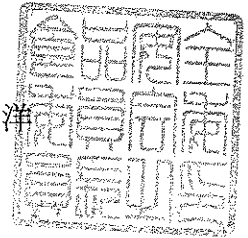




府 食 第 7 3 8 号
平 成 3 0 年 1 2 月 4 日

農林水産大臣
吉川 貴盛 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成30年7月3日付け30消安第1619号をもって貴省から当委員会に意見を求められた*Komagataella pastoris* (*Pichia pastoris*) P-132株が産生するフィターゼを原体とする飼料添加物に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

Komagataella pastoris (*Pichia pastoris*) P-132株が産生するフィターゼを原体とする飼料添加物が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられる。

飼料添加物評価書

Komagataella pastoris
(*Pichia pastoris*) P-132 株が産生する
フィターゼを原体とする
飼料添加物

2018年12月

食品安全委員会

目 次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 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. 用途	6
2. 原体の名称等	6
3. 原体の製造方法の概要	6
4. 製剤	6
(1) 液状製剤	6
(2) 固形製剤	6
5. 対象飼料及び添加量	6
6. 使用目的及び使用状況	7
II. 安全性に係る知見の概要	9
1. 体内動態試験	9
(1) pH 影響確認試験 (参考資料)	9
2. 残留試験	9
3. 遺伝毒性試験	9
4. 急性毒性試験	10
5. 亜急性毒性試験	11
(1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)	11
6. 慢性毒性及び発がん性試験	11
7. 生殖発生毒性試験	11
8. 対象動物における飼養試験	12
(1) 耐容試験	12
(2) 飼養試験 (有効性確認試験)	12
9. 製剤に含まれる物質に関する安全性	12
(1) 液状製剤	12
(2) 固形製剤	12
10. その他の試験	13
(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	13
(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)	13
(3) 皮膚感作性試験 (モルモット)	13
III. 国際機関等における評価	14

1. EFSAにおける評価	14
2. 米国における状況（参考資料）	14
3. カナダにおける状況（参考資料）	14
4. オーストラリアにおける状況（参考資料）	14
IV. 食品健康影響評価	15
・ 別紙：検査値等略称	16
・ 参照	17

〈審議の経緯〉

- 2018年 7月 4日 農林水産大臣から飼料添加物の基準及び規格並びに飼料添加物を含む飼料の基準の改正に係る食品健康影響評価について要請（30消安第1619号）、関係資料の接受
- 2018年 7月 10日 第704回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2018年 7月 26日 第136回肥料・飼料等専門調査会
- 2018年 9月 14日 第138回肥料・飼料等専門調査会
- 2018年 10月 23日 第717回食品安全委員会（報告）
- 2018年 10月 24日から11月22日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2018年 11月 28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
- 2018年 12月 4日 第723回食品安全委員会（報告）
（同日付け農林水産大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2018年7月1日から）

佐藤 洋 （委員長*）
山本 茂貴 （委員長代理*）
川西 徹
吉田 緑
香西 みどり
堀口 逸子
吉田 充

*：2018年7月2日から

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2017年10月1日から）

今井 俊夫（座長*）
山中 典子（座長代理*）
新井 鐘蔵 下位 香代子
荒川 宜親 菅井 基行
今田 千秋 高橋 和彦
植田 富貴子 中山 裕之
川本 恵子 宮島 敦子
桑形 麻樹子 山田 雅巳
小林 健一 吉田 敏則
佐々木 一昭

*：2017年10月25日から

〈第 136 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）

〈第 138 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）

要 約

飼料添加物である *Komagataella pastoris (Pichia pastoris)* P-132 株が産生するフィターゼについて、飼料添加物指定審査用資料等を用いて、食品健康影響評価を実施した。

Komagataella pastoris (Pichia pastoris) P-132 株が産生するフィターゼ（フィターゼ P-132）を原体とする飼料添加物には、液状及び固形の 2 種類の製剤があり、推奨添加量は豚、鶏、うずら及び水産動物用飼料 1 kg 当たり 125～1,000 フィチン酸分解力単位（FTU）とされている。

体内動態及び残留試験は実施されていない。

遺伝毒性試験では、*in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果はいずれも陰性であったことから、フィターゼ P-132 には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験では、フィターゼ P-132 中間製品の投与による毒性影響はみられなかったことから、本試験における NOAEL は最高用量である 1,000 mg/kg 体重（27,000 FTU/kg 体重）と判断した。

