

【引用文献】

- 1) 21 CFR Ch.I (4-1-03 Edition) Food and Drug Administration, HHS.§184.1538 2003.
- 2) European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 Feb 1995 on food additives other than colours and sweeteners
- 3) FAO Nutrition Meetings Report Series: 45A 1968 Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some antibiotics: 33-35.
- 4) Nisin (E234) new specification – process modification/ liquid eggs application (ダニスコ社が欧州委員会に提出した規格変更、液卵用途追加の要望資料 (2005年10月24日))
- 5) Re:Nisin (INS 234) - Specification Modification, November 24, 2006 (ダニスコ社がJECFAに提出した規格変更の要望資料 (2006年11月24日))
- 6) Nisin (INS 234) - Specification Revision, November 24, 2006 三栄源エフ・エフ・アイ(株) 社内資料 (ダニスコ社がJECFAに提出した規格変更の要望資料 (2006年11月24日))
- 7) 乳培地及び糖培地由来ナイシンAのHPLC分析比較. 三栄源エフ・エフ・アイ(株) 社内資料. (2007年11月)
- 8) SDS-PAGE Analysis of Nisaplin and Nisaplin Dairy、ダニスコ社内資料 (2007年11月14日)
- 9) Claypool L, Heinemann B, Voris L, Stumbo CR. Residence time of nisin in the oral cavity following consumption of chocolate milk containing nisin. *J. Dairy Sci.* (1966) 49: 314-316.
- 10) Cowell ND, Allen AR, Jarvis B. The *in vivo* effect of nisin on the microflora of the oral cavity. *J. Appl. Bact.* (1971) 34: 787-791.
- 11) Hara S, Yakazu K, Nakakawaji K, Takeuchi T, Kobayashi T, Sata M, Imai Z, Shibuya T. An investigation of toxicity of nisin with particular reference to experimental studies of its oral administration and influence by digestive enzymes. *J. Tokyo Med. Coll.* (1962) 20: 176-207.
- 12) Heinemann B, Williams R. Inactivation of nisin by pancreatin. *J. Dairy Sci.* (1966) 49: 312-314.
- 13) Jarvis B, Mahoney RR. Inactivation of nisin by alpha-chymotrypsin. *J. Dairy Sci.* (1969) 52: 1448-1450.
- 14) Hirsch A, Wheeler DM. The production of antibiotics by *Streptococci*. *J. Dairy Res.* (1951) 12: 193-197.
- 15) 川本伸一, 島純. 乳酸菌科学の最前線-どこに向かうのか 乳酸菌バクテリオシンとその利用. *Foods & Food Ingred. J. Jpn.* (2004) 209: 758-767.
- 16) Gravesen A, Kallipolitis B, Holmstrom K, Hoiby PE, Ramnath M, Knochel S. pbp2229-Mediated nisin resistance mechanism in *Listeria monocytogenes* confers cross-protection to class IIa bacteriocins and affects virulence gene expression. *Appl.*

- Environ. Microbiol.* (2004) 70: 1669-1679.
- 17) Rasch M, Knochel S. Variations in tolerance of *Listeria monocytogenes* to nisin, pediocin PA-1 and bavaricin A. *Lett. Appl. Microbiol.* (1998) 27: 275-278.
 - 18) Crandall AD, Montville TJ. Nisin resistance in *Listeria monocytogenes* ATCC 700302 is a complex phenotype. *Appl. Environ. Microbiol.* (1998) 64: 231-237.
 - 19) Song H-J, Richard J. Antilisterial activity of three bacteriocins used at sub minimal inhibitory concentrations and cross-resistance of the survivors. *Int. J. Food Microbiol.* (1997) 36: 155-161.
 - 20) Hossack DJN, Bird MC, Fowler GG. The effects of nisin on the sensitivity of microorganisms to antibiotics and other chemotherapeutic agents. *Antimicrobials and Agriculture* (1983) 425-433.
 - 21) 'Purified nisin: Acute oral toxicity (limit test) in the rat'. SPL Project Number: 867/002. SafePharm Laboratories, November 1995. Unpublished Confidential Report.
 - 22) Shtenberg AJ, Ignat'ev AD. Toxicological evaluation of some combinations of food preservatives. *Fd. Cosmet. Toxicol.*(1970) 8: 369-380.
 - 23) 'Ambicin N (purified nisin): 7 Day oral (gavage administration) toxicity study in the rat'. Corning Hazleton. Report No. 1334/3-1050. December 1995. Unpublished Confidential Report.
 - 24) 'Ambicin (purified nisin): 28 Day oral (gavage administration) toxicity study in the rat'. Corning Hazleton. Report No. 1334/1-1050. April 1996. Unpublished Confidential Report.
 - 25) Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Environmental Health Criteria 70. IPCS in cooperation with the JECFA. World Health Organization, Geneva. (1987).
 - 26) Frazer AC, Sharratt M, Hickman JR. The biological effects of food additives. I. -Nisin. *J. Sci. Food&Agri.* (1962) 13: 32-42.
 - 27) Pesquera TI. Nisin -its use, estimation and toxicity in sterilised milk. *Revista Espanola de Lecheria.* (1966) 59: 25-41.
 - 28) ナイシンAのラットを用いた90日間反復投与毒性試験 試験番号0637
株式会社DIMS医科学研究所 (最終報告書 2007.6.27)
 - 29) 'Ambicin N (purified nisin): Maximum tolerated dose (MTD) toxicity study followed by a 7 day fixed dose oral (gavage administration) toxicity study in the dog'. Corning Hazleton. Report No. 1334/4-1050. December 1995. Unpublished Confidential Report.
 - 30) 'Ambicin (purified nisin): 28 Day oral (gavage administration) toxicity study in the dog'. Corning Hazleton. Report No. 1334/1-1050, Corning Hazelton (Europe), Harrogate N. Yorkshire, England. April 1996.
 - 31) 'Effect of nisaplin on reproductive function of multiple generations in the rat'. Huntingdon Research Centre. Report No. APL 1/801028, June 1981. Unpublished

