

令和 7 年 7 月 2 日

食品安全委員会

委員長 山本 茂貴 殿

肥料・飼料等専門調査会 座長 山中 典子

飼料添加物に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

令和 7 年 5 月 7 日付け 7 消安第 781 号をもって農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められたグアニジノ酢酸を有効成分とする飼料添加物に係る食品健康影響評価に伴い実施した、グアニジノ酢酸の当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

別添

(案)

飼料添加物評価書

グアニジノ酢酸

(第2版)

令和7年(2025)年7月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目 次

	頁
○審議の経緯.....	3
○食品安全委員会委員名簿.....	3
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....	4
○要 約.....	6
I. 評価対象飼料添加物の概要.....	7
1. 用途.....	7
2. 一般名.....	7
3. 化学名.....	7
4. 分子式.....	7
5. 分子量.....	7
6. 構造式.....	7
7. 使用目的及び使用状況.....	7
II. 安全性に係る知見の概要.....	10
1. 体内動態試験.....	10
(1) 体内動態試験（ラット）.....	10
(2) 体内動態試験（鶏）.....	10
(3) 体内動態試験（ヒト）.....	13
(4) クレアチンに関する体内動態試験.....	16
2. 残留試験.....	18
(1) 残留試験（豚）.....	18
(2) 残留試験（鶏）①.....	20
(3) 残留試験（鶏）②.....	21
(4) 残留試験（鶏）③.....	23
(5) 残留試験（鶏）④.....	23
(6) 残留試験（鶏）⑤.....	24
(7) 残留試験（鶏）⑥.....	25
(8) 残留試験（鶏）⑦.....	26
(9) 残留試験（鶏）⑧.....	27
(10) 残留試験（鶏）⑨.....	28
(11) 残留試験（鶏・卵）.....	29
(12) 残留試験（うずら・卵）.....	30
3. 遺伝毒性試験.....	31
4. 急性毒性試験.....	31
5. 亜急性毒性試験.....	32
(1) 28日間亜急性毒性試験（ラット）.....	32

(2) 90日間亜急性毒性試験(ラット)	33
6. 慢性毒性及び発がん性試験	35
7. 生殖発生毒性試験	35
(1) 鶏を用いた混餌投与試験①	35
(2) 鶏を用いた混餌投与試験②	35
(3) 鶏を用いた混餌投与試験③	36
(4) うずらを用いた混餌投与試験	36
8. その他の毒性試験	37
(1) 皮膚刺激試験(ウサギ)	37
(2) 眼刺激試験(ウサギ)	37
9. その他の知見	37
III. 国際機関等における評価	39
1. 欧州における評価	39
2. 米国における評価	39
IV. 食品健康影響評価	40
・別紙1: 検査値等略称	43
・別紙2: 代謝物等略称	45
・参照	46

〈審議の経緯〉

第1版関係

- 2018年 1月 18日 厚生労働大臣から残留基準設定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0117第6号）、関係資料の接受
- 2018年 1月 23日 第681回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2018年 3月 23日 第133回肥料・飼料等専門調査会
- 2018年 5月 28日 第135回肥料・飼料等専門調査会
- 2018年 7月 10日 第704回食品安全委員会（報告）
- 2018年 7月 11日から8月9日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2018年 8月 22日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2018年 8月 28日 第709回食品安全委員会（報告）
同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣へ通知

第2版関係

- 2025年 5月 7日 農林水産大臣から飼料一般の成分規格及び製造の方法の基準改正（豚、鶏（産卵鶏を除く）用飼料への適用拡大及び添加上限量の変更）に係る食品健康影響評価について要請（7消安第781号）、関係資料の接受
- 2025年 5月 13日 第982回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2025年 6月 6日 第208回肥料・飼料等専門調査会（グアニジノ酢酸を有効成分とする飼料添加物に係る評価要請に伴い、飼料添加物グアニジノ酢酸について審議）
- 2025年 7月 2日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

〈食品安全委員会委員名簿〉

第1版関係

(2018年6月30日まで)	(2021年6月30日まで)
佐藤 洋（委員長）	佐藤 洋（委員長*）
山添 康（委員長代理）	山本 茂貴（委員長代理*）
吉田 緑	川西 徹
山本 茂貴	吉田 緑
石井 克枝	香西 みどり
堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	吉田 充

*：2018年7月2日から

第2版関係

(2024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)
祖父江 友孝 (委員長代理 第二順位)
頭金 正博 (委員長代理 第三順位)
小島 登貴子
杉山 久仁子
松永 和紀

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

第1版関係

(2019年9月30日まで)

今井 俊夫 (座長*)
山中 典子 (座長代理*)
新井 鐘蔵 下位 香代子
荒川 宜親 菅井 基行
今田 千秋 高橋 和彦
植田 富貴子 中山 裕之
川本 恵子 宮島 敦子
桑形 麻樹子 山田 雅巳
小林 健一 吉田 敏則
佐々木 一昭

*: 2017年10月25日から

第2版関係

(2024年4月1日から)

山中 典子 (座長*)
川本 恵子 (座長代理*)
高橋 研 (座長代理*)
赤沼 三恵 大山 和俊
新井 鐘蔵 佐々木一昭
井上 薫 平田 暁大
今井 俊夫 山田 雅巳
植田富貴子 吉田 敏則

*: 2024年4月17日から

〈第133回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

〈第 135 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

〈第 208 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

小林 健一（独立行政法人労働者健康安全機構労働安全衛生総合研究所化学物質情報管理研究センター 有害性評価研究部 統括研究員）

要 約

飼料添加物であるグアニジノ酢酸（CAS No. 352-97-6）（以下「GAA」という。）について、飼料添加物指定審査用資料等を用いて、食品健康影響評価を実施した。今般、農林水産省から GAA を有効成分とする飼料添加物を含む飼料に係る飼料一般の成分規格及び製造の方法の基準の改正について食品健康影響評価の要請がなされ、残留試験の成績等が新たに提出された。

評価に用いた試験成績は、体内動態（ラット、鶏及びヒト並びに代謝産物であるクレアチンについてヒト）、残留（豚、鶏、鶏卵及びうずら卵）、遺伝毒性、急性毒性（ラット）、亜急性毒性（ラット）等の成績である。

体内動態試験の結果から、GAA、クレアチン及びクレアチニンは尿へ多く排泄されると考えられた。また、残留試験において、GAA 投与群である豚の筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度は、対照群と比較して変わらなかったが、鶏の筋肉中クレアチン及びクレアチニン濃度は増加する傾向が見られた。

遺伝毒性については、*in vivo* の試験は実施されていないが、*in vitro* において、細菌を用いた復帰突然変異試験、培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験のいずれも陰性であったことから、GAA には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

亜急性毒性試験でみられた主な毒性所見は、体重低下、膀胱結石及び血漿中 Chol 減少であり、試験で得られた NOAEL のうち最小値は、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験でみられた血漿中 Chol の減少に基づく 66 mg/kg 体重/日であった。

慢性毒性及び発がん性試験並びに生殖発生毒性試験は実施されていない。参考資料であるものの、鶏（精子）及びうずら（繁殖能）に対する投与に関連した悪影響はみられなかった。

GAA 及び代謝物であるクレアチン等は、食用動物の生体内物質であることから、ヒトは食品を通じて日常的に摂取している。さらに、クレアチンについては、体重約 70 kg のヒトの体内には 120 g 存在し、1 日当たり約 1.7%（約 2 g）がクレアチニンに代謝される。代謝されるクレアチンは体内での生合成又は食品からの摂取によって補っている。また、豚及び鶏の残留試験において、GAA を飼料添加物として通常使用する添加濃度では、GAA 投与群の筋肉中 GAA 及び Hcy 濃度は対照群と比較して増加しなかった。肉用鶏の GAA 投与群のクレアチン濃度は増加する傾向もみられたが、その濃度と、食用動物の筋肉中で報告されているクレアチン濃度を踏まえると、GAA を飼料添加物として摂取した対象動物由来の畜産物を通じてヒトがクレアチンを過剰に摂取する可能性は低いと考えられた。

以上から、現在得られている知見から総合的に検討した結果、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、GAA は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、ADI を特定する必要はないと判断した。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 用途

飼料の栄養成分その他の有効成分の補給

2. 一般名

和名：グアニジノ酢酸

英名：Guanidineacetic acid

3. 化学名

IUPAC

英名：2-(diaminomethylideneamino)acetic acid

CAS No. 352-97-6

英名：N-(Aminoiminomethyl)-glycine (参照1)

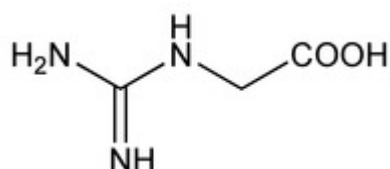
4. 分子式

$C_3H_7N_3O_2$ (参照 1)

5. 分子量

117.11 (参照 1)

6. 構造式



(参照 1)

7. 使用目的及び使用状況

グアニジノ酢酸 (GAA) は、ヒト¹及び動物の腎臓及び膵臓において、アルギニンのアミジノ基が、グリシンアミジノトランスフェラーゼ (AGAT) によってグリシンに転移することで合成される。GAA は、肝臓においてグアニジノ酢酸メチルトランスフェラーゼ (GAMT) によって S-アデノシルメチオニン (SAM) からメチル基が供与され、クレアチンとなる (図 1)。アルギニン及びグリシンからの GAA の合成が、クレアチンの合成経路における主な調節箇所であり、律速段階である。

¹ 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、飼料添加物の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

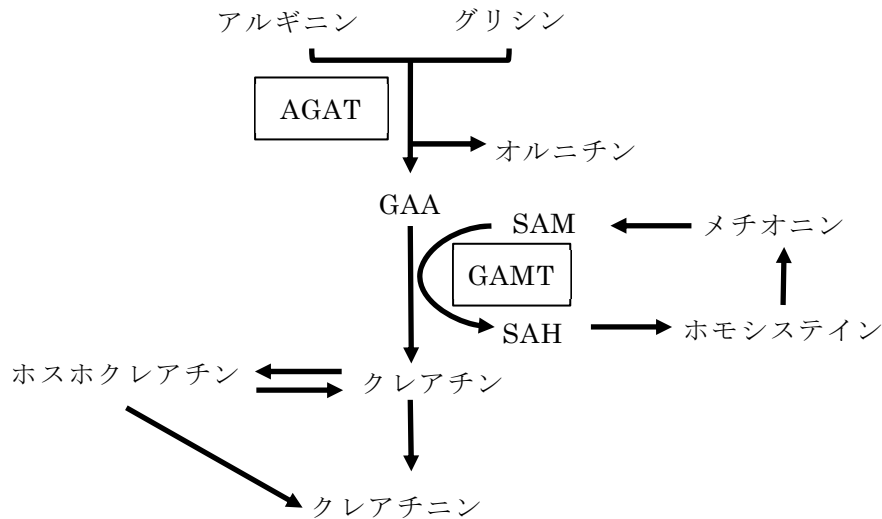


図1 体内における GAA の合成経路

幾つかの研究で、クレアチンは、フィードバック機構で AGAT の発現を調節しているが、GAMT の発現は調節していないことが示唆された。また、GAA 及びクレアチンの生合成は、不可逆的経路である。

GAA のクレアチンへの変換において、S-アデノシルホモシステイン (SAH) が生じる。SAH は、可逆的にアデノシン及びホモシステイン (Hcy) に加水分解される。ヒトにおけるメチル基体バランスの研究も含めた幾つかの研究及びメチル化要求量の推定から、GAMT による GAA のクレアチンへのメチル化は、ほかの全てのメチル化反応よりも SAM を多く消費することが示唆された。

GAA の腸における吸収効率に関して、有用な情報は少ない。しかしながら、腸粘膜の輸送機構が筋肉の細胞膜の輸送と同様な機構であるならば、腸における GAA の吸収効率は高いと考えられる。また、このような物質である GAA は、腎臓から排泄され得る。

