

令和 4 年 8 月 2 4 日

食品安全委員会

委員長 山本 茂貴 殿

肥料・飼料等専門調査会 座長 森田 健

飼料添加物に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

令和 4 年 2 月 17 日 付け 3 消安第 6286 号をもって農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた 25-ヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分とする飼料添加物に係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

別添

(案)

飼料添加物評価書

25-ヒドロキシコレカルシフェロール
を有効成分とする飼料添加物

(第2版)

令和4年(2022年)8月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目次

	頁
○審議の経緯.....	2
○食品安全委員会委員名簿.....	2
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....	3
○要約.....	5
I. 評価対象飼料添加物の概要.....	6
1. 原体に関する情報.....	6
2. 製剤に関する情報.....	7
3. 用途.....	7
4. 対象飼料及び添加量.....	7
5. 使用目的及び使用状況等.....	7
II. 安全性に係る知見.....	8
1. 原体及び賦形物質に関する情報.....	8
(1) 原体に関する知見.....	8
(2) 賦形物質に関する知見及び安全性.....	9
2. 残留試験.....	10
(1) 残留試験（牛）.....	10
(2) 残留試験（豚）.....	11
(3) 残留試験（鶏）.....	12
3. 対象動物等を用いた安全性に関する知見.....	15
(1) 安全性試験（牛）.....	15
(2) 安全性試験（豚）.....	15
(3) 安全性試験（鶏）.....	16
III. 食品健康影響評価.....	17
・別紙：検査値等略称.....	18
・参照.....	19
〈別添〉 (案)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」(第2版)	

〈審議の経緯〉

第1版関係

2013年	12月	20日	25-ヒドロキシコレカルシフェロールについて農林水産大臣から飼料添加物としての指定に係る食品健康影響評価について要請（25消安第4445号）、関係資料の接受
2014年	1月	7日	第499回食品安全委員会（要請事項説明）
2014年	2月	5日	第83回肥料・飼料等専門調査会
2014年	5月	13日	第513回食品安全委員会（報告）
2014年	5月	14日	から6月12日まで 国民からの意見・情報の募集
2014年	7月	2日	肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2014年	7月	8日	第521回食品安全委員会（報告） 同日付けで食品安全委員会委員長から農林水産大臣へ通知

第2版関係

2022年	2月	17日	25-ヒドロキシコレカルシフェロールについて農林水産大臣から飼料一般の成分規格及び製造の方法の基準改正（牛用飼料への対象家畜適用拡大）に係る食品健康影響評価について要請（3消安第6286号）、関係資料の接受
2022年	2月	22日	第848回食品安全委員会（要請事項説明）
2022年	3月	16日	第172回肥料・飼料等専門調査会
2022年	4月	25日	第174回肥料・飼料等専門調査会
2022年	6月	10日	第176回肥料・飼料等専門調査会
2022年	8月	24日	肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

〈食品安全委員会委員名簿〉

第1版関係

(2011年1月6日まで)	(2012年6月30日まで)	(2012年7月1日から)
小泉 直子（委員長）	小泉 直子（委員長）	熊谷 進（委員長*）
見上 彪（委員長代理*）	熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理*）
長尾 拓	長尾 拓	山添 康（委員長代理*）
野村 一正	野村 一正	三森 国敏（委員長代理*）
畑江 敬子	畑江 敬子	石井 克枝
廣瀬 雅雄	廣瀬 雅雄	上安平 冽子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

* : 2009年7月9日から

* : 2011年1月13日から

* : 2012年7月2日から

第2版関係

(2021年7月1日から)

山本 茂貴 (委員長)
浅野 哲 (委員長代理 第一順位)
川西 徹 (委員長代理 第二順位)
脇 昌子 (委員長代理 第三順位)
香西 みどり
松永 和紀
吉田 充

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

第1版関係

(2011年9月30日まで)

唐木 英明 (座長)
酒井 健夫 (座長代理)
青木 宙 高橋 和彦
秋葉 征夫 舘田 一博
池 康嘉 津田 修治
今井 俊夫 戸塚 恭一
江馬 眞 細川 正清
栗形 麻樹子 宮島 敦子
下位 香代子 元井 葭子
高木 篤也 吉田 敏則

(2013年9月30日まで)

唐木 英明 (座長)
津田 修治 (座長代理)
青木 宙 高橋 和彦
秋葉 征夫 舘田 一博
池 康嘉 戸塚 恭一
今井 俊夫 細川 正清
江馬 眞 宮島 敦子
栗形 麻樹子 山中 典子
下位 香代子 吉田 敏則

(2013年10月1日から)

津田 修治 (座長*)
今井 俊夫 (座長代理*)
荒川 宜親 戸塚 恭一
池 康嘉 中山 裕之
石原 加奈子 細川 正清
今田 千秋 宮島 敦子
栗形 麻樹子 宮本 亨
小林 健一 山田 雅巳
下位 香代子 山中 典子
高橋 和彦 吉田 敏則