- Confidential Report.
- 32) 'Ambicin N (purified nisin). Bacterial mutation assay'. Huntingdon Life Sciences. Report No. APM 1/952077, November 1995 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
 - 33) 'Ambicin N. Mouse lymphoma mutation assay'. Inveresk Research International. Report number 12242, December 1995 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
 - 34) 'Ambicin (purified nisin). Metaphase chromosome analysis of human lymphocytes cultured in vitro'. Huntingdon Life Sciences. Report No. APM 2/952601, April 1996 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
 - 35) 'Ambicin N (purified nisin). Induction of micronuclei in the bone marrow treated mice'. Corning Hazleton. Report No. 1334/5-1052, January 1996 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
 - 36) JECFA. 「NISIN PREPARATION」
(<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/monograph4/additive-295-m4.pdf>)
 - 37) Federal Register : 53 FR 11247, Apr. 6, 1988, Food and Drug Administration, HHS.
 - 38) Memorandum of November 9, 1984, from Alfred N. Milbert to John W. Gordon.
 - 39) Food-science and techniques Reports of the Scientific Committee for Food (Twenty-sixth series). Commission of the European Communities. (1992)
 - 40) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to The use of nisin (E234) as a food additive. Question number EFSA-Q-2005-031 (Adopted on 26 January 2006) 314; 1-16
 - 41) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on the safety in use of nisin as a food additive in an additional category of liquid eggs and on the safety of nisin produced using a modified production process as a food additive. Question number EFSA Q-2005-031b (Adopted on 20 October 2006) 314b; 1-8
 - 42) Agency Response Letter GRAS Notice No.GRN 000065.
 - 43) Shillinger Y, Bogoroditskaia VP, Osipova IN. Hygienic characteristics of a Soviet-made preparation nisin –an antibiotic employed for preservation of food products. (1969) 28:44-48
 - 44) 健康・栄養情報研究会編：国民栄養の現状（平成 16 年厚生労働省国民健康・栄養調査結果）平成 16 年
 - 45) Hirsch A, Mattick ATR. Some recent applications of nisin. *The Lancet*. (1949) 190: 190-7.

