

府 食 第 4 6 4 号
令 和 4 年 8 月 3 1 日

農林水産大臣
野村 哲郎 殿

食品安全委員会
委員長 山本 茂貴

食品健康影響評価の結果の通知について

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当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

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られる。

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

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＞ 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
2022年	8月	30日	第 871 回食品安全委員会（報告） 8 月 31 日付けで農林水産大臣へ通知

〈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
栞形 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
栞形 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
栞形 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*a*,5,7*a**R*)-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-Seccholesta-5,7,10(19)-trien-3,25-diol

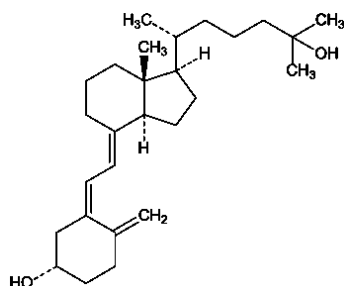
③分子式

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ソトルエン (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)

さらに、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变化であったが、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（デカルプ）、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 試験成績書 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-pre-cholecalciferol, 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/siryo/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 資料 25 社内資料＜非公表＞
25. DSM 株式会社：申請資料 豚残留試験① 社内資料＜非公表＞
26. DSM 株式会社：申請資料 豚残留試験② 社内資料＜非公表＞
27. DSM 株式会社：申請資料 鶏残留試験① 社内資料＜非公表＞
28. DSM 株式会社：申請資料 鶏残留試験② 社内資料＜非公表＞
29. DSM 株式会社：申請資料 鶏飼養試験 社内資料＜非公表＞

別添

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)

令和4年（2022年）8月

食品安全委員会

※ 食品衛生法（昭和22年法律第233号）第13条第3項の規定に基づき、
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として厚生労働大臣が
定める物質

目 次

	頁
○審議の経緯.....	3
○食品安全委員会委員名簿.....	4
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....	4
○要 約.....	6
 I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要.....	 7
1. 用途.....	7
2. 有効成分の一般名.....	7
3. 分子式.....	7
4. 化学名.....	7
5. 分子量.....	8
6. 構造式.....	8
7. 使用目的及び使用状況等.....	8
 II. 安全性に係る知見の概要.....	 9
1. 吸収・分布・代謝・排泄.....	10
(1) 体内動態試験（マウス）.....	11
(2) 体内動態試験（ラット）.....	11
(3) 体内動態試験（牛）.....	13
(4) 体内動態試験（豚）.....	15
(5) 体内動態試験（鶏）.....	15
2. 残留試験.....	16
(1) 残留試験（牛）.....	16
(2) 残留試験（豚）.....	19
(3) 残留試験（羊）.....	20
(4) 残留試験（乳汁）.....	21
(5) 残留試験（鶏）.....	21
(6) 七面鳥.....	24
3. 遺伝毒性試験.....	24
4. 急性毒性試験.....	26
5. 亜急性毒性試験.....	26
(1) 4 及び 26 週間亜急性毒性試験（ラット、ビタミン D ₃ ）.....	26
(2) 90 日間亜急性毒性試験（ラット、25(OH)D ₃ ）.....	26
(3) 7～21 日間亜急性毒性試験（イヌ、ビタミン D ₂ ）.....	27
(4) 4 か月間亜急性毒性試験（豚、ビタミン D ₃ ）.....	27
(5) 反復投与試験（サル、ビタミン D ₃ ）.....	27
6. 慢性毒性及び発がん性試験.....	27

(1) 6 か月間慢性毒性試験 (ラット、25(OH)D ₃)	27
(2) 26 週間投与試験 (ラット、ビタミン D ₃)	28
(3) 発がん修飾作用 a (ラット、ビタミン D ₃)	28
(4) 発がん修飾作用 b (ラット、ビタミン D ₃)	28
(5) 26 週間発がん性試験 (マウス、25(OH)D ₃)	28
7. 生殖発生毒性試験.....	29
(1) 生殖毒性試験 (ラット、25(OH)D ₃)	29
(2) 周産期授乳期投与試験 (ラット、25(OH)D ₃)	29
(3) 発生毒性試験 (ラット、25(OH)D ₃)	29
(4) 発生毒性試験 (ラット、25(OH)D ₃)	29
(5) 発生毒性試験 (ウサギ、25(OH)D ₃)	30
(6) 発生毒性試験 (ウサギ、ビタミン D)	30
(7) 発生毒性試験 (豚、ビタミン D ₃)	30
8. ヒトにおける知見.....	30
(1) 急性毒性.....	30
(2) 生殖発生毒性	31
(3) 過剰症	32
(4) 血清中 25(OH)D とビタミン D の毒性	33
(5) ビタミン D の摂取と高 Ca 血症.....	34
(6) 血清中 25(OH)D、血清中 Ca 及び高 Ca 血症	35
(7) ビタミン D 投与と発がん性.....	35
9. 25(OH)D ₃ の摂取状況.....	35
(1) 食品安全委員会 添加物評価書	35
(2) 対象動物における 25(OH)D ₃ の残留値及び推定一日摂取量.....	36
III. 国際機関等における評価.....	39
1. EFSA における評価	39
2. EMEA における評価.....	40
3. 米国における評価.....	40
4. その他.....	41
5. 我が国における評価	41
(1) ビタミン D	41
(2) 25(OH)D ₃	41
IV. 食品健康影響評価	43
・ 別紙 1 : ビタミン D 関連物質略称	44
・ 別紙 2 : 検査値等略称.....	45
・ 参照.....	47

〈審議の経緯〉

第1版関係

2005年	11月	29日	対象外物質告示（参照1）
2010年	2月	16日	カルシフェロールについて厚生労働大臣から食品衛生法第11条第3項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかである物質を定めることに係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安0215第55号）、関係資料の接受
2010年	2月	18日	第320回食品安全委員会（要請事項説明）
2013年	12月	24日	25-ヒドロキシコレカルシフェロールについて厚生労働大臣から食品衛生法第11条第3項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかである物質を定めることに係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安1220第20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厚生労働大臣へ通知

第2版関係

2022年	3月	16日	第172回肥料・飼料等専門調査会（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（適用拡大：牛）に係る評価要請に伴う審議）
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
2022年	8月	30日	第871回食品安全委員会（報告） 8月31日付けで厚生労働大臣へ通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

第1版関係

(2011年1月6日まで)

小泉 直子 (委員長)
見上 彪 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

* : 2009年7月9日から

(2012年6月30日まで)

小泉 直子 (委員長)
熊谷 進 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

* : 2011年1月13日から

(2012年7月1日から)

熊谷 進 (委員長*)
佐藤 洋 (委員長代理*)
山添 康 (委員長代理*)
三森 国敏 (委員長代理*)
石井 克枝
上安平 冽子
村田 容常

* : 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
栞形 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
栞形 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
栞形 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

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 13 条第 3 項の規定に基づき、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として厚生労働大臣が定めるもの（以下「対象外物質」という。）とされている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（25(OH)D₃）について、EFSA 及び EMEA の評価書等を用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、25(OH)D₃ について、飼料添加物の牛への適用に関する試験成績等が新たに提出された。

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人の体内で生合成される。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、過剰摂取が問題になる。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等からの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 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 を超えないと結論付けている。また、EMEA 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 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、食品を介して人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た。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。

今般、25(OH)D₃ について、飼料添加物の牛への適用に関する試験成績等を用いて、知見を再整理した。

新たに提出された遺伝毒性試験の結果及び従来の知見から 25(OH)D₃ には、遺伝毒性は認められないと判断した。

25(OH)D₃ は、コレカルシフェロールの代謝物であり、添加上限量の 25(OH)D₃ 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。

以上のことから、食品安全委員会は、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と考えた。

I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

動物用医薬品（代謝性医薬品）

飼料添加物（飼料の栄養成分その他の有効成分の補給）

2. 有効成分の一般名

和名：カルシフェロール

英名：Calciferol

3. 分子式

$C_{28}H_{44}O$ （エルゴカルシフェロール）

$C_{27}H_{44}O$ （コレカルシフェロール）

$C_{27}H_{44}O_2$ （25-ヒドロキシコレカルシフェロール）

4. 化学名

エルゴカルシフェロール（Ergocalciferol、ビタミン D₂）

IUPAC

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

CAS (50-14-6)

英名：(3*B*,5*Z*,7*E*,22*E*)-9,10-Secoergosta-5,7,10(19),22-tetraen-3-ol

コレカルシフェロール（Cholecalciferol、ビタミン D₃）

IUPAC

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

CAS (67-97-0)

英名：(3*B*,5*Z*,7*E*)-9,10-Secocholesta-5,7,10(19)-trien-3-ol

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

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

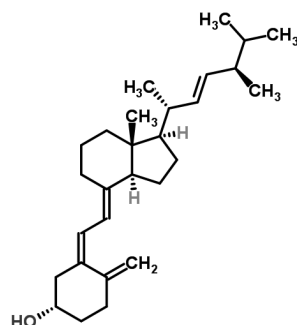
CAS (19356-17-3)

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

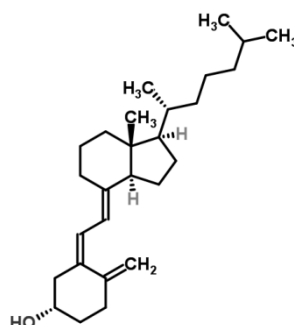
5. 分子量

396.65	(エルゴカルシフェロール)
384.64	(コレカルシフェロール)
400.64	(25-ヒドロキシコレカルシフェロール)

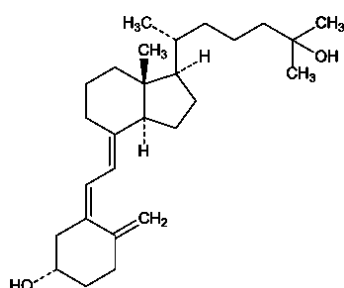
6. 構造式



エルゴカルシフェロール



コレカルシフェロール



25-ヒドロキシコレカルシフェロール

(参照 2)

7. 使用目的及び使用状況等

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るビタミン D の総称である。ビタミン D には 17 位の側鎖構造の違いにより D₂～D₇ が存在し、このうち自然界に広く分布し、生理学的に重要なものは、エルゴカルシフェロール (ビタミン D₂) 及びコレカルシフェロール (ビタミン D₃) の 2 種類のみである。両者の分子量はほぼ等しく、体内で同様に代謝され、ほぼ同等の生理学的効力を現す。25-ヒドロキシコレカルシフェロール (25(OH)D₃) は、ビタミン D₃ の代謝物であり、生理活性をもつ。(参照 3～6)

ビタミンは、生物が正常な生理機能を維持するための必要量は微量であるが、体内で生合成できないか、できても不十分であるため、食物から栄養素として取り入れなければならない一群の有機化合物 (タンパク質、炭水化物、脂肪及び無機質以外の物質) の総称である。ビタミンは、その溶解性から水溶性と脂溶性に分類される。多くのビタミンは、補酵素や補欠分子族の主要構成成分として生体反応に関与している。(参照 4)

ビタミン D には 2 つの供給源がある。一つは皮膚に存在するプロビタミン D₃ (7-デ

ヒドロコステロール) が日光中の紫外線の照射を受けてプレビタミン D₃ となり、さらに体温により熱異性化されてビタミン D₃ になったもので、もう一つは食品から摂取されるものである。(参照 6)

食品中のビタミン D は、ほとんどがビタミン D₃ で、魚類の肝臓、魚肉、バター、卵黄等に含まれるが、大部分の植物性食品には含まれず、キノコ類にエルゴステロール (プロビタミン D₂) が含まれているのみである。主な生理作用は Ca 及びリンの代謝の保持であり、小腸における Ca 及びリンの吸収促進、血中 Ca 濃度の調節、骨組織へのリン酸 Ca の沈着等の作用を示す。(参照 4)

また、最近の研究から、造血系においてビタミン D が細胞分化及び増殖に影響を及ぼし、インスリンの分泌過程に一定の役割を果たす等の作用があることが明らかになってきた。(参照 7)

国内では、25(OH)D₃ は動物用医薬品として承認されていないが、ビタミン D₃ は牛、豚、羊に経口、筋肉及び皮下投与するビタミン剤として承認されている。(参照 8)

飼料添加物としては、ビタミン D₂、ビタミン D₃、ビタミン D 粉末及びビタミン D₃ 油が指定されており、対象や添加量の規定はない。25(OH)D₃ は、2016 年に鶏及び豚を対象に飼料添加物として指定されており、飼料中の含有量は、豚を対象とする飼料にあつては飼料 1 トン当たり 50 mg 以下、鶏を対象とする飼料にあつては飼料 1 トン当たり 80 mg 以下と規定されている。(参照 9、10)。

また、食品添加物としては、ビタミン D₂ 及びビタミン D₃ が指定添加物 (強化剤) として使用されており、使用食品や使用量等の使用基準は定められていない。

カルシフェロール及び 25(OH)D₃ は、食品衛生法 (昭和 22 年法律第 233 号) 第 13 条第 3 項の規定に基づき、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として厚生労働大臣が定める物質 (以下「対象外物質」という。) として定められている。

海外では、EU においてビタミン D₃ の飼料添加物としての使用が認められている。米国、オーストラリア、ニュージーランドではビタミン D₂ 及びビタミン D₃ について、一部の食品への添加が認められている。25(OH)D₃ は、米国及び EU において飼料添加物として使用が認められているが、食品添加物としての使用は認められていない。(参照 11~17)

