

(案)

飼料添加物評価書

Komagataella phaffii BSY-0007 株
を利用して生産されたフィターゼを
原体とする飼料添加物

令和5年（2023年）4月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目 次

	頁
○審議の経緯.....	2
○食品安全委員会委員名簿.....	2
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....	2
○要 約.....	3
I. 評価対象飼料添加物の概要.....	4
1. 用途.....	4
2. 原体の名称等.....	4
3. 原体の製造方法の概要.....	4
4. 賦形物質等.....	4
5. 対象飼料及び添加量.....	4
6. 使用目的及び使用状況.....	5
II. 安全性に係る知見の概要.....	6
1. 原体及び賦形物質等.....	6
(1) 原体の有効成分（組換え物質）に関する知見.....	6
(2) 原体の製造工程に関する知見.....	7
(3) 賦形物質等に関する知見.....	7
2. 原体の安全性に関する情報.....	8
(1) 遺伝毒性試験.....	8
(2) 急性毒性試験.....	8
(3) 亜急性毒性試験.....	8
(4) その他の試験.....	9
3. 残留試験.....	10
4. 家畜等における安全性試験.....	10
(1) 豚の耐容性試験.....	10
(2) 鶏の耐容性試験.....	11
(3) うずらの耐容性試験.....	11
(4) 豚及び鶏における飼養試験.....	12
III. 国際機関等における評価.....	13
1. 欧州における評価.....	13
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〉

- 2023年1月18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（4消安第5611号）、関係資料の接受
- 2023年1月24日 第886回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2023年3月16日 第186回肥料・飼料等専門調査会
- 2023年4月18日 第896回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（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〉

（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186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

飼料添加物である *Komagataella phaffii* BSY-0007 株を利用して生産されたフィターゼ（以下「A2P フィターゼ」という。）を原体とする飼料添加物について、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。

A2P フィターゼを原体とする飼料添加物には液状及び粉状製剤の 2 種類があり、推奨添加量は豚、鶏及びびうずら用飼料 1 kg 当たり 250 フィチン酸分解力単位（FTU）とされている。

食品安全委員会では、A2P フィターゼについて、遺伝子組換え飼料添加物の安全性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については、人の健康を損なうおそれはないと評価している。

遺伝毒性試験については、細菌を用いた *in vitro* 復帰突然変異試験及びマウス骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験が実施され、いずれも陰性であった。したがって、A2P フィターゼに遺伝毒性はないと判断した。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験では、投与に起因した毒性所見はみられず、NOAEL は最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日（フィターゼとして 300,000 FTU/kg 体重/日）と判断した。

本飼料添加物に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物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考えた。

本飼料添加物を用いた対象動物の安全性及び飼養試験の結果から、推奨添加量の 200 倍量を混餌投与しても耐容し、推奨添加量で使用された場合において、投与による異常はみられなかった。

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じて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. 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

原体：*Komagataella phaffii* BSY-0007 株が生産する 6-フィターゼ

有効成分：フィターゼ

酵素名：6-フィターゼ

myo-inositol-hexakisphosphate 6-phosphohydrolase

酵素番号：EC 3.1.3.26

CAS 番号：9001-89-2

(参照 1、2)

3. 原体の製造方法の概要

K. phaffii BG10 株を宿主とし、*Escherichia coli* B 株由来 *appA2* 遺伝子に変異を導入した遺伝子を宿主改変株の染色体へ導入したフィターゼ産生組換え体 (*K. phaffii* BSY-0007 株) を培養し、得られた培養液から菌体成分の除去等の処理を行った後、限外ろ過によって濃縮する。(参照 1、3)

4. 賦形物質等

本飼料添加物の剤形は、液状及び粉状（非コーティング製剤及びコーティング製剤）があり、以下の賦形物質等を加えて製造する。

(1) 液状製剤

原体に、安息香酸ナトリウムを加えた後、塩酸を用いて pH を調整し、グリセロール及び精製水を混合する。

(2) 粉状製剤

・非コーティング製剤：

原体に、小麦粉、 α -デンプンを加え、粉末化する。

・コーティング製剤：

原体に、小麦粉を加え、乾燥後、植物油及びグリセリン脂肪酸エステルでコーティング処理し、もみがらを加える。

(参照 1)

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、鶏及びうずら用飼料 1 kg 当たり 250 フィチン酸分解力単位 (FTU)¹とされている。

(参照 1)

