

(案)

対象外物質※評価書

発芽スィートルーピン 抽出たんぱく質

令和5年（2023年）10月

食品安全委員会農薬第四専門調査会

※ 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.....	3
○ 食品安全委員会農薬第四専門調査会専門委員名簿.....	3
○ 要 約.....	5
I. 評価対象農薬の概要.....	6
1. 用途.....	6
2. 有効成分の一般名.....	6
3. 化学名.....	6
4. アミノ酸配列.....	6
5. 分子量.....	6
6. 構造式.....	6
7. 物理的・化学的性状.....	6
8. 開発の経緯等.....	7
II. 安全性に係る知見の概要.....	8
1. 吸収・分布・代謝・排泄.....	8
2. 毒性に関する知見.....	8
(1) 急性毒性試験.....	8
(2) 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験.....	8
(3) 90日間亜急性毒性試験（ラット）.....	9
(4) 21日間亜急性経皮毒性試験（ラット）.....	9
(5) 慢性毒性試験（ラット）＜参考資料＞.....	10
(6) 3世代繁殖試験（ラット）＜参考資料＞.....	10
(7) 遺伝毒性試験.....	10
3. 残留性について.....	11
(1) 植物代謝について.....	11
(2) 作物残留試験.....	12
(3) 希釈液への浸漬による薬液付着量測定試験＜参考資料＞.....	12
4. その他.....	13
(1) たんぱく質分解酵素による加水分解試験.....	13
(2) 土壌中及び水中動態試験.....	13
(3) 生分解性試験.....	13
(4) イムノブロット試験.....	14
5. 国際機関等における評価の概要.....	14
(1) 米国環境保護庁（EPA）における評価.....	14

(2) 欧州委員会 (EC) 及び欧州食品安全機関 (EFSA) における評価.....	15
(3) オーストラリア農薬・動物用医薬品局 (APVMA) における評価.....	16
(4) カナダ保健省 (Health Canada) における評価	16
III. 食品健康影響評価.....	17
・ 別紙 1 : 検査値等略称.....	18
・ 別紙 2 : 作物残留試験成績 (海外)	19
・ 参照.....	22

＜審議の経緯＞

- 2021 年 2 月 12 日 農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び
基準値設定依頼（新規：トマト、ミニトマト等）
- 2023 年 3 月 8 日 厚生労働大臣から食品衛生法第 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
省発生食 0308 第 5 号）
- 2023 年 3 月 9 日 関係書類の接受（参照 1～15）
- 2023 年 3 月 14 日 第 893 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2023 年 3 月 17 日 追加資料受理（参照 28～31）
- 2023 年 4 月 17 日 第 23 回農薬第四専門調査会
- 2023 年 6 月 15 日 追加資料受理（参照 35～40）
- 2023 年 7 月 26 日 追加資料受理（参照 41～46）
- 2023 年 8 月 10 日 第 25 回農薬第四専門調査会
- 2023 年 10 月 10 日 第 916 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

＜食品安全委員会農薬第四専門調査会専門委員名簿＞

（2022 年 4 月 1 日まで）

小野 敦（座長）	楠原洋之	中山真義
佐藤 洋（座長代理）	小林健一*	納屋聖人
石井雄二	杉原数美	藤井咲子
太田敏博	永田 清	安井 学

*：2023 年 9 月 30 日まで

＜第 23 回農薬第四専門調査会専門参考人名簿＞

高木篤也（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部 主任研究官）
本多一郎（前橋工科大学工学部情報・生命工学群教授）

<第 25 回農薬第四専門調査会専門参考人名簿>

安達玲子（食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

高木篤也（元国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部 動物
管理室長）

本多一郎（前橋工科大学工学部情報・生命工学群教授）

要 約

殺菌剤「発芽スイートルーピン抽出たんぱく質」（CAS No. 1219521-95-5）について、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）として定めることについて、各種資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

各種毒性試験の結果から、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の投与によるラットを用いた急性毒性試験における LD₅₀ 値は 5,000 mg/kg 体重超、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における無毒性量は 500 mg/kg 体重/日であった。遺伝毒性試験の結果、生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は天然に存在する種子貯蔵たんぱく質の構成成分であり、農薬として使用した場合でも自然界において微生物等により急速に分解され、農作物への残留性が低く、また、仮に摂取したとしても動物の腸管に存在するトリプシン等のたんぱく質分解酵素によって速やかに分解されることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の吸収は極めて低いと考えられる。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のアレルゲン性について、使用基準の範囲で農薬として使用した場合の農作物への残留は低いこと、トリプシン等のたんぱく質分解酵素により速やかに分解されること及び海外におけるこれまでの使用実績の中でアレルギー反応の報告がないことを総合的に考察して、人においてアレルギー反応が誘発される可能性は低いと考えられる。

ただし、今後新たな情報が得られた場合は、更なる議論が必要となる可能性があるため、引き続き情報収集を行うことが重要である。

以上のことから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は、農薬として想定しうる使用方法に基づき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がないことが明らかであると考えられる。なお、原体混在物について規格で規定された範囲内で管理されることを前提として判断したものである。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺菌剤