* : 2013年10月10日から

第2版関係

(2021年10月1日から)

森田 健 (座長*)
川本 恵子 (座長代理*)
吉田 敏則 (座長代理*)
赤沼 三恵 小林 健一
新井 鐘蔵 佐々木 一昭
荒川 宜親 代田 眞理子**
井上 薫 高橋 研
今田 千秋 中山 裕之
植田 富貴子

* : 2021年10月25日から

** : 2022年3月31日まで

(2022年4月1日から)

森田 健 (座長*)
川本 恵子 (座長代理*)
吉田 敏則 (座長代理*)
赤沼 三恵 植田 富貴子
新井 鐘蔵 小林 健一
荒川 宜親 佐々木 一昭
井上 薫 高橋 研
今田 千秋 中山 裕之

* : 2022年4月25日から

<第 83 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿>

唐木 英明

<第 172,174,176 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿>

今井 俊夫 (国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所動物実験施設長)

山田 雅巳 (防衛大学校 応用科学群応用化学科教授)

山中 典子 (国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
疾病対策部 病性鑑定室)

要 約

25-ヒドロキシコレカルシフェロール (25(OH)D₃) を有効成分とする飼料添加物について、食品健康影響評価を実施した。

第2版の改訂に当たっては、本製剤の牛への適用に関する試験成績等が新たに提出された。

25(OH)D₃は、コレカルシフェロール (ビタミンD₃) の代謝物であり、食品安全委員会は、いずれの物質についても、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」において、「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。」と評価している。

また、食品安全委員会では「*Saccharomyces cerevisiae* ATC1562株を利用して生産された25-ヒドロキシコレカルシフェロール」について、遺伝子組換え物質に関する評価を実施し、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物の安全上の問題はないとしている。*S. cerevisiae* SC0639株由来の25(OH)D₃を有効成分とする製剤については、ATC1562株由来と同等性が認められる高度精製飼料添加物としての届出が農林水産省において受理され、国内での販売及び使用が認められている。

添加上限量を牛に混餌投与した残留試験の結果、牛の組織及び乳中における25(OH)D₃の残留量はほぼ生理的濃度であった。

対象動物を用いた安全性試験では、本製剤の添加上限量を混餌投与しても、安全性に問題はないと考えた。

本製剤に含まれる賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合の人への健康影響は無視できる程度と判断した。

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、25-ヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分とする飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品に残留することにより人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。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 原体に関する情報

(1) 有効成分

①一般名

25-ヒドロキシコレカルシフェロール (25-hydroxycholecalciferol, 25(OH)D₃)

②化学名等

IUPAC

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

CAS (19356-17-3)

英名 : (3β,5*Z*,7*E*)-9,10-Secocholesta-5,7,10(19)-trien-3,25-diol

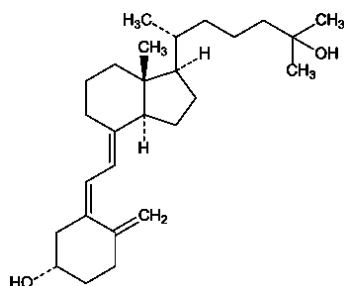
③分子式

C₂₇H₄₄O₂

④分子量

400.64

⑤構造式



25-ヒドロキシコレカルシフェロール

(参照 1)

(2) 原体製造方法

5, 7, 24-コレスタトリエノール生産組換え体 (*Saccharomyces cerevisiae* ATC1562 株又は SC0639 株 (いずれも遺伝子組換え体)) を好氣的に培養後、培養液を加熱処理し、5, 7, 24-コレスタトリエノールを分離し、紫外線照射の化学的処理により製造する。(参照 2、3)

(3) 原体混在物

原体は、成分規格 (25(OH)D₃ (C₂₇H₄₄O₂ · H₂O) を 94.0%以上含む) が設定されている。25(OH)D₃のほか、製造過程で生じるステロール類 (25-ヒドロキシイソタキステロール、25-ヒドロキシイソビタミン D₃、25-ヒドロキシタキステロール、25-ヒドロキシ-5,6 トランスビタミン D₃、25-ヒドロキシプロビタミン D₃、プレ-25-ヒドロキシコレカルシフェロール) 等が最大 6%含まれる。(参照 4)

HPLC 法による分析の結果、25(OH)D₃の含量は 97%以上であった。(参照 5、6)

2. 製剤に関する情報

本製剤は、原体に植物油、デンプン、デキストリン、エトキシキン又はジブチルヒドロキシトルエン (BHT)、アスコルビン酸ナトリウムを添加して製造する。また、原体の製造工程において、加工助剤としてエリスロシン (別名 食用赤色 3 号) が用いられる。(参照 2、7)

