

ネコにおける重金属類摂取と
その影響に関する研究

寺地 智弘

2014

目次

第 1 章: 緒論

第 2 章: ネコ用フード中重金属類濃度の検討

第 1 節: ネコ用フード中 Hg、As、Cd および Pb 濃度の検討

第 2 節: ICP-MS 半定量法によるキャットフード中有害金属類の同時分析

第 3 章: ネコにおいてフード中 Hg 濃度が被毛中 Hg 濃度に及ぼす影響

第 4 章: 各種疾病ネコにおける被毛中重金属類濃度の検討

第 1 節: 各種疾病ネコにおける被毛中 Hg 濃度の検討

第 2 節: 各種疾病ネコにおける被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd および Pb
濃度の検討

第 5 章: 総括

謝辞

引用文献

緒論

1-1 ペット産業の現状

ペットは近年のライフスタイルの変化の中で、家族の一員である伴侶動物として扱われる傾向が強まり、生活に占める重要性が高まっている。日本国内におけるイヌの飼育頭数は1,150万頭であり、ネコ(外ネコは除く)は970万頭である[ペットフード協会,2012]。ペット関連産業は主にペットフード産業、ペット用品産業、ペットショップ・動物病院などの関連サービス産業に大別され、その市場規模は、1991年には5,980億円であったものが2006年には1兆388億円と倍増した[矢野経済研究所,2007]。

1960年代までは日本国内ではペットフードはほとんど流通せず、輸出用に一部生産されているに過ぎなかった。しかし、1960～1970年代にかけて、国内向けのペットフードの生産、流通が開始され、今日、日本で飼育されているイヌ・ネコの大部分は市販ペットフードを給与されている[ペットフード協会,2012]。その結果、2011年時にはペットフード産業の推定市場規模は2,600億円と40年程度の間、急速に市場が拡大した[ペットフード協会,2011(a)]。一方、2001年から2011年までの10年間ではイヌおよびネコの飼育頭数の微減、および飼育対象が大型種から小型種へと移行したことにより、その市場規模は、ほぼ横ばい状態である[ペットフード協会,2011(a)]。

ペットフードの国内生産額は約1,000億円であるが、輸入品は約1,600億円と輸入品の占める割合の方が多い。また、イヌ用フードが約1,420億円、ネコ用フードが約1,100億円と、ペットフード市場の大半をイヌ用およびネコ用フードが占めている[ペットフード協会,2011(b)]。

1-2 ペットフードの種類

ペットフードは、その水分含量によって、ドライタイプ、ウェットタイプおよびソフトドライ・セミモイストタイプに分類される。ドライタイプは 10%程度の水分を含み、発泡状、ビスケット状のもの、粉末人工乳などがある。現在の主流は発泡状のものであり、発泡加工にはデンプンが必要であるため、原料としては主体となる動物性タンパク質の他、通常 30～40%程度の穀類が使用される。乾物(DM)または養分辺りの価格が安く保存性も高いとされる[阿部,2008]。ウェットタイプは 75%程度の水分を含み、一般に嗜好性が高いとされている[阿部,2008]。ウェットタイプのフードは、主に缶詰やレトルトの形で市販され、魚、畜肉、食肉加工副産物を主体とするタイプの他、これらに穀類、脂肪、ビタミン、ミネラル等を加え成分調整したタイプなど、その原材料は様々である。ソフトドライまたはセミモイストタイプは水分含量 25～35%程度であり、嗜好性、原材料は、ドライタイプとウェットタイプの間位置する。また、これら以外にも、ジャーキー等水分含量によるタイプ分類がなされていないものもある[ペットフード協会,2011(b)]。

イヌ用フードの出荷額の内訳は、総額 1,420 億円の内、ドライタイプが約 760 億円、ウェットタイプが約 190 億円、ソフトドライ・セミモイストタイプが約 100 億円、また、タイプ分類がなされていないものが約 370 億円である。一方、ネコ用フードでは、総額 1,100 億円の内、ドライタイプが約 610 億円、ウェットタイプが約 460 億円と、イヌ用フードと比較してウェットタイプの占める割合が大きい。一方、ソフトドライ・セミモイストタイプのフードおよび、タイプ分類がなされていないものは流通が少ない[ペットフード協会,2011(b)]。

ペットフードはその栄養価によって、総合栄養食と栄養補完食にも区別される。総合栄養食は「ペットフードのうち、犬又は猫に毎日の主要な食事として給与することを目的とし、当該ペットフードと水だけで指定された成長段階における健康を維持できるような栄養的にバランスのとれた製品であって、施

