

安全性試験等の概要について

(新規審査品目)

- ・ キューピー 骨育 カルシウム&ビタミン K₂
- ・ DHA 入り リサーラソーセージ

「キューピー 骨育 カルシウム&ビタミンK₂」に係る食品健康影響評価について

1. はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法に基づき、厚生労働省より、「キューピー 骨育 カルシウム&ビタミンK₂」の安全性の審査に係る食品健康影響評価について意見を求められた。(平成 16 年 5 月 28 日、関係書類を接受)

2. 評価対象食品の概要

「キューピー 骨育 カルシウム&ビタミンK₂」(申請者: キューピー株式会社)は、関与成分としてビタミンK₂(メナキノール-4)を含む錠剤形態の食品であり、骨の健康が気になる方に適することが特長とされている。

1 日当たり摂取目安量は 2 粒 (3g) であり、含まれる関与成分はビタミンK₂ 1500 μ g (1.5mg) となっている。

なお、ビタミン K は、天然には、K₁(フィロキノール)と K₂(メナキノール)の 2 種類が存在し、ビタミン K₂には、種々の同族体が存在する。そのうちの 하나가メナキノール-4 (以下、MK-4) である。

3. 安全性に係る試験等の概略

・食経験

ビタミン K₂は、我が国では「メナキノール (抽出物)」として食品添加物 (既存添加物、強化剤) に収載されている。卵殻カルシウムも卵殻未焼成カルシウムとして、既存添加物に収載されている。(引用文献①、2-1) また、既許可の特定保健用食品でビタミン K₂が関与成分の食品 (納豆) があり、ビタミン K₂のメナキノール-7 (以下 MK-7) を 1 日摂取量として 650 μ g 含んでいる。なお、ビタミン K 類は体内で MK-4 に変換されていると考えられている。(引用文献②、1-3)

MK-4 を多く含む食品は、納豆 (13ng/g)、マーガリン(90ng/g)、バター (110ng/g)、等である。なお、納豆は MK-7 を 8,636ng/g 含有する。(引用文献③④、1-1、2-2)

平成 13 年度厚生労働省国民栄養調査結果によると、日本人のビタミン K 平均摂取量は 267 μ g/日(全国、総数)、カルシウム平均摂取量は 550 mg/日 (総数、全国) である。(引用文献⑤、2-3)

第六次改定日本人の栄養所要量によると、ビタミン K₂は、牛乳・乳製品、肉、卵、果物及び一般野菜類で比較的多く存在し、腸内細菌によっても産生されているとされている。ビタミン K の所要量は、成人男性で 65 μ g、女性 55 μ g であり、また、ほとんど全ての人に健康上悪影響を及ぼす危険性のないとして定められた許容上限摂取量は、1 日当たり、成人(男女)で 30,000 μ g とされている。カルシウムの所要量は、成人では 600mg (18~29 歳男性のみ 700mg)、その許容上限摂取量は 2,500mg とされている。(引用文献⑥ 2-4)

・ *in vitro* 及び動物を用いた *in vivo* 試験

ビタミンK₂の変異原性について、*Bacillus Subtilis* H17、M45 および *Escherichia coli* W3110、P3478 を用いた修復能試験を行ったところ、0.1～50mg/mL の濃度で致死感受性は認められず陰性であった。また、*Salmonella typhimurium* TA100、TA98 および *Escherichia coli* Wp₂her を用いた復帰変異試験では 100～1000 μ g/plate の濃度でも、それ自体および代謝活性化法のいずれにおいても変異誘導性は認められなかったとの報告がある。(引用文献⑦、2－7、*in vitro* 試験)

ラット3匹を対象に、放射性ラベルした MK-4 を 4mg/kg 単回経口投与したところ、血中濃度は投与後 30 分で最高値 1.5 μ g/mL に達し、以後漸減した。投与後 7 日目の糞中排泄率は 77% であり、尿中排泄率は 5.5% だった。臓器内分布は全般的にビタミン K₂ 投与後、血中濃度が最高になる時点で最も高くなり、以後経時的に漸減したとの報告がある。(引用文献⑧、2－5、*in vivo* 単回投与試験)