今般の評価 (第 2 版) では、農林水産省から、25(OH)D₃ を有効成分とする飼料添加物について、飼料一般の成分規格及び製造の方法の基準改正 (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)) に係る評価要請がなされた。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、EFSA 及び EMEA の評価書、25(OH)D₃ の飼料添加物のための審査用資料 (対象動物: 第 1 版は鶏及び豚、第 2 版は牛への適用拡大) 等を基に、ビタミン D₂、ビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ 等に関する科学的知見を整理した。

ビタミン D 関連物質の略称及び検査値等の略称を別紙 1 及び 2 に示した。

1. 吸収・分布・代謝・排泄

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)₂D) 又は 24,25-ジヒドロキシカルシフェロール (24,25(OH)₂D) となる。

人における紫外線によるビタミン D₃ の生成及びビタミン D₃ の代謝経路を図 1 に、ビタミン D₂ の代謝経路の一部を図 2 に示す。

1 α , 25(OH)₂D 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 日とされている。血液中では α 及び β 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。(参照 5、18)

経口で摂取された 25(OH)D₃ は、小腸から吸収され、血行性に門脈に移行する。血液中の 25(OH)D のほとんどは、血漿中の DBP に結合している。

ビタミン D₃ の吸収効率は、一般的に 55~99% (平均 78%) であるが、腸の脂肪吸収不良がある場合にはその吸収は著しく損なわれる場合がある。一方、経口摂取した 25(OH)D₃ は非常に高い効率 (100%に近い) で吸収される。また、摂取前 (ベースライン) 血清 25(OH)D 濃度が高い場合、経口ビタミン D₃ 摂取後の血清 25(OH)D 濃度の上昇の程度は低くなるが、経口摂取した 25(OH)D₃ は、ベースライン血清 25(OH)D 濃度に関係なく摂取量に応じて血清 25(OH)D 濃度を直線的に上昇させる。さらに、ビタミン D₃ の経口投与量が多い場合ほど、ビタミン D の 25(OH)D への変換割合が低くなる。

ビタミン D を大量に摂取すると、血清中の 25(OH)D の濃度が上昇するが、活性代謝物である 1 α ,25(OH)₂D の濃度は変化しないかあるいは低下する。他の蓄積代謝物によって DBP から置換された血漿中の遊離 1 α ,25(OH)₂D が、ビタミン D 中毒を増加させるという説もあるが、全体としては 25(OH)D の蓄積が中毒を引き起こす重要な要因であると考えられている。(参照 17)

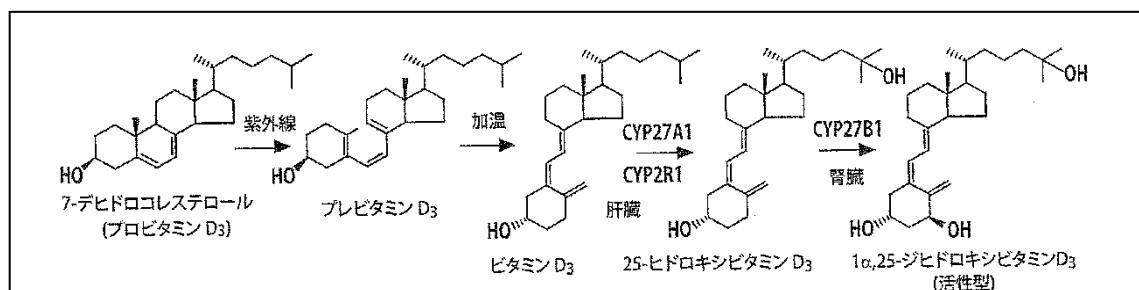


図1 人における紫外線によるビタミン D₃ の生成及びビタミン D₃ の代謝経路

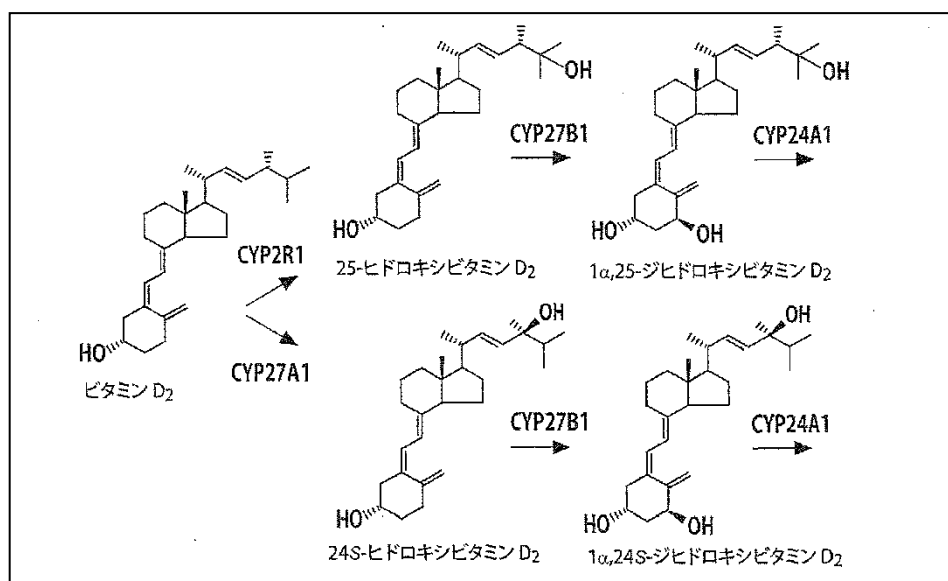


図2 人におけるビタミン D₂ の代謝経路の一部

(1) 体内動態試験（マウス、25(OH)D₃）＜参考資料¹⁾＞

マウス（CD-1、雄、匹数不明）に 25(OH)D₃ を単回経口投与（100 µg/kg 体重）し、血中濃度を測定する試験が実施された。

25(OH)D₃ 血中濃度の T_{max} は、投与 4 時間後（最初の採血時間）であった。（参照 19）

(2) 体内動態試験（ラット）

① ラット（ビタミン D₃、25(OH)D₃、単回経口投与）

ラット（胆管カニユーレ挿入、Wistar Han 系、雄、2 匹/時点/群）に[¹⁴C]標識ビタミン D₃ 又は[¹⁴C]標識 25(OH)D₃ を単回経口投与（0.5 mg/kg 体重）する、体内動態試験が実施された。

表 1 に結果を示した。

放射活性の大部分は糞便にみられ、ビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ の総投与放射活性割合は 82.0 及び 88.3%であった。胆汁中には 9.7 及び 1.7%みられ、尿中には微量であり両群において 0.4～0.5%がみられた。試験終了時のと体²⁾での放射活性は 0.6 及び 3.8%であった。胆汁中には多くの代謝物がみられたが、個々の代謝物の同定には至らなかった。（参照 17、20）

¹⁾試験の詳細が不明であるため、参考資料とした。

²⁾主要な臓器等を除いた動物体部

表 1 標識 25(OH)D₃ 投与後 48 時間の残留放射活性割合 (%TAR)

試料	投与後時間 (hrs)					
	ビタミン D ₃			25(OH)D ₃		
	8	24	48	8	24	48
胆汁	0.3	1.1	1.7	3.2	8.5	9.7
尿	0.2	0.3	0.4	0.2	0.4	0.5
糞便	—	46.2	88.3	—	49.9	82.0
ケージ洗浄液	—	0.5	0.6	—	0.2	0.3
消化管内残留物	—	—	2.8	—	—	1.3
と体 ³	—	—	0.6	—	—	3.8
合計	—	—	94.4	—	—	97.6

— : 測定せず

② ラット (ビタミン D₃、25(OH)D₃、5 日間経口投与)

ラット (Wistar 系、雄、4 匹/群) に^[14C]標識ビタミン D₃ 又は^[14C]標識 25(OH)D₃ を 5 日間経口投与 (0.5 mg/kg 体重/日) し、最終投与 24 時間後に剖検、血中、主要な臓器及び組織中濃度を測定する体内動態試験が実施された。

結果を表 2 に示した。

ビタミン D₃ 投与群の放射活性濃度は、腎臓が最も高く、肝臓、血漿中、副腎、肺、心臓の順であった。25(OH)D₃ 投与群は、血漿中が最も高く、腎臓、肺、肝臓、副腎、心臓の順であった。

両群において血漿中の動態は同様であり、ビタミン D₃ 投与群の濃度は投与 2 日目の投与前(0.406 µg 等量/mL)、投与 5 日目の投与前 (1.054 µg 等量/mL) 及び最終投与 24 時間後の剖検時 (1.282 µg 等量/mL) であった。25(OH)D₃ 投与群の濃度は、投与 2 日目の投与前 (0.565 µg 等量/mL)、投与 5 日目の投与前 (1.223 µg 等量/mL)、剖検時 (1.483 µg 等量/mL) であり、徐々に増加した。

両物質の主たる排泄経路は糞便であり、ビタミン D₃ 投与群では糞便から 78%、尿中から 0.5%、25(OH)D₃ 投与群では糞便から 86%、尿中から 0.9%が回収された。血漿及び組織中に両物質の未変化体及び多くの代謝物がみられ、ビタミン D₃ 投与群では、組織中の主な代謝物として 25(OH)D₃ がみられ、25(OH)D₃ 投与群での代謝物は、未同定の物質及びジヒドロキシ体 (1α,25(OH)₂D₃ 若しくは 24,25(OH)₂D₃ 又はこれらの混合物) が多かった。(参照 17、21)

³主要な臓器等を除いた動物体部

表 2 標識 25(OH)D₃ 又はビタミン D₃ 投与 5 日後の各試料中の残留放射活性濃度 (μg 当量/g 又は mL)

組織	ビタミン D ₃ 投与群	25(OH)D ₃ 投与群
血漿	1.282	1.483
腎臓	2.326	0.420
肺	0.824	0.414
肝臓	2.110	0.379
副腎	1.245	0.287
心臓	0.495	0.269

③ ラット (25(OH)D₃、徐放カプセル)

ラット (SD 系、6～8 週齢、雄、25 匹/群、あらかじめビタミン D 欠乏餌を 8 週間給餌) に、25(OH)D₃ (徐放カプセル⁴) を単回経口投与 (0、4.5 μg) する試験が実施された。

4.5 μg 経口投与群の血清 25(OH)D₃ 濃度は、投与 2 時間後から検出され、4 時間後に 16 ng/mL (ピーク) となり、24 時間後には 10 ng/mL に低下した。血清 1α,25(OH)₂D₃ 濃度は投与 1 時間後から検出可能(>0.1 ng/mL)となり、漸増して 24 時間後までに 0.6 ng/mL となった。

腎臓におけるビタミン D₃ の代謝に寄与する CYP24A1 mRNA の転写は、経口投与 4 時間後から増加し、12 時間後ではベースラインの 6 倍となり、24 時間後まで維持されたが、CYP27B1 mRNA の転写については変動が認められなかった。このほか、血清 FGF23 濃度は経口投与群では変化せず、静脈内投与群で有意に上昇し、24 時間後でも有意に高かった。血漿 PTH インタクト濃度は、投与後 24 時間まで対照群と比し有意に低下した。(参照 17、22)

(3) 体内動態試験 (牛)

① 牛 (ビタミン D₂、ビタミン D₃、単回経口投与)

牛 (ジャージー種、体重 95～105 kg、雄、各 3 頭/群) に、[³H]標識エルゴカルシフェロール (ビタミン D₂) 又は [³H]標識コレカルシフェロール (ビタミン D₃) を単回経口投与 (365 μCi、1.2 Ci/ mM/ 頭) し、体内動態試験が実施された。投与後 3 週間内に計 14 回血液を採取した。

血漿放射活性の最大値は、両群とも 80 時間後にみられ、各々 4,600 及び 8,400 dpm/mL であった。HPLC により血漿中代謝物を同定したところ、両群で 標識ビタミン D は投与 24～48 時間後に血漿中で最大値を示し、投与 10～15 時間後の主要な血漿中放射性活性物質として検出された。投与 15 時間後では標識 25(OH)D が主要な標識代謝物となり、投与 48～96 時間後で最大濃度となった。

25(OH)D₃ 濃度は 25(OH)D₂ の 2 倍であった。25,26(OH)₂D₃ 及び 1,25(OH)D₃ の消長は、25(OH)D₃ に類似していた。ビタミン D₂ 投与群の血漿 1,25(OH)D 濃度は、ビタミ

⁴ *in vitro* 溶解試験において、12 時間かけて 25(OH)D₃ を放出するカプセルとされている。

ン D₃ 投与群の 1/4～1/2 であった。血漿中 24,25(OH)₂D 濃度は、徐々に増加し投与 200～400 時間後で最大値となった。血漿中にはこれらに加え、4 種類の未同定標識ビタミン代謝物質がみられた。これらの結果から他の動物種と同様に反芻動物でもビタミン D₂ 及び D₃ の代謝は区別できることが示唆された。(参照 23)

② 牛 (ビタミン D₃、筋肉内投与)

牛 (ジャージー種、4 歳、2 頭) にビタミン D₃ を 4 週間 (1 回/週) 筋肉内投与 (15×10⁶ IU/1.5mL エタノール) し、血漿中濃度が測定された。

