

(留意点)

- ・既存の評価書から引用する場合も、それぞれの試験の出典を明らかにした上で記載すること。
- ・被験動物種及び系統、性別、匹数、投与方法及び溶媒、投与用量、標識方法を明記すること。
- ・理解しやすくするために結果は表にまとめることが望ましいが、表にするのが難しいものについては、段落を分けて詳細を記述すること。
- ・放射性同位体を用いた試験により残留濃度を測定した場合は、残留放射能濃度 (%TRR あるいは %TAR) 及び残留濃度 (mg/kg あるいは µg/kg) による記載が望ましい。
- ・ヒトにおける体内動態や有害作用の発現等の推定について考察が可能であれば、併せて記載する。

\*「食品常在成分であるか又は食品内若しくは消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかな場合」(食品常在成分等)への該当性のある場合は、平成8年厚生省ガイドラインの表2の事項に基づき、以下の項目の妥当性を示す試験結果を記載する。

(1) 食品常在成分等への該当性

- ①食品添加物の通常の使用条件下で、当該物質が容易に食品内又は消化管内で分解して食品常在成分と同一物質になること。
- ②食品内又は消化管内での分解に関わる主要な因子 (pH、酵素等) が明らかであること。
- ③食品添加物の通常の使用条件下で適正な量を使用した場合、当該食品添加物の体内への吸収が食品成分と同程度であり、他の栄養成分の吸収を阻害しないこと。
- ④摂取された食品添加物の未加水分解物又は部分加水分解物が大量に糞便中に排泄されないこと。更に、未加水分解物又は部分加水分解物が生体組織中に蓄積しないこと。
- ⑤食品添加物を使用した食品を摂取したとき、当該食品の主成分の過剰摂取の問題が起きないこと。

\*食品常在成分等への該当性のない場合は、動物種ごとに、以下の項目について試験結果を記載する。

(1) 吸収

a. 血中濃度推移

被験物質の吸収の程度と速度を示すため、被験動物ごとに投与後の最高血中濃度 (Cmax)、そのときの時間 (Tmax)、血中濃度 - 時間曲線下面積 (AUC) 等について記載する。

また、これらのパラメータと、静脈内投与又はその他基準となる投与方法により得た同様のパラメータを比較した考察も有用である。

b. 吸収率

被験物質投与後の尿、糞、胆汁、呼気等への排泄量及び、これらから求められる総排泄量から算出される、生体への吸収率を記載する。

(2) 分布

被験動物ごとに、被験物質を単回及び反復投与後の各種器官及び組織への分布、その経時的変化及び蓄積性を記載する。体内動態を適切に反映させるよう、数時点での測定結果の記載が望ましい。反復投与により高濃度分布又は蓄積のみられた器官及び組織、有害反応に関わる器官及び組織については、その存在形態についても考察することが望ましい。

### (3) 代謝

代謝経路及び代謝の程度と速度に関する情報を示すため、被験動物ごとに単回及び反復投与後の血液、尿、胆汁及び糞等の生体試料中の未変化体と代謝物の定量値を記載する。

代謝に関与する器官のスライス、ホモジネート、細胞懸濁液、細胞分画等の試料を用いた *in vitro* 試験についても記載してよい。

### (4) 排泄

被験物質及びその主要な代謝物の排泄経路及び排泄の程度と速度に関する情報を示すため、被験動物ごとに単回及び反復投与後の尿、糞、呼気、胆汁、乳汁などへの経時的排泄量を記載する。

### (記載例)

既存の評価書 <https://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/list?itemCategory=000> が参考となるが、典型例として以下に示す。

### (1) 吸収

#### ①ラットにおける吸収

##### a. 血中濃度推移

〇〇【筆者名】(〇〇【報告年】)の報告によれば、〇〇齢の〇〇【動物種】(各群雌雄各〇匹【群設定】)に〇〇【被験物質】(〇、〇、〇 mg/kg 体重/日)を〇〇【単回/期間】〇〇投与【投与方法】して血中濃度推移を検討する試験が GLP に準拠して実施されている。その結果、表1に示すように、〇〇用量群の血中〇〇【被験物質】濃度は投与〇時間後で最高(〇〇~〇〇 mg/L)に達し、投与〇時間後には〇〇、〇時間後には〇〇となり、 $T_{1/2}$  は〇時間、AUC は〇  $\mu\text{g} \cdot \text{hr/g}$  であったとされている(引用文献〇)。

表1 血中薬物動態学的パラメータ

性別	投与量 (mg/kg 体重)	$T_{\max}$ (hr)	$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/g}$ )	$T_{1/2}$ (hr)	AUC ( $\mu\text{g} \cdot \text{hr/g}$ )

##### b. 吸収率

〇〇【筆者名】（〇〇【報告年】）の報告によれば、〇〇齢の〇〇【動物種】（各群雌雄各〇匹【群設定】）に〇〇【被験物質】（〇、〇、〇 mg/kg 体重/日）を〇〇【単回/期間】 〇〇投与【投与方法】して体内吸収率を検討する試験が GLP に準拠して実施されている。その結果、検討試料【尿、ケージ洗浄液、糞、胆汁等】中の放射能から、〇用量群の体内吸収率は少なくとも 〇% と推定された（引用文献〇）。

(2) 分布

①ラットにおける分布

〇〇【筆者名】（〇〇【報告年】）の報告によれば、〇〇齢の〇〇【動物種】（各群雌雄各〇匹【群設定】）に〇〇【標識被験物質】（〇、〇、〇 mg/kg 体重/日）を〇〇【単回/期間】 〇〇投与【投与方法】して体内分布を検討する試験が GLP に準拠して実施されている。その結果、表 2 に示すように、〇〇【被験物質】は投与〇時間後までは〇〇及び〇〇に高濃度の分布が認められたが、投与〇時間後には〇〇で最も高く、投与〇時間後には〇〇となった（引用文献〇）。

表 2 ラットにおける〇標識〇〇の〇〇投与後の組織中の残留放射能濃度 (%TRR)