¹ 1 フィチン酸分解力単位 (FTU) とは、フィターゼがフィチン酸に 37°C で作用する際、反応初期の 1 分間に 1 μ mol のリン酸を遊離させる酵素量に相当する。

6. 使用目的及び使用状況

フィターゼは、穀物等に含まれるフィチン酸²を分解して無機リン酸を遊離する酵素群の総称である。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位に、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 1)

反芻動物では消化管内に存在する微生物が生産するフィターゼにより、フィチン酸が分解されるが、豚等の単胃動物及び家畜ではフィターゼの活性が弱いことから、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。リンの必要量を充足するためには、無機リンを飼料に添加することで対応可能ではあるが、利用率が低いことから、糞便中へのリン排泄量も多くなり環境負荷の要因となる。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。

食品安全委員会は、農林水産省における飼料添加物の製造方法等の基準及び成分の規格等の設定に関し、2016年に *Schizosaccharomyces pombe* ASP595-1 株が生産する 6-フィターゼ、2018年に *Pichia pastoris* P-132 株等が生産する 2 種類のフィターゼ、2019年に *Aspergillus niger* LU17257 株が生産するフィターゼを原体とする飼料添加物について、「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 4~7)

国内における飼料添加物としてのフィターゼの使用については、1996年に *A. niger* を培養して得られたフィターゼが指定され、その後、現在(2023年3月)までに、7種類 14 製剤のフィターゼの使用が認められている。また、動物用医薬品としては、製造販売承認されていない。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として収載されている。(参照 8~11)

なお、海外では、フィターゼは EU を含む世界各国で飼料添加物又は食品添加物として使用されている。(参照 1、12)

今回の評価対象である *K. phaffii* BSY-0007 株を利用して生産されたフィターゼ(以下「A2P フィターゼ」という。)は、豚、鶏及びうずらの飼料に添加して使用される(250 FTU/kg 飼料)。既存のフィターゼ製剤に比べて耐熱性が優れており、配合飼料のペレット加工等における加熱処理による失活が少ないとされている(参照 13、14)。本飼料添加物は、米国及び EU で使用が認められている(参照 15)。

² *myo*-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis(dihydrogen phosphate) (CAS No. 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。

今般、Huvepharma Japan 社から農林水産省へ、A2P フィターゼを原体とする飼料添加物の指定について申請がなされたことに伴い、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に係る飼料一般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、本飼料添加物の原体である A2P フィターゼについては、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、当該遺伝子組換え飼料添加物の安全性に関して評価要請がなされ、2022 年 6 月に食品安全委員会は、「当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物については、人の健康を損なうおそれはないと判断した」と評価している。（参照 16）

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、飼料添加物指定審査用資料等を基に、A2P フィターゼを原体とする飼料添加物について、原体に関する情報（II. 1.（1）（2）及び 2.）及び本飼料添加物の安全性に関する情報（II. 1.（3）、3. 及び 4.）を、「酵素を有効成分とする飼料添加物の食品健康影響評価の考え方について」（令和 2 年 11 月 13 日肥料・飼料等専門調査会決定）に基づき整理し、評価した。

1. 原体及び賦形物質等

（1）原体の有効成分（組換え物質）に関する知見

本飼料添加物の原体である A2P フィターゼは、遺伝子組換え技術を利用して生産された酵素である。2022 年 6 月に食品安全委員会は、遺伝子組換え物質の観点から飼料添加物として利用された場合の食品を介した人への安全性について、次のとおり評価している。（参照 16）

「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）に基づき審議した結果、組換え体由来の新たな有害物質が生成され、肉、乳、卵等の畜産物中に新たな有害物質が移行する可能性、遺伝子組換えに由来する成分が畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性及び当該成分が家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が産生する可能性の有無を考慮して本飼料添加物の評価を行った結果、これらの可能性は考えられないことから、改めて「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）に準じて評価を行う必要はなく、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物については、人の健康を損なうおそれはないと判断した。」

（２）原体の製造工程に関する知見

原体の有効成分を含む培養上清について、安息香酸ナトリウムを用いた宿主菌の不活化処理後、沈殿処理を行い、遠心分離又はろ過を用いた細胞分離工程及び限外ろ過による濃縮工程により非酵素成分が除去されている。（参照 1）