フィターゼ P-132 製剤を用いた鶏、七面鳥、豚及び水産動物の飼養試験では、推奨添加量の 50～100 倍量（50,000 FTU/kg 飼料）を混餌投与しても、投与による毒性影響はみられなかった。

製剤に含まれているフィターゼ P-132 以外の物質は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として使用された場合における、食品を介するヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

以上から、フィターゼ P-132 を原体とする飼料添加物が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

なお、本飼料添加物については、農林水産省から、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）別表第 2 の 2 の規定に基づき、遺伝子組換え飼料添加物の安全性に関しても評価要請がなされる予定であることから、農林水産省における本飼料添加物の取扱いについては、当該食品健康影響評価の結果も踏まえる必要がある。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 用途

飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進である。(参照1)

2. 原体の名称等

和名：*Komagataella pastoris* (*Pichia pastoris*)¹ P-132 株を用いて生産された *Escherichia coli* B 株由来 6-フィターゼ

英名：6-Phytase from *Escherichia coli* B expressed in *K. pastoris* P-132

EC 番号：3.1.3.26 (Myo-inositol-hexakisphosphate 6-phosphohydrolase (6-フィターゼ)として)

(参照 1)

3. 原体の製造方法の概要

K. pastoris GS115 株を宿主株として、*Escherichia coli* B 株由来フィターゼ遺伝子 (*appA*) を挿入した組換え *K. pastoris* 132 株を培養し、培養液をろ過、限外ろ過、乾燥等の処理を行う。(参照 1、2)

4. 製剤

剤形として液状及び固形がある。(参照 1、2)

(1) 液状製剤

原体に、ショ糖、安息香酸ナトリウム及び精製水を混合した液状物である。

(2) 固形製剤

原体に、 α デンプン、飲用水及び小麦粉を加えた後、粉末化したもの、又はこの粉末をパーム油及びグリセリン脂肪酸エステルで被覆し、コーングリッツを加えた粉末である。

5. 対象飼料及び添加量

評価要請者によれば、本飼料添加物の飼料への推奨添加量は、豚²、鶏、うずら及び養殖水産動物用飼料 1 kg 当たり 125~1,000 フィチン酸分解力単位

¹ *Komagataella pastoris* (*Pichia pastoris*)の表記については、遺伝子組換え生物等の第二種使用等のうち産業上の使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令別表第一号の規定に基づき経済産業大臣が定める GILSP 遺伝子組換え微生物(平成 16 年 1 月 29 日経済産業省告示第 13 号)の *K. pastoris* GS115 の記載に基づき、初出時は兩名併記とした。

² 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、飼料添加物の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

(FTU)³である。(参照 1)

6. 使用目的及び使用状況

フィターゼは、フィチン酸⁴を加水分解することで無機リン酸を遊離する酵素群の総称であり、今回の評価対象である遺伝子組換え体 *K. pastoris* P-132 株が産生するフィターゼ (フィターゼ P-132) を原体とする飼料添加物は、飼料に含有されている栄養成分の有効な利用の促進を目的として、豚、鶏、うずら及び水産動物の飼料に添加して使用される (125~1,000 FTU/kg 飼料)。

(参照 1、3、4)

フィターゼの酵素活性は、フィチン酸のイノシトール環にあるリン酸エステル結合の加水分解であり、6-フィターゼは第 6 位、3-フィターゼは第 3 位にあるリン酸エステル結合を優先的に加水分解する (参照5、6)。フィターゼ P-132 は、6-フィターゼとしての酵素活性を有する。(参照 1)

反すう動物では、消化管内に存在する微生物が産生するフィターゼによりフィチン酸が消化されるが (参照7、8)、鶏等の鳥類及び豚等の単胃動物ではフィターゼの活性が弱いため、飼料中のフィチン酸に含まれるリンの利用率は低いとされている。必要とされるリンを補充するためには、飼料に無機リンを添加することで対応可能ではあるが、利用率が低いため、排泄されるリンも多くなる。そこで、飼料中のリンの利用率を改善するため、飼料添加物としてのフィターゼが開発された。フィターゼを鶏又は豚用飼料に添加することで、飼育成績を損なうことなく、糞便中へのリンの排泄量が低減される。

(参照 1、3、7、9~11)

