カルシウム血症が確認されなかったため、250  $\mu\text{g}$ /日を NOAEL<sup>9</sup>に設定した。これらの試験の不確定要素を考慮して、妊婦及び授乳婦を含む成人におけるビタミン D の UL を 100  $\mu\text{g}$ /日に設定した（引用文献 30、EFSA（2012））。

## ④米国

### 1)25(OH)D<sub>3</sub>

アメリカ食品医薬品局（Food and Drug Administration（以下、「FDA」という。）では食品添加物

<sup>7</sup> 文献では「25-hydroxycholecalciferol」または「25-OH-D<sub>3</sub>」と表記されている。

<sup>8</sup> 「ビタミン D<sub>2</sub>」及び「ビタミン D<sub>3</sub>」

<sup>9</sup> No Observed Adverse Effect Level：無毒性量（以下、「NOAEL」という。）

としての安全性評価は行われていない。

2007年、飼料添加物の評価の際に、申請者が提出したウサギでの発生毒性試験において、25(OH)D<sub>3</sub><sup>10</sup>を25 μg/kg体重/日以上との投与で催奇形性を示すことから、ウサギがビタミンDに対して極めて感受性が高い動物種である点を考慮し、NOAEL 5 μg/kg体重/日に対し安全係数100を用い、25(OH)D<sub>3</sub>のADI（一日摂取許容量：Acceptable Daily Intake）を0.05 μg/kg体重/日とする見解を示した。

さらに、25(OH)D<sub>3</sub>はブロイラー飼料においてビタミンDの適切な供給源であり、使用量が餌で69 ppb以下、または飲料水で34.5 ppb以下であれば、鶏のみでなく、その鶏を消費するヒトに対しても安全であり、使用基準の範囲内であればGRASとしても認められると結論付けた。本評価は、食品添加物の評価に用いられるものと同レベルのデータに基づき評価された。25(OH)D<sub>3</sub>は、ビタミンD<sub>3</sub>の代謝物であり、体内に蓄積しないので毒性レベルまで達せず、ビタミンDより安全な栄養補助食品になりうるとする専門家の見解も支持された（引用文献18、21CFR Part584（2007））。

## 2) ビタミンD<sup>11</sup>

Institute of Medicine（米国医学研究所。以下、「IOM」という。現在は「National Academy of Medicine（米国医学アカデミー）」に改称。）では、高カルシウム血症及び血清25(OH)D<sup>12</sup>濃度を指標とし、NOAELは10,000 IU/日と考えられ、血清25(OH)D濃度は約125～150 nmol/Lを超えるべきではないと結論付けた。不確定要素を考慮した結果、ビタミンDのULは成人（19歳以上）で4000 IU/日（100 μg/日）に設定された（引用文献31、DRI for Calcium and Vitamin D（2011））。

### ⑤ オーストラリア・ニュージーランド

#### 1) 25(OH)D<sub>3</sub>

Food Standards Australia New Zealand（以下、「FSANZ」という。）の評価リストや現在評価中のリストに25(OH)D<sub>3</sub>に係るものはなく、安全性評価は行われていない（引用文献32、Finalised applications（2018年））。

#### 2) ビタミンD

オーストラリア国家保健医療研究会議（Australian National Health and Medical Research Council（以下、「NHMRC」という。））とニュージーランド保健省（New Zealand Ministry of Health（以下、「MoH」という。））では、健常者にビタミンD<sub>3</sub> 100 μg/日を5ヶ月投与し、悪影響が認められなかった試験結果をもとにビタミンDのNOAELを100 μg/日に設定した。不確定係数(Uncertainty Factor（以下、「UF」という。））を1.2として、乳児を除く全ての年齢層のULを80 μg/日に設定した（引用文献33、NRV for ANZ including RDI（2006））。

### ⑥ 国際栄養補助食品協会団体連合（IADSA）

#### 1) 25(OH)D<sub>3</sub>

国際栄養補助食品協会団体連合（The International Alliance of Dietary / Food Supplement

<sup>10</sup> 文献では「25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>」または「25-OH D<sub>3</sub>」と表記されている。

<sup>11</sup> 「Calciferol」と注釈されている。

<sup>12</sup> 「25(OH)D<sub>2</sub>」及び「25(OH)D<sub>3</sub>」と注釈があり、「25OHD」と表記されている。

Associations (以下「IADSA」という。)) では 25(OH)D<sub>3</sub> の安全性評価は行われていない。

## 2) ビタミン D

IADSA は 2007 年以降に公表されたビタミン D の安全性評価に関する観察臨床試験及びビタミン D の毒性に関する症例報告からビタミン D<sup>13</sup> のリスク評価を行った。適切にデザインされた臨床試験において 250 μg/日投与で有害事象が発現せず、これより低用量でも高用量でも有害事象が発現しなかったことから、250 μg/日を NOAEL とすることは妥当であり、信頼性が高いデータであるとしている。また、ビタミン D<sub>3</sub> を 1,925 μg/日投与で血清 25(OH)D 濃度が約 600 nmol/L を示し、高カルシウム血症を発症した試験データから、1,925 μg/日を LOAEL 推定値とみなすことができ、250 μg/日から UL を算出する際の UF 値は 1.0 と決定している。

関係当局が改定 UL として設定すべきと結論づけた 250 μg/日を修正すべきという根拠は見当たらず、この値を推奨 UL として定めるべきであると結論付けた (引用文献 34、ビタミン D のリスク評価：最新情報 (2009))。

## ⑦ 米国栄養評議会 (CRN)

### 1) 25(OH)D<sub>3</sub>

米国栄養評議会 (Council for Responsible Nutrition (以下、「CRN」という。)) では 25(OH)D<sub>3</sub> の安全性評価は行われていない。

## 2) ビタミン D

CRN におけるビタミン D のリスク評価では、健常な成人男性 67 名を対象に、5 ヶ月間にわたりビタミン D<sub>3</sub> を 250 μg/日経口投与した結果、血清カルシウム濃度に影響を及ぼさなかった試験を参照して、250 μg/日を NOAEL に設定した。CRN では、250 μg/日の摂取による安全性は高いものであり、不確定因子による補正の必要はないと考え、サプリメントとしての UL を 250 μg/日に設定した (引用文献 35、Vitamin and Mineral Safety 3<sup>rd</sup> Edition (2014))。

## ⑧ 英国ビタミン・ミネラル専門委員会 (EVM)

### 1) 25(OH)D<sub>3</sub>

英国ビタミン・ミネラル専門委員会 (Expert Group on Vitamins and Minerals : 以下、「EVM」という。)) では 25(OH)D<sub>3</sub> の安全性評価は行われていない。

## 2) ビタミン D

EVM によるビタミン D のリスク評価では、サプリメントとしての UL を設定するための十分なデータがないとし、UL 値ではなくガイダンスを示している。成人 63 名を対象にビタミン D 10 μg/日を 5 ヶ月間投与し、血清カルシウム濃度への影響がなかった試験と、高齢者女性 63 名を対象にビタミン D を 10 μg/日投与したところ、2 名に高カルシウム血症 (血清カルシウム濃度 >2.75 mmol/L) が

<sup>13</sup> ビタミン D<sub>2</sub> 及びビタミン D<sub>3</sub>

発症した試験結果を参照し、一般集団に悪影響を及ぼさないであろう用量を 25  $\mu\text{g}$ /日とし、ガイドンスレベルとしてサプリメントからの上限摂取量に設定した（引用文献 36、Safe Upper Levels for Vitamins and Minerals (2003)）。

## （2）我が国及び諸外国におけるビタミン D の食事摂取基準

### ① 日本

25(OH)D<sub>3</sub> の食事摂取基準は策定されていないが、ビタミン D について、食事摂取基準が表 1 のように設定されている。

厚生労働省策定の「日本人の食事摂取基準」では、ビタミン D の摂取量を反映する血清 25(OH)D 濃度及びビタミン D 欠乏により上昇する血清 PTH 濃度を栄養生化学的な指標とし、骨折や骨粗鬆症予防の観点から、血清 PTH 濃度が上昇しない血清 25(OH)D 濃度を維持するのに必要なビタミン D 摂取量を根拠として、目安量が設定されている。「日本人の食事摂取基準（2010 年版）」において、ビタミン D 充足状態と見なされる血清 25(OH)D 濃度 50 nmol/L を維持するため、成人（18 歳以上）のビタミン D 目安量が 5.5  $\mu\text{g}$ /日と策定された（引用文献 3、「日本人の食事摂取基準（2010 年版）」策定検討報告書（2010））。「日本人の食事摂取基準（2015 年版）」においては、日照による皮膚でのビタミン D 産生についても検討された。12 月の札幌では正午前後の 2 時間の日照を受けると約 7.5  $\mu\text{g}$  のビタミン D<sub>3</sub> が産生されると考えられるが、日本人の平均的な日照への暴露時間などのデータは乏しい。地域差や個人差など考慮すべき要因が多岐にわたることからも、「日本人の食事摂取基準（2010 年版）」で策定された目安量を変更すべきとする科学的根拠はないと判断され、5.5  $\mu\text{g}$ /日を目安量としている（引用文献 2、「日本人の食事摂取基準（2015 年版）」策定検討報告書（2015））。

表 1. 日本におけるビタミン D の食事摂取基準（ $\mu\text{g}$ /人/日）

性別 年齢等	男性		女性	
	目安量	耐容上限量	目安量	耐容上限量
0～5（月）	5.0	25	5.0	25
6～11（月）	5.0	25	5.0	25
1～2（歳）	2.0	20	2.0	20
3～5（歳）	2.5	30	2.5	30
6～7（歳）	3.0	40	3.0	40
8～9（歳）	3.5	40	3.5	40
10～11（歳）	4.5	60	4.5	60
12～14（歳）	5.5	80	5.5	80
15～17（歳）	6.0	90	6.0	90
18～29（歳）	5.5	100	5.5	100
30～49（歳）	5.5	100	5.5	100
50～69（歳）	5.5	100	5.5	100
70 以上（歳）	5.5	100	5.5	100

妊婦	/	7.0	—
授乳婦		8.0	—

## ② EU (EFSA)

25(OH)D<sub>3</sub>の食事摂取基準は策定されていないが、ビタミンDについては、食事摂取基準 (Dietary Reference Value (以下、「DRV」という。)) が表2のように設定されている。血清 25(OH)D 濃度が 50 nmol/L 以下になると健康被害の発症リスクが増加することから、血清 25(OH)D 濃度 50 nmol/L を目標値とし、この値に到達するために必要なビタミンD摂取量を基に DRV が設定された (引用文献 37、DRVs for nutrients summary report (2017))。

表2. EFSAによるビタミンDのDRV (μg/人/日)

年齢	AI	UL
0～1 (歳)	10 (7-11 ヶ月)	25
1～10 (歳)	15	50
11～17 (歳)	15	100
≥18* (歳)	15	100

\* : 妊婦及び授乳婦を含む

AI : 目安量 (Adequate Intake)

## ③ 米国 (National Academy of Medicine (米国医学アカデミー))

25(OH)D<sub>3</sub>の食事摂取基準は策定されていないが、2011年に当時の IOM において、米国及びカナダ政府の依頼によりビタミンDの食事摂取基準 (Dietary Reference Intakes (以下、「DRI」という。)) を表3のように策定した。推奨量 (Recommended Dietary Allowance (以下、「RDA」という。)) は、日光浴が不十分のため、ビタミンDの皮膚での合成が不完全な人を考慮して、ビタミンDの摂取量は、食品、飲料、サプリメントからの総摂取量を参照し、カルシウム摂取量を満たしている北アメリカ住民を前提とし策定された。血清 25(OH)D 濃度を指標とし、成人 (19～50 歳) の場合、カルシウム吸収が最大となる血清 25(OH)D 濃度 30～50 nmol/L を目標に設定した (引用文献 31、DRI for Calcium and Vitamin D (2011))。

表3. National Academy of MedicineによるビタミンDのDRI (μg/人/日)

年齢	RDA	UL
0～6 (月)	10*	25
6～12 (月)	10*	38
1～3 (歳)	15	63
4～8 (歳)	15	75
9～70 (歳)	15	100
70 歳以上	20	100

妊婦／授乳婦	15	100
--------	----	-----

\* : AI として

#### ④ オーストラリア・ニュージーランド (NHMRC・MoH)

25(OH)D<sub>3</sub>の食事摂取基準は策定されていないが、NHMRCとMoHは共同でビタミンD<sup>14</sup>の食事摂取基準(NRV)を表4のように策定した。成人(19~50歳)のAIは、日光への暴露が少ない場合の血清25(OH)D濃度を27.5 nmol/L以上に保持するためのビタミンD必要量に基づき5 μg/人/日に設定された(引用文献33、NRV for ANZ including RDI (2006))。

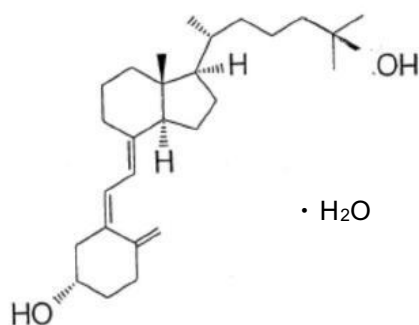
表4 NHMRC・MoHによるNRV(μg/人/日)

年齢	AI	UL
0~12(月)	5.0	25
1~18(歳)	5.0	80
19~50(歳)	5.0	80
51~70(歳)	10.0	80
70歳以上	15.0	80
妊婦／授乳婦	5.0	80

## 5. 物理化学的性質

### (1) 構造式

#### ① 構造式(引用文献15、EP9.0(2017)、引用文献19、USP41(2018)、)



25-ヒドロキシコレカルシフェロール 水和物

#### ② 分子式及び分子量(引用文献38、PubChem(2018))

C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>・H<sub>2</sub>O : 418.66

### (2) 製造方法

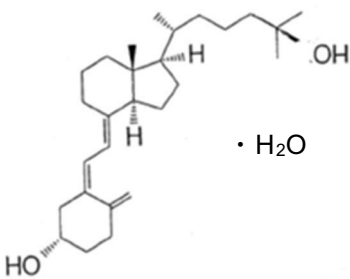
25-ヒドロキシプロビタミンD<sub>3</sub>(ヒドロキシ-7-デヒドロコレステロール)に紫外線を照射し、25-ヒドロキシプレビタミンD<sub>3</sub>を生成する。さらに加熱処理を行い、25-ヒドロキシコレカルシフェロー

<sup>14</sup> 「ビタミンD<sub>2</sub>」及び「ビタミンD<sub>3</sub>」

ル(25(OH)D<sub>3</sub>)を生成させる。水を加え水和物とした後、結晶を精製し、洗浄、乾燥、包装し保管する(引用文献 39、25(OH)D<sub>3</sub>製造方法\_DSM 社社内資料)。

(3) 成分規格

① 成分規格案

項目	成分規格
1)名称	25-ヒドロキシコレカルシフェロール
2)英名	25-hydroxycholecalciferol
3)日本名別名	カルシフェジオール
4)構造式	
5)分子式	C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O
6)分子量	418.66
7)化学名	(1S,3Z)-3-[(2E)-2-[(1R,3aS,7aR)-1-[(2R)-6-hydroxy-6-methylheptan-2-yl]-7a-methyl-2,3,3a,5,6,7-hexahydro-1H-inden-4-ylidene]ethylidene]-4-methylidenecyclohexan-1-ol monohydrate
8)CAS 番号	[63283-36-3]
9)含量	94.0%以上
10)性状	本品は、白色の結晶又は結晶性の粉末で、においが無い。
11)確認試験	<p>① 定量法により調製した検液及び標準液 20 μLにつき、定量法の操作条件で液体クロマトグラフ法により試験を行うとき、検液の主ピークの保持時間は、標準液の 25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピークの保持時間と一致する。</p> <p>② 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定し、本品のスペクトルを定量用 25-ヒドロキシコレカルシフェロールのスペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。</p>
12)純度試験	<p>① エリスロシン 5 μg/g 以下</p> <p>本品約 1 g を精密に量り、メタノールに溶かし、更にメタノールを加えて正確に 10 mL とし、検液とする。この液につき、メタノールを対照として波長 530 nm における吸光度 A<sub>1</sub> を測定する。別に、メタノール 10 mL について、検液と同様に操作し、吸光度 A<sub>0</sub> を測定する。次式によりエリスロシンの含量を求める。</p>



$$\text{エリスロシンの含量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{(A_1 - A_0) / \epsilon \times 833.9 \times 10^6}{W_T}$$

$W_T$  : 本品の採取量 (g)

$\epsilon$  : エリスロシンの 530 nm におけるモル吸光係数 110,000 (L/mol · cm)

② 類縁物質 1 %以下

定量法で得られた標準原液 5 mL を正確に量り、メタノールを加えて正確に 100 mL とし、さらにメンブランフィルター (0.45  $\mu$ m) でろ過し、標準液とする。定量法で得られた純度試験②用検液及び標準液 20  $\mu$ L につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行うとき、得られたクロマトグラムを用いて、検液のクロマトグラムに現れる各ステロールのピークを本品の参照クロマトグラムにより同定し、そのピーク面積  $B_T$  を求める。この値と標準液のクロマトグラムから求めた 25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積  $B_S$  から、試料中の 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの類縁物質(この類縁物質とは、25-ヒドロキシコレカルシフェロールの製造に由来する 25-ヒドロキシコレカルシフェロール以外の各ステロールをいう。)の含量を、次式により計算する。

$$\text{個々の類縁物質の含量 (\%)} = p \times \frac{W_S}{W_T} \times \frac{B_T}{B_S} \times F \times 2$$

$W_T$  : 本品の採取量 (mg)

$W_S$  : 定量用 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの採取量 (mg)