2. 有効成分の一般名¹

和名：発芽スイートルーピン抽出たんぱく質

英名：BLAD

3. 化学名

IUPAC

和名：なし

英名：なし

CAS (No. 1219521-95-5)

和名：なし

英名：なし

4. アミノ酸配列

RRQRNPYHFSSQRFQTLYKNRNGKIRVLERFDQRTNRLLENLQNYRIVE
FQSKPNTLILPKHSDADYVLVVLNGRATITIVNPDRRQAYNLEYGDALR
IPAGSTSYILNPDDNQKLRVVKLAIPINNPgyfydfypsSTKDQQSYFSG
FSRNTLEATFNTRYEEIQRILGNED

5. 分子量

20,408.95

6. 構造式

省略

7. 物理的・化学的性状

融点 : —

沸点 : —

密度 : —

外観(色調及び形状)、臭気 : 白色粉末、無臭(90% w/w)

¹ 原体には発芽スイートルーピン抽出たんぱく質が 20%含まれている。英名の BLAD は、ポルトガル語「Banda de *Lupinus albus* doce」（訳： *Lupinus albus* のスイート種の電気泳動のバンド）の頭文字に由来する。なお、米国生物工学情報センターが提供する GenBank においても「BLAD」として登録されている。

水溶解度	: -
オクタノール/水分配係数	: -
解離定数	: -

- : 複雑な構造を有するたんぱく質であり、試験が実施されていない。

8. 開発の経緯等

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は 1991 年に CEV 社（ポルトガル）により発見された殺菌剤であり、食用及び飼料用として用いられているマメ科植物のスイートルーピン (*Lupinus albus*)²の発芽種子から抽出して得られる 173 個のアミノ酸残基からなる約 20 kDa のポリペプチドである。本成分は植物中の貯蔵たんぱく質である β -コングルチン³を構成するサブユニットの一つで、種子発芽後に β -コングルチンから分離され、子葉中に存在している。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の殺菌剤としての作用機構はまだ十分明らかとなっていないが、酵母を用いた研究において、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質が細胞膜の糖たんぱく質への非特異的な高い親和性を有し、細胞細孔の閉塞によると考えられる細胞死をもたらすことが確認されている。また、ぶどううどんこ病菌 (*Uncinula necator*) を用いた研究結果から、*N*-acetylglucosaminidase 活性による細胞壁のキチン質の分解作用が確認されている。

海外では、米国、EU、豪州等で農薬登録されている。

今回、農薬取締法に基づく農薬登録申請（新規：トマト、ミニトマト等）がなされ、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、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質を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）として定めることについて、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、厚生労働大臣から食品安全委員会に食品健康影響評価の要請がなされた。

² ルーピンは豪州、欧州等においては長い食経験を有するが、日本では一般に食用とされておらず、食用目的では醤油製造の原料として輸入されているのみである。また、ルーピンは飼料用としても豪州等から輸入されており、飼料の公定規格が設定されている。豪州、欧州等では食用目的で利用されるルーピン中のアルカロイド (lupanine 等) 含有量について、基準値 (200 mg/kg) が設定されており、日本に食用目的で輸入されるルーピンは、その基準値以下となるよう品種改良された豪州産スイートルーピンである。本剤の製造に用いられるスイートルーピンは、上記のアルカロイド含有量の基準値を満たす品種のみが用いられており、原体中のアルカロイド含有量は製造過程で更に減少する。

³ グロブリンはマメ類種子の主要な貯蔵たんぱく質であり、沈降係数 7S (150~200 kDa) 及び 11S (300~450 kDa) の 2 つの部分から構成される。7S は vicilin 型グロブリン、11S は legumin 型グロブリンと呼ばれ、 β -コングルチンは vicilin 型グロブリンに該当する。（参照 2）

II. 安全性に係る知見の概要

各種試験成績、海外の評価機関（EPA、EFSA、APVMA 等）の評価書等を基に、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質に関する科学的知見を整理した。

検査値等略称は別紙 1 に示されている。

1. 吸収・分布・代謝・排泄

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質は、原料であるスイトルーピン（*Lupinus albus*）の構成成分として存在しており、スイトルーピンは海外において食品等に広く利用されていることから、吸収、分布、代謝及び排泄の試験は実施されていない。

2. 毒性に関する知見

（1）急性毒性試験

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質（原体）のラットを用いた急性毒性試験が実施された。

結果は表 1 に示されている。（参照 2、4～6）

表 1 急性毒性試験結果概要

投与経路	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口 ^{a、b}	SD ラット 雌 3 匹	/	>5,000	投与量：5,000 mg/kg 体重 体重減少(1 例、投与後 7～14 日) 死亡例なし
経皮 ^b	SD ラット 雌雄各 5 匹		>2,000	雌雄：赤い鼻汁 雌：体重減少(1 例) 死亡例なし
吸入 ^c	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		雌雄：異常呼吸、活動低下及び体重減少 死亡例なし
		>5.34	>5.34	

/：該当なし

a：上げ下げ法による評価。

b：被験物質は原液のまま投与された。

c：4 時間ばく露（エアロゾル）

（2）眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質（原体）の NZW ウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、軽度の眼刺激性（角膜混濁及び結膜炎）及び軽度の皮膚刺激性（紅斑及び浮腫）が認められた。