2007 年に報告された鶏を用いた研究では、GAA の高い吸収率が示唆された。

GAA の代謝物であるクレアチンは、クレアチンキナーゼ (CK) によって ATP からリン酸を受け取り、ホスホクレアチンになり、高エネルギーリン酸結合の貯蔵物質の役割を果たす。(参照2、4)

このことから、飼料への GAA 添加による動物の飼料要求率の改善が期待されている。

GAA を有効成分とする飼料添加物は、EU では豚 (子豚及び肥育豚) 及び鶏 (肥育鶏及び産卵鶏) について、米国では鶏 (全用途) について最大 1,200 mg/kg 飼料で飼料添加物としての使用を認めている。(参照5、6、35、36)

国内では、令和元年 5 月に飼料添加物の指定を受け、肉用鶏用飼料に添加が認められている。また、国内外において、ヒト用医薬品又は食品添加物とし

て使用されていない。

今般、農林水産省から、GAA を有効成分とする飼料添加物について、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号）第 3 条第 1 項の規定に基づく飼料添加物を含む飼料に係る飼料一般の成分規格及び製造の方法の基準を改正すること（豚、鶏（産卵鶏を除く）用飼料への適用拡大及び添加上限量の引き上げ）に係る食品健康影響評価の要請がなされた。（参照 37）

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、飼料添加物指定審査用資料を基に、GAAの毒性に関する主な知見を整理した。

1. 体内動態試験

(1) 体内動態試験（ラット）

ラット（Wistar系、6週齢、雄）にGAAを混餌投与し、投与後の血漿及び肝臓中Hcy濃度並びに肝臓中SAM及びSAH濃度をHPLCにより測定した。また、肝臓中シスタチオニンβ合成酵素（CBS）の活性を測定した。

実験1として、ラット（5又は6匹/群）にGAAを10日間混餌投与（0、2.5、5、7.5又は10 g/kg飼料）し、最終投与後の血漿中Hcy濃度、肝臓中SAM及びSAH濃度並びに肝臓中CBS活性を測定した。

5及び10 g/kg飼料投与群の血漿中Hcy濃度は、対照群と比較して、それぞれ255及び421%に増加した。

肝臓中SAM濃度は、GAAの用量依存性に減少したが、SAH及びHcy濃度は、GAAの用量依存性に増加した。結果として、肝臓のSAM/SAH比は、GAA投与によって低下した。

肝臓中CBS活性は、GAAの用量依存性に低下した。

実験2として、ラット（6匹/群）にGAAを1、5又は10日間混餌投与（5 g/kg飼料）し、最終投与後の血漿中Hcy濃度、肝臓中SAM及びSAH濃度並びに肝臓中CBS活性を測定した。1及び5日間投与群には、GAA投与前に基礎飼料をそれぞれ9及び5日間給餌した。対照群には、基礎飼料を給餌した。

血漿中Hcy濃度は、1日間投与群の濃度が対照群と比較して有意に増加しており、平衡状態の濃度に達していた。

肝臓中SAM濃度及びCBS活性は、1日間投与群の濃度及び活性が対照群と比較して有意に低下しており、5日間以上投与群と同様の低値であった。

肝臓中SAH濃度は、1日間投与群の濃度が対照群と比較して有意に増加していたが、5日間投与群ではさらに高値となり、以降、平衡状態に達した。

肝臓中SAM/SAH比は、1日間投与群の比が対照群と比較して有意に低かったが、5日間以上投与群の濃度がより低値であった。

肝臓中Hcy濃度は、5日間以上投与群の濃度が対照群と比較して有意に高く、平衡状態に達した。（参照7）

(2) 体内動態試験（鶏）

① 8日間混餌投与試験

結腸にカニューレを装着²した鶏（肉用種、34日齢、雄8羽/群）にGAA製剤を8日間混餌投与（GAAとして0、0.6又は6.0 g/kg飼料）した。最初の

² 尿及び糞を区別して採取するためにカニューレを装着した。

4 日間は馴化期間とし、残り 4 日間で尿及び糞を採取し、GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を HPLC により測定した。

尿及び糞中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 1 に示した。

対照群の尿中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度は糞中濃度より高かった。6.0 g/kg 飼料投与群の尿及び糞中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度は、対照群及び 0.6 g/kg 飼料投与群より有意に高かった。

混餌投与時の糞中 GAA 量から算出した吸収率並びに排泄物中 GAA、クレアチン及びクレアチニン量から算出した体内利用率を表 2 に示した。

吸収率は GAA の投与量に影響されなかったが、尿及び糞中 GAA 量から算出した体内利用率は、0.6 及び 6.0 g/kg 飼料投与群でそれぞれ 83.28 及び 71.34%であった。この差は、GAA の尿排泄の増加によるものであった。

尿及び糞中 GAA、クレアチン及びクレアチニン量から算出した体内利用率は、0.6 及び 6.0 g/kg 飼料投与群でそれぞれ 76.21 及び 45.6%であった。このように 10 倍の GAA 投与量の場合に体内利用率が大きく低下したことは、鶏が GAA のクレアチン及びクレアチニンへの変換の増加による供給過剰を和らげ、これらの代謝物を尿に排泄する有効な機構を有していることを示唆している。(参照8)

表 1 カニューレを装着した鶏における GAA 製剤 8 日間混餌投与時の尿及び糞中 GAA、クレアチン及びクレアチニン量 (mg/kg^{0.75}/日)

排泄物	測定対象	GAA 投与量 (g/kg 飼料)		
		0 (0) ^a	0.6 (37.68) ^a	6.0 (359.2) ^a
尿	GAA	3.374 ^b	9.549 ^b	102.624 ^c
	クレアチン	1.072 ^b	2.141 ^b	29.430 ^c
	クレアチニン	3.395 ^b	4.789 ^b	66.965 ^c
糞	GAA	0.098 ^b	0.334 ^b	4.217 ^c
	クレアチン	0.169 ^b	0.266 ^b	0.826 ^c
	クレアチニン	0.000	0.000	0.000

n=8

a : 基礎体重当たりの GAA 摂取量 (mg/kg^{0.75}/日)

b、c : 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p<0.05)。

表2 カニューレを装着した鶏における GAA 製剤 8 日間混餌投与時の GAA 吸収率及び体内利用率 (%)

吸収率又は体内利用率	GAA 投与量 (g/kg 飼料)	
	0.6	6.0
吸収率 ^a	99.40	98.80
GAA 量のみから算出した体内利用率 ^b	83.28	71.34
GAA、クレアチン及びクレアチニン量から算出した体内利用率 ^c	76.21	45.6

a: 吸収率 = (GAA 摂取量 - 投与後の糞中 GAA 量 + 内因性糞中 GAA 量) ÷ GAA 摂取量 × 100

b: 体内利用率 = (GAA 摂取量 - 投与後の糞中 GAA 量 - 投与後の尿中 GAA 量 + 内因性糞中 GAA 量 + 内因性尿中 GAA 量) ÷ GAA 摂取量 × 100

c: 上述 b の算出式の分子に、投与後の糞及び尿中クレアチン及びクレアチニン量を GAA 量に換算した量を加え、内因性糞及び尿中クレアチン及びクレアチニン量を GAA に換算した量を加えたものを GAA 摂取量で除した。

② 35 日間混餌投与試験

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 256 羽/群) に GAA 製剤 を 35 日間混餌投与 (GAA として 0、0.6 又は 6.0 g/kg 飼料) した。投与開始 14 日間はスターター飼料、残りの期間はグロワー飼料を給餌した。最終投与日に各群 10 羽から血液を採取し、血漿中クレアチンを測光法、クレアチニンを HPLC、Hcy 濃度を LC-MS によって測定した。また、最終投与日の翌日に各群 20 羽から肝臓及び胸部筋肉を採取し、各群に 5 羽分の試料を 1 試料にまとめることで 4 試料とした。肝臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を HPLC によって測定した (定量限界不明)。

血漿中クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 3 に示した。

6.0 g/kg 飼料投与群の血漿中クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度は、0.6 g/kg 飼料投与群と比較して有意に増加した。これらの濃度変化は、肝臓及び胸部筋肉でみられた変化を反映していた。

肝臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 4 に示した。

GAA 投与量の増加に伴い、肝臓及び胸部筋肉における GAA 濃度は、おおむね減少したが、クレアチン濃度は増加した。クレアチニン濃度は、全群の肝臓で検出限界未満であったが、胸部筋肉ではクレアチンと同様の傾向がみられた。

これらの結果から、GAA を混餌投与した場合、アルギニン及びグリシンからの GAA のデノボ合成が減少した代わりに、混餌投与した GAA がクレアチンの産生に使用され、その結果として組織中 GAA 濃度が低下することが示唆された。

また、GAA 投与量が増加すると、血漿中クレアチン及びクレアチニン濃度が増加していることは、肝臓及び胸部筋肉でみられた変化を反映しており、これらの代謝物の排泄器官への輸送が増大していることが示唆された。

なお、本試験では、6.0 g/kg 飼料投与群の体重増加量及び摂餌量は、対照群及び 0.6 g/kg 飼料投与群と比較して有意に減少していたが、飼料効率には影響はみられなかった。(参照 8)

表 3 鶏における GAA 製剤 35 日間混餌投与後の血漿中クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度

測定対象	GAA 投与量 (g/kg 飼料)		
	0	0.6	6.0
クレアチン (mg/dL)	1.18 ^a	1.07 ^a	2.59 ^b
クレアチニン (μmol/L)	3.6 ^a	3.7 ^{a,b}	4.2 ^b
Hcy (μmol/L)	42.9 ^a	39.1 ^a	56.1 ^b

n=10

a、b：測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p≤0.05)。

表 4 鶏における GAA 製剤 35 日間混餌投与後の肝臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (μg/g)

組織	測定対象	GAA 投与量 (g/kg 飼料)		
		0	0.6	6.0
肝臓	GAA	45.00 ^a	49.25 ^a	6.13 ^b
	クレアチン	67.4 ^a	90.0 ^b	132.5 ^c
	クレアチニン	ND	ND	ND
胸部筋肉	GAA	4.57 ^a	3.01 ^{a,b}	0.85 ^b
	クレアチン	4,741 ^a	5,157 ^b	5,920 ^c
	クレアチニン	11.78 ^a	12.28 ^a	21.38 ^b

n=4 ND：検出限界未満（検出限界不明）

a、b、c：測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p≤0.05)。

(3) 体内動態試験 (ヒト)

① 単回経口投与試験

健常なヒト (22±2 歳、男女各 6 名/群) に GAA を単回経口投与 (0、1.2、2.4 又は 4.8 g、カプセル投与) した。投与前並びに投与後 1、2、4、6、8、12 及び 24 時間後に採血し、血漿中 GAA 及びクレアチン濃度を HPLC により測定した。

投与後の GAA 体内動態パラメーターを表 5 に、クレアチン体内動態パラメーターを表 6 に示した。

投与前の平均血漿中 GAA 濃度は 2.9±0.3 μmol/L であった。GAA の投与量の増加に伴い、AUC は 2.4~9.3 倍に増加した。4.8 g/人投与群の消失 T_{1/2} が、他の GAA 投与群より有意に長かった。分布容積は、投与量の影響を受け、小さくなる傾向がみられた。

1.2、2.4 及び 4.8 g/人投与群の血漿中クレアチン濃度は、投与前濃度からそれぞれ 80%、116%及び 293%増加した。

単回経口投与後の GAA の薬物動態は、投与量の点からは非線形であった。(参照9)