日本では、食品安全委員会が 2015 年に、飼料添加物として使用される *Schizosaccharomyces pombe* ASP595-1 株が産生する 6-フィターゼについて、「飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。」と評価している。(参照 7)

日本での飼料添加物としてのフィターゼの使用については、1996 年 9 月に *Aspergillus niger* を培養して得られたフィターゼが指定され (参照 7)、その後、現在 (2018 年 10 月現在) までに、4 剤のフィターゼが指定されている。一方、これらのフィターゼを含有する対象家畜用飼料について、飼料中の含有量に関する規格及び基準は定められておらず、動物用医薬品としては、製造販売承認されていない。(参照12) 食品添加物としては、*A. niger* の培養液から得られるフィターゼが、既存添加物名簿に記載されている。(参照13)

海外でも、フィターゼは飼料添加物又は食品添加物として使用されている。

³ 1 FTU は、フィチン酸分解力単位のことであり、1 FTU はフィターゼがフィチン酸に 37°C で作用するとき、1 分間に 1 μmol のリン酸を遊離させる酵素量に相当。(参照 3)

⁴ *myo*-Inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis(dihydrogen phosphate) (CAS 83-86-3)。穀物等の植物種子に多く含まれる。植物にとっては主要なリン酸の貯蔵物質。(参照 4)

(参照 3、14)

今回、農林水産省から評価要請された飼料添加物は、HUVEPHARMA 社が開発したフィターゼ P-132 を原体とした飼料添加物について、ヒューベファーマジャパン社が国内販売を企図しているものである。(参照 1)

本製剤は、2011 年に EFSA の評価を受け、2012 年に EU 域内で認可、販売されているほか、米国等で販売されている。(参照 1、3、9、10、15)

今回、農林水産省から、フィターゼ P-132 を原体とする飼料添加物について、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 項の規定に基づく飼料添加物の製造の方法等の基準及び成分の規格並びに当該飼料添加物を含む飼料の製造の方法の基準を設定することについて食品健康影響評価の要請がなされた。

なお、本飼料添加物は遺伝子組換え技術を用いて生産していることから、農林水産省より、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）別表第 2 の 2 の規定に基づき、遺伝子組換え飼料添加物の安全性に関しても評価要請がなされる予定である。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、飼料添加物指定審査用資料等を基に、フィターゼ P-132 の毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称を別紙に示した。

1. 体内動態試験

実施されていない。

なお、参考資料ではあるが、胃酸に対するフィターゼ P-132 の影響に関する *in vitro* 試験が実施されている。

(1) pH 影響確認試験 (参考資料⁵)

フィターゼ P-132 製剤の酵素活性について、pH の異なる人工胃液に対する影響を確認する試験が実施されている。

その結果、pH 3.0 での活性が最大であり、少なくとも pH 2.5~5.0 では 60 %以上の活性が維持された。この特性は、他の細菌由来フィターゼでは最大活性がおおよそ pH 5.5、活性範囲が pH 3.5~6.0 であったことから、試験者は、この結果は、フィターゼ P-132 が他のフィターゼよりも低い pH で活性が維持されることを示唆するとしている。

また、審査用資料作成者は、豚及び鶏消化管内の一般的な pH (表 1) に照らし、本フィターゼ製剤は消化管前半部分で酵素作用を示すとしている。(参照16、17)

なお、*Escherichia coli* 由来の *appA* 遺伝子を起原とするフィターゼは、*in vitro* の人工的な胃内環境下において (pH 1.2)、約 20 分で酵素活性が失活するとされている ($T_{1/2}$; 2.7 ± 0.2 min)。(参照18)

表 1 豚及び鶏消化管内 pH

動物	そ嚢	腺胃 (胃)	筋胃	十二指腸	空腸	回腸
鶏	4.3~5.9	1.15~2.46	1.6~3.2	5.5~6.9		5.8~6.6
豚		2.0~3.5		3.5~5.5	5.5~6.9	