$B_T$  : 検液の各ステロールのピーク面積

$B_S$  : 標準液の 25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積

$p$  : 定量用 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの純度

$F$  : 吸光係数

類縁物質名	吸光係数
25-ヒドロキシイソタキステロール	0.8300
25-ヒドロキシイソビタミン D <sub>3</sub>	0.8300
25-ヒドロキシコレカルシフェロール	1.0000
25-ヒドロキシタキステロール	0.9109
25-ヒドロキシ5, 6-トランスビタミン D <sub>3</sub>	0.8986
25-ヒドロキシプロビタミン D <sub>3</sub>	1.7677
プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロール	2.3863
25-ヒドロキシコレカルシフェロールと同様の 吸収スペクトルを示す未知のステロール	1.0000

	<p>操作条件</p> <p>検出器：フォトダイオードアレイ検出器（測定波長：230～330 nm（定量は、波長 270 nm で測定））</p> <p>カラム：内径 4.6 mm、長さ 250 mm のステンレス管に粒径 5 <math>\mu\text{m}</math> 以下の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。</p> <p>カラム温度：28 <math>^{\circ}\text{C}</math> 付近の一定温度</p> <p>移動相：メタノール・アセトニトリル・水混液（55：22：23）</p> <p>流量：毎分約 1.0 mL</p> <p>測定時間：120 分</p> <p>カラムの選定：標準液 10 mL を 50～55 <math>^{\circ}\text{C}</math> で 2 時間加温し、プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールを生成させ、メンブランフィルター（0.45 <math>\mu\text{m}</math>）でろ過する。この液 20 <math>\mu\text{L}</math> につき、上記の条件で操作するとき、25-ヒドロキシコレカルシフェロール、プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロールの順に溶出し、その分離度が 4.0 以上のものを用いる。</p> <p>③ 鉛 Pb として 2 <math>\mu\text{g}/\text{g}</math> 以下（2.0 g，第 1 法，比較液 鉛標準液 4.0 mL，フレイム方式）</p> <p>④ ヒ素 As として 3 <math>\mu\text{g}/\text{g}</math> 以下（0.50 g，第 3 法，標準液 ヒ素標準液 3.0 mL，装置 B）</p> <p>⑤ アルミニウム Al として 20 <math>\mu\text{g}/\text{g}</math> 以下</p> <p>本品約 0.2 g を精密に量り、白金製または石英製のるつぼに入れ、少量の硫酸を加えて潤し、徐々に加熱してできる限り低温でほとんど灰化した後、放冷し、さらに硫酸 1 mL を加え、徐々に加熱して 450～550 <math>^{\circ}\text{C}</math> で強熱して灰化する。残留物に少量の硝酸（1→150）を加えて溶かし、水を加えて 50 mL とし、検液とする。別に、アルミニウム標準液 1 mL を正確に量り、水を加えて正確に 100 mL とする。この溶液 1 mL を正確に量り、水を加えて正確に 10 mL とする。さらにこの液 4 mL を正確に量り、少量の硝酸（1→150）を加えた後、水を加えて正確に 50 mL とし、標準液とする。検液及び標準液につき、原子吸光光度法（電気加熱方式）により次の条件で吸光度を測定するとき、検液の吸光度は、標準液の吸光度以下でなければならない。</p> <p>操作条件</p> <p>光源ランプ：アルミニウム中空陰極ランプ分析線波長：309.3nm</p> <p>乾燥温度：140<math>^{\circ}\text{C}</math></p> <p>灰化温度：900<math>^{\circ}\text{C}</math></p>
--	---

	原子化温度：2,600℃
13)水分	5.0 %以下 (0.5 g、直接滴定)
14)強熱残分	1.0 %以下 (1.0 g、600±50 °C、30分)
15)定量法	<p>本品約 0.20 g を精密に量り、メタノールに溶かし、さらにメタノールを加えて正確に 200 mL とし、純度試験②用検液とする。この液 5 mL を正確に量り、メタノールを加えて正確に 50 mL とし、さらにメンブランフィルター (0.45 μm) を用いてろ過し、検液とする。別に、定量用 25-ヒドロキシコレカルシフェロール約 50 mg を精密に量り、メタノールに溶かし、更にメタノールを加えて正確に 50 mL とする。この液 5 mL を正確に量り、メタノールを加えて正確に 50 mL とし、標準原液とする。さらにメンブランフィルター (0.45 μm) を用いてろ過し、標準液とする。検液及び標準液 20 μL につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。得られたクロマトグラムから 25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積を求める。</p> $25\text{-ヒドロキシコレカルシフェロールの量 (\%)} = \frac{A_T}{A_S} \times \frac{W_S}{W_T} \times p \times 400$ <p> <math>W_T</math> : 本品の採取量 (mg)  <math>W_S</math> : 定量用 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの採取量 (mg)  <math>A_T</math> : 検液の 25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積  <math>A_S</math> : 標準液の 25-ヒドロキシコレカルシフェロールのピーク面積  <math>p</math> : 定量用 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの純度 </p> <p>操作条件</p> <p>検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：270 nm)</p> <p>カラム：内径 4.6 mm、長さ 150 mm のステンレス管に粒径 5 μm の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。</p> <p>カラム温度：28 °C 付近の一定温度</p> <p>移動相：メタノール・アセトニトリル・水混液 (55 : 22 : 23)</p> <p>流量：毎分約 1.0 mL</p>
16)保存基準	遮光した密封容器に入れ、空気を不活性ガスで置換し、冷所に保存すること。

## ② 試薬・試液

25-ヒドロキシコレカルシフェロール、定量用 (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>・H<sub>2</sub>O) 本品は、白色の結晶である。

含量： 本品は、25-ヒドロキシコレカルシフェロール (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>・H<sub>2</sub>O) 97.0%以上を含む。

確認試験： 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき、3,250 cm<sup>-1</sup>、2,950 cm<sup>-1</sup>、1,380cm<sup>-1</sup>、1,050 cm<sup>-1</sup> のそれぞれの付近に吸収を認める。

純度試験： 定量法で得た検液につき、エタノールを対照として吸収スペクトルを測定するとき、波長 260～270 に吸収の極大を示す。

定量法： 乾燥した本品約 10 mg を精密に量り、エタノールに溶かし、さらにエタノールを加えて正確に 100 mL とする。この液 5 mL を正確に量り、エタノールを加えて正確に 50 mL とし、検液とする。この液につき、エタノールを対照として波長 265 nm 付近の極大波長における吸光度 A を測定する。

25-ヒドロキシコレカルシフェロール (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>) の含量 (%)

$$= \frac{A}{449.3} \times \frac{10,000}{\text{試料採取量 (mg)}} \times 100$$

### ③ 成分規格案の設定根拠

飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和五十一年七月二十四日農林省令第三十五号）に定められている飼料添加物 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの成分規格を参照した（引用文献 9、官報（2016））。ただし、表記の仕方については、第 9 版食品添加物公定書を参考に、訂正を加えた。

含量、性状、確認試験、水分、定量法については飼料添加物で定められている規格に倣い、同様の規格に設定した。

純度試験については、エリスロシン、類縁物質、アルミニウムは飼料添加物規格に倣い、同様の規格に設定した。鉛は飼料添加物では「20 μg/g 以下」であるが、食品添加物公定書を参照して他品目に倣い、「Pb として 2 μg/g 以下」と設定した。ヒ素及び強熱残分については、飼料添加物規格にはないが、食品添加物であることを鑑み、他品目を参照してそれぞれ「ヒ素：As として 3 μg/g 以下」、「強熱残分：1.0 %以下」に設定した。

表 5 本規格案と飼料添加物規格の比較

項目	本規格案	飼料添加物成分規格
含量	94.0%以上	94.0%以上
性状	白色の結晶又は結晶性の粉末で、においが無い。	白色の結晶 空気または光により変化する
確認試験		
液体クロマトグラフ	保持時間が標準液に一致	保持時間が標準液に一致
赤外吸収スペクトル	同一波数のところに同様の強度の吸収を認める	同一波数のところに同様の強度の吸収を認める
純度試験		
エリスロシン	5 μg/g 以下	5 μg/g 以下
類縁物質	各物質 1 %以下	各物質 1 %以下
鉛	Pb として 2 μg/g 以下 (2.0 g, (第 1 法, 比較液 鉛	20 μg/g 以下 (原子吸光光度法第 1 法)

	標準液 4.0 mL, フレーム方式))	
ヒ素	As として 3 $\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50 g, 第3法, 標準液 ヒ素標準液 3.0 mL, 装置B)	—
アルミニウム	20 $\mu\text{g/g}$ 以下	20 $\mu\text{g/g}$ 以下
水分	5.0%以下 (0.5 g, 直接滴定)	5.0%以下 (直接滴定)
強熱残分	1.0%以下 (1.0 g, 600 $\pm$ 50 $^{\circ}\text{C}$ , 30分)	—
定量法	液体クロマトグラフ法	液体クロマトグラフ法

## ④ 試験法の検証データ及び試験成績書

12 ロットの分析結果を表 6 にまとめた (引用文献 40-a, 40-b、試験成績書\_DSM 社社内資料)。

表 6. 25-ヒドロキシコレカルシフェロール主要分析項目分析試験結果

分析項目	ロット番号 設定規格	WICSP1035B <sup>1)</sup>	WICS-R474M <sup>1)</sup>	WICSP1037B <sup>1)</sup>	WICS-R318M <sup>1)</sup>	WICS-R317M <sup>1)</sup>	WICS-R316M <sup>1)</sup>
含量	94.0 %以上	97.0 %	97.6 %	97.3 %	99.7 %	99.0 %	98.5 %
エリスロシン	5 ppm以下	検出できず	検出できず	検出できず	検出できず	検出できず	検出できず
類縁物質	各1 %以下	0.5 %	0.4 %	0.3 %	0.6 %	0.5 %	0.5 %
鉛	2 $\mu\text{g/g}$ 以下	—	—	—	—	—	—
ヒ素	3 $\mu\text{g/g}$ 以下	—	—	—	—	—	—
アルミニウム	20 $\mu\text{g/g}$ 以下	$\leq 20 \mu\text{g/g}$	$\leq 20 \mu\text{g/g}$	$\leq 20 \mu\text{g/g}$	—	—	—
水分	5.0 %以下	4.0 %	4.0 %	4.0 %	4.4 %	4.0 %	4.4 %
強熱残分	1.0 %以下	0.1 %	0.1 %	0.1 %	0.1 %	0.0 %	0.3 %

分析項目	ロット番号 設定規格	WICS-R315M <sup>1)</sup>	WICS-R314M <sup>1)</sup>	WICS-R313M <sup>1)</sup>	MT12090002 <sup>2)</sup>	MT12090003 <sup>2)</sup>	MT12090004 <sup>2)</sup>
含量	94.0 %以上	98.7 %	97.9 %	99.0 %	100.0 %	100.4 %	100.7 %
エリスロシン	5 ppm以下	検出できず	検出できず	検出できず	—	—	—
類縁物質	各1 %以下	0.4 %	0.3 %	0.4 %	$\leq 0.5 \%$	$\leq 0.5 \%$	$\leq 0.5 \%$
鉛	2 $\mu\text{g/g}$ 以下	—	—	—	$\leq 0.1 \mu\text{g/g}$	$\leq 0.1 \mu\text{g/g}$	$\leq 0.1 \mu\text{g/g}$
ヒ素	3 $\mu\text{g/g}$ 以下	—	—	—	$\leq 0.1 \mu\text{g/g}$	$\leq 0.1 \mu\text{g/g}$	$\leq 0.1 \mu\text{g/g}$
アルミニウム	20 $\mu\text{g/g}$ 以下	—	—	—	3 $\mu\text{g/g}$	3 $\mu\text{g/g}$	4 $\mu\text{g/g}$
水分	5.0 %以下	4.4 %	4.1 %	4.4 %	4.6 %	4.5 %	4.5 %
強熱残分	1.0 %以下	0.1 %	0.2 %	0.1 %	0.2 %	0.2 %	0.2 %

1) 引用文献40 -a、2) 引用文献40 -b

— :測定せず 定量限界:エリスロシン 0.26 ppm、鉛・ヒ素 0.1  $\mu\text{g/g}$ 、アルミニウム 1  $\mu\text{g/g}$

## (4) 食品添加物の安定性

25(OH)D<sub>3</sub>を-20  $^{\circ}\text{C} \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$ の条件で、窒素置換した遮光密封容器内で48ヵ月間保管し、25(OH)D<sub>3</sub>の安定性を確認した。この結果、製造直後に分析した初期値に対し98.4~100.9% (n=3)と安定であった。また、保存期間を通して同様の類縁物質プロファイルを示し、それら含量の変動も見られなかった。

また、25 $^{\circ}\text{C} \pm 2$   $^{\circ}\text{C}$ の条件で、窒素置換した遮光密封容器内で12ヵ月間保管し、25(OH)D<sub>3</sub>の安定性を確認した。この結果、製造直後に分析した初期値に対し100.2% (n=1)と安定であった。また、保存期間を通して同様の類縁物質プロファイルを示し、それら含量の変動も見られなかった(引用文献41、25(OH)D<sub>3</sub> 製造用原体 安定性資料\_DSM 社社内資料 (2007) )。

(5) 食品中の食品添加物の分析法 (引用文献 42、ヨーグルト中の 25(OH)D<sub>3</sub> の安定性試験計画書・報告書\_DSM 社社内資料 (2016))

試料約 1 g を精密に秤量し、1 mL の酢酸エチルを加えて、ボルテックス装置にて 10 分間冷蔵にて抽出を行う。抽出終了後、15,000 rpm 10 分間遠心し、酢酸エチル層を 800 μL 採取、窒素ガスにて乾固する。その後、400 μL のエタノールを加えて再溶解し、試料溶液とする。

定量用 25(OH)D<sub>3</sub> 5 mg を精密に秤量し、エタノールにて 1 mg/mL となるように調製し、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 μg/mL となるようにエタノールにて希釈し標準溶液とする。

試料溶液及び標準溶液それぞれ 10 μL を、次の条件で高速液体クロマトグラフ法により試験を行い、試料溶液及び標準溶液の 25(OH)D<sub>3</sub> のピーク面積を測定する。

標準溶液各濃度の 25(OH)D<sub>3</sub> のピーク面積から検量線を作成し、計算式から本品の 25(OH)D<sub>3</sub> 濃度を算出する。

#### 操作条件

検出器	: 紫外吸光光度計 (測定波長: 265 nm)
カラム	: SHISEIDO capcellpak C-18 UG-120 4.6 I.D × 250 (mm)
カラム温度	: 40 °C 付近の一定温度
移動相	: 80 %アセトニトリル水溶液
流速	: 1.0 mL/min
注入量	: 10 μL

#### 計算式

$$\begin{aligned} & \text{本品中の 25(OH)D}_3 \text{ の濃度 (} \mu\text{g/g)} \\ & = (\text{試料溶液中の 25(OH)D}_3 \text{ ピーク面積一切片}) / \text{傾き} \times \text{定容量} / \text{試料採取量} \times 400 / 800 \times \text{純度} \end{aligned}$$

## 6. 使用基準案

### (1) 使用基準案

25-ヒドロキシコレカルシフェロールは、栄養の目的で使用する場合以外は食品に使用してはならない。

25-ヒドロキシコレカルシフェロールは、小麦加工品<sup>15</sup>、穀類加工品<sup>16</sup>、野菜ジュース、ジャム、果汁・果汁飲料、魚介加工品 (ハム・ソーセージ及びこれら類似品に限る。)、肉類加工品 (ハム・ソーセージ及びこれら類似品に限る。)、乳製品、油脂、菓子、清涼飲料水及びカプセル・錠剤等通常の食品形態でない食品以外の食品に使用してはならない。

25-ヒドロキシコレカルシフェロールの使用量は、カプセル・錠剤等通常の食品形態でない食品にあっては 1 kg につき 50 mg 以下、その他の食品にあってはその 1 kg につき 10 μg 以下でなければならない。

ただし、特別用途表示の許可又は承認を受けた場合は、この限りでない。

<sup>15, 16</sup> コーンフレークやシリアルに使用されると想定している。

## (2) 使用基準案の設定根拠

ビタミンDの過剰摂取による健康障害として、高カルシウム血症、腎障害、軟組織の石灰化障害などが知られている（引用文献2、「日本人の食事摂取基準（2015年版）」策定検討報告書（2015））。そのうち高カルシウム血症は、血中のカルシウム濃度の測定により判断可能な指標であり、「日本人の食事摂取基準（2010年版）」においても、ビタミンDの過剰摂取による健康障害は高カルシウム血症を指標とすることが適当であるとされている（引用文献3、「日本人の食事摂取基準（2010年版）」策定検討報告書（2010））。

ビタミンDの代謝物である25(OH)D<sub>3</sub>は、摂取すると用量依存的に血清中濃度は増加し、ヒト体内でビタミンDと同様の代謝経路を辿る。要請者はビタミンDと同様に、25(OH)D<sub>3</sub>過剰摂取による高カルシウム血症を健康障害の指標とし、ヒトに投与した場合の血清25(OH)D濃度と併せて評価した。要請者はヒトを対象とした試験結果から、50 μg/人/日をNOAELに設定し、UFを2.5として、20 μg/人/日がULになると判断した（II.2項参照）。

食品からの25(OH)D<sub>3</sub>推定摂取量は約1.2 μg/人/日であり（II.4.（1）項参照）、安全性を考慮して過少評価を避けるため小数点第一位を切り上げて約2.0 μg/人/日と仮定すると、ULadd<sup>17</sup>は18 μg/人/日となる。II.4項で述べたとおり、使用基準案で設定しているサプリメント以外の食品に対し、食品1 kgにつき10 μg使用すると、添加物由来の摂取量は約6.5 μg/人/日となる。

サプリメントへの使用量については、日本内分泌学会において、血清25(OH)D濃度は30 ng/mL（75 nmol/L（要請者による換算））以上でビタミンD充足状態であると判断できると提言しており（引用文献6、Okazakiら（2017））、このビタミンD充足状態と見なされる血清25(OH)D濃度75 nmol/Lへの到達・維持を目的としたサプリメントの供給が見込まれる。伊藤（引用文献43、伊藤（2016））や清水ら（引用文献44、清水ら（2017））の試験において、25(OH)D<sub>3</sub> 10 μg/日投与後の血清25(OH)D濃度は30 ng/mL以上に達しており、25(OH)D<sub>3</sub> 10 μg/日摂取により血清25(OH)D濃度を30 ng/mL（75 nmol/L）に維持出来ると考えられる。