行規則に定める栄養成分等の基準を満たすもの」と定義され[公正取引委員会・消費者庁,2010]、栄養成分等の基準としては American Association of Feed Control Officials(AAFCO)の養分基準が用いられている。栄養補完食は、特定の栄養素やカロリーの補完などを目的とするフードであり、総合栄養食との併用が必要である。ウェットタイプのフードは、上述の通り嗜好性が高いことから、嗜好性増進を目的とした栄養補完食として流通するケースが多い。ただし、ウェットタイプの総合栄養食も少なからず存在する。

イヌ用フードについては、国内生産量が約 190,000t であり、輸入品が約 180,000t とほぼ同量であるのに対して、ネコ用フードでは、国内生産量が約 100,000t であるのに対して、輸入品が約 160,000t と輸入品の占める割合がかなり大きい。これは、ネコ用フードの中でも特にウェットタイプのフードについて、国内生産量が約 10,000t であるのに対して、輸入品が約 80,000t と、大部分を輸入に頼っていることが原因である。輸入元に関しては、イヌ用フードの約 60%が米国およびオーストラリアから輸入されているのに対して、ネコ用フードはタイからの輸入が 75,000t と多く、輸入量の半数近くを占める。これらタイから輸入されるフードは主に、マグロ・カツオを原料としたウェットタイプのキャットフードである[ペットフード協会,2011(b)]。

ウェットタイプの市販キャットフードを給与されているネコは全体の約 55%にあたり、また全体の約 20%程度のネコは、ウェットタイプのフードを主食(摂取フードの 40%以上)としている[ペットフード協会,2012]。

1-3 ネコの食性および嗜好性

ネコは本来肉食性であり、食餌中のタンパク質を分解して得られた糖原性アミノ酸を用いて糖新生を行うことで必要な糖分を生成している[NRC, 2006]。したがって、ネコの炭水化物要求量は、他の動物種と比較して低い

[AAFCO,2011]。また、ネコ科の動物(ネコ、トラ、チーター)は他の動物種と異なり、甘味受容体タンパク質関連遺伝子である *Tas1r2* を欠損している[Liら,2005]。そのため、ネコは糖に対する感受性は低く[Beauchampら,1977]、アミノ酸に対する感受性は高いため、一般的には高タンパク食を好む[Whiteら,1975]。ただし、ネコの嗜好は後天的な食環境に影響されることも多く、特に離乳前後に摂取するフードによって決定づけられるとされている[阿部,2008]。実際に、飼育条件下によっては、ネコが牛肉よりもバナナを好む場合があることも報告されている[Wyrwickaら,1974]。

日本でヒト用食品の残渣がネコに給与されることは、現在は少なく、全体の10%以下である[ペットフード協会,2012]。しかし、ペットフードが一般的に用いられるようになる以前は、ネコの飼育には通常ヒト用食品の残渣が用いられる場合が大半であった。魚食文化が中心であった日本では、ネコも魚を給与される機会が多く、ネコは魚に対する嗜好性が高いと認識されるようになった。したがって、現在、日本では、マグロ、カツオといった大型海産魚類が、キャットフードの原料として多用されている。実際にネコがマウスよりも魚を好んだという嗜好性試験も存在するが[Gershoffら,1956]、海外ではネコが魚を好むという認識は一般的ではなく、大型海産魚類はウェットタイプのキャットフードの原料として海外ではあまり利用されていない。

1-4 ペットフードの安全性

ペットフードはヒト用食品とは異なり、生涯同じフードを摂取し続ける場合も想定されることから、栄養成分の欠乏、あるいは過剰について考慮する上で、その様な給与形態を前提としなければならない。従って、ペットフードはヒト用食品に比べ栄養学的責任が大きいといえる[阿部,2008]。欧州ではペットを「ヒトによって通常飼育されるが食用にされない種に属する動物で、毛皮生産

用に飼育されるものは除く」と定義し、ペットフードについて、表示内容等に関する法整備を行い[Council of European Communities,1979]、2002年にはペットフード中の重金属類、カビ毒、農薬などについて、家畜用飼料とは一部独立して許容基準を示している[European Parliament and Council of European Union,2002]。

また、米国では「連邦食品・医薬品・化粧品法」に基づく法規制により、ペットフードを含む飼料について、有害であったり表示に不備のあるものの流通を禁止する等の規制が行われている。また、多くの州法では、市販ペットフードの安全及び品質を確保するための規制が行われるなど、連邦政府と州政府の2段階の法規制が行われている[米持,2009]。