2. 残留試験

残留試験は実施されていない。

3. 遺伝毒性試験

フィターゼ P-132 の中間製品⁶を用いた遺伝毒性試験の結果を表 2 に示し

⁵ 吸収前の動態の一部かつ限定された条件について *in vitro* で試験したものであるため、参考資料とした。

⁶ 試験に用いるため市販の固形製剤よりもフィターゼが高濃度に配合されている濃縮固形製剤。

た。

表 2 フィターゼ P-132 (中間製品) の遺伝毒性試験結果

試験系	対象	用量	結果	参照	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	試験 1 50、150、500、1,500、5,000 µg/plate ^a (±S9)	陰性	1、15、19
			試験 2 15、50、150、500、1,500 µg/plate ^a (±S9)	陰性	
<i>in vitro</i>	染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	予備試験 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、3.0、5.0 mg/mL、(±S9)、4 時間培養	陰性 ^b	1、15、20
			試験 I 0.2、0.5、1.0、2.0 mg/mL、(±S9)、4 時間培養	陰性 ^c	
			試験 II 0.2、0.5、1.0、2.0 mg/mL、(-S9)、26 時間培養	陰性 ^c	
<i>in vivo</i>	小核試験	Wistar 系ラット骨髄細胞 雌雄各 2 匹/群	100、500、2,000 mg/kg 体重 単回強制経口投与 24 及び 48 時間	陰性	1、15、21

a: フィターゼ 1 g 中 27,000 FTU 含有。

b: 3.0 及び 5.0 mg/mL で細胞毒性がみられた。

c: 2.0 mg/mL で細胞毒性がみられた。

食品安全委員会は、*in vitro* の復帰突然変異試験及び染色体異常試験並びに *in vivo* の小核試験の結果が陰性であったことから、フィターゼ P-132 には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

4. 急性毒性試験

ラットにおける、フィターゼ P-132 原体の急性毒性試験結果を表 3 に示した。

表 3 フィターゼ P-132 (原体) の急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路	LD ₅₀	参照
ラット	雄	経口	>210,000 FTU/kg 体重/日 (製剤として >6,000 mg/kg 体重相当)	22

5. 亜急性毒性試験

(1) 90日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、7~9 週齢、雌雄各 10 匹/群、対照群及び最高用量群では雌雄各 15 匹/群) にフィターゼ P-132 中間製品⁷を 90 日間強制経口投与 (0、100⁸、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日、フィターゼとして 2,700、13,500 及び 27,000 FTU/kg 体重に相当) する亜急性毒性試験を実施した。対照群には水を同量投与した。また、対照群及び最高用量群では一部の動物 (雌雄各 5 匹/群) に投与終了後 28 日間の回復期間を設けた。

試験期間を通し、一般状態、摂餌量、体重等を調べると共に、試験開始前及び開始後 80 日頃並びに回復試験終了時に眼底検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査を実施した。また、病理検査及び病理組織学的検査を反復投与終了時及び回復試験終了時に実施した。

体重、摂餌量、眼科的検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量に投与による毒性影響はみられず、肝臓、腎臓及び消化管への病理学的変化もみられなかった。

以上から、試験者は、いずれの試験においても、1,000 mg/kg 体重/日 (フィターゼとして 27,000 FTU/kg 体重/日) の被験物質のラットへの 90 日間投与は安全であり、動物は用いた用量に十分耐容したとしている。(参照 1、15、23)

食品安全委員会は、本試験で被験物質の投与による毒性影響がみられなかったことから、本試験における NOAEL は最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日 (フィターゼとして 27,000 FTU/kg 体重) と判断した。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

実施されていない。

7. 生殖発生毒性試験

実施されていない。

⁷ 被験物質 1 g 当たり 27,000 FTU。体重 100 g 当たり 1 mL の液量。

⁸ EFSA の評価書では、250 とされている (参照 15) が、100 の誤記であると考えられる。

8. 対象動物における飼養試験

(1) 耐容試験

豚（子豚及び妊娠豚）、鶏（肉用種及び産卵種）、七面鳥及びにじますに高濃度のフィターゼ P-132 の中間製品又は製剤を混餌投与する複数の耐容試験が実施されている。

豚、鶏及び七面鳥での試験では、最高用量を推奨添加量の 50～100 倍となる 50,000 FTU/kg 飼料と設定し、豚では最長 4 か月間、鶏では肉用種で最長 39 日間及び産卵鶏では 56 日間並びに七面鳥では最長 110 日間混餌投与した結果、いずれもフィターゼ P-132 の投与による毒性影響はみられなかった。にじますでは、同様に、最高用量を推奨添加量の 100 倍となる 100,000 FTU/kg 飼料（推奨添加量の 100 倍）と設定し 91 日間混餌投与した結果、毒性影響はみられなかった。（参照 1、15、24～30）