II.4項で述べるとおり、サプリメントに使用基準案の上限量が添加されたと仮定した場合の1日推定摂取量は10 μg/人/日となる。添加物由来及びサプリメント由来の合計推定摂取量は16.5 μg/人/日となり、上述のULadd（18 μg/人/日）よりも低い値となる。

また、II.2.（3）項で述べているとおり、現在の日本人のビタミンD平均摂取量では、添加物25(OH)D<sub>3</sub>と同時に摂取することにより血清25(OH)D濃度を相乗的に増加させることは考えにくく、添加物25(OH)D<sub>3</sub>が添加物ビタミンDの代替として使用されることを鑑みれば、ビタミンD摂取量を除いたULaddを設定する必要はないと考える。

従って、前項の使用基準案の範囲内であれば、25(OH)D<sub>3</sub>のUL 20 μg/人/日を超える可能性は低く、安全性への懸念はないと判断した。

## 7. 食品中での安定性

### (1) 長期安定性試験（加速試験）

25(OH)D<sub>3</sub>を賦形剤と共にハードカプセルに充填し、乾燥剤と共にアルミ袋に入れて、40 °C 75%

<sup>17</sup> Upper Intake Level for addition : 追加上限量（以下、「ULadd」という。）

RH (Relative Humidity : 相対湿度) の条件で、4 ヶ月間の保管を行った。その結果、2 ヶ月間の保存で 88.2%、4 ヶ月間の保存で 68.4%に減少した (引用文献 45、25(OH)D<sub>3</sub>安定性試験計画書・報告書\_DSM 社社内資料 (2015))。

## (2) 実用性試験

25(OH)D<sub>3</sub>を市販ヨーグルトへ添加・混合し、5 °Cの条件で 10 日間 (賞味期限+7 日間) 冷蔵保管を行った。その結果、10 日後の 25(OH)D<sub>3</sub>の残存率は、平均 98.9%と極めて安定であった。

以上の結果より、25(OH)D<sub>3</sub>をヨーグルトへ添加し、適切な保存条件で管理を行えば、賞味期限後も 1 週間減耗が認められないことが確認された (引用文献 42、ヨーグルト中の 25(OH)D<sub>3</sub>の安定性試験計画書・報告書\_DSM 社社内資料 (2016))。

## (3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響

他の成分に与える影響について検索した結果、関連する情報は得られなかった (引用文献 46、食品成分影響に関する文献検索結果 (2018))。

## II. 安全性に係る知見

### 1. 体内動態 (関連物質「ビタミン D」を含む。)

#### (1) ヒトの体内動態

25(OH)D<sub>3</sub>はビタミン D<sub>3</sub>の代謝物であり、体外から摂取した 25(OH)D<sub>3</sub>もビタミン D<sub>3</sub>由来の 25(OH)D<sub>3</sub>と同様の代謝経路を辿る (引用文献 47、EFSA (2005))。

ビタミン D の供給源には、皮膚で形成されるビタミン D<sub>3</sub>、食物やサプリメントから摂取するビタミン D<sub>3</sub>及びビタミン D<sub>2</sub>があるが、体内では同様に代謝される (引用文献 1、ビタミンの事典 (1996))。

#### ① ビタミン D の代謝

ビタミン D の代謝については、食品安全委員会の評価書「動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書 カルシフェロール及び 25-ヒドロキシコレカルシフェロール (2014 年 7 月)」に以下のとおり、まとめられている (引用文献 26、動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書 カルシフェロール及び 25-ヒドロキシコレカルシフェロール (2014))。

『(引用開始) ビタミン D は、胆汁酸の分泌により溶解性が高まり小腸下部からリンパ管吸収を経て循環血に到達し各組織に分布する。利用されなかったビタミン D はほとんど胆汁から小腸へ排泄される。

吸収されたビタミン D は、肝臓において水酸化され 25-ヒドロキシカルシフェロール (25(OH)D) となり、血漿中の α 及び β リポタンパク質に結合して腎臓へ分布する。そこでさらに水酸化され、1 α, 25-ジヒドロキシカルシフェロール (1 α, 25(OH)<sub>2</sub>D) 又は 24, 25-ジヒドロキシカルシフェロール (24, 25(OH)<sub>2</sub>D) となる。

ヒトにおける紫外線によるビタミン D<sub>3</sub>の生成及びビタミン D<sub>3</sub>の代謝経路を図 1 に、ヒトにおける



ビタミン D<sub>2</sub> の代謝経路を図 2 に示す。1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D は最終的な活性物質として、小腸上皮粘膜細胞において Ca 結合タンパク質の合成を促進することにより、Ca の小腸からの吸収に関与する。

水酸化体はグルクロン酸抱合又は硫酸抱合を受け、主として胆汁中へ、一部は尿中へ排泄される。未変化体は尿中へは排泄されない。胆汁中へ排泄された代謝物は腸肝循環を行う。半減期は約 40 日

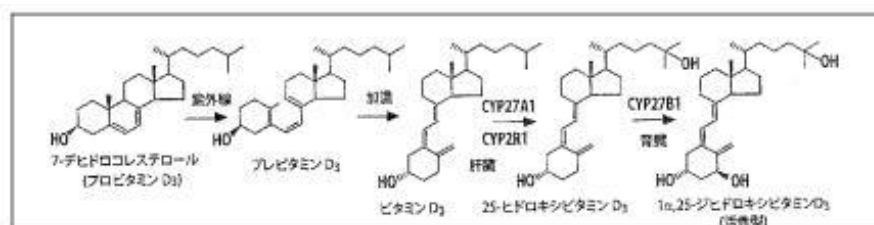


図 1 ヒトにおける紫外線によるビタミン D<sub>3</sub> の生成及びビタミン D<sub>3</sub> の代謝経路

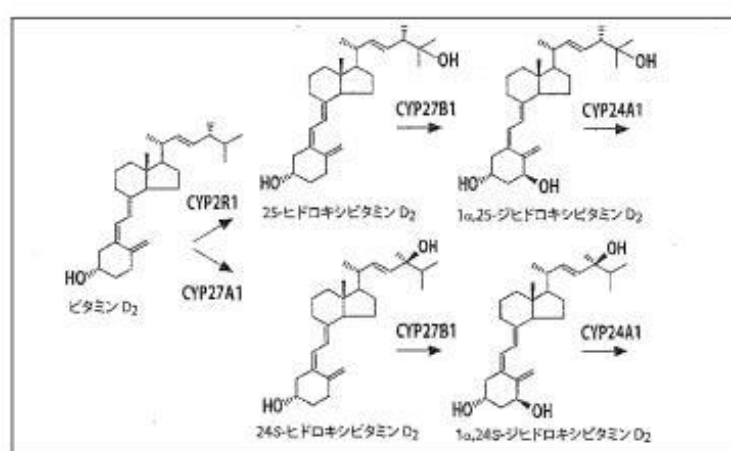


図 2 ヒトにおけるビタミン D<sub>2</sub> の代謝経路

図 1、2：食品安全委員会の評価書「動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書 カルシフェロール及び 25-ヒドロキシコレカルシフェロール（2014 年 7 月）」より引用

とされている。血液中では  $\alpha$  及び  $\beta$  リポタンパク質と結合する。25(OH)D の血中濃度は約 0.01~0.04  $\mu\text{g/mL}$  である。（引用終わり）』

## ② 25(OH)D<sub>3</sub> の体内動態

25(OH)D<sub>3</sub> はビタミン D 結合たんぱく（以下、「DBP」という。）と結合して血漿中を循環し、腎臓へ運ばれて活性型の 1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> または 24,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール（以下、「24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>」という。）に代謝される。25(OH)D の半減期は約 13-15 日といわれている（引用文献 31、DRI for Calcium and Vitamin D (2011)、引用文献 37、DRV EFSA (2017)）。Jones は、血液中の 25(OH)D の正常な血中濃度は 25~200 nmol/L であり、リガンドは生理学的状態において DBP の 2~5 %程度であるとみなしている（引用文献 48、Jones (2008)）。

Haddad らの試験では、健常者（年齢 21~40 歳の男女）27 名を対象に、25(OH)D<sub>3</sub><sup>18</sup> を単回経口投与（1.5、5.0、10.0  $\mu\text{g/kg}$  体重）し、血清 25(OH)D 濃度を測定した結果、血清 25(OH)D 濃度は全群において投与後 2 時間で有意に増加し、投与後 4~8 時間でピークを迎えた。投与前の血清 25(OH)D 濃

<sup>18</sup> 「25-hydroxycholecalciferol」または「25-OHD<sub>3</sub>」と表記されている。

度を差し引いて算出した半減期は 12 日であった。また  $^3\text{H}$  標識  $25(\text{OH})\text{D}_3$  を 3 名に経口投与した結果、投与 1 時間後に同位体が測定され、投与後 6~10 時間でピークが見られている。(引用文献 49、Haddad ら (1976))。

Jetter らが血中薬物動態を調査するため、健常な閉経後女性 35 名 (年齢 50~70 歳) に  $25(\text{OH})\text{D}_3$ <sup>19</sup> を経口投与 (20  $\mu\text{g}$ /日、140  $\mu\text{g}$ /週を 15 週間、140  $\mu\text{g}$  を単回投与) し、血漿  $25(\text{OH})\text{D}_3$ <sup>20</sup> の  $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$  (血中濃度時間曲線下面積) 及び  $\text{C}_{\text{max}}$  (最高血中濃度) を測定した試験では、投与 15 週後の  $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$  については、20  $\mu\text{g}$ /日投与群 (1704.4  $\text{ng/mL}\cdot\text{h}$ ) と 140  $\mu\text{g}$ /週投与群 (2007.2  $\text{ng/mL}\cdot\text{h}$ ) の間に有意差はなかったが、 $\text{C}_{\text{max}}$  については 20  $\mu\text{g}$ /日投与群 (73.2  $\text{ng/mL}$ ) よりも 140  $\mu\text{g}$ /週投与群 (92.9  $\text{ng/mL}$ ) が有意に高い値であった。本研究ではビタミン  $\text{D}_3$  140  $\mu\text{g}$  と  $25(\text{OH})\text{D}_3$  140  $\mu\text{g}$  を同時に単回投与する試験も実施しているが、 $25(\text{OH})\text{D}_3$  140  $\mu\text{g}$  投与群との比較において、 $\text{AUC}_{0-24\text{h}}$  (併用群 2929.2  $\text{ng/mL}\cdot\text{h}$ 、 $25(\text{OH})\text{D}_3$  群 2647.4  $\text{ng/mL}\cdot\text{h}$ ) 及び  $\text{C}_{\text{max}}$  (併用群 39.9  $\text{ng/mL}$ 、 $25(\text{OH})\text{D}_3$  群 38.3  $\text{ng/mL}$ ) とともに有意差はみられなかった (引用文献 50、Jetter ら (2014))。

血清中  $25(\text{OH})\text{D}$  には DBP 結合型と結合していない遊離型が存在している。Shieh らによる健常者の血清 total  $25(\text{OH})\text{D}$ <sup>21</sup> (DBP 結合型+遊離型) 及び free  $25(\text{OH})\text{D}$  (遊離型) の測定値では、平均年齢  $36.9 \pm 12.7$  歳の群 (n=16) では、血清 total  $25(\text{OH})\text{D}$  が  $16.2 \pm 3.7$   $\text{ng/mL}$ 、血清 free  $25(\text{OH})\text{D}$  が  $4.2 \pm 0.8$   $\text{ng/mL}$  で、平均年齢  $34.8 \pm 8.6$  歳の群 (n=19) では血清 total  $25(\text{OH})\text{D}$  が  $17.0 \pm 2.5$   $\text{ng/mL}$ 、血清 free  $25(\text{OH})\text{D}$  が  $4.7 \pm 1.0$   $\text{ng/mL}$  (平均年齢  $36.9 \pm 12.7$  歳) であり、要請者の計算では、存在比はおおよそ total 4 : free 1 であった。また、この試験では、16 週間にわたるビタミン  $\text{D}_3$  60  $\mu\text{g}$ /日及び  $25(\text{OH})\text{D}_3$ <sup>22</sup> 20  $\mu\text{g}$ /日の経口投与により、血清 total 及び free  $25(\text{OH})\text{D}$  濃度の増加 (有意差は不明) が認められている (引用文献 51、Shieh ら (2017))。

## (2) 動物を対象とした薬物動態試験

食品安全委員会の「動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書 カルシフェロール及び 25-ヒドロキシコレカルシフェロール」に動物の薬物動態試験結果は以下のとおり記載されている (引用文献 26、動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書 カルシフェロール及び 25-ヒドロキシコレカルシフェロール (2014))。

『(引用開始)

### ① ラット

ラット (性別、匹数等不明) に  $^3\text{H}$  標識  $25(\text{OH})\text{D}_3$  を静脈内投与 (0.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重) し、薬物動態試験が実施された。 $25(\text{OH})\text{D}_3$  は投与 8 時間後に血清中放射活性の約 76% を占めたが、ビタミン  $\text{D}_3$  及びビタミン  $\text{D}$  エステル類はそれぞれ 6.8 及び 9.8% であった。投与後 8 時間の尿中には、より極性の高い分画である  $25(\text{OH})\text{D}_3$  及び  $1\alpha, 25\text{-ジヒドロキシコレカルシフェロール}$  ( $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) がそれぞれ 96 及び 2.6% みられた。投与 8 時間後の肝臓及び腎臓における放射活性の約 90% は、 $25(\text{OH})\text{D}_3$

<sup>19</sup> 「Calcifediol」と表記されている。

<sup>20</sup> 文献では「25-hydroxyvitamin  $\text{D}_3$ 」または「 $25(\text{OH})\text{D}_3$ 」と表記されている。

<sup>21</sup> 文献では「25-hydroxyvitamin  $\text{D}$  (25D)」と表記されている。

<sup>22</sup> 文献では「25D3」と表記されている。

であった。また、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のような極性代謝物及びビタミン  $\text{D}_3$  も検出された。

## ② 豚

豚（性別、頭数等不明）にビタミン  $\text{D}_3$  を1か月間混餌投与（0、90、350 又は 250,000 IU(0、2.25、8.75 又は 6,250  $\mu\text{g}$ )/頭/日、摂取量( $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重)及び被験動物の体重は不明)し、薬物動態試験が実施された。最終投与後のビタミン  $\text{D}_3$  の血中濃度は、それぞれ 0.0065、0.008、0.013 及び 58.43  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。その後血中濃度は低下し、最終投与 4 週後には 0.007、0.0055、0.00875 及び 0.051  $\mu\text{g}/\text{mL}$  となった。最終投与 12 週後には、6,250  $\mu\text{g}/\text{頭}/\text{日}$  投与群の血中濃度は、0.016  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。

## ③ 羊

羊（性別、頭数等不明）にビタミン  $\text{D}_3$  を筋肉内投与（25、250 又は 2,500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重）した結果、25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重投与群では、投与後 6 日間のビタミン  $\text{D}_3$  の血漿中濃度は、0.004~0.005  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。

羊（性別、頭数等不明）にビタミン  $\text{D}_3$  を単回経口又は筋肉内投与（2,500~3,125  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重(推奨用量の 50 倍以上))した。投与 1 日後のビタミン  $\text{D}_3$  の血漿中濃度は 0.007~0.008  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。その後漸減し投与 15 日後には 0.004~0.005  $\mu\text{g}/\text{mL}$  となった。

羊（性別、頭数等不明）にビタミン  $\text{D}_3$  を単回静脈内投与（50,000  $\mu\text{g}/\text{頭}$  : 1,000~1,250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重）した結果、投与 1、5 及び 20 日後の血漿中濃度はそれぞれ 1.47、0.3 及び 0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。

羊（性別、頭数等不明）に  $25(\text{OH})\text{D}_3$  を単回静脈内投与（50,000  $\mu\text{g}/\text{頭}$  : 1,000~1,250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重）した結果、投与 1、5 及び 20 日後の血漿中濃度はそれぞれ 0.60、0.40 及び 0.030  $\mu\text{g}/\text{mL}$  であった。

羊（性別、頭数等不明）に  $^3\text{H}$  標識ビタミン  $\text{D}_3$  を単回筋肉内投与（50  $\mu\text{Ci}$ ）した結果、投与 3 日後の血漿中放射活性は、全て  $25(\text{OH})\text{D}_3$  であった（検出濃度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )不明)。

## ④ 鶏

鶏（1 日齢、雄）に 14 日間ビタミン  $\text{D}_3$  欠乏飼料を投与後、 $^3\text{H}$  標識ビタミン  $\text{D}_3$  又  $^3\text{H}$  標識  $25(\text{OH})\text{D}_3$  を 6 日間混餌投与した。最終投与後、腸を採取し放射活性を測定した。

その結果、ビタミン  $\text{D}_3$  及び  $25(\text{OH})\text{D}_3$  はそれぞれ投与量の  $66.5 \pm 3.3$  及び  $83.6 \pm 2.1\%$  が吸収された。十二指腸から分泌された  $25(\text{OH})\text{D}_3$  及びその他の代謝物の一部は空腸で再吸収された。また、1 日当たり摂取されたビタミン  $\text{D}_3$  及び  $25(\text{OH})\text{D}_3$  はそれぞれ 20 及び 7% が排泄された。

（引用終わり）』

## 2. ヒトにおける知見

### (1) ヒトを対象にした 25(OH)D<sub>3</sub> 投与試験

ヒトを対象に 25(OH)D<sub>3</sub> を投与し、血清中濃度への影響や健康への影響について調査した研究報告をまとめ、別紙 1 のエビデンステーブルを作成した。各研究報告の概要については以下に述べる。