MK-4 の急性毒性試験を行ったところ、LD₅₀ はマウス、ラットについて 5000mg/kg 以上、イヌについて 1000mg/kg と推定された。また、ラットを対象にした、経口による 1 ヶ月間亜急性毒性試験 (50、200、800mg/kg)、経口による 6 ヶ月間連続投与の慢性毒性試験 (8、40、200mg/kg) を実施したところ、MK-4 に起因すると考えられる副作用ないしは毒性を示唆する所見は認められなかったとの報告がある。(引用文献⑨、2－8、*in vivo* 急性・亜急性・慢性毒性試験)

6 週齢のラット雌雄各 100 匹を対象に、メナテトレノン (MK-4 の医薬品としての一般成分名) を 0、0.04、0.2、1.0% (それぞれメナテトレノン＝MK-4 0、20、100、500mg/kg/day に相当) で飼料に混じて 52 週間経口投与したところ、無毒性量は 0.04% (20mg/kg/day に相当) であると判断されたとの報告がある。(引用文献⑩、2－10、*in vivo* 慢性毒性試験)

妊娠 9～14 日までのラット及び妊娠 7～12 日までのマウスに 10、500、1000mg/kg の MK-4 を、ラットで 0.5mL/100g、マウスで 0.1mL/10g になるように綿実油に溶解して、1 日 1 回 6 日間連続で強制経口投与したところ、胎仔に対する致死、発育抑制、催奇形作用及び新生仔の形態的、機能的分化に及ぼす影響は認められなかった。

妊娠前・妊娠初期と周産・授乳期のラットにメナテトレノン 10、100、1000mg/kg を経口投与したところ、妊娠前・妊娠初期投与試験では、投与中の雌雄の体重、摂食量、摂水量及び一般状態、雌の性周期、交尾率及び妊娠率に対照群と差は認められなかった。妊娠 20 日目の妊娠末期所見と胎仔の内部及び骨格観察では、メナテトレノンによる胎仔への胚致死、発育抑制及び催奇形作用は認められなかった。周産・授乳期投与試験では、母体は、一般状態、体重、妊娠の維持、分娩と哺育、血液所見などメナテトレノンの影響は認められなかった。自然分娩後の新生仔では、産仔数、生仔数、生仔の体重、生後の発達などへのメナテトレノンの影響は認められず、さらに離乳後の生後の発育、行動、生殖能などにもメナテトレノンの影響は認められなかったとの報告がある。(引用文献⑪、2－13、*in vivo* 妊娠前・妊娠初期及び週産・授乳期投与試験)

ラットに卵殻カルシウムを 1000mg/kg/日、91 日間強制経口投与したところ、特に異常は観察されなかったとの報告がある。(引用文献⑬、2－17、*in vivo* 長期・大量投与試験 (91 日間))

抗卵白ウサギ血清を用いた ELISA 抑制試験、雄モルモットを用いた PCA 試験において、卵殻カルシウムの卵白に対する抗原性は低いことが確認された（血清濃度 8 倍希釈でも反応が認められなかった）との報告がある。（引用文献⑭、2-18、in vitro 及び in vivo 卵殻カルシウムの抗原性試験）

・ヒト試験

40～65 歳の閉経前後の女性 45 名を対象に、MK-4 を 750 μ g/粒含有する卵殻カルシウム錠菓を 2 粒/日、12 週間長期摂取させたところ、骨吸収マーカーである尿中デオキシピリジノリン濃度、血清 Ca 調節ホルモンである血清 PTH、カルシトニン、活性型ビタミン D 等の変動パターンに有意差はなく、血清 Ca、P 濃度の変動との相関性も無かった。またプロトロンビン時間には有意な変動を認めたが、プロトロンビン濃度及び比に変動は認められなかった。その他検査項目において、試験食摂取による医学的に意義のある変動は認められなかった。また試験期間中に頭痛（2 例）、風邪症状（1 例）、下痢（1 例）が観察されたが試験食とは因果関係のないものと考察されている。（引用文献⑮、2-15、長期摂取試験（12 週間））

