

(案)

特定保健用食品評価書

ガセリ菌 SP 株ヨーグルト

2017年5月

食品安全委員会新開発食品専門調査会

目 次

	頁
<審議の経緯>	2
<食品安全委員会委員名簿>	2
<食品安全委員会新開発食品専門調査会専門委員名簿>	2
<専門参考人>	2
要 約	3
I. 評価対象品目の概要	4
1. 製品	4
2. 関与成分	4
3. 作用機序等	4
II. 安全性に係る試験等の概要	4
1. 食経験	4
2. <i>in vitro</i> 及び動物を用いた <i>in vivo</i> 試験	5
(1) 復帰突然変異試験	5
(2) 単回強制経口投与試験 (ラット)	5
(3) 4 週間反復強制経口投与試験 (ラット)	5
(4) 13 週間反復強制経口投与・4 週間回復性試験 (ラット)	6
3. ヒト試験	7
(1) 12 週間連続摂取試験 (対象者: BMI が 25 以上 30 未満かつ内臓脂肪面積が 80 cm ² 以上の人)	7
(2) 4 週間連続 3 倍過剰摂取試験 (対象者: BMI が 25 以上 30 未満の人)	7
4. その他	7
(1) ガセリ菌 SP 株の腸内での定着性について (対象者: 健常者)	7
(2) 抗生物質耐性遺伝子の存在及びその伝播の可能性について	8
III. 食品健康影響評価	8
<別紙: 検査値等略称>	9
<参照>	10

＜審議の経緯＞

2016年 5月23日 内閣総理大臣から特定保健用食品の安全性の審査に係る食品健康影響評価について要請（消食表第322号）、関係書類の接受

2016年 5月24日 第607回食品安全委員会（要請事項説明）

2016年 6月 9日 第110回新開発食品専門調査会

2017年 4月20日 第114回新開発食品専門調査会

2017年 5月16日 第649回食品安全委員会（報告）

＜食品安全委員会委員名簿＞

(2017年1月6日まで)

佐藤 洋（委員長）

山添 康（委員長代理）

熊谷 進

吉田 緑

石井克枝

堀口逸子

村田容常

(2017年1月7日から)

佐藤 洋（委員長）

山添 康（委員長代理）

吉田 緑

山本茂貴

石井克枝

堀口逸子

村田容常

＜食品安全委員会新開発食品専門調査会専門委員名簿＞

清水 誠（座長）

尾崎 博（座長代理）

石見佳子 酒々井眞澄

磯 博康 林 道夫

梅垣敬三 平井みどり

漆谷徹郎 本間正充

奥田裕計 山本精一郎

小堀真珠子 脇 昌子

佐藤恭子

＜専門参考人＞

五十君静信（東京農業大学 応用生物科学部 生物応用化学科 教授）

（第110回新開発食品専門調査会）

要 約

ガセリ菌 SP 株 (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) を関与成分とし、「内臓脂肪が気になる方や肥満気味の方の食生活の改善に役立つ」旨を特定の保健の用途とするはっ酵乳である「ガセリ菌 SP 株ヨーグルト」について、申請者作成の資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

本食品一日当たりの摂取目安量 100 g 中に含まれる関与成分は、ガセリ菌 SP 株 10 億 (10^9) cfu である。

本食品の評価では、食経験、細菌を用いた復帰突然変異試験、ラットを用いた単回強制経口投与試験、4 週間反復強制経口投与試験及び 13 週間反復強制経口投与・4 週間回復性試験、ヒト試験 (BMI が 25 以上 30 未満かつ内臓脂肪面積が 80 cm^2 以上の人を対象とした 12 週間連続摂取試験及び BMI が 18.5 以上 30 未満の人を対象とした 4 週間連続 3 倍過剰摂取試験)、その他の試験等を用いた。