また、成分規格 (定量するとき表示量の 90~120%に相当する 25(OH)D₃ (C₂₇H₄₄O₂ · H₂O) を含む。) が設定されている。(参照 4)

3. 用途

飼料添加物 (飼料の栄養成分その他の有効成分の補給)

4. 対象飼料及び添加量

本製剤の牛飼料への添加上限量は 100 mg/トン飼料以下 (1.7 µg/kg 体重/日相当) である。(参照 3) なお、既に国内で飼料添加物として指定されている豚及び鶏での添加量は、各々 50 mg 及び 80 mg/トン飼料以下と規定されている。(参照 8)

5. 使用目的及び使用状況等

食品から摂取あるいは紫外線ばく露により主として皮膚で合成されたコレカルシフェロール (ビタミン D₃) は、肝臓中で水酸化され 25(OH)D₃となる。25(OH)D₃は、腎臓で 1α,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール (1α,25(OH)₂D₃) に代謝され、カルシウムの吸収・維持や骨形成に関わる生理活性を持つ物質である。(別添)

25(OH)D₃はビタミン D₃ に比べ、消化管で容易に吸収され、肝臓中の酵素活性に左右されず、摂取後効率的に血清 25(OH)D₃濃度の増加・維持をもたらすことから、国内では、飼料の栄養成分その他の有効成分の補給を目的とし、鶏及び豚を対象とする飼料添加物として指定されている。海外では、米国、EU、アジア・オセアニア地域において飼料添加物として使用が認められている (表 1)。(参照 9~12)

今般、DSM 株式会社から農林水産省へ、本製剤の牛用飼料への適用拡大が要望されたことに伴い、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号）第 3 条第 1 項の規定に基づき、当該飼料添加物を含む飼料に係る飼料一般の成分規格及び製造方法の基準を改正（適用拡大：牛、添加上限量：牛用飼料 1 トン当たり 100 mg（1.7 µg/kg 体重/日相当））することに関し、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 5 号に基づき、農林水産省から食品健康影響評価が要請された。

表 1 諸外国における飼料添加物としての使用状況

地域	動物	添加量 (µg/kg 飼料)	許可年
EU	肉用鶏	100	2006
	採卵鶏	80	
	豚	50	2009
米国	肉用鶏	69	2009
	牛	50	2018

II. 安全性に係る知見

今般、本製剤の牛用飼料への適用に関する試験成績等が新たに提出されたことに伴い、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）を改訂した。

25(OH)D₃に関連する物質略称及び検査値等略称を別紙に示した。

1. 原体及び賦形物質に関する情報

(1) 原体に関する知見

①原体の有効成分

本製剤の原体の有効成分である 25(OH)D₃ は、食品安全委員会により実施された食品健康影響評価（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」）において、「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。」と評価されている。（別添）

原体の製造に使用する *S. cerevisiae* ATC1562 株は、遺伝子組換え技術を利用して開発された株であり、食品安全委員会は、「ATC1562 株を利用して生産された 25-ヒドロキシコレカルシフェロール」は、「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」（平成 16 年 5 月 6 日食品安全委員会決定）に基づき、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」（平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定）の附則「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物のうち、アミノ酸等の最終産物が高度に精製された非タンパク質性添加物の安全性評価の考え方」（平成 17 年 4 月 28 日食品安全委員会決定）に準じて評価した結果、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物の安全上の問題はない」と評価した。（参照 13）

また *S. cerevisiae* ATC1562 株由来の本製剤は、「高度精製品として安全性が確認された飼料添加物」として、令和元年 11 月 20 日に農林水産省から指定を受けている。

S. cerevisiae SC0639 株由来の本製剤については、高度精製飼料添加物として届出がなされ、農林水産省は、ATC1562 株由来のものと同等性が認められるとして受理し、国内での販売及び使用が認められている。(参照 14、15)

②原体混在物

原体には、25(OH)D₃のほか、培養、化学修飾及び精製過程で生じるステロール類等が最大 6%含まれる。これらのステロール類は、コレカルシフェロールの前駆体又は熱異性化体の 25 位に水酸基が付加されたものであり、家畜は飼料用酵母等からこれらのステロール類を摂取していると考えられる。想定される家畜への本製剤添加量を踏まえると、本製剤に含まれるこれらの非有効成分を家畜が摂取する量はわずかである。(参照 13)

(2) 賦形物質に関する知見及び安全性

本製剤は、(1)の原体に植物油、デンプン、デキストリン、エトキシキン又は BHT、アスコルビン酸ナトリウムを添加して製造する。また、原体の製造工程において、加工助剤としてエリスロシンが用いられる。(参照 2、7)