組織	投与後時間 (時間)			
肝臓				
腎臓				
大腸				
筋肉				
血漿				
全血				
乳汁				

(3) 代謝

①ラットにおける代謝

〇〇【筆者名】（〇〇【報告年】）の報告によれば、〇〇齢の〇〇【動物種】（各群雌雄各〇匹【群設定】）に〇〇【標識被験物質】（〇、〇、〇 mg/kg 体重/日）を〇〇【単回/期間】 〇〇投与【投与方法】して〇〇、〇〇中の代謝物を同定する試験が GLP に準拠して実施されている。その結果、表 3 に示すように、〇〇【被験物質】の未変化体及び代謝物として、〇〇、〇〇が認められた（引用文献〇）。

表 3 ラットにおける〇標識〇〇の〇〇投与後の〇〇及び代謝物の残留放射能濃度 (%TRR)

投与回数	投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	未変化体	代謝物 (%TRR)
単回投与			血液		A ( ), B ( ), C ( ), D ( ),

					D の硫酸抱合体 ( ) ...
			尿		
			胆汁		
			糞		
反復投与					

#### (4) 排泄

##### ①ラットにおける排泄

〇〇【筆者名】(〇〇【報告年】)の報告によれば、〇〇齢の〇〇【動物種】(各群雌雄各〇匹【群設定】)に〇〇【標識被験物質】(〇、〇、〇 mg/kg 体重/日)を〇〇【単回/期間】〇〇投与【投与方法】して経時的に尿及び糞中の排泄率を検討する試験が GLP に準拠して実施されている。その結果、表4に示すように、〇〇【被験物質】は投与〇時間後の〇〇には〇%の排泄が認められ、投与〇時間後の〇〇には〇%が排泄された。主要な排泄経路は〇〇であった(引用文献〇)。

表4 投与後〇及び〇時間後の尿及び糞中排泄率 (%TRR)

投与回数	投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	投与後〇時間	投与後〇時間	合計
			尿			
			糞			

## 2 毒性試験

毒性試験は、ヒトにおける有害作用の発現形式や発現用量等を推定するため、被験物質を動物に投与してその作用に関する情報を得ることを目的としている。

食品安全委員会の評価指針において、以下のとおり記載されている。

### (1) 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験

- ① げっ歯類 1 種 (通常、ラットが用いられる。) 及び非げっ歯類 1 種 (通常、イヌが用いられる。) で実施する。雌雄の動物を原則として同数用いる。
- ② 投与期間は、亜急性毒性試験については 28 日間、90 日間、慢性毒性試験については 12 か月以上とする。ただし、90 日間の試験を行った場合には、28 日間の試験は省略できる。
- ③ 被験物質は経口により週 7 日投与することを原則とする。混餌投与又は飲水投与により行い、困難である場合は強制経口投与を行うことも差し支えない。
- ④ 用量段階は、対照群のほかに少なくとも 3 段階の投与群を設定する。設定した投与群についてはその根拠を明確にするとともに、その公比は適切な NOAEL が求められるものにする。

- ⑤ 混餌投与の場合は、栄養障害が起こらないように配慮し、通常、飼料添加濃度 5% (W/W) を超える投与量で実施する必要はない。また、強制投与の場合には、通常、技術的に投与できる最大量又は 1,000 mg/kg 体重で何ら毒性影響が認められないときはそれ以上の投与量で実施する必要はない。
- ⑥ 対照群にも観察される自然発生性病変の頻度又は程度が投与により増加した場合、背景データの範囲内であっても、その頻度又は程度に用量相関性がみられる等生物学的な有意差が認められたときは、原則として投与による影響とする。
- ⑦ 神経毒性又は免疫毒性が疑われた場合には、必要に応じ、OECD テストガイドライン、ICH (日米 EU 医薬品規制調和国際会議) ガイドライン等に準拠した追加の試験を検討する。
- ⑧ 毒性試験において認められた所見をどのようにヒトへ外挿するかについては、エンドポイントを機能的変化、非腫瘍性の形態変化、腫瘍性変化、生殖機能の変化等に分けて検討した上で、注意深く考察することが必要である。
- ⑨ 慢性毒性/発がん性併合試験をげっ歯類 1 種について実施した場合には、慢性毒性試験のげっ歯類 1 種についての試験を省略することができる。
- ⑩ 必要に応じ子宮内暴露相を追加することを検討する。

## (2) 発がん性試験

- ① げっ歯類 2 種以上 (通常、ラット、マウス又はハムスターが用いられる。) で実施する。雌雄の動物を原則として同数用いる。
- ② 投与期間は、原則として経口により週 7 日とし、ラットでは 24 か月以上 30 か月以内、マウスでは 18 か月以上 24 か月以内とする。混餌投与又は飲水投与により行い、困難である場合は強制経口投与を行うことも差し支えない。
- ③ 用量段階は、対照群のほかに少なくとも 3 段階の投与群を設定する。設定した投与群についてはその根拠を明確にするとともに、その公比は適切な NOAEL が求められるものにする。
- ④ 混餌投与の場合は、栄養障害が起こらないように配慮し、通常、飼料添加濃度 5% (W/W) を超える投与量で実施する必要はない。また、強制投与の場合には、通常、技術的に投与できる最大量又は 1,000 mg/kg 体重で何ら毒性影響が認められないときはそれ以上の投与量で実施する必要はない。
- ⑤ 発がん性が陽性の場合、遺伝毒性が陽性であり、遺伝毒性発がん物質と判断されるとき、原則として ADI の設定はできないが、遺伝毒性が陰性であり、非遺伝毒性発がん物質であることが明らかなきは、ADI を設定できる。また、評価対象添加物に遺伝毒性が疑われる不純物又は副生成物がやむを得ず生成又は残留する場合においても、必要な検討を行った上で当該添加物の ADI の設定が可能なきがある (第 1 章第 4 の 3 及び 4 を参照)。
- ⑥ 病変の発生率が比較的低い場合、発がん性の評価に際して、良性腫瘍性病変及び悪性腫瘍性病変の合計又は前がん病変並びに良性腫瘍性病変及び悪性腫瘍性病変の合計により有意差検定を行い、発がん性の有無を評価することがある。特にげっ歯類に好発する内分泌系腫瘍の増加については、前がん病変を含めて発がん性を評価することが望ましい。
- ⑦ 腫瘍の非好発部位における腫瘍の増加が認められた場合又は稀な腫瘍の増加が認められた場合においても、発がんのメカニズムも含めて評価することが望ましい。