上記試験結果等を用いて評価した結果、「ガセリ菌 SP 株ヨーグルト」については、提出された資料に基づく限りにおいて安全性に問題ないと判断した。

I. 評価対象品目の概要

1. 製品

- (1) 商 品 名：ガセリ菌 SP 株ヨーグルト
(申請者：雪印メグミルク株式会社)
- (2) 食 品 の 種 類：はっ酵乳
- (3) 関 与 成 分：ガセリ菌 SP 株 (*Lactobacillus gasseri* SBT2055)
10 億 (10⁹) cfu/100 g
- (4) 一 日 摂 取 目 安 量：100 g
- (5) 特 定 の 保 健 の 用 途：内臓脂肪が気になる方や肥満気味の方の食生活の改善に役立つ

2. 関与成分

本食品の関与成分はガセリ菌 SP 株 (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) である。

L. gasseri は、複数のヒトの糞便中の乳酸菌を調べた試験において、最も多くのヒトの糞便から確認されたことが報告されている (参照 1)。

ガセリ菌 SP 株は、人工消化液耐性試験において pH 2.5 の人工胃液中で 3 時間生残し、胆汁末濃度 1.0 % の人工腸液中で増殖したことが報告されている (参照 2)。このことから、申請者は、ガセリ菌 SP 株には消化液耐性があり、生存したまま腸管に到達し、増殖することが示唆されたとしている。

3. 作用機序等

申請者は、*in vitro* 試験において、ガセリ菌 SP 株は脂質エマルションの粒子径を濃度依存的に増大させること及び脂質エマルションからの脂肪酸遊離を濃度依存的に抑制することが示され (参照 3)、また、ヒト試験において、本食品摂取により糞便への脂肪排泄が促進された (参照 3) としている。これらのことから、申請者は、ガセリ菌 SP 株は食事由来の脂肪の吸収を抑制し、吸収されなかった脂肪は体外へ排出されることにより、内臓脂肪が低減するとしている。

II. 安全性に係る試験等の概要

1. 食経験

L. gasseri は、日本国内ではっ酵乳、乳酸菌飲料及び乳酸菌製剤に広く利用されている。申請者は、ガセリ菌 SP 株を 5 億 (5×10⁸) cfu/100 g 以上含むはっ酵乳を平成 14 年から発売しており、販売実績は平成 24 年度において年間約 9 千万個であるとしている。また、ガセリ菌 SP 株を 10 億 (10⁹) cfu/100 g 以上含むはっ酵乳を平成 21 年 3 月から平成 26 年 3 月まで約 3 千万個販売しており、その間に健康被害の報告はないとしている。

2. *in vitro* 及び動物を用いた *in vivo* 試験

(1) 復帰突然変異試験

ガセリ菌 SP 株の菌体構成成分及び菌体生成物質の変異原性を調べる目的で、超音波破碎物濾液及び脱脂乳培養物上清について、*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株並びに *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用いて復帰突然変異試験が実施された。ガセリ菌 SP 株の超音波破碎物濾液は、液体培養したガセリ菌 SP 株を集菌後超純水に懸濁し、氷冷中で 19 kHz、24 時間超音波処理を実施後、遠心分離により得られた上清を 0.22 μm のフィルターにより除菌して作製した。なお、超音波処理前の菌体懸濁液中の菌数は 5.8×10^{10} cfu/mL であり、超音波処理による菌体破壊率は 90 % 以上であった。また、ガセリ菌 SP 株の脱脂乳培養物上清は、脱脂乳培地で培養後 pH 7 に中和し、遠心分離して得られた上清を 0.22 μm のフィルターにより除菌して作製した。なお、脱脂乳培養物中の菌数は 1×10^9 cfu/mL であった。これらの超音波破碎物濾液及び脱脂乳培養物上清 0.1 mL について、原液～1/32 希釈溶液 /plate の濃度範囲で復帰突然変異試験が実施されており、代謝活性化系 (S9mix) の有無にかかわらず、結果は全て陰性であった (参照 4)。

(2) 単回強制経口投与試験 (ラット)

CD (SD) ラット (一群雌雄各 10 匹) にガセリ菌 SP 株を 0 (対照群)、 0.1×10^{11} 、 0.4×10^{11} 又は 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日で単回投与する強制経口投与試験が実施された。

その結果、死亡例はなく、一般状態、体重及び剖検所見に被験物質の毒性を示唆する変化は認められなかった (参照 5)。

(3) 4 週間反復強制経口投与試験 (ラット)