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法）が実施され、結果

は陰性であった。（参照 2、3、7～9）

（3）90 日間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、250、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日⁴）による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例で、脳〔背側中脳（上丘）及び延髄〕及び脊髄（前後角）空胞化が認められた。所見の程度は軽微～軽度で、両側対称性に認められた⁵。空胞形成に伴う炎症細胞浸潤又は炎症性変化は認められず、一般状態の変化や FOB に検体投与による影響は認められなかった。当該所見は切片作成における固定作業が不完全であったことに起因するアーティファクトの可能性が考えられたが、ほかに人工的变化は認められず、両側対称性の分布であること、本試験に用いられたほかの個体及び試験実施施設における Wistar ラットの背景データで同所見が認められていないことから、投与による影響の可能性も否定できず、食品安全委員会農薬第四専門調査会は毒性所見と判断した。

本試験において、雄ではいずれの投与群においても毒性所見は認められず、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で脳及び脊髄空胞化が認められたことから、無毒性量は雄で本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日、雌で 500 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、10）

（4）21 日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた経皮投与（原体：0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、6 時間/日）による 21 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。本試験において、皮膚及び腎臓の病理組織学的検査は、対照群及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群でのみ実施された。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で投与部位の過角化が認められ、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で投与部位の紅斑及び痂皮が認められた。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で腎硝子滴沈着⁶の程度増強が認められた。

本試験において、いずれの検体投与群においても投与部位の紅斑及び痂皮が認められたことから、皮膚の局所作用に対する無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。（参照 2、11）

⁴ 希釈されずに原液のまま投与された。

⁵ 本試験では透過型電子顕微鏡を用いた確認は行われていない。

⁶ 近位尿細管上皮細胞における好酸性細胞質封入体として認められた。免疫染色による確認は実施されていない。

（５）慢性毒性試験（ラット）＜参考資料⁷＞

雄 Hooded-Lister ラットにルーピン（*Lupinus angustifolius*）を 320 g/kg 飼料の濃度で 700 又は 800 日間混餌投与した結果、毒性所見や体重への影響は認められず、検体投与により発生頻度の増加した腫瘍性病変は認められなかったと EPA において評価されている。なお、ルーピンを 700 日投与したオリジナルの論文では盲腸及び結腸の肥大が報告されている。いずれにしても、これらの試験では病理組織学的検査が実施されていないことから、食品安全委員会農薬第四専門調査会は慢性毒性の影響評価には不十分であると判断した。（参照 17、18、32、33）

（６）３世代繁殖試験（ラット）＜参考資料⁸＞

Wistar ラット（一群雌雄各 20 匹）にルーピン（*Lupinus albus*）粉由来のたんぱく質を混餌投与（7～35.4 g たんぱく質/kg 体重/日）して、３世代繁殖試験が実施された。

第 2 及び 3 世代の動物で雌雄とも肝臓の比重量の減少が認められたが、病理組織学的変化は認められなかった。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 17、18、34）

（７）遺伝毒性試験

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質（原体）の細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞（L5178Y）を用いた遺伝子突然変異試験（マウスリンフォーマ TK 試験）、ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験及びラットを用いた *in vivo* コメット試験が実施された。

結果は表 2 に示されている。

当該遺伝毒性試験を用いて、たんぱく質の遺伝毒性の評価を行うことは難しいが、原体を用いた試験結果において、マウスリンフォーマ TK 試験の代謝活性化系存在下で陽性の結果が得られたことについては、ラットを用いた *in vivo* コメット試験では陰性の結果であり、原体について生体における DNA 損傷性はないと考えられた。また、ほかの試験は陰性であったことから、これらの結果を総合的に判断し、生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 2、12～15）

⁷ 被験物質が原体と同一であるか不明であること、1 用量で実施された試験であること、病理組織学的検査が実施されていないことから、参考資料とした。

⁸ 被験物質が原体と同一であるか不明であること、1 用量で実施された試験であること、繁殖能に対するデータが限定的であることから、参考資料とした。

表 2 遺伝毒性試験結果概要

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
in vitro	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株)	16～5,000 μg /プレート(+/-S9)	陰性
	マウスリンフォーマ TK 試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ^{+/+})	①500～2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 150～900 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9) ②600～2,500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 300～1,200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9) (いずれも 3 時間処理)	陽性 ^a
	小核試験	ヒト末梢血リンパ球	①800～2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+/-S9) (3 時間処理、21 時間培養後に標本作製) ②200～1,600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) (24 時間処理、24 時間培養後に標本作製)	陰性
in vivo	コメット試験	Wistar Hannover ラット (胃) (一群雄 6 匹)	500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日 (21 時間間隔で 2 回強制経口投与、最終投与 3 時間後に標本作製)	陰性

注) +/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

^a：代謝活性化系存在下の 900～1,200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で、染色体異常誘発性（小コロニーの増加）のメカニズムによる突然変異体発現頻度の増加が認められた。

3. 残留性について

(1) 植物代謝について

① ぶどう及びトマト

ぶどう及びトマトに発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の用量が 0.4 mg/mL になるよう調整した水溶液を散布して、植物代謝試験が実施された。処理 18 時間後に、ぶどうでは葉、トマトでは果皮が試料としてそれぞれ採取された。