- ⑧ がんの発生を修飾する因子（体重増加抑制又は生存率の低下）を考慮して評価を行う。
- ⑨ 動物種に特有の毒性所見（例えば、げっ歯類に特異的な甲状腺濾胞上皮の肥大、過形成及び腫瘍、雄ラットに特異的な腎障害及び腫瘍）については、この特性に留意する必要がある。
- ⑩ 慢性毒性／発がん性併合試験をげっ歯類 1 種について実施した場合には、発がん性試験のげっ歯類 1 種についての試験を省略することができる。
- ⑪ 必要に応じ子宮内暴露相を追加することを検討する。

### （3）1 年間反復投与毒性／発がん性併合試験

（1）及び（2）の留意事項に準じる。

### （4）生殖毒性試験

平成 8 年厚生省ガイドラインの「繁殖試験」に準じるほか、以下のとおりとする。

- ① げっ歯類 1 種以上（通常、ラットが用いられる。）で実施する。雌雄の動物を原則として同数用いる。
- ② 被験物質は経口により週 7 日投与することを原則とする。混餌投与又は飲水投与により行い、困難である場合は強制経口投与を行うことも差し支えない。
- ③ 用量段階は、対照群のほかに少なくとも 3 段階の投与群を設定する。設定した投与群についてはその根拠を明確にするとともに、その公比は適切な NOAEL が求められるものにする。
- ④ 混餌投与の場合は、栄養障害が起こらないように配慮し、通常、飼料添加濃度 5%（W/W）を超える投与量で実施する必要はない。また、強制投与の場合には、通常、技術的に投与できる最大量又は 1,000 mg/kg 体重で何ら毒性影響が認められないときはそれ以上の投与量で実施する必要はない。
- ⑤ 神経毒性又は免疫毒性が疑われた場合には、必要に応じ、OECD テストガイドライン、ICH ガイドライン等に準拠した追加の試験を検討する。

### （5）出生前発生毒性試験

平成 8 年厚生省ガイドラインの「催奇形性試験」に準じて以下のとおり行うが、投与期間は、少なくとも着床日から出産予定日の前日までとし、妊娠動物に連日投与することとする。

- ① げっ歯類 1 種以上（通常、ラットが用いられる。）及び非げっ歯類（通常、ウサギが用いられる。）の合計 2 種以上で実施する。
- ② 被験物質は経口により強制投与する。
- ③ 用量段階は、対照群のほかに少なくとも 3 段階の投与群を設定する。設定した投与群についてはその根拠を明確にするとともに、その公比は適切な NOAEL が求められるものにする。

### （6）遺伝毒性試験

平成 8 年厚生省ガイドラインの「変異原性試験」に準じるが、狭義の「変異原性」に限定されることなく、遺伝毒性全般に係る試験結果を基に評価を行うこととする。なお、標準的组合せ（「微生物を用いる復帰突然変異試験」、「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」及び「げっ歯類を用いる小核試験」）を構成する試験のうち「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」については、マウスリンフォーマ TK

試験 (MLA) 又は *in vitro* 小核試験をもって代えることができる。また、標準的組合せの結果を補足するための追加試験としては、平成 8 年厚生省ガイドラインに例示されているもののほか、単細胞ゲル電気泳動試験 (コメット試験)、*in vivo* トランスジェニック動物突然変異試験が例として挙げられる。ただし、標準的組合せを構成する試験のいずれかにおいて、技術的な制約から実施できないような場合においては、その理由について科学的な根拠に基づき説明を受けた上で、国際的にもバリデーションが行われ妥当性が確認されている試験を代替試験として評価を行う。

試験結果の判断手順は以下のとおり。

- ① 「微生物を用いる復帰突然変異試験」で陽性である場合においては、遺伝子突然変異又は DNA 損傷を指標とする *in vivo* 試験 (コメット試験、*in vivo* トランスジェニック動物突然変異試験等) の結果を十分考慮し、総合的に判断を行う。
- ② 「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」で陽性であり、その作用が「げっ歯類を用いる小核試験」でも確認された場合においては、遺伝毒性は陽性であると判断することができる。
- ③ 「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」で陽性であっても、高用量まで適切に行われた「げっ歯類を用いる小核試験」(標的臓器が暴露されている証明があることが望ましい。) で陰性であれば、遺伝毒性は陰性であると判断することができる。

#### (7) アレルゲン性試験

平成 8 年厚生省ガイドラインの「抗原性試験」を参考とする。化学物質を経口的に摂取した場合のアレルギー誘発能を予測する方法は十分に確立されておらず、特に、即時型アレルギーの誘発性を予測し得る方法は未確立であるが、添加物に係る知見、使用形態等を考慮した上で、専門家が適切と判断した感作及び惹起方法で試験を実施するべきである。当面は、少なくとも遅延型アレルギーを指標とするアレルゲン性試験を実施する必要があるが、モルモットを用いた皮膚感作性試験 (例: OECD テストガイドライン 406 のうちマキシミゼーション試験 (GPMT)) 又はマウスを用いたリンパ節反応試験 (例: OECD テストガイドライン 429 (局所リンパ節試験 (LLNA))) を利用することができる。

なお、タンパク質を構成成分とする添加物のアレルゲン性の評価について

は、「遺伝子組換え食品 (微生物) の安全性評価基準 (平成 20 年 6 月 26 日食品安全委員会決定)」に準じて行うこととする。

#### (8) 一般薬理試験

平成 8 年厚生省ガイドラインの「一般薬理試験」に準じる。

#### (9) その他の試験

亜急性毒性試験等において神経毒性が疑われた場合には、必要に応じ、OECD テストガイドライン等に準拠した追加の試験を行う。亜急性毒性試験等において免疫毒性が疑われた場合には、必要に応じ、ICH ガイドライン等に準拠した追加の適切な免疫機能試験を行う。また、既知の知見からヒトにおいて免疫毒性を示す可能性が疑われる場合においても、必要に応じ、免疫機能試験を行うことを求める。