牛のビタミン D₃ のベースライン値は 3.2±0.99 ng/mL (1.7～4.9 ng/mL) であり、1 回目投与 1 週間後では 10～45 ng/mL であったが、2 回目以降 4 回目後では 130～234 ng/mL に達し、4 回目投与 38 日後までには 88 ng/mL に減少した。(参照 24)

③ 牛 (ビタミン D₃、25(OH)D₃、経口投与)

牛 (ジャージー種、9 頭/群) に、乳熱を予防するための妊娠牛への至適な投与時期と用量を検討することを目的として、ビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ を分娩 6 日前に経口投与 (15 mg/頭) する試験が実施された。投与 6 日後までに分娩しなかった個体 (対照群: 4 頭、25(OH)D₃ 群: 5 頭、D₃ 群: 7 頭) には同用量を再投与し、分娩前 14 日から分娩後 84 日まで経時的に採血し、25(OH)D₃ 濃度等を測定した。

25(OH)D₃ 投与群の分娩後の血漿中平均 25(OH)D₃ 濃度 (119.0 ng/mL) は、ビタミン D₃ 投与群 (77.5 ng/mL) 及び対照群 (69.3 ng/mL) に比べ高値であったが、1α,25(OH)₂D₃ への転換は十分でなかった。そのため、報告者は本試験の 25(OH)D₃ 投与量は分娩時の Ca 恒常性を調節するには十分な量ではなかったとしている。(参照 25)

④ 牛 (ビタミン D₃、混餌投与)

牛 (肉用牛、ヘレフォード種、去勢牛、体重 607±12 kg、5 頭/群) に、大麦ベースの仕上げ (出荷前) 飼料を給餌した去勢牛のカルシウム恒常性に対するビタミン D₃ 補給の効果を検証することを目的とし、ビタミン D₃ を 7 日間混餌投与 (2.5、5.0 ×10⁶ (M: million) IU/日) し、その後 5 日間休薬する体内動態試験が実施された。休薬 9 日後まで血液を採取し、血漿中ビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ を HPLC 法により測定した。

血漿中ビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ 濃度は投与量依存性に増加したが、その動態はそれぞれ特有であった。ビタミン D₃ は、最大値を示す投与 5 及び 7 日目まで経時的に増加し、休薬 3 日までに低下し、休薬 3～9 日は対照群より高値ではあるが大きな変動はみられず安定した。一方、25(OH)D₃ 濃度は、休薬期間の最後まで直線的に増加した。2.5 及び 5.0 M IU 投与群の血漿中ビタミン D₃ 濃度の最高値はそれぞれ 132.4 及び 149.8 ng/mL となり、対照群のそれぞれ 32.6 及び 36.9 倍であり、25(OH)D₃ 濃度の最高値は、対照群の 4.9 (242.8 ng/mL) 及び 6.9 (335.9 ng/mL) 倍であった。(参照 26)

⑤ 牛 (ビタミン D₃、25(OH)D₃、筋肉内投与)

妊娠牛 (乳用牛) にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ を筋肉内投与 (D₃: 15×10⁶ IU、25(OH)D₃: 25 mg/頭) し、体内動態試験が実施された。

ビタミン D₃ 投与後、血漿中 25(OH)D₃ 濃度は、血漿中遊離ヒドロキシプロリン、Ca 及び P 濃度とともに上昇したが、Mg 濃度は低下した。25(OH)D₃ 投与群では血漿中 Ca 濃度は増加し、試験期間中高値を維持した。25(OH)D₃ の生物学的半減期は 34 日であった。この結果は、多量のビタミン D₃ の投与は、投与したビタミン D₃ の 25 位での水酸化を抑制し、投与 8 日後までの 25(OH)D₃ への転換を抑えるフィードバック機構の可能性を示唆している。また、投与 8 日後以降の血漿中 25(OH)D₃ の増加は、血漿中遊離ヒドロキシプロリンにより示唆されるように骨吸収の増加をもたらした。(参照 27)

⑥ 牛 (25(OH)D₃、混餌投与)

牛 (ホルスタイン種、63±17 か月齢、泌乳量 20±9 L、5 頭/群) に、泌乳中期の乳牛へのカルシフェジオール補給による血中ミネラル及び代謝物への影響を検証することを目的とし、25(OH)D₃ を 30 日間混餌投与 (0.83 (添加上限量の 0.5 倍)、1.7 (同 1.0 倍)、3.3 (同 1.9 倍)、6.7 (同 3.9 倍) µg/kg 体重/日) し、血液は試験期間中 10 日毎に採取する体内動態試験が実施された。

血漿 25(OH)D₃ 濃度は用量依存性に上昇し、24,25(OH)₂D₃ 又は 3-epi 25-OH-D₃ も同様の傾向であったが、25(OH)D₂ は用量依存性でなく最高添加量投与群で低下した。血漿 25(OH)D₃、ビタミン D₃、3-epi 25-OH-D₃、24,25(OH)₂D₃ 濃度は投与期間の経過にともない有意に増加したが、25(OH)D₂ は有意に減少した。乳汁中 25(OH)D₃ 濃度もまた用量相関性に上昇した。(参照 10、28)

(4) 体内動態試験 (豚、ビタミン D₃、混餌投与)

豚 (性別、頭数等不明) にビタミン D₃ 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 µg)⁵/頭/日、摂取量(µg/kg 体重)及び被験動物の体重は不明) し、体内動態試験が実施された。

最終投与後のビタミン D₃ の血中濃度は、それぞれ 0.0065、0.008、0.013 及び 58.43 µg/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 µg/mL となった。最終投与 12 週後には、6,250 µg /頭/日投与群の血中濃度は、0.016 µg/mL であった。(参照 29)

(5) 体内動態試験 (鶏、ビタミン D₃、25(OH)D₃、混餌投与)

鶏 (1 日齢、雄) に 14 日間ビタミン D₃ 欠乏飼料を投与後、[³H]標識ビタミン D₃ 又は [³H]標識 25(OH)D₃ 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。

ビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ はそれぞれ投与量の 66.5±3.3 及び 83.6±2.1% が吸収された。十二指腸から分泌された 25(OH)D₃ 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 D₃ 及び 25(OH)D₃ はそれぞれ 20 及び 7% が排泄された。(参照 30)

⁵ ビタミン D の国際単位 (IU) は、結晶ビタミン D₃ の 0.025 µg を 1 IU と定めている (参照 3) ことから、以下参照資料中に記載の IU を単位とする投与量等は µg に換算して記載した。

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛)

① 牛 (25(OH)D₃、混餌投与)

牛 (泌乳牛、5 頭/群) に 25(OH)D₃ 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 (同 1.9 倍)、6.7 (同 3.9 倍) $\mu\text{g/kg}$ 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 : $32.0 \pm 14.92 \mu\text{g/L}$ 、乳中 : $0.1638 \pm 0.02607 \mu\text{g/kg}$) の各々約 7.8 倍 ($251.5 \pm 14.96 \mu\text{g/L}$)、3.2 倍 ($0.5229 \pm 0.02548 \mu\text{g/kg}$) であった。

乳中濃度は、添加上限量投与群では約 $0.25 \mu\text{g/kg}$ であり、既存の報告における乳中濃度⁶の範囲内であった。(参照 10、28、31)

② 牛 (25(OH)D₃、混餌投与)

牛 (ホルスタイン種) に 25(OH)D₃ 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) $\mu\text{g/kg}$ 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 3 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 $23.1 \mu\text{g/kg}$) が測定した組織中では最大で、筋肉中濃度は約 $5.68 \mu\text{g/kg}$ であった。いずれの値も、既存の報告における食品中の濃度⁶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、25(OH)D₃ 投与によるものではないとされた。(参照 10、31、32、33)

⁶ 25(OH)D₃ は、牛の肝臓、筋肉、腎臓等の組織中に $0.2 \sim 23.3 \mu\text{g/kg}$ 、乳中に $0.075 \sim 0.500 \mu\text{g/L}$ が食品中に常在成分として検出されると報告されている。(参照 28,31)

表 3 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)

③ 牛 (ビタミン D₃、ゼラチンカプセル経口投与)

牛 (肉用種、コンチネンタル/ブリティッシュ交雑種、

去勢牛、約 23 か月齢、10 頭/群) にビタミン D₃ を 9 日間ゼラチンカプセル経口投与 (0、5、7.5×10⁶ IU/日) し、残留試験が実施された。と殺後、血漿、筋肉 (もも、腰部)、肝臓、腎臓中濃度を HPLC-放射性免疫測定法で測定した。

血漿中未変化体濃度は、投与量に応じて対照群 (3.1±0.6 ng/mL) の約 150 又は約 170 倍に増加し、筋肉内未変化体濃度は、対照群 (2.8±1.0 ng/g (もも)、4.1±0.8 ng/g (腰部)) の約 28 又は約 31 倍 (もも)、約 20 又は約 22 倍 (腰部) となり、肝臓については対照群 (8.6±2.4 ng/g) の約 71 又は約 114 倍、腎臓については対照群 (7.4±1.9 ng/g) の約 24 又は約 27 倍であった。

血漿中 25(OH)D₃ 濃度は、投与量に応じて対照群 (48.1±5.3 ng/mL) の約 12 倍又は 13 倍に増加し、筋肉内濃度は対照群 (1.3±0.2 ng/g (もも)、1.4±0.5 ng/g (腰部)) の約 12 倍又は約 67 倍 (もも)、約 18 倍又は約 14 倍 (腰部) となり、肝臓については対照群 (7.7±0.9 ng/g) の約 7 倍又は約 6 倍であった。腎臓については対照群 (23.3±4.7 ng/g) と比較して大きな変化はみられなかった。

血漿中 1α,25(OH)₂D₃ 濃度は、投与量に応じて対照群 (20.8±2.8 ng/mL) の約 1.3 倍又は 1.4 倍、筋肉内濃度は対照群 (11.8 ng/g) の約 1.6 倍又は約 2.1 倍、肝臓は、対照

群 (103.3 ng/g) の約 1.1 倍又は約 1.3 倍、腎臓については、対照群 (59.9 ng/g) の約 1.6 倍又は約 1.4 倍に増加、腰部は対照群 (43.9 ± 4.9 pg/g) と比較して減少した。(参照 34)

④ 牛 (ビタミン D₃、混餌投与)

牛 (ブリティッシュ系及びコンチネンタル系の品種並びにコブ牛の 3 種、去勢牛、36 頭/群) にビタミン D₃ を肥育期間 (123 日) のと殺前 8 日間混餌投与 (0、0.5、1.0、 5.0×10^6 IU/日) し、残留試験が実施された。血中及び組織中ビタミン D₃ 代謝物は放射性免疫測定法により測定した。

筋肉 (背最長筋)、腎臓及び血漿中ビタミン D₃ 濃度は、対照群 (5.3、12.2、4.0 ng/g, mL) に比べいずれの投与群でも高値であった。肝臓中濃度 (13.3 ng/g : 対照群) は、中用量及び高用量投与群で高値であり、高用量投与群の筋肉、肝臓及び腎臓中濃度はそれぞれ対照群の 8、75 又は 33 倍であった。肝臓中 25(OH)D₃ 濃度は、中用量及び高用量投与群で対照群 (0.8 ng/g) に比べ高値であり、腎臓中濃度 (1.6 ng/g : 対照群) は高用量投与群で増加した。血漿中 25(OH)D₃ 濃度 (50 ng/mL 以上～100-ng/mL 以下 : 対照群) は、動物種により異なり、コブ牛及びコンチネンタル種では中用量及び高用量投与群、ブリティッシュ種では全投与群で増加した。血漿中 1 α ,25(OH)₂D₃ 濃度 (107.9 pg/mL : 対照群) は全投与群で増加したが、筋肉、腎臓又は肝臓中濃度 (152.1、67.6、176.1 pg/g) は大きく変化しなかった。(参照 35)

⑤ 牛 (ビタミン D₃、混餌投与)

牛 (交雑種、去勢牛、27～28 頭/群) にビタミン D₃ を肥育終了前 9 日間混餌投与 (0、0.5、1.0、2.5、5.0、 7.5×10^6 IU/日) し、残留試験が実施された。ビタミン D₃ 代謝物を放射性免疫測定法で測定した。

1.0×10^6 投与量以上の群の筋肉 (9.5 ng/g : 対照群) 及び肝臓 (140.8 ng/g : 対照群) 中ビタミン D₃ 濃度は増加し、最高用量 (7.5×10^6 IU/日) 投与群での筋肉及び肝臓中ビタミン D₃ 濃度は、対照群の 6.9 及び 3.6 倍であった。25(OH)D₃ 濃度は、上位 2 用量 (5.0、 7.5×10^6 IU/日) の投与群で対照群 (筋肉 : 4.1、肝臓 : 1.9 ng/g) に比べ高値であった。これらビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ 濃度の変化は投与量依存性であった。筋肉中 1 α ,25(OH)₂D₃ 濃度 (202.7 pg/g : 対照群) への投与の影響はほとんどなく、肝臓 (259.4 pg/g : 対照群) では投与量に依存して減少した。(参照 36)

⑥ 牛 (ビタミン D₃、混餌投与)

牛 (ホルスタイン種、5 頭/群) にビタミン D₃ を分娩約 2 週間前から泌乳開始 12 週まで混餌投与 (0、10,000、50,000、250,000 IU/日) し、血漿及