試料の抽出液を電気泳動した結果、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のバンドは認められなかったことから、ぶどう（葉）及びトマト（果皮）において、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は処理後 18 時間で完全に代謝又は分解されたと考えられた。（参照 23、24、36）

② いちご及びトマト

海外（米国）における作物残留試験〔3.(2)②〕のいちご及びトマトの分析値を用いて、各作物における発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の半減期が算出された。

通常薬量処理区においては、いずれも定量限界未満であったことから、半減期は算出されなかった。5 倍薬量処理区においては、いちご及びトマトにおける発

芽スイートルーピン抽出たんぱく質の半減期はいずれも 2 日と算出された。(参照 20、29)

(2) 作物残留試験

① 国内

国内における作物残留試験は実施されていない。

② 海外(米国)

野菜及び果樹に米国での通常薬量又は 5 倍薬量を処理し、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質⁹を分析対象化合物とした作物残留試験¹⁰が実施された。

結果は別紙 2 に示されている。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は、通常薬量処理区ではいずれの試料においても定量限界(抽出液における残留値: 0.02、試料重量当たりの残留値: 0.4 mg/kg)又は検出限界(抽出液における残留値: 0.005、試料重量当たりの残留値: 0.1 mg/kg)未満であった。5 倍薬量処理区では、いちごで最終処理当日及び 1 日後に 0.492~0.558 mg/kg の残留が認められたが、最終処理 3 日後以降の試料では定量限界(0.4 mg/kg)未満であり、いちご以外の作物(トマト、きゅうり、りんご、おうとう及びぶどう)では、いずれの試料においても定量限界又は検出限界未満であった。

なお、トマト、きゅうり及びいちごにおける処理量は、通常薬量処理区で 792~873 g ai/ha、5 倍薬量処理区で 3,950~4,210 g ai/ha であり、日本での登録に当たり申請された使用方法是 1,260~2,510 g ai/ha と算出される。(参照 2、28、37、38)

(3) 希釈液への浸漬による薬液付着量測定試験<参考資料¹¹>

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質製剤の 300 倍希釈液を用いて、果菜類(きゅうり、トマト及びピーマン)、葉菜類(キャベツ及び小松菜)、未成熟豆類(さやえんどう)及び果樹類(ぶどう)の可食部を浸漬処理して、薬液の平均付着量が測定された。

各作物への薬液平均付着量は表 3 に示されている。

⁹ ELISA 法を用いて分析。

¹⁰ 発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の残留特性を明らかにすることを目的として実施された試験であり、残留基準値設定を目的として実施されたものではない。

¹¹ 本試験は申請されている使用方法のうち、最も高濃度である製剤の 300 倍希釈液を用いて実施されたが、申請された使用方法是散布であること、付着した農薬製剤中の発芽スイートルーピン抽出たんぱく質が全て作物中に残留するわけではないことから、残留性を評価することはできないため、参考資料とした。

表 3 各作物への薬液平均付着量

作物		付着量(g/g)
果菜類	きゅうり	0.0053
	トマト	0.0043
	ピーマン	0.0149
葉菜類	キャベツ	0.0837
	小松菜	0.102
未成熟豆類	さやえんどう	0.0170
果樹類	ぶどう	0.0084

注) 各作物とも 5 試料の平均値

本試験の処理条件は申請されている使用方法に対して過剰な条件ではあるが、葉菜類において、ほかの作物と比べ 5～20 倍程度の付着が認められた。(参照 2)

4. その他

(1) たんぱく質分解酵素による加水分解試験

5 つのたんぱく質分解酵素（臍液に含まれる酵素：トリプシン、 α -キモトリプシン、微生物から生成される酵素：プロナーゼ、プロテイナーゼ K 及びサブチリシン）を用いた発芽スイートルーピン抽出たんぱく質¹²の加水分解試験が実施された¹³。

その結果、いずれのたんぱく質分解酵素処理区においても、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は酵素処理後 1～2 時間で速やかに分解された。また、たんぱく質分解酵素処理 2 時間後にマーカーたんぱく質（リブローズ二リン酸カルボキシラーゼ）を添加して更に 1 時間インキュベートした結果、マーカーたんぱく質の分解が確認されたことから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の分解によって各たんぱく質分解酵素の阻害又は抗栄養因子として作用するフラグメントは生じないと考えられた。(参照 2)

(2) 土壌中及び水中動態試験

製剤（25%液剤）を用いて土壌中及び水中動態試験が実施された。

推定半減期は、土壌中で 30 日、水中で 15 日と算出された。(参照 25)

(3) 生分解性試験

製剤（20%液剤）を 2 mg ai/L の用量で添加して、密閉容器中で、19.0～22.0℃

¹² 発芽させたスイートルーピンから抽出しているが、原体との同等性については不明であった。一方で、電気泳動により発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のバンドを確認していることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質に対する加水分解試験と判断した。

¹³ Sara Monteiro, Alexandra Carreira, Regina Freitas, Ana Margarida Pinheiro, Ricardo Boavida Ferreira. Nontoxic Polypeptide Oligomer with a Fungicide Potency under Agricultural Conditions Which Is Equal or Greater than That of Their Chemical Counterparts, PLOS ONE, April 7, 2015