24～52 歳の健常成人男女 15 名を対象に、MK-4 を 1 日摂取目安量の 5 倍（7500 μ g/日）となるようにカルシウム錠菓に添加して、4 週間毎日摂取させたところ、血清ビタミン K₂、Ca 濃度に有意な変動が認められたが、プロトロンビン値に有意な変動は認められなかった。また試験期間中に便秘（2 例）、めまい（1 例）、悪心（1 例）、鼻血（1 例）がみられたが、いずれも試験食摂取とは因果関係のないものと考察されている。（引用文献⑯、2-16、過剰摂取試験（4 週間））

健常男性 5 名（38～50 歳）を対象に、被験者のヘパリン付加新鮮血を用いて E3100(MK-4 として 5mg/ml を含むレシチン製剤)の溶血性試験を行ったところ、E3100 には溶血性が認められなかったとの報告がある。（引用文献⑰、2-11、健常者への溶血性試験）

健常成人男性 3 名を対象に摂食時および絶食時にメナテトレノン(=MK-4)を 15mg 含有する軟カプセル剤(Ea0167)を 1 錠、単回経口投与したことによる症状は認められず、また、薬剤に起因すると考えられる臨床検査値の異常・変動も認められなかった。メナテトレノンの血中濃度は、摂食下投与に比べ絶食下投与のほうが低かった。摂食時、絶食時ともに投与 3～5 時間目で最大値を示し、以後経時的に漸減し 12 時間後には投与時とほぼ同じ値を示した。経口投与後、尿中には代謝物が 1.5%、糞中には未変化体が 14.9% 排泄され、尿、糞あわせて投与量の約 16%がメナテトレノン及び既知代謝物として確認された。尿中にビタミン K₂の代謝産物である Kacid I および II がみられたことから、体内に取り込まれたビタミン K₂は、 β 、 ω 酸化により異化され体外に排泄されることが示されたとの報告がある。（引用文献⑱、2-6、健常者の単回投与試験）

1～5 歳（平均 2.3 $\pm$ 1.1 歳）の耐性未獲得の卵アレルギー児 30 名（男 18 名、女 12 名）に、本食品と同じ製法の卵殻未焼成カルシウム 0.2～1.0 g を 3 週間、経口投与したところ、卵殻負荷により臨床症状が明らかに悪化した例はなかった。

（引用文献⑭、2-18、卵殻カルシウムの抗原性摂取試験）

・その他

MK-4 は医薬品（ビタミン K₂ 剤 商品名「グラケーカプセル」）として承認されており（成分名はメナテトレノン）、骨粗しょう症における骨量・疼痛の改善を効能・効果として、1 日当たり 45mg（1 カプセル 15mg × 3 回）の服用となっている。

なお、脳梗塞あるいは心筋梗塞のために、抗凝血薬としてワーファリン（ビタミン K 拮抗剤）を服用している患者は、ビタミン K₂ 製剤は血液凝固能を有し、ワーファリンの効果を弱めるので、併用禁忌となっている。（引用文献⑩、添付文書）