ナイシン 安全性試験結果

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量 又は濃度	試験結果	参考資料
急性毒性	単回 (7日間 観察)	ラット	経口	記載なし	ナイシン製剤 (10^6 U/g)	最高 10^6 U/kg 体重	LD_{50} : $>10^6$ U/kg 体重	26
			腹腔内	記載なし	ナイシン製剤 (10^6 U/g)	最高 10^6 U/kg 体重	LD_{50} : $>10^6$ U/kg 体重	
	単回 (2週間 観察)	ラット	経口	雌雄各 5	精製ナイシン (52.2×10^6 U/g)	2,000 mg/kg 体重	LD_{50} : $>2,000$ mg/kg 体重	21
	単回 (7日間 観察)	ラット	強制経口	3	ナイシン製剤 (10^6 U/g)	(0.5、1.0、1.5) $\times 10^6$ RU/kg 体重	LD_{50} : $>1.5 \times 10^6$ U/kg 体重	27
	単回	マウス	経口	10	ナイシン製剤 (10^6 U/g)	6,000-8,000 mg/kg 体重	LD_{50} : 6,950 mg/kg 体重	11
			腹腔内	10	ナイシン製剤 (10^6 U/g)	3,500-6,000 mg/kg 体重	LD_{50} : 4,750 mg/kg 体重	
			皮下注	10	ナイシン製剤 (10^6 U/g)	3,500-5,000 mg/kg 体重	LD_{50} : 4,450 mg/kg 体重	
	単回	ウサギ	静注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD_{50} : 約 30 mg/kg 体重	45
			筋注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD_{50} : 200 mg/kg 体重	
			皮下注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD_{50} : $>1,000$ mg/kg 体重	
亜急性毒性	2ヶ月間	マウス	経口	雌雄各 25	ナイシン製剤 (10^6 IU/g)	0.4、4.0、400 mg/kg 体重/日	雄の全投与群で体重増加が上昇。生存率、摂餌量には変化なし。	22
	3ヶ月間	マウス	経口	雌雄各 50	ナイシン製剤 (10^6 IU/g)	4.0 mg/kg 体重/日	投与後 2.5ヶ月の生存率が低下した。	22
	10日間	ラット	経口	雌雄各 5	精製ナイシン (51.6×10^6 IU/g)	0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日	雄でヘモグロビン濃度、赤血球数、平均赤血球容積に用量に相関した減少がみられた。雌でも低値を示したが、用量相関性はなかった。	23
	28日間	ラット	経口	雌雄各 10	精製ナイシン (49.6×10^6 IU/g)	0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日	投与に関連した変化はみられなかった。	24
	28日間	イヌ	経口	雌雄各 3	精製ナイシン ($49.1-51.1$) $\times 10^6$ IU/g)	0、150、500、2,000 mg/kg 体重/日	2,000 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 150 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で、対照群と比較して体重増加抑制がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で摂餌量の減少が認められた。	29
	12週間	ラット	混餌	雄 10	ナイシン製剤 (10^6 U/g)	(0、2.00、3.01、4.01) $\times 10^7$ U/kg 飼料 [(0、1.0、1.51、2.01) $\times 10^6$ U/kg 体重/日]*4	投与群と対照群との間に体重、一般状態及び行動及び剖検時の所見に差は認められなかった。	26
	12週間	ラット	混餌	雌雄各 5 *1	ナイシン製剤 (10^6 RU/g)	10^4 RU/g 飼料 [0.5 $\times 10^6$ RU/kg 体重/日]*4	投与群と対照群との間に体重増加、生殖率の差はみられず、胎児は全て正常であった。	27
	90日間	ラット	経口	雄 5	ナイシン製剤 (10^6 U/g)	0.5 ~ 5,000 U/kg 体重/日	投与に起因した変化はみられなかった。	11

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量又は濃度	試験結果	参考資料
亜急性毒性 (続き)	10+25週間*2	ラット	混餌	雄 10	ナイシン加水分解物	(ナイシンとして) 3.33 × 10 ⁶ U/kg飼料	体重増加に影響はみられなかった。個別ケージで飼育したラットの脾臓重量の増加がみられたが、グループ飼育群にはみられず、他の指標にも影響が認められなかった。	26
	90日間	ラット	混餌	雌雄各 10	ナイシン A (3×10 ⁶ IU/g)	0、0.2、1.0 及び 5.0%飼料中濃度 [約 120、600、3,000 mg/kg 体重/日相当] 参照対照群：3.712%NaCl 添加飼料 [約 2,200 mg/kg 体重/日相当]	投与期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査及び肉眼的病理検査において被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。5.0%投与群の雌雄で HGB の上昇、MCH の上昇、5.0%投与群の雌で MCHC の上昇が認められた。また、ナイシン A 投与群において、一部の観察項目において、変動が認められているが、参照対照群においても観察されており、NaCl の影響と考えられる。 [NOAEL : 1.0% (45 mg/kg 体重/日相当)]	28
	12日間 (MTD Phase)/ 7日間 (Fixed Dose Phase)	イヌ	経口	雌雄各 2	MTD Phase : 精製ナイシン (51.6 × 10 ⁶ IU/g) Fixed Dose Phase : 精製ナイシン (50.6 × 10 ⁶ IU/g)	0 (対照群)、あるいは 500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日と増量 対照群について、続いて 2,000 mg/kg 体重/日	投与に起因する変化はみられず、2,000 mg/kg 体重/日投与で毒性はみられなかった。	29
慢性毒性	18ヶ月間	ラット	混餌 (ペースト状)	雌雄各 10	ナイシン製剤 (10 ⁶ IU/g)	2.0 mg/kg 体重/日	平均摂餌量は変化なし。摂水量が雌で高値を示した。血液 pH、C 反応性蛋白及び血液形態学的評価は対照群と同程度であった。	22
慢性毒性/繁殖	2年間	ラット	混餌	雄 15、雌 30	ナイシン製剤 (10 ⁶ U/g)	0、3.33×10 ⁴ 、3.33×10 ⁶ U/kg 飼料 [1,665、166,500 U/kg 体重/日]*4	雌の高用量群で腎臓、卵巣及び子宮の相対重量が有意に増加したが、肉眼的及び病理組織学的所見に異常は認められなかった。 [NOAEL : 3.33×10 ⁶ U/kg飼料 (4.16 又は 4.9 mg/kg 体重/日相当)]	26
繁殖	26週間*3	ラット	混餌	雄 12、雌 24	ナイシン製剤 (10 ⁶ IU/g)	0、0.2、1.0、5.0% [(0、0.1、0.5、2.5)×10 ⁶ IU/kg 体重/日]*4 参照対照群：3.8%NaCl 含有飼料	親動物：F0 の 5.0%投与群の雄群で体重増加抑制が観察されたが、投与に起因した変化はみられなかった。児動物：投与に起因した変化はみられなかったが、F2B の 5.0%投与群で低体重が観察された。 [NOAEL : 12.5 mg/kg 体重/日相当]	31