表 5 ヒトにおける GAA 単回経口投与後の GAA 体内動態パラメーター

パラメーター	投与量 (g/人)		
	1.2	2.4	4.8
C _{max} (µmol/L)	56.9 ± 9.2 ^a	151.3 ± 17.5 ^b	418.4 ± 89.6 ^c
T _{max} (h)	1.33 ± 0.49 ^a	1.33 ± 0.49 ^a	2.17 ± 0.58 ^b
AUC _{0~∞} (µmol · h/L)	224.8 ± 38.0 ^a	531.4 ± 64.1 ^b	2092.4 ± 453.2 ^c
吸収 T _{1/2} (h)	0.66 ± 0.13	0.67 ± 0.06	0.93 ± 0.44
消失 T _{1/2} (h)	1.54 ± 0.26 ^a	1.74 ± 0.30 ^a	2.10 ± 0.36 ^b
みかけの分布容積 (L)	102.6 ± 17.3 ^a	97.5 ± 15.7 ^a	61.1 ± 12.7 ^b
みかけの全身クリアランス (L/h)	46.9 ± 8.3 ^a	39.1 ± 4.6 ^b	20.5 ± 4.4 ^c
吸収速度定数 (h ⁻¹)	1.08 ± 0.21	1.04 ± 0.08	1.22 ± 1.21
消失速度定数 (h ⁻¹)	0.46 ± 0.07 ^a	0.41 ± 0.07 ^a	0.34 ± 0.06 ^b
ラグ時間 (h)	0.14 ± 0.17	0.31 ± 0.18	0.38 ± 0.32

n=12 平均 ± 標準偏差

a, b, c: パラメーターごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p<0.05)。

表 6 ヒトにおける GAA 単回経口投与後のクレアチン体内動態パラメーター

パラメーター	投与量 (g/人)		
	1.2	2.4	4.8
投与前濃度	28.7 ± 6.9	31.5 ± 10.5	28.8 ± 8.8
C _{max} (µmol/L)	51.7 ± 7.8 ^a	67.9 ± 17.1 ^a	113.3 ± 31.3 ^b
T _{max} (h)	1.82 ± 0.87	1.33 ± 0.49	1.75 ± 0.45
AUC _{0~∞} (µmol · h/L)	223.2 ± 173.4 ^a	311.3 ± 199.8 ^a	536.9 ± 264.8 ^b
消失 T _{1/2} (h)	8.78 ± 4.86	8.79 ± 9.00	5.76 ± 4.40

n=12 平均 ± 標準偏差

a, b: 各パラメーター内において、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p<0.05)。

② 6週間経口投与試験

健康なヒト (22.3 ± 1.5 歳、男女各 6 名/群 (最終的には GAA 群 12 名、対照群 11 名)) に GAA を 6 週間経口投与 (0 又は 2.4 g/人/日) した。対照群には、イヌリンを投与した。投与前、投与開始 2 及び 4 週間後並びに最終投与後に血液を採取するとともに尿を 24 時間採取し、血清及び尿中 GAA、ク

レアチン及びクレアチニン濃度を HPLC によって測定し、血漿中 Hcy 濃度をイムノアッセイによって測定した。得られた濃度から、AUC を算出し、投与群と対照群で比較した。血清中 AST、ALT、CK、 γ -GT 及び ALP の酵素活性も測定した。また、投与期間中にみられた副作用を調べた。

投与中及び投与後の血清中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 7 に示した。

投与中及び投与後の尿中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 8 に示した。

表 7 及び 8 に示した濃度から算出した AUC を表 9 に示した。

GAA 投与群の血清中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度の AUC は、対照群と比較して有意に大きかった。一方、尿中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度の AUC に、両群間に有意な差はみられなかった。

また、血清中 AST、ALT、CK、 γ -GT 及び ALP の酵素活性にも両群間に有意な差はみられなかった。

投与後の副作用が、GAA 投与群で 12 名中 7 名 (58.3%)、対照群で 11 名中 5 名 (45.5%) にみられ、胸焼け、腹痛、下痢、筋肉痙攣等の症状であった。これら副作用の頻度は、両群間に有意な差はみられなかった。副作用の大部分は、投与初日の投与 15 分後から 2 時間後までに単回で発生したものであった。投与開始 2~6 週間では、副作用はみられなかった。また、血液生化学的指標に異常がみられた項目は高 Hcy 血症³であり、GAA 投与群の 7 名、対照群の 2 名にみられた。(参照 4、10)

表 7 ヒトにおける GAA 6 週間経口投与中及び投与後の血清中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度 ($\mu\text{mol/L}$)

測定対象	群	投与前	投与開始後 (週)		
			2	4	6 (最終投与後)
GAA	対照	2.8 ± 0.2	2.8 ± 0.4	2.8 ± 0.4	2.8 ± 0.2
	GAA	2.8 ± 0.3	4.1 ± 3.1	4.3 ± 2.5	4.3 ± 1.5
クレアチン	対照	33.1 ± 5.9	34.4 ± 5.3	34.0 ± 7.2	33.7 ± 6.6
	GAA	31.5 ± 10.5	46.1 ± 14.0	48.1 ± 18.1	46.8 ± 15.6
クレアチニン	対照	82.7 ± 12.1	86.5 ± 11.1	85.8 ± 9.9	79.9 ± 10.1
	GAA	87.6 ± 10.8	100.5 ± 13.5	106.7 ± 14.3	106.8 ± 11.1
Hcy	対照	8.8 ± 1.9	8.8 ± 1.7	9.1 ± 2.0	8.8 ± 1.9
	GAA	9.3 ± 2.0	10.2 ± 2.7	11.2 ± 1.8	11.9 ± 1.8

n=12 (ただし、対照群は n=11)

³ 血漿中 Hcy 濃度が、男性では 11.4 $\mu\text{mol/L}$ 、女性では 10.4 $\mu\text{mol/L}$ を超える場合を高 Hcy 血症と判断した。

表 8 ヒトにおける GAA6 週間経口投与中及び投与後の尿中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度

測定対象	群	投与前	投与開始後 (週)		
			2	4	6 (最終投与後)
GAA (μmol/L)	対照	158.3 ± 44.9	195.3 ± 51.5	190.7 ± 59.0	183.4 ± 53.2
	GAA	162.1 ± 43.7	231.3 ± 109.9	239.8 ± 90.1	264.3 ± 105.2
クレアチン (mg/L)	対照	22.0 ± 5.3	26.3 ± 7.5	25.7 ± 11.2	27.1 ± 13.0
	GAA	21.0 ± 3.5	32.7 ± 17.7	34.8 ± 15.6	40.4 ± 26.3
クレアチニン (g/L)	対照	1.1 ± 0.4	1.2 ± 0.4	1.2 ± 0.4	1.2 ± 0.3
	GAA	1.1 ± 0.4	1.3 ± 0.6	1.3 ± 0.4	1.8 ± 0.4

n=12 (ただし、対照群は n=11)

表 9 ヒトにおける GAA 6 週間経口投与試験における血清中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度並びに尿中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度から算出した AUC

測定対象		対照群	GAA 投与群
血清	GAA (μmol・週/L)	16.9 ± 1.6	23.8 ± 11.6 ^a
	クレアチン (μmol・週/L)	204.3 ± 31.2	266.7 ± 87.5 ^a
	クレアチニン (μmol・週/L)	509.2 ± 53.3	608.9 ± 54.2 ^a
	Hcy (μmol・週/L)	53.3 ± 11.3	64.1 ± 11.3 ^a
尿	GAA (μmol・週/L)	1111.6 ± 256.7	1368.6 ± 468.6
	クレアチン (mg・週/L)	153.6 ± 45.0	196.4 ± 61.6
	クレアチニン (g・週/L)	7.2 ± 1.9	8.0 ± 2.1

n=12 (ただし、対照群は n=11)

a: 対照群と比較して有意差あり (p<0.05)。

(4) クレアチンに関する体内動態試験

① 体内動態試験 (ヒト)

健康なヒト (24.0±4.1 歳、男性 8 名、女性 7 名) に、5 日間クレアチンを摂取しない食事 (肉を含まない食事) をさせた後、血漿中 GAA、クレアチン、Hcy 及びクレアチニン濃度を測定した。尿を 24 時間採取し、尿中クレアチニン量を測定した。

また、上述の試験の 2~16 週間後に、同一の被験者に 5 日間クレアチン水和物を経口投与 (21 g/日 (7 g/回を 3 回/日)) した。この 5 日間は、通常の食事であった。上述の試験と同様に、血漿中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度並びに尿中クレアチニン量を測定した。

血漿中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度並びに尿中クレアチニン量の測定結果を表 10 に示した。

クレアチン摂取群の全被検者の血漿中 GAA 濃度は、クレアチン非摂取群より有意に低かった。

血漿中クレアチニン及び Hcy 濃度並びに尿中クレアチン量に、クレアチンの摂取の影響はみられなかった。(参照11)

表 10 ヒトにおける血漿中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度並びに尿中クレアチニン量

測定対象	クレアチン摂取	男性	女性	全被験者
血漿中 GAA ($\mu\text{mol/L}$)	－	3.12 \pm 0.66	2.02 \pm 0.54	2.61 \pm 0.82
	＋	1.66 \pm 0.88 ^a	0.89 \pm 0.25 ^a	1.30 \pm 0.76 ^b
血漿中クレアチン ($\mu\text{mol/L}$)	－	39.16 \pm 10.14	37.92 \pm 8.73	38.58 \pm 9.19
	＋	302.22 \pm 198.61 ^c	340.34 \pm 89.05 ^d	320.01 \pm 153.32 ^b
血漿中クレアチニン (mg/dL)	－	0.93 \pm 0.21	0.74 \pm 0.12	0.84 \pm 0.19
	＋	0.94 \pm 0.16	0.68 \pm 0.09	0.82 \pm 0.18
血漿中 Hcy 濃度 ($\mu\text{mol/L}$)	－	9.2 \pm 1.6	7.4 \pm 1.3	8.4 \pm 1.7
	＋	9.7 \pm 2.3	8.4 \pm 0.9	9.1 \pm 1.8
尿中クレアチニン (g)	－	2.07 \pm 0.59	1.04 \pm 0.17	1.59 \pm 0.68
	＋	2.40 \pm 0.60	1.26 \pm 0.38	1.87 \pm 0.77

男性 n=8 女性 n=7 全被験者 n=15

a : クレアチン非摂取群と比較して有意差あり (p<0.0002)。

b : クレアチン非摂取群と比較して有意差あり (p 値不明)。

c : クレアチン非摂取群と比較して有意差あり (p<0.008)。

d : クレアチン非摂取群と比較して有意差あり (p<0.0001)。

② クレアチン代謝に係る知見

体内では、1日当たりクレアチンプールの約 1.7%がクレアチニンに変換されるという報告があり、体重 70 kg のヒト (総クレアチンとして 120 g を含む) では、大まかに 1日当たりクレアチン約 2 g がクレアチニンに代謝されることから、その分のクレアチンを食物から又は新たに合成して補わなければならない。(参照12)

妊娠末期のラットを用いたクレアチン及びクレアチニンの代謝に関する試験が実施されている。母動物の大腿静脈からクレアチンを投与すると、母動物では投与 5 分後に母動物の血中クレアチン濃度は最高値に達し、1 時間程度で投与前の水準に戻るが、胎児では、投与 30 分～1 時間後にクレアチン濃度は最高値に達し、その値は母動物より数倍高く、投与後 2 時間後にかけて低下はするものの 4 時間を経過してもなお高濃度が維持された。一方、クレアチニンの投与では、母動物では、投与 5 分後に最高値に達した後、急減するが、胎児では、投与後 5～15 分程度後に最高値に達した後、一定値で推移し、その値は終始母動物を超えることはなかった。以上の結果から著者は、クレアチンは、能動的に胎盤を通して胎児へが輸送されるが、クレアチニンは

受動的に胎盤を通して母動物から胎児へ輸送されることが示唆されるとした。
(参照13)

2. 残留試験

残留試験(1)～(12)において、血液(血漿又は血清)及び組織中GAA、クレアチン、クレアチニン及びHcy濃度の測定方法及び検出限界は、表11のとおりである。(参照14、38)