#### ① 25(OH)D<sub>3</sub> 50 μg/日投与 (引用文献 52、Barger-Lux ら (1998))

Barger-Lux らは、血中ビタミン D<sub>3</sub> 及びその代謝物の摂取による血清中の各物質濃度の変化を調査するため、24～32 歳 (平均 28 ± 4 歳) の健康な男性 116 名を対象に、ビタミン D<sub>3</sub> を 25、250 及び 1250 μg/日の用量で 8 週間、25(OH)D<sub>3</sub> を 10、20 及び 50 μg/日の用量で 4 週間、並びに 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> を 0.5、1 及び 2 μg/日の用量で 2 週間に渡り経口投与した。本試験は、無作為割付・オープンラベルの条件で実施された。試験は冬季 (1 月～4 月) に実施され、ビタミンサプリメント摂取、日光への暴露が制限された。

各被験物質と投与後の血清中濃度を測定した結果、ビタミン D<sub>3</sub> 投与群では、血清ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D 濃度が、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群では血清 25(OH)D 濃度が、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 投与群では血清 1,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度がそれぞれ有意に増加して明らかな用量相関性を示した。

ビタミン D<sub>3</sub> 投与群では、血清 25(OH)D 濃度の上昇と共に、著しい血清ビタミン D<sub>3</sub> 濃度の上昇が認められ、その上昇割合は 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群より高かった。Barger-Lux らは、摂取されたビタミン D<sub>3</sub> は、肝臓中で 25-ヒドロキシラーゼにより 25(OH)D<sub>3</sub> へ水酸化されて、肝臓でのヒドロキシ化が飽和を伴う代謝の可能性があることから、25(OH)D<sub>3</sub> の増加は、血清中のビタミン D<sub>3</sub> レベルが影響していることが考えられると推察している。

各投与期間終了後の PTH 濃度は、ベースライン時と比較するとビタミン D<sub>3</sub> 250 及び 1250 μg/日投与群、25(OH)D<sub>3</sub> 50 μg/日投与群、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 1.0 及び 2.0 μg/日投与群で、有意な低下が認められた (p<0.05) (表 7)。また、血清カルシウム濃度への影響については、ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群では、血清カルシウム濃度への影響はなく、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 0.5 μg/日投与群では有意に増加した。

要請者は、健常者を対象に適切な方法で実施された本試験において、高カルシウム血症を発症しなかった用量 50 μg/日が NOAEL になると判断した。

表 7. 各被験物質投与による血清 PTH 濃度の推移

被験物質	投与量 (μg/日)	PTH 濃度 (ng/L)					
		投与前			投与後 <sup>注)</sup>		
		被験者数	平均	標準誤差	平均	標準誤差	有意差
ビタミン D <sub>3</sub>	25	13	39.9	3.2	-0.2	2.4	-
	250	10	40.3	5.9	-7.8	3.3	<0.05
	1250	14	38.0	3.4	-17.8	2.5	<0.0001
25(OH)D <sub>3</sub>	10	13	33.1	2.4	-0.3	2.4	-
	20	14	33.0	2.4	-1.0	2.1	-
	50	14	31.8	2.1	-5.1	1.1	<0.0005
1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	0.5	12	35.6	2.7	-2.8	2.0	-
	1	13	40.3	3.9	-13.7	3.6	<0.005
	2	12	39.8	4.1	-17.9	3.6	<0.0005

注) ベースライン検査時との増減を示す

② 25(OH)D<sub>3</sub> 20 ～約 40 μg/日投与 (引用文献 53、Navarro-Valverde ら (2016))

Navarro-Valverde らは、ビタミン D<sub>3</sub> 摂取と 25(OH)D<sub>3</sub><sup>23</sup> 摂取による血清 25(OH)D 濃度に及ぼす相対的な有効性を調査するため、ビタミン D 欠乏状態 (血清 25(OH)D 濃度が 37.5 ± 10 nmol/L) にある、骨粗鬆症の閉経後女性 (平均年齢 67 ± 6 歳) 40 名を 4 つのグループに無作為に分け、ビタミン D<sub>3</sub> 20 μg/日、25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/日、25(OH)D<sub>3</sub> 266 μg/週毎 (約 40 μg/日に相当)、25(OH)D<sub>3</sub> 266 μg/2 週間毎 (約 20 μg/日に相当) の用量で 12 ヶ月間経口投与した。

25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/日投与 6 ヶ月後の血清 25(OH)D 濃度は 161.0 ± 21.7 nmol/L、12 ヶ月後は 188.0 ± 24.0 nmol/L で、ビタミン D<sub>3</sub> 20 μg/日投与群 (6 ヶ月後は 80.0 ± 2.0 nmol/L、12 ヶ月後は 86.2 ± 23.7 nmol/L) と比較すると、投与 6 ヶ月後、12 ヶ月後、共に血清 25(OH)D 濃度の増加が有意に高かった。同様の増加は、25(OH)D<sub>3</sub> を 266 μg/週毎または 2 週間毎 (約 40 及び約 20 μg/日に相当) での投与したグループでも見られ、25(OH)D<sub>3</sub> 266 μg/週毎投与 6 ヶ月後の血清 25(OH)D 濃度は 213.5 ± 80.0 nmol/L、12 ヶ月後は 233.0 ± 81.2 nmol/L であり、266 μg/2 週間毎投与 6 ヶ月後の血清 25(OH)D 濃度は 164.5 ± 41.7 nmol/L、12 ヶ月後は 210.5 ± 22.2 nmol/L であった。

血清カルシウム及びリン濃度への被験物質投与による影響は認められなかった。ベースラインより全群で PTH の低下を示し、ビタミン D<sub>3</sub> 投与群に比べて 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群でより低い傾向を示したが、今回測定したバイオマーカーはいずれも Navarro-Valverde らが示す基準範囲内であった (表 8)。要請者は、本試験は骨減少症のある閉経後女性を対象としているため、NOAEL を設定するためのデータとしては適切ではないと考える。

表 8. ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub> 投与によるバイオマーカーの推移

&lt;投与 6 ヶ月後&gt;

	カルシウム (mmol/L)	リン (mmol/L)	アルカリフォス ファターゼ (U/l)	CTX* (ng/L)	オステオカ ルシン (nmol/L)	PTH (ng/L)	尿中カルシウ ム・クレアチ ニン比 (mmol/mmol)
ベースライン	2.35 ± 0.05	0.9 ± 0.06	43.0 ± 8.2	0.22 ± 0.05	3.3 ± 0.7	57.2 ± 11.0	0.1 ± 0.33
D <sub>3</sub> 20μg/日	2.4 ± 0.05	1.02 ± 0.06	51.4 ± 8.6	0.15 ± 0.04	2.2 ± 0.3	46.5 ± 11.2	0.13 ± 0.03
25(OH)D <sub>3</sub> 20μg/日	2.5 ± 0.05	0.97 ± 0.03	43.6 ± 5.6	0.15 ± 0.03	3.0 ± 0.7	38.7 ± 10.7	0.19 ± 0.04
25(OH)D <sub>3</sub> 266μg/週	2.5 ± 0.07	1.00 ± 0.03	40.5 ± 9.5	0.16 ± 0.04	2.6 ± 0.38	35.4 ± 10.7	0.22 ± 0.06
25(OH)D <sub>3</sub> 266μg/2 週	2.4 ± 0.05	0.90 ± 0.06	48.3 ± 7.6	0.17 ± 0.04	3.2 ± 0.7	37.8 ± 8.5	0.19 ± 0.02
分散分析 (ANOVA)	0.085	0.707	0.020	0.725	0.015	0.083	0.001

&lt;投与 12 ヶ月後&gt;

	カルシウム (mmol/L)	リン (mmol/L)	アルカリフォス ファターゼ (U/l)	CTX* (ng/L)	オステオカ ルシン (nmol/L)	PTH (ng/L)	尿中カルシウ ム・クレアチ ニン比 (mmol/mmol)
ベースライン	2.35 ± 0.05	0.9 ± 0.06	43.0 ± 8.2	0.22 ± 0.05	3.3 ± 0.7	57.2 ± 11.0	0.1 ± 0.33
D <sub>3</sub> 20μg/日	2.4 ± 0.05	1.01 ± 0.06	45.5 ± 8.3	0.14 ± 0.20	1.9 ± 0.3	41.6 ± 10.5	0.17 ± 0.03
25(OH)D <sub>3</sub> 20μg/日	2.4 ± 0.05	1.01 ± 0.03	39.1 ± 4.8	0.13 ± 0.03	2.5 ± 0.6	32.5 ± 8.8	0.27 ± 0.06
25(OH)D <sub>3</sub> 266μg/週	2.4 ± 0.08	1.02 ± 0.03	33.8 ± 9.7	0.19 ± 0.02	2.2 ± 0.3	29.0 ± 5.9	0.29 ± 0.05
25(OH)D <sub>3</sub> 266μg/2 週	2.4 ± 0.05	1.00 ± 0.03	42.4 ± 5.9	0.15 ± 0.06	2.7 ± 0.5	30.4 ± 5.8	0.21 ± 0.07
分散分析 (ANOVA)	0.026	0.914	0.009	0.781	0.014	0.005	0.001

\*: CTX (I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド)

<sup>23</sup> 文献では「Calcidiol (25(OH)D<sub>3</sub>)」と表記されている

③ 25(OH)D<sub>3</sub> 7、20 μg/日投与 (引用文献 54、Cashman ら (2012))

Cashman らは、ビタミン D<sub>3</sub> 摂取と 25(OH)D<sub>3</sub><sup>24</sup> 摂取が血清 25(OH)D 濃度に及ぼす影響について調査するため、無作為割付二重盲検プラセボ対照介入試験を実施した。本研究は紫外線照射による皮膚でのビタミン D<sub>3</sub> 生成の影響を避けるため、冬季に実施した。年齢 50 歳以上 (平均 57.2 ± 6.3 歳) の健常者 56 名 (男性 25 名、女性 31 名) に対して、ビタミン D<sub>3</sub> を 20 μg/日、あるいは 25(OH)D<sub>3</sub> を 7、20 μg/日の用量で 10 週間経口投与した。食習慣調査によると、被験者全員の食事からのビタミン D 摂取量は中央値が 5.4 μg/日であり、各群間における有意差はなかった。

血清 25(OH)D 濃度は、ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群において、試験開始時よりも有意に増加し、プラセボ群との比較においても有意に増加した。25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/日投与群では投与 10 週後の血清 25(OH)D 濃度が 134.6 ± 26.0 nmol/L で、ビタミン D<sub>3</sub> 20 μg/日投与群 (69.0 ± 8.7 nmol/L) と 25(OH)D<sub>3</sub> 7 μg/日投与群 (70.7 ± 9.9 nmol/L) よりも 2 倍近い有意な増加が認められた。血清 25(OH)D 濃度への影響については、男女差は認められなかった。血清カルシウム濃度 (アルブミン補正) に、被験物質投与による影響は認められず、高カルシウム血症は発症しなかった。血清 PTH 濃度は、プラセボ及びビタミン D<sub>3</sub> 投与群では変化がなかったが、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群では 5、10 週後の測定で有意な低下が認められた (表 9)。全群において、被験物質投与による健康への悪影響は認められなかった。

要請者は、健常者を対象とした本試験において、高カルシウム血症を含め、健康への悪影響が認められなかった用量 20 μg/日が NOAEL になると判断した。

表 9. ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub> 投与によるバイオマーカーの推移

	プラセボ	ビタミン D <sub>3</sub>		25(OH)D <sub>3</sub>		投与群間 有意差 (P 値)
		20 μg/日	7 μg/日	20 μg/日	7 μg/日	
被験者	男 6、女 10	男 5、女 8	男 7、女 7	男 7、女 5		
食事からのビタミン D 摂取 <sup>1</sup>	6.5 (2.9-7.9)	7.6 (2.9-5.4)	5.1 (2.8-6.6)	4.4 (3.7-6.1)		0.161
カルシウム摂取 (mg/日)	970 ± 503	1114 ± 494	1008 ± 415	794 ± 309		0.378
血清 25(OH)D (nmol/L)						
投与前	42.7 ± 12.6 <sup>d</sup>	49.7 ± 16.2 <sup>d</sup>	42.5 ± 8.9 <sup>d</sup>	38.2 ± 9.9 <sup>d</sup>		0.471
5 週後	39.7 ± 11.1 <sup>a,d</sup>	64.1 ± 9.5 <sup>b,e</sup>	60.8 ± 8.1 <sup>b,e</sup>	98.1 ± 20.5 <sup>c,e</sup>		<0.0001
10 週後	41.2 ± 11.1 <sup>a,d</sup>	69.0 ± 8.7 <sup>b,e</sup>	70.7 ± 9.9 <sup>b,f</sup>	134.6 ± 26.0 <sup>c,f</sup>		<0.0001
各群内の有意差 (P 値)	0.01	<0.0001	<0.0001	<0.0001		
血清カルシウム (nmol/L)						
投与前	8.4 ± 0.2	8.3 ± 0.3	8.4 ± 0.2	8.4 ± 0.3		---
5 週後	8.7 ± 0.2	8.7 ± 0.3	8.7 ± 0.2	8.7 ± 0.3		---
10 週後	8.5 ± 0.3	8.5 ± 0.2	8.5 ± 0.1	8.5 ± 0.3		---
血清 PTH (ng/mL)						
投与前	65.6 (47.4-70.2)	47.3 (41.5-57.5)	58.6 (52.8-69.9) <sup>d</sup>	57.9 (42.5-73.5) <sup>d</sup>		0.339
5 週後	66.4 (42.6-85.0) <sup>a</sup>	43.3 (39.8-53.3) <sup>a,b</sup>	49.0 (44.5-63.7) <sup>b,e</sup>	48.2 (39.1-66.6) <sup>b,e</sup>		0.013
10 週後	65.8 (54.5-87.8) <sup>a</sup>	44.2 (40.1-52.7) <sup>a,b</sup>	52.7 (41.1-62.7) <sup>b,e</sup>	40.5 (34.6-61.6) <sup>b,e</sup>		0.001
各群内の有意差 (P 値)	0.099	0.578	0.010	0.0004		

1: μg/日、中央値 (四分位数)

a, b, c: 異なる符号は群間での比較で有意差のあることを示している。(P<0.05); ANCOVA (共分散分析) を用いた t 検定 (Bonferroni-adjusted t test) (年齢、性別、食事からのビタミン D・カルシウム摂取量、ヘーパインマーカーを調整)

d, e, f: 異なる符号は、各群内において摂取期間での比較で有意差のあることを示している。(P<0.05); ANOVA (分散分析) を用いた t 検定 (Bonferroni-adjusted t test)

<sup>24</sup> 文献では「25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>」と表記されている。

④ 25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/日投与 (引用文献 51、Shieh ら (2017))

Shieh らは、ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub><sup>25</sup> 摂取が血清 total 25(OH)D 及び free 25(OH)D 濃度に及ぼす影響と、PTH 変動と血清 total 25(OH)D 及び free 25(OH)D との関連性を調査するため、無作為化比較試験を実施した。血清 25(OH)D 濃度が 20 ng/mL 未満で 18 歳以上の健常な男女を対象に、ビタミン D<sub>3</sub> を 60 μg/日または 25(OH)D<sub>3</sub> を 20 μg/日の用量で、16 週間経口投与した。

その結果、血清 total 25(OH)D 濃度は、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群では投与 16 週後に 42.4 ± 15.9 ng/mL に上昇し、D<sub>3</sub> 投与群の 29.6 ± 4.1 ng/mL と比較すると有意に高かった (p=0.007)。また血清 free 25(OH)D 濃度の変動も同様に、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群では投与 16 週後に 11.6 ± 5.6 pg/mL に上昇し、D<sub>3</sub> 投与群の 7.8 ± 1.9 pg/mL と比較すると有意に高かった (P=0.02)。

血清 PTH 測定の結果、ベースライン検査時の PTH 濃度が低かったこともあり、両投与群ともに、被験物質投与による有意な変動はなかった。しかし、血清 25(OH)D 濃度変動との有意な関連性がみられ、血清 total 25(OH)D が 1 ng/mL 増加で PTH が 0.8% 低下 (P=0.01) し、free 25(OH)D が 1 ng/mL 増加で PTH が 2.5% 低下 (P=0.04) した。

いずれの投与群においても血清カルシウム及び尿中カルシウム排泄量は、投与 16 週後まで有意な変化は認められず (p>0.4)、高カルシウム血症、高カルシウム尿症、または腎石症の報告はなかった。なお、他の健康影響については記載されていない。

要請者は、健常者を対象とした本試験において、高カルシウム血症等の有害事象が認められなかった用量 20 μg/日が NOAEL になると判断した。

⑤ 25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/日投与 (引用文献 55、Bischoff-Ferrari ら (2012))

Bischoff-Ferrari らは、25(OH)D<sub>3</sub> 摂取とビタミン D<sub>3</sub> 摂取による血清 25(OH)D 濃度への影響について調査するため、50~70 歳 (平均 65 ± 7.2 歳) の閉経後女性 20 名に対し、ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub><sup>26</sup> を 20 μg/日の用量で 4 ヶ月経口投与し、血清中 25(OH)D 濃度を測定した。本試験は無作為割付二重盲検の条件で実施された。

被験物質投与により、統計学的有意差は不明だが、血清中の 25(OH)D 及び 1,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度の増加が認められ、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群では投与 4 ヶ月後の血清 25(OH)D 濃度は 69.47 ± 1.58 ng/mL であった。ビタミン D<sub>3</sub> 投与群 (30.99 ± 1.59 ng/mL) よりも 2 倍以上の著しい増加が認められた (p<0.0001)。

本試験では、血中 25(OH)D 濃度が健康影響との関連性が示唆される血清カルシウム濃度や PTH、血糖、免疫マーカーについても測定し、25(OH)D<sub>3</sub> 摂取とビタミン D<sub>3</sub> 摂取による影響の違いについて評価している (表 10)。その結果、血清中のカルシウム濃度変動については両群間の差はなく、投与 4 ヶ月後も 2.6 nmol/L 以上となる被験者はなかった。血清カルシウム濃度と尿中カルシウム/クレアチニン比においても両群間の差は認められず、試験期間中に高カルシウム血症を発症した被験者はなかった。また、収縮期血圧については、ビタミン D<sub>3</sub> 投与群と比較すると 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群で有意に低下し、免疫マーカーについても両群間での有意差はなかったが、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群において改善傾向が見られた。その他の健康への悪影響の有無については記載されていない。