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量 又は濃度	試験結果	参考資料
遺伝毒性		TA98、 TA100、 TA1535、 TA1537、 WP2pKM101、 WP2uvrA/pKM101	<i>in vitro</i>		精製ナイシン (52.2×10^6 IU/g)	5、15、50、150、 500、1,500 µg/plate	S9mixの有無にかかわらず陰性。	32
	(予備試験)	マウスリンパ L5178Y	<i>in vitro</i>		精製ナイシン (51.6×10^6 IU/g)	3.3-1,000 µg/ mL (6濃度)	予備試験では、100-1,000 µg/mL で 細胞毒性がみられたが、S9mixの有 無にかかわらず陰性。	33
	(本試験)	細胞			25-10,000 µg/ mL (7濃度)			
	処理時間21、 45時間	ヒトリン パ球初代 培養細胞	<i>in vitro</i>		精製ナイシン (52.2×10^6 IU/g)	62.5-500 µg/mL	S9mixの有無にかかわらず、染色体 異常誘発性を示さなかった。	34
単回 2回(2 日間)	マウス	経口		精製ナイシン (51.6×10^6 IU/g)	500、1,000、 2,000 mg/kg 体 重	小核誘発性を示さなかった。	35	
抗原性	3ヶ月 間	モルモツ ト	混餌	各3(対 照2)	精製ナイシン (10^6 RU/g)	50,000 U/日	感作性は示さなかった。	26
	単回		腹腔内				感作性を示した。	

*1 対照群は雌3匹、雄2匹からなる。

*2 1匹ごとにケージで飼育したラットにナイシン加水分解物を10週間混餌投与後、5匹ずつケージで飼育し25週間混餌投与した。

*3 F0、1世代：交配前に少なくとも60日間混餌投与。

*4 「Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food (JECFA, 1987)」において示されたラット(old)の体重(0.40kg)及び摂餌量(20g)に基づく事務局換算²⁵⁾。

(別添)

ナイシンの使用予定食品及び推定摂取量⁴⁴⁾

使用基準案の 食品名	国民健康・栄養調査 食品分類 (H16)	摂取量 (g/日)	使用量 (mg/kg)	ナイシン 摂取量 (mg/日)
アイスクリーム類、乳飲料、 ホイップクリーム	74：その他の乳製品	8.2	12.5 mg/kg	0.103
チーズ	72：チーズ	2.3	15 mg/kg	0.035
生菓子	81：和菓子類	10.7	5 mg/kg	0.080
	85：その他の菓子類	5.3		
フラワーペースト類、洋菓子	5：菓子パン	6.4	6.25 mg/kg	0.086
	82：ケーキ・ペストリー 類	7.4		
ハム、ソーセージ類	63：ハム、ソーセージ	11.4	12.5 mg/kg	0.143
たれ、つゆ、ドレッシング	95：マヨネーズ類	3.3	10 mg/kg	0.601
	97：その他の調味料	56.8		
豆腐	19：豆腐	36.7	10 mg/kg	0.367
卵加工品	70：卵類	34.4	5 mg/kg	0.172
味噌、麴	96：味噌	11.7	5 mg/kg	0.059
魚介乾製品、魚肉練り製品、 いくら、すじこ、たらこ、辛 子明太子、かずのこ調味加工 品	56：魚介（塩蔵、生干し、 乾物）	15.8	25 mg/kg	0.63
	59：魚介練り製品	9.3		
合計				2.27