CD (SD) ラット (一群雌雄各 8 匹) にガセリ菌 SP 株を 0 (対照群)、 0.1×10^{11} 、 0.4×10^{11} 又は 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日で 4 週間反復投与する強制経口投与試験が実施された。

その結果、死亡例はなく、体重及び眼科学的検査に異常は認められなかった。一般状態においては、 0.4×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雌 1 例に、誤投与に起因するとされた削瘦、呼吸深大及び自発運動の低下が一過性に認められた。摂餌量において、 0.1×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雄で投与 4 日後に対照群と比較して有意に増加したが、一過性であり体重への影響がないことから、被験物質とは関連のない変化であると考察している。尿検査において、 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雌で Na 及び Cl が対照群と比較して有意に増加したが、同群の雄では増加していないこと等から、被験物質投与とは関連のない変化であると考察している。血液検査において、 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雌で APTT が対照群と比較して有意に短縮したが、PT に変動はなく、同群の雄では APTT 及び PT に関連した変化が認められないことから、被験物質投与との関連性は低いものと推察している。その他の血液検査項目においても、対照

群と比較して有意な変動が散見されたが、軽微な変動であり生理的変動の範囲であるとしている。剖検所見において、誤投与に起因すると考えられる一過性の変化が一般状態に認められた雌 1 例に、肺の癒着及び同中間葉の黄褐色化が認められ、同個体の病理組織学的検査では胸膜の肥厚及び細胞浸潤が認められた。器官重量の相対重量において、 0.4×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雄で下垂体が対照群と比較して有意に低い値を示し、同投与群の雌で肺及び脳が対照群と比較して有意に高い値を示したが、いずれも病理組織学的検査において特記すべき変化が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考察している（参照 5）。

（4）13 週間反復強制経口投与・4 週間回復性試験（ラット）

CD (SD) ラット（一群雌雄各 16 匹）にガセリ菌 SP 株を 0（対照群）、 0.1×10^{11} 、 0.4×10^{11} 又は 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日で 13 週間反復投与する強制経口投与試験が実施された。また、そのうち雌雄各 6 匹を用いて 4 週間の回復性試験が実施された。

その結果、死亡例はなく、一般状態、体重、眼科学的検査及び剖検所見に異常は認められなかった。摂餌量において、 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雄で投与 28 日後に対照群と比較して有意に高い値を示したが、一過性の増加であり偶発的な変化であるとしている。尿検査において、回復期間中に 0.4×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雌で Cl が対照群と比較して有意に低い値を示したが、用量との関連性は認められなかったと考察している。血液検査において、投与 13 週間後に 0.1×10^{11} 及び 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雄で Cl が、 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雄で γ -グロブリンが、それぞれ対照群と比較して有意に低い値を示し、 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雌で Cl が対照群と比較して有意に高い値を示したが、いずれの変化も軽微であること等から毒性変化ではないと考察している。また、回復期間終了時点の血液検査においても、対照群と比較して有意な変動が散見されたが、いずれも用量との関連が認められず、被験物質の影響ではないと考察している。器官重量において、投与 13 週間後に 0.4×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の絶対重量が、同投与群の雌で左腎臓の相対重量が、回復期間終了時に 0.1×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雌で心臓の相対重量が、それぞれ対照群と比較して有意に高い値を示したが、用量と関連がないこと等から毒性学的意義はないと考察している。病理組織学的検査において、投与 13 週間後に 1.0×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雄で肺に 2 例の軽度の限局性炎症巣及び 1 例の出血が認められ、 0.4×10^{11} cfu/kg 体重/日投与群の雄で肺に 1 例の中等度の限局性炎症巣及び軽度の細胞集簇が認められたが、これらの肺病変は発生頻度に明確な用量依存性は示されていないことから、液状試料の飛沫等の偶発的な気道吸引が原因である可能性があるとして考察している（参照 5）。

3. ヒト試験

(1) 12週間連続摂取試験（対象者：BMIが25以上30未満かつ内臓脂肪面積が80 cm²以上の人）

BMIが25以上30未満かつ内臓脂肪面積が80 cm²以上の成人108名を対象に、本食品（ガセリ菌 SP 株を10⁷ cfu/g含有するはっ酵乳）又は対照食（ガセリ菌 SP 株を含まないはっ酵乳）100 gを1日1回、12週間摂取させるランダム化二重盲検並行群間比較試験が実施された。なお、試験途中で自己都合により試験を中止した3名及びデータの欠損等があった4名を除いた101名が有効解析対象者とされた。