要請者は、本試験は閉経後女性が被験者であるため、NOAEL を設定するためのデータとしては適切

<sup>25</sup> 文献では「calcifediol」または「25D3」と表記されている。

<sup>26</sup> 文献では「HyD」と表記されている。HyD は 25(OH)D<sub>3</sub> 製剤の製品名

ではないと考える。

表 10. ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub> 投与によるバイオマーカーの推移

	ビタミン D <sub>3</sub> 20 μg/日	25(OH)D <sub>3</sub> 20 μg/日	投与群間 有意差
被験者 平均年齢 (歳)	女 10 63.45 ± 7.78	女 10 59.48 ± 6.27	
血漿 25(OH)D (ng/mL)			
投与前	14.18 ± 3.61	12.28 ± 4.08	
4 カ月後	30.99 ± 1.59 (≒77.48nmol/L)	69.47 ± 1.58 (≒173.68nmol/L)	p<0.0001
血漿 1,25(OH) <sub>2</sub> D (pg/mL)			
投与前	38.61 ± 12.10	33.02 ± 13.63	
4 カ月後	40.50 ± 2.91	53.06 ± 2.76	p=0.004
血清カルシウム (mmol/L)			
投与前	2.27 ± 0.08	2.26 ± 0.07	
4 カ月後	2.27 ± 0.03	2.27 ± 0.03	p=0.97
尿中カルシウム/クレアチニン比			
4 カ月後	0.33 ± 0.06	0.33 ± 0.06	p=0.98

⑥ 25(OH)D<sub>3</sub> 15 μg/日投与 (引用文献 56、Peacock ら (2000))

Peacock らは、25(OH)D<sub>3</sub><sup>27</sup>及びカルシウムの栄養補充が大腿骨の骨量減少に与える影響について検討するため、無作為化二重盲検プラセボ対照介入試験を行った。健常な高齢男性 122 名 (平均年齢 75.9 歳)、女性 316 名 (平均年齢 73.7 歳) を対象にプラセボ及び 25(OH)D<sub>3</sub> を 15 μg/日 (5 μg/カプセル × 3 粒/日)、カルシウムを 750 mg/日の用量で、最長 4 年間経口投与した。被験者 438 名のうち、4 年間の試験を完了した被験者は 236 名 (男性 66%、女性 59%) であった。

その結果、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群の血清 25(OH)D<sub>3</sub><sup>28</sup>濃度は、60.5 nmol/L から投与 1 年後に 118.8 nmol/L に上昇し、その後の試験期間中も近似した値で推移した。4 年間の試験中に 250 nmol/L を超えた被験者はいなかったと報告している (2 年後以降の実測値の記述なし)。

その他の測定項目において、大腿骨、脊椎及び全身の骨密度、血清 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub><sup>29</sup>濃度、血清オステオカルシン濃度及び尿中 NTX/Cr (I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド/クレアチニン比) 変動については、プラセボ群と 25(OH)D<sub>3</sub> 群との間に、有意差はなかった。一方、PTH (p<0.001)、尿中カルシウム/クレアチニン比 (mmol/mmol) (p<0.07) においては、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群でプラセボ群よりも有意な増加が認められた。また大腿骨髄腔幅 (p<0.04) は、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群でプラセボ群よりも有意な拡張の抑制が認められた。

25(OH)D<sub>3</sub> 投与による高カルシウム血症及び高カルシウム尿症の発症はなく、カルシウム投与群で腎結石 1 名、高 PTH 1 名、プラセボ群で高カルシウム血症 1 名の発症報告があった。カルシウム投与群では、プラセボ及び 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群と比較して、胃腸障害の発症が多かった (有意差は不明)。被験

<sup>27</sup> 文献では「25OH vitamin D<sub>3</sub>」と表記されている。

<sup>28</sup> 文献では「25OH vitamin D」<sup>28</sup>と表記されている。

<sup>29</sup> 文献では「1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamin D」<sup>29</sup>と表記されている。



物質投与による重大な有害事象は発生しなかった。

要請者は、本試験は高齢者が被験者であるため、NOAEL を設定するためのデータとしては適切ではないと考える。

⑦ 25(OH)D<sub>3</sub> 10 μg/人/日投与 (引用文献 43、伊藤 (2016) \_DSM 社社内資料)

伊藤は、25(OH)D<sub>3</sub> またはビタミン D<sub>3</sub> の経口摂取が血清 25(OH)D 濃度に与える影響について検討するため、無作為化二重盲検並行群間比較試験を行った。年齢 50~70 歳の閉経後、かつ血清 25(OH)D 濃度が 30 ng/mL 以下の女性 66 名を対象に、プラセボ (結晶セルロース含有製剤) 及びビタミン D<sub>3</sub> または 25(OH)D<sub>3</sub> を 10 μg/人/日の用量で 112 日間経口投与した。

血清 25(OH)D 濃度は、ビタミン D<sub>3</sub> 投与群、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群でベースライン検査に比べ有意に増加した。一方、プラセボ群では有意な低下を示した。血清 1,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度はビタミン D<sub>3</sub> 投与群、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群で同様に有意に増加したが、プラセボ群では変化はなかった。

血清カルシウム濃度は 3 群とも最終検査時で有意に増加したが、ビタミン D<sub>3</sub> 投与群、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群においては、血清カルシウム濃度が基準値 (10.2 mg/dL)<sup>30</sup> を超える被験者は認められなかった。血清 PTH 濃度については 3 群とも有意な変動は認められなかった。HbA1c はビタミン D<sub>3</sub> 投与群のみ有意に上昇したが、基準値内 (4.6-6.2 %)<sup>31</sup> での変動であった (表 11)。BMI に有意な変化はなく、拡張期血圧が 3 群でベースライン検査に比べ有意に上昇した。収縮期血圧は 3 群とも有意な変化はなかった。各被験物質摂取による有害事象の報告はなかった。

要請者は、本試験は閉経後女性が被験者であるため、NOAEL を設定するためのデータとしては適切ではないと考える。

表 11. ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub> 投与によるバイオマーカーの推移 (112 日)

	プラセボ (24例)		ビタミンD <sub>3</sub> (21例)		25(OH)D <sub>3</sub> (21例)	
	ベースライン検査	最終検査	ベースライン検査	最終検査	ベースライン検査	最終検査
25(OH)D (ng/mL)	22.5 ±4.5	18.8 ±4.5*	22.0 ±5.6	28.7 ±9.46*	22.1 ±6.1	50.0 ±19.0*
1,25(OH) <sub>2</sub> D (pg/mL)	51.3 ±13.9	49.7 ±10.9	50.4 ±12.4	63.1 ±13.8*	46.6 ±10.9	72.5 ±22.7*
カルシウム (mg/dL)	9.28 ±0.32	9.58 ±0.4*	9.31 ±0.29	9.55 ±0.22*	9.40 ±0.18	9.57 ±0.27*
副甲状腺ホルモン (pg/mL)	55.9 ±24.6	55.9 ±19.6	59.7 ±16.6	54.8 ±12.4	54.7 ±19.4	50.6 ±16.6
HbA1c (%)	5.40 ±0.22	5.49 ±0.27	5.32 ±0.31	5.46 ±0.4*	5.40 ±0.15	5.45 ±0.19

平均値 ± 標準偏差 \* P < 0.05 各試験食品のベースライン検査と最終検査の比較

⑧ 25(OH)D<sub>3</sub> 10 μg/人/日投与 (引用文献 44、清水ら (2017) \_DSM 社社内資料)

清水らは、健常な日本人成人男女を対象に 25(OH)D<sub>3</sub> の経口摂取が血清 25(OH)D 濃度に与える影響について調査するため、無作為化二重盲検並行群間比較試験を行った。年齢 45~74 歳で、かつ血清 25(OH)D 濃度が 30 ng/mL 以下の健常な男女 (男性 66 名、女性 149 名) を対象に、プラセボ (結晶セルロース含有製剤) 及び 25(OH)D<sub>3</sub> を 10 μg/人/日の用量で 16 週間経口投与した。

血清 25(OH)D 濃度は、プラセボ群及び 25(OH)D<sub>3</sub> 群でベースライン検査と比較して有意に増加した。また 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群の血清濃度は、プラセボ群と比較し有意に高値であった。1α,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度は、

<sup>30</sup> 血液検査を委託した検査機関 [ ] における血清カルシウム濃度の基準値 (8.4~10.2 mg/dL)

<sup>31</sup> 血液検査を委託した検査機関 [ ] における HbA1c の基準値 (4.6-6.2 %)

プラセボ群及び 25(OH)D<sub>3</sub> 群でベースライン検査と比較して最終検査時で有意に増加し (p<0.001)、カルシウム濃度は有意に低下した (p<0.001)。カルシウム濃度の低下については、清水らは食事からのカルシウム摂取量の僅かな減少が起因の一つとも考えられるが、生理的変動の範囲内であり、偶発的な変動であったと推察している。また、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群の血清 1α,25(OH)<sub>2</sub>D 濃度はプラセボ群より有意に高値であった (p<0.001)。PTH 濃度は、プラセボ群で増加し、25(OH)D<sub>3</sub> 群で低下を示したが有意な変動ではなかった。ただし、両群の間で有意な差が認められた (p<0.001)。血中カルシウム濃度及び尿中カルシウム濃度においては、両群で有意な差は認められず、基準値内<sup>32</sup>の変動であった (表 12)。

本試験中に高カルシウム血症を発症した被験者はなく、試験期間中に発生した有害事象は、担当医師により被験物質投与との関連性は否定された。

要請者は、健常者を対象とした本試験において、健康への悪影響が認められなかった用量 10 μg/日が NOAEL になると判断した。

表 12. 血中ビタミンD 及びカルシウム代謝関連物質の推移

		投与群	ベースライン	16 週後	有意差 <sup>a</sup>
血中 1α,25(OH) <sub>2</sub> D	(pg/mL)	プラセボ	54.30 ± 14.06	60.27 ± 15.49	<0.001
		25(OH)D <sub>3</sub>	54.14 ± 18.12	74.18 ± 23.92	<0.001
		有意差 <sup>b</sup>	0.938	<0.001	
PTH	(pg/mL)	プラセボ	51.4 ± 15.7	53.5 ± 18.3	0.154
		25(OH)D <sub>3</sub>	48.1 ± 14.9	46.3 ± 14.6	0.063
		有意差 <sup>b</sup>	0.090	0.001	
血中カルシウム	(mg/dL)	プラセボ	9.28 ± 0.32	9.15 ± 0.32	<0.001
		25(OH)D <sub>3</sub>	9.30 ± 0.33	9.19 ± 0.33	<0.001
		有意差 <sup>b</sup>	0.503	0.337	
尿中カルシウム	(mg/mg クレアチニン)	プラセボ	0.111 ± 0.080	0.098 ± 0.069	0.132
		25(OH)D <sub>3</sub>	0.104 ± 0.070	0.095 ± 0.064	0.074
		有意差 <sup>b</sup>	0.460	0.786	

<sup>a</sup>: グループ内での有意差 <sup>b</sup>: 投与群間の有意差

⑨ 25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/日、140 μg/週、140 μg 単回投与 (引用文献 50、Jetter ら (2014))

25(OH)D<sub>3</sub><sup>33</sup> 及びビタミン D<sub>3</sub> を毎日・毎週・単回ポータル投与した場合の血中薬物動態を調査するため、健常な閉経後女性 35 名 (年齢 50~70 歳) を対象に、無作為化二重盲検並行群間比較試験を実施した。ビタミン D<sub>3</sub> 20 μg/日、140 μg/週、または、25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/日、140 μg/週を 15 週間投与する群と、ビタミン D<sub>3</sub> または 25(OH)D<sub>3</sub> 各 140 μg を単回投与、ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub> 各 140 μg を同時に単回投与する群に分け、各群 5 名ずつを割り付けた。

投与 15 週後の血漿 25(OH)D<sub>3</sub> の AUC<sub>0-24h</sub> (血中濃度時間曲線下面積) 及び C<sub>max</sub> (最高血中濃度) を測

<sup>32</sup> 血液検査を委託した検査機関 [ ] における血清カルシウム濃度の基準値 (8.4~10.2 mg/dL)

<sup>33</sup> 文献では「calcifediol」と表記されている。

定した結果、20  $\mu\text{g}/\text{日}$ 、140  $\mu\text{g}/\text{週}$ 投与群において、25(OH) $\text{D}_3$ 投与群はビタミン  $\text{D}_3$ 投与群の2~3倍高い値となった。単回ボーラス投与においては、25(OH) $\text{D}_3$  140  $\mu\text{g}$ 投与群とビタミン  $\text{D}_3$ 及び25(OH) $\text{D}_3$ 各140  $\mu\text{g}$ 投与群との間に、 $\text{AUC}_{0-96}$ と $\text{C}_{\text{max}}$ に有意差はみられなかった。

試験期間中の全被験者の血清カルシウム濃度は、正常範囲(2.6 nmol/L以下)であり、尿中カルシウム排泄量は、25(OH) $\text{D}_3$ 投与群とビタミン  $\text{D}_3$ 投与群の間に有意差はみられず、安全性に問題はなかった。

要請者は、本試験は閉経後女性が被験者であるため、NOAELを設定するためのデータとしては適切ではないと考える。

#### ⑩ 25(OH) $\text{D}_3$ 1.5~10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 単回経口投与 (引用文献49、Haddadら(1976))

Haddadらは、25(OH) $\text{D}_3$ の体内動態を調査するため、健常者(年齢21~40歳の男女)27名を対象に、25(OH) $\text{D}_3$ <sup>34</sup>を単回経口投与(1.5、5.0、10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)し、血清25(OH) $\text{D}$ <sup>35</sup>を測定した。その結果、全投与群において投与4~8時間後に血清25(OH) $\text{D}$ 濃度のピークがみられ、5.0、10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与群では、血清25(OH) $\text{D}$ 濃度が投与24時間後に有意に低下した。また、2名に25(OH) $\text{D}_3$  1.0 mgを静脈内投与した結果、投与量の60%が投与24時間後に血清中で測定されている。

25(OH) $\text{D}_3$  1.5~10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重経口投与群において各群2名に、血清尿素窒素、尿酸、ビリルビン、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ、アルカリホスファターゼ及び乳酸デヒドロゲナーゼに変動が見られたが有意な変化ではなかった。血清カルシウム、マグネシウム、無機リンにも影響はなく、全ての被験者において被験物質投与による悪影響は観察されなかった。

25(OH) $\text{D}_3$  1.0 mgを静脈内投与した2名で、投与1~2時間後に一時的な尿中ヒドロキシプロリン及びカルシウム排泄の僅かな増加が認められたが、高カルシウム血症は発症しなかった。

要請者は、健常者を対象とした本試験において、10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重投与で健康への悪影響が観察されなかったが、被験者数が10名に満たないため、被験者数10名で健康への悪影響が観察されなかった用量5.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日がNOAELになると判断した。

#### (2) 血中25(OH) $\text{D}$ 濃度による評価

ビタミン  $\text{D}$ を過剰摂取すると、代謝物である25(OH) $\text{D}$ の血中濃度が増加し、DBPが飽和状態になり、DBPと結合していないfree 25(OH) $\text{D}$ や $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}$ が増加することにより毒性症状が発症するため、血中25(OH) $\text{D}$ 濃度は安全性評価の指標としても重要である(引用文献30、EFSA(2012))。また、我が国を含め各国におけるビタミン  $\text{D}$ 安全性評価では、高カルシウム血症が毒性の指標としてULが設定されているが(I.4項参照)、血清25(OH) $\text{D}$ 濃度の増加と高カルシウム血症には関連性のあることも知られている(引用文献30、EFSA(2012))。

Jonesは、ビタミン  $\text{D}$ 過剰摂取による毒性についてレビューしており、血漿25(OH) $\text{D}$ 濃度が750 nmol/L程度までは毒性症状の発症はなく、この値が閾値になると報告している(引用文献48、Jones(2008))。Hathcockらによるビタミン  $\text{D}$ のリスク評価では、ビタミン  $\text{D}_3$ または $\text{D}_2$ 投与により増加する血清25(OH) $\text{D}$ 濃度は高カルシウム血症発症の指標になるとし、これまでの研究結果をレビューし

<sup>34</sup> 「25-hydroxycholecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>)」と表記

<sup>35</sup> 「25-OHD」表記

たところ、高カルシウム血症発症の多くが非常に大量のビタミン D を摂取した場合であり、血清 25(OH)D 濃度は、数百～数千 nmol/L にもなるが、正常な成人では血清 25(OH)D 濃度が 700 nmol/L 以上になると高カルシウム血症が認められると報告している（引用文献 57、Hathcock ら（2007））。また、Heaney はビタミン D の安全性評価において、Hathcock ら（引用文献 57、Hathcock ら（2007））の評価も参照し、血清 25(OH)D 濃度が 500 nmol/L 以下ではビタミン D 摂取による毒性は観察されないと報告している（引用文献 58、Heaney（2008））。

前項のヒト介入試験結果から、25(OH)D<sub>3</sub> を 20 μg/人/日以上投与した後の血清 25(OH)D 濃度を表 13 にまとめた。これらの中で一日当たりの投与量が最高量である約 40 μg/人/日相当（266 μg/人/週）を 1 年間経口投与した Navvaro-Valverde らの試験においても、投与後の血中 25(OH)D<sub>3</sub> 濃度は平均 233.0 ± 81.2 nmol/L であり、Heaney が毒性発症の境界と提唱している 500 nmol/L（引用文献 58、Heaney（2008））より大幅に低い値であった。