(2) 飼養試験（有効性確認試験）

豚（去勢豚、妊娠豚、子豚等）、鶏（肉用種及び産卵種）、七面鳥、にじます及び大西洋さけに、推奨用量のフィターゼ P-132 製剤を混餌投与する飼養試験が実施されている（投与期間は豚で最長 45 日間、鶏で最長 24 週間、七面鳥で最長 112 日間、にじますで 90 日間及び大西洋さけで 61 日間）。

いずれの試験においても、フィターゼ P-132 の投与による毒性影響はみられなかった。（参照 1、15、31～39）

9. 製剤に含まれる物質に関する安全性

(1) 液状製剤

液状製剤は、ショ糖及び安息香酸ナトリウムを含有している。

ショ糖は、食品に一般的に含まれている物質である。（参照 40）

安息香酸ナトリウムは、国内では食品添加物として指定され、JECFA では ADI⁹が設定されている。（参照 41、42）

(2) 固形製剤

固形製剤の製造では、小麦粉、 α デンプン水溶液、パーム油、グリセリン脂肪酸エステル及びコーングリッツが使用される。

小麦粉、 α デンプン水溶液、パーム油及びコーングリッツは、飼料添加物の賦形物質及び希釈物質として使用が認められている。また、グリセリン脂肪酸エステルは、飼料添加物としての使用が認められている。（参照 43）

以上から、食品安全委員会は、本製剤に含まれている物質は、その使用状

⁹ 安息香酸、安息香酸塩（カルシウム、カリウム及びナトリウム）、ベンズアルデヒド、酢酸ベンジル、ベンジルアルコール及び安息香酸ベンジルのグループ ADI（安息香酸として 0～5 mg/kg 体重/日）

況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として対象動物が摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

10. その他の試験

(1) 皮膚刺激性試験

ウサギ（ニュージーランド・ホワイト種、雄3匹、12～14週齢（又は平均体重 2,865 g））を用いて皮膚刺激性試験が実施された。

フィターゼ P-132 中間製品（27,000 FTU/g）を 0.5 g 塗布した湿潤ガーゼ布を、刈毛した背部皮膚2か所に添付し、4時間後除去した。除去1、24、48及び72時間後の反応を調べた。その結果、いずれの時点においても皮膚の紅斑、痂皮形成及び浮腫形成がみられた動物はいなかった。

以上から、試験者は、本試験状況下において被検物質は皮膚を刺激しないと考えた。（参照 1、15、44）

(2) 眼刺激性試験

ウサギ（ニュージーランド・ホワイト種、雄3匹、12～14週齢（又は平均体重 3,452 g））を用いて眼刺激性試験が実施された。

フィターゼ P-132 中間製品（27,000 FTU/g）を右側結膜のうに 100 mg 投与し、投与1、24、48及び72時間後における反応を調べた。その結果、いずれの時点においても眼刺激反応がみられた動物はいなかった。

以上から、試験者は、本試験条件下において被検物質は眼を刺激しないと考えた。（参照 1、15、45）

(3) 皮膚感作性試験

モルモット（系統不明、アルビノ色、雌雄各10匹（対照群は雌雄各5匹）、12～14週齢）を用いて皮膚感作性試験が実施された。

試験0、7及び14日後に0.5mlの注射用水を用いて湿潤させたフィターゼ P-132 中間製品（27,000 FTU/g）を、剃毛した右側臀部に塗布した後、ガーゼで被覆し、6時間後除去した（感作ばく露）。最終感作ばく露14日後に、剃毛した左側臀部に惹起ばく露用として、感作ばく露での投与と同様に0.5gのフィターゼ P-132を投与した。投与21時間後に検査領域の被毛を剃毛し、その24及び48時間後の皮膚の反応を調べた結果、いずれの時点においても皮膚反応はみられなかった。

以上から、試験者は本試験条件下において被検物質は皮膚感作性を有しないと考えた。（参照 1、15、46）

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. EFSAにおける評価

2011年に、被験物質の鶏、七面鳥及び豚飼料への飼料添加物としての使用に関する評価を実施している。本物質は、*K. pastoris* GS115株に *Escherichia coli* B株由来のフィターゼ遺伝子 (*appA*) を挿入して産生したものであり、最終精製物には培養可能な生物は含まれておらず、導入DNAは検出限界未満であった。(参照 15)