日本では、ヒト用食品における安全性については、1947年に施行された食品衛生法により、食品と添加物などの基準、表示、検査などの原則が定められた[厚生労働省,1947]。また、家畜用飼料の安全性に関しては、1953年に施行された「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律(飼料安全法)」により、飼料の公定規格が定められた[農林水産省,1953]。しかし、イヌやネコなどのペットに関しては、食品衛生法は当然適用の範囲外であり、また飼料安全法についても、対象家畜は牛、豚、鶏、うずら、蜜蜂および養殖魚と政令で定められていたため対象外であった。2006年にペットフード工業会(現ペットフード協会)が「安全なペットフードの製造に関する実施基準」を作成し、ペットフード業者への周知徹底を進めたが[ペットフード協会,2006]、日本におけるペットフードの安全性確保や品質保証は長年にわたり、こうした業界の自主規制に頼るのみであった。しかし、2007年に北米で原料としてメラミンが混入した中国産のペットフードの大規模なリコールが発生した。このペットフード汚染のため多数のイヌ、ネコが健康被害を受け、死亡する大惨事となったことを契機に、近年のペットブームも相まって、ペットフードの品質・安全性の確

保を法制化する動きが日本でも出始めた。その結果、2009年に「愛がん動物用飼料の安全性の確保に関する法律(ペットフード安全法)」が施行され、ペットフードの成分規格が定められ、規格外の製品の販売、流通が禁止されるようになった[農林水産省・環境省,2008]。

1-5 有害重金属類

米国の National Research Council(NRC(2005))は健康被害のリスクがある元素として、37種の元素(Li・B・F・Mg・Al・Si・P・S・K・Ca・Ti・V・Cr・Mn・Fe・Co・Ni・Cu・Zn・Ge・As・Se・Br・Rb・Sr・Mo・Ag・Cd・Sn・Sb・I・Ba・W・Hg・Pb・Bi・U)について、げっ歯類、家禽類、ブタ、ウマ、ウシ、ヒツジおよび魚類における最大耐容量(MTL)を示している。また、これらの元素の中でも、Mn・Cu・Zn・As・Mo・Cd・Hg・Pbの8元素については、中毒リスクが高い。しかし、ネコでは、これらの元素の毒性に関する研究は少ないため、MTLは記載されていない。Feより比重の重い元素については重金属とよばれる。Asは正確には金属ではなく、半金属であることから、本論文では重金属にAsを含めた元素の総称として重金属類と呼称する。重金属類は、様々な経路でペットフードに混入する危険性がある。

Mnについては、報告されているMn中毒の大半は過剰Mnの吸引による経気道暴露であり[Greger,1998]、経口暴露による中毒性は、他の必須元素と比較して低い[NRC,2005]。経口暴露によるMn中毒の症状として、食欲低下、成長遅延、生殖機能低下、ヘモグロビン形成抑制等が生じることが知られている[Greger,1998]。NRC(2005)は、ウマ、ブタ、げっ歯類・家禽類・ウシ・ヒツジについて、MnのMTLをそれぞれ、400、1000、2000 mg/kg DMと設定している。一方、NRC(2006)はネコで必須とされるミネラルの一部について、「それ以上の給与は有害」を意味する Safe Upper Limit(安全上限)を

定義しているが、ネコにおいてMn中毒が確認された報告は無いことから、Mnの安全上限は記載されていない。

Cuの過剰摂取は、活性酸素種生成によるDNA損傷を引き起こし[Liら,1994]、中毒症状として、肝障害や腎障害が知られている[HowellとGooneratne,1978、Bremner,1998]。また、Cuの中毒量は、Moなどの他の重金属類の摂取量によって変化することも報告されている[Hoganら,1968]。NRC(2005)はヒツジ、ウシ、ウマ・ブタ・ニワトリ、ラットについて、CuのMTLをそれぞれ、15、40、250、500 mg/kg DMと設定している。一方、ネコにおいて、Cu中毒が確認された報告は無く、安全上限も記載されていない[NRC,2006]。

Znの過剰摂取はCu吸収抑制を介したCu欠乏や、免疫機能低下が報告されており[ATSDR,2003]、中毒症状として、嘔吐、心窩部痛、嗜眠症状、採食量低下などが知られている[Fosmire,1990]。NRC(2005)はヒツジ、家禽類・ウシ・ウマ・げっ歯類、ブタについて、ZnのMTLをそれぞれ、300、500、1000 mg/kg DMと設定している。一方、ネコでは、230 mg/kg 体重/日のZnを3ヶ月間給与した場合でも中毒は生じず[Drinkerら1927]、また600 mg/kgのZnを給与した場合でも、血漿中Zn濃度は上昇するものの中毒症状は見られないことが報告されている[Barry-Stermanら,1986]。イヌにおいても80 mg/kg 体重/日のZnを3ヶ月間給与した場合でも中毒は生じないことが報告されているが[Drinkerら1927]、イヌでは、硬貨やナットの誤飲によるZn中毒が報告されている[Hornfeldtら,1984]。NRC(2006)は、Znについて、ネコで健康被害リスクの可能性があるととして、維持期のネコの場合の安全上限を、600 mg/kg DMと記載している。また、AAFCO基準(2011)でも、ネコで必須とされる元素の中で、Znについてのみ給与上限量を2000 mg/kgと記載している。