表11 血液(血漿又は血清)、組織及び卵中GAA、クレアチン、クレアチニン及びHcy濃度の測定方法及び検出限界

試料	測定対象	動物	測定方法	検出限界
血液	GAA	豚・鶏	LC-MS/MS	0.9 µmol/L
	クレアチン	豚・鶏	比色法	0.00131 mg/dL
	クレアチニン	豚	比色法	0.177 µmol/L
		鶏	自動分析装置	0.1 µmol/L
	Hcy	豚	LC-MS/MS	0.1 µmol/L
		鶏	LC-MS	0.1 µmol/L
組織	GAA	豚・鶏	HPLC-UV	0.2 µg/g
	クレアチン	豚・鶏	HPLC-UV	3 µg/g
	クレアチニン	豚	HPLC-UV	0.02 µg/g
		鶏	HPLC-UV	1.0 µg/g
	Hcy	豚	HPLC-FL	肝臓、筋肉 0.42 nmol/g 腎臓 1.98 nmol/g
		鶏	HPLC-FL	肝臓、筋肉 0.42 nmol/g 腎臓 0.65 nmol/g
卵	GAA	鶏	HPLC	0.5 µg/g
	クレアチン			1.0 µg/g
	クレアチニン			1.0 µg/g
	Hcy			0.5 µg/g

(1) 残留試験(豚)

豚(交雑種、33日齢、平均体重8.4kg、雌雄各24頭/群)にGAA製剤を42日間混餌投与(0、600、900、1,200、4,500又は6,000mg/kg飼料)した。飼料は、投与開始14日後まではプレスターター飼料⁴、残りの期間はスターター飼料⁵を用いた。最終投与後に各群12頭から血液を採取し、GAA、クレアチン、クレアチニン及びHcy濃度を測定した。また、最終投与後に各群6頭から肝臓、腎臓及び筋肉を採取し、GAA、クレアチン、クレアチニン及びHcy濃度を測定した。

⁴ 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令(昭和51年農林省令第35号)(以下「農林省令」という)でいう豚用飼料の「ほ乳期用」の初期の餌付けの期間に給餌する飼料(プレスターター)と考えられる。

⁵ 農林省令でいう豚用飼料の「ほ乳期用」の中期から離乳期までの期間に給餌する飼料(スターター)と考えられる。

飼料中 GAA 濃度を表 12 に示した。

表 12 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

GAA 投与量	飼料中 GAA 濃度	
	プレスターター	スターター
0	<1	<1
600	727	571
900	996	779
1,200	1,230	1,150
4,500	4,480	4,600
6,000	6,040	6,020

血漿、肝臓、腎臓及び筋肉中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 13 に示した。4,500 mg/kg 飼料以上投与群の肝臓中 GAA 濃度は、1,200 mg/kg 飼料以下投与群と比較して高かった。4,500 mg/kg 飼料以上投与群の肝臓及び腎臓中クレアチン濃度は、対照群と比較してそれぞれ約 8～15 及び 5 倍の濃度であった。6,000 mg/kg 飼料投与群の腎臓中 Hcy 濃度は、対照群と比較して有意に高かった。(参照 4、39)

表 13 豚における GAA 42 日間混餌投与後の血漿、肝臓、腎臓及び筋肉中の GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度

試料	測定対象	投与量(mg/kg 飼料)					
		0	600	900	1,200	4,500	6,000
血漿	GAA($\mu\text{mol/L}$)	8.0 ^a	9.2 ^a	9.4 ^a	9.7 ^a	27.7 ^b	20.9 ^{ab}
	クレアチン (mg/dL)	1.8 ^a	2.5 ^a	2.5 ^a	2.2 ^a	3.9 ^b	4.3 ^b
	クレアチニン ^d ($\mu\text{mol/L}$)	88.8	90.8	90.6	92.5	101.3	96.3
	Hcy($\mu\text{mol/L}$)	15.6 ^a	15.5 ^a	15.4 ^a	19.6 ^{ab}	20.2 ^{ab}	23.1 ^b
肝臓 ($\mu\text{g/g}$)	GAA	2.2 ^a	2.0 ^a	3.5 ^a	5.7 ^a	117.2 ^a	293.7 ^b
	クレアチン	130 ^a	276 ^{ab}	395 ^{ab}	339 ^{ab}	1,056 ^b	1,940 ^c
	クレアチニン	10.3 ^a	14.5 ^a	12.2 ^a	13.0 ^a	44.8 ^b	17.0 ^a
	Hcy	1.47	NA	NA	NA	NA	1.23
腎臓 ($\mu\text{g/g}$)	GAA	154	131	133	89	134	135
	クレアチン	81 ^a	146 ^{ab}	215 ^b	137 ^{ab}	387 ^c	378 ^c
	クレアチニン	73	63	67	58	116	56
	Hcy	1.37 ^a	1.69 ^a	1.66 ^a	2.28 ^{ab}	1.93 ^a	2.96 ^b
筋肉 ($\mu\text{g/g}$)	GAA	<1.0	1.0	<1.0	<1.0	2.24	1.24
	クレアチン	5,759	5,704	5,555	5,831	6,019	5,938
	クレアチニン	41.0 ^{ab}	78.7 ^c	40.5 ^a	45.8 ^{ab}	80.5 ^c	54.0 ^b
	Hcy	0.37	NA	NA	NA	NA	0.57

n=6 (ただし、血漿のみ n=12) NA: 測定せず。

a、b、c: 同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり ($p \leq 0.05$)。

d: クレアチニンのみ血清を試料としている。

(2) 残留試験 (鶏) ①

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 256 羽/群) に GAA を 35 日間混餌投与 (0、600、1,500、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料) した。飼料は、投与開始 14 日後まではスターター飼料⁶、残りの期間はグロワー飼料⁷を用いた。

最終投与 1 日後に各群 20 羽から肝臓及び胸部筋肉を採取し、組織中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を測定した。また、最終投与 1 日後に各群 10 羽から血液を採取し、血漿中クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を測定した。飼料中 GAA 濃度を表 14 に示した。

表 14 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

GAA 投与量 (mg/kg 飼料)	飼料中 GAA 濃度	
	スターター	グロワー
0	<0.05	<0.05
600	592	586
1,500	1,451	1,529
3,000	3,496	2,966
6,000	5,534	5,883

肝臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 15 に、血漿中クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 16 に示した。

肝臓中 GAA 濃度は 3,000 mg/kg 飼料以上投与群で、胸部筋肉中 GAA 濃度は 1,500 mg/kg 飼料以上投与群で、GAA 投与量の増加に伴い減少した。肝臓及び胸部筋肉及び血漿中クレアチン及びクレアチニン濃度は用量依存性に増加した。血漿中 Hcy 濃度の上昇が最高用量の 6,000 mg/kg 飼料投与群のみにみられた。

なお、血液学的検査を実施した結果、1,500 mg/kg 飼料以上投与群に MCV の有意な増加がみられた。これについて EFSA は、原因は基礎飼料のビタミン B₁₂、葉酸及びコリンの不足によると考察している。(参照 3、4、15)

⁶ 農林省令におけるブロイラー用飼料の「前期用」に相当すると考えられる。

⁷ 農林省令におけるブロイラー用飼料の「後期用」に相当すると考えられる。

表 15 鶏における GAA 35 日間混餌投与後の肝臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g)

組織	測定対象	GAA 投与量 (mg/kg 飼料)				
		0	600	1,500	3,000	6,000
肝臓	GAA	45.0 ^a	49.3 ^a	47.3 ^a	13.5 ^b	6.2 ^b
	クレアチン	67.3 ^c	90.0 ^{bc}	113.2 ^{ab}	114.2 ^{ab}	132.4 ^a
	クレアチニン	ND	ND	ND	ND	ND
胸部 筋肉	GAA	4.57 ^a	3.01 ^a	1.26 ^b	0.78 ^b	0.85 ^b
	クレアチン	4,741 ^c	5,157 ^b	5,678 ^a	5,863 ^a	5,920 ^a
	クレアチニン	11.8 ^c	12.3 ^c	15.3 ^{bc}	17.9 ^{ab}	21.4 ^a

n=4 ND: 検出限界未満

a、b、c: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p≤0.05)。

表 16 鶏における GAA 35 日間混餌投与後の血漿中クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度

測定対象	GAA 投与量 (mg/kg 飼料)				
	0	600	1,500	3,000	6,000
クレアチン (mg/dL)	1.2 ^c	1.1 ^c	1.3 ^{bc}	1.8 ^b	2.6 ^a
クレアチニン (µmol/L)	3.6 ^b	3.7 ^{ab}	4.0 ^{ab}	4.2 ^a	4.2 ^a
Hcy (µmol/L)	42.9 ^b	39.1 ^b	42.9 ^b	39.6 ^b	56.1 ^a

n=10

a、b、c: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p≤0.05)。

(3) 残留試験 (鶏) ②

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 17 羽/群⁸) に GAA 製剤⁹を 35 日間混餌投与 (0、600、1,200、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料) した。飼料は、最初の 21 日間はスターター飼料、残りの 14 日間はグロワー飼料を用いた。最終投与後に、各群 10 羽から、血液及び組織を採取し、GAA、クレアチン、クレアチニン濃度及び Hcy 濃度を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 17 に示した。

表 17 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

製剤投与量 (mg/kg 飼料)	GAA 投与量 (mg/kg 飼料)	飼料中 GAA 濃度	
		スターター	グロワー
0	0	10	1
600	586	602	579
1,200	1,171	1,185	1,147
3,000	2,928	2,752	2,728
6,000	5,856	5,843	5,495

⁸ 1,200 mg/kg 飼料投与群のみ n=16 であった。

⁹ 製剤は、GAA を 97.6%含んでいる。

血漿中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 18 に示した。GAA 製剤投与量の増加に伴い血漿中 GAA 濃度は上昇した。また、血漿中クレアチン濃度は 3,000 mg/kg 飼料以上投与群で、Hcy 濃度は 6,000 mg/kg 投与群で有意に上昇した。

表 18 鶏における GAA 製剤 35 日間混餌投与後の血漿中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度 (µmol/L)

測定対象	製剤投与量 (mg/kg 飼料)				
	0	600	1,200	3,000	6,000
GAA	0.8 ^a	9.2 ^b	13.7 ^b	44.8 ^c	116.2 ^d
クレアチン	118 ^a	134 ^{ab}	123 ^{abc}	183 ^d	281 ^e
クレアチニン	4.1 ^a	3.8 ^a	3.1 ^a	4.2 ^a	4.4 ^a
Hcy	74 ^a	79 ^{ab}	58 ^{abc}	88 ^{abd}	131 ^e

n=10

a、b、c、d、e：測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p<0.01)。

肝臓、腎臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 19 に示した。

6,000 mg/kg 飼料投与群の肝臓、腎臓及び胸部筋肉中 GAA 濃度は、対照群と比較して有意に高かった。腎臓中 GAA 濃度は、600 及び 3,000 mg/kg 飼料投与群も対照群と比較して有意に高かった。クレアチン濃度は、3,000 mg/kg 飼料以上投与群の肝臓及び 1,200 mg/kg 飼料以上投与群の腎臓において、対照群と比較して有意に高かった。(参照 4、16)

表 19 鶏における GAA 製剤 35 日間混餌投与後の肝臓、腎臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度 (µg/g)

組織	測定対象	製剤投与量 (mg/kg 飼料)				
		0	600	1,200	3,000	6,000
肝臓	GAA	26	22	24	19	319 ^a
	クレアチン	97	76	106	406 ^a	893 ^a
	クレアチニン	0.6	0.6	0.6	1.1	2.6 ^a
	Hcy	1.1	1.0	1.0	1.0	1.1
腎臓	GAA	27	50 ^a	45	139 ^a	253 ^a
	クレアチン	65	73	91 ^a	123 ^a	225 ^a
	クレアチニン	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0
	Hcy	1.6	2.0	1.6	1.9	2.4 ^a
胸部 筋肉	GAA	6	5	5	4	12 ^a
	クレアチン	5,026	5,036	5,373	5,687	5,825
	クレアチニン	8.0	7.4	9.4	10.5	8.6
	Hcy	2.8	2.6	2.6	3.1	4.4 ^a

n=10 ND：検出限界未満

a：対照群と比較して有意差あり。

(4) 残留試験 (鶏) ③

鶏 (肉用種、1 日齢、雄、GAA 投与群各 240 羽/群、陽性及び陰性対照群各 280 羽/群) に GAA を 42 日間混餌投与 (0、314、628、942 又は 1,256 mg/kg 飼料) した。陽性対照群には、魚粉を投与した。飼料は、最初の 21 日間はスターター飼料、残りの 14 日間はグロワー飼料を用いた。最終投与後に、被験物質投与群の各 18 羽、陽性及び陰性対照群の各 21 羽から筋肉を採取し、GAA 及びクレアチン濃度を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 20 に示した。