の暗条件下で 28 日間インキュベートして、生分解性試験が実施された。

生分解率は、処理 4 日後で 65.9%、処理 14 日後で 81.4%、処理 28 日後で 91.7% であった。（参照 26）

（４）イムノブロット試験

ルーピン又はピーナッツにアレルギー感受性のある集団に対する発芽スイトルーピン抽出たんぱく質の潜在的アレルギー性及び交差反応性を評価する目的で、スキンプリックテスト又はアレルギー特異的 IgE 抗体検査によりルーピン又はピーナッツにアレルギー感受性を示した被験者（年齢 10～70 代、男女計 31 名）の血清を用いたイムノブロット試験が実施された。本試験では発芽スイトルーピン抽出たんぱく質¹⁴への反応性との比較として、ルーピンの総たんぱく質及び β -コングルチン並びにピーナッツの総たんぱく質に対する抗原抗体反応についても確認された。

本試験の結果、各血清におけるルーピンの総たんぱく質及び β -コングルチン並びにピーナッツの総たんぱく質に対する抗原抗体反応は、個々の被験者のアレルギー感受性に合わせて明確に認められた一方で、いずれの被験者の血清においても発芽スイトルーピン抽出たんぱく質との抗原抗体反応は認められず、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質はルーピン又はピーナッツに感受性の高い集団に対しても潜在的なアレルギー性及び交差反応性を示さないと考えられた。（参照 20～22、30、31）

5. 国際機関等における評価の概要

（１）米国環境保護庁（EPA）における評価

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質は EPA において、2013 年に評価され、慢性参照用量（cRfD）及び急性参照用量（aRfD）は設定されていない¹⁵。

スイトルーピンは米国において食品及び飼料として利用されてきた歴史があり、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質は速やかに生分解される点も踏まえ、使用基準に基づいて農薬として使用する限りにおいて、一般の集団のほか、特に乳幼児及び児童に毒性影響は生じないと判断された。

他方、2015 年及び 2020 年に行われた評価において、アレルギー性について議論された。ルーピンは米国において食品及び飼料として一般的に利用されていることから、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質を農薬として使用した場合の食品を介した摂取量への寄与は僅かであり、ピーナッツ由来の既知のアレルギーたんぱく質（Ara h 1）とのアミノ酸配列に相同性（58%）があるものの、イムノ

¹⁴ 発芽スイトルーピン抽出たんぱく質（原体）を電気泳動し、得られたバンドの分子量から発芽スイトルーピン抽出たんぱく質と判断され、試験に用いられていることから、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質に対するイムノブロット試験と判断した。

¹⁵ 米国では、有効成分名は *Banda de Lupinus albus doce* (BLAD)として登録されている。

ブロット試験の結果ではピーナッツとの交差反応がみられず、たんぱく質分解酵素による分解性及び処理後のトマトにおける残留量を踏まえると、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のアレルゲン性に対する懸念は低リスクと考えられた。しかしながら、アレルゲン性については感受性の高い集団に対するアレルギー反応を惹起させる閾値の決定が困難であり、作物残留試験結果から、使用基準の範囲での残留性は低いと考えられたものの、残留基準値の設定が免除される場合においては制限のないばく露を受けるおそれを排除できないとの考えに基づき、2020 年の評価において残留基準値設定の提案がなされたが、現時点で基準値設定に係る新たな情報は示されていない。（参照 16～22、41、46）

（2）欧州委員会（EC）及び欧州食品安全機関（EFSA）における評価

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は EFSA において、2020 年に評価され、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験で得られた無毒性量 500 mg/kg 体重/日¹⁶を根拠として、不確実係数 100 で除した 5 mg/kg 体重/日を許容一日摂取量 (ADI) と設定された。急性参照用量 (ARfD) は設定の必要がないと判断された¹⁷。

他方、原体の主要成分である発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は天然に存在する種子貯蔵たんぱく質であり、使用基準に基づき施用された場合に速やかに分解されること、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質には残留の定義として最適な成分がないことから、ばく露評価対象物質は設定されておらず、最大残留基準値 (MRL) は設定不要とされている。

本剤のアレルゲン性については、スイートルーピン及びその加工品について、EU においてアレルゲンに指定されており食品表示が義務付けられており、本剤のアレルゲン性について十分な情報が得られていないことから、農薬として散布した場合に食品中にアレルゲンが残留する可能性も考慮すると、感受性の高い集団に対する潜在的なアレルギーリスクは否定できないと判断された。一方で、代表的な使用基準では収穫前日数が設定されていないことから、アレルゲンの可能性が完全に排除されるわけではないが、製剤 (20%液剤) を用いた試験において、処理後 18 時間以内にぶどう葉及びトマト果皮での代謝又は分解が確認されたことから、果実収穫日に処理されたとしても、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質にばく露する可能性は低い（むしろ起こり難い）と判断された。

また、原体中に含まれる Lupanine を含むキノリジジンアルカロイド (QAs) について、神経毒性を有する可能性が考えられるが、原体中の Lupanine 含有量から推定された総 QAs の最大量は毒性学的観点からは問題ないと考えられた。しかしながら、QAs の測定は人や動物における摂取量を考える上で重要であり、測定にはより高い精度が必要と判断されている。（参照 23、24、39）