表 13. 25(OH)D<sub>3</sub> 投与後の血清 25(OH)D 濃度

介入研究	対象者	被験者数 (人)	25(OH)D <sub>3</sub> 投与量 (μg/日)	投与期間 (週)	血中/血清 25(OH)D (nmol/L)
Navvaro-Valverde ら 2016 (引用資料 53)	女 (骨粗鬆症) 平均 67 歳	10	20	52	188.0 ± 24.0
		10	266 μg/週 (約 40 μg/日相当*)	52	233.0 ± 81.2
Cashman ら 2012 (引用資料 54)	男女 50 歳以上	12	20	10	134.6 ± 26.0
Shieh ら 2017 (引用文献 51)	男女 平均 34.8 歳	19	20	16	106.0** (42.4 ± 15.9 ng/mL)
Bischoff-Ferrari ら 2012 (引用資料 55)	女 (閉経後) 50～70 歳	10	20	10	173.7** (69.47 ± 1.58 ng/mL)

\*: 要請者による換算

\*\* : 要請者による換算 (1 ng/mL = 2.5 nmol/L (引用文献 31、DRI for Calcium and Vitamin D (2011)))

### (3) ヒトにおける知見のまとめ

我が国及び諸外国におけるビタミン D の安全性評価では、高カルシウム血症発症をビタミン D の過剰摂取による健康障害の指標として、UL が設定されている（I. 4 項参照）。また、食事からのビタミン D 摂取量を反映する血清 25(OH)D 濃度は、ビタミン D 過剰摂取による毒性を評価する際の重要な指標となり、高カルシウム血症との関連もあることは前項までの研究報告のとおりである。

ビタミン D の代謝物である 25(OH)D<sub>3</sub> は、摂取すると用量依存的に血清中濃度が増加し、ヒト体内でビタミン D と同様の代謝経路を辿る。要請者はビタミン D と同様に、高カルシウム血症を 25(OH)D<sub>3</sub> 過剰摂取による健康障害の指標とし、ヒトに投与した場合の血清 25(OH)D 濃度と併せて評価した。

Barger-Lux らが、24～32 歳（平均 28 ± 4 歳）の健康な男性 116 名を対象に、ビタミン D<sub>3</sub> を 25、250 及び 1250 μg/日の用量で 8 週間、25(OH)D<sub>3</sub> を 10、20 及び 50 μg/日の用量で 4 週間経口投与した試験においても、血清カルシウム濃度への影響はなく、高カルシウム血症を発症しなかった（引用文献 52、Barger-Lux ら（1998））。その他のヒト試験においても、25(OH)D<sub>3</sub> 20～40 μg/日投与後の血清 25(OH)D 濃度は約 100～230 nmol/L であり（表 13）、これは、Hathcock（引用文献 57、Hathcock ら

(2007)) や Heaney (引用文献 58、Heaney (2008)) らが血清 25(OH)D 濃度が 500 nmol/L 以下では、ビタミン D 過剰摂取による毒性症状が認められていないと報告しているが、この値よりも低値であった。また、Haddad らによる健康者 (年齢 21~40 歳の男女) 27 名を対象とした試験でも、最高投与量の 10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重を単回経口投与した結果、血清カルシウム濃度への影響はなく、全ての被験者において被験物質投与による悪影響は観察されなかった (引用文献 49、Haddad ら (1976))。

要請者はヒトを対象とした試験の中で最高用量であった Barger-Lux らの試験 (引用文献 52、Barger-Lux ら (1998)) は、健康成人を対象とした報告であり、且つエビデンスレベルが A (バイアスの少ない精度の高い研究) であると評価した。また Haddad らの単回経口投与試験や Hathcock らによる血清 25(OH)D 濃度評価も参照し、これらの知見をもとに 50  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$  を NOAEL に設定した。Cashman らの試験 (引用文献 54、Cashman ら (2012)) では血清 25(OH)D 濃度の増加に男女差はなかったが、要請者は、UF を 2.5 とし、20  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$  が UL になると判断した。

上述のヒト試験では食事からのビタミン D 摂取量が示されている試験は少ないが、健康男女を対象とした Cashman らの試験では、被験者全員の食事からのビタミン D 摂取量の中央値は 5.4  $\mu\text{g}/\text{日}$  であった (引用文献 54、Cashman ら (2012))。また、日本人の健康男女を対象とした清水らの試験では、ベースライン時のビタミン D 摂取量は 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群で  $4.27 \pm 2.79$   $\mu\text{g}/\text{日}$  であり (引用文献 44、清水ら (2017))、両試験ともに被験物質投与による高カルシウム血症は認められていない。Barger-Lux らの試験においては背景食の情報は無かったが、ビタミン D サプリメントの摂取を試験 1 週間前から中止したとあり、その他の食事制限は特にないと考えられる (引用文献 52、Barger-Lux ら (1998))。さらに、Jetter らの単回ボラス投与試験において、ビタミン D<sub>3</sub> と 25(OH)D<sub>3</sub> を同時に投与しているが、投与後の AUC<sub>0-24h</sub> 及び C<sub>max</sub> に 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群との有意差はなく (引用文献 50、Jetter ら (2014))、要請者は同時摂取による血清 25(OH)D 濃度増加への相乗効果はないと考察する。また、ビタミン D<sub>3</sub> 及び 25(OH)D<sub>3</sub> 投与後の血清 25(OH)D 濃度への影響から、25(OH)D<sub>3</sub> の生理活性はビタミン D<sub>3</sub> の 2~5 倍ほどであり、EFSA や豪州、英国ではビタミン D<sub>3</sub> に対する 25(OH)D<sub>3</sub> の生理活性の比を 5 と見なして評価している (II. 4. (2) 項参照)。平成 28 年国民健康・栄養調査結果による日本人のビタミン D 摂取量は平均  $7.5 \pm 8.0$   $\mu\text{g}/\text{日}$  であり (引用文献 59、平成 28 年国民健康・栄養調査報告 (2016))、ビタミン D<sub>3</sub> に対する 25(OH)D<sub>3</sub> の生理活性の比を 5 として換算すると 25(OH)D<sub>3</sub> 相当量は約 1.5  $\mu\text{g}/\text{日}$  とごく僅かである。25(OH)D<sub>3</sub> がビタミン D の代替として使用されると考えると、現在の摂取状況からは、ビタミン D 摂取量を除いた UL<sub>add</sub> を設定する必要はないと考える。

## 3. 毒性試験

## (1) 急性毒性試験

表 14. 急性毒性試験成績概要

被験物質	投与経路	動物種	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状	引用文献
			雄	雌		
25(OH)D <sub>3</sub>	腹腔内	Upj:TUC(ICR) SPF マウス	210	210	320 mg/kg 群、 3 日目、全頭死亡	60* 60-a
25(OH)D <sub>3</sub>	経口	Wist(SPF) ラット	/	>200	200 mg/kg 群、 5 日目、1 匹死亡	61** 61-a
25(OH)D <sub>3</sub>	経口	Upj:TUC(SD) SPF ラット	>320	/	症状及び死亡例なし	60* 60-a
25(OH)D <sub>3</sub>	腹腔内	Upj:TUC(SD) SPF ラット	>320	/	320 mg/kg 群、 5 日目、2 匹死亡	60* 60-a

\*引用文献 60、Acute LD50 studies\_DSM 社社内資料 (1975) : GLP に準拠していない。

60-a : 引用文献 60 の試験で使用された飼料組成

\*\*引用文献 61、Acute oral toxicity study in rats\_ DSM 社社内資料 (2004) : GLP に準拠して実施された。

61-a、KLIBA NAFAG (2014) : 引用文献 61 の試験で使用された飼料組成

## (2) 亜急性毒性試験

## ① 90 日間反復投与毒性試験 (引用文献 62、90-day oral toxicity study\_DSM 社社内資料 (2014))

ラット (Wister 系、雌雄各 10 匹) に 25(OH)D<sub>3</sub> 製剤として 0、0.5、1.5、4.5 又は 13.4mg/kg 体重/日 (25(OH)D<sub>3</sub> 量として 0、7、20、60 又は 180 μg/kg 体重/日) を 90 日間混餌投与し、反復投与毒性試験が実施された。また被験物質投与終了後、0 及び 180 μg/kg 体重/日投与群の雌雄各 5 匹に対し、28 日間の回復試験を行った。本試験は、血漿中の 25(OH)D<sub>3</sub> 濃度の測定を除き GLP に準拠して実施された。

その結果、20 μg/kg 体重/日投与群の雄 1 匹が 4 週目の採血後に、180 μg/kg 体重/日投与群の雌 1 匹が 27 日目に死亡したが被験物質投与との関連性はないとみなされた。一般症状、飼料摂取量、体重及び体重増加において被験物質投与に起因する影響はみられなかった。

投与終了後の顕微鏡検査では、25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/kg 体重/日以上以上の投与群で、雌雄ともに軽度から中程度 (20 μg/kg 体重/日投与群で軽度 7 例、60 μg/kg 体重/日投与群で軽度 12 例、180 μg/kg 体重/日投与群で軽度 14 例、中程度 1 例) の腎の石灰化が観察された。また、軽度の腎盂腎炎が 25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/kg 体重/日投与群で雌雄各 1 例、180 μg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、軽度の尿路上皮の過形成が、20 μg/kg 体重/日投与群の雌で 1 例、60 μg/kg 体重/日投与群の雌で 2 例、80 μg/kg 体重/日投与群の雌で 1 例に、さらに、雌の卵巣の間質細胞肥大 (軽度) が 20 μg/kg 体重/日投与群で 3 例、60 μg/kg 体重/日投与群で 6 例、180 μg/kg 体重/日投与群で 9 例に観察された。

7 μg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌で平均赤血球ヘモグロビン濃度が有意な低値を示した。7 μg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌及び 20 μg/kg 体重/日以上以上の投与群の雄で、カルシウムの尿中排泄量が有意に増加し、それらは pH の有意な低値を示した。

60 μg/kg 体重/日以上以上の投与群の雄で尿中のナトリウムが、同群の雌で塩化物の排泄量がそれぞれ

れ有意に低下した。7  $\mu\text{g/kg}$  体重/日以上以上の投与群の雌雄でカルシウム/クレアチニン濃度比が有意な高値を示した。

血漿中の 25(OH) $\text{D}_3$  濃度は、被験物質投与により 4 週後の測定で有意な増加を示し ( $p < 0.001$ )、雄では 60  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群で、雌では 20  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群で最大の値を示した。しかし、被験物質投与群の血漿中の 25(OH) $\text{D}_3$  濃度は、その後維持または減少傾向が見られ、試験終了時では、雄の全群と、雌の 1 群で 4 週時を下回っていた。さらに 180  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群での 28 日間の回復試験後の血漿中の 25(OH) $\text{D}_3$  濃度は、雌雄共著しく減少し、試験開始時の値を下回った。

以上の結果より、雌雄共に一般症状や血液学的検査等で 25(OH) $\text{D}_3$  投与に起因する毒性は認められず、本試験における NOAEL は 180  $\mu\text{g/kg}$  体重/日に設定された。

## ② 6 ヶ月間反復投与毒性試験(引用文献 63、63-a、Six months oral toxicity\_DSM 社社内資料(1972))

ラット (SD 系、雌雄各 15 匹/群) に 25(OH) $\text{D}_3$  を 6 ヶ月間混餌投与 (体重換算量で 0、12、40 または 120  $\mu\text{g/kg}$  体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。なお、本試験は GLP 準拠についての記載はなかった。

その結果、摂餌量において、40 及び 120  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群で 0 及び 12  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群に比較して低下が見られたが、一般症状、体重、血液学的検査、眼検査、臓器重量においては被験物質投与に起因する影響は認められなかった (統計学的な有意差については不明)。肉眼的、病理組織学的所見は、雌で腎石灰化が対照群 (5 例)、12  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群 (5 例)、40  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群 (6 例) 及び 120  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群 (12 例) で認められた。尿結石 (腎砂) が雄の 40  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群で 2 例及び 120  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群の 2 例で膀胱に、また同投与群の雄の 4 例で腎盂に確認された。涙腺唾液腺炎及び気管炎がいずれの群でも散見されており、涙腺唾液腺炎については対照群の雄で 7 例、雌で 8 例、40  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群の雄で 1 例、120  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群の雄で 8 例、雌で 8 例、認められた。気管炎については対照群の雄で 3 例、雌で 5 例、120  $\mu\text{g/kg}$  体重/日投与群の雄で 9 例、雌で 5 例、確認された。腎石灰化や尿結石についてはビタミン  $\text{D}_3$  の作用によるものであろうと考察する。

以上の結果より、雌雄共に一般症状や血液学的検査等で 25(OH) $\text{D}_3$  投与に起因する毒性は認められず、要請者は本試験における NOAEL は 12  $\mu\text{g/kg}$  体重/日になると考える。

## (3) 慢性毒性及び発がん性試験

25(OH) $\text{D}_3$  を被験物質とした慢性毒性試験及び発がん性試験について PubMed で検索した結果、慢性毒性及び発がん性に関する情報は得られなかった (引用文献 64、PubMed 検索結果 (2018))。

## (4) 生殖発生毒性試験

### ① 生殖毒性試験 (ラット) (引用文献 65、繁殖試験及び催奇形性試験\_DSM 社社内資料 (1975))

ラット (SD 系、雄 10 匹/群、雌 20 匹/群) を用いて 25(OH) $\text{D}_3$  の強制経口投与 (0、12 または 40  $\mu\text{g/kg}$  体重/日、対照群には溶媒(コーン油)を投与) による生殖毒性試験が実施された。投与は、雄では交配 60 日前から交配期間中に、雌では交配 14 日前から交配及び妊娠分娩期間中に実施された。なお、本試験は GLP 準拠についての記載はなかった。

- ・ 12  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群の雌雄の親ラットで、雄は交配前、雌は剖検前までの体重増加量が、対照群と比べ低値であったが有意差はなかった。
- ・ 12  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群の 1 例で 10 匹が死産だったため、25(OH) $\text{D}_3$  投与群の平均死産児数が対照群比べ高値を示したが、用量相関性が認められず、投与の影響とは見なされなかった。
- ・ 交配率、妊娠及び分娩に投与に起因する影響はみられなかった。

以上の結果より、要請者は NOAEL を最大投与量の 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日とした。

② 発生毒性試験（ラット）（引用文献 65、繁殖試験及び催奇形性試験\_DSM 社社内資料（1975））

ラット（SD 系、12 匹/群）の妊娠 6～15 日に 25(OH) $\text{D}_3$  を強制経口投与（0、12 または 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日、対照群には溶媒（コーン油）を投与）し、発生毒性試験が実施された。なお、本試験は GLP 準拠についての記載はなかった。

- ・ 母動物では、投与群の体重増加量が対照群に比べて僅かに低値であった。
- ・ 12  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群の同腹児数が対照群に比べて少なかったが、1 例の出産児数が僅か 5 匹であったためであり、40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群では対照群と同様であった。
- ・ 胎児では、40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群で、1 例に 4 種の肋骨骨格異常がみられた。
- ・ 胎児では、12  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群で、体重が 1.9 g であった胎児 1 例に頭蓋骨の未発達及び第 5 中手骨欠損が見られたが、投与に起因するものとは考えられなかった。
- ・ 本試験において、催奇形性は見られなかった。

以上の結果より、要請者は NOAEL を胎児への催奇形性が観察されなかった投与量である 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日とした。

③ 発生毒性試験（ラット）（引用文献 65、Segment II 試験の一部、繁殖試験及び催奇形性試験\_DSM 社社内資料（1975））

ラット（SD 系、12 匹/群）の妊娠 6～15 日に 25(OH) $\text{D}_3$  を強制経口投与（0 または 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日、対照群には溶媒（コーン油）を投与）し、発生毒性試験が実施された。なお、本試験は GLP 準拠についての記載はなかった。

60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群において、低体重を示した 3 例の胎児に骨格異常及び骨化不全が見られたが、異常の出現率は対照群と比べて低いか、または同程度であると考えられた。本試験において、催奇形性は見られなかった。

以上の結果より、要請者は NOAEL を胎児への催奇形性が観察されなかった投与量である 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日とした。

④ 発生毒性試験（ラット）（引用文献 65、繁殖試験及び催奇形性試験\_DSM 社社内資料（1975））

ラット（SD 系、20 匹/群）の妊娠 15 日から 3 週間の授乳期間を通じて、25(OH) $\text{D}_3$  を強制経口投与（0、12、40 または 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日、対照群に溶媒（コーン油）を投与）し、周産期及び授乳期投与試験が実施された。本試験は GLP 準拠についての記載はなかった。妊娠、分娩、授乳及び児動物の死産数、産仔体重、生存率に投与の影響は見られず、各種測定値は全投与群において対照群と同程度であった。



以上の結果より、要請者は母動物及び児動物に対する NOAEL を 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日とした。

⑤ 発生毒性試験（ウサギ）（引用文献 65、繁殖試験及び催奇形性試験\_DSM 社社内資料（1975））

ウサギ（15 匹/群）の妊娠 6～18 日に 25(OH)D<sub>3</sub> を強制経口投与（0、5、25 及び 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日、対照群には溶媒（コーン油）を投与）し、発生毒性試験が実施された。なお、本試験は GLP 準拠についての記載はなかった。

- ・ 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群で異常は見られなかった。
- ・ 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日以上投与群で胎児の骨格異常の発現率が有意に増加した。
- ・ 25(OH)D<sub>3</sub> は 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日以上の用量でウサギに催奇形性を示すと考えられた。

以上の結果より、要請者は NOAEL を胎児の発生毒性が認められなかった用量である 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日とした。

ラットにおいては最大 60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日の用量で催奇形性試験を実施し、異常は認められなかったが、ウサギにおいては、25  $\mu\text{g}$  及び 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日の用量で異常が認められた。

ウサギは、ビタミン D<sub>3</sub> に対する感受性が高く、要求量以上のカルシウムを吸収し、高カルシウム血症となることが知られている（引用文献 66、Supplement on 25(OH)D<sub>3</sub> safety（2012））。要請者は、ウサギを用いた催奇形性試験において、ラットよりも少ない用量で異常が認められたのは、このウサギの特性に起因していると推察する。

（5）遺伝毒性試験

表 15. *in vitro* 遺伝毒性試験概要

試験種類	試験対象	被験物質	用量	結果	引用文献
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537 <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	25(OH)D <sub>3</sub>	3～5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ ( $\pm$ S9)	陰性	67*
染色体異常試験	ヒト培養 末梢血リンパ球	25(OH)D <sub>3</sub>	2.0～32.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 22h 5.7～10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 46h 18.7～57.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9) 22h 10.7～57.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9) 46h	陰性	68*
遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y 細胞)	25(OH)D <sub>3</sub>	0.01～7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 0.5～25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9)	陰性 陰性	69*