その結果、体重、BMI、ウエスト周囲径、ヒップ周囲径、血圧及び脈拍数について、摂取開始時と比較して有意な変動は認められなかった。摂取8週間後、12週間後、摂取後観察期に、本食品摂取群で体脂肪率が摂取開始時と比較して有意に増加したが、临床上問題となる変動ではなかった。血液学的検査及び生化学的検査について、摂取開始時又は対照食摂取群と比較して有意な変動が散見されたが、いずれも基準値内の変動であり、临床上問題となる変化は認められなかった。尿検査について、临床上問題となる変化は認められなかった。

有害事象として、本食品群で咳、発熱（各3例）、下痢、頭痛（各2例）等が認められたが、いずれも一過性であり、医師により本食品との因果関係はないと判断されている（参照6）。

(2) 4週間連続3倍過剰摂取試験（対象者：BMIが18.5以上30未満の人）

BMIが18.5以上30未満の成人男女34名を対象に、本食品（ガセリ菌 SP 株を10⁷ cfu/g以上含有するはっ酵乳）を一日摂取目安量の3倍（300 g/日）又は対照食（ガセリ菌 SP 株を含まないはっ酵乳）300 gを、4週間摂取させるランダム化二重盲検並行群間比較試験が実施された。

その結果、体重、BMI、体脂肪率、体脂肪量、除脂肪量、ウエスト周囲径、ヒップ周囲径、血圧、脈拍数、体温及び尿検査項目について、摂取開始時又は対照食摂取群と比較して有意な変動は認められなかった。血液学的検査及び生化学的検査において、本食品摂取群で、摂取4週間後に3-ヒドロキシ酪酸、総ケトン体、尿酸及びカリウムが、摂取終了2週間後にMCV及びクレアチニンが摂取開始時と比較して有意に高い値を示し、摂取4週間後及び摂取終了2週間後にカルシウムが対照食摂取群と比較して有意に高い値を示したが、いずれも基準値内の変動であった。また、摂取期間中、有害事象の発現は認められなかった（参照7）。

4. その他

(1) ガセリ菌 SP 株の腸内での定着性について（対象者：健常者）

健常成人男女34名を対象に、ガセリ菌 SP 株のストレプトマイシン及びリファンピシン耐性変異株（以下「LG2055SR 株」という。）を200 mL中に10⁹、10¹⁰及び10¹¹ cfu含有する牛乳をそれぞれ16、10及び8名に1週間摂取

させ、摂取前から摂取終了後 90 日目までに 15 回糞便を採取し、糞便中の LG2055SR 株の生菌数の測定が行われた。

その結果、 10^{11} cfu 摂取群において、摂取前に採取した糞便からは LG2055SR 株は検出されなかったが、摂取 3 日後から糞便中に LG2055SR 株が出現し、平均菌数は摂取 3 日後で 10^7 cfu/g 以上及び摂取終了後 5 日目で $10^{3.025}$ cfu/g であった。その後、摂取終了後 31 日目まで 8 名中 5 名の糞便から LG2055SR 株が $10^{2\sim 4}$ cfu/g の菌数で検出され、その 5 名について摂取終了後 90 日目に 1 名を除く 4 名から糞便を採取したところ、全ての糞便から LG2055SR 株が検出され菌数は $10^{3.00\sim 3.89}$ cfu/g であった。 10^9 cfu 摂取群及び 10^{10} cfu 摂取群においては、摂取期間中の糞便中の LG2055SR 株の菌数はそれぞれ最大 $10^{4.30}$ 及び $10^{6.67}$ cfu/g であり、摂取終了後 90 日目においては、各群何名から糞便を採取したか不明だが、 10^9 cfu 摂取群は 7 名、 10^{10} cfu 摂取群は 5 名から LG2055SR 株が検出され、平均菌数はそれぞれ $10^{0.762}$ 及び $10^{2.44}$ cfu/g であり、LG2055SR 株の腸管定着性が確認された（参照 8）。