※ヒト体重を 50 kg とすると、ナイシン摂取量は 0.045 mg/kg 体重/日

**ナイシンの食品健康影響評価に関する審議結果
についての御意見・情報の募集結果について**

1. 実施期間 平成19年8月30日～平成19年9月28日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 4通
4. 御意見・情報の概要及びそれに対する添加物専門調査会の回答案

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
1	<p>【物理化学的性質等】 添加物評価書に記載された <i>Lactococcus lactis</i> は種であり、4つの亜種が知られている。JECFAのモノグラフでは、「Nisin is a mixture of closely related antimicrobial polypeptides produced by strains of <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>」と記載されているので、国際的整合性の観点から JECFAと揃え、産生菌株を <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> に限定すべきである。</p>	<p>御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。なお、御指摘を踏まえ、評価書の「4 物理化学的性質等」における記載を <i>Lactococcus lactis</i> 菌株から <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> に訂正します。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
2	<p>【物理化学的性質等】</p> <p>第17回専門調査会配布資料1-2では、被験物質に関する化学的なデータが示されていないので、極論を言えば、ナイシンAが殆ど含まれていないこともあり得る。従って、ナイシンA含量を正確に分析するとともに、不明の部分についても分析化学的に明らかにされなければ、健康影響評価を実施したことにはならない。</p>	<p>御指摘は、第46回添加物専門調査会にて配布された資料1-2に関する事項と思われしますので、90日間反復投与毒性試験についての御意見と考えてお答えします。</p> <p>まず、ナイシンの含量は、その比活性から換算するものであり、例えば2.5%ナイシン製剤がナイシンの濃度として2.5%という訳ではありません(第47回添加物専門調査会配付資料4-1)。</p> <p>申請資料によると、欧州SCFでADIの設定根拠とされた試験で用いられたナイシンは、Aplin and Barrett社(現ダニスコ社)製の市販のナイシンA製剤(Nisaplin; 2.5%ナイシン製剤、1,000 IU/mg)であり、76%の塩化ナトリウムと20%の固形無脂肪乳を含有するとされています。これ以上の組成等については不明です(文献26)。</p> <p>また、JECFA及び米国FDAでADIの設定根拠とされた試験で用いられたナイシンは、市販のナイシン製剤(1,000 IU/mg)とされており、組成等は不明です(文献21)。</p> <p>一方、90日間反復投与毒性試験で用いられたナイシンは、市販のNisaplinと同様に製造し、NaClによって調整した製剤(3,000 IU/mg)であり、74.23%の塩化ナトリウムを含有するとされています。これ以上の組成等については、SCF等の評価に用いられた製剤と同様に不明です(文献23)。</p> <p>ただし、毒性試験に用いられたナイシンは、JECFA等でも評価に用いられたものでありJECFA等の成分規格に準じたものが使用されていると考えられます。</p> <p>添加物専門調査会としては、海外で評価の対象となった資料に加え、新たに実施された90日間反復投与毒性試験結果についても評価を行っており、最新の科学的知見も踏まえ、客観的かつ中立公正に評価を行っております。</p>
3	<p>【物理化学的性質等】</p> <p>ナイシンにはA、Z、Qが知られているが、今回の健康影響評価の対象物質がナイシンAに関するものかナイシン類に関するものか、明確にする必要がある。また、引用された文献がナイシンAに関するものかナイシン類に関するものが特定され、被験物質が明確にされるべきである。</p>	<p>今回の評価の対象物質はナイシンAです。わが国で新たに実施された90日間反復投与毒性試験の被験物質もナイシンAです。また、引用された文献の被験物質については、特段の記載がございませんが、いずれもJECFA、SCF等で評価された文献におけるものであり、ナイシンAであると考えております。</p> <p>なお、御指摘を踏まえ、「4 物理化学的性質等」の項に、今回の評価の対象物質がナイシンAであることを明記することといたしました。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
4	<p>【物理化学的性質等】 主成分のナイシン A の分子量を訂正されたい。第 8 版食品添加物公定書に記載された原子量表に基づき計算すると、3354.07 となる。また、EFSA Journal (2005) 314, p3 にも、3354.07 と記載されている。</p>	<p>御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。なお、御指摘を踏まえ、第 8 版食品添加物公定書に基づき、評価書の「4 物理化学的性質等」における分子量の記載を 3354.07 に訂正します。</p>