¹⁶ 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例に認められた脳及び脊髓空胞化について、毒性所見と判断された。

¹⁷ 欧州では、有効成分名は発芽スイートルーピン (*Lupinus albus*) 水抽出物として登録されている。

（３）オーストラリア農薬・動物用医薬品局（APVMA）における評価

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は APVMA において、2017 年に評価され、豪州ではスイートルーピン種子に食用及び飼料用作物としての長い使用実績があり、急性毒性は低く、速やかな代謝/分解により作物への残留性がないと考えられることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質¹⁸の ADI 及び ARfD は設定不要と評価されている。

アレルギー性については、情報検索、プロテアーゼによる分解性及び食品を介した推定摂取量から、農薬として使用した場合に、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は人にアレルギー反応を引き起こす可能性、ピーナッツや大豆等のほかのマメ科作物に由来する既知のアレルゲンとの交差反応を起こす可能性はいずれも低いと判断された。（参照 25）

（４）カナダ保健省（Health Canada）における評価

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は Health Canada において、2015 年に評価され、ADI 及び ARfD は設定されていない¹⁹。

また、急性毒性は低く、作物残留試験〔3.(2)②〕の結果のほかアレルギー反応が生じる可能性の低さも考慮して、食品を介したリスクは無視できると考えられたことから、最大残留基準値（MRL）は設定されていない。

本剤のアレルゲン性については、ルーピンを用いた加工食品の喫食に起因するアレルギーの事例報告が増えており、本剤がアレルゲンとなる可能性が懸念されたが、情報検索、プロテアーゼによる分解性、食品を介した推定摂取量からは、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質が人にアレルギー反応を引き起こす可能性、ピーナッツや大豆等のほかのマメ科作物に由来する既知のアレルゲンとの交差反応を引き起こす可能性はいずれも低いと考えられた。この主張は、イムノブロット試験〔4.(4)〕において、ルーピンやほかのマメ科植物に感受性のある人の血清に対してアレルギー反応は認められなかったことから更に裏付けられ、感受性の高い人にアレルギー反応を引き起こすたんぱく質は発芽スイートルーピン抽出たんぱく質及びその製剤には含まれていないと判断されている。

また、原体中に含まれるアルカロイド（Lupanine）については、定量的に考えて、健康に懸念を及ぼすとは予測されないと判断されている。（参照 26、27、40）

¹⁸ 豪州では、有効成分名は BLAD として登録されている。

¹⁹ カナダでは、有効成分名は BLAD ポリペプチドとして登録されている。

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、殺菌剤「発芽スイートルーピン抽出たんぱく質」の食品健康影響評価を実施した。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の投与によるラットを用いた急性毒性試験における LD₅₀ 値は 5,000 mg/kg 体重超、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における無毒性量は 500 mg/kg 体重/日であった。遺伝毒性試験の結果、生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は天然に存在する種子貯蔵たんぱく質の構成成分であり、農薬として使用した場合でも自然界において微生物等により急速に分解され、農作物への残留性が低く、また、仮に摂取したとしても動物の腸管に存在するトリプシン等のたんぱく質分解酵素によって速やかに分解されることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の吸収は極めて低いと考えられる。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のアレルゲン性について、使用基準の範囲で農薬として使用した場合の農作物への残留は低いこと、トリプシン等のたんぱく質分解酵素により速やかに分解されること及び海外におけるこれまでの使用実績の中でアレルギー反応の報告がないことを総合的に考察して、人においてアレルギー反応が誘発される可能性は低いと考えられる。

ただし、今後新たな情報が得られた場合は、更なる議論が必要となる可能性があるため、引き続き情報収集を行うことが重要である。

以上のことから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は、農薬として想定しうる使用方法に基づき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がないことが明らかであると考えられる。なお、原体混在物について規格で規定された範囲内で管理されることを前提として判断したものである。

<別紙 1 : 検査値等略称>

略称	名称
APVMA	オーストラリア農薬・動物用医薬品局
EC	欧州委員会
EFSA	欧州食品安全機関
EPA	米国環境保護庁
FOB	機能観察総合検査
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量