本試験には平成8年厚生省ガイドラインに沿って実施されたものが含まれる。ただし、被験物質の性質に応じて適切な方法を考慮し、OECDガイドライン、ICHガイドラインに準拠した試験など、試験の目的に沿うように、適宜取捨選択、又は他の方法に置き換えても差し支えない。

なお、上述の食品安全委員会の評価指針には掲載されていないが、本申請書類には急性毒性試験の情報も含めることができる。

90日間反復投与毒性試験を実施した場合は、同じ動物種の28日間反復投与毒性試験の実施を省略することができる。

また、1年間反復投与毒性試験及び発がん性試験を各々所要の動物種について実施した場合は、1年間反復投与毒性／発がん性併合試験を実施する必要はない。また、1年間反復投与毒性／発がん性併合試験をげっ歯類1種について実施した場合には、1年間反復投与毒性試験及び発がん性試験のげっ歯類1種について試験の実施を省略することができる。

\* 「食品常在成分であるか又は食品内若しくは消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかな場合」（食品常在成分等）に該当する添加物の評価では、平成8年厚生省ガイドラインにもとづき、毒性に関する資料の添付を省略することができるが、げっ歯類の28日間反復投与毒性試験及び変異原性試験に関する資料は添付することが望ましい。

\* 酵素の安全性評価については、食品安全委員会の評価指針において、「原則として別表1のデータ等をもって行うが、微生物から得られる酵素であって生産菌株の安全性が明らかではない場合においては、適切な試験を行い、基原微生物の安全性について評価を行う必要がある。病原性のある又は毒素を産生する生産菌については原則として酵素の生産に使用すべきではない。なお、酵素が消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかである場合（平成8年厚生省ガイドラインの表2の事項について検討の上判断する。）には、原則として、別表1のうち毒性に関する資料の添付を省略することができるが、別表2 \*1に掲げる毒性に関する資料は添付する。」とされている。

---

\*1 別表2に掲げる資料：(1) げっ歯類の90日間反復投与毒性試験、(2) 遺伝毒性試験及び(3) アレルゲン性試験に関する資料



(留意点)

- ・既存の評価書から引用する場合も、それぞれの試験の出典を明らかにした上で記載すること。
- ・原則、経口投与による試験について記載すること。
- ・理解しやすくするために結果は表にまとめることが望ましいが、表にするのが難しいものについては、段落を分けて詳細を記述すること。
- ・菌株や細胞の種類、動物種及び系統、性別、匹数、投与方法及び溶媒、投与用量を明記すること。
- ・食品添加物の分解物及び混在する不純物についても必要に応じ、検討を行う。
- ・試験における投与用量は、「一日あたり mg/kg bw」の単位で示すことが望ましい。
- ・当該試験のGLPステータスを示すことが望ましい。

1) 急性毒性試験

- ・急性毒性の結果は、LD<sub>50</sub> (半数致死量) 等で表すことが望ましい。

2) 亜急性毒性試験

- ・定型的反復投与 (28 日間、90 日間反復投与毒性試験) による毒性試験結果については本章に記載する。
- ・観察された毒性所見と発現用量 (統計学的処理を行うこと) に関する情報を記載する。
- ・無毒性量 NOAEL 又は最小毒性量 LOAEL に関する情報を記載する。

3) 慢性毒性試験及び発がん性試験

- ・寿命までの長期間にわたる定型的反復投与 (1 年間反復投与毒性試験、発がん性試験、1 年間反復投与毒性/発がん性併合試験) による毒性試験結果については本章に記載する。
- ・形式は「亜急性毒性試験」に準じるが、発がん性試験では発がん性を示すか否かが主眼となる。

4) 生殖発生毒性試験

- ・繁殖試験 (多世代生殖毒性試験) では、雌雄の動物の生殖機能、発情サイクル、配偶行動、受胎、出産、授乳、及び児動物の成長・行動に関する情報を記載する。
- ・催奇形性試験 (出生前発生毒性試験) では、胎児の発生への影響に関する情報を記載する。

5) 遺伝毒性試験 (変異原性試験)

- ・原体及び必要な場合は代謝物について、*in vitro* 試験 (微生物を用いる復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験等)、*in vivo* 試験 (げっ歯類を用いる小核試験等) に分けて記載する。
- ・代謝活性化の有無等を明記する。

6) その他の試験

- ・アレルギー性試験、一般薬理試験、神経毒性試験、免疫機能試験のような特殊な試験について、必要に応じて記載する。

(記載例)

既存の評価書 <https://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/list?itemCategory=000> が参考となるが、典型例として以下に示す。

急性毒性試験及び遺伝毒性試験については、複数の試験結果をまとめた表とすることが望ましいが、反復投与毒性試験等については、試験ごとの表として記載することが望ましい。なお、表にするのが難しいものについては、段落を分けて詳細を記述してもよい。

### 1) *in vivo* 毒性試験

#### 急性毒性試験

〇〇【被験物質】及び代謝物のラット及びマウスを用いた急性毒性試験成績は表5のとおりであった(引用文献〇)。

表5 急性毒性試験成績概要

被験物質	投与経路	動物種	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状	引用文献
			雄	雌		
〇〇	経口	SD ラット	>5,000	>5,000	水様便	〇〇、〇〇年
		ICR マウス	>4,000	>4,000	1,000mg/kg 体重で 1 匹 死亡	〇〇、〇〇年
	経皮	F344 ラット	2,500	3,000	症状及び死亡例なし	〇〇、〇〇年
	吸入	SD ラット	>10	>10	下痢、眼瞼下垂	〇〇、〇〇年
代謝物 A	経口	SD ラット	>2,000	>2,000	水様便	〇〇、〇〇年