As の毒性機構は、SH 基を含む酵素に対してキレート化合物を形成することによる酵素活性阻害とされ[Kitchin,2001]、中毒症状として、皮膚系疾患、消化器系疾患、循環器系疾患等、多様な臓器への影響が報告されている[Ratnaike,2003]。NRC(2005)はヒツジ、ウシ、ウマ・ブタ・ニワトリ、ラットについて、As の MTL をいずれにおいても 30 mg/kg DM と設定している。イヌにおいても 2.3 mg/kg 体重の As を 180 日間摂取することでの As 中毒が報告され[Neiger と Osweiler, 1989]、また、ネコにおいても、1 mg/kg の As を 6 日間給与した場合、下痢、皮膚系疾患、体重減少等の中毒症状が生じる[Cheng ら,2013a]とともに、肺および大脳皮質中の活性酸素種が増加することが報告されている[Cheng ら,2013a, 2013b]。一方、ネコにおける As 中毒の報告例はイヌと比較して少ない[Selby ら,1977]。ペットフード安全法では、その中毒リスクの高さから、2010 年に As の基準・規格化が検討され、現在政令により、As の基準値は現物あたりで 15 mg/kg と設定されている[農林水産省・環境省,2011]。

Mo の過剰摂取は、キサンチン酸化酵素の生成過剰による痛風[NRC,2005]や、Cu 欠乏を引き起こすことが報告され[Ward,1978]、中毒症状として、体重減少、採食量低下、貧血といった Mo 症候群とよばれる病気が知られている[Ward,1994]。NRC(2005)はヒツジ・ウシ・ウマ、げっ歯類、家禽類、ブタについて、Mo の MTL をそれぞれ 5、7、100、150 mg/kg DM と設定している。また、ネコにおける致死量は 1310 mg/kg と報告されている[Venugopal ら,1978]。

Cd の過剰症として、酸化ストレスの増加や、Cd が Zn やビタミン D の代謝を阻害することによる腎臓、呼吸器、骨への影響が知られている[Bernhoft,2013]。NRC(2005)はヒツジ、ウシ、ウマ、げっ歯類、家禽類、ブタについて、Cd の MTL をいずれにおいても、10 mg/kg DM と設定している。

またイヌにおいても 100 mg/kg の Cd 給与により腎機能低下などの過剰症が報告されている[Hamada ら,1994]。ネコにおいても Cd の過剰摂取および蓄積により、メタロチオネインの合成阻害や高血圧が生じる可能性を示唆する報告は存在するが[Andreani ら,2010、Finch ら,2012]、ネコにおける Cd 中毒の発症を報告した論文は見当たらない。ペットフード安全法では、その中毒リスクの高さから、2010 年に Cd の基準・規格化が検討され、現在政令により、Cd の基準値は現物あたりで 1 mg/kg と設定されている[農林水産省・環境省,2011]。また欧州共同体(EU)においても、イヌおよびネコ用フードのみを対象とした Cd 規制値を、水分含量を 12%に補正した現物あたりの値で 2 mg/kg と設定している[European Commission,2010]。

Hg の毒性は、生体内のチオール基と Hg が結合することで酵素反応を阻害することが原因とされ[ATSDR,1999b]、1940 年代から 1950 年代に水俣湾付近で発生した大規模 Hg 中毒である水俣病において、水俣湾産の魚介類を摂取したネコで、行動異常を伴う不審死が多数発生している[山下,1964]。また、実験的に 0.046 mg/kg/日のメチル Hg を摂取したネコでは、立ち直り反射障害、歩行障害、異常行動などの精神神経系疾患が生じ[Charboneau ら,1976]、さらに、0.25 mg/kg/日のメチル Hg を摂取したネコは Hg 中毒により死亡している[Eaton ら,1980]。ヒトにおいては、近年、Hg 過剰摂取による循環器系疾患も報告されている[村田ら,2011]。NRC(2005)はウマ・家禽類・げっ歯類、ブタ・ウシ・ヒツジについて、有機 Hg の MTL をそれぞれ、1、2 mg/kg DM と設定している。EU では 2002 年に、動物用飼料の内、イヌおよびネコ用フードを対象とした総合栄養食の Hg 規制値を、0.4 mg/kg(水分含量 12%補正現物)と設定し[European Parliament and Council of European Union,2002]、2010 年には総合栄養食、栄養補完食ともに 0.3 mg/kg(水分含量 12%補正現物)と改訂している[European