また、卵殻未焼成カルシウムは、卵殻を水洗、粉碎し、卵殻膜を水洗で除去し、乾燥、再び粉碎したものであり、成分は炭酸カルシウムが主体となっている。（引用文献⑭）

・なお、本調査会では、本食品の有効性に係る試験等については評価していない。

4．引用文献（本食品の評価に当たって、引用した文献）

- ① 2－1 別添 1 既存添加物名簿収載品目リスト 強化剤：2003 年度版食品添加物マニュアル、106-108（2003）
- ② 1－3 ビタミン K の代謝と体内動態：Clinical Calcium9(7) 35-40(1999)
- ③ 1－1 ビタミン K とイソフラボン：臨床栄養 99(3) 305-311(2001)
- ④ 2－2 蛍光検出高速液体クロマトグラフィー法による食品中のビタミン K 類の測定：ビタミン 62(8)、393-398（1988）
- ⑤ 2－3 栄養素等摂取量：「国民栄養の現状」第一出版 68（2003）
- ⑥ 2－4 ビタミン K：「第六次改定日本人の栄養所要量 食事摂取基準」第一出版、91-94（1999）
- ⑦ 2－7 メナテトレノン（K₂）の変異原性試験：薬物療法 14(2)、55-58（1981）
- ⑧ 2－5 Menaquinone-4 の代謝に関する研究（第 1 報）ラットおよびモルモットにおける吸収、体内分布および排泄：応用薬理 5(4)、505-514（1971）
- ⑨ 2－8 Menaquinone-4 の毒性試験（I）マウス、ラットおよびイヌにおける急性、亜急性および慢性毒性試験：応用薬理 5(3)、445-459（1971）
- ⑩ 2－10 メナテトレノンのラットにおける経口投与による 52 週間毒性試験：薬理と臨床 23(12)、129-139（1989）
- ⑪ 2－11 E3100 の一般薬理作用：基礎と臨床 23(12)、129-139（1989）
- ⑫ 2－13 メナテトレノンのラットの妊娠前・妊娠初期および周産・授乳期投与試験：基礎と臨床 15(3)、85-101（1981）
- ⑬ 2－17 食用卵殻粉・カルホープの食品への利用について ー第一編 製品の特徴と栄養・医学的機能ー：月間フードケミカル 7 月号、67-71（1999）
- ⑭ 2－18 卵アレルギー児における卵殻カルシウムの抗原性について：新薬と臨床 49(2)、29-33（2000）
- ⑮ 2－15 ビタミン K₂（MK-4）添加卵殻カルシウム錠菓の摂取が中高年女性の血清オステオカルシン濃度に及ぼす影響：日本臨床栄養学会誌（掲載予定）
- ⑯ 2－16 健常者の血清オステオカルシン濃度に与えるビタミン K₂（MK-4）の最小有効量および MK-4 添加カルシウム錠菓多量摂取による安全性の評価：日本臨床栄養学会誌（掲載予定）
- ⑰ 2－6 メナテトレノン（Ea-0167）の代謝・排泄の検討と吸収に及ぼす食事の影響の検討：薬理

160		と治療 23(10)、225-230 (1995)
161	⑱事務局	骨粗鬆症治療用ビタミン K ₂ 剤「グラケーカプセル 15mg」添付文書（日本標準商品分類番
162		号 87316）

「DHA 入りリサーラソーセージ」に係る食品健康影響評価について

1．はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法に基づき、厚生労働省より、「DHA 入りリサーラソーセージ」の安全性の審査に係る食品健康影響評価について意見を求められた。(平成 16 年 5 月 28 日、関係書類を接受)

2．評価対象食品の概要

「DHA 入りリサーラソーセージ」(申請者：マルハ株式会社)は、関与成分として DHA (ドコサヘキサエン酸) および EPA (エイコサペンタエン酸) を含むソーセージ形態の食品であり、中性脂肪が気になる方に適することが特長とされている。1 日当たりの摂取目安量は、50g (1 本) であり、50g あたりの関与成分は DHA が 850mg、EPA が 200mg となっている。

なお、関与成分の DHA 及び EPA は、肝臓での TG (中性脂肪) とリポタンパク質の合成と分泌を抑制し、 β 酸化を亢進させるため、血清 LDL コレステロールおよび TG を減らし、HDL コレステロールを増やすと考えられている。

3．安全性に係る試験等の概略

・食経験

関与成分である DHA 及び EPA はマグロ、ハマチ、イワシ、カツオなどの魚類に豊富に含まれる多価不飽和脂肪酸であり、日本人における平均摂取量は DHA0.6g/day、EPA0.4g/day と申請者は試算している。

本食品の関与成分は、マグロ・カツオ由来の精製魚油を供給源としており、使用される種類はメバチマグロが主である。また魚油は、マグロ・カツオの頭部より煮沸法にて搾油後、油層分離、脱ロウ・脱色・脱臭等の工程を経て精製される。(引用文献①、2－14)