（３）賦形物質等に関する知見

本飼料添加物の剤形には、液状及び粉状製剤があり、それぞれに以下の賦形物質等を加えて製造する。

① 液状製剤

液状製剤の製造では、安息香酸ナトリウム、塩酸、グリセロール及び水が使用されている。

安息香酸ナトリウムは、国内では食品添加物として使用されている。食品安全委員会においては飼料添加物として評価され、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されている。また、JECFA では安息香酸類についてグループ ADI が 0～5 mg/kg 体重/日と設定されている。塩酸は、食品安全委員会において動物用ワクチンの添加剤として評価が行われ、国際機関等において ADI の設定は不要とされている成分として食品健康影響は無視できる程度と評価されている。また、食品添加物としても使用されている。グリセロールは食品添加物として使用されている。（参照 1、17～19）

② 粉状製剤

粉状製剤には、非コーティング製剤とコーティング製剤が存在する。

・非コーティング製剤

非コーティング製剤の製造では、小麦粉及び α -デンプンが使用されている。

小麦粉は日本食品標準成分表に掲載されている食品であり、デンプンは食品として通常摂取されている成分である（参照 20）。また、小麦粉及び α -デンプンについて、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 21）。

・コーティング製剤

コーティング製剤の製造では、小麦粉、植物油（植物性油脂）、グリセリン脂肪酸エステル及びもみがらが使用されている。

グリセリン脂肪酸エステルは食品添加物（指定添加物）として使用されている（参照 18）。

小麦粉、植物性油脂及びもみगरらについて、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 21）。

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本飼料添加物に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物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考えた。

2. 原体の安全性に関する情報

(1) 遺伝毒性試験

A2P フィターゼの遺伝毒性試験結果を表 1 に示した。

表 1 A2P フィターゼの遺伝毒性試験結果

試験		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>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	16、50、160、500、 1,600、5,000 µg/plate (±S9) (標準プレート法及びブ レインキュベーション 法)	陰性	1、22
<i>in vivo</i>	小核試験	雄 NMRI 系マウス (骨髄細胞)	500、1,000、2,000 mg/kg 体重 (24 時間間隔 で 2 回強制経口投与)	陰性	1、23

注：±S9：代謝活性系存在下及び非存在下

in vitro 復帰突然変異試験及び *in vivo* 小核試験が実施され、結果はいずれも陰性であった。

以上の結果から、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、A2P フィターゼに遺伝毒性はないと判断した。

(2) 急性毒性試験

ラットにおける、A2P フィターゼの急性毒性試験結果を表 2 に示した。

表 2 A2P フィターゼ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 (Fischer 系)	雄 6 匹/群	単回強制経口 投与	>20,000 mg/kg 体重 (フィターゼとして 3,000,000 FTU/kg 体重以上)	1、24

(3) 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 週齢、平均体重：雄 328 g、雌 208.2 g、雌雄各 10 匹/群) に A2P フィターゼ (フィターゼとして 300,000 FTU/g、水に懸濁) を、

90日間強制経口投与（0、100、500及び1,000 mg/kg 体重（フィターゼとして30,000、150,000及び300,000 FTU/kg 体重））する亜急性毒性試験が実施された。また、対照群及び1,000 mg/kg 体重投与群では、投与終了後14日間休薬し一般状態等を観察する回復試験群（雌雄各5匹/群）を別途設けた。

一般状態、体重、摂餌量等を調べるとともに、初回投与前及び投与終了時並びに回復期間終了時の各時点で眼科的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量測定及び剖検が実施され、対照群及び1,000 mg/kg 体重投与群については病理組織学的検査が実施された。

試験期間を通し、死亡例はなく、一般状態、体重、摂餌量に投与による毒性影響はみられなかった。その他 OECD ガイドライン No.408 に基づき実施された各検査項目及び病理組織学的検査においても投与による毒性影響はみられなかった。なお、試験投与群又は回復試験群においてみられた一部の血液学的検査、血液生化学的検査又は尿検査における統計学的に有意な変化は、背景データの範囲内であるか、用量依存性や関連する臨床検査値の変動がない変化であった。（参照 1、25）

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験で被験物質の投与に起因した毒性所見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 300,000 FTU/kg 体重/日）と判断した。

（4）その他の試験

① 眼刺激性試験

OECD ガイドライン No.438 に基づき、鶏摘出眼球（肉用鶏、Ross 308、3個/群、陰性対照群:1個）に A2P フィターゼを 10 秒間適用（300,000 FTU/g（A2P フィターゼ 0.03 g に相当））後、室温の生理食塩水で洗浄し、洗浄 30～240 分後における眼球への影響について調べた。

洗浄 240 分後の A2P フィターゼによる角膜混濁度、腫脹度及びフルオレセイン染色度はいずれも ICE クラス II であり、鶏摘出眼球に対し腐食性を示さなかった。（参照 1、26）