び乳中ビタミン D 群濃度を測定した。

最高量投与群で血漿中ビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ 濃度が有意に増加したが、乳中のこれらの濃度はほぼ同量 (0.2 ng/mL) であった。乳中からはごく少量の 1 α ,25(OH)₂D₃ が検出され、また 24,25(OH)₂D₃ はどの群からも検出できなかった。

最高量投与群の乳中ビタミン D 活性は 54 IU/L であり、対照群では 17 IU/L であっ

た。

報告者らは、ビタミン D₃ の最大 250,000 IU/日までの経口投与では乳中ビタミン D 活性を増加させることはない結論した。(参照 37)

⑦ 牛 (ビタミン D₃、混餌投与)

牛 (詳細不明) にビタミン D₃ を混餌投与 (4,000 又は 40,000 IU/日) し、乳中動態を HPLC 及びリガンド結合法により測定した。

表 4 に乳中濃度を示した。

親化合物である乳中ビタミン D₃ 濃度は投与量の影響を受けるが、25(OH)D₃ 濃度への影響は大きくなかった。(参照 38)

表 4 ビタミン D₃ 投与時の牛の乳中代謝物濃度 (平均値±SD pg/mL)

代謝物	投与量(IU/日)	
	4,000 (n=2)	40,000 (n=4)
D ₃	43±8	322±85
25(OH)D ₃	372±42	685±137
24,25(OH) ₂ D ₃	45±6	38±10
25,26(OH) ₂ D ₃	21±5	16±3
1α,25(OH) ₂ D ₃	5.4±1.2	4.2±0.5

(2) 残留試験 (豚)

① 豚 (ビタミン D₃、25(OH)D₃、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 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 5 に示した。(参照 39)

表 5 豚におけるビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ 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（ビタミン D₃、25(OH)D₃、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 6 に示した。（参照 40）

表 6 豚におけるビタミン D₃又は 25(OH)D₃ 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 豚（ビタミン D₃、混餌投与）＜参考資料 7＞

豚（性別、頭数等不明）にビタミン D₃を 1 か月間混餌投与（0、2.25、8.75 又は 6,250 µg/頭/日（摂取量(µg/kg 体重)不明））し、残留試験が実施された。投与終了時、肝臓中のビタミン D₃濃度はそれぞれ 2.25、1.75、5.25 及び 677.5 µg/kg であった。6,250 µg/頭/日投与群では、最終投与 4、12 及び 24 週後においてそれぞれ 22.25、3.75 及び 2.25 µg/kg と減少した。他の可食部組織の知見は得られなかった。（参照 29）

（3）残留試験（羊）

① 羊（ビタミン D₃、25(OH)D₃、単回筋肉内投与）＜参考資料 7＞

羊（性別、頭数等不明）に ³H 標識 25(OH)D₃（50 µCi）又は ³H 標識ビタミン D₃（50 µCi）の単回筋肉内投与後、大量の放射活性が肝臓及び腎臓から検出されたが、組織中放射活性は急激に減衰したため、可食部組織における残留濃度の評価はできなかった。（参照 29）

② 羊（ビタミン D₃、単回筋肉内投与）

羊（雌、4 頭/群）にビタミン D₃を単回筋肉内投与（500～625 µg/kg 体重：推奨添加量の 10 倍）し、投与 1、2、3、4 及び 7 か月後に組織中濃度を測定した。ビタミン D₃濃度は、投与 1 か月後では筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓中でそれぞれ 2.90、5.40、2.90 及び 4.0 µg/kg であり、投与 7 か月後でも、腎臓（1.60 µg/kg）及び脂肪（3.26 µg/kg）中から検出された。（参照 29）

⁷ 試験の詳細が不明のため、参考資料とした。

③羊（ビタミン D₃、単回経口、筋肉内又は静脈内投与）＜参考資料⁷＞

羊（性別、頭数等不明）にビタミン D₃を単回経口、筋肉内又は静脈内投与（2,500～3,125 µg/kg 体重）し、残留試験が実施された。投与 22 日後の組織中ビタミン D₃濃度は、肝臓で 3.40～4.96 µg/kg、腎臓で 3.97～5.06 µg/kg、脂肪で 4.73～6.46 µg/kg であり、経口投与の場合が最も低いと報告されている。（参照 29）

（４）残留試験（乳汁）

乳汁中でビタミン D₂ 及びビタミン D₃ 並びに 22,23-ジヒドロエルゴステロール（ビタミン D₄）及び 7-デヒドロシステロール（ビタミン D₅）のようなより微量な物質の痕跡がみられることが報告されている。通常乳汁中には、ビタミン D は痕跡程度の量しかみられない。（参照 29）

① ビタミン D₃ の大量単回経口投与（125,000～250,000 µg/乳用動物（約 250～500 µg/kg 体重））により、投与後 10 日間に、低用量群で 1～3 µg/L、高用量群で 1.58～7 µg/L が検出された。投与 28 日後にはビタミン D₃は検出されなかった。（参照 29）

② ビタミン D₃ の大量単回静脈内投与（125,000～250,000 µg/動物（約 250～500 µg/kg 体重））により、投与 7 日後の乳汁中のビタミン D₃濃度は、低用量群で 2.5 µg/L、高用量群で 9 µg/L であった。投与 28 日後には、ビタミン D₃は、少数の動物からのみ検出された（0.5～2.25 µg/L）。（参照 29）

③ 羊（乳用種）に、ビタミン D₃を単回静脈内投与（50,000 µg/頭（1,000～1,250 µg/kg 体重））した結果、乳汁中のビタミン D₃濃度は、投与 1、3 及び 10 日後で 360、200 及び 40 µg/L であった。投与 20 日後には、乳汁中のビタミン D₃は投与前のレベル（2～3 µg/L）に回復した。（参照 29）

（５）残留試験（鶏）

① 鶏（ビタミン D₃、25(OH)D₃、混餌投与）

鶏（採卵鶏（デカルプ）、24 週齢、10 羽/群×9 反復；計 450 羽）にビタミン D₃又は 25(OH)D₃を 224 日間混餌投与し、最終投与後の組織及び卵中 25(OH)D₃濃度を測定した。投与量はビタミン D₃が 69ppm（3.8～4.2 µg/kg 体重/日）、25(OH)D₃が 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）であった。

結果を表 7 に示した。（参照 41）

表 7 鶏におけるビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ 224 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			
	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 (25(OH)D₃、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 を 4 週間混餌投与 (41 (添加上限量の 0.5 倍)、82 (添加上限量)、413 (添加上限量の 5 倍)、825 (同 10 倍) µg/kg 飼料) し、残留試験が実施された。採卵は 56 日で実施した。

結果を表 8 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。高用量投与の 2 群 (5 倍及び 10 倍) 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变化であったが、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 13)

表 8 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	投与量 (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 鶏 (25(OH)D₃、混餌投与)

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

結果を表 9 に示した。

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 vs.13 ng/L) であった。投与量を 3 から 10 倍まで増量すると血清濃度は 2 倍以上 (113 から 246 ng/L) に増加した。組織中濃度については、ビタミン D₃投与群に比べ各組織で約 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。(参照 13)

表 9 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 鶏 (肉用鶏、1 日齢、雌雄各 40 羽/群) にビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ 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 10 に示した。

25(OH)D₃ 濃度は全組織で LOQ 未満であった。(参照 42)

表 10 鶏におけるビタミン D₃ 又は 25(OH)D₃ 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 鶏 (1 日齢、雌雄各 10 羽/群) に 25(OH)D₃ を 35 日間混餌投与 (70、100µg/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 11 に示す。

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 14)

表 11 鶏に 25(OH)D₃ の 35 日間混餌投与時の組織中 25(OH)D₃ 濃度 (μg/kg 組織)

組織	投与量 (μg/kg 飼料)						
	ビタミン D ₃	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	5.7 ^b
腹部脂肪		<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	26.7 ^a	29.6 ^a

LOQs : 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

(6) 七面鳥

七面鳥 (1 日齢、雌雄各 6 羽/群) に 25(OH)D₃ (99 μg/kg 飼料) を 112 日間混餌投与 (50、99、495、990 μg/kg 飼料) し、残留試験が実施された。

結果を表 12 に示した。

99 μg/kg 飼料投与群の各組織中濃度は、同用量のビタミン D₃ 投与群の濃度と同水準であった。495 μg/kg 飼料投与群では、肝臓を除く他の組織の濃度が有意に高値であった。(参照 13)

表 12 七面鳥に 25(OH)D₃ を 112 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	
	69	99	495
胸筋	2.3	2.3	8.6 ^a
大腿筋	2.8	2.0	10.7 ^a
皮膚+脂肪	6.5	8.2	52.9 ^a
肝臓	3.1	6.4	6.5
腎臓	—	6.4	—

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. 遺伝毒性試験

ビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ の遺伝毒性試験結果を表 13 に示した。

表 13 ビタミン D₃ 及び 25(OH) D₃ の遺伝毒性試験

試験項目		被験物質	試験対象	用量	結果及び参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	ビ タ ミ ン D ₃	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537	33～10,000 µg/plate (±S9)	陰性 ^a 参照 43
		25(OH)D ₃	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA	3～5,000 µg/plate (±S9)	陰性 参照 17、44、
	染色体異常試験	25(OH)D ₃	ヒト末梢血リンパ球	4 時間処理 10.7、18.7、32.7 µg/mL (処理後 18 時間培養、－S9) 18.7、32.7、57.1 µg/mL (処理後 18 時間培養、＋S9) 10.7、18.7、32.7、57.1 µg/mL (処理後 42 時間培養、＋S9) 22 時間処理 2.0、3.5、6.1 µg/mL (－S9) 46 時間処理 5.7、10.0 µg/mL (－S9)	陰性 参照 45
	遺伝子突然変異試験	25(OH)D ₃	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	3 時間処理 0.01～7.5 µg/mL (－S9) 0.5～25 µg/mL (＋S9) 24 時間処理 0.05～5 µg/mL (－S9)	陰性 参照 17、46
<i>in vivo</i>	小核試験	25(OH)D ₃	ラット (Wistar、雄、5 匹/群)、骨髓細胞	10, 25, 50 mg/kg 体重 2 回経口投与 (24 時間間隔) 最終投与 24 時間後で骨髓採取	陰性 参照 17、47

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

a : 1000 µg/plate 以上の用量で僅かな毒性を示した。

ビタミン D₃ の *in vitro* の復帰突然変異試験、25(OH)D₃ の *in vitro* の復帰突然変異試験、染色体異常試験及び遺伝子突然変異試験並びに *in vivo* の小核試験はいずれも陰性であった。

以上の結果から、食品安全委員会は、ビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ には、遺伝毒性は認められないと判断した。

4. 急性毒性試験

各動物種における急性毒性試験の結果を表 14 に示した。(参照 29、48、49)

表 14 各動物種におけるビタミン D₃ 及び 25(OH)D₃ の LD₅₀

動物種	投与物質	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
マウス	ビタミン D ₃	経口	42
	25(OH)D ₃	腹腔内	210
ラット	ビタミン D ₃	経口	42
	25(OH)D ₃	経口(Wistar)	>200
	25(OH)D ₃	経口(SD)	>320
	25(OH)D ₃	腹腔内	>320
イヌ	ビタミン D ₃	経口	80

5. 亜急性毒性試験

(1) 4 及び 26 週間亜急性毒性試験 (ラット、ビタミン D₃)

ラット (CrI:CD BR、10 週齢) にビタミン D₃ を 4 週間及び 26 週間反復経口投与 (125、250 又は 500 µg/kg 体重/日⁸) し、亜急性毒性試験が実施された。全投与群で Ca 及びリンの血清中濃度及び Ca の尿中排泄が増加した。投与 4 週間後には、125 及び 250 µg/kg 体重/日投与群で腎尿細管に散発的な石灰沈着巣がみられ、500 µg/kg 体重/日投与群ではより明瞭であった。投与 26 週間後には、500 µg/kg 体重/日投与群では全例で腎に軽度又は中等度の石灰沈着が、250 µg/kg 体重/日投与群では軽度の石灰沈着がみられたが、125 µg/kg 体重/日投与群では石灰沈着はほとんどみられなかった。(参照 7)

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット、25(OH)D₃)

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) に 25(OH)D₃ を 90 日間混餌投与 (0、7、20、60 又は 180 µg/kg 体重) し、投与終了後 28 日間の回復群 (0 及び 180 µg/kg 体重、雌雄各 5 匹/群) を別に設ける亜急性毒性試験が実施された。

結果を表 15 に示した。

最小量 (雄) 及び最大量 (雄) 投与群で各 1 例が死亡したが、一般症状、飼料摂取量及び体重増加に被験物質投与に起因する影響はみられなかった。

腎に石灰沈着がみられたが、投与に関連した臨床生化学的な変化はみられなかった。

腎盂腎炎及び尿路上皮の過形成については、発生頻度は低く、尿中のカルシウム排泄量の増加及び腎盂における石灰沈着による二次的作用であると考えられた。卵巣の間質細胞の肥大については、両側性に発生しており、その発生頻度には用量依存性が見られるものの、対照群でも 1 例発生しており、病変の程度は軽度で、卵巣重量に変化は認められなかった。

以上のことから、食品安全委員会は、本試験の NOAEL を 180 µg/kg 体重と判断した。(参照 17、50、51)