表 20 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料) ^a

飼料	投与量					
	0	314	628	942	1,256	魚粉
スターター	—	240	600	950	1,100	—
グロワー	—	200	600	970	1,400	—

a: 参照 3 の飼料中濃度を記載した。

筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度を表 21 に示した。

全 GAA 投与群の筋肉中 GAA 濃度は、陰性対照群と比較して有意に低かった。一方、全 GAA 投与群の筋肉中クレアチン濃度は、陰性対照群と比較して有意に高かった。

なお、死亡率を算出するとともに、体重増加量及び飼料摂取量を測定し飼料効率を算出した。その結果、死亡率については、被験物質の投与による影響はみられなかった。体重増加量及び飼料摂取量については、被験物質の各投与群は、対照群と比較して有意な変化はみられなかったが、飼料効率については、628 mg/kg 飼料投与群を除いた被験物質投与群は、対照群と比較して有意に改善された。(参照 3、4)

表 21 鶏における GAA を 42 日間混餌投与後の筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度 (µg/g)

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)					
	0	314	628	942	1,256	魚粉 (陽性対照)
GAA	7.59 ^a	1.30 ^b	1.78 ^b	1.21 ^b	0.91 ^b	1.41 ^b
クレアチン	4,665 ^a	5,337 ^b	5,370 ^b	5,322 ^b	5,689 ^c	5,215 ^d

n=18 (ただし、陰性 (0 mg/kg 飼料) 及び陽性 (魚粉) 対照群は n=21)

a、b、c、d: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p<0.05)。

(5) 残留試験 (鶏) ④

鶏 (肉用種、1 日齢、合計雄 120 羽) に GAA を 41 日間混餌投与 (0、200、400 又は 600 mg/kg 飼料) した。飼料は、試験開始 10 日後までスターター

飼料、11～28 日後まではグロワー飼料、残りの期間はフィニッシャー飼料¹⁰を用いた。最終投与後に、各群 30 羽から肝臓及び胸部筋肉を採取し、GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 22 に示した。

表 22 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

飼料	投与量			
	0	200	400	600
スターター	<0.08	158	338	499
グロワー	<0.08	177	375	542
フィニッシャー	<0.08	189	394	587

肝臓中 GAA 及びクレアチン並びに胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 23 に示した。

全 GAA 投与群の胸部筋肉中 GAA 濃度は、対照群と比較して有意に低かった。胸部筋肉中クレアチン濃度は、400 mg/kg 飼料以上投与群において対照群と比較して有意に高かった。

なお、死亡率を算出するとともに、体重増加量及び飼料摂取量を測定し飼料効率を算出した結果、被験物質の投与による影響はみられなかった。(参照 3、4)

表 23 鶏における GAA41 日間混餌投与後の肝臓及び筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g)

組織	測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)			
		0	200	400	600
肝臓	GAA	161.2 ^a	215.0 ^b	205.0 ^{ab}	222.5 ^b
	クレアチン	45.3	52.0	48.8	54.2
胸部 筋肉	GAA	23.7 ^a	13.7 ^b	6.2 ^c	3.7 ^c
	クレアチン	3896 ^a	4006 ^a	4357 ^b	4560 ^c
	クレアチニン	10.7 ^a	13.0 ^b	14.0 ^b	14.5 ^b

n=30

a、b、c: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p≤0.05)。

(6) 残留試験 (鶏) ⑤

鶏 (肉用種、1 日齢、雌雄 96 羽/群) に GAA 製剤を 42 日間混餌投与 (GAA として 0 又は 800 mg/kg 飼料) した。飼料は、最初の 21 日間はスターター飼料、残りの 21 日間はグロワー飼料を用いた。最終投与後に、各群 24 羽から胸部筋肉を採取し、GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を測定した。

胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 24 に示した。

¹⁰ 農林省令でいうブロイラー用飼料の「後期用」に相当すると考えられるが、特に出荷前の期間に給餌する飼料 (仕上げ用) と考えられる。

GAA 投与群の GAA 濃度は低下傾向がみられ、クレアチン濃度は有意に高かった。

なお、死亡率を算出するとともに、体重増加量及び飼料摂取量を測定し飼料効率を算出した結果、被験物質投与群の飼料効率は、対照群と比較して有意に改善されたが、死亡率、体重増加量及び飼料摂取量に被験物質の投与による影響はみられなかった。(参照 3、4、14)

表 24 鶏における GAA 製剤 42 日間混餌投与後の胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g)

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料(GAA として))	
	0	800 (737/765) ^a
GAA	1.81	0.70
クレアチン	4,481	5,045 ^b
クレアチニン	6.7	8.0

n=24

a : 飼料中 GAA 濃度の分析値 (左はスターター飼料、右はグロワー飼料)

b : 対照群と比較して有意差有り (p≤0.05)。

(7) 残留試験 (鶏) ⑥

鶏 (肉用種、1 日齢、羽数不明) に GAA を飼料 42 日間混餌投与 (0、785、1,178 又は 7,850 mg/kg 飼料となるように、飼養前半はスターター飼料に、飼養後半はグロワー飼料にそれぞれ混餌投与) した。最終投与後に、各群 5 羽から肝臓及び胸部筋肉を採取し、肝臓では GAA 及びクレアチン、胸部筋肉では GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 25 に示した。

表 25 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

飼料	投与量			
	0	785	1,178	7,850
スターター	NA	690	1,090	6,600
グロワー	NA	700	NA	7,750

NA : 分析せず

肝臓中 GAA 及びクレアチン並びに胸部筋肉中の GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 26 に示した。

肝臓については、最高用量の 7,850 mg/kg 飼料投与群の GAA 及びクレアチン濃度が対照群と比較して有意に高かった。

胸部筋肉については、各投与群の GAA 濃度は対照群と比較して有意には異ならなかった。クレアチン及びクレアチニン濃度は、対照群と比較して有意に高かった。(参照 4)

表 26 鶏における GAA 42 日間混餌投与後の肝臓中 GAA 及びクレアチン並びに胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g)

組織	測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)			
		0	785	1,178	7,850
肝臓	GAA	22.7 ^a	14.6 ^a	12.4 ^a	103.9 ^b
	クレアチン	85.4 ^a	131.6 ^a	116.0 ^a	1,667.5 ^b
胸部 筋肉	GAA	1.5 ^{ab}	0.6 ^a	0.4 ^a	2.6 ^b
	クレアチン	4,051 ^a	5,109 ^b	5,192 ^b	5,667 ^b
	クレアチニン	14.9 ^a	23.6 ^b	24.4 ^b	34.0 ^c

n=5

a、b、c: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p≤0.05)。

(8) 残留試験 (鶏) ⑦

鶏 (品種不明、8 日齢、性別不明、40 羽/群) に GAA 製剤を 14 日間混餌投与 (GAA として 0、600 又は 1,200 mg/kg 飼料) した。GAA 投与前の週には、鶏にアルギニン欠乏の基礎飼料を給餌した。各 GAA 投与群は更に 2 群 (アルギニンの添加: 0 又は 1.6 g/kg 飼料) に分けた。対照群は 3 群 (アルギニンの添加: 0、1.6 又は 3.2 g/kg 飼料) に分けた。最終投与後に、各群 16 羽から血液を採取し、血清中 GAA、総クレアチン及びクレアチニン並びに血漿中 Hcy 濃度を測定した。また、各群 8 羽から胸部筋肉を採取し、GAA、総クレアチン、クレアチニン、Hcy 及びホスホクレアチン濃度を測定した。

血清中 GAA 及びクレアチン並びに血漿中 Hcy 濃度を表 27 に、胸部筋肉中総クレアチン、クレアチニン、Hcy 及びホスホクレアチン濃度を表 28 に示した。

血清中 GAA 及びクレアチン濃度は、アルギニン 1.6 g/kg 飼料投与群において GAA の用量依存性に増加した。血清中クレアチニン濃度は、検出限界未満であった (データは示されなかった)。血漿中 Hcy 濃度は、GAA 投与によって影響しなかった。

胸部筋肉中 GAA 濃度は、多くの試料で検出限界未満であったことから、報告されなかった。胸部筋肉中総クレアチン及びホスホクレアチン濃度は、アルギニン添加飼料投与群内では GAA が用量依存性に増加した。胸部筋肉中 Hcy 濃度は、アルギニン欠乏飼料投与群内では GAA 投与によって増加する傾向がみられた。しかし、アルギニン添加飼料投与群内では、GAA の両投与群の濃度は、対照群と比較して有意に低かった。(参照 4、14)

表 27 鶏における GAA 製剤 14 日間混餌投与後の血清中 GAA 及びクレアチン濃度並びに血漿中 Hcy 濃度

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料(GAA として))						
	0			600		1,200	
	10.1 ^a	11.6 ^a	13.1 ^a	10.1 ^a	11.6 ^a	10.1 ^a	11.5 ^a
血清中 GAA (μmol/L)	0.39	0.48	0.91	3.85	4.91	9.84	13.95
血清中クレアチン (μmol/L)	14.2	19.8	28.3	22.3	26.0	37.1	43.2
血漿中 Hcy (μmol/L)	155.4	178.2	134.4	151.6	170.5	150.5	157.7

n=8

a : 飼料中総アルギニン濃度 (g/kg 飼料)

表 28 鶏における GAA 製剤 14 日間混餌投与後の胸部筋肉中総クレアチン、クレアチニン、Hcy 及びホスホクレアチン濃度

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料(GAA として))						
	0			600		1,200	
	10.1 ^a	11.6 ^a	13.1 ^a	10.1 ^a	11.6 ^a	10.1 ^a	11.5 ^a
総クレアチン (mg/g)	2.4	3.3	3.7	3.0	4.1	4.0	5.1
クレアチニン (μg/g)	5.1	6.5	8.3	6.8	12.3	12.6	8.0
Hcy (nmol/kg)	75.3	108.6	119.0	114.3	78.3	82.7	70.9
ホスホクレアチン (nmol/g 乾物)	37.6	61.7	74.4	56.1	82.4	91.0	108.7

n=8

a : 飼料中総アルギニン濃度 (g/kg 飼料)

(9) 残留試験 (鶏) ⑧

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 192 羽/群) に GAA を 39 日間混餌投与 (0、600 又は 1,200 mg/kg 飼料) した。また、陽性対照群には、基礎飼料に魚粉飼料を添加した飼料を給餌した。飼料は、試験開始 13 日後まではスターター飼料、14 から 26 日後まではグロワー飼料、残りの期間はフィニッシャー飼料を用いた。投与開始 26 日後に、各群 12 羽から胸部筋肉を採取し、GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度並びにホスクレアチニン/ATP 比を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 29 に示した。

表 29 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

飼料	投与量			
	0	600	1,200	魚粉 (陽性対照)
スターター	1	658	1,240	<1
グロワー	<1	575	1,196	<1
フィニッシャー	<1	545	1,190	<1

胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度並びにホスホクレアチン/ATP 比を表 30 に示した。

各 GAA 投与群の胸部筋肉中 GAA 濃度は低下し、クレアチン濃度は増加した。

なお、最終投与後に、死亡率を算出するとともに、体重増加量及び飼料摂取量を測定し飼料効率を算出した。その結果、死亡率に被験物質の投与による影響はみられなかった。また、GAA 投与群の体重、体重増加量及び飼料効率は、陰性対照群と比較して有意に改善されたが、魚粉投与群とは差はみられなかった。(参照 4)