② 皮膚刺激性試験

OECD ガイドライン No.439 に基づき、再構築ヒト表皮モデル（EpiSkin™ SM キット）に A2P フィターゼを適用（300,000 FTU/g、10 mg、15 分間）後洗浄し、42 時間培養後、細胞毒性を調べた。

42 時間培養後の A2P フィターゼ群の細胞生存率に陰性対照群と比較して有意な低下はみられず、細胞生存率（陰性対照比）は平均 84% であり、陰性と判定する基準である 50% 以上であった。報告者は A2P フィターゼについて、皮膚刺激性を有さないとしている。（参照 1、27）

③ 皮膚感作性試験

OECD ガイドライン No.429(局所リンパ節試験)に基づき、マウス(CBA/Ca系、雌、体重 17.8~21.6 g、4 匹/群)の耳背部に A2P フィターゼ (300,000 FTU/g) を塗布 (25 μ L、24 時間間隔、3 回) し、耳介リンパ節における細胞増殖活性を調べた。

A2P フィターゼ群では陰性対照群と比較し、有意な耳介リンパ節の増殖細胞数の増加がみられ、刺激指数が 3 以上であったことから、報告者は A2P フィターゼについて皮膚への感作性を有するとしている。(参照 28)

3. 残留試験

残留試験は実施されていないが、胃液及び腸液の A2P フィターゼに対する影響に関する *in vitro* 試験が実施されている。

(1) A2P フィターゼの消化試験<参考資料³>

A2P フィターゼ (30 μ L、6,500 FTU/mL) に人工胃液 (pH 1.2、1 mL (ペプシン 3.2 mg/mL 含有)) 又は人工腸液 (pH 6.8、1 mL (パンクレアチン 10 mg/mL 含有)) を加え、37°C で最大 60 分間培養後、SDS-PAGE で分解度を解析した。A2P フィターゼは、人工胃液中では処理後 60 分間持続的に存在したが、人工腸液では処理 2 分後で完全に分解された。

報告者は、A2P フィターゼは腸液内で迅速に消化されるとしている。(参照 1)

4. 家畜等における安全性試験

(1) 豚の耐容性試験

① 豚

豚 (ランドレース×デュロック交雑種、28 日齢、平均体重 6.97 kg、雌雄各 2 頭×21 区画/群) に、本飼料添加物を基礎飼料に添加し、42 日間混餌投与 (0、500、50,000 FTU/kg 飼料 [本飼料添加物の推奨添加量の 2 又は 200 倍] (それぞれ 0、21.0、2,095.0 FTU/kg 体重/日相当)) した。

試験期間中の健康状態、体重、摂餌量及び飼料要求率を調査した。

投与期間を通し、本飼料添加物の添加による健康状態への影響はみられなかった。50,000 FTU/kg 飼料投与群において投与期間を通じた飼料要求率に統計学的に有意な低値がみられたが、その他の検査項目 (体重増加量及び摂餌量) には 50,000 FTU/kg 飼料の投与でも影響はみられなかった。(参照 29、30)

② 豚

豚 (トピッグス GY×ランドレース交雑種、初産又は経産豚、18 頭/群) に、

³ 本試験は人工胃液又は人工腸液を用いたモデル試験であることから参考資料とした。

本飼料添加物を約 21 週間（妊娠期：約 114 日、哺乳期：約 26 日、児離乳後から次の発情期まで：約 5 日）混餌投与（500 又は 50,000 FTU/kg 飼料）した。また、対照群（低リン含有飼料（妊娠期：4.0 g/kg 飼料、哺乳期：4.8 g/kg 飼料））及び陽性対照群（リン追加添加飼料（妊娠期：5.2 g/kg 飼料、哺乳期：6.6 g/kg 飼料））を設けた。

母親豚の一般状態、体重、妊娠中及び哺乳中の摂餌量、哺乳中の背脂肪厚、産児数及び離乳から発情までの間隔並びに哺育児の死亡率並びに出生時体重及び離乳時体重を測定した。母親豚及び哺育児について、投与による異常はみられなかった。（参照 30）

（2）鶏の耐容性試験

① 鶏

肉用鶏（Ross 308、1 日齢、平均体重 42.2 g、15 羽×26 区画/群）に、本飼料添加物を基礎飼料に添加し、35 日間混餌投与（0、500、50,000 FTU/kg 飼料（それぞれ 0、39.2、3,885.2 FTU/kg 体重/日に相当））した。