このうち、植物油、デンプン、デキストリンについては、食品安全委員会は、飼料添加物の賦形物質及び希釈物質に使用される物質として、人の健康に影響を及ぼす悪影響の内容及び程度が明らかであると評価している。(参照 16)

また、食品安全委員会は、エトキシキンの ADI が 0.0083 mg/kg 体重/日、BHT の ADI が 0.25 mg/kg 体重/日と評価した。(参照 17、18)

アスコルビン酸ナトリウム及びエリスロシンについては、我が国では指定添加物として指定されており、L-アスコルビン酸ナトリウムについては、食品安全委員会が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を介して、人の健康に影響を与える可能性は無視できると評価している。(参照 19、20)

以上のことから、本製剤に含まれている成分、賦形物質等は、既存の評価並びに家畜への使用状況及び用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として食品を介して摂取した場合における人への健康影響は無視できる程度と考えた。

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛)

① 牛 (30 日間混餌投与)

牛 (泌乳牛、5 頭/群) に 25(OH)D₃ (本製剤) を 30 日間混餌投与 (0、0.83 (添加上限量の 0.5 倍)、1.7 (添加上限量)、3.3 (添加上限量の 1.9 倍)、6.7 (同 3.9 倍) µg/kg 体重/日) し、残留量を測定した。採材は、乳は投与後 2 週毎、血清及び血漿は同 10 日毎に実施した。

血漿及び乳中平均濃度は用量依存性に増加し、最高添加量投与群では対照群 (血漿 : 32.0 ± 14.92 µg/L、乳中 : 0.1638 ± 0.02607 µg/kg) の各々約 7.8 倍 (251.5 ± 14.96 µg/L)、3.2 倍 (0.5229 ± 0.02548 µg/kg) であった。乳中濃度は添加上限量投与群では約 0.25 µg/kg であり、既存の報告における濃度¹の範囲内であった。(別添、参照 3、21、22)

② 牛 (90 日間混餌投与)

牛 (ホルスタイン種) に 25(OH)D₃ (本製剤) を 90 日間混餌投与 (1.7 (添加上限量)、5.1 (同 3 倍)、8.5 (同 5 倍) µg/kg 体重/日) し、各用量及び各検査時点での血清中濃度及び投与終了時の各臓器、組織における残留量を測定した。

結果を表 2 に示した。

25(OH)D₃ の血清中濃度は、添加上限量の 3 倍までは用量依存性に増加した。添加上限量投与群では、腎臓での濃度 (約 23.1 µg/kg) が測定した臓器・組織中では最大で、筋肉中濃度は約 5.68 µg/kg で既存の報告における濃度¹の範囲内であった。

なお、本試験の全投与群では、体重、摂餌量、血液及び血清生化学的検査 (コレステロール除く。)、臓器重量 (副腎重量、体重に対する肝臓重量の比率、脾臓重量及び体重に対する重量比は除く。) については、対照群との間に統計学的有意差は認められなかった。また、全投与群の一部の牛で鼓脹症があったが、食餌性又は細菌感染によるものであり、本製剤投与によるものではないとされた。(参照 3、22、23、24)

¹ 25(OH)D₃ は肉牛及び乳牛の肝臓、筋肉、腎臓などの組織中に 0.2~23.3 µg/kg、乳中に 0.075~0.500 µg/L の濃度が常在成分として検出されると報告されている (参照 22)

表 2 血清、組織中の 25(OH)D₃ 及び 1α,25(OH)₂D₃ 濃度

測定日	対照群	投与量 (μg/kg体重/日)		
		1.7 (添加上限量)	5.1 (同3倍)	8.5 (同5倍)
血清中25(OH)D ₃ 濃度 (ng/mL)				
1日目	29.68±8.08	26.80±7.52	28.90±9.17	27.13±6.88
29日目	50.58±11.36 ^a	116.37±20.88 ^b	267.74±42.9 ^c	309.13±35.67 ^d
60日目	59.31±12.42 ^a	166.28±24.99 ^b	330.55±55.45 ^c	331.69±42.80 ^c
90日目	70.59±18.85 ^a	202.51±26.77 ^b	361.49±70.15 ^c	398.95±50.24 ^c
血清中1α,25(OH) ₂ D ₃ 濃度 (pg/mL)				
1日目	83.65±29.26	92.91±25.01	101.74±48.75	88.16±16.36
29日目	136.32±35.39 ^a	178.47±48.21 ^b	210.0±0.00 ^b	206.59±10.78 ^b
60日目	92.94±26.27 ^a	151.02±52.97 ^b	202.96±19.91 ^c	210.0±0.00 ^c
90日目	未実施	未実施	未実施	未実施
組織中25(OH)D ₃ 濃度 (μg/kg 試験終了時)				
脂肪	4.06±1.23 ^a	13.24±7.34 ^{ab}	20.66±7.63 ^{bc}	23.83±13.13 ^c
腎臓	7.15±2.39 ^a	23.12±6.49 ^b	43.98±15.31 ^c	39.72±8.32 ^c
肝臓	4.53±0.95 ^a	14.51±1.90 ^b	27.41±2.67 ^c	31.21±5.14 ^c
筋肉	1.82±0.50 ^a	5.68±1.14 ^b	10.75±2.10 ^c	12.28±2.70 ^c

abcd : 異符号間に有意差あり (p<0.05)