#### 反復投与毒性試験・発がん性試験

《1. 結果を表にまとめた場合》

〇〇【筆者名】(〇〇【報告年】)の報告によれば、〇〇齢の〇〇【動物種】(各群雌雄各〇匹【群設定】)に〇〇【被験物質】を表6のような投与群を設定して、〇〇【期間】〇〇投与【投与方法】する試験が GLP に準拠して実施されている(引用文献〇)。

表6 用量設定

用量設定 (% 又は ppm)	A、B、C
mg/kg 体重/日に換算	A'、B'、C'

その結果、一般状態、体重、摂餌量、摂水量等観察項目、血液学的検査、尿検査、眼科学的検査、について投与に関連した影響は認められなかったとされている。血液生化学的検査において、B' mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で ALT 及び AST の上昇が認められたとされている。また、B' mg/kg 体重/日投与群の雄では、Na の増加が認められている。本所見について、関連する他の電解質変化及び用量相関性が見られないことから、毒性所見ではないと判断している。

臓器重量では、B' mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び C' mg/kg 体重/日投与群の雌で肝臓の絶対及び相対重量の増加が認められたとされている。また、病理組織学的検査において、B' mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大が認められ、C' mg/kg 体重/日投与群の雄で肝細胞の単細胞壊死が認められたとされている。これらの所見について、用量相関性のある一貫した変化であることから、毒性であると判断している。以上より、本試験における NOAEL を A' mg/kg 体重/日としている。

表7 【試験名】毒性試験（〇〇【動物種】）で認められた毒性所見

投与量	雄	雌
C' mg/kg 体重/日	肝細胞の単細胞壊死	肝臓の絶対及び相対重量の増加
B' mg/kg 体重/日以上	ALT 及び AST の上昇 肝臓の絶対及び相対重量の増加 小葉中心性肝細胞肥大	ALT 及び AST の上昇 小葉中心性肝細胞肥大

《2. 結果をまとめるにあたり表を用いない場合》

〇〇【筆者名】（〇〇【報告年】）の報告によれば、〇〇齢の〇〇【動物種】（各群雌雄各〇匹【群設定】）に〇〇【被験物質】（〇、〇、〇 mg/kg 体重/日）を〇〇【期間】 〇〇投与【投与方法】する試験が GLP に準拠して実施されている。その結果、〇〇【一般状態、体重、摂餌量、摂水量等観察項目、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、その他の機能検査、剖検、病理組織学的検査等検査項目について個々に記載】に投与に関連した影響は認められなかったとされている。〇〇【一般状態、体重、摂餌量、摂水量等観察項目、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、その他の機能検査、剖検、病理組織学的検査等検査項目について個々に記載】において、〇〇【用量】投与群の〇〇【雌雄】で〇〇【所見】が認められたとされている。本所見について、〇〇【理由】から、毒性である（／ではない）と判断している。以上より、本試験における NOAEL (LOAEL) を〇〇【用量】と評価している（引用文献〇）。

**生殖発生毒性試験**についても基本は上記と同じである。

繁殖試験の観察項目・検査項目は、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、妊娠出産に関する項目（交尾率、

妊娠率、出産率等)、新生児に関する項目(産児数、死児数、生存児数、外表異常、剖検結果等)、剖検結果、病理組織学的検査結果等。

催奇形性試験の観察項目・検査項目は、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、母動物及び胎児の剖検結果等。

〇〇【筆者名】(〇〇【報告年】)の報告によれば、〇〇齢の〇〇【動物種】(各群雌雄各〇匹【群設定】)に〇〇【被験物質】の混餌(A、B、C ppm)投与による2世代繁殖試験がGLPに準拠して実施されている。P世代親動物は2回交配、出産させ(児動物:F<sub>1a</sub>、F<sub>1b</sub>)、F<sub>1b</sub>をF<sub>1</sub>世代の親動物とし、2回交配、出産させた(児動物:F<sub>2a</sub>、F<sub>2b</sub>)。その結果、親動物では、C ppm投与群においてPの雌雄及びF<sub>1</sub>の雌に体重増加抑制が認められた。また、Pの雌の全試験期間及びF<sub>1</sub>の2授乳期間において摂餌量が減少したとされている。児動物では、C ppm投与群においてF<sub>1</sub>児及びF<sub>2</sub>児において、分娩後4日間の生存率は全て低値を示し、F<sub>1b</sub>児、F<sub>2a</sub>児及びF<sub>2b</sub>児では体重増加抑制が見られた。これらの所見は、親動物における毒性作用に対する二次的な影響が考えられるとされている。

以上より、本試験におけるNOAELを親動物及び児動物でB ppm(P雄:b mg/kg体重/日、P雌:e mg/kg体重/日、F<sub>1</sub>雄:h mg/kg体重/日、F<sub>1</sub>雌:k mg/kg体重/日相当)であり、催奇形性は認められないとしている(引用文献〇)。

表8 2世代繁殖試験(〇〇【動物種】)の平均検体摂取量

投与群		A ppm	B ppm	C ppm	
平均摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	a	b	c
		雌	d	e	f
	F1 世代	雄	g	h	i
		雌	j	k	l

表9 2世代繁殖試験(〇〇【動物種】)で認められた毒性所見

	投与量	第1世代 (親:P、児:F <sub>1a,1b</sub> )		第2世代 (親:F <sub>1b</sub> 、児:F <sub>2a,2b</sub> )	
		雄	雌	雄	雌
親動物	C ppm	体重増加抑制	体重増加抑制 摂餌量減少	毒性所見なし	体重増加抑制 摂餌量減少
児動物	C ppm	ほ育児生存率の 低値 体重増加抑制	ほ育児生存率 の低値 体重増加抑制	ほ育児生存率 の低値 体重増加抑制	ほ育児生存率 の低値 体重増加抑制

2) 遺伝毒性試験 (変異原性試験)