以上の結果より、申請者は、親株であるガセリ菌 SP 株も同様の挙動を示すことが示唆されたとしている。

（2）抗生物質耐性遺伝子の存在及びその伝播の可能性について

申請者は、ガセリ菌 SP 株はプラスミドを 1 つ保有しているが、塩基配列解析の結果、タンパク質コード領域と推定される配列 28 部位の中には抗生物質耐性遺伝子及び病原性因子に類似する配列はなく、抗生物質耐性遺伝子が他の菌株に転移することはないとしている（参照 9）。

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて「ガセリ菌 SP 株ヨーグルト」の食品健康影響評価を実施した。

細菌を用いた復帰突然変異試験、ラットを用いた単回強制経口投与試験、4 週間反復強制経口投与試験及び 13 週間反復強制経口投与・4 週間回復性試験、ヒト試験（BMI が 25 以上 30 未満かつ内臓脂肪面積が 80 cm^2 以上の人を対象とした 12 週間連続摂取試験及び BMI が 18.5 以上 30 未満の人を対象とした 4 週間連続 3 倍過剰摂取試験）、その他の試験等において、問題となる結果は認められなかった。

上記試験結果等を用いて評価した結果、「ガセリ菌 SP 株ヨーグルト」については、提出された資料に基づく限りにおいて安全性に問題はないと判断した。

<別紙：検査値等略称>

APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
BMI	体格指数：体重(kg) ÷ 身長(m) ²
cfu	コロニー形成単位
MCV	平均赤血球容積
PT	プロトロンビン時間

<参照>

1. 資料 1-2/2-4 : Fujisawa T, Yaeshima T and Mitsuoka T: Lactobacilli in human feces. Biosci Microflora. 1996; 15(2): 69-75
2. 資料 1-5 : 瀧口隆一, 鈴木豊 : 乳酸菌の人工消化液中での生残性 腸内細菌学雑誌 2000; 14: 11-18
3. 資料 1-25 : Ogawa A, Kobayashi T, Sakai F, Kadooka Y and Kawasaki Y: *Lactobacillus gasseri* SBT2055 suppresses fatty acid release through enlargement of fat emulsion size *in vitro* and promotes fecal fat excretion in healthy Japanese subjects. Lipids Health Dis. 2015; 14: 20
4. 資料 2-6 : 岡田奈緒子, 高橋綾子, 有沢広彦, 升永博明 : *Lactobacillus gasseri* SBT2055 株(LG2055)の細菌を用いる復帰突然変異試験 応用薬理 2001; 60(5/6): 151-156
5. 資料 2-7 : 今井栄一, 田代勝文, 菅野剛, 有沢広彦, 伊賀由則, 升永博明 : *Lactobacillus gasseri* SBT2055 株(LG2055)のラットにおける経口投与毒性試験 応用薬理 2001; 60(5/6): 131-150
6. 資料 1-23/2-8 : 高野義彦, 小林敏也, 赤井義仁, 生山健, 川崎功博, 土田隆 : プロバイオティクス *Lactobacillus gasseri* SBT2055 を含有する発酵乳の摂取による肥満者の内臓脂肪低減効果の検証 薬理と治療 2013; 41(9): 895-903
7. 資料 2-9 : 小林敏也, 高野義彦, 赤井義仁, 生山健, 川崎功博, 土田隆 : プロバイオティクス *Lactobacillus gasseri* SBT2055 を含有する発酵乳の過剰摂取時の安全性 薬理と治療 2013; 41(10): 989-997
8. 資料 1-8 : Fujiwara S, Seto Y, Kimura A and Hashiba H: Establishment of orally-administered *Lactobacillus gasseri* SBT2055SR in the gastrointestinal tract of humans and its influence on intestinal microflora and metabolism. J Appl Microbiol. 2001; 90(3): 343-352
9. 資料 1-11/2-3 : 「長くとどまるガセリ菌ヨーグルト」摂食時の *L. gasseri* SBT2055 株 (ガセリ菌 SP 株) の腸管到達性の評価 2014 (社内報告書)