推奨添加量は、鶏用飼料へは 125 FTU/kg 飼料、七面鳥及び豚用飼料へは 250 FTU/kg 飼料、その他の鳥類飼料へは 125 FTU/kg 飼料としており、これらの動物種に対しても耐容であったことから安全であるとしている。(参照 15)

2015年には、豚用飼料への添加について再検証し、推奨添加量を 125 FTU/kg 飼料としている。(参照 33)

2017年には、魚類について検証し、推奨添加量を 500 FTU/kg 飼料としている。(参照 29)

in vitro (復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験) 及び *in vivo* (小核試験) の遺伝毒性試験では、影響がみられなかったこと及び 90日間亜急性毒性試験で投与による影響がみられなかったことから、本飼料添加物の食用動物への使用による消費者へのリスクはないとしている。

また、本飼料添加物は酵素であり呼吸器性感作作用を持つ可能性はあるが、皮膚刺激性試験、皮膚感作性試験及び眼刺激性試験では刺激性及び腐食性はみられなかったことから、本飼料添加物の食用動物への使用による使用者及び消費者へのリスクはないとしている。(参照 15)

また、本飼料添加物の有効成分はタンパク質であり、投与した動物の消化管で分解・不活化されるため、環境へのリスクはないとしている。(参照 15)

2. 米国における状況 (参考資料)

米国保健福祉省動物用医薬品審査センター (CVM: Center of Veterinary Medicine) は 2005年に、飼料添加物として認めている。(参照 19)

3. カナダにおける状況 (参考資料)

2012年にカナダ食品検査庁 (CFIA: Canadian Food Inspection Agency) は、家きん及び豚用飼料添加物として登録を受け付けている。推奨添加量は、固形製剤 (4,000 FTU/g) の七面鳥を除く家きん及び豚では 30~125 mg/kg 飼料、七面鳥では 60~125 mg/kg 飼料であり、液状製剤 (8,000 FTU/mL) の家きん及び豚では 15~60 µL/kg 飼料、七面鳥では 30~60 µL/kg 飼料である。(参照 20)

4. オーストラリアにおける状況 (参考資料)

2014年に本飼料添加物製剤の輸入について許可している。(参照 21)

IV. 食品健康影響評価

フィターゼ P-132 を原体とする飼料添加物には、液状及び固形の 2 種類の製剤があり、推奨添加量は、豚、鶏、うずら及び養殖水産動物用飼料 1 kg 当たり 125~1,000 フィチン酸分解力単位 (FTU) である。

フィターゼ P-132 について、体内動態及び残留試験は実施されていない。

フィターゼ P-132 に関する遺伝毒性試験は、*in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果はいずれも陰性であったことから、フィターゼ P-132 には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験では、フィターゼ P-132 中間製品の投与による毒性影響はみられなかった。

慢性毒性試験及び発がん性試験、並びに生殖発生毒性試験は実施されていない。

以上から、フィターゼ P-132 の NOAEL は、ラットの 90 日間亜急性毒性試験の最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日 (フィターゼとして 27,000 FTU/kg 体重/日) と判断した。

フィターゼ P-132 の中間製品又は製剤を用いた豚、鶏及び魚類の飼養試験では、推奨添加量の 50~100 倍量 (50,000 FTU/kg 飼料) を混餌投与しても、投与による毒性影響はみられなかった。

製剤に含まれているフィターゼ P-132 以外の物質は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として使用された場合における、食品を介するヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

以上から、フィターゼ P-132 を原体とする飼料添加物が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

なお、本飼料添加物については、農林水産省から、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令 (昭和 51 年農林省令第 35 号) 別表第 2 の 2 の規定に基づき、遺伝子組換え飼料添加物の安全性に関しても評価要請がなされる予定であることから、農林水産省における本飼料添加物の取扱いについては、当該食品健康影響評価の結果も踏まえる必要がある。

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：一日摂取許容量
ALT	Alanine transaminase：アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
AST	Aspartic aminotransferase アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)]
CFIA	Canadian Food Inspection Agency：カナダ食品検査庁
CVM	Center of Veterinary Medicine：米国保健福祉省動物用医薬品審査センター
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁
FTU	Phytase units：フィチン酸分解力単位
GLP	Good Laboratory Practice：優良試験所基準
JECFA	The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	Lethal Dose, 50%：半数致死量
NOAEL	No observable adverse effect level：無毒性量
NOEL	No observable effect level：無作用量
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
SDS	Sodium dodecyl sulfate：ドデシル硫酸ナトリウム
WBC	White blood cell count：白血球数