Commission,2010]。一方、日本では、ペットフード安全法における Hg の基準値はいまだ設定されていない。

Pb の過剰摂取はヘム合成に関連する酵素活性阻害を介した溶血性貧血の他、神経障害、動脈硬化など様々な症状が報告されている[Lubran,1980、Koppら,1988]。NRC(2005)はウマ・げっ歯類・家禽類・ブタ、ヒツジ・ウシについて、Pb の MTL をそれぞれ 10、100 mg/kg DM と設定している。イヌにおいても、5 mg/kg 体重の Pb 摂取により中枢神経の損傷が報告されている[Hamirら,1984]。また、ネコを含む野生動物が銃弾等で Pb 汚染された鳥獣を摂取したことによる Pb 中毒も報告されている[Takeuchi ら,1977、Hoffら,1998]。さらに、実験的に 150 mg/kg 体重/日の Pb を 3 週間給与されたネコでは、外見的な Pb 中毒は生じないものの、血漿中 Pb 濃度が上昇し、食餌として給与した麻酔下のラットに対する攻撃性が上昇することが報告されている[Li ら,2003]。ペットフード安全法では、2010 年に Pb の基準・規格化が検討され、現在政令により、Pb の基準値は現物あたりで 3 mg/kg と設定されている[農林水産省・環境省,2011]。

1-6 ネコが重金属類を過剰摂取する危険性

ネコが重金属類の過剰摂取により健康被害が生じたという報告はあるが[山下,1964、Takeuchi ら,1977、Hoff ら,1998]、いずれも、重金属汚染された土地の作物、野生の鳥獣、魚などを摂取した場合や、あるいは重金属類の誤食が原因であり、市販フード由来の重金属類過剰摂取については、ほとんど報告されていない。特に Hg に関しては、1-5 で記した通り、水俣湾付近のネコや実験的に Hg を給与されたネコでは、Hg 中毒症状として精神神経系疾患が生じているものの、現在まで日本国内では通常飼育されているネコでは Hg 中毒は報告されていない。一方、Hg はマグロ、カツオなどの大型海産魚

類に生物濃縮を通じて蓄積しやすい[Llobelt ら,2003]。Falcó ら(2006)は、マグロおよびメカジキに含まれる Hg 濃度は、それぞれ現物あたりで、最大で 0.58 および 2.22 mg/kg であることを報告しているが、これらの値は、厚生労働省(2010)の定める魚介類の暫定規制値(0.4 mg/kg)を上回る値である。1-3 で記した通り、日本で広く流通しているウェットタイプのキャットフードは、マグロ、カツオなどの大型海産魚類を主原料とした製品が多いことから、これらフードにも Hg が高濃度で含まれていることが予想される。実際に、市販されているウェットタイプのキャットフード中 Hg 濃度は、0.6 mg/kg DM[Boyer ら,1978]、0.55 mg/kg DM[Houpt ら,1988] および 0.014 mg/kg DM[Houpt ら,1988]と報告されており、上述の EU における Hg 規制値を上回るフードも存在する。ただし、報告例は少ない。また、1-4 で記した通り、ネコのような伴侶動物では、生涯同じフードを摂取し続ける場合も想定されることから、特定の有害物質を過剰摂取しやすい。したがって、大型海産魚類を主原料とするフードを長期間摂取することにより、ネコが Hg を過剰摂取する危険性が懸念される。実際に、マグロを主原料としたウェットタイプのネコ用フードを長期間連続給与されたネコは、Hg 中毒に類似した行動異常を示したことが報告されている[Houpt ら,1988]。

また、Hg 以外にも、As は、貝類、エビ類、ヒジキなどの海産物に多く含まれていることが知られている[Fowler ら,1975]。Cd は鉱床や汚泥から地下水に溶出し、海洋生態系に組み込まれやすく、貝類、イカ等で高濃度に濃縮されることが報告されている[McKelvey ら,2007]。さらに Pb についても、鉛管や釣りのルアーなどの人間の活動により、海洋に流出する危険性がある[McKelvey ら,2007]。したがって、海産物由来のフードには As、Cd および Pb が高濃度で蓄積する危険性も懸念され、上述の Falcó ら(2006)は、As、Cd、Pb は海産物の中では、それぞれボラ、イカ、サケで高いことを明らかにし

ている。ペットフード安全法において、As、Cd および Pb については 1-5 で記した通り規制値が既に設定されているが、As、Cd および Pb 以外の重金属類に関しては 2013 年 12 月現在、規制値は設定されていない。As、Cd および Pb 以外の重金属類では、ホヤなどの水生生物が特異的に濃縮する V[Swinehart ら,1974]や、ペットフードなどの缶詰用のメッキとして用いられる Sn[Schryver,1909]、あるいは、その他の予期せぬ有害金属が工業などの人間活動を通じて海洋に流出することで、フードの汚染をもたらす可能性もある[Fowler ら,1975、Van Cauwenbergh ら,1999、NRC,2005]。しかし、Hg 以外のペットフード中の重金属類濃度について測定した報告は見当たらず、1-5 で記した通り、ネコにおける重金属類毒性に関する研究も少ない。したがって、現在まで原因不明とされてきた疾病が、実際は重金属類の過剰摂取に起因していた可能性もある。