表 10 *in vitro* 遺伝毒性試験概要

試験種類	試験対象	被験物質	処理濃度・投与量	結果	引用文献
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA 〇〇、TA 〇〇株)		〇~〇 mg/プレート (+/-S9)	陰性	〇〇、〇〇年
	<i>S. typhimurium</i> (TA 〇〇、TA 〇〇株)		〇~〇 mg/プレート (+/-S9)	陽性	〇〇、〇〇年
染色体異常試験	チャイニーズハムスター 一卵巣由来細胞 (CHO 細胞)		〇~〇 mg/mL (-S9) 〇~〇 mg/mL (+S9)	陰性	〇〇、〇〇年
	ヒト末梢血リンパ球		〇~〇 mg/mL (-S9) 〇~〇 mg/mL (+S9)	陰性 陽性	〇〇、〇〇年

表 11 *in vivo* 遺伝毒性試験概要

試験種類	試験対象	被験物質	処理濃度・投与量	結果	引用文献
小核試験	〇〇マウス;雌雄各 5 匹 (骨髓細胞)		〇, 〇, 〇 mg/kg 体 重 (単回経口投与)	陰性	〇〇、〇〇年
	〇〇マウス;雌雄各 5 匹 (肝細胞)		〇, 〇, 〇 mg/kg 体 重 (単回経口投与)	陽性	〇〇、〇〇年
レポーター 遺伝子 導入動物 変異試験	<i>gpt delta</i> マウス;雌 雄各 5 匹 (肝臓、腎臓)		〇, 〇, 〇 mg/kg 体 重 (〇週間経口投 与)	陰性	〇〇、〇〇年

3 ヒトにおける知見

ヒトにおける安全性や有害作用を推定することが目的であるため、入手可能なヒトでの情報は記載が望まれる。

食品安全委員会の評価指針において、以下のとおり記載されている。

ヒトにおける適切な臨床試験、疫学データ等があれば活用する。また、アレルギー性が疑われる場合には、動物試験の結果をヒトに外挿することは困難な場合が多いことから、ヒトにおける知見を重視する。

ヒトを対象として行われた試験について、疫学調査、臨床経験、ケーススタディによる観察、職業ばく露におけるヒトへの健康影響研究、中毒に関する報告、ボランティアによるアレルギー試験等が含まれる。

(留意点)

- ・既存の評価書から引用する場合も、それぞれの試験の出典を明らかにした上で記載すること。
- ・性別、年齢、人数、健康状態、投与方法、投与用量を明記すること。

(記載例)

#### 介入研究

〇〇【筆者名】(〇〇【報告年】)の報告によれば、〇〇年、〇〇【場所】において、〇〇～〇〇歳(平均〇〇歳)の〇〇【被験対象集団】について、プラセボ群(〇〇例)又は〇〇【被験物質】(〇 mg/kg 体重/日)摂取群へ二重盲検法により無作為に割り付け、1日〇回〇〇【投与方法(朝食時にカプセルとしてなど)】〇〇【期間】経口摂取させる無作為割り付け臨床試験が実施されている。その結果、〇〇【一般状態、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査等観察項目】について、被験物質の投与に関連した影響が認められなかった(〇〇の影響が認められた)(引用文献〇)。

#### コホート研究

〇〇【評価文書発表元】の報告で引用されている〇〇【筆者名】(〇〇【報告年】)の報告によれば、〇〇【場所】の〇性〇〇例(〇〇～〇〇歳)について、〇〇年間のコホート研究が実施されている。その結果、〇〇例が〇〇【疾病】に罹患したとされている。〇〇【疾病】の相対危険度は、〇〇【被験物質】摂取量が〇 mg/kg 体重/日未満の群と比較した場合、〇 mg/kg 体重/日以上で〇〇(95% CI= 〇〇～〇〇)であり、〇 mg/kg 体重/日以上で〇〇【被験物質】摂取は〇〇【疾病】のリスクの上昇に強い相関が認められるとしている(引用文献〇)。

#### その他

今回の評価品目について、経口投与によるヒト対象試験の報告は見当たらないが、〇〇【筆者名】(〇〇【報告年】)による次のような関連データがある。

〇〇の患者に〇〇【被験物質】(〇 mg/kg 体重/日)を〇〇【期間】経口投与したところ、全例に医学的な異常所見は認められず、摂取した量の〇%が尿中に検出された(引用文献〇)。

#### 4 一日摂取量の推計等

食品安全委員会の評価指針において、以下のとおり記載されている。

- 1 我が国における一日摂取量を推計する。推計に当たっては、摂取量の推計値が過小にならないよう留意する。原則として、使用対象食品の一日摂取量に添加物の使用量を乗じて求める。食品の一日摂取量は、国民健康・栄養調査の食品群別摂取量又はその他の資料等により適切に推定する。また、マーケットバスケット調査や生産量統計を基にした調査など信頼できる手法によって得られたデータに基づく推定も採用が可能である。なお、推定一日摂取量は、体重 50 kg と仮定して推定する。
- 2 推定一日摂取量と、毒性試験から求められる ADI を比較した結果について考察する。なお、考察に当たっては、同種の添加物等が併せて摂取される場合等の安全性についても、累計した推定一日摂取量とグループ ADI とを比較すること等により、必要に応じて検討する。
- 3 我が国の食物摂取の実態を踏まえ、栄養成分の過剰摂取や電解質バランスへの影響等についても、必要に応じて検討する。

食品添加物の一日摂取量の推計には、(1) 使用対象食品の一日摂取量に食品添加物の使用量を乗じて求める方法、(2) マーケットバスケット方式による方法及び (3) 生産量統計調査による方法が用いられる。このため、(1) ~ (3) の方法について紹介する。

(留意点)

- ・使用基準で最大使用濃度を設定する場合は、原則として、使用対象食品の一日摂取量に食品添加物の使用量を乗じて求める方法による推計を行うこと。
- ・使用基準改正で対象食品を拡大する場合、現行の摂取量推計だけではなく、拡大後の摂取量の増加量も推計すること。