〈参照〉

- 1 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料・抄録（非公表）
- 2 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 2（非公表）
- 3 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 1（非公表）
- 4 Gerke J: Phytate (Inositol Hexakisphosphate) in Soil and Phosphate Acquisition from Inositol Phosphates by Higher Plants. A Review. *Plants* (Basel). 2015 May 22; 4(2): 253-66.
- 5 Greiner R, Konietzny U and Jany KD : Purification and Characterization of Two Phytases from *Escherichia coli*. *Arch Biochem Biophys* 1993; 303(1): 107-113
- 6 Wyss M, Brugger R, Kronenberger A, Remy R, Fimbel R, IMBEL, Oesterhelt G, Lehmann M and Van Loon APGM: Biochemical Characterization of Fungal Phytases (myo-Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): Catalytic Properties. *Applied and Environmental Microbiology*. 1999; 65: 367-73.
- 7 食品安全委員会：飼料添加物評価書「*Schizosaccharomyces pombe* ASP595-1 株が生産する 6-フィターゼ」（2016 年 3 月）
- 8 Haese E, Möhring J, Steingass H, Schollenberger M and Rodehutschord M: Effect of dietary mineral phosphorus and phytate on in situ ruminal phytate disappearance from different concentrates in dairy cows. *J Dairy Sci*. 2017; 100(5): 3672-84.
- 9 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料（文献 2）（非公表）
- 10 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料（文献 3）（非公表）
- 11 Cowieson AJ, Ruckebusch JP, Knap I, Guggenbuhl P and Fru-Nji F: Phytate-free nutrition: A new paradigm in monogastric animal production. *Animal Feed Science and Technology*. 2016; 222: 180-9.
- 12 農林水産省動物医薬品検査所：「動物用医薬品等データベース」
- 13 日本食品化学研究振興財団：既存添加物名簿収載品目リスト（平成 26 年 1 月 30 日）
- 14 JECFA: 3-Phytase from *Aspergillus niger* expressed in *Aspergillus niger*. Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 67. 2012.
- 15 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料（文献 39）（非公表）
- 16 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 3（非公表）
- 17 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料（文献 4）（非公表）
- 18 ヒューベフアーマジヤパン株式会社：Optiphos に関する飼料添加物審査用資料（追加 1）（非公表）

- 19 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 27) (非公表)
- 20 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 28) (非公表)
- 21 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 29) (非公表)
- 22 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 25) (非公表)
- 23 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 26) (非公表)
- 24 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 35) (非公表)
- 25 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 36) (非公表)
- 26 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 19) (非公表)
- 27 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 33) (非公表)
- 28 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 34) (非公表)
- 29 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)): Safety and efficacy of OPTIPHOS® (6-phytase) as a feed additive for finfish. The EFSA Journal 2017; 15(4): 4763.
- 30 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 37) (非公表)
- 31 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 18) (非公表)
- 32 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 21) (非公表)
- 33 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)): Scientific Opinion on the modification of the terms of the authorisation of OPTIPHOS® (6-phytase) as a feed additive for pigs for fattening. The EFSA Journal 2015;13(7):4200.
- 34 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 22) (非公表)
- 35 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 16) (非公表)
- 36 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 17) (非公表)
- 37 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 20) (非公表)
- 38 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 23) (非公表)
- 39 ヒューベファーマジヤパン株式会社 : Optiphos に関する飼料添加物審査用資料 (文献 24) (非公表)

- 40 化学大辞典編集委員会編：化学大事典，株式会社共立出版，東京，1963年
- 41 厚生労働省：食品衛生法施行規則（昭和23年厚生省令第23号）別表第1
- 42 JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Benzyl derivatives. Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series. 2002; 909.
- 43 農林水産省：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和51年7月24日農林省令第35号）
- 44 ヒューベファーマジャパン株式会社：Optiphosに関する飼料添加物審査用資料（文献30）（非公表）
- 45 ヒューベファーマジャパン株式会社：Optiphosに関する飼料添加物審査用資料（文献31）（非公表）
- 46 ヒューベファーマジャパン株式会社：Optiphosに関する飼料添加物審査用資料（文献32）（非公表）