⁸ 参照資料の原文では 12.5、25 又は 50 µg/kg 体重/日

表 15 投与終了時の病理組織学的所見

所見	程度 ⁹	投与群 (μg/kg 体重)				
		0	7	20	60	180
腎石灰沈着	軽微	-	-	3(M:2&F:1)	4(M:3&F:1)	5(M:1&F:4)
	軽度	-	-	4(M:1&F:3)	8(M:1&F:7)	9(M:5&F:4)
	中等度	-	-	-	-	1(M)
腎盂腎炎	軽微	-	-	2 (M:1&F:1)	-	-
	軽度	-	-	-	1 (F)	1 (M)
尿路上皮過形成	軽微	-	-	1 (F)	1(F)	1 (F)
	軽度	-	-	-	1(F)	-
卵巣間質拡大		1(F)	-	3(F)	6(F)	9(F)

値：発現頭数/雌 (F) 雄 (M) 各 10 匹

-：所見なし

(3) 7～21 日間亜急性毒性試験 (イヌ、ビタミン D₂) <参考資料¹⁰>

イヌ (性別、頭数不明) にビタミン D₂ を 7～21 日間経口投与 (500 又は 1,000 μg/kg 体重/日) した結果、高 Ca 血症を伴う腎症を発症した。(参照 29)

(4) 4 か月間亜急性毒性試験 (豚、ビタミン D₃)

豚 (2 か月齢) にビタミン D₃ を 4 か月間混餌投与 (0.025、0.075、0.05 又は 0.1ppm (0.15、0.45、3 又は 6 μg/kg 体重/日に相当)) し、亜急性毒性試験が実施された。特に 6 μg/kg 体重/日投与群で冠状動脈血管内膜の肥厚がみられ、同部で脂肪を含有した細胞及び変性細胞の増加もみられた。(参照 7)

(5) 反復投与試験 (サル、ビタミン D₃) <参考資料¹⁰>

アカゲザル (性別、頭数等不明) にビタミン D₃ (1,250～10,000 μg/匹) を反復経口投与 (日数不明) した結果、全例に高 Ca 血症が生じて死亡し、軟部組織に高度の石灰沈着がみられた。(参照 18)

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 6 か月間慢性毒性試験 (ラット、25(OH)D₃)

ラット (SD 系、雌雄各 15 匹/群) に 25(OH)D₃ を 6 か月間混餌投与 (0、12、40 又は 120 μg/kg 体重/日) する慢性毒性試験が実施された。

一般状態、血液学的検査、臓器重量に投与に起因する影響はみられなかった。

摂餌量が 40 μg/kg 体重/日以上投与群で、対照群及び 12 μg/kg 体重/日投与群に比べ低下した。

病理組織学的検査で、腎の石灰沈着が対照群を含む全群の雌でみられた。結石が 40

⁹ minimal は軽微、slight は軽度、moderate は中等度と記載。

¹⁰ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

μg/kg 体重/日以上投与群の雄で膀胱に、120 μg/kg 体重/日投与群の雄で腎盂にみられた。(参照 18)

食品安全委員会は、40 μg/kg 体重/日以上投与群において腎臓の石灰沈着又は尿路結石が認められているものの、前述したラット 90 日間亜急性毒性試験の結果も踏まえ、本試験における NOAEL は、最高用量である 120 μg/kg 体重/日と判断した。

(2) 26 週間投与試験 (ラット、ビタミン D₃)

種々の糖アルコール類の高用量投与により誘発される副腎褐色細胞腫の発がん機序として推察される、血中 Ca 濃度の上昇による副腎髄質細胞の増殖を解析するため、ラット (CrI : CD 系統) にビタミン D₃ を 26 週間反復経口投与 (125、250 又は 500 μg/匹) した試験が実施された。

その結果、血中 Ca 濃度が上昇し、副腎髄質細胞が増殖するとともに、髄質細胞の限局性過形成が誘発された。また 250 又は 500 μg/匹投与群で、各 1 例に褐色細胞腫の発生がみられたことから、高 Ca 血症に伴う腎髄質細胞の細胞増殖の亢進が、副腎褐色細胞腫の誘発に関連している可能性が示唆された。(参照 18)

(3) 発がん修飾作用 a (ラット、ビタミン D₃) <参考資料¹¹>

1,2-ジメチルヒドラジンによりイニシエーション処置され、20%脂肪食を給餌することにより結腸腫瘍が誘発されたラットにビタミン D₃ を混餌投与すると、結腸腫瘍や前腫瘍性病変の発現が抑制された。(参照 18)

(4) 発がん修飾作用 b (ラット、ビタミン D₃) <参考資料¹¹>

50 mg/kg 体重のメチルニトロソ尿素を 50 日齢のラット (SD 系、雌) に投与することにより誘発された乳腺腫瘍は、ビタミン D₃ と 9-シス-レチン酸を 150 日間混餌投与することにより発生頻度が 44%減少した。(参照 18)

(5) 26 週間発がん性試験 (マウス、25(OH)D₃) <参考資料¹²>

マウス (rasH2、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic、雌雄、各群 25 匹) に 25(OH)D₃ を 26 週間皮下投与 (3、10、33 μg/kg 体重/日) し、発がん性試験が実施された。

死亡率、一般状態、体重、摂餌量、血液学検査、血液生化学的検査等に投与の影響はみられなかった。投与群の雄では、肉眼的検査で肺結節/腫瘍の発生頻度、並びに病理組織学的検査で肺気管支肺胞腺腫及び気管支肺胞腺癌の投与量依存的な発生頻度の増加がみられたが、対照群との間に有意な差はなかったことから、FDAは、25(OH)D₃に発がん性は認められないと判断している。(参照19)

¹¹ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

¹² 経口投与以外の投与経路による試験のため、参考資料とした。

7. 生殖発生毒性試験

(1) 生殖毒性試験（ラット、25(OH)D₃）

ラット（SD 系、雄 10 匹/群、雌 20 匹/群）を用いて 25(OH)D₃ の経口投与（12 又は 40 µg/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。

母動物では、12 µg/kg 体重/日投与群の雌雄で対照群と比べ体重が軽度減少したが有意差はみられず、40 µg/kg 体重/日投与群では対照群と同様であった。12 µg/kg 体重/日投与群の母動物 1 例で児の死産（産児数 10 匹）が認められ、投与群における死産児数は対照群に比べ高値を示したが、用量相関性はみられず投与の影響とはみなされなかった。

交配率、妊娠及び分娩について投与に起因する影響はみられなかった。（参照 52）

食品安全委員会は、親動物に対する一般毒性及び生殖毒性に係る NOAEL を本試験の最高用量である 40 µg/kg 体重/日と判断した。

(2) 周産期授乳期投与試験（ラット、25(OH)D₃）

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)D₃ を経口投与（0、12、40 又は 60 µg/kg 体重/日、対照群には溶媒（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。妊娠、分娩、授乳及び児動物の生存率に投与の影響はみられず、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。（参照 52）

食品安全委員会は、雌親動物に対する一般状態並びに生殖及び児動物の発生並びに発育に係る NOAEL を本試験の最高用量である 60 µg/kg 体重/日と判断した。

(3) 発生毒性試験（ラット、25(OH)D₃）

ラット（SD 系、12 匹/群）の妊娠 6～15 日に 25(OH)D₃ を経口投与（12 又は 40 µg/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。

母動物では、投与群の体重が対照群に比べて僅かに低値であった。12 µg/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 µg/kg 体重/日投与群では対照群と同様であった。

胎児では、40 µg/kg 体重/日投与群で、1 匹に 4 種の肋骨骨格異常がみられた。また、12 µg/kg 体重/日投与群で、1 例の体重が 1.9 g であった胎児に頭蓋骨の未発達及び第 5 中手骨欠損がみられたが、投与に起因するものとは考えられなかった。（参照 52）

食品安全委員会は、母動物に対する一般状態並びに生殖及び胎児の発生に係る NOAEL は本試験の最高用量の 40 µg/kg 体重/日であり、催奇形性は認められないと判断した。

(4) 発生毒性試験（ラット、25(OH)D₃）

ラット（SD 系、12 匹/群）の妊娠 6～15 日に 25(OH)D₃ を経口投与（60 µg/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。

60 µg/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

全がみられたが、異常の出現率は対照群と比べて低いか又は同程度であると考えられた。催奇形性はみられなかった。(参照 52)

食品安全委員会は、本試験における胎児の発生に係る NOAEL を 60 µg/kg 体重/日と判断した。

(5) 発生毒性試験 (ウサギ、25(OH)D₃)

ウサギ (ダッチ・ベルテッド、15 匹/群) の妊娠 6~18 日に 25(OH)D₃ を経口投与 (5、25 又は 50 µg/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。

5 µg/kg 体重/日投与群で異常はみられなかったが、25 µg/kg 体重/日以上投与群で骨格異常の発現率が有意に増加¹³した。

この結果から、25(OH) D₃ は 25 µg/kg 体重/日以上用量でウサギの胎児に催奇形性を示すと考えられた。(参照 52)

申請者は、ウサギはビタミン D に対して極めて感受性が高く、必要以上にカルシウムを吸収することから、本試験において認められた所見は、ウサギの特性に起因していると説明している。(参照 20)

食品安全委員会は、母動物に対する一般毒性に係る NOAEL は本試験の最高用量の 50 µg/kg 体重/日、胎児の発生毒性に係る NOAEL は 5 µg/kg 体重/日と判断した。

(6) 発生毒性試験 (ウサギ、ビタミン D) <参考資料¹⁴>

ビタミン D は人の推奨用量の 4~15 倍の用量を投与した場合、動物に催奇形性を発現することが判明している。ビタミン D を高用量 (人の推奨用量の 4~15 倍) 投与した妊娠ウサギから生まれた児動物に大動脈弁上狭窄症に類似した病変がみられ、この病変のみられない児動物では急性ビタミン D 過剰症の成動物と同様の血管の変化がみられた。これらの症状はおそらく高 Ca 血症によるものである。(参照 7)

(7) 発生毒性試験 (豚、ビタミン D₃) <参考資料¹⁴>

豚 (雌) にビタミン D₃ を混餌投与 (8,150 又は 55,000ppm (0.5 又は 3.4 µg/kg 体重/日)、投与期間不明) し、6 週齢の児動物の冠状動脈を検査した結果、高用量投与群の児動物では、低用量投与群の児動物に比べ、より多くの平滑筋細胞の変性がみられた。(参照 7)

8. ヒトにおける知見

(1) 急性毒性

血清中 Ca 濃度が 2.75 mmol/L 未満の高齢の被験者は、ビタミン D₂ の単回筋肉内投与 (7,500 µg/人) を年に 1 回、4 年にわたり実施しても十分に忍容性があった。一過性

¹³ 高用量投与群の母動物に、腎障害 (大動脈の内膜や弾性線維への異所性石灰沈着) を伴う死亡例が 15 例中 1 例みられたが、他に異常はみられなかった。

¹⁴ 試験の詳細な内容が不明のため、参考資料とした。

に高 Ca 血症を示した可能性のある例を除き、投与直後の血清中 Ca 濃度の報告はないが、血清中 Ca 濃度の僅かな上昇は投与 2～3 か月後までみられた。ビタミン D を 10,000 µg/人の用量で単回筋肉内投与しても明らかな毒性影響はみられなかった。(参照 7)

1～2 歳の幼児に、ビタミン D を 3～5 か月毎に経口投与 (15,000 µg/人) した、Ca、リン及びビタミン D 代謝物が各投与前及び投与 2 週後に測定された。25(OH)D は、平均濃度が 240～430 nmol/L (範囲 : 130～930 nmol/L) に上昇し、次の投与前には 130 nmol/L 未満にまで回復した。全ての幼児は初回投与前に血清中 Ca 濃度は正常値であったが、14 例 (34%) で血清中 Ca 濃度が 2.80 mmol/L 以上 (2.81～3.32 mmol/L) となった。25(OH)D の蓄積増加はみられなかったが、ビタミン D の用量が過剰であったことが示された。

上記試験と同様の投与を実施された 10 名の 1.5～14 歳の子供が腎石灰沈着症と診断された。しかし、試験期間中、血清中のビタミン D 濃度は正常であった。これは、反復する一過性のビタミン D 過剰症及び高 Ca 血症の発現であっても、腎石灰沈着症のような不可逆性の毒性影響を誘発することを示唆していると考えられた。(参照 7)

子供 (年齢不明) にビタミン D₃ (2,500、5,000 又は 15,000 µg/人) を 3 か月毎に経口投与した。各投与群における初回投与 2 週後の 25(OH)D 濃度はそれぞれ 92±42、150±55 及び 307±160 nmol/L であった。血清中 Ca 濃度が 15,000 µg/人投与群で一過性に上昇したが、他の投与群では上昇しなかった。15,000 µg/人投与群の半数の子供においてビタミン D の過剰状態が初回投与 6 か月後まで持続した。(参照 7)

幼児において、中等度の高 Ca 血症が一度発現すると、数か月にわたり発育障害が生じる可能性がある。(参照 7)

(2) 生殖発生毒性

妊娠期間中、母体の血清中 25(OH)D はビタミン D の摂取と相関性を示すが、血清中の活性代謝物である 1α,25(OH)₂D は、主に胎盤の脱落膜細胞における合成に依存しビタミン D 結合タンパク質 (DBP) も増加する。胎児は母体からの 25(OH)D の供給に全て依存しており、同時に 24,25(OH)₂D も胎盤を通過して、胎児内で容易に拡散すると考えられる。ただし、母体と胎児の 1α,25(OH)₂D 濃度の関係はより複雑であり、相関性を示す知見と、それを支持しない知見もある。(参照 7)