一般状態、体重増加量、摂餌量、飼料要求率等を測定し、対照群と比較した。

試験期間中に死亡例がみられたが、対照群（11 羽）、500 FTU/kg 飼料投与群（8 羽）、50,000 FTU/kg 飼料投与群（6 羽）であり、用量相関性はなかった。（参照 31、32）

② 鶏

卵用鶏（Dekalb white 種、20 週齢、14～15 羽×15 区画/群）に、本飼料添加物を 56 日間混餌投与（0、500、50,000 FTU/kg 飼料）した。

死亡率、産卵率、体重、摂餌量、飼料要求率等を測定し、基礎飼料（総リン含量：5.8 g/kg 飼料、消化性リン：3.2 g/kg 飼料、Ca：37 g/kg 飼料）のみを投与した対照群と比較した。

投与群について、対照群と比べ、投与による異常はみられなかった。（参照 33）

（3）うずらの耐容性試験<参考資料⁴>

本飼料添加物を用いた飼養試験は実施されていないが、フィターゼ（150～2,400 FTU/kg）をうずらに 45 日間混餌投与した試験では、投与による健康状態への異常はみられないとしている。（参照 1、34）

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、対象動物は本飼料添加物の推奨添加量の 200 倍量の添加まで耐容すると考えた。

⁴ 本飼料添加物を用いた試験でないため、参考資料とした。

(4) 豚及び鶏における飼養試験

豚及び鶏（肉用鶏、卵用鶏）を用いて、本飼料添加物の有効性を確認するための飼養試験が実施されている。飼養試験の概要を表3に示した。

推奨添加量（250 FTU/kg 飼料）のA2P フィターゼの投与の結果、試験期間中に投与による異常は報告されていない。

表3 対象動物を用いた飼養試験の概要

動物種	品種、日齢、体重等	性別、群	投与量	投与期間	参照
豚	ポーリッシュ交雑種、33日齢、9.95 kg	去勢雄、12頭/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	42日間	30
	ピエトレン×Ra-Se交雑種、28日齢、8.6 kg	雄、6頭/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	42日間	30
	トピッグス20×ピエトレン交雑種、28日齢、7.0 kg	去勢雄・雌各3頭×10～11区画/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	42日間	30
	ピエトレン×Ra-Se交雑種、28日齢、8.2 kg	去勢雄・雌、各5頭×3区画/群	0、125、250、500、1,000 FTU/kg 飼料	42日間	35
	デュロック×大ヨークシャー×ランドレース交雑種、80日齢、31.7±5.06 kg	雄・雌、各9頭×7区画/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	90日間	30
	交雑種、70日齢、24 kg	雄、3頭×5区画/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	105日間	30
	ピエトレン×大ヨークシャー×ランドレース交雑種、77日齢、25 kg	雄・雌、各12頭×8区画/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	83日間	30
	ダンブレッド種、2～6産経産豚	雌（妊娠）、10頭/群	0、250、500 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	産前14日～哺育児の離乳（24日齢）	30

動物種	品種、日齢、体重等	性別、群	投与量	投与期間	参照
	大ヨークシャー×ランドレース交雑種、2～8産経産豚	雌（妊娠）、12～13頭/群	0、250、500 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	産前14日～哺育児の離乳（28日齢）	30
	ランドレース×大ヨークシャー交雑種、1～8産経産豚	雌（妊娠）、17頭/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	産前35日～哺育児の離乳（21日齢）	30
	交雑種、1～9産経産豚	雌（妊娠）、12～13頭/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	産前38日～哺育児の離乳（35日齢）	30
鶏（肉用鶏）	Ros308、1日齢	雄、1回目：150羽/群、2回目：132羽/群、3回目：120羽/群	0、250、500 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	1回目：28日間、2、3回目：30日間	31
鶏（卵用鶏）	イサ・ブラウン、175日齢、1,776kg	雌、2羽×22区画/群	0、250、500 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	84日間	33、36
	ハイライン・ブラウン、154日齢	雌、2羽×32区画/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	84日間	33
	ローマン・ブラウン、210日齢	雌、1羽×12区画/群	0、250 FTU/kg 飼料及び陽性対照群	42日間	33

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. 欧州における評価

EFSAでは、A2P フィターゼの豚及び鶏に対する推奨添加量（250 FTU/kg 飼料）の投与による飼養試験の結果、体重増加、リンの消化率、骨灰分含量等の向上に効果を示すとともに、投与に起因する異常がみられなかったことから、推奨添加量の範囲内での豚、鶏その他の全ての家きん類及び鑑賞鳥類への適用について、安全性への懸念はないとしている。（参照 30、31、33）