表 30 鶏における GAA 26 日間混餌投与後の胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g) 並びにホスホクレアチン/ATP 比

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)			
	0	600	1,200	魚粉 (陽性対照)
GAA	8.2 ^a	2.2 ^b	1.4 ^b	5.9 ^a
クレアチン	4,789 ^a	5,322 ^b	5,541 ^b	4,904 ^a
クレアチニン	5.5	6.0	6.1	5.7
ホスホクレアチン/ATP 比	2.4 ^a	2.7 ^{ab}	3.0 ^b	2.6 ^{ab}

a、b: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p<0.05)。

(10) 残留試験 (鶏) ⑨

鶏 (肉用種、1 日齢、雄、被験物質投与群 240 羽/群、陰性及び陽性対照群 280 羽/群) に GAA 製剤又はクレアチン製剤を 42 日間混餌投与した。試験群の設定として、GAA 製剤投与群が 4 群 (GAA として 0.031、0.063、0.094 又は 0.126% 添加)、クレアチン製剤投与群が 3 群 (クレアチンとして 0.04、0.08 又は 0.12% 添加) 並びに陰性及び陽性対照群が各 1 群であった。飼料は、投与開始後 21 日間はスターター飼料、残りの期間はグロワー飼料を用いた。陰性対照群には植物性飼料から成る基礎飼料を、陽性対照群には基礎飼料にフィッシュミールを添加した飼料 (スターター飼料: 50 g/kg 飼料、グロワー飼料: 30 g/kg 飼料) を給餌した。

投与開始 21 日後及び最終投与後に体重及び摂餌量を測定した。最終投与後に被験物質投与群は各 18 羽、対照群は各 21 羽から胸部筋肉を採取し、筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度を HPLC によって測定した (定量限界不明)。

GAA 製剤及びクレアチン製剤投与群の体重増加量は、陽性対照群と同程度であった。

胸部筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度を表 31 に示した。

GAA 製剤投与の全投与群、クレアチン製剤投与の 800 mg/kg 飼料以上投与群及び陽性対照群の胸部筋肉中 GAA 濃度は、陰性対照群より有意に低かった

が、一方で、これらの試験群のクレアチン濃度は、陰性対照群より有意に高かった。

なお、死亡率及び摂餌量に投与の影響はみられなかった。(参照17)

表 31 鶏における GAA 製剤又はクレアチン製剤を 42 日間混餌投与後の胸部筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度 (µg/g)

投与物質	添加濃度 ^a (mg/kg 飼料)	胸部筋肉中濃度	
		GAA	クレアチン
GAA 製剤	314	1.30 ^b	5,337 ^{bc}
	628	1.78 ^b	5,370 ^{bc}
	942	1.21 ^b	5,322 ^{bc}
	1,256	0.91 ^b	5,689 ^d
クレアチン製剤	400	6.96 ^c	4,713 ^e
	800	1.15 ^b	5,472 ^b
	1,200	0.00 ^b	5,893 ^f
陰性対照		7.59 ^c	4,665 ^e
陽性対照		1.41 ^b	5,215 ^c

n=18 (ただし、陰性及び陽性対照群は n=21)

a: GAA 又はクレアチンとしての添加濃度

b、c、d、e、f: 投与物質ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p<0.05)。

(11) 残留試験 (鶏・卵)

鶏 (卵用種 (Lohmann Brown)、25 週齢、群平均体重 1,829~1,870 g、雌 72 羽/群 (12 羽/ペン×6 反復)) に GAA を 56 日間混餌投与 (0、1,200 mg/kg 飼料) 後、1 群あたり 12 個 (2 個/ペン×6 反復) 採卵し、凍結乾燥後に各群の卵中の GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を測定した。

0 及び 1,200 mg/kg 飼料投与群の結果を表 32 に示した。投与群の卵中クレアチン濃度は対照群と比較して有意に高かった。一方、GAA、クレアチニン、Hcy 濃度に有意な増加はみられなかった。(参照 36、40)

表 32 鶏における GAA56 日間混餌投与後の卵中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度^a (µg/g)

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)	
	0	1,200
GAA	0.20	0.28
クレアチン	4.00 ^b	5.50 ^{bc}
クレアチニン	0.43	0.5
Hcy	0.90	1.08

a: 卵の乾重量割合を 25%と想定

b、c: 異符号間に有意差あり (p<0.05)。

(12) 残留試験 (うずら・卵)

うずら (ヨーロッパウズラ、25 週齢、雌 32 羽/群) に GAA を 4 週間混餌投与 (0.00、0.06、0.12、0.18 又は 0.24%) し、最終投与後に卵を各群 24 個採取し、卵 3 個をまとめたものを 1 つの試料として GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を HPLC によって測定した (定量限界不明)。

卵中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 33 に示した。

GAA 投与量の増加に従い、卵中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度も増加した。(参照18)

表 33 うずらにおける GAA 4 週間混餌投与後の卵中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g)

測定対象	投与量 (%)				
	0.00 (0.010) ^a	0.06 (0.059) ^a	0.12 (0.118) ^a	0.18 (0.182) ^a	0.24 (0.270) ^a
GAA	0.00	0.25	1.50	1.88	3.00
クレアチン	19.63	24.88	24.13	25.38	26.75
クレアチニン	2.25	2.88	2.63	2.88	3.25

n=8

a : 飼料中 GAA 分析値

3. 遺伝毒性試験

GAA の遺伝毒性試験結果を表 34 にまとめた。

表 34 GAA の遺伝毒性試験結果

試験		対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535	62、185、556、1,667、5,000 µg/plate (±S9)	陰性	3、19
	遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスターV79細胞 (<i>Hprt</i> 座位)	実験 I 0、75、150、300、600、1,200 µg/mL (±S9、4 時間処理)	陰性	20
			実験 II 0、75、150、300、600、1,200 µg/mL (−S9、24 時間処理) (+S9、4 時間処理)	陰性	
染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	実験 A 0.13、0.39、1.17 mg/mL (±S9、3 時間処理)	陰性	3、21	
		実験 B 0.13、0.39、1.17 mg/mL (−S9、20 時間処理) 0.39、1.17 mg/mL (+S9、3 時間処理)	陰性		

GAA について、*in vivo* の試験は実施されていないが、*in vitro* において、細菌を用いた復帰突然変異試験、培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験のいずれも陰性であった。したがって、食品安全委員会は、GAA には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

4. 急性毒性試験

ラットにおける GAA の急性毒性試験の結果を表 35 に示した。

表 35 GAA の急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
ラット	雌	強制経口	>2,000	3、22

5. 亜急性毒性試験

(1) 28日間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（F344系、約7週齢、雌雄各5匹/群）にGAAを28日間混餌投与（0、0.5、1.5、5.0、15又は50 g/kg 飼料）する亜急性毒性試験が実施された。また、50 g/kg 飼料投与群及び対照群については、更に1群（雌雄各5匹/群）を設け、GAAを28日間混餌投与し、14日間の回復期間を設けた。一般状態、体重、摂餌量、血液学的及び血液生化学的検査、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。

全GAA投与群のGAA摂取量を表36に示した。

表36 ラットを用いた28日間亜急性毒性試験におけるGAA摂取量（mg/kg 体重/日）

投与量 (g/kg 飼料)	GAA 摂取量	
	雄	雌
0.5	45	46
1.5	135	138
5.0	449	455
15	1,246	1,259
50	4,390	3,864
50 (回復期間群)	4,626	3,826

毒性所見を表37に示した。

そのほかに、15 g/kg 飼料以上投与群の雄及び50 g/kg 飼料投与群の雌で、血漿中Hcy濃度の上昇がみられた。

試験実施者は、本試験におけるNOAELを15 g/kg 飼料（約1,250 mg/kg 体重/日）と考えた。また、本試験におけるNOELを雄では1.5 g/kg 飼料、雌では15 g/kg 飼料と考えた。

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、5.0 g/kg 飼料投与群の雄で血漿中Cholの減少がみられたことから、雄に対するNOAELは135 mg/kg 体重/日と、50 g/kg 飼料投与群の雌で一般状態不良、体重低下、膀胱結石等がみられたことから、雌に対するNOAELを1,259 mg/kg 体重/日投与群と判断した。（参照3、5、23、41）

表 37 ラットを用いた 28 日間亜急性毒性試験における毒性所見

投与群 (g/kg 飼料)	雄	雌
50	・血漿中 Chol 減少、 γ -GT の増加、Hcy 濃度上昇	・一般状態不良、体重低下、体重増加量減少、摂餌量減少 ・尿素上昇、血漿中 Hcy 濃度上昇 ・膀胱結石
15	・血漿中 Chol 減少	所見なし
5.0	・血漿中 Chol 減少	
1.5	所見なし	

(2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (F344 系、雌雄各 14 匹/群) に GAA を 90 日間¹¹混餌投与 (0、0.5、1.0、3.0、10 又は 50 g/kg 飼料) する亜急性毒性試験が実施された。また、50 g/kg 飼料投与群及び対照群については、更に 1 群 (雌雄各 10 匹/群) を設け、GAA を 90 日間混餌投与し、28 日間の回復期間を設けた。一般状態、体重、摂餌量、血液学的及び血液生化学的検査、尿検査、剖検、病理組織検査並びに眼底検査を実施した。また、各群 4 匹の血漿及び組織を、被験物質の濃度測定及び血管損傷を検索する病理組織検査に用いた。

全 GAA 投与群の GAA 摂取量を表 38 に示した。

表 38 ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における GAA 摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (g/kg 飼料)	GAA 摂取量	
	雄	雌
0.5	34	39
1.0	66	74
3.0	210	234
10	685	754
50	3,468	3,448
50 (回復期間群)	3,544	3,523

最終投与後及び回復期間後の血漿中 Hcy 濃度を表 39 に示した。

10 g/kg 飼料以上投与群の雌雄で、血漿中 Hcy 濃度の上昇がみられた。

¹¹ 雄には 90 日間、雌には 91 日間投与された。

表 39 ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における最終投与後及び回復期間後の血漿中総 Hcy 濃度 (μmol/L)

投与量 (g/kg 飼料)		雄	雌
0	最終投与後	8.25 ± 0.87	7.20 ± 0.92
	回復期間後	9.56 ± 0.78	9.41 ± 1.09
0.5	最終投与後	8.42 ± 0.76	6.756 ± 0.88
1.0	最終投与後	8.24 ± 0.87	5.95 ± 1.08 ^a
3.0	最終投与後	9.07 ± 0.86	7.06 ± 0.62
10	最終投与後	11.47 ± 0.94 ^a	9.64 ± 1.32 ^a
50	最終投与後	49.44 ± 6.43 ^a	25.54 ± 3.37 ^a
	回復期間後	8.93 ± 0.81	7.93 ± 0.93 ^a

n=10 (ただし、0.05%投与群のみ n=9) 平均±標準偏差

a: 対照群と比較して有意差あり (p≤0.05)。

毒性所見を表 40 に示した。

試験実施者は、50 g/kg 飼料投与群で種々の毒性影響がみられたことから、本試験における雌雄に対する NOAEL を 10 g/kg 飼料 (雄: 約 690 mg/kg 体重/日相当、雌: 約 750 mg/kg 体重/日相当) と考えた。また、3.0 g/kg 飼料投与群の雄で血漿中 Chol の減少がみられたことから、本試験における雄に対する NOEL を 1.0 g/kg 飼料、10 g/kg 飼料投与群の雌で血漿中 Hcy 濃度の上昇がみられたことから、本試験における雌に対する NOEL を 3.0 g/kg 飼料と考えた。