副甲状腺 (上皮小体) 機能低下症の女性及び (遺伝的に) 1α,25(OH)₂D 非感受性の女性の妊娠中における 1α,25(OH)₂D (それぞれ 0.5～2 µg/人/日及び 17～36 µg/人/日) の投与に関する報告がある。後者の症例では、母体における血漿中 1α,25(OH)₂D 濃度は非常に高かったが、Ca 濃度は正常であった。出産時に臍帯血清中 1α,25(OH)₂D 濃度は著しく上昇し (940 pmol/L、正常値の平均値 : 47.5 pmol/L)、子供は生後 2 日間に軽度の高 Ca 血症を呈した。他の毒性徴候を示す子供はみられなかった。このことから、母体の 1α,25(OH)₂D の血中濃度は、出産後の子供の血漿中の Ca 濃度にほとんど影響を及ぼ

さないと考えられる。(参照 7)

妊娠中に母体が高 Ca 血症を呈した場合、胎児において、ビタミン D に対する感受性、副甲状腺（上皮小体）機能の抑制又は妖精顔症候群（*syndrome of elfin face*）、精神発達の遅滞及び先天性大動脈弁上狭窄症を増加させる可能性がある。

しかしながら、妊婦における試験では対照群の設定がなく、どのくらいの用量でこのような所見が起こるのか不明である。(参照 7)

授乳中の女性に冬期にビタミン D₂（25 又は 50 µg/人/日）を投与した結果、50 µg/人/日投与群の乳児のみで血中のビタミン D 代謝物濃度が正常であった。ビタミン D を 10 µg/人/日の用量で投与され、またビタミン D を補充されていない母親から授乳されている乳児における血中のビタミン D の状態は、50 µg/人/日投与群の母親の子供と同様であった。(参照 7)

(3) 過剰症

ビタミン D は、尋常性狼そう等の治療のために大量投与されるが、大量連続投与により、ビタミン D 過剰症が発現する。小児特に乳児の高 Ca 食摂取によりビタミン D 過剰症が促進される。また、ビタミン D に対する感受性は個人差が大きいため注意を要する。ビタミン D の過剰投与（3,750 µg/日）により、腸管からの Ca 吸収が促進され、血漿中 Ca 濃度は増加する。これは副甲状腺（上皮小体）の機能抑制を招き、尿中リン排泄が抑制され、血漿中のリン濃度が上昇する。このため、リン酸 Ca が、気管、肺胞、血管壁、腎臓等に沈着し、最終的に尿毒症を招くことがある。また骨から血中への Ca 移動を起こし、骨粗しょう症や骨破壊も現れる。

脂質代謝も阻害され、血漿中コレステロール濃度を上昇させる。臨床症状として食欲不振、便秘、脚気、嘔吐、口渇、多飲、多尿、倦怠感、筋力低下、頭痛、高血圧、体重減少、皮膚がん、痔、色素沈着、排尿障害等がみられる。軽症例ではビタミン D の投与を中止すると治癒するが、重症例には副腎皮質ホルモンが奏効する。(参照 18)

ビタミン D 過剰症は高 Ca 血症の生理学的影響と関連があり、いったん腎臓における Ca 排泄能の限度を超過すると発現する。最も高頻度にみられるビタミン D 過剰症の臨床徴候は、食欲不振、体重減少、虚弱、倦怠感、見当識障害、嘔吐及び便秘である。高 Ca 血症は、子供の発育遅延、興奮性、無力症、持続性の発熱、多尿症及び多渴症、脱水、高血圧並びに機能性腎不全をも引き起こす。持続性の高 Ca 血症に伴う長期間にわたる毒性により、軟部組織、特に腎実質、尿管、血管壁、筋肉及び腱において Ca の過剰な沈着を招く。(参照 7)

通常の食事では過剰量のビタミン D を摂取することはなく、補助的なサプリメント等による過剰摂取によりビタミン D 過剰症が起こる可能性が高いとされている。(参照 5)

(4) 血清中 25(OH)D とビタミン D の毒性

35 報のレポートから、ビタミン D の摂取と投与群における血清中 25(OH)D 濃度の用量相関性についてまとめられている。試験の多くは投与期間が 4 週間以下であり、25(OH)D の半減期が 1~2 か月であることから、そのような短期間で定常状態に達するとは考えられない。しかし、ビタミン D を 20 µg/人/日から 250~500 µg/人/日の用量で投与しても、血清中 25(OH)D 濃度は 75~220 nmol/L の狭い範囲に維持されている。ビタミン D の摂取量がこの生理学的範囲を超えると、25(OH)D が用量相関的に上昇し、毒性に関与する。ビタミン D 関連物質の投与に対し、血清中 25(OH)D 濃度を調節することで、その作用を和らげる恒常性維持機構が存在している。このビタミン D の摂取の生理学的範囲は、全身を日光に当てて産生されると考えられる 250~625 µg/人/日と同程度である。(参照 7)

ビタミン D を月に 1 回 (7,500 µg/人/回) 数か月間投与された患者では、血清中 25(OH)D 濃度が約 600 nmol/L であった。これは、25(OH)D の産生による明らかな恒常性維持機構の一時的な破綻に由来する毒性徴候の発現と考えられる。ビタミン D の大量単回投与では、血清中 25(OH)D 濃度が急速に高いピークを示し、その後濃度は徐々に低下した。(参照 7)

血清中 25(OH)D 濃度が約 67 nmol/L の若い健康な男性にビタミン D₃ (25、250 又は 1,250 µg/人/日) を投与した。投与 8 週後に血清中 25(OH)D 濃度はそれぞれ 29、146 (100~225) 及び 643 (400~1,000) nmol/L 増加した。25(OH)D の反応は Body Mass Index 又は体重との関連性はなかった。この試験における投与期間は短く、25(OH)D の定常状態に達することはできなかった。(参照 7)

高齢者にビタミン D₃ の 6 週間経口投与 (50 µg/人/日) 試験を二重盲検法により実施した。投与開始 7 週 (最終投与後) に血清中 25(OH)D 濃度は 80.1±6.7 nmol/L を示したが、定常状態に達しなかったということを否定することはできない。(参照 7)

ビタミン D の 2.5 か月間投与 (10、25 又は 250 µg/人/日) 試験が実施された。10 及び 25 µg/人/日投与群では血清中 25(OH)D 濃度が約 55 nmol/L の定常状態に達した。一方で、250 µg/人/日投与群では約 120~140 nmol/L を示した。しかし、この場合、定常状態には達していないと考えられ、投与したビタミン D の形態も不明である。(参照 7)

4 か月以上にわたりビタミン D₂ 又はビタミン D₃ を毎日同量投与され、定常状態に達した 128 人の血清中 25(OH)D 濃度を測定した結果、45 µg/人/日投与群では全員が 130 nmol/L 未満であったが、150 µg/人/日投与群では大部分が 130 nmol/L 以上 200 nmol/L 未満であった。60~70 µg/人/日の投与量における回帰直線の 95%信頼限界の上限値は、25(OH)D 濃度 130 nmol/L であった。(参照 7)

健常ボランティア (33 及び 28 人/群) にビタミン D₃ (それぞれ 25 又は 100 µg/人/日)

を1～5 か月間経口投与した。投与開始4 及び5 か月時に25 µg/人/日投与群の平均血清中25(OH)D 濃度は70 nmol/L (45～120 nmol/L) であったが、100 µg/人/日投与群では100 nmol/L (65～120 nmol/L) であった。(参照 7)

健康な閉経前の女性 (19 人) にビタミン D₂ 又はビタミン D₃ (100 µg/人/日) を8 週間経口投与した。被験者にはCa も投与 (0.5 g/人/日) された。最終投与後 (投与開始8 週後) の血清中25(OH)D 濃度はビタミン D₂ 及びビタミン D₃ 投与群でそれぞれ35.5 nmol/L (19.7～48.3 nmol/L) 及び45.4 nmol/L (31.0～55.4 nmol/L) であった。血清中25(OH)D₃ 濃度の低下がビタミン D₂ 投与群でみられ、その結果、総25(OH)D 濃度は投与前の状態と変化がなかった。(参照 7)

(5) ビタミン D の摂取と高 Ca 血症

高 Ca 血症は、血清中総 Ca 濃度が2.75 mmol/L 以上、又は血清中 Ca イオンが1.35 mmol/L 以上と定義されている。50 µg/人/日のビタミン D を6 か月間投与した場合血清中の Ca は正常であり、健康な成人に250 µg/人/日の用量で6 週間投与しても血清及び尿中 Ca 濃度に有意な上昇はみられなかった。1,250 µg/人/日以上投与では、血清中 Ca 濃度は2.82～4.00 mmol/L の範囲であった。さらに、中高年の女性の骨粗しょう症の治療にビタミン D が使用される場合について評価された。これらの女性は骨粗しょう症に加え健康問題を抱えており、1,250 µg/人の用量で週に1 回の投与から同用量で6 週間から5 年間のビタミン D の投与で高 Ca 血症を伴う腎機能低下を生じることが判明した。(参照 7)

結核感染者又は非感染者におけるビタミン D 投与の血清中 Ca 濃度に対する影響について調べられた。被験者120 名を4 群 (各30 名) (①慢性閉塞性肺疾患群、②肺結核感染群 (唾液中から菌分離あり)、③肺結核感染群 (同分離なし)、④肺結核治癒群) に分けるとともに、21～60 歳の健康な男女30 人を⑤結核非感染群とした。全ての群の被験者の食事には3 か月間にわたりビタミン D が添加 (10、20、30、60 又は95 µg/人/日) された。③群においては、全ての投与量で血清中 Ca の有意な上昇がみられたが、①、②、④、⑤の群では、60 µg/人/日以上投与により有意な上昇がみられた。⑤群におけるビタミン D 60 µg/人/日投与後の血清中平均 Ca 濃度は2.43 mmol/L から2.62 mmol/L に上昇したが、高 Ca 血症は示さなかった。95 µg/人/日の用量の投与後については、血清中平均 Ca 濃度は2.46 mmol/L から2.83 mmol/L に上昇した。ビタミン D 製剤の性質、ビタミン D 摂取の背景及び血清中25(OH)D 濃度についての情報は得られていない。(参照 7、54)

健康な閉経前の女性 (19 人) にビタミン D₂ 又はビタミン D₃ を8 週間経口投与 (100 µg/人/日) し、血清中ビタミン D 代謝物及び Ca 濃度について調べた。ビタミン D₃ を投与 (100 µg/人/日) した場合、血清中 Ca 濃度はすぐに有意に上昇した (0.05 mmol/L)。尿中 Ca 排泄は僅かに増加し、Ca/クレアチニンの平均モル比は0.518 となったが、高 Ca 尿症のモル比 (1.0) を十分に下回っていた。(参照 7)

健常ボランティア（33 及び 28 人/群）にビタミン D₃（それぞれ 25 又は 100 µg/人/日）を 1～5 か月間経口投与した。全被験者の血清中 Ca 濃度は基準値の範囲内であり、大きく外れた値はみられなかった。同様に、尿における Ca/クレアチニンモル比にも基礎値から大きく外れた値はみられなかった。25 µg/人/日投与群より 100 µg/人/日投与群において、Ca/クレアチニンモル比が 1.0 を超える被験者が多かった。（参照 7）

（6）血清中 25(OH)D、血清中 Ca 及び高 Ca 血症

くる病患者では、紫外線照射による治療期間において、血清中 25(OH)D 濃度及び血清中 Ca 濃度は並行して増加する。ビタミン D 投与により、血清中 Ca 濃度は 2.5 mmol/L を超えることはなく、血清中 25(OH)D 濃度も 125 nmol/L を超えることはなかった。また、ビタミン D を強化したミルクを過剰に摂取した患者では、血清中 25(OH)D 濃度及び血清中 Ca 濃度に相関性がみられ、血清中 Ca 濃度が 2.75 mmol/L 以上の高 Ca 血症では、血清中 25(OH)D 濃度が 200 nmol/L を超えるという特徴があった。（参照 7）

サプリメントとしてビタミン D（摂取量は不明）を摂取し、血清中 Ca 濃度は正常であるが、血清中 25(OH)D 濃度が 177±41（132～222）nmol/L で高 Ca 尿症であり血清中副甲状腺（上皮小体）ホルモン（PTH）値が低い 4 人の患者の報告がある。サプリメントとしてビタミン D を摂取し、摂取量は不明であった。サプリメントの摂取を中止すると尿中 Ca は正常となり、血清中 25(OH)D 濃度も正常（<130 nmol/L）になった。（参照 7）

（7）ビタミン D 投与と発がん性

1980 年、日光照射時間の短い地方で大腸がんの発生率の高いことが報告されて以来、ビタミン D と大腸がんとの関係が注目された。一方、1981 年には *in vitro* で活性型ビタミン D が直接的に白血病や固形がん細胞の分化誘導作用により発育を抑制することが報告されたが、その作用発現に要する濃度はビタミン D の生理的濃度に比べ約 100 倍程度高濃度である。したがって、悪性腫瘍の治療のためにビタミン D 製剤を投与し有用な効果の報告がされているものの、高用量が必要であるため副作用として高 Ca 血症をきたすことが問題となる。（参照 5）