本論文では国内で市販されているキャットフード中の重金属類濃度を調査し、これらフードの常食による健康被害の可能性について検討した。

第 2 章

第 1 節 ネコ用フード中 Hg、As、Cd および Pb 濃度の検討

重金属類の中でも、Hg、As、Cd および Pb は特に毒性が強いため、その摂取は厳格に制限されなければならない[Chang,1996]。2009 年のペットフード安全法の施行により、ペットフードの成分の規格が定められ、規格外の製品の販売、流通が禁止されるようになった。ペットフードの成分規格は成分規格等省令で定められ、法律が施行された時点で、添加物(酸化防止剤)、かび毒(アフラトキシン B₁)および 5 種類の農薬について基準値が設定された[農林水産省・環境省,2008]。2009 年時点では、重金属類に関する基準値は設定されていなかったが 2010 年に As、Cd、および Pb の基準・規格への追加が検討され、2011 年に、政令により、As、Cd、および Pb の基準値は、それぞれ現物あたりで 15 mg/kg、1 mg/kg、3 mg/kg と設定された[農林水産省・環境省,2011]。しかしながら、2013 年 12 月現在、Hg などの他の重金属類については、基準値はいまだ設定されていない。一方、欧州共同体(EU)では動物用飼料について、フード中の水分含量を 12%と仮定し換算した現物あたりの Hg、As、Cd および Pb 濃度に関する基準値が定められている[European Commission,2010]。このうち、特に Hg と Cd については、家畜用飼料を対象とした基準値とは別に、イヌおよびネコ用のフードを対象とした基準値も設定されている。

マグロ、カツオ等の大型海産魚類には Hg 等の重金属類が蓄積しやすい[Llobelt ら,2003]。ヒトの特に胎児については Hg 暴露の問題から、厚生労働省(2010)は妊娠しているまたは妊娠する可能性のあるヒトに対し、注意すべき魚介類摂取の目安量(クロマグロでは 80 g/週)を公表している。ネコに関

しては、日本で広く流通しているウェットタイプのネコ用フードの主原料はマグロやカツオであり、過去にウェットタイプのネコ用フード中の Hg 濃度が報告されている(0.6 mg/kg DM[Boyer ら,1978]、0.55 mg/kg DM[Houpt ら,1988]および 0.014 mg/kg DM[Houpt ら,1988])ものの、例数は必ずしも多いとは言えず、ネコの Hg 摂取量については不明な部分が多い。また、ネコ用フード中の他の重金属類濃度を測定した例は見当たらない。マグロを主原料としたウェットタイプのネコ用フード中 Hg 濃度は、ドライタイプのフード中の濃度よりも高いこと[Boyer ら,1978]を考えると、ウェットタイプのネコ用フードを常食する場合、Hg 等の重金属類を過剰摂取する危険性がある。したがって、ペットフード中の重金属類濃度を調査し、これらを常食した場合の健康被害の有無について検討する必要がある。本研究は、ウェットタイプの市販ネコ用フードと、ドライタイプのネコ用フードおよびヒト用ツナ缶詰中の Hg、As、Cd および Pb 濃度を比較した。

材料および方法

サンプル採取

30 ブランド(10 社)のウェットタイプの市販ネコ用フード、40 ブランド(13 社)のドライタイプの市販ネコ用フード、および 5 ブランド(4 社)の市販ヒト用ツナ缶詰を供試した。ウェットタイプのネコ用フードの内、13 フードが総合栄養食であり、17 フードが栄養補完食であった。また、25 フード(総合栄養食:8 フード、栄養補完食:17 フード)がマグロやカツオを主体とし、5 フード(総合栄養食のみ)が牛肉、鶏肉あるいは豚肉を主体とするものであった。ドライタイプのネコ用フードの内、21 フードが総合栄養食であり、19 フードが療法食であった。ドライタイプのフードは、チキンミール、フィッシュミール、ポークミール、ビーフミー