<別紙 2 : 作物残留試験成績 (海外) >

・ 米国

作物名 [分析部位] 実施年	ほ 場 数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 ^b (mg/kg)	残留値 ^c (mg/kg)
トマト [果実]	2	838～ 873 ^{SC}	5	0 ^a	<LOQ(0.0062)、 <LOQ(0.0056)、 <LOD、 <LOD	
				1	<LOD、 <LOD、 <LOD、 <LOD	
				3	<LOD、 <LOD、 <LOD、 <LOD	
				5	<LOD、 <LOD、 <LOD、 <LOD	
				7	<LOD、 <LOD、 <LOD、 <LOD	
	1	4,160～ 4,210 ^{SC}	5	0 ^a	<LOQ(0.0056)、 <LOD	
				1	<LOQ(0.0067)、 <LOQ(0.0053)	
				3	<LOD、 <LOD	
				5	<LOD、 <LOD	
				7	<LOD、 <LOD	
きゅうり [果実]	1	792～806	5	0 ^a	<LOQ(0.006)、 <LOQ(0.006)	<LOQ(0.12)、 <LOQ(0.12)
				1	<LOQ(0.006)、 <LOQ(0.006)	<LOQ(0.12)、 <LOQ(0.12)
				3	<LOQ(0.005)、 <LOQ(0.005)	<LOQ(0.10)、 <LOQ(0.10)
				5	<LOQ(0.005)、 <LOD	<LOQ(0.10)、 <LOD
				7	<LOQ(0.008)、 <LOQ(0.006)	<LOQ(0.16)、 <LOQ(0.12)
		3,950～ 4,030	5	0 ^a	<LOQ(0.011)、 <LOQ(0.009)	<LOQ(0.22)、 <LOQ(0.18)
				1	<LOQ(0.009)、 <LOQ(0.007)	<LOQ(0.18)、 <LOQ(0.14)
				3	<LOQ(0.008)、 <LOQ(0.007)	<LOQ(0.16)、 <LOQ(0.14)
				5	<LOQ(0.006)、 <LOQ(0.006)	<LOQ(0.12)、 <LOQ(0.12)
				7	<LOQ(0.008)、 <LOQ(0.005)	<LOQ(0.16)、 <LOQ(0.10)
りんご [果実]	1	812～821	5	0 ^a	<LOD、 <LOD	<LOD、 <LOD
				1	<LOD、 <LOD	<LOD、 <LOD
				3	<LOD、 <LOD	<LOD、 <LOD
				6	<LOD、 <LOD	<LOD、 <LOD
				7	<LOD、 <LOD	<LOD、 <LOD
		3,990～	5	0 ^a	<LOD、 <LOD	<LOD、 <LOD

作物名 [分析部位] 実施年	ほ 場 数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 ^b (mg/kg)	残留値 ^c (mg/kg)
		4,090		1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				6	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
おとう [果実]	1	809～839	5	0 ^a	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				5	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
		4,030～ 4,130	5	0 ^a	<LOQ(0.006)、 <LOQ(0.005)	<LOQ(0.12)、 <LOQ(0.10)
				1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				5	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
いちご [果実]	1	820～ 848 ^{SC}	5	0 ^a	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				5	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
	1	3,970～ 4,190 ^{SC}	5	0 ^a	0.0279、0.0273	0.558、0.546
				1	0.0247、0.0246	0.495、0.492
				3	<LOQ(0.0095)、<LOD	<LOQ (0.190)、<LOD
				5	<LOQ(0.0084)、 <LOQ(0.0050)	<LOQ(0.168)、 <LOQ(0.100)
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
ぶどう [果実]	2	803～ 878 ^{SC}	5	0 ^a	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				1	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				3	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				5	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				7	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	

注) SC：フロアブル剤

/：参照した資料に記載がなかった。

・1週間間隔で計5回処理された。

・いずれの作物においても、ELISA法により分析された。

LOD：検出限界、LOQ：定量限界、括弧内の数値はLOD（抽出液中の残留値：0.005、試料重量当たりの残留値：0.1 mg/kg）以上、LOQ（抽出液中の残留値：0.02、試料重量当たりの残留値：0.4 mg/kg）未満であることを示す。

^a：最終処理直後（処理液乾燥後）

- b : 分析に用いた抽出液中の残留値
- c : 分析に用いた試料重量当たりの残留値

<参照>

- 1 食品健康影響評価について（令和 5 年 3 月 8 日付け厚生労働省発生食 0308 第 5 号）
- 2 試験成績の概要及び考察：発芽スイートルーピン抽出たんぱく質（殺菌剤）（令和 2 年 3 月 4 日提出）：CEV S.A.、一部公表
- 3 試験成績の概要及び考察：プロブラッド液剤（令和 2 年 3 月 4 日提出）：CEV S.A.、一部公表
- 4 Acute Oral Toxicity Up And Down Procedure In Rats（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 5 Acute Dermal Toxicity Study in Rats - Limit Test（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 6 Acute Inhalation Toxicity Study in Rats - Limit Test（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 7 Primary Eye Irritation Study in Rabbits（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 8 Primary Skin Irritation Study in Rabbits（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 9 Dermal Sensitization Study in Guinea Pigs (Buehler Method)（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 10 13 Week Oral (Gavage) Administration Toxicity Study in the Rat（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2016 年、未公表
- 11 21 Day Dermal Administration Toxicity Study in the Rat (OECD 410)（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2015 年、未公表
- 12 Bacterial Reverse Mutation Assay using a Treat and Plate Modification（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2016 年、未公表
- 13 *In Vitro* L5178Y Gene Mutation Assay at the *tk* locus（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2016 年、未公表
- 14 *In Vitro* Human Lymphocyte Micronucleus Assay（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2015 年、未公表
- 15 Rat Alkaline Comet Assay（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2016 年、未公表
- 16 EPA①: Biopesticides registration action Document; BLAD, 20 kDa polypeptide of Beta-Conglutin, PC Code : 030006 （2012）
- 17 EPA②: Memorandum, Request for new product registration for β -Conglutin Section 3 with tolerance. （2012）
- 18 EPA③: Federal Register; “Banda de Lupinus albus doce (BLAD)” Vol. 78, No. 56, 17600-17604 （2013）
- 19 EPA④: Federal Register; “Banda de Lupinus albus doce (BLAD)” Vol. 80, No.