5	<p>【物理化学的性質等】 化学構造式を訂正されたい。1 番目のアミノ酸である Ile (イソロイシン) の左側は「NH₂」(アミノ基)、34 番目のアミノ酸である Lys (リジン) の左側は、「COOH」と記載するのが一般的である。</p>	<p>添加物専門調査会としては、要請者たるリスク管理機関から入手した情報に基づき評価を行っております。なお、JECFA でも同様の化学構造式を使用していることを確認しております。御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
6	<p>【体内動態】</p> <p>体内動態に関して、<i>in vitro</i> 試験の結果から、「摂取されたナイシンは、蛋白質分解酵素により不活性化され、ナイシン分子としては吸収されない」とされているが、データが不十分であり、消化、吸収、代謝についてのデータを記述すべきである。</p> <p>また、「ヒトに牛乳あるいはヨーグルトを摂取させ、その後、消化管内でのペプチドの動態および血漿への出現が調べられ、投与1、2、4時間後に静脈血中にκ-カゼイン(106~116残基)とα₁SI-カゼイン(1~23残基)のオリゴペプチドを検出した。」との報告があるように、ヒトでの吸収は否定できないことから、「ナイシン分子として吸収されないと予測され、」には根拠がない。</p>	<p>御指摘のようにナイシンの体内動態データは限られておりますが、ナイシンは、<i>in vitro</i> 試験では、パンクレアチン等の消化酵素によって不活性化されることが示されていることから、添加物専門調査会としては、現時点での国内外の知見について審議し、「摂取されたナイシンはタンパク分解酵素により不活性化され、ナイシン分子としては吸収されないと予測され、」との結論を導くことは可能と考えております。なお、JECFA、FDAに加え2006年1月にEFSAにおいても同様の評価(ナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化される。)がなされている旨、評価書に記載することといたしました。</p> <p>なお、御懸念は、ナイシンより大きい分子量を有する、牛乳やヨーグルトの消化管での分解物が血中に吸収されるとする報告があることから、ナイシンも一部分子として吸収されるのではないかという点と思慮しますが、御指摘の文献はナイシンに関するものではないことから、最終的な食品健康影響評価を変更する必要はないと考えております。</p>
7	<p>【ナイシン様抗生物質産生菌の存在場所】</p> <p>ナイシン様抗生物質産生菌は、「頻度は低いが生体及びウシの腸内や鼻腔内に常在している」ことをもって、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」との結論は稚拙である。胃や十二指腸等の常在菌への影響について検討するなど、この結論を証明するための試験がなされるべきだ。</p>	<p>添加物専門調査会としては、現時点での国内外の知見について審議し、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」と評価しております。ナイシンが腸内酵素によって不活性化されることも、その根拠であると考えますので、評価書に根拠を追記することといたしました。なお、JECFA、FDAに加え2006年1月にEFSAにおいても同様の評価(ナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化されることから、腸内細菌叢には影響しない。)がなされている旨、評価書に記載することといたしました。</p> <p>御指摘のようなデータはございませんが、他の体内動態や毒性試験のデータも総合的に評価して、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」との結論を導くことは可能と考えております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
8	<p>【耐性】</p> <p>抗生物質に対する感受性の低下の概念については、近年の文献等を詳細に検討する必要があるのではないかと。引用文献以外にもたくさんの文献が公表されている。</p>	<p>耐性菌の問題については、「5 安全性」の項において、「ナイシンは、その化学構造、物性、作用機序、交差耐性、消化管酵素による影響などから、一般に言われる抗生物質又は抗菌性物質とは異なる範疇の物質と言える。海外における使用経験からも特段問題となる報告はなく、食品添加物として使用しても、ヒト腸内細菌をはじめとする各菌種に影響を与える可能性は極めて低いと考えられる。」と評価しています。また、「8 評価結果」に記載のとおり、近年、リステリア菌のナイシン耐性及び他のバクテリオシンとの交差耐性に関する報告がありますが、「現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあつては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ない」と評価しております。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果には「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないように十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p>