ルが混合されて用いられていたため、主体となる動物由来タンパク質は不明であった。

分析

フードはフードプロセッサを用いて、全量を均一になるまで攪拌した。ウェットタイプのフード中水分含量は、飼料分析基準[農林水産省,2008]にしたがって測定した。重金属類濃度を測定するため、正確に秤量した約 1.0 g の飼料を専用のテフロン容器にとり、濃 HNO₃ を 8 mL、H₂O₂ を 2 mL および測定の際の Hg のメモリー効果を除くため、Au を 50 ng 加え、マイクロウェーブ分解装置(ETOS-D、マイルストーンゼネラル、川崎、日本)を用いて密閉状態で高圧灰化した。分解産物を純水で 50 mL に希釈して、ICP-MS(Elan6000、Perkin Elmer、Norwalk、CT、U.S.A.)を用いて Hg、As、Cd および Pb 量を定量測定した。測定下限は、14% HNO₃ に含まれる重金属類濃度を 10 回繰り返して測定し、その平均値に 10 倍した標準偏差を加えた値とした。各元素の測定下限は以下の通りであった Hg:0.004 mg/kg、As:0.088 mg/kg、Cd:0.001 mg/kg、Pb:0.004 mg/kg。

国内の家畜配合飼料における基準値およびペットフード安全法における基準値は現物あたりで定められているが[農林水産省,2012、農林水産省・環境省,2011]、上述のように、EU が定める重金属類の基準値は、水分含量を 12% と仮定し換算した現物あたりの濃度である [European Commission,2010]。ウェットタイプのフードについて、この基準値およびドライタイプのフードと比較する場合、ウェットタイプのフードの水分含量から DM 含量を求め、DM あたりの重金属類濃度を算出し、さらに 0.88 を乗じた。また、ウェットタイプのフードおよび、ドライタイプの総合栄養食の内、給与量の記載のあるフード(n = 17)について、ネコの体重を 4 kg、フードのラベルに記載通り

の給餌方法による摂食量とし、ヒトの重金属類の暫定耐容一週間摂取量 (PTWI)[JECFA,2001]との比較も行った。

統計処理

ウェットタイプのネコ用フード中とドライタイプのネコ用フード中およびヒト用ツナ缶詰中の重金属類濃度の差は、対応のない Student's *t*-test によって検定した。p<0.05 を統計的に有意な差とみなした。

結果および考察

水分含量を 12%と仮定し換算したウェットタイプのネコ用フード、および現物あたりのドライタイプのネコ用フード中の Hg、As、Cd および Pb 濃度を表 2-1-1 に示す。Hg 濃度および As 濃度に関して、ドライタイプのネコ用フードと比較して、ウェットタイプのネコ用フードは、有意に高い値を示した。また、ウェットタイプのネコ用フードの内、大型海産魚類を主体とするフード(n = 25)と畜肉を主体とするフード(n = 5)における Hg、As、Cd および Pb 濃度の差を検討した結果、同様に、Hg 濃度および As 濃度に関して、マグロやカツオを主体とするフードで有意に高い値を示した(表 2-1-2)。マグロやカツオといった大型海産魚類には重金属類が蓄積しやすいこと[Llobelt ら,2003]、また、マグロを主原料としたウェットタイプのネコ用フード中 Hg 濃度は、ドライタイプのフード中の濃度よりも高いことを明らかにした Boyer らの報告(1978)からも、ウェットタイプのフードとドライタイプのフードの Hg 濃度および As 濃度の差は、フードの原材料に起因すると考えられる。

ウェットタイプのネコ用フードおよびヒト用ツナ缶詰中の現物あたりの Hg、As、Cd および Pb 濃度を表 2-1-3 に示す。Cd 濃度に関して、ヒト用ツナ缶詰と比

較して、ウェットタイプのネコ用フードは有意に高い値を示したが、それ以外の重金属類濃度に明瞭な差はなかった。ウェットタイプのネコ用フードでは、血合肉の混在が確認された一方、ヒト用ツナ缶詰では確認されなかった。ヒトでは、筋肉中の Cd 濃度(0.2 mg/g)に比べて血液中の Cd 濃度(4.5 mg/g)の方が高い値を示す[ATSDR,1999a]。したがって、ウェットタイプのネコ用フードとヒト用ツナ缶詰間の Cd 濃度の違いは、血合肉の有無に由来する可能性がある。