(2) 残留試験 (豚)

① 豚 (42 日間混餌投与)

豚 (交雑種、6 週齢、雌雄各 6 頭/群) にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ (本製剤) を 42 日間混餌投与 (50、250 又は 500ppm (2.2~3.3、11.0~16.7 又は 22.0~33.3 μg/kg 体重/日)、ビタミン D₃ は 50ppm のみ) し、最終投与直後の組織中 25(OH)D₃ 濃度を測定した。

結果を表 3 に示した。(参照 2、25)

表 3 豚にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ を 42 日間混餌投与後の組織中 25(OH)D₃ 濃度 (ng/g)

試料	投与量 (ppm)			
	ビタミン D ₃	25(OH)D ₃		
	50	50	250	500
筋肉	<LOQ	6.00±1.15	20.38±7.57	26.86±7.81
肝臓	<LOQ	19.3±4.2	49.8±16.1	87.2±19.5
皮膚	25.1±4.0	30.0±9.1	88.2±34.6	151.5±56.6

LOQ : 筋肉 5 ng/g、肝臓 10 ng/g、皮膚 20 ng/g

② 豚 (86 日間混餌投与)

豚 (交雑種(WL)、28 日齢、20 頭/群) にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ (本製剤) を 86 日間混餌投与 (50ppm (2.2~3.3 µg/kg 体重/日)) し、最終投与直後の組織中 25(OH)D₃ 濃度を測定した。結果を表 4 に示した。(参照 26)

表 4 豚にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ を 86 日間混餌投与 (50ppm) 後の組織中 25(OH)D₃ 濃度 (ng/g)

試料	ビタミン D ₃	25(OH)D ₃
筋肉	<LOQ	5.7±0.4
肝臓	<LOQ	12.3±1.5
腎臓	<LOQ	13.6±1.4
脾臓	<LOQ	<LOQ
腹部脂肪	<LOQ	<LOQ
皮下脂肪	<LOQ	<LOQ
皮膚	38.1±12.9	23.8±3.1

LOQ : 筋肉 5 ng/g、肝臓・腎臓・脾臓 10 ng/g、脂肪・皮膚 20 ng/g

(3) 残留試験 (鶏)

①採卵鶏 (224 日間混餌投与)

鶏 (採卵鶏(デカルブ)、24 週齢、10 羽/群×9 反復/群) に、ビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ (本製剤) を 224 日間混餌投与 (ビタミン D₃ : 69ppm (3.8~4.2 µg/kg 体重/日)、25(OH)D₃ : 41.25、82.5、412.5 又は 825.0ppm (2.3~2.5、4.6~5.0、23~25 又は 46~50 µg/kg 体重/日)) し、最終投与後の組織及び卵中 25(OH)D₃ 濃度を測定した。結果を表 5 に示した。(参照 27)

表 5 鶏にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ を 224 日間混餌投与後の組織中 25(OH)D₃ 濃度 (ng/g)

試料	投与群 (ppm)				
	ビタミン D ₃	25(OH)D ₃			
	69	41.25	82.5	412.5	825.0
卵	10.5±3.0	11.9±6.7	13.2±7.0	24.2±7.9	46.9±9.5
肝臓	7.6±0.9	7.5±1.9	9.2±2.0	25.6±6.0	46.5±18.5
筋肉 (胸部)	2.5±0.8	—	3.4±1.0	8.2±5.2	—
筋肉 (大腿)	3.7±0.7	—	4.6±0.7	14.5±5.9	—
皮膚+脂肪	10.7±1.9	—	13.5±2.2	44.6±6.2	—

— : 測定せず

LOQ : 不明

②鶏（4週間混餌投与）

鶏（採卵鶏、20週齢、9羽/群）にビタミンD₃（69 µg/kg 飼料（対照群））又は25(OH)D₃（本製剤）を4週間混餌投与（41（添加上限量0.5倍量）、82（添加上限量相当）、413（同5倍量）、825（同10倍量）µg/kg 飼料）する残留試験が実施された。採卵は56日で実施した。