\*GLP に準拠して実施された。

引用文献 67 : reverse mutation assay (2013)\_DSM 社社内資料

引用文献 68 : Chromosome aberration test (2004)\_DSM 社社内資料

引用文献 69 : Evaluation of the mutagenic activity (2016)\_DSM 社社内資料

表 16. *in vivo* 遺伝毒性試験概要

試験種類	試験対象	被験物質	処理濃度・投与量	結果	引用文献
小核試験 (骨髄)	ウイスターラット； 雄各 5 匹 (骨髄細胞)	25(OH)D <sub>3</sub>	10, 25, 50 mg/kg 体重 2回経口投与(24時間間隔)	陰性	70*

\*引用文献 70: Micronucleus test in bone marrow cells of the rat (2016) \_DSM 社社内資料、GLP に準拠して実施された。

#### 4. 一日の摂取量の推計等

##### (1) 食品中からの一日推定摂取量

ビタミン D は魚類、肉類、卵類、乳類、きのこ類などに含まれており (引用文献 1、ビタミンの事典 (1996))、ビタミン D<sub>3</sub> は動物性食品、ビタミン D<sub>2</sub> は植物性食品に多く含まれる (引用文献 2、「日本人の食事摂取基準 (2015 年版)」策定検討報告書 (2015)、引用文献 71、Schmid ら (2013))。平成 28 年国民健康栄養調査結果によると、日本人のビタミン D 摂取量は  $7.5 \pm 8.0 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$  であった (引用文献 59、平成 28 年国民健康・栄養調査報告 (2016))。ビタミン D<sub>3</sub> の代謝物である 25(OH)D<sub>3</sub> は魚類、肉類、卵類などに含まれていることが知られているが (引用文献 54、Cashman ら (2012))、日本において、食品中の 25(OH)D<sub>3</sub> 含量を示した報告は少なく、日本食品標準成分表の中でビタミン D 代謝物の情報が記載されているのは卵類 (全卵・卵黄) と乳類 (牛乳・人乳) のみである (引用文献 72、日本食品標準成分表七訂 (2015))。そのため、食品からの 25(OH)D<sub>3</sub> 推定摂取量の算出には、Schmid らによる動物性食品中の 25(OH)D<sub>3</sub> 含量を示した報告 (引用文献 71、Schmid ら (2013)) と Dunlop らによる魚類と鶏卵の 25(OH)D<sub>3</sub> 含量を示した報告 (引用文献 73、Dunlop ら (2017)) の中の最大値を使用した。

平成 28 年国民健康・栄養調査、食品群別栄養素等摂取量 (引用文献 59、平成 28 年国民健康・栄養調査報告 (2016)) より、25(OH)D<sub>3</sub> 含量が示されている肉類・乳類・卵類・油脂類の摂取量から推定摂取量を算出した。なお、Schmid らの報告では、日本人のビタミン D の主供給源とされている魚類の 25(OH)D<sub>3</sub> 含量はほとんどが検出限界以下もしくは微量であった (引用文献 71、Schmid ら (2013))。魚類においては哺乳類と異なり、肝臓中で 1 位と 25 位が水酸化され、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}$  まで変換されることから 25(OH)D<sub>3</sub> 自体が低いものと推察される (引用文献 74、魚類の栄養と飼料 (2009))。しかし、Dunlop らは、オーストラリアで捕れた自身魚 4 種について 25(OH)<sub>2</sub>D 含量を示している。Dunlop らは、測定した結果が他国よりも高い値であったことについて、地理や環境、分析方法の感度などの違いによるものと考察している (引用文献 73、Dunlop ら (2017))。ここでは、魚類及び鶏卵については含量が高かった Dunlop らの値を、その他については Schmid らの値を使用して算出した。その結果、25(OH)D<sub>3</sub> の一日推定摂取量は、 $1.17 \mu\text{g}$  であった (表 17)。

平成 28 年国民健康・栄養調査結果の食品群別栄養素等摂取量では、ビタミン D の供給源となっている食品群は、上記以外ではビタミン D<sub>2</sub> を多く含有するきのこ類の他は野菜類から摂取されていたが、 $0.2 \mu\text{g}/\text{日}$  と多くはなかった (引用文献 59、平成 28 年国民健康・栄養調査報告 (2016))。今回は各食品群の 25(OH)D<sub>3</sub> 含量の最大値から算出しているため、25(OH)D<sub>3</sub> 含量が不明な野菜類からの摂取分についても補える範囲であると考え。

以上より、表 7 で算出された 1.17 の数値を切り上げて  $1.2 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$  を推定摂取量とした。

表 17. 食品中からの 25(OH)D<sub>3</sub> 一日推定摂取量

	25(OH)D <sub>3</sub> 含量 (引用文献 71)	25(OH)D <sub>3</sub> 含量 (引用文献 73)	食品群別摂取量 (引用文献 59)	食品群別 25(OH)D <sub>3</sub> 摂取量
	μg/kg	μg/100g	g/人/日	μg/人/日
生魚介類	0.2-2.5	0.30-0.70	39.4	0.28
魚介加工品	1.1	—	26.2	0.03
牛肉	0.2-5.8	—	14.3	0.08
豚肉	0.6-1.4*	—	39.5	0.06
ハム、ソーセージ類	1.4**	—	12.9	0.02
鶏肉	2.0-2.5	—	26.9	0.07
その他の鳥肉	2.5**	—	0.1	微量
その他の畜肉 (ラム肉)	5.7-12.0	—	0.3	微量
肉類 (内臓)	0.8-23.3	—	1.4	0.03
その他の肉類	12.0**	—	0.1	微量
牛乳	0.042-0.370 μg/L***	—	81.8	0.03
バター	0.50-0.96	—	1.0	微量
チーズ	0.5	—	3.2	微量
発酵乳・乳酸菌飲料	0.90**	—	38.4	0.03
その他の乳製品 (クリーム)	0.27-0.90	—	8.4	0.01
卵類	3.8	0.5-1.5	35.6	0.53
合計				1.17

\* : 引用文献 71 には、69.3 μg/kg の値があったが、他との差が大きいため除外した。

\*\* : 25(OH)D<sub>3</sub> 含量データがなかったため、それぞれ「ハム、ソーセージ類」には「豚肉」、「その他の鳥肉」には「鶏肉」、「その他の肉類」には「その他の畜肉」、「発酵乳・乳酸菌飲料」には「その他の乳製品」の含量を用いて推計値を算出した。

\*\*\* : 100mL=103.2g (引用文献 72、日本食品標準成分表)

## (2) 指定後添加物としての一日推定摂取量 (サプリメントを除く)

栄養強化が想定される当該添加物が、生鮮食品、卵類、アルコール飲料、サプリメントを除く、すべての食品に添加された場合の推定摂取量を算出することとする。

本品は、ビタミン D<sub>3</sub> の代替使用を見込んでいるが、現在市場にあるビタミン D 強化食品を調査した結果、穀類や乳類、魚介加工品・肉加工品、菓子類など種々の強化食品があった (引用文献 75、ビタミン D 強化食品調査結果 (2018))。25(OH)D<sub>3</sub> も同様の食品への強化が考えられるが、生鮮食品 (野菜類・果実類・生肉・生魚介品等) をはじめとした強化が考えにくい食品を除いた、使用基準案に設定したサプリメント以外の食品に添加されると仮定する。国民健康栄養調査の食品群別摂取量では、使用基準案に設定したサプリメント以外の食品類の摂取量は 647.2 g (約 650 g) (小麦加工品 5.7 g、その他の穀類・加工品 10.6 g、野菜ジュース 12.2 g、ジャム・果汁・果汁飲料 12.0 g、魚肉ハム・ソーセージ 0.6 g、ハム・ソーセージ類 12.9 g、乳製品 50.0 g、油脂類 10.9 g、菓子類 26.3 g、その他の嗜好飲料類 506.0 g) である (引用文献 59、平成 28 年国民健康・栄養調査報告 (2016))。

食品表示基準に基づく栄養強調表示において、「高い旨」を表示するためのビタミン D 基準値は 1.65 μg/100 g である (引用文献 76、栄養成分表示及び栄養強調表示とは (2018))。25(OH)D<sub>3</sub> のビタミン

Dに対する生理活性値については確立されていないが、豪州（引用文献 33、NRV for ANZ including RDI (2006)）やEFSA（引用文献 47、EFSA (2005)）、英国（引用文献 77、Public health (2015)）ではビタミン D<sub>3</sub>に対する 25(OH)D<sub>3</sub>の生理活性の比を 5 と見なしている。この生理活性比 5 を参照すると、ビタミンDの食品への添加量 1.65  $\mu\text{g}/100\text{g}$  に相当する 25(OH)D<sub>3</sub>添加量は、0.33  $\mu\text{g}/100\text{g}$  となる。

添加量を使用基準案の上限の 1.0  $\mu\text{g}/\text{食品 } 100\text{g}$  (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) とし、上述の摂取食品約 650 g 全てにこの用量が添加されたとすると、25(OH)D<sub>3</sub>の推定摂取量は 6.5  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ となる。

#### (3) 指定後添加物としてのサプリメントからの一日推定摂取量

現在一日に摂取する重量が約 100~300mg 程度であるビタミンD配合サプリメントが流通している（引用文献 78、ビタミンD配合サプリメント製品例 (2018)）。指定後は 25(OH)D<sub>3</sub>への代替が想定されるため、一日 200mg のサプリメントを摂取し、使用基準案の上限量（1 kgにつき 50 mg 以下）を使用したと想定し、一日摂取量を 10  $\mu\text{g}/\text{日}$ と推計した。

#### (4) 一日推定摂取量のまとめ

以上（1）、（2）及び（3）の結果から、我が国において指定後の強化剤目的で使用された場合の 25(OH)D<sub>3</sub>の一日最大推定摂取量は、サプリメントを常用し、且つ栄養強化食品を積極的に摂取する人で 17.7  $\mu\text{g}$ （食品由来 1.2  $\mu\text{g}$ +添加物（サプリメント以外） 6.5  $\mu\text{g}$ +サプリメント 10  $\mu\text{g}$ ）となった。

## III. 引用文献

1. 日本ビタミン学会, ビタミンの事典, ビタミンD, 1996;68-90
2. 第一出版, 厚生労働省「日本人の食事摂取基準 (2015年版)」策定検討報告書, 2015; 170-5, 191
3. 第一出版, 厚生労働省「日本人の食事摂取基準 (2010年版)」策定検討報告書, 2010; 124-9
4. 厚生労働省・消費者庁, 第9版食品添加物公定書 2018 ; 460-1, 609
5. 消費者庁, 健康や栄養に関する表示の制度について, 栄養機能食品とは, Available online at: [http://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/health\\_promotion/pdf/health\\_promotion\\_170606\\_0001.pdf](http://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/health_promotion/pdf/health_promotion_170606_0001.pdf), 2018年7月アクセス
6. Okazaki R, Ozono K, Fukumoto S, Inoue D, Yamauchi M, Minagawa M, Michigami T, Takeuchi Y, Matsumoto T and Sugimoto T: Assessment criteria for vitamin D deficiency/in sufficiency in Japan—proposal by an expert panel supported by Research Program of Intractable Diseases, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan, The Japanese Society for Bone and Mineral Research and The Japan Endocrine Society, *Endocr J*, 2017; 64 (1), 1-6
7. Nakamura K, Kitamura K, Takachi R, Saito T, Kobayashi R, Oshiki R, Watanabe Y, Tsugane S, Sasaki A and Yamazaki O: Impact of demographic, environmental, and lifestyle factors on vitamin D sufficiency in 9084 Japanese adults, *Bone* 2015; 74: 10-7
9. 官報 号外第64号, 平成28(2016)年3月23日
10. 日本ビタミン学会, ビタミン学I, ビタミンD, 1980; 99-109
11. 中外製薬株式会社, 活性型ビタミンD<sub>3</sub>製剤 ロカルトロール®カプセル0.25、ロカルトロール®カプセル0.5 医薬品インタビューホーム, 2015
12. General Standard for Food Additives, Food Additive Index, 2017, Available online at: <http://www.fao.org/gsfaonline/additives/index.html>, 2018年1月アクセス
13. Codex Alimentarius Commission, General Standard for Food Additives, 2017
14. Official Journal of the European Union, Commission Regulation (EC) No 887/2009 of 25 September 2009, concerning the authorisation of a stabilised form of 25-hydroxycholecalciferol as a feed additive for chickens for fattening, turkeys for fattening, other poultry and pigs, 2009
15. European Pharmacopoeia 9.0, Calcifediol, 2017; 1901-2
16. Official Journal of the European Union, Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives, 2008
17. Food and Drug Administration, Food Additive Status List, Available online at: <https://www.fda.gov/food/ingredientpackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm091048.htm>, 2018年2月アクセス
18. Food and Drug Administration, Federal Register/Vol.72, No.51, Food Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe in Feed and Drinking Water of Animals: 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>, 2007; 12560-4
19. The United States Pharmacopoeia 41, Official Monographs / Calcifediol, 2018; 616
20. Food and Drug Administration, § 184.1950, § 172.379, § 172.380, 21 CFR (eCFR). Availa

- ble online at: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm>,  
[2018年1月アクセス](#)
21. Health Canada, Natural Health Products Ingredients Database - Single Ingredient Monographs, Vitamin D: August 2007, Available online at: <http://webprod.hc-sc.gc.ca/nhp/id-bdipn/monoReq.do?id=183&lang=eng>, 2018年10月アクセス
  22. Schedule 8 – Food additive names and code numbers (for statement of ingredients), FSA NZ: April 2017
  23. Schedule 17 – Vitamins and minerals, FSANZ: April 2017
  24. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, Animal feed products, Available online at: <https://apvma.gov.au/node/10631>, 2018年2月アクセス
  25. Standard 1.3.2 – Vitamins and minerals, FSANZ: April 2017
  26. 食品安全委員会, 動物用医薬品・飼料添加物・対象外物質評価書, カルシフェロール及び25-ヒドロキシコレカルシフェロール, 2014年7月
  27. 25(OH)D<sub>3</sub> 安全性評価結果検索結果 (JECFA), Available online at: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx>, 2018年2月アクセス
  28. ビタミンD<sub>2</sub>、ビタミンD<sub>3</sub>, 安全性評価結果検索結果 (JECFA), Available online at: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx>, 2018年2月アクセス
  29. European Food Safety Authority, Safety and efficacy of 25-hydroxycholecalciferol as a feed additive for poultry and pigs, The EFSA Journal, 2009; 969: 1-32
  30. European Food Safety Authority, Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D, EFSA Journal, 2012; 10(7): 2813
  31. Institute Of Medicine Of The National Academies, Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D, The National Academies Press, 2011 (抜粋)
  32. 25(OH)D<sub>3</sub> 安全性評価結果検索結果 (FSANZ), Available online at: <http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/pages/completedapplication5509.aspx>, 2018年1月アクセス
  33. Australian National Health and Medical Research Council, Nutrient Reference Values for Australia and New Zealand Including Recommended Dietary Intakes (抜粋), 2005; 127-38
  34. The International Alliance of Dietary /Food Supplement Associations, ビタミンDリスク評価: 最新情報, 2009年10月
  35. Council for Responsible Nutrition, Vitamin and Mineral Safety 3<sup>rd</sup> Edition (抜粋), 2014; 1-16, 32-8
  36. Expert Group on Vitamins and Minerals, Safe Upper Levels for Vitamins and Minerals (抜粋), 2003; 1-32, 136-44, 335-42
  37. European Food Safety Authority, Dietary Reference Values for nutrients Summary Report (抜粋), 2017; 1-10, 63-6, 71-4, 80-90
  38. National Institutes of Health, Calcifediol, PubChem; 2018, Available online at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6441383>, 2018年7月アクセス

39. DSM 社社内資料, 25-ヒドロキシコレカルシフェロール製造方法 (非公表)
- 40-a. DSM 社社内資料, 25-ヒドロキシコレカルシフェロール 分析試験成績書 (非公表)
- 40-b. DSM 社社内資料, 25-ヒドロキシコレカルシフェロール 分析試験成績書 (非公表)
41. DSM 社社内資料, 25-ヒドロキシコレカルシフェロール 製造用原体 安定性資料 (非公表)
42. DSM 社社内資料 [REDACTED], ヨーグルト中の 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの安定性試験計画書, 2016 年 1 月、ヨーグルト中の 25(OH)D<sub>3</sub> の安定性試験報告書, 2016 年 2 月 (非公表)
43. DSM 社社内資料 [REDACTED], 伊藤幸彦: 25(OH)D<sub>3</sub> 及びビタミン D<sub>3</sub> の経口摂取が閉経後の日本人女性の血中 25(OH)D 濃度に与える影響, 2016 年 (非公表)
44. DSM 社社内資料 [REDACTED], 清水良樹, 伊藤幸彦: 25(OH)D<sub>3</sub> の経口摂取が健康日本人成人男女の血中 25(OH)D 濃度に与える影響, 2017 年 (非公表)
45. DSM 社社内資料 [REDACTED], 食品中の 25-ヒドロキシコレカルシフェロールの安定性試験計画書, 2015 年 1 月、ハードカプセル製剤中の 25(OH)D<sub>3</sub> 安定性試験報告書, 2016 年 3 月 (非公表)
46. 食品成分に及ぼす影響に関する文献検索結果 (J-Global), Available online at: <http://jglobal.jst.go.jp/advancedsearch/#t=1>, 2018 年 7 月アクセス
47. European Food Safety Authority, Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request from the Commission on the evaluation of safety and efficacy of “Hy•D” (calcifediol), based on 25-hydroxycholecalciferol/25-hydroxy-pre-cholecalciferol, as feed additive in accordance with Council Directive 70/524/EEC, The EFSA Journal, 2005; 224: 1-35
48. Jones G: Pharmacokinetics of vitamin D toxicity: Am J Clin Nutr 2008; 83(suppl),582S-6S
49. Haddad, JR. JG and Rojanasathit S: Acute administration of 25-Hydroxycholecalciferol in man, JCE & M, 1976; 42(2), 284-90
50. Jetter A, Egli A, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Stoecklin E, Goessl R, Henschkowski J and Bischoff-Ferrari HA: Pharmacokinetics of oral vitamin D<sub>3</sub> and calcifediol, Bone 2014; 59, 14-9
51. Shieh A, Ma C, Chun RF, Witzel S, Rafison B, Contreras H TM, Wittwer-Schegg J, Swinkels L, Huijs T, Hewison M and Adams JS, Effects of cholecalciferol vs. calcifediol on total and free 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone. J Clin Endocrinol Metab, 2017; 102(4), 1133-40
52. Barger-Lux MJ, Heaney RP, Dowell S, Chen TC and Holick MF: Vitamin D and its Major Metabolites: Serum Levels after Graded Oral Dosing in Healthy Men, Osteoporosis Int 1998; 8: 222-30
53. Navarro-Valverde C, Sosa-Henríquez M, Alhambra-Expósito MR and Quesada-Gómez JM,: Vitamin D<sub>3</sub> and calcidiol are not equipotent, J Steroid Biochem Mol Biol (in press), 2016; 164, 205-8