9. 25(OH)D₃ の摂取状況

（1）食品安全委員会 添加物評価書

25(OH)D₃ は、魚類、肉類、卵類等に含まれているが、国内における食品中の含量を示した報告は少ない。このため、食品安全委員会は、添加物評価書「25-ヒドロキシコレカルシフェロール」（2022）において、海外で報告されている食品中の 25(OH)D₃ の含量の最大値に、令和元年国民健康・栄養調査報告から得られる食品群別摂取量の平均値を乗じて、その一日摂取量を国民全体（1 歳以上）について、1.125 µg/人/日、最大 1.52 µg/人/日（15～19 歳）と推計した。（参照 17）

なお、摂取したビタミン D₃ が一定の変換効率で血清 25(OH)D₃ 濃度を上昇させると

はいえず、ビタミン D₃ の摂取量を 25(OH)D₃ の摂取量に換算することはできないと記載している。(参照 17)

(2) 対象動物における 25(OH)D₃ の残留値及び推定一日摂取量

上述の(1) 添加物評価書に記載された食品中の 25(OH)D₃ 含量及び 25(OH)D₃ の飼料添加上限量(牛; 100 mg/トン(飼料)、豚; 50 mg/トン(飼料)、鶏; 80 mg/トン(飼料))を対象動物に混餌投与した残留試験結果を踏まえ、食品群別 25(OH)D₃ の推定摂取量を試算した。

結果は表 16 及び表 17 に示した。(参照 17、31、55、56、57)

25(OH)D₃ が投与された対象動物由来の食品を考慮した 25(OH)D₃ の推定摂取量は、いずれの年齢層においても、EFSA の設定した UL (成人 10、子供(0~10 歳) 5 µg/人/日) 及び FDA の設定した ADI (0.1 µg/kg 体重/日) を超える値はみられなかった。(参照 13、14、16)

表 16 各食品群における 25(OH)D₃ の含量及び推定一日摂取量

食品群			25(OH)D ₃ 含量				食品群別食品摂取量				食品群別25(OH)D ₃ 摂取量			
			(μg/kg)				平均値 (g/人/日)				(μg/人/日)			
			①	②	③	④	⑤-1	⑤-2	⑤-3	⑤-5	(④× ⑤-1÷ 1000)	(④× ⑤-2÷ 1000)	(④× ⑤-3÷ 1000)	(④× ⑤-5÷ 1000)
			Schmidら (2013)(追加参 照23)	Dunlopら (2017)(追加 参照35) ^{注6}	添加上限量 ^{注7} 投与時の 残留平均値 ^{注8}	①～③の 最大値	国民全体 (1歳以上)	1～6 歳	15～ 19歳	60～ 69歳				
魚介類	生魚介類		ND～2.5	3.0～7.0		7	37.4	20.3	26.8	43.5	0.262	0.142	0.188	0.305
	魚介加工品		1.1	－		1.1	26.6	9.4	16.5	34.2	0.029	0.010	0.018	0.038
肉類	畜肉	牛肉	0.2～5.8	－	5.68	5.8	15.2	5.9	23.7	14.6	0.088	0.034	0.137	0.085
		豚肉	0.6～1.4 ^{注1}	－	6	6	40.5	27	57.6	39.6	0.243	0.162	0.346	0.238
		ハム、ソー セージ類			6	6	13.4	10.4	21.5	12.2	0.080	0.062	0.129	0.073
		その他の畜肉	5.7～12 ^{注2}	－		12	0.2	0	0	0.2	0.002	0.000	0.000	0.002
	鳥肉	鶏肉	2.0～2.5 ^{注3}	－	4.6	4.6	32.2	19.4	65.3	26	0.148	0.089	0.300	0.120
		その他の鳥肉				4.6	0.1	0	0	0	0.000	0.000	0.000	0.000
	肉類 (内臓)		0.8～23.3	－	23.1	23.3	1.3	0.5	0.2	1.7	0.030	0.012	0.005	0.040
	その他の肉類		5.7～12 ^{注2}	－		12	0.1	0	0	0.2	0.001	0.000	0.000	0.002
卵類			3.8	1～15	13.2	15	40.4	19.6	54.7	43.7	0.606	0.294	0.821	0.656
乳類	牛乳・乳 製品	牛乳	0.041～0.36 ^{注4}	－	0.25	0.36	81.6	143.6	99.7	63.5	0.029	0.052	0.036	0.023
		チーズ	0.5	－		0.5	3.9	3	4.7	4.1	0.002	0.002	0.002	0.002
		発酵乳・乳酸	0.27～0.90 ^{注5}	－		0.9	36.8	38.9	35.3	41.1	0.033	0.035	0.032	0.037
		その他の乳製 品				0.9	8.8	24	9.3	8.5	0.008	0.022	0.008	0.008
油脂類		バター	0.50～0.96	－		0.9	1.1	0.7	1.3	1.2	0.001	0.001	0.001	0.001
合計											1.564	0.916	2.023	1.628

ND:検出されず

注1) 文献中には 69.3 µg/kg の値があったが、他との差が大きいため除外。

また、「ハム、ソーセージ類」に対応するデータがないことから、豚肉の値を用いている。

注2) 食品群に対応するデータがないことから、ラム肉の値を用いている。

注3) 食品群に対応するデータがないことから、鶏肉の値を用いている。

注4) 0.042～0.37 µg/L を、100 mL=103.2 g（日本食品成分表七訂（2015））を用いて換算。

注5) 食品群に対応するデータがないことから、クリーム of 値を用いている。

注6) 原著では µg/100 g の単位で記載

注7) 飼料添加物としての 25(OH)D₃ の添加上限量は、豚 50mg/トン飼料、鶏 80mg/トン飼料、牛 100mg/トン飼料

注8) 牛肉及び内臓は残留試験（牛）②、豚肉は残留試験（豚）①、鶏肉及び卵類は残留試験（鶏）①、牛乳は残留試験（牛）①の値を使用。

表 17 25(OH)D₃ の年齢層別推定一日摂取量並びに海外の UL 値及び許容一日摂取量

	国民全体(1 歳以上)	1～6 歳	15～19 歳	60 歳以上
体重 (kg) ^a	56.33	15.35	36.32	60.63
推定一日摂取量 (µg/人/日) ^b	1.564	0.916	2.023	1.628
UL (µg/人/日) ^c	10	5	10	10
許容一日摂取量 (µg/人/日) ^d	5.63	1.54	3.63	6.06
UL に対する比率 (%) ^e	15.64	18.33	20.23	16.28
許容一日摂取量に対する 比率 (%) ^f	27.77	59.70	55.70	26.85

a: 令和元年度国民健康栄養調査報告

b: 食品群別 25(OH)D₃ 推定一日摂取量(表 16)

c: EFSA FEEDAP UL (耐容上限摂取量) 値(追加参照 6、7)

d: 許容一日摂取量 (µg/人/日) = 各年齢層の体重 ^a × ADI の上限値 (0.1 µg/kg 体重/日 (FDA)) (追加参照 9)

e: 対 UL 比 (%) = 推定一日摂取量 ^b / UL 値 ^c × 100

f: 許容一日摂取量の比率 (%) = 推定一日摂取量 ^b / 許容一日摂取量 ^d × 100

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. EFSA における評価

EFSA では、成人に対しては、高 Ca 血症がビタミン D の毒性の指標として選択された。ヒトの 2 つの試験で、234～275 µg/人/日の摂取では高 Ca 血症は発現せず、NOAEL 250 µg/人/日が設定された。これらの試験の不確定要素を考慮して、妊婦及び授乳中の女性を含む成人の許容上限摂取量 (UL) は 100 µg/人/日に設定された。小児及び若年層における高用量のビタミン D の摂取のデータが不足しているものの、11～17 歳の年齢層に対し、この年代は骨生成及び成長が迅速に行われる年齢層であり、成人と比較してビタミン D の許容値が低いとは考えにくいことから、100 µg/人/日の UL が設定された。1～10 歳の子供にも同様の考え方が適用され、体格が小さいことを考慮し、50 µg/人/日の UL が設定された。乳児 (0～12 か月齢) に対しては、高用量のビタミン D の摂取により成長が障害され、高 Ca 血症が発現するというデータが過去に得られており、過去のリスク評価以来、限定的ではあるが更なる知見も得られたため、25 µg/人/日の UL が保持された。欧州 14 か国の調査におけるビタミン D の摂取のデータから、多量に摂取する人においても、その摂取量はどの年齢層でもこれらのビタミン D の UL 未満であることが示された。

(参照 58)

また、家畜及び家きんの飼料中のビタミン D₃ 含有量について評価された。欧州 14 か国における最近の栄養調査では、ビタミン D の摂取量は安全上限値を十分下回ることが判明した。動物由来の食品はビタミン D₃ の飼料添加を含む最近の飼育方法で生産されることを前提とした場合、現在認められている最大量のビタミン D を飼料に添加しても UL を超えないと結論付けている。

(参照 59)

2005 年、EFSA の動物用飼料に使用する添加物及び製品又は物質に関する科学パネル (FEEDAP) は、25(OH)D₃ の飼料添加物としての安全性評価を実施している。毒性試験の結果から、観察された影響はビタミン D 又はその代謝物が生理学的に過剰になった場合の影響と全く同じであり、被験物質の基原や製造方法に起因する未知の毒性影響は認められないとしている。また、成人におけるビタミン D₃ の UL の 50 µg/日 (EC (2002)、IOM (1997)) を、鶏及びラットの試験結果から保守的に検討し設定した 25(OH)D₃ のビタミン D₃ に対する相対的生物活性値 5 で除して、成人及び 11～17 歳における 25(OH)D₃ の UL を 10 µg/日とし、子供 (0～10 歳) は 5 µg/日としている。

2009 年、EFSA FEEDAP は、用途拡大の申請に伴い、25(OH)D₃ の飼料添加物としての再評価を行い、EFSA FEEDAP (2005) の結論を確認し、成

人において 10 µg/日とされた当時の UL を変更する必要はないとしている。なお、より現実に即した摂取量データを用いた推計では、成人における 25(OH)D₃ の推定摂取量は 2.44 µg/人/日（当該 UL の 24%）であった。EFSA FEEDAP は、25(OH)D₃ が提案されている最大量で飼料に添加され、それらの飼料を摂取した動物を人が摂取したとしても、人の健康に悪影響はないとしている。（参照 11、12）

EFSA（NDA）では、種々の基準値設定の可能性について検討した結果、現状の資料からは、平均的摂取必要量及び集団基準摂取量を設定することはできず、適正摂取量を定めた。成人では 15 µg/日、この量はおおよそ成人での 25(OH)D の目標値 50 nmol/L を達成するとし、1～17 歳では、15 µg/日、7～11 か月齢の幼児では 10 µg/日、妊娠した授乳者及び非妊娠、非授乳者は 15 µg/日を適正摂取量としている。（参照 60）

2. EMEA における評価

ビタミン D は体内で生合成され、通常食品として摂取される栄養要素であり、動物用医薬品としては、個々の動物の短期的な治療のためだけに使用される。投与された動物は治療中又は治療直後に食用に供されることは考えにくい。動物の可食部に自然に存在するビタミン D 濃度には大きなバラツキがあり、MRL 確立のための調査は非常に困難である。これらのことから、EMEA では MRL を設定する必要はないと結論付けた。（参照 29）

3. 米国における評価

ビタミン D₃ は食品への添加が認められており、果汁 (100 IU/240mL)、大豆由来食品 (140 IU/240mL)、代用食 (100 IU/40g)、乳製品 (81 IU/30g)、牛乳 (84 IU/100g) 等への添加上限値が設定されている。（参照 61）

25(OH)D₃ は、鶏、豚及び牛用の飼料添加物としては GRAS（一般に安全とみなされる）としての評価をしており、鶏での推奨添加量は、餌で 69 ppb 以下、又は飲料水で 34.5 ppb 以下、豚では 50 ppb 以下、牛では 50 µg/kg 飼料とされている。また、ADI を 0.1 µg/kg 体重/日としている。（参照 10、15、16）

4. その他

CRN¹⁵では、高 Ca 血症を指標とした NOAEL 100 µg/人/日は他の評価機関でも支持されている値ではあるが、臨床試験で 60 µg/人/日摂取で副作用がなかったことからビタミン D のサプリメントからの耐用上限摂取量として 60 µg/人/日が設定されている。(参照 62)

5. 我が国における評価

(1) ビタミン D

日本では、「日本人の食事摂取基準 2020 年版」(厚生労働省)において、ビタミン D の過剰摂取による健康障害は、高 Ca 血症を指標とすることが適当と考えられ、高齢者、妊婦及び授乳婦を含む成人では 100 µg/人/日を UL としている。また、乳児については、多量のビタミン D 摂取によって成長遅延が生じる危険性があることから、25 µg/人/日の UL が設定されている。小児については、表 18 小児の UL のとおり設定されている。(参照 6)

表 18 小児の UL

年齢 (歳)	UL (µg/人/日)
0～11 (月)	25
1～2	20
3～7	30
8～9	40
10～11	60
12～14	80
15～17	90

(2) 25(OH)D₃

食品安全委員会は、25(OH)D₃ 自体を栄養強化剤としてカプセル・錠剤等通常の食品形態でない食品に使用するものとする使用基準案を踏まえて評価を行った。

添加物評価書「25-ヒドロキシコレカルシフェロール」(2022 年)において・「多量のビタミン D 摂取を続けると、高カルシウム血症、腎障害、軟組織の石灰化障害などが起こることが知られている。そして、25(OH)D の蓄積がビタミン D 中毒を引き起こす重要な要因であるという知見は、留意すべきと考えた。25(OH)D₃ は、ビタミン D₃ から体内で生成される。したがって、25(OH)D₃ を多量に摂取すれば、ビタミン D 過剰症と同様の症状を呈するも