(1) 使用対象食品の一日摂取量に食品添加物の使用量を乗じて求める方法について

使用対象食品  $f$  の一日摂取量 ( $I$ ) 及び食品添加物  $x$  の濃度 ( $C$ ) から食品添加物の一日推計摂取量を求める式は次の通りである。

$$\text{食品添加物の一日推計摂取量} = \sum_{f=1}^F (I_f \times C_{xf})$$

上式において、 $F$  は食品添加物  $x$  が含有される可能性のある食品の総数を示し、 $C_{xf}$  は食品  $f$  中の食品添加物  $x$  の濃度である。すなわち、(食品添加物の一日推計摂取量) = (食品添加物が含有される食品の摂取量)  $\times$  (食品中の食品添加物濃度) の総和、である。

使用対象食品の一日摂取量は、厚生労働省が実施した国民健康・栄養調査として公表されている。

- ・国民健康・栄養調査：[http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou\\_eiyou\\_chousa.html](http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou_eiyou_chousa.html)

【参考情報】

コーデックスは、食品中の食品添加物濃度の参照値が存在する場合には理論的 maximum 一日摂取量 (TMDI) を推計し、TMDI が ADI より超過している場合に一日推計摂取量 (EDI) アプローチを用いる方法を提唱している。

TMDI は各食品の一人あたりの平均一日食品消費量に、各国の規制で定められるか国際的に定められる食品添加物の最大使用基準値を乗じて、その結果値を合算することにより求められるものである。TMDI は特定の集団による食品消費については考慮していないため、食品添加物摂取に関するおおまかな指標として考えることが望ましい。TMDI の計算においては下記の事項 a) – e) を仮定している。

- a) 食品添加物の含有が許容されている全食品が相加的である。
- b) 食品添加物は常に最大許容量で存在する。
- c) 食品添加物が含有される対象食品は一人あたりの日常的な平均値で消費される。
- d) 食品添加物含有量は調理や加工技術により減少しない。
- e) 食品添加物の含有が許容される全食品が摂取され、廃棄されることはない。

EDI は平均的な食品消費者により一日に摂取される食品添加物量の推計値であり、a) 産業界による食品添加物の実際の使用濃度、又は b) Good Manufacturing Practice (GMP) に準拠した適切な製造・品質管理による必要最小限の食品添加物の使用が認められている場合にはその実際の使用濃度に可能な限り近い値、を用いて求められる。

参考 1: Guidelines for simple evaluation of food additive intake CAC/GL 03-1989  
[www.codexalimentarius.org/input/download/standards/6/cxg\\_003e.pdf](http://www.codexalimentarius.org/input/download/standards/6/cxg_003e.pdf)

参考 2: FDA Guidance for Industry: Estimating Dietary Intake of Substances in Food  
<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/ucm074725.htm#ftn1>

## (2) マーケットバスケット方式による方法について

スーパー等で売られている食品を購入し、その中に含まれている食品添加物の量を測り、その結果に食品の喫食量を乗じて摂取量を求める方法である。厚生労働省において実施したマーケットバスケット方式の結果が公表されている。

使用基準改正の際に現行の摂取量を推計する場合や、指定要請時に同一の用途の食品添加物が置き換わると仮定して摂取量を推計する場合に用いられている。

- ・マーケットバスケット方式による年齢層別食品添加物の一日摂取量の調査：

[http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuten/sesshu/](http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuten/sesshu/)

## (3) 生産量統計調査による方法について

厚生労働省が実施した生産量統計調査（日本国内の食品添加物製造業者及び輸入販売事業者に対する



アンケート調査を実施し、食品添加物の出荷量を推計したもの)の結果が公表されている。

使用基準改正の際に現行の摂取量を推計する場合や、指定要請時に同一の用途の食品添加物が置き換わると仮定して摂取量を推計する場合に用いられている。

(記載例)

① 使用対象食品の一日摂取量に食品添加物の使用量を乗じて求める方法

平成 20 年度国民健康・栄養調査結果の食品群別摂取量(総数)から推計した砂糖・アドバンテームの一日推計摂取量 (一部抜粋)

食品名	食品摂取量 (g)	ショ糖推定 摂取量 (g)	アドバンテ ーム添加量 (ppm)	アドバンテーム推定摂取量	
				(mg)	(mg/kg 体重/日)
パン類 (菓子パン除く)	30.7	1.842	3.00	0.09	0.00184
菓子パン類	5.7	1.425	12.50	0.07	0.00143
砂糖・甘味料類	6.7	6.633	49.50	0.34	0.00670
葉類漬物	5.1	0.2244	2.20	0.01	0.00022
たくあん・その他の漬物	9.5	0.855	4.50	0.04	0.00086
ジャム	1.2	0.6	25.00	0.03	0.00060
果汁・果汁飲料	10.0	0.5	2.50	0.03	0.00050
魚介 (佃煮)	0.3	0.03	5.00	0.00	0.00003
魚介 (練り製品)	9.8	0.196	1.00	0.01	0.00020
魚肉ハム、ソーセージ	0.6	0.00996	0.83	0.00	0.00001
ハム・ソーセージ類	11.0	0.11	0.50	0.01	0.00011
発酵乳・乳酸菌飲料	19.9	2.189	5.50	0.11	0.00219
その他の乳製品	6.6	0.132	1.00	0.01	0.00013
和菓子類	12.4	3.1	12.50	0.16	0.00310
ケーキ・ペストリー類	6.5	2.275	18.00	0.12	0.00234
ビスケット類	1.7	0.425	12.50	0.02	0.00043
キャンデー類	0.3	0.3	50.00	0.02	0.00030
その他の菓子類	5.8	1.45	12.50	0.07	0.00145
コーヒー・ココア	118.8	3.564	3.10	0.37	0.00737
その他の嗜好飲料	81.2	5.684	9.40	0.76	0.01527
ソース	1.9	0.19	5.00	0.01	0.00019
マヨネーズ	2.8	0.056	1.00	0.00	0.00006
その他の調味料	61.4	3.07	2.50	0.15	0.00307
合計	409.9	34.86		2.42	0.0484