- 103, 30640-30644 (2015)
- 20 EPA⑤ : Memorandum, Evaluation of new serum testing and field residue decline study for BLAD. (2014)
- 21 EPA⑥ : Memorandum, Review of Allergenicity Decisions on BLAD. (2015)
- 22 EPA⑦ : Federal Register; “Banda de *Lupinus albus* doce (BLAD)” Vol. 85, No. 28, 7698-7708 (2020)
- 23 EFSA : Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance aqueous extract from the germinated seeds of sweet *Lupinus albus*. EFSA Journal ;18(7):6190, 2020 年
- 24 EC : Final Review report for the active substance aqueous extract from the germinated seeds of sweet *Lupinus albus* Finalised by the Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed at its meeting on 26 January 2021 in view of the approval of aqueous extract from the germinated seeds of sweet *Lupinus albus* as a low risk substance in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009. 2021 年
- 25 APVMA: Public release summary on the evaluation of the new active BLAD (Banda de *Lupinus albus* doce) in the product PROBLAD PLUS FUNGICIDE.2017 年
- 26 Health Canada ① : Proposed Registration Decision, BLAD Polypeptide, PRD2015-01.2015 年
- 27 Health Canada② : Proposed Registration Decision, BLAD Polypeptide Problad Technical Fungicide and Problad Plus Fungicide, PRD2019-02. 2019 年
- 28 Magnitude and Decline of BLAD Residues Following Application of ProBLAD Plus to Grapes, Strawberries, and Tomatos (GLP 対応) : Eurofins Agroscience Services, Inc. (米国) 、2014 年、未公表
- 29 CEV Report Calculation Residue decline curves – Strawberry and tomato:CEV S.A. (ポルトガル) 、未公表
- 30 Evaluation of the Allergenic and Cross-allergenic Potential of the BLAD Polypeptide : CEV S.A. (ポルトガル) 、2013 年、未公表
- 31 Evaluate the Allergenic and Cross-allergenic Potential of the BLAD Polypeptide (Supplement to Study Report) : CEV S.A. (ポルトガル) 、2014 年、未公表
- 32 Grant G.,Dorward P.M., Pusztai A.: Pancreatic enlargement is evident in rats fed diets containing raw soybeans (*Glycine max*) or cowpeas (*Vigna unguiculata*) for 800 days but not in those fed diets based on kidney beans (*Phaseolus vulgaris*)or lupinseed (*Lupinus angustifolius*): Journal of Nutrition 123(12):2207-2215 (1993)
- 33 Grant G., Dorward P.M. , Buchan W. C., Armour J. C.,Pusztai A.:Consumption

- of diets containing raw soya beans (*Glycine max*), kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), cowpeas (*Vigna unguiculata*) or lupin seeds (*Lupinus angustifolius*) by rats for up to 700 days: effects on body composition and organ weights: British Journal of Nutrition 73(1):17-29 (1995)
- 34 Ballester D. R., Brunster O., Saitua M. T., Egana J. I., Yanez E. O., Owen D. F. ; Safety evaluation of sweet lupin (*Lupinus albus* cv. Multolupa). II. Nine-month feeding and multigeneration study in rats. ; Food Chem Toxicol 22 (1):45-48 (1984)
- 35 発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の確認事項についての回答 : CEV S.A.、有限会社 Joy Consulting、2023 年、未公表
- 36 BLAD residue tests on grapevine leaves and tomato fruits surfaces using an Immunoblotting methodology : CEV SA. (ポルトガル) 、2011 年、未公表
- 37 Magnitude and Decline of BLAD Residues Following 1X and 5X Applications of ProBLAD Plus to Cherries and Cucurbits (GLP 対応) : Eurofins Agroscience Services, Inc. (米国) 、2016 年、未公表
- 38 Magnitude and Decline of BLAD Residues Following 1X and 5X Applications of ProBLAD Plus Fungicide to Apples (GLP 対応) : Eurofins Agroscience Services, Inc. (米国) 、2017 年、未公表
- 39 EU : REGISTRATION REPORT Part A Risk Management ,PROBLAD、2022 年
- 40 Health Canada③ : Registration Decision, BLAD Polypeptide, RD2015-18、2015 年
- 41 食品健康影響評価に係る提出資料について : CEV S.A.、有限会社 Joy Consulting、2023 年、非公表
- 42 食品健康影響評価に係る資料提出について (補足) 、農林水産省、2023 年、非公表
- 43 CEV S.A : PROBLAD Safety Data Sheet、2021 年、非公表
- 44 EPA⑧ : Federal Register; “Banda de Lupinus albus doce (BLAD)” Vol. 85, No. 77, 22065 (2020)
- 45 USDA : Re: USDA comments on EPA’s proposal to revoke exemption and establish pesticide tolerances for banda de *Lupinus albus* doce; EPA-HQ-OPP-2015-0230 (2020) 、非公表
- 46 EPA⑨ : Non-PRIA (Pesticide Registration Improvement Act) Labeling Amendment – Submission of Label Amendment to add Container Handling statement for laeger than 5 gallons, and brackets to indicate optional language (2023) 、非公表