また、関与成分が同じであるが含有量が異なる食品(清涼飲料形態、関与成分の 1 日摂取量は DHA260 mg、EPA600 mg) が平成 15 年 3 月に特定保健用食品として許可され、販売されている。

・ *in vitro* 及び動物を用いた *in vivo* 試験

本食品に用いる DHA・EPA 含有精製魚油 (DHA22%以上、EPA4.0～7.0%含有) について、*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1534、TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA の 5 菌株を用いてプレート法で復帰突然変異試験を実施した。被検物質の用量は非代謝活性化法および代謝活性化法ともに、156.3～5000 μ g/plate の公比 2 で 6 段階としたところ、代謝活性化の有無にかかわらず、5 菌株には精製魚油による復帰変異コロニー数の増加は認められず、陰性と判定された。5000 μ g/plate までの濃度での濃度で試験菌株に対する生育阻害は認められなかった。(引用文献②、2－11、*in vitro* 変異原性試験)

雌雄各 5 匹のラットを対象に、本食品に用いる DHA・EPA 含有精製魚油 2000mg/kg (DHA440mg/kg、EPA80~140mg/kg) を単回経口投与したところ、2 週間の観察期間中、死亡例は認められず、一般状態、体重及び剖検においても全例で異常は認められなかった。(引用文献③、2-10、ラットを用いた in vivo 急性毒性試験)

・ヒト試験

摂取前の血中トリグリセリド値が 150~330mg/dl の者 16 名と、150mg/dl 未満の者 7 名の計 23 名の健常男女を対象に、本申請食品を 1 日 3 本 (1 日当たり摂食回数の指定なし、DHA2733mg、EPA645mg)、4 週間摂取させたところ、出血時間、血液凝固系、血液生化学、血液学的検査に問題となる変化は認められなかった。(引用文献④、2-3、血中 TG 値が 150~330mg/dl の者への申請食品の過剰摂取試験 (4 週間))

摂取前の血中トリグリセリド値が 100~330mg/dl の者 64 名を 2 群に分け、本申請食品を 1 日 1 本 (DHA850mg、EPA200mg)、又はプラセボ品を摂取させる二重盲検試験を 12 週間実施したところ、酸化 LDL、ケトン体、血糖値、インスリンには有意な変化は認められず、臨床上的問題はなかった。また、プロトロンビン時間の国際基準比では、12 週目で 32 名中 25 名が、基準値の範囲内で延長が見られたものの、臨床上的問題は考えにくいと判断された。(引用文献⑤、1-14、血中 TG 値が 100~330mg/dl の者への申請食品の長期摂取試験 (12 週間))

この他、DHA 及び EPA を用いた試験がいくつか報告されている。

若年および老年の健常者 25 名に、魚肉缶詰 (1 缶あたり 2.3gEPA+3.3gDHA 含有) を一週間摂取させ (若年者 8 名：缶詰 1 個/日、若年者 9 名：缶詰 2 個/日、老年者 8 名：缶詰 1 個/日)、血清脂質、血漿脂肪酸構成、血小板凝集能、出血時間に及ぼす影響について検討したところ、全群においてみられた血漿 EPA/AA (アラキドン酸) 比の増加と血小板凝集能の低下との間には有意な相関が認められたが、出血時間には明らかな変動は認められなかったとの報告がある。(引用文献⑥、2-5、健常者への DHA、EPA の過剰・長期摂取試験 (1 週間))

インスリンや SU 剤を少なくとも 2 ヶ月間処方していない 2 型糖尿病患者 8 名 (57~70 歳) を対象に、 ω -3 系脂肪酸 8g/日を魚油カプセルとして 15 カプセル (1 日 3 回、DHA3,000mg/日、EPA4,500mg/日) 8 週間摂取させ、摂取前後の血中リポ蛋白と赤血球脂肪酸を検討し、血糖とインスリンを空腹下、あるいは混合食 (15cal/kg) 摂取後調べたところ、食後インスリン、食後糖排出能、或いはインスリン-グルカゴン比に有意な変化はなかったとの報告がある。(引用文献⑦、2-6、2 型糖尿病患者への DHA、EPA の過剰・長期摂取試験 (8 週間))