② マーケットバスケット方式及び生産量統計調査による方法

サッカリンカルシウムの用途は現在指定添加物であるサッカリン、サッカリンナトリウムと同様に甘味料としての利用である。サッカリンカルシウムの物理化学的性質はナトリウム塩と類似していること、安全性上もサッカリン及び同ナトリウムとのグループ化合物として評価することが適当であるとされていることなどから、使用基準（案）は前記のようにサッカリンナトリウムと同様とし、認可食品における最大使用量はサッカリンナトリウムとの合計量で示されている。従って、本品の一日摂取量は、現在のサッカリンとしての摂取量を基本に推定することが適当である。

#### 厚生労働省調査による現在のサッカリンの摂取量

サッカリンは天然には存在しない合成化学物質であり、マーケットバスケット方式によるサッカリンの摂取量は、食品向けに使用され、人が食したサッカリン及びサッカリンナトリウムの摂取量を示している。1人あたりの一日摂取量は、1982年から1994年まで0.5～1 mg 前後、1997年に2.88 mg と高値を示した後、2002年0.65 mg、2006年0.18 mg であり、全体として減少傾向が認められる。かような減少傾向は、近年合成品も天然由来品も新規甘味料の上市が続き、サッカリンの代替が進行したことを反映していると思われる。

なお、生産量統計調査による方法では、調査年1998年、2001年の1人あたりの一日摂取量は、サッカリンナトリウムはそれぞれ3.70 mg、2.68 mg、サッカリンは0.0015 mg、0.0015 mg と報告されており(引用文献○)、上記マーケットバスケット方式に比べ数値が高い。かような差の原因は、生産量統計調査による方法では食品添加物として出荷されたが、実際には食品以外の用途にも使用されたものも含まれていることによる可能性がある。なお、上記マーケットバスケット方式による最新のデータである0.18 mg/人/日は、JECFAADI 5 mg/kg 体重/日の約0.07%（体重50 kg として）に相当する。

#### iv. 成分規格案

成分規格案には、①～⑱のうち、当該食品添加物の安全性、有効性に関し、一定の品質を担保するために必要なものを設定する。

- ① 名称
- ② 英名及び英名別名
- ③ 日本名別名
- ④ 構造式又は示性式
- ⑤ 分子式又は組成式及び分子量又は式量
- ⑥ 化学名
- ⑦ ケミカルアブストラクツサービス登録番号（CAS 登録番号）
- ⑧ 定義
- ⑨ 含量、酵素活性
- ⑩ 性状
- ⑪ 確認試験
- ⑫ 示性値
- ⑬ 純度試験
- ⑭ 乾燥減量、強熱減量又は水分
- ⑮ 強熱残分、灰分又は酸不溶性灰分
- ⑯ 微生物限度
- ⑰ 定量法又は酵素活性測定法
- ⑱ 保存基準

#### 成分規格案作成上の留意事項

- ① 名称  
一般名を設定する。
- ② 英名及び英名別名  
英名別名は、表示に必要な場合に設定する。
- ③ 日本名別名  
表示に必要な場合に設定する。
- ④ 構造式又は示性式  
有機化合物については食品添加物公定書を参考に記載する。
- ⑤ 分子式又は組成式及び分子量（式量）  
食品添加物公定書の通則に準拠して記載する。ただし、混合物の場合は、含有する成分それぞれについて、分子式及び分子量等の情報を記載する。
- ⑥ 化学名  
IUPAC 命名法による。
- ⑦ CAS 登録番号

CAS Registry Number を記載する。

## ⑧ 定義

当該品目の基原、製法、本質、混在物等を記載する。

化学的に合成された添加物の場合は、化学名のみで本質が特定できないとき等には必要に応じて、原料、製造方法の概要あるいは成分組成を記載する。なお、化学合成された高分子化合物については合成原料等を記載する。

動植物、微生物の抽出物、鉱物等に由来する添加物の場合は、その基原を記載する。

- ・原則として、基原生物の「種名」を、動植物は標準和名と学名で示し、微生物は学名で示す。学名には、根拠となる情報(引用元(データベース)等)を示す。科名は省略する。同属複数種を広く使用している場合や「属」以下の「種」が同定されていない場合には、属名までを示す。
- ・植物分類学でのルールとして、「種」まで示した場合には、その下の「変種」、「亜種」、「栽培種(園芸品種)」も含む。したがって、特に必要でない限り、「種」以下の「変種」、「亜種」、「栽培種(園芸品種)」は示さない。
- ・学名の synonyms の中で2つ程度が広く使用されており、特定の1つのみを記載すると誤解を招くおそれがある場合には synonym を併記する。
- ・和名が複数存在する場合は、標準和名又は分類学上確立している名称を採用する。
- ・植物や微生物の名称として、種名ではないが一般に使われている総称的な呼び名を、必要に応じて使用してもよい。

[例] ブドウ、ビート、アブラナ、グラム陽性細菌、放線菌、糸状菌、酵母

- ・適切な標準和名が存在しない場合には、個別事例ごとに判断する。例えば、海外で採取され、国内では自生も栽培もしない植物には、植物分類学上確立した和名がない。

## ⑨ 含量、酵素活性

含量は、製造過程、定量誤差及び安定性等に基づき、安全性と有効性に関して同等とみなせる一定品質を保証するのに必要な値を設定する。

食品添加物としての有効成分の含量を%で示し、有効成分が2種以上存在する場合は、それぞれについて記載する。

酵素には、「酵素活性」を規定する。また、食品添加物の成分規格案において主成分等の量を一定の生物学的作用すなわち力価で表すときは、その成分規格案に規定する単位を用いる。

## ⑩ 性状

性状は、使用時の識別及び取扱い上必要となる事項について、通例、におい、色、形状等を記載する。ただし、特殊な形状を持つ物質については、粒度、粒度の分布、形態などの情報を示す。

## ⑪ 確認試験

確認試験は、当該物質が目的の食品添加物であるか否かをその特性に基づいて確認するための試験である。

確認試験以外の項目の試験によっても食品添加物の確認が可能な場合には、それらを考慮に入れることができる。例えば、定量法に特異性の高いクロマトグラフィーを採用する場合には、確認試験を簡略化することができ、重複する内容で設定する必要はない。