結果を表6に示した。

卵中25(OH)D₃濃度は、投与量が同程度（添加上限量0.5倍及び1倍量）のビタミンD₃投与群との間に差はみられなかった。高用量添加投与の2群（5及び10倍量）では、卵中濃度はそれぞれ約2及び4倍に増加した。組織中濃度もこれらの所見と同様の変化であったが、5倍量投与群の肝臓、皮膚/脂肪、胸筋及び大腿筋中25(OH)D₃残留濃度は、それぞれ添加上限量投与群の約2.5、4、2.5及び3倍に増加した。（参照9）

表6 採卵鶏に25(OH)D₃を4週間混餌投与後の組織中25(OH)D₃濃度(µg/kg 組織)

組織	投与群 (µg/kg 飼料)				
	ビタミンD ₃	25(OH)D ₃			
	69	41	82	413	825
全卵	10.5	11.9	13.2	24.2 ^a	46.9 ^a
胸筋	2.5	—	3.4	8.2 ^a	—
大腿筋	3.7	—	4.6	14.5 ^a	—
皮膚+脂肪	10.7	—	13.5	44.8 ^a	—
肝臓	7.6	7.5	9.2	25.6 ^a	—
腎臓	—	—	9.2	—	—

a：同行のビタミンD₃群との間に有意差あり（p<0.05）

—：測定せず

③肉用鶏（49日間混餌投与）

鶏（1日齢、雌雄）に25(OH)D₃（本製剤）を49日間混餌投与（69、207、690 µg/kg 飼料）する残留試験が実施された。

69 µg/kg 飼料投与時の血清25(OH)D₃濃度は、同量のビタミンD₃投与群と比較して約3倍高値（43/13 ng/L）であった。投与量を207から690 µg/kg 飼料まで増量すると、血清濃度は113から246 ng/Lに増加した。組織中濃度もまたビタミンD₃投与群に比べ約3倍に増加し、皮膚/脂肪組織での濃度は胸筋の約3倍であった。

結果を表7に示した。（参照9）

表 7 鶏に 25(OH)D₃ を 49 日間混餌投与後の組織中 25(OH)D₃ 濃度 (μg/kg 組織)

組織	投与量 (μg/kg 飼料)		
	ビタミン D ₃	25(OH)D ₃	25(OH)D ₃
	69	69	690
胸筋	1.4	3.8	18.1 ^a
大腿筋	2.1	6.4 ^a	33.2 ^a
皮膚+脂肪	4.4	12.9 ^a	118 ^a

a : 同行のビタミン D₃ 群との間に有意差あり (p<0.05)

④肉用鶏 (36 日間混餌投与)

鶏 (肉用鶏、1 日齢、雌雄各 40 羽/群) にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ (本製剤) を 36 日間混餌投与 (それぞれ 125ppm (7.4~10.8 μg/kg 体重/日) 又は 100ppm (9.3~13.5 μg/kg 体重/日)) し、最終投与後の組織中 25(OH)D₃ 濃度を測定した。

結果を表 8 に示した。

25(OH)D₃ 濃度は全組織で LOQ 未満であった。(参照 28)

表 8 鶏にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ を 36 日間混餌投与後の組織中 25(OH)D₃ 濃度 (ng/g)

試料	投与量 (ppm)	
	ビタミン D ₃	25(OH)D ₃
	125	100
肝臓	<LOQ	<LOQ
腎臓	<LOQ	<LOQ
筋肉	<LOQ	<LOQ
脂肪	<LOQ	<LOQ

LOQ : 筋肉 5 ng/g、肝臓・腎臓 10 ng/g、脂肪 20 ng/g

⑤肉用鶏 (35 日間混餌投与)

鶏 (1 日齢、雌雄各 10 羽/群) に 25(OH)D₃ (本製剤) を 35 日間混餌投与 (70、100 μg/kg 飼料) し、残留試験が実施された。対照としてビタミン D₃ 投与群及び 25(OH)D₃+ ビタミン D₃ 混合投与群を設けた。

結果を表 9 に示した。

25(OH)D₃ を投与した全群の残留量は、LOQ 未満又はそれに近い値であった。(参照 10)

表 9 鶏に 25(OH)D₃ を 35 日間混餌投与後の組織中 25(OH)D₃ 濃度 (µg/kg 組織)

組 織	投与群 (µg/kg 飼料)						
	ビタミン D ₃	125	—	—	65	55	25
	25(OH)D ₃	—	70	100	65	70	100
	肝臓	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	腎臓	<LOQ	<LOQ	<LOQ	11.6 ^a	<LOQ	13.0 ^a
	胸筋	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	大腿筋	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5.73 ^b
	腹部脂肪	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	26.7 ^a	29.6 ^a

LOQ : 筋肉 5 µg/kg、肝臓及び腎臓 10 µg/kg、脂肪 20 µg/kg

a : 4 例を 1 試料として測定

b : 4 例を 2 試料として測定

3. 対象動物等を用いた安全性に関する知見

(1) 安全性試験 (牛)

牛 (90 日間混餌投与試験)