54. Cashman KD, Seamans KM, Lucey AJ, Stöcklin E, Weber P, Kiely M and Hill TR: Relative effectiveness of oral 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and vitamin D<sub>3</sub> in raising wintertime serum 25-hydroxyvitamin D in older adults. *Am J Clin Nutr* 2012; 95: 1350-6
55. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Stöcklin E, Sidelnikov E, Willett WC, Edel JO, Stähelin HB, Wolfram S, Jetter A, Schwager J, Henschkowski J, Eckardstein AV, and Egli A: Oral Supplementation With 25(OH) D<sub>3</sub> Versus Vitamin D<sub>3</sub>: Effects on 25(OH)D Levels, Lower Extremity Function, Blood Pressure, and Markers of Innate Immunity. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2012; 27(1): 160-9
56. Peacock M, Liu G, Carey M, McClintock R, Ambrosius W, Hui S and Johnston CC: Effect of Calcium or 25OH Vitamin D<sub>3</sub> Dietary Supplementation on Bone Loss at the Hip in Men and Women over the Age of 60. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3011-9
57. Hathcock JN, Shao A, Vieth R and Heaney R: Risk Assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 6-18
58. Heaney RP: Vitamin D: criteria for safety and efficacy. *Nutr Rev* 66(Suppl.2): S178-81, 2008
59. 厚生労働省, 平成 28 年国民健康・栄養調査報告 (抜粋) 栄養素等摂取状況調査結果 食品群別摂取量 統計表, 2016; 57-9, 68-71, 86-9, Available online at: [https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou\\_eiyuu\\_chousa.html](https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou_eiyuu_chousa.html), 2018 年 2 月アクセス
60. DSM 社社内資料, 25-hydroxycholecalciferol, Acute LD<sub>50</sub> studies in the rat and mouse, 1975 年 10 月 (非公表)
- 60-a. DSM 社社内資料, 引用文献 60 の飼料組成 (非公表)
61. DSM 社社内資料, Calcifediol, Acute oral toxicity study in rats, 2004 年 5 月 (非公表)
- 61-a. DSM 社社内資料, 引用文献 61 の飼料組成 (非公表)
62. DSM 社社内資料, 90-day oral toxicity study with DSM047117 by dietary administration in the rat followed by a 28-day recovery period, 2014 年 12 月 (非公表)
63. DSM 社社内資料, 25-hydroxycholecalciferol, Six months oral toxicity in rats, 1973 年 3 月 (非公表)
- 63-a. DSM 社社内資料, 引用文献 63 の飼料組成 (非公表)
64. 25 (OH) D<sub>3</sub>, 慢性毒性試験結果検索結果 (PubMed)
65. DSM 社社内資料, 25-hydroxycholecalciferol, Reproduction studies, 1975 年 7 月 (非公表)
66. DSM 社社内資料, Supplement on 25-hydroxycholecalciferol safety, 2012 年 6 月 (非公表)
67. DSM 社社内資料, DSM047117: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* reverse mutation assay, 2013 年 4 月 (非公表)
68. DSM 社社内資料, Chromosome Aberration Test in Human Lymphocytes *in vitro* with calcifediol, 2004 年 12 月 (非公表)
69. DSM 社社内資料, Evaluation of the mutagenic activity of DSM047117 in an *in vitro* mammalian cell gene mutation test with L5178Y mouse lymphoma cells, 2016 年 3 月 (非公表)
70. DSM 社社内資料, Micronucleus test in bone marrow cells of the rat with DSM047117, 2016



年7月（非公表）

71. Schmid A and Walther B: Natural Vitamin D Content in Animal Products, American Society for Nutrition. Adv. Nutr. 2013; 4:453-62
72. 文部科学省, 日本食品標準成分表 2015年版（七訂）. Available online at: [http://www.mext.go.jp/a\\_menu/syokuhinseibun/1365297.htm](http://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/1365297.htm), 2018年3月アクセス
73. Dunlop E, Cunningham J, Sherriff JL, Lucas RM, Greenfield H, Arcot J, Strobel N and Black LJ: Vitamin D<sub>3</sub> and 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> Content of Retail White Fish and Eggs in Australia, Nutrients 2017; 9: 647
74. 恒星社厚生閣, 竹内俊郎, 改訂 魚類の栄養と飼料, 2009年
75. ビタミンD強化食品市場調査結果, 2018年3月
76. 消費者庁, 健康や栄養に関する表示の制度について, 栄養成分表示及び栄養強調表示とは. Available online at: [http://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/health\\_promotion/pdf/health\\_promotion\\_170901\\_0001.pdf](http://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/health_promotion/pdf/health_promotion_170901_0001.pdf), 2018年11月アクセス
77. Public Health England, McCance and Widdowson's The Composition of Foods Integrated Dataset 2015 User guide, 2015; 1-39
78. ビタミンD配合サプリメント製品例, 2018年10月
79. Health Canada, Prescription Drug List\_抜粋: 2018, Available online at: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/drug-products/prescription-drug-list/list.html>, 2019年2月アクセス
80. Health Canada, Natural Health Products regulations 抜粋: 2018, Available online at: <https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/SOR-2003-196/>

## 別紙 1

【ヒトを対象とした 25(OH)D<sub>3</sub> 投与試験のエビデンステーブル】

引用文献	対象者	研究デザイン	被験物質/投与量		投与期間 週	被験者数	背景食	評価	エビデンスレベル
			被験物質	μg/日					
Barger-Lux ら 1998 (引用文献 52)	健全男性 116 名 24~32 歳 (平均 28 ± 4 歳)	無作為化 オープンラベル	D <sub>3</sub>	25	8	13	<ul style="list-style-type: none"> <li>・乳摂取量は 0.47L/日以下</li> <li>・食事からのビタミン D 摂取量についての情報は無し</li> <li>・試験 1 週間前からビタミンサプリメント摂取を中止</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・全群において、各被験物質の血清中濃度が用量依存的に増加した。</li> <li>・血清カルシウム濃度への影響は無かった。</li> <li>・血清 PTH 濃度は、D<sub>3</sub> 250、1250 μg/日投与群、25(OH)D<sub>3</sub> 50 μg/日投与群で有意に低下した。</li> <li>・その他の健康影響に関する記載は無かった。</li> <li>・NOAEL 設定に適用可 (要請者による評価)</li> </ul>	A
				250	8	11			
				1250	8	14			
			25(OH)D <sub>3</sub>	10	4	13			
				20	4	14			
				50	4	14			
Navarro-Valverde ら 2016 (引用文献 53)	骨減少症の閉経後女性 平均 67 歳 ビタミン D 欠乏状態 (血清 25(OH)D 37.5 ± 5 nmol/L)	無作為化	D <sub>3</sub>	20	52	10	記載無し	<ul style="list-style-type: none"> <li>・D<sub>3</sub> 投与群よりも 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群の方が、血清 25(OH)D 濃度増加の程度が有意に高かった。</li> <li>・血清カルシウムやリン、PTH などのバイオマーカーに被験物質投与による悪影響はみられなかった。</li> <li>・NOAEL 設定に適用不可 (要請者による評価)</li> </ul>	B
				25(OH)D <sub>3</sub>	20	52			
			約 20 (266μg /2 週)		52	10			
			約 40 (266μg/週)	52	10				
Cashman ら 2012 (引用文献 54)	健全男性 25 名、女性 31 名 50 歳以上 (平均 57.2 ± 6.3 歳)	無作為化二重盲検プラセボ対照介入試験	プラセボ	0	10	16	被験者全員の食事からのビタミン D 摂取量中央値 5.4 μg/日 (3.5-8.2)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・血清 25(OH)D 濃度が 25(OH)D<sub>3</sub> 20 μg/日摂取群で顕著に増加した。</li> <li>・血清カルシウム濃度への影響は無かった。(高カルシウム血症の発症は無かった。)</li> <li>・健康への影響は無かった。</li> <li>・NOAEL 設定に適用可 (要請者による評価)</li> </ul>	A
			D <sub>3</sub>	20	10	13			
			25(OH)D <sub>3</sub>	7	10	14			
				20	10	12			

引用文献	対象者	研究デザイン	被験物質/投与量		投与期間 週	被験者数	背景食	評価	エビデンスレベル
			被験物質	μg/日					
Shieh ら 2016 (引用文献 51)	健全な男女 18 歳以上 平均 36 歳 血清 25(OH)D 20 ng/mL 未満	無作為化比較 試験	D <sub>3</sub>	60	16	16	試験中はカルシウム・ビタミン Dサプリメントの摂取を制限	<ul style="list-style-type: none"> <li>・D<sub>3</sub>投与群よりも 25(OH)D<sub>3</sub>投与群の方が、血清 total 及び free 25(OH)D 濃度増加の程度が有意に高かった。</li> <li>・血清 total 及び free 25(OH)D 濃度増加と血清 PTH 減少に有意な関連性があった。</li> <li>・高カルシウム血症、高カルシウム尿症、または腎石症の発症は無かった。</li> <li>・NOAEL 設定に適用可 (要請者による評価)</li> </ul>	A
			25(OH)D <sub>3</sub>	20	16	19			
Bischoff- Ferrari ら 2012 (引用文献 55)	健全な閉経後 女性 20 名 50~70 歳 (平均 65 ± 7.2 歳)	無作為化二重 盲検	D <sub>3</sub>	20	15	10	記載無し	<ul style="list-style-type: none"> <li>・D<sub>3</sub>摂取群よりも 25(OH)D<sub>3</sub>摂取群の方が血清 25(OH)D 濃度の増加の程度が有意に高かった。</li> <li>・血清カルシウム濃度への影響は無かった。(高カルシウム血症の発症は無かった。)</li> <li>・両投与群で、血圧や免疫マーカー、下肢機能の改善がみられた。</li> <li>・その他の健康への影響の有無についての記載は無かった。</li> <li>・NOAEL 設定に適用不可 (要請者による評価)</li> </ul>	B
			25(OH)D <sub>3</sub>	20	15	10			
Peacock ら 2000 (引用文献 56)	健全男性 122 名 (平均 75.9 歳)、女性 316 名 (平均 73.7 歳)	無作為化二重 盲検プラセボ 対照介入試験	プラセボ	0	4 年	129	試験前の食事からのカル シウム摂取量中央値 546mg/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・25(OH)D<sub>3</sub>投与群の血清 25(OH)D 濃度は、60.5 nmol/L から投与 1 年後に 118.8 nmol/L に増加した。</li> <li>・4 年間の試験中に血清 25(OH)D 濃度が 250 nmol/L を超えた被験者は無かった。</li> <li>・高カルシウム血症、高カルシウム尿症の発症は無かった。</li> <li>・NOAEL 設定に適用不可 (要請者による評価)</li> </ul>	A
			25(OH)D <sub>3</sub>	15	4 年	124			
伊藤 2016 (引用文献 43)	健全な閉経後 女性 66 名 50~70 歳 血清 25(OH)D 30 ng/mL 未満	無作為化二重 盲検並行群間 比較試験	プラセボ	0	16	24	試験前 3 ヶ月以内のビ タミン Dサプリメント非摂取	<ul style="list-style-type: none"> <li>・D<sub>3</sub>及び 25(OH)D<sub>3</sub>投与群において、血清 25(OH)D 濃度が有意に増加した。</li> <li>・血清 PTH 濃度は投与による影響は無かった。</li> <li>・健康への影響は無かった。</li> <li>・NOAEL 設定に適用不可 (要請者による評価)</li> </ul>	B
			D <sub>3</sub>	10	16	21			
			25(OH)D <sub>3</sub>	10	16	21			

引用文献	対象者	研究デザイン	被験物質/投与量		投与期間 週	被験者数	背景食	評価	エビデンス レベル
			被験物質	μg/日					
清水ら 2017 (引用文献 44)	健常男性 66 名、女性 149 名 (日本人) 45~74 歳	無作為化二重 盲検並行群間 比較試験	プラセボ	0	16	105	ベースライン時の食事からの D 摂取量: プラセボ群 で $4.32 \pm 3.21$ 、 25(OH)D <sub>3</sub> 投与群で $4.27$ $\pm 2.79 \mu\text{g/日}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>投与 16 週後の血清 25(OH)D 濃度はプラセボ群と比較して 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群が有意に増加した。</li> <li>高カルシウム血症の発症はなかった。</li> <li>医師により、被験物質摂取による健康への悪影響はなかったと判断された</li> <li>NOAEL 設定に適用可 (要請者による評価)</li> </ul>	A
			25(OH)D <sub>3</sub>	10	16	110			
Jetter ら 2014 (引用文献 50)	健常な閉経後 女性 (白人) 35 名 50~70 歳 血漿 25(OH)D 濃度 8~ 24ng/ml	無作為化二重 盲検並行群間 比較試験	D <sub>3</sub>	20 μg	15	5	記載なし	<ul style="list-style-type: none"> <li>20 μg/日、140 μg/週投与群において、投与 15 週後の血漿 25(OH)D 濃度の AUC が、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群は D3 投与群の 2 倍以上であった。</li> <li>単回ボース投与において、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群の AUC 及び Cmax は D3 投与群の 2 倍以上であった。</li> <li>25(OH)D<sub>3</sub> と D<sub>3</sub> 同時投与群において、AUC 及び Cmax は 25(OH)D<sub>3</sub> 投与群と有意差はなかった。</li> <li>全被験者において、試験期間中の血清カルシウム濃度は正常値 (2.6 nmol/L 以下) であり、尿中カルシウム排泄量も、25(OH)D<sub>3</sub> 投与群と D<sub>3</sub> 投与群に差はなかった。</li> <li>NOAEL 設定に適用不可 (要請者による評価)</li> </ul>	B
			25(OH)D <sub>3</sub>	20 μg	15	5			
			D <sub>3</sub>	20 μg/日相当 (140 μg/週)	15	5			
			25(OH)D <sub>3</sub>	20 μg/日相当 (140 μg/週)	15	5			
			D <sub>3</sub>	140 μg	単回	5			
			D <sub>3</sub> + 25(OH)D <sub>3</sub>	各 140 μg	単回	5			
Haddad ら 1976 (引用文献 49)	健常な男女 27 名 (21~40 歳)	単回経口投与	25(OH)D <sub>3</sub>	1.5 μg /kg 体重	単回	4	一晩絶食後に投与	<ul style="list-style-type: none"> <li>全群で投与 2 時間後に血清 25(OH)D 濃度が有意に高値となり、投与後 4-8 時間がピークであった。</li> <li>5.0、10.0 μg 投与群では、投与後 24 時間で血清 25(OH)D 濃度が有意に低下した。</li> <li>高カルシウム血症やその他の悪影響は認められなかった。</li> <li>NOAEL 設定に適用可 (要請者による評価)</li> </ul>	B
				5.0 μg/kg 体重		10			
				10.0 μg/kg 体重		8			
				1.0mg 静脈内投与		2			

## 25-ヒドロキシコレカルシフェロール概要書訂正について

### 1. 訂正理由

カナダにおける「25-ヒドロキシコレカルシフェロールの使用状況」が変更したため、以下のように概要書を訂正した。概要書訂正に伴い、引用文献 8 は削除し、引用文献 79 及び引用文献 80 を追加した。

### 2. 訂正の経緯

カナダ保健省 (Health Canada) において、2017 年に 25-ヒドロキシコレカルシフェロール (25(OH)D<sub>3</sub>) が Natural Health Products のビタミン D の供給源として登録された。登録後に、当該成分を使用したサプリメント等の製造者からの申請により安全性評価が実施されるが、安全性評価が申請される前に、2018 年 7 月に医薬品として承認され、Prescription Drug List に掲載された。カナダでは医薬品として承認された成分は、Natural Health Products への使用が許可されていないため、ビタミン D の供給源リストから削除された。

本概要書には Natural Health Products のビタミン D 供給源として登録されていた状況を記載していたが、概要書提出後に、医薬品として承認されたことが判明したため、概要書を訂正した。

### 3. 新旧対照表

頁・行	旧	新
p.1、33 行	2017 年にはカナダでビタミン D の新たな供給源として物質登録が完了し、今後、25(OH)D <sub>3</sub> 配合サプリメントの安全性評価が行われる予定である (引用文献 8、Vitamin D in Calcifediol monohydrate (2018))。	<削除>
p.3、38 行	2017 年にビタミン D の新たな供給源として物質登録が完了し、サプリメントへの使用が許可されている (引用文献 8、Vitamin D in Calcifediol monohydrate (2018))。今後、25(OH)D <sub>3</sub> 配合サプリメントの安全性評価が行われる予定である。	医薬品として承認されている (引用文献 79、Health Canada- Prescription Drug List (2018))。カナダでは医薬品に承認された成分はサプリメントに使用することが出来ない (引用文献 80、Health Canada-Natural Health Products regulations (2018))。

2019 年 2 月 15 日

DSM 株式会社