EFSA は、本試験における NOAEL について、次のように考えた。本試験の結果では、本試験における NOAEL は血漿中 Hcy 濃度の上昇に基づき、3.0 g/kg 飼料 (雄 210 mg/kg 体重/日、雌 234 mg/kg 体重/日) である。しかし、GAA 製剤が飼料添加物として使用されても、食用動物由来の食品中 Hcy 濃度は上昇せず、また消費者に対して本質的に GAA 摂取量の意義ある付加にはならない。したがって、飼料添加物の評価では、Hcy 濃度は重要でなく、この Hcy 濃度の上昇は無視できると結論した。10 g/kg 飼料投与群では他に影響がみられなかったことから、本試験における NOAEL は 10 g/kg 飼料 (雄 685 mg/kg 体重/日、雌 754 mg/kg 体重/日) とみなされるとしている。

一方で、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、血漿中 Hcy 濃度の上昇が他の病態と関連する可能性があることを考慮し、50 g/kg 飼料投与群において認められた、対照群と比較して有意かつ顕著な血漿中 Hcy 濃度の上昇を毒性影響と判断した。(参照 3、5、24、41)

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、3.0 g/kg 飼料投与群の雄で血漿中 Chol の減少等がみられたことから、雄に対する NOAEL を 66 mg/kg 体重/日、10 g/kg 飼料投与群の雌で血漿中 Chol の減少がみられたことから、雌に対する NOAEL を 234 mg/kg 体重/日と判断した。

表 40 ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (g/kg 飼料)	雄	雌
50	<ul style="list-style-type: none"> ・肛門生殖器周辺の痂皮、結晶様沈着物 ・体重低下 ・血漿中 Chol 減少、TG 減少、Hcy 濃度上昇 ・膀胱の尿路上皮増殖 	<ul style="list-style-type: none"> ・肛門生殖器周辺の痂皮、結晶様沈着物 ・体重低下 ・血漿中 ALP、ALT、Hcy 濃度及び γ-GT 上昇 ・血尿、尿管結石、膀胱結石、膀胱壁肥厚 ・膀胱及び腎盂の尿路上皮増殖 ・慢性間質性腎炎 ・胸腺の萎縮
10	・血漿中 Chol 減少、TG 減少	・血漿中 Chol 減少
3.0	・血漿中 Chol 減少	所見なし
1.0 以下	所見なし	

6. 慢性毒性及び発がん性試験

実施されていない。

7. 生殖発生毒性試験

実施されていない。なお、参考資料であるが、鶏及びうずらに関する以下の報告があった。

(1) 鶏を用いた混餌投与試験①<参考資料¹²>

鶏（肉用種（Cobb-500）（種鶏）、50 週齢、体重不明、雌 24 羽/群）に GAA を 10 週間混餌投与（0、400、800、1,200 又は 1,600 mg/kg 飼料）した。60 週齢で授精し、その後採取した卵について、受精率、孵化率及び胚死亡率を検査した。また、孵化した鶏のうち雄 72 羽/群に、GAA を添加していない飼料を 42 日間給餌し、体重、飼料摂取量及び飼料効率を測定した。

800 及び 1,200 mg/kg 飼料投与群の孵化率は、対照群及び 1,600 mg/kg 飼料投与群に比べて有意に高かった。胚死亡率に被験物質の投与による影響はみられなかったため、孵化率の違いは、受精率の違いの結果であった。

孵化した雄鶏の体重及び飼料摂取量について、被験物質の投与による影響はみられなかった。800 及び 1,200 mg/kg 飼料投与群の飼料効率は、対照群及び 1,600 mg/kg 飼料投与群に比べて有意に高かった。（参照 4、37、42）

(2) 鶏を用いた混餌投与試験②<参考資料¹³>

鶏（肉用種（Ross308）（種鶏）、29 週齢、雄 5 羽/群）に GAA を 26 週間混餌投与（0、600、1,200 又は 1,800 mg/kg 飼料）した。投与 24 週後まで毎週精液を採取し、精液濃度、総精子数、前進運動精子率、精子生存率及び精子異

¹² 実験動物種及び検査項目が通常の試験と異なることから、参考とした。

¹³ 実験動物種及び検査項目が通常の試験と異なることから、参考とした。

常率等を調べた。また、投与期間の最終 2 週間に採取した精液は、鶏（肉用種、54 週齢、雌 17 羽/群）に人工授精し、受精率を調べた。

精液濃度について、1,200 mg/kg 飼料投与群は対照群より有意に高く、600 mg/kg 飼料投与群は対照群より有意に低かった。総精子数について、1,200 mg/kg 飼料投与群のみ対照群より有意に高かった。前進運動精子率について、1,200 mg/kg 飼料以上投与群は対照群より有意に高かった。受精率について、いずれの投与群においても、対照群より有意に高かった。その他の検査項目（精液量、生存精子率、精子異常率等）は、いずれの群においても有意な差はなかった。（参照 25、36、37）

（3）鶏を用いた混餌投与試験③<参考資料¹⁴>

鶏（卵用種（Lohmann Brown）、25 週齢、群平均体重 1,829~1,870 g、雌 72 羽/群、12 羽/ペン×6 反復）に GAA を 64 日間混餌投与（0、1,200、3,600、6,000 又は 12,000 mg/kg 飼料）し、死亡の有無、体重、飼料摂取量、産卵率、卵重量及び卵質（卵黄色、重量及び割合並びに殻重量等）等を調べた。投与 62 日後に各群 12 羽（2 羽/ペン×6 反復）を剖検し、投与 64 日後に別の各群 12 羽（2 羽/ペン×6 反復）から採血し、血液学的及び血液生化学的検査を行った。

投与に関連した死亡はみられなかったが、全ての投与群で飼料摂取量が有意に減少した。血液学的検査では、12,000 mg/kg 飼料投与群において対照群よりアルブミン、Chol 及び TG の有意な低下並びにグルコースの有意な増加が認められたが、アルブミンは正常値の範囲内であった。Chol 及び TG の低下については、飼料摂取量の低下に起因するものと考えられた。グルコースの変化については用量依存性の値を示していないことから、栄養状態又は消化の程度の違いによるものと考えられた。その他血液学的検査項目、血液生化学的検査項目及び剖検において異常はみられなかった。対照群と比較して、産卵率は 12,000 mg/kg 飼料投与群で有意に低下、卵重量（g/卵）は 1,200 及び 12,000 mg/kg 飼料投与群で有意に減少、日卵重量（g/羽/日）は全ての投与群で減少した。（参照 35、36、40）

（4）うずらを用いた混餌投与試験<参考資料¹⁵>

うずら（ヨーロッパウズラ、25 週齢、雄 16 羽/群、雌 32 羽/群）に GAA を 25 から 29 週齢まで混餌投与（0、0.06、0.12、0.18 又は 0.24%）した。

投与期間中、飼料摂取量、産卵数及び産卵率を調べ、毎週 3 日間連続で卵重量を調べた。また、各群 64 個の受精能を有する卵について、卵黄膜中精子数並びに各群の卵 196 個について、孵化率、受精能を有する割合及び受精能を有する卵の孵化率を調べた。

¹⁴ 実験動物種及び検査項目が通常の試験と異なることから、参考とした。

¹⁵ 実験動物種及び検査項目が通常の試験と異なることから、参考とした。

投与期間中、親動物の飼料摂取量、産卵率及び卵重量に GAA 投与による影響はみられなかった。

卵黄膜中精子数に被験物質の投与による影響はみられなかった。孵化率、受精能を有する卵の割合及びその孵化率については、GAA 投与による増加がみられた。

さらに、29 週齢で採取した卵を孵化させ、各群 80 羽ずつ 35 日齢まで GAA 無添加の飼料を給餌し、体重及び飼料摂取量を調べた。

初生ひなの体重に、被験物質投与による影響はみられなかったが、その後の体重増加量が上昇した。(参照 18)

8. その他の毒性試験

(1) 皮膚刺激試験 (ウサギ)

ウサギ (NZW 種、雌 3 匹) の皮膚に GAA (約 0.5 g、脱イオン水に溶解。) を浸漬したガーゼを貼付し、皮膚刺激性試験が実施された。

初回試験として、1 匹に GAA (約 0.5 g、脱イオン水に溶解。) を浸漬したガーゼを 3 分又は 1 若しくは 4 時間貼付し、ガーゼを除去した 1、24、48 又は 72 時間後の皮膚反応を観察した。貼付後に、皮膚反応はみられなかった。

初回試験で腐食性作用がみられなかったことから、確認試験として追加の 2 匹に GAA (約 0.5 g、脱イオン水に溶解。) を浸漬したガーゼを 4 時間貼付し、ガーゼを除去した 1、24、48 又は 72 時間後の皮膚反応を観察した。

初回試験及び確認試験において、死亡例、全身性の毒性及び皮膚反応はみられなかった。(参照 26)

(2) 眼刺激試験 (ウサギ)

ウサギ (NWH 種、雌 3 匹) の眼に GAA (約 0.1 mL (重量として 42、44 又は 45 mg)) を投与し、眼刺激性試験が実施された。まず 1 匹に投与し、重篤な反応のないことを確認した後、他の 2 匹に投与した。投与 1、24、48 及び 72 時間後に眼の反応を調べた。

3 匹に死亡例、全身性の毒性及び眼の反応はみられなかった。(参照 27)

9. その他の知見

食用動物の可食部位に含まれる GAA に関する知見は得られなかった。

代謝物であるクレアチンについては、牛、豚、鶏、羊及び魚類の筋肉中濃度又は卵中濃度は、表 41 に示したとおり、様々な濃度が報告されている。

表 41 牛、豚、鶏、羊及び魚類の筋肉中又は卵中クレアチン濃度 (mg/g) ^a

動物	筋肉中濃度	参照
牛	5.02、5.27	28
	2.63～4.01	29
	5.26	30
豚	2.47～3.74	31
鶏	3.87～4.30 ^b	32
	3.82～4.31 ^b	
羊	2.78～3.46	29
魚類	5.00～6.45 ^c	33
	2.51～6.46 ^d	34
卵	0.003.3～0.005.9 ^e	36

a : 参照資料で筋肉 3 部位以上のクレアチン濃度が報告されている場合は、それらの濃度を範囲で示した。

b : 各部位について、供試した鶏 5 系統の雌雄の数値を範囲で示した。

c : しろざけ、べにざけ、ますのさけ、銀鮭及びカラフトマスの筋肉中濃度

d : きはだ、鯉、サバヒー及びアメリカナメタカレイの筋肉中濃度

e : 卵中濃度

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. 欧州における評価

EFSA において飼料添加物としての評価を実施している（参照：飼料添加物評価書「グアニジノ酢酸を有効成分とする飼料添加物」）。

GAA に遺伝毒性はなく、実験動物の 28 又は 90 日間投与試験でみられた影響は、多量の間接代謝物に対する生理反応であり、予期せぬ毒性はみられなかったとしている。

2022 年に GAA を 1,200 mg/kg 飼料で家きん（肥育鶏及び産卵鶏）、子豚及び肥育豚用飼料に使用することによる消費者の安全について、2025 年に子豚及び肥育豚用並びに肥育用及び繁殖用七面鳥に対して GAA を 1,200 mg/kg 飼料又は飲水中に 600 mg/L で使用することによる消費者の安全について、それぞれ懸念はないと評価している。（参照 36、43、44）

2. 米国における評価

FDA において、クレアチンの前駆体として GAA を家きん用飼料に用いることは安全であると結論付けられ、完全飼料中 0.12%を超えない量で使用するこ
と等の条件下で飼料添加物として使用が認められている。（参照 45）

IV. 食品健康影響評価

飼料添加物 GAA について、食品健康影響評価を実施した。

GAA は、ヒト及び動物の生体内物質であり、体内でクレアチン、そしてクレアチニンへと代謝される。GAA からクレアチンへの代謝に伴い、SAH から Hcy が生成される。

鶏の体内動態試験では、GAA 非投与群及び投与群ともに、GAA、クレアチン及びクレアチニンは糞より尿へ多く排泄された。また、GAA の体内利用率は、尿及び糞の GAA、クレアチン及びクレアチニン量から算出した場合、600 mg/kg 飼料投与群で 76.21%、6000 mg/kg 飼料投与群で 45.6%であった。ヒトの単回経口投与試験では、GAA の動態は非線形性であった。