また、EU では A2P フィターゼを原体とする製剤について、2020 年に全ての家きん類、鑑賞鳥類及び豚用飼料添加物として承認している。(参照 1、37)

IV. 食品健康影響評価

K. phaffii BSY-0007 株を利用して生産されたフィターゼ（A2P フィターゼ）を原体とする飼料添加物には液状及び粉状製剤の 2 種類があり、推奨添加量は豚、鶏及びうずら用飼料 1 kg 当たり 250FTU とされている。

食品安全委員会では、A2P フィターゼについて、遺伝子組換え飼料添加物の安全性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については、人の健康を損なうおそれはないと評価している。

遺伝毒性試験については、細菌を用いた *in vitro* 復帰突然変異試験及びマウス骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験が実施され、いずれも陰性であった。したがって、A2P フィターゼに遺伝毒性はないと判断した。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験では、投与に起因した毒性所見はみられず、NOAEL は最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日（フィターゼとして 300,000 FTU/kg 体重/日）と判断した。

本飼料添加物に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物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考えた。

本飼料添加物を用いた対象動物の安全性及び飼養試験の結果から、推奨添加量の 200 倍量を混餌投与しても耐容し、推奨添加量で使用された場合において、投与による異常はみられなかった。

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じて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 Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FTU	Phytase unit：フィチン酸分解力単位
EU	European Union：欧州連合
JECFA	FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives： FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	50% Leathal Dose：半数致死量
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level：無毒性量
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development：経済協力開発機構
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis：ポリアクリルアミドゲル電気泳動

<参照>

1. Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 抄録<非公表>
2. Pubchem.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/135360712>
3. 農林水産省. 組換え DNA 技術応用飼料添加物の安全性確認「*Komagataella phaffii* BSY0007 株を利用して生産されたフィターゼ」, 2022
4. 食品安全委員会. *Schizosaccharomyces pombe* ASP595-1 株が生産する 6-フィターゼ (第 2 版), 2016
5. 食品安全委員会. *Komagataella pastoris* (*Pichia pastoris*) P-132 株が生産するフィターゼを原体とする飼料添加物, 2018
6. 食品安全委員会. *Trichoderma reesei* Morph Δ E8 BP17 4c 株が生産するフィターゼを原体とする飼料添加物, 2018
7. 食品安全委員会. *Aspergillus niger* LU17257 株が生産する 6-フィターゼを原体とする飼料添加物, 2019
8. 農林水産省. 飼料添加物の効果安全性について (案) フィターゼ 2016
9. 農林水産省. 飼料料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令 (昭和五十一年七月二十四日農林省令第三十五号)
10. 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」
11. 公益財団法人 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 (2020 年 2 月 26 日)
12. JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): 3-Phytase from *Aspergillus niger* expressed in *Aspergillus niger*. Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 67, 2012
13. Huvepharma Japan 株式会社: 飼料添加物指定審査用資料 参考文献 3<非公表>
14. Huvepharma Japan 株式会社: 飼料添加物指定審査用資料 参考文献 4<非公表>
15. 農林水産省, 飼料添加物の効果安全性について (案): *Komagataella phaffii* BSY -0007 株を利用して生産されたフィターゼ, 2022
16. 遺伝子組換え食品等評価書. *Komagataella phaffii* BSY0007 株を利用して生産されたフィターゼ, 2022
17. 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.
18. 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)
19. 食品安全委員会 動物用ワクチンの添加剤の食品健康影響評価
20. 文部科学省. 日本食品標準成分表 2020 年版 (八訂)
21. 食品安全委員会. 「食品健康影響評価について (回答)」 (平成 24 年 4 月 5 日付け府食第 342 号)

- 22.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 6<
非公表>
- 23.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 7<
非公表>
- 24.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 4<
非公表>
- 25.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5<
非公表>
- 26.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 8<
非公表>
- 27.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 9<
非公表>
- 28.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 10<
非公表>
- 29.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 12<
非公表>
- 30.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 参考文献 7<
非公表>
- 31.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 参考文献 5<
非公表>
- 32.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 11<
非公表>
- 33.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 参考文献 6<
非公表>
- 34.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 参考文献 19<
非公表>
- 35.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 参考文献 17<
非公表>
- 36.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 3<
非公表>
- 37.Huvepharma Japan 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 参考文献 8<
非公表>