¹⁵ Council for Responsible Nutrition : 米国に本拠を置く、栄養補助食品製造企業と原材料供給企業の代表者で構成される民間団体

のと考えられる。一方で、体内動態についてビタミン D_3 と $25(OH)D_3$ を比べると、吸収及び分布に差違が認められる。また、摂取したビタミン D_3 が一定の変換効率で血清 $25(OH)D_3$ 濃度を上昇させるとはいえない。」

・「サプリメントであれば、健康になりたい人や健康を維持したい人、また、より良い健康状態を望む人は、より多量に、高頻度に摂取するおそれがあると考えられる。添加物「 25 -ヒドロキシコレカルシフェロール」については、その使用基準案のとおり、 $25(OH)D_3$ 自体を栄養強化剤としてカプセル・錠剤等通常の食品形態でない食品に使用するものであることを踏まえると、より多量に、高頻度に摂取するおそれは同様にあると考えられる。本ワーキンググループは、 $25(OH)D$ の蓄積が高カルシウム血症、腎障害、軟組織の石灰化障害などビタミン D 中毒の重要な要因であるとの知見にも留意し、より多量に、高頻度に摂取するおそれを回避するには、リスク管理機関において、使用基準（案）を含むリスク管理措置について改めて検討する必要があると考えた。」

・「以上のとおり、「 $25(OH)D_3$ は、現に食事から摂取され、また、ビタミン D_3 から体内で生成されるものであるが、本ワーキンググループは、栄養成分関連添加物としてこれを使用することについては、現時点では懸念があると考えた。」

と評価している。（参照 17）

IV. 食品健康影響評価

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 13 条第 3 項の規定に基づき、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として厚生労働大臣が定める物質（対象外物質）とされているカルシフェロール及び 25(OH)D₃ について、食品健康影響評価を実施した。

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人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、過剰摂取が問題になる。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等からの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 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 を超えないと結論付けている。また、EMEA 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 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、食品を介して人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た。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。

今般、25(OH)D₃ について、飼料添加物の牛への適用に関する試験成績等が提出され、知見を再整理した。

新たに提出された遺伝毒性試験の結果及び従来知見から 25(OH)D₃ には、遺伝毒性は認められないと判断した。

25(OH)D₃ は、コレカルシフェロールの代謝物であり、添加上限量の 25(OH)D₃ 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。

以上のことから、食品安全委員会は、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と考えた。

〈別紙 1：ビタミン D 関連物質略称〉

略 称	物 質 名
ビタミン D	カルシフェロール
ビタミン D ₂	エルゴカルシフェロール
ビタミン D ₃	コレカルシフェロール
ビタミン D ₄	22,23-ジヒドロエルゴステロール
ビタミン D ₅	7-デヒドロシトステロール
25(OH)D	25-ヒドロキシカルシフェロール
25(OH)D ₂	25-ヒドロキシエルゴカルシフェロール
25(OH)D ₃	25-ヒドロキシコレカルシフェロール（カルシフェジオール）
24,25(OH) ₂ D	24,25-ジヒドロキシカルシフェロール
24,25(OH) ₂ D ₃	24,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール
25,26(OH) ₂ D ₃	25,26-ジヒドロキシコレカルシフェロール
1α,25(OH) ₂ D	1α,25-ジヒドロキシカルシフェロール
1α,25(OH) ₂ D ₃	1α,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール
3-epi 25-OH-D ₃	3-epi-25-ヒドロキシコレカルシフェロール

〈別紙 2：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
AUC	Area Under the blood concentration time Curve：血中濃度-時間曲線下面積
Ci	キュリー：放射能の強さを表す単位（1Ci = 3.7×10^{10} Bq（ベクレル））
CRN	Council for Responsible Nutrition：米国に本拠を置く、栄養補助食品製造企業と原材料供給企業の代表者で構成される民間団体
CYP24A1, CYP27B1	Cytochrome P450 Family 24 Subfamily A Member 1：チトクローム P450 ファミリー24 サブファミリーA メンバー1, Cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1：チトクローム P450 ファミリー27 サブファミリーB メンバー1
DBP	Vitamin D binding protein：ビタミン D 結合タンパク質
dpm	Disintegrations per minute：毎分崩壊
EFSA	European agency funded by the European Union：欧州食品安全機関
EMA	European Agency for the Evaluation of Medicinal Products：欧州医薬品審査庁
FDA	U.S. Food and Drug Administration：アメリカ食品医薬品局
FGF23	Fibroblast growth factor 23：線維芽細胞増殖因子 23
GRAS	Generally recognized as Safe:一般に安全とみなされる
HPLC	High Performance Liquid Chromatography：高速液体クロマトグラフ
LD ₅₀	Lethal Dose 50：半数致死量
LOQ	Limit of Quantitation：定量下限
MRL	Maximum Residue Levels：最大残留基準値
NDA	EFSA panel on dietetic products, Nutrition and allergies
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level：無毒性量
PTH	parathyroid hormone：副甲状腺ホルモン
Tmax	time-to-maximum concentration：最高血中濃度到達時間
TAR	Total Radioactivity：総放射活性

UL	Tolerable Upper Intake Level：許容上限摂取量
----	--------------------------------------

〈参照〉

1. 食品衛生法第 11 条第 3 項の規定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として厚生労働大臣が定める物質を定める件（平成 17 年厚生労働省告示第 498 号）
2. The Merck Index, 14th Edition, 2006
3. 岩波 生物学辞典 第 4 版、八杉龍一・小関治男・古谷雅樹及び日高敏隆、岩波書店、2002
4. 南山堂 医学大辞典、鈴木肇、南山堂、2004
5. ビタミン総合事典、日本ビタミン学会、朝倉書店、2011
6. 厚生労働省、日本人の食事摂取基準 [2020 年版]
7. EFSA: “Opinion of the scientific committee on food on the tolerable upper intake of vitamin D”, Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals, Scientific Committee on Food, Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. 2006
8. 動物医薬品検査所データベース <https://www.vm.nval.go.jp/>
9. 農水省、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令等の施行について、2016
10. DSM 株式会社：申請資料 抄録（25-ヒドロキシコレカルフェロール反芻動物への適用拡大について）
11. Commission Implementing Regulation (EU) 2017/1492
12. EFSA. Scientific Opinion on the safety and efficacy of vitamin D3 (cholecalciferol) as a feed additive for all animal species or categories based on a dossier submitted by Lohmann Animal Health GmbH1, EFSA Journal 2014;12(2):3568
13. 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 “Hy・D” (calcifediol), based on 25-hydroxylcholecalciferol/25-hydroxy-pre-cholecalciferol, as feed additive in accordance with Council Directive 70/524/EEC. The EFSA Journal, 2005, 224: 1-35.
14. 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.
15. FDA. Food Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe in Feed and Drinking Water of Animals: 25-Hydroxyvitamin D3. Federal Register. 2007, 72:12560.
16. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞

17. 食品安全委員会. 添加物評価書 25-ヒドロキシコレカルシフェロール、2022
18. 食品添加物公定書解説書 第8版、谷村顕雄及び棚元憲一、廣川書店、2007
19. FDA CDER: CLINICAL PHARMACOLOGY AND BIOPHARMACEUTICS REVIEW(S) (APPLICATION NUMBER: 208010Orig1s000), 2016
20. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
21. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
22. Martin Petkovich M, Melnick J, White J, Tabash S, Strugnell S, Bishop CW.: Modified-release oral calcifediol corrects vitamin D insufficiency with minimal CYP24A1 upregulation. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2015,148: 283-289.
23. Sommerfeldt JL, Napoli JL, Littledike ET, Beitz DC, Horst RL.: Metabolism of orally administered [3H]ergocalciferol and [3H]cholecalciferol by dairy calve. *J Nutr* 1983,113(12):2595-2600.
24. Horst RL, Littledike ET.: Assay for Vitamin D2 and Vitamin D3 in Plasma of Dairy Cows: Changes after Massive Dosing of Vitamin D3. *J Dairy Sci* 1979, 62:1746-1751.
25. Taylor MS, Knowlton KF, McGilliard ML, Seymour WM, Herbein JH. : Blood Mineral, Hormone, and Osteocalcin Responses of Multiparous Jersey Cows to an Oral Dose of 25-Hydroxyvitamin D3 or Vitamin D3 Before Parturition. *J. Dairy Sci.* 2008, 91:2408-2416.
26. Aranda-Osorio G, Olkowski AA, McAllister TA, Van Kessel A, McKinnon JJ. : Effect of supplementing high levels of vitamin D3 on calcium homeostasis of steers fed barley-based finishing diets. *Can. J. Anim. Sci.* 2004, 84: 81-89.
27. Hollis BW, Conrad HR, Hibbs JW. : Changes in plasma 25-hydroxycholecalciferol and selected blood parameters after injection of massive doses of cholecalciferol or 25-hydroxycholecalciferol in non-lactating dairy cows. *J Nutr.* 1977, 107(4):606-613. (ab)
28. Rodney RM, Celi P, McGrath JJ, Golder HM, Anderson ST, McNeill DM, Fraser DR, Lean IJ: Metabolic and production responses to calcidiol treatment in mid-lactation dairy cows. *Animal Production Science*. 2018, <https://doi.org/10.1071/AN16770>.
29. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, VITAMIN D, SUMMARY REPORT. 1998
30. A.Bar, M.Sharvit, D.Noff, S.Edelstein and S.Hurwitz: Absorption and excretion of cholecalciferol and of 25-hydroxycholecalciferol and metabolites in birds, *J. Nutr.* .1980; 110: 1930-1934
31. Schmid A, Walther B.: Natural Vitamin D Content in Animal Products.

Adv. Nutr. 2013, 4: 453–462.

32. Celia Pietro, 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.
33. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
34. Montgomery JL, Parrish FC Jr., Beitz DC, Horst RL, Huff-Loneragan EJ, Trenkle AH. : The use of vitamin D3 to improve beef tenderness. J. Anim. Sci. 2000. 78:2615-2621.
35. Montgomery JL, King MB, Gentry JG, Barham AR, Barham BL, Hilton GG, Blanton JR Jr, Horst RL, Galyean ML, Morrow KJ Jr, Wester DB, Miller MF. : Supplemental vitamin D3 concentration and biological type of steers. II. Tenderness, quality, and residues of beef. J. Anim. Sci. 2004. 82:2092–2104
36. Montgomery JL, Carr MA, Kerth CR, Hilton GG, Price BP, Galyean ML, Horst RL, Miller MF. : Effect of vitamin D3 supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. J. Anim. Sci. 2002. 80:971-981.
37. McDermott CM, Beitz DC, Littledike ET, Horst RL. : Effects of Dietary Vitamin D3 on Concentrations of Vitamin D and Its Metabolites in Blood Plasma and Milk of Dairy Cows. J Dairy Sci 1985, 68: 1959-1967.
38. Hollis BW, Roos BA, Draper HH, Lambert PW.: Vitamin D and its metabolites I human and bovine milk. J Nutr 1981, 111: 1240-1248.
39. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
40. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
41. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
42. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
43. K. Mortelmans, S. Haworth, T. Lawlor, W. Speck, B. Tainer and E. Zeiger: *Salmonella* Mutagenicity Tests: II. Results From the Testing of 270 Chemicals, Environmental Mutagenesis. 1986; Vol. 8, Supplement 7: 1-119
44. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
45. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
46. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
47. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
48. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
49. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
50. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
51. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞

52. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
53. DSM 株式会社：申請資料 社内資料＜非公表＞
54. N.K. Narang, R.C. Gupta and M. K. Jain: Role of Vitamin D in pulmonary tuberculosis, 1984, JAPI, Vol.32, No.2.
55. 厚生労働省：令和元年国民健康・栄養調査報告，2020(第 1 部 栄養素等摂取状況調査の結果)
56. 厚生労働省：令和元年国民健康・栄養調査報告，2020(第 2 部 身体状況調査の結果)
57. Dunlop et al:Vitamin D3 and 25-Hydroxyvitamin D3 Content of Retail White Fish and Eggs in Australia,2017,nutrients-09-00647
58. EFSA: Scientific opinion on the tolerable upper intake levels of vitamin D. EFSA panel on dietetic products, Nutrition and allergies(NDA). EFSA Journal 2012; 10(7):2813
59. EFSA: Scientific opinion on the safety and efficacy of vitamin D₃(cholecalciferol) as a feed additive for pigs, piglets, bovines, ovines, calves, equines chickens for fattening turkeys, other poultry, fish and other animal species or categories, based on a dossier submitted by Fermenta Biotech Ltd. EFSA panel on additives and products or substances used in animal feed(FEEDAP). EFSA Journal 2013; 11(7):3289
60. EFSA. SCIENTIFIC OPINION, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) : Dietary reference values for vitamin D. j.efsa.2016.4547.
61. CFR - Code of Federal Regulations Title 21.2020, Sec. 573.550 25-hydroxyvitamin D3.
62. CRN : J.N.Hathcock,Ph D . Summary of vitamin D. Vitamin and Mineral Safety 2nd Edition, Council for Responsible Nutrition, 2004