9	<p>【毒性】</p> <p>第46回添加物専門調査会における議論にあるように、ラットの雌雄で背景データに100倍の差があること（福島座長の指摘）について、明快な回答も議論もないまま、それを毒性とは捉えないとする結論に飛躍しているのはおかしい。きちんと実験動物のバックグラウンドを精査し、慎重な議論をするべきである。雌雄に100倍の差があるとする、安全係数としてどの数値を採るのか。</p> <p>また、ヒトのADIは成人男性を基準に設定していることから、特に感受性の高い子どもにはそのまま当てはめることはできないと思われる。</p>	<p>添加物専門調査会においては、原則は、提出されたデータをもって評価すべきであつて、その上で必要であれば背景データを提出いただいて議論することとされました。なお、御指摘の件については、「トータルコレステロールやリン脂質が、肝臓あるいは甲状腺の疾患で二次的に下がることは知られており、そういう意味から、この毒性試験を見ると、そういうところに全く影響が見られていない。従って、恐らく影響ではあるけれども、明らかな毒性は見られていない。」との複数の御意見も踏まえ、総合的に、慎重に議論を尽くして判断したものです。</p> <p>安全係数については、今回、ADIの設定根拠資料とされたラット3世代繁殖毒性試験において、発生毒性のところから奇形が認められるであるとか、一般毒性よりも低い投与量で繁殖毒性が認められるなどの重大な影響は認められていないことなどから、追加の係数は必要なく、通常の100の値を採用すると評価されました。</p> <p>なお、繁殖毒性など、次世代への影響についても評価した上で評価結果をまとめております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
10	<p>【毒性】</p> <p>今回の評価結果において、90日間反復投与毒性試験の結果が結論に反映されていない。また、繁殖毒性のデータを採用したことは恣意的に見える。慢性毒性または慢性毒性試験のデータからADIを0.04 mg/kg/日に設定すれば、一日推定摂取量の推計値はADIぎりぎりであって、食品添加物として指定することに疑問が生じる。</p> <p>海外での使用経験を評価材料としている以上、JECFA及び米国FDAの評価結果にないADIを0.042～0.049 mg/kg体重/日とするなど、ADIの設定について再検討することを要望する。</p>	<p>最終的な添加物としての一日内摂取量の推計、指定の可否については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p> <p>JECFA 及び米国 FDA の評価の根拠とされているラット2年間慢性毒性試験は、1960年代に実施された試験であり、剖検が可能であった動物にいずれも腫瘍が検出されなかった等の不可解な点があり、信頼性が担保できないことから、ADI設定には用いず、あくまで評価の参考に用いることとしました。</p> <p>一方、SCF の評価の根拠とされているラット3世代繁殖毒性試験については、1980年頃に実施されたGLP適合試験であり、評価の対象とすることとしました。</p> <p>また、ラット90日間反復投与毒性試験については、第46回添加物専門調査会において審議され、NOAELが設定されました。</p> <p>添加物専門調査会としては、これらの毒性データを評価し、NOAELの最小値であるラット3世代繁殖毒性試験結果を基にADIを設定することとしました。</p> <p>ADIの設定については、現時点での国内外の知見も踏まえ、客観的かつ中立公正に評価したものであり、見直す必要はないと考えております。</p>
11	<p>【一日推定摂取量の推計】</p> <p>オーストラリア・ニュージーランドでは、畜肉加工食品への使用について検討されているが、その中で子供への摂取への考慮もなされている。これは、他の添加物にも当てはまることであるが、子供の摂取については別途検討することも必要ではないか。</p>	<p>オーストラリア・ニュージーランドでは、現在、チーズ類の他、クリーム製品、小麦粉製品（パンケーキ、麺類、パスタを含む）等への使用が認められています。更に現在、御指摘のように、加工した肉、家禽製品への使用を検討中（昨年9月19日まで意見募集）です。使用対象食品を増やしても、幼児（2～6歳）の摂取量は多くてもADI（0～0.625 mg/kg体重/日）の10%で、ADIを十分に下回ることから、安全性の懸念は生じないことが記されております。</p> <p>なお、添加物専門調査会においては、繁殖毒性など、次世代への影響についても評価した上で評価結果をまとめております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
12	<p>【一日推定摂取量の推計】</p> <p>別添の国民栄養調査における食品分類及び食品分類番号を、現在のものに修正する必要があるのではないかと。マヨネーズ及び味噌については、食品分類が変更されている。</p>	<p>御指摘を踏まえ、平成16年国民健康・栄養調査に基づき、評価書の「別添：ナイシンの使用予定食品及び推定摂取量」における食品分類及び食品分類番号を訂正します。</p> <p>併せて、「7 一日推定摂取量の推計」の項におけるナイシンの推定摂取量を訂正します。</p>
13	<p>【国際機関等における評価】</p> <p>2006年1月に承認されたEFSAの見解では、ADI 0.13 mg/kg bw を変更すべき新しいデータはないと指摘している。この再評価についても言及すべきではないかと。</p>	<p>御指摘については、「6 国際機関における評価（3）欧州食品科学委員会（SCF）における評価」の項の末尾に、追記することといたします。</p>
14	<p>【国際機関等における評価】</p> <p>コーデックスのGSFAを検討した結果を記載すべきではないかと。ナイシンについては、「01, 6, 6 Whey protein cheese MAX 12 mg/kg」とされている。</p>	<p>使用基準については、当委員会の審議結果を受けてリスク管理機関が検討を行います。御指摘については、リスク管理に関する御意見であり、必ずしも評価書に記載すべき事項ではないと考えます。</p>
15	<p>【全般的な事項】</p> <p>幅広い使用予定食品が記載されているが、ナイシンが中性から高いpHでは溶解性も悪く安定性も悪いことが知られているので、チーズ以外の記載された食品で安全性や効果が確かめられたのかは疑問である。</p>	<p>御指摘の有効性については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p> <p>なお、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