虚血性心疾患、高脂血症、家族性の虚血性心疾患患者 365 名 (男性 304 名、女性 61 名、18~76 歳) を対象に、MaxEPA 魚油 (Seven Seas Ltd., Hull, England, 12.1%DHA+18.6%EPA を含む濃縮魚油トリグリセリド) を、初年 EPA3.6g+DHA2.4g/日、次年以降 EPA1.8g+DHA1.2g/日で 7 年間投与したところ、血液学的指標とその他血液生化学的指標はいずれも悪影響を受けず、血小板数も有意に変化しなかったとの報告がある。(引用文献⑧、2-9、虚血性心疾患、高脂血症患者への DHA、EPA の過剰・長期摂取試験 (7 年間))

・ その他

EPA については、医薬品（EPA 製剤 商品名「エパデールカプセル 300」）として承認されており（成分名は、イコサペント酸エチル）、閉塞性動脈硬化症に伴う潰瘍及び冷感の改善、および高脂血症を効能・効果として、1 日当たり 1800mg（600mg（2 カプセル）× 3 回）の服用となっている。

なお、止血が困難になるおそれがあるため、出血している患者人への EPA 製剤の投与は禁忌とされている。また、イコサペント酸エチルは抗血小板作用を有するので、抗凝血剤ワルファリンや血小板凝集を抑制する薬剤（アスピリンやインドメタシン等）との併用は、出血傾向をきたすおそれがあるとして併用注意となっている。（引用文献⑨、添付文書）

・ なお、本調査会では、本食品の有効性に係る試験等については評価していない。

4．引用文献（本食品の評価に当たって、引用した文献）

- ① 2－1 4 DHA の食品への利用：New Food Industry Vol. 34 No. 10(1992)
- ② 2－1 1 DHA-22 の細菌を用いる復帰突然変異試験：社内報告書(1995)
・・・in vitro 変異原性試験
- ③ 2－1 0 DHA-22 のラットにおける単回経口投与試験：社内報告書(1995)
・・・ラットを用いた in vivo 急性毒性試験
- ④ 2－3 ドコサヘキサエン酸含有魚肉ソーセージの血中脂質に及ぼす影響
（Ⅰ）ドコサヘキサエン酸用量の設定試験、及び過剰摂取安全性の検討試験：日本臨床栄養学会（印刷中）・・・血中 TG 値が 150～330mg/dl の者への申請食品の過剰・長期摂取試験（4 週間）
- ⑤ 1－1 4 ドコサヘキサエン酸含有魚肉ソーセージの血中脂質に及ぼす影響
（Ⅱ）3 ヶ月間の長期摂取による効果確認試験と安全性の確認試験：日本臨床栄養学会（印刷中）・・・血中 TG 値が 100～330mg/dl の者への申請食品の長期摂取試験（12 週間）
- ⑥ 2－5 エイコサペンタエン酸（EPA）に関する研究－EPA に富む魚肉の血清脂質、血漿総脂質の脂肪酸構成、血小板凝集能および出血時間におよぼす影響について－：動脈硬化 9(2)、281-289(1981)
・・・健常者への DHA、EPA の過剰・長期摂取試験（1 週間）
- ⑦ 2－6 Elevated Plasma Glucose and Lowered Triglyceride Levels From Omega-3 Fatty Acid Supplementation in Type II Diabetes：Diabetes Care, 12, 4, 276-281(1989)
・・・2 型糖尿病患者への DHA、EPA の過剰・長期摂取試験（8 週間）
- ⑧ 2－9 Changes in Blood Lipids and Fibrinogen with a Note on Safety in a long Term Study on the Effects of n-3 Fatty Acids in Subjects Receiving Fish Oil Supplements and Followed for Seven Years：Lipids, 27(7), 533-538(1992)
・・・虚血性心疾患、高脂血症患者への DHA、EPA の過剰・長期摂取試験（7 年間）
- ⑨ 事務局 EPA 製剤「エパデールカプセル 300」添付文書（日本標準商品分類番号 873399）