牛 (ホルスタイン種、3.5 か月齢、平均体重 106kg、雌雄各 5 頭/群) に、25(OH)D₃ (本製剤) を添加上限量 (1.7 µg/kg 体重/日) の 1、3、5 倍量にあたる 1.7、5.1、8.5 µg/kg 体重/日となるよう 90 日間混餌投与する飼養試験が実施された (対照群としてビタミン D₃ を 0.75 µg/kg 体重/日投与)。試験開始後 1、29、60、90 日目に採血及び採尿し、臨床検査を行った。また、ビタミン D₃ 投与群及び本製剤 (8.5 µg/kg 体重/日) 投与群の全頭を剖検した。

飼養期間中の直腸温、心拍数、呼吸数、体重、飼料摂取量、飲水量、血中カルシウム濃度は、対照群と投与群の間で統計学的に有意な差はみられなかった。一方、本製剤投与群の平均血清コレステロール値は、対照群との間に有意な差がみられたが、別途確認した正常値の範囲内であった。病理組織学的には、対照群と投与群で一部の組織 (腎臓、第一胃、肝臓) に軽度から中等度の炎症が確認されたが、血清生化学検査値の変動や臨床症状がみられなかったことから、本製剤による毒性影響ではないと判断した。

本結果から、本製剤の牛に対する添加上限量の 5 倍量である 8.5 µg/kg 体重/日による使用において、安全性に問題はないと考えられた。(参照 3、23、24)

(2) 安全性試験 (豚)

豚 (42 日間混餌投与)

豚 (交雑種(ジャーマンランドレース×ラージホワイト×ピエトレン)、6 週齢、雌雄各 6 頭/群) に 25(OH)D₃ (本製剤) を添加上限量 (50 µg/kg 飼料) の約 1、5、10 倍量にあたる 50、250、500 µg/kg 飼料を 42 日間混餌投与する飼養試験が実施された。対照群にはビタミン D₃ を 50 µg/kg 飼料混餌投与した。

全 4 群の体重は成長とともに順調に増加し、摂餌量および食事効率に変化はみられなかった。臨床症状はみられず、血液生化学的検査、尿検査及び糞便検査においても

異常はみられなかった。剖検、骨構造パラメーター（骨重、骨長、厚さ、骨強度、骨灰量、カルシウム及びリン濃度）においても投与による影響はみられなかった。

本結果から、添加上限量による使用において、安全性に問題はないと考えられた。

（参照 2、25）

（3）安全性試験（鶏）

①採卵鶏（224 日間混餌投与）

鶏（採卵鶏（デカルブ）、24 週齢、10 羽/群×9 反復/群）に、25(OH)D₃（本製剤）を添加上限量（80 µg/kg 飼料）の約 0.5、1、5、10 倍量にあたる 41.25、82.50、412.5、825.0 µg/kg 飼料を 224 日間混餌投与する飼養試験が実施され、体重、摂餌量、採卵数、卵重、卵殻の厚さ、卵内の品質等を測定した。対照群にはビタミン D₃ を 69 µg/kg 飼料混餌投与した。

試験期間を通じて、全群で死亡はみられなかった。血液学的検査においては、全群で差はみられなかった。投与後 112 日目及び 224 日目において、825.0 µg/kg 飼料投与群のみ他の群に対し、産卵率、卵重、平均体重、飼料要求率が有意に低い結果を示した。また、412.5 µg/kg 飼料投与群では、産卵率及び飼料要求率が 41.25、82.50 µg/kg 飼料投与群に対し有意に低かった。病理組織学的検査では、投与後 7 日目及び 112 日目で対照群及び投与群で腎臓に好塩基性の顆粒が認められたが、同 224 日目では異常は認められなかった。

本結果から、添加上限量による使用において、安全性に問題はないと考えられた。（参照 2、27）

②肉用鶏（49 日間混餌投与）

a 鶏（肉用鶏（アーバーエーカー×アーバーエーカー）、ふ化後 1 日目、雌雄各 28 羽/群×5 反復/群、計 1,120 羽）に、25(OH)D₃（本製剤）を添加上限量（80 µg/kg 飼料）の約 1、3、10 倍量にあたる 76、228、760 µg/kg 飼料及びビタミン D₃ を 76 µg/kg 飼料を一般的な飼育期間にあたる 49 日間混餌投与する飼養試験が実施された。

死亡率は各群で差がなく、25(OH)D₃ 各投与群で有意な体重増加がみられた。病理組織学的には、異常はみられなかった。

b 鶏（肉用鶏（ロス×アーバーエーカー）、ふ化後 1 日目、雌雄各 25 羽/群×7 反復/群、計 3,500 羽）に、25(OH)D₃（本製剤）を添加上限量（80 µg/kg 飼料）の約 1、10、50、100、200 倍量にあたる 76、760、3,800、7,600、15,200 µg/kg 飼料を 49 日間混餌投与する飼養試験が実施された。生育悪化個体数及び死亡数が増加したため、7,600、15,200 µg/kg 飼料投与群は 22 日目に、3,800 µg/kg 飼料投与群では 31 日目に試験を中止した。