16	<p>【全般的な事項】</p> <p>ナイシンについては、抗菌活性が高いペプチドであること、耐性に関する概念、抗菌スペクトルが極めて狭いこと、欧米ではチーズへの使用に限定されていること、使用予定食品は海外における使用食品に比べものにならないくらい多いことから、使用分野を限定すべきである。</p>	<p>申請者から提出された資料によると、欧米においてはチーズ以外にも液状卵等に使用が可能となっております。耐性菌の問題については、「現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあっては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ない」と評価しております。ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないように十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p> <p>なお、使用基準については、当委員会の審議結果を受けてリスク管理機関が検討を行うことになることから、御意見を担当の厚生労働省にお伝えいたします。</p>
17	<p>【全般的な事項】</p> <p>抗生物質が持つ毒性、耐性菌の発生、常在菌への影響など、いくつも問題点が考えられる。現段階では、これらの影響についての研究はまだ十分ではなく調査を続ける必要がある。将来予測されるリスクについて、もっと真摯な態度で臨んでほしい。</p> <p>特に、今回のナイシンのように、乳製品やハム・ソーセージ、調味料、豆腐など、乳幼児や子どもたちが日常的に多く摂取する食品への抗生物質の添加は、慎重であるべき。抗生物質が食品の一部として日常的に体内に取り込まれることの是非について、健康影響と耐性菌の発生などの面から、基本的な考え方の再検討を望む。</p>	<p>ナイシンの評価については、第14回、第17回、第46回、第47回の計4回にわたり当調査会において、慎重に審議を行ったところです。</p> <p>JECFA、FDA及びSCFにおいても議論されている耐性菌の問題に関しては、当調査会においても、微生物の専門家から御意見を伺うなど慎重に審議を行ったところであり、「現時点で得られている知見から判断して、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じるなど安全性上の問題を生じる可能性は極めて少ない」と評価しております。</p> <p>また、添加物に対するものではないものの、薬剤耐性菌に関する最新の評価指針である「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針（平成16年9月30日食品安全委員会決定）」に基づいて整理、評価もしております（第14回配布参考資料1、第17回配布参考資料1、2）。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないように十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p> <p>なお、御指摘の、抗生物質を添加物として使用することの可否については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
18	<p>【全般的な事項】</p> <p>「耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。」等の記載からみてとれるが、ナイシンに係る食品健康影響評価は、到底科学的・定量的評価とは言えない。</p>	<p>ナイシンの評価については、第14回、第17回、第46回、第47回の計4回にわたり当調査会において、慎重に審議を行ったところです。</p> <p>JECFA、FDA 及び SCF においても議論されている耐性菌の問題に関しては、当調査会においても、微生物の専門家から御意見を伺うなど慎重に審議を行ったところであり、「現時点で得られている知見から判断して、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じるなど安全性上の問題を生じることは極めて少ない」と評価しております。</p> <p>また、添加物に対するものではないものの、薬剤耐性菌に関する最新の評価指針である「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針（平成16年9月30日食品安全委員会決定）」に基づいて整理、評価もしております（第14回配布参考資料1、第17回配布参考資料1、2）。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
19	<p>【全般的な事項】</p> <p>ナイシンの指定後に、ナイシンを使用するのではなく、それらを産生する菌を食品に使用する場面が考えられる。また、各種のバクテリオシンの利用も研究され、特許なども数多く見られる。リスク管理機関である厚生労働省におかれては、規格や使用基準の設定にとどまらず、先の「照会」をもとに、監視・指導方針の詳細をお示しいただきたいと願っている。</p> <p>各種のバクテリオシンの食品への利用が考えられ、多種の類似物質の販売が予見される。ナイシンに関する健康影響評価の影響は極めて大きい。そのことを踏まえたリスク評価を望むものである。このような商業的な物質については、毒性評価にとどまらず、健康影響評価は、社会的側面からも検討されるべきである。</p>	<p>頂いた御意見は、リスク管理に関する御意見でもあることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p> <p>なお、食品安全委員会の行う食品健康影響評価は、最新の科学的知見に基づき、客観的かつ中立公正に行うこととしております。</p>