残留試験では、豚及び鶏において 1,200 mg/kg 飼料以下の投与量では、筋肉中 GAA 濃度は対照群と比較して変わらない又は減少する傾向であった。筋肉中クレアチン及びクレアチニン濃度は、豚では対照群と比較して変わらなかったが、鶏では増加する傾向がみられた。肝臓中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度は、豚及び鶏で対照群と比較して変わらない又は増加する傾向であった。Hcy については、豚及び鶏において 1,200 mg/kg 飼料以下の投与群の筋肉及び肝臓中濃度は、対照群と比較して変わらなかった。また、鶏卵では、投与群の卵中クレアチン濃度は対照群と比較して有意に高かった。うずらの卵では、GAA 投与量の増加に伴い、卵中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度は増加した。

遺伝毒性試験では、*in vivo* の試験は実施されていないが、*in vitro* において、細菌を用いた復帰突然変異試験、培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験のいずれも陰性であったことから、GAA には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

亜急性毒性試験でみられた主な毒性所見は、体重低下、膀胱結石及び血漿中 Chol 減少であり、試験で得られた NOAEL のうち最小値は、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験でみられた血漿中 Chol の減少に基づく 66 mg/kg 体重/日であった。

慢性毒性及び発がん性試験並びに生殖発生毒性試験は実施されていない。参考資料であるものの、鶏（精子）及びうずら（繁殖能）に対する投与に関連した悪影響はみられなかった。

GAA、代謝物であるクレアチン及びクレアチニン並びに Hcy は、食用動物の生体内物質であることから、ヒトは食品を通じて日常的に摂取している。さらに、クレアチンについては、体重約 70 kg のヒトの体内には 120 g が存在し、1 日当たり約 1.7%（約 2 g）がクレアチニンに代謝される。代謝されるクレアチンは体内での生合成又は食品からの摂取によって補われている。また、豚及び鶏の残留試験において、GAA を飼料添加物として通常使用する添加濃度では、GAA 投与群の筋肉中 GAA 及び Hcy 濃度は対照群と比較して増加しなかった。肉用鶏の GAA 投与群のクレアチン濃度は増加する傾向もみられたが、その濃度と、食用動物の筋肉中で報告されているクレアチン濃度を踏まえると、GAA を飼料添加物として摂取した対象動物由来の畜産物を通じてヒトがクレアチンを

過剰に摂取する可能性は低いと考えられた。

以上から、現在得られている知見から総合的に検討した結果、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、GAAは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、ADIを特定する必要はないと判断した。

表 42 EFSA 及び食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会における無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (g/kg 飼料)	無毒性量等(mg/kg 体重/日)	
			EFSA	食品安全委員会 肥料・飼料等専門調査会
ラット	28 日間 亜急性 毒性	0、0.5、1.5、5.0、 15、50	—	雄：135 (1.5 g/kg 飼料) 雌：1,259 (15 g/kg 飼料) 雄：血漿中 Chol 減少 雌：一般状態不良、体重 低下、膀胱結石等
	90 日間 亜急性 毒性	0、0.5、1.0、3.0、 10、50	雄：685 (10 g/kg 飼料) 雌：754 (10 g/kg 飼料)	雄：66 (1 g/kg 飼料) 雌：234 (3 g/kg 飼料) 雌雄：血漿中 Chol 減少
毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日)			—	算出しない
毒性学的 ADI 設定根拠資料			—	—
ADI (mg/kg 体重/日)			—	特定しない

〈別紙 1：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
AGAT	Glycine amidinotransferase：グリシンアミジノトランスフェラーゼ
ALP	Alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アアラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)]
ATP	Adenosine triphosphate：アデノシン三リン酸
AUC	Area Under the blood concentration time Curve：血（漿）中濃度時間曲線下面積
CBS	Cystathionine beta-synthase：シスタチオニンβ合成酵素
Chol	Cholesterol：コレステロール
CK	Creatine kinase：クレアチンキナーゼ
C _{max}	Maximum drug concentration：血（漿）中最高濃度
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FDA	Food and Drug Administration：米国医薬品庁
FEEDAP パネル	Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed：動物用飼料に使用する添加物及び製品又は物質に関する科学パネル
GAMT	Guanidinoacetate N-methyltransferase：グアニジノ酢酸メチルトランスフェラーゼ
γ-GT	γ-glutamyltransferase：γ-グルタミルトランスフェラーゼ
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography：高速液体クロマトグラフィー
HPLC-FL	High-Performance Liquid Chromatography - Fluorescence Detector：蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィー
HPLC-UV	High-Performance Liquid Chromatography - UV Detector：紫外吸光検出器付き高速液体クロマトグラフィー
LC-MS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry：液体クロマトグラフィー・質量分析法

LC-MS/MS	Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry : 液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin : 平均赤血球ヘモグロビン量
MCV	Mean Corpuscular Volume : 平均赤血球容積
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level : 無毒性量
$T_{1/2}$	Half-life : 半減期
T_{max}	Maximum drug concentration time : 血（漿）中最高濃度到達時間
TG	Triglyceride : トリグリセリド

〈別紙 2 : 代謝物等略称〉

略称等	名称
GAA	Guanidineacetic acid : グアニジノ酢酸
Hcy	Homocysteine : ホモシステイン
SAH	S-adenosylhomocysteine : S-アデノシルホモシステイン
SAM	S-adenosylmethionine : S-アデノシルメチオニン

<参照>

- 1 The Merck Index 15th edition, 2013
- 2 今堀和友, 山本一夫監修: 生化学辞典 第4版, 株式会社東京化学同人, 東京, 2007年; 416-7
- 3 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed): Safety and efficacy of guanidinoacetic acid as feed additive for chickens for fattening. The EFSA Journal 2009; 988: 1-30
- 4 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed): Safety and efficacy of guanidinoacetic acid for chickens for fattening, breeder hens and roosters, and pigs. The EFSA Journal 2016; 14(2): 4394
- 5 エボニック ジャパン株式会社: グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 抄録 (非公表)
- 6 エボニック ジャパン株式会社: グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 1-(2) (非公表)
- 7 Fukuda S, Setoue M, Morita T and Sugiyama K: Dietary eritadenine suppresses guanidinoacetic acid-induced hyperhomocysteinemia in rats. J Nutr 2006; 136: 2797-802
- 8 Tossenberger J, Rademacher M, Németh K, Halas V, Lemme A: Digestibility and metabolism of dietary guanidino acetic acid fed to broilers. Poult Sci 2016; 95: 2058-67
- 9 Ostojic SM and Vojvodic-Ostojic A: Single-dose oral guanidinoacetic acid exhibits dose-dependent pharmacokinetics in healthy volunteers. Nutr Res 2015; 35: 198-205
- 10 Ostojic SM, Niess B, Stojanovic M and Obrenovic M: Creatine metabolism and safety profiles after six-week oral guanidinoacetic acid administration in healthy humans. Int J Med Sci 2013; 10(2): 141-7
- 11 Kalhan SC, Gruca L, Marczewski S, Bennett C and Kummitha C: Whole body creatine and protein kinetics in healthy men and women: effects of creatine and amino acid supplementation. Amino Acids 2016; 48(3): 677-87
- 12 Wyss M and Kaddurah-Daouk R: Creatine and creatinine metabolism. Pharmacol Rev 2000; 80(3): 1107-213
- 13 Koszalka TR, Jensch RP and Brent RL: Placental transport of creatine in the rat. Proc Soc Exp Biol Med 1975; 148(3): 864-9
- 14 エボニック ジャパン株式会社: 照会に対する回答 (非公表)
- 15 エボニック ジャパン株式会社: グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(2)-ア (非公表)
- 16 エボニック ジャパン株式会社: グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(2)-イ (非公表)
- 17 Ringel J, lemme A, Knox A, MC Nab A and Redshaw MS: Effects of graded levels of creatine and guanidine acetic acid in vegetable-based diets on performance and biochemical parameters in muscle tissue. Proceedings of 16th European Symposium on Poultry Nutrition 2007; 387-90
- 18 Murakami AE, Rodrigueiro RJB, Santos TC, Ospina-Rojas IC and Rademacher M: Effects of dietary supplementation of meat-type quail

- breeders with guanidinoacetic acid on their reproductive parameters and progeny performance. 2014 Poul Sci 2014; 93: 2237-44
- 19 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(1)-イ(エ)① (非公表)
 - 20 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(1)-イ(エ)③ (非公表)
 - 21 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(1)-イ(エ)② (非公表)
 - 22 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(1)-ア(ア) (非公表)
 - 23 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(1)-ア(イ) (非公表)
 - 24 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(1)-ア(ウ) (非公表)
 - 25 Tapeh RS, Zhandi M, Zaghari M and Akhlaghi A: Effects of guanidinoacetic acid diet supplementation on semen quality and fertility of broiler roosters. Theriogenology 2017; 89: 178-182
 - 26 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(1)-イ(オ)① (非公表)
 - 27 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(1)-イ(オ)② (非公表)
 - 28 Roseiro LC, Santos C, Gonçalves H, Moniz C, Afonso I, Tavares M et al: Concentration of antioxidants in two muscles of mature dairy cows from Azores. Meta Sci 2014; 96: 870-875
 - 29 Purchas RW, Ruther furd SM, Pearce PD, Vather R and Wilkinson BHP: Concentration in beef and lamb of taurine, carnosine, coenzyme Q10, and creatine. Meta Sci 2014; 96: 870-875
 - 30 Mateescu RG, Garmyn AJ, O'Neil MA, Tait Jr RG, Abuzaid A, Mayes MS et al: Genetic parameters for carnitine, creatine, creatinine, carnosine, and anserine concentration in longissimus muscle and their association with palatability traits in Angus cattle. J Anim Sci 2012; 90: 4248-55
 - 31 Mora L, Sentandreu MÁ and Toldrá F: Contents of creatinine and carnosine in porcine muscles of different metabolic types. Meat Sci 2008
 - 32 Jung S, Bae YS, Kim HJ, Jayasena DD, Lee JH, Park HB et al: Carnosine, anserine, creatine, and inosine 5'-monophosphate contents in breast and thigh meats from 5 lines of Korean native chicken. Poult Sci 2013; 92: 3275-82
 - 33 Shirai T, Fuke S, Yamaguchi K and Konosu S: Creatine and Creatinine in the raw and heated muscles of salmon. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 1984; 50(7): 1229-33
 - 34 Marsh NL, Iwaoka WT and Mower HF: Formation of mutagens during the frying of Hawaiian fish: correlation with creatine and creatinine content. Mutat Res 1990; 242: 181-6
 - 35 住友化学株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物審査用資料 (対象家畜適用拡大) 抄録 (非公表)
 - 36 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal

- Feed) : Safety and efficacy of a feed additive consisting of guanidinoacetic acid for all animal species. The EFSA Journal 2022; 20(5): 7269
- 37 農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課：飼料添加物の効果安全性について_グアニジノ酢酸（第3版）令和6年9月25日
 - 38 農林水産省への照会事項及び回答事項（非公表）
 - 39 住友化学株式会社：提出添付資料 4-7（非公表）
 - 40 住友化学株式会社：提出添付資料 3-5（非公表）
 - 41 A. D. Smith et al. : Homocysteine - from disease biomarker to disease prevention, 2021
 - 42 住友化学株式会社：提出添付資料 3-6（Carpena et al., 2015, Effect of guanidinoacetic acid supplementation on performance of broiler breeders and their progenies.）
 - 43 EFSA : Efficacy of a feed additive consisting of guanidinoacetic acid(Creamino®) for weaned piglets and pigs for fattening in waterfor drinking (Alzchem Trostberg GmbH),2025
 - 44 EFSA : Safety and efficacy of a feed additive consisting of guanidinoacetic acid Creamino for turkeys for fattening and reared for breeding (Alzchem Trostberg GmbH) The EFSA Journal 18 March 2025
 - 45 住友化学株式会社：提出添付資料 1-5（21 CFR Part 573, [Docket No. FDA-2019-F-5401]）