これらの結果から、本製剤の鶏に対する添加上限量の約 3 倍量である 228 µg/kg 飼料以下の使用において、安全性に問題はないと考えられた。（参照 2、29）

Ⅲ. 食品健康影響評価

25(OH)D₃は、コレカルシフェロール（ビタミン D₃）の代謝物であり、食品安全委員会は、いずれの物質についても、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」において、「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。」と評価している。

また、食品安全委員会では本製剤の有効成分である「*Saccharomyces cerevisiae* ATC1562 株を利用して生産された 25-ヒドロキシコレカルシフェロール」について、遺伝子組換え物質に関する評価を実施し、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物の安全上の問題はないとしている。*S. cerevisiae* SC0639 株由来の 25(OH)D₃を有効成分とする製剤については、ATC1562 株由来と同等性が認められる高度精製飼料添加物としての届出が農林水産省に受理され、国内での販売及び使用が認められている。

今般、本製剤の牛への適用に関する試験成績等が新たに提出された。

添加上限量を牛に混餌投与した残留試験の結果、牛の組織及び乳中における 25(OH)D₃の残留量はほぼ生理的濃度であった。

対象動物を用いた安全性試験では、本製剤の添加上限量を混餌投与しても、安全性に問題はないと考えた。

本製剤に含まれる賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合の人への健康影響は無視できる程度と判断した。

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、25-ヒドロキシコレカルシフェロールを有効成分とする飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品に残留することにより人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。

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
EFSA	European agency funded by the European Union：欧州食品安全機関
EU	European Union：欧州連合
FDA	U.S. Food and Drug Administration：アメリカ食品医薬品局
LOQ	Limit of Quantitation：定量下限
ビタミンD ₃	コレカルシフェロール
25(OH)D ₃	25-ヒドロキシコレカルシフェロール
1α,25(OH) ₂ D ₃	1α,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール

〈参照〉

1. The Merck Index, 14th Edition, 2006
2. DSM 株式会社：申請資料 抄録
3. DSM 株式会社：申請資料 抄録（25-ヒドロキシコレカルシフェロール反芻動物への適用拡大について）
4. 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令 別表 2（成分規格並びに製造方法の基準）
5. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
6. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
7. DSM 株式会社：申請資料 届出事項変更届<非公表>
8. DSM 株式会社：申請資料 官報
9. EFSA. 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 "HyoD" (calcifediol), based on 25-hydroxycholecalciferol/25-hydroxy-precholecalciferol, as feed additive in accordance with Council Directive 70/524/EEC. The EFSA Journal, 2005, 224: 1-35.
10. EFSA. SCIENTIFIC OPINION. Safety and efficacy of 25-hydroxycholecalciferol as a feed additive for poultry and pigs. Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. The EFSA Journal, 2009, 969: 1-32.
11. FDA. Food Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe in Feed and Drinking Water of Animals: 25-Hydroxyvitamin D3. Federal Register. 2007, 72:12560.
12. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
13. 食品安全委員会、遺伝子組換え食品等評価書 ATC1562 株を利用して生産された 25-ヒドロキシコレカルシフェロール 2014
14. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
15. 農林水産省 安全性の基準を満たした高度精製飼料添加物
https://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siryu/biofeed_23.html
16. 食品安全委員会 平成 24 年 4 月 5 日付け府食第 342 号
17. 食品安全委員会、飼料添加物・農薬評価書エトキシキン、2013 年
18. 食品安全委員会、飼料添加物評価書ジブチルヒドロキシトルエン、2020 年
19. 厚生労働省、指定添加物一覧
20. 食品安全委員会、飼料添加物評価書 L アスコルビン酸ナトリウム、2008
21. R.M.Rodney, P.Celi, J.J.McGrath, H.M.Golder, S.T.Anderson, D.M.M McNeill et al.: Metabolic and production responses to calcidiol treatment in mid-lactation dairy cows. Animal Production Sci. 2018, 59 (3) 449-460
22. Schmid A, Walther B.: Natural Vitamin D Content in Animal Products. Adv. Nutr. 2013, 4: 453-462.
23. Celia P, Williams S, Engstrom M, McGrath J, Marta JL.: Safety evaluation of dietary levels of 25-hydroxyvitamin D3 in growing calves. Food and Chemical Toxicology, 2018, 111:641-649.

- 24. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
- 25. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
- 26. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
- 27. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
- 28. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>
- 29. DSM 株式会社：申請資料 社内資料<非公表>