Hg には有機態と無機態がある。有機 Hg は無機 Hg よりも毒性が強い[ATSDR,1999b、Hill ら,1987]。大型海産魚類に含まれる Hg の大部分は有機態と考えられる[JohnstonとSavage,1991]。今回供試したウェットタイプのフードの内、Hg 濃度が検出可能であったフード中の Hg 濃度の範囲は、0.016 - 1.069 mg/kg DM であり、過去の報告(0.014 - 0.6 mg/kg DM)[Boyer ら,1978、Houpt ら,1988、Sakai ら,1995]と概ね一致した。EU は 2010 年に、イヌおよびネコ用フードを対象とした Hg 基準値を、総合栄養食、栄養補完食ともに 0.3 mg/kg と改訂している[European Commission,2010]。この値と比較した場合、1 ブランドの総合栄養食および 7ブランドの栄養補完食が基準値を上回った。一方、国内の家畜配合飼料における基準値(0.4 mg/kg)[農林水産省,2012]を上回るフードはなかった。全てのドライタイプのフードで、Hg 濃度はそれぞれの基準値を下回っていた。ラベル表示値に基づくネコの Hg 摂取量を、ヒトの Hg の PTWI(5 µg/kg 体重)[JECFA,2001]と比較したところ、27 ブランド(ウェットタイプの総合栄養食:10ブランド、ウェットタイプの栄養補完食:15ブランド、ドライタイプの総合栄養食:2ブランド)が PTWI を上回った(表 2-1-4)。ネコの Hg 耐性はヒトの 10 倍である可能性が示唆されている[Willes,1977]。そこで、ヒト PTWI の 10 倍の値と比較したが、4 ブランド(ウェットタイプの総合栄養食:1 ブランド、ウェット

タイプの栄養補完食:3 ブランド)がこの値を上回った。マグロを主原料としたウェットタイプのネコ用フードを188日間連続給与されたネコは、Hg中毒に類似した行動異常を示したという報告もあり[Hauptら,1988]、ウェットタイプのネコ用フードの使用に当たっては、Hgの過剰摂取に注意を払う必要がある。SeにはHg毒性を緩和する作用が報告されている[Parizekら,1967]ものの、未解明な点も多い。ヒトにおいてもSeによるHg毒性の緩和効果が議論されており、SeとメチルHgの相互作用は期待できるかもしれないが、食事中SeがメチルHgの毒性を変化させるという明瞭な証拠はないとされている[Mergerら,2007]。海産魚類にはSeが豊富に含まれているため、これらを主原料としたウェットタイプのネコ用フードのSe濃度は比較的高いことが示唆されている[Hauptら,1988]。ネコとヒトではHg代謝が異なっていること[Willes,1977]からも、ネコにおけるSeのHg毒性低減効果を詳細に検討する必要がある。

Asにも有機態と無機態とがあるが、Hgとは異なり、有機Asに比べて無機Asの毒性は強く、マウスにおけるLD₅₀は、有機Asが648~5500 mg/kg 体重なのに対して、無機Asは26 mg/kg 体重である[Kaiseら,1885、1989、1992]。ウェットタイプのフードについて、EUが定めた基準値(総合栄養食:2 mg/kg、栄養補完食:4 mg/kg)[European Commission,2010]と比較したところ、総合栄養食では9ブランド、栄養補完食では13ブランドが基準値を上回った。また、国内の家畜配合飼料における基準値(2 mg/kg)[農林水産省,2012]を上回るフードが5ブランドあった。一方、ペットフード安全法における基準値(15 mg/kg)[農林水産省・環境省,2011]を上回るフードは無かった。全てのドライタイプのフードで、As濃度はそれぞれの基準値を下回っていた。ヒトの無機態AsのPTWI(15 µg/kg 体重)[JECFA,2001]と比較したところ、ウェットタイプおよびドライタイプともに、全てのフードがヒトでのPTWIを上回った(表 2-1-4)。マグロやカツオといった大型海産魚類に含まれるAsの大部分

は有機 As であるとされているため[kaiseら, 1985]、これらの基準値を上回って摂取しても健康に実害はない可能性もある。しかしながら、ネコの健康を考えると、今後、フード中の無機 As を測定する必要がある。

Cd 濃度に関して、EU が定めた基準値(総合栄養食:2 mg/kg、栄養補完食:2 mg/kg)[European Commission,2010]、国内の家畜配合飼料の基準値(1 mg/kg)[農林水産省,2012]およびペットフード安全法における基準値(1 mg/kg)[農林水産省・環境省,2011]を上回るフードは、ウェットタイプ、ドライタイプともになかった。Cd のヒトの PTWI は 7 μ g/kg 体重であり[JECFA,2001]、27 ブランド(ウェットタイプの総合栄養食:10 ブランド、ウェットタイプの栄養補完食:7 ブランド、ドライタイプの総合栄養食:10 ブランド)がヒトの PTWI を上回った(表 2-1-4)。

Pb 濃度は、ウェットタイプの栄養補完食で 1 ブランドだけ、EU が定めた基準値(10 mg/kg)[European Commission,2010]、国内の家畜配合飼料の基準値(3 mg/kg)[農林水産省,2012]、およびペットフード安全法における基準値(3 mg/kg)[農林水産省・環境省,2011]を大幅に上回った。また、Pb のヒトの PTWI は 25 μ g/kg 体重であり[JECFA,2001]、20 ブランド(ウェットタイプの総合栄養食:5 ブランド、ウェットタイプの栄養補完食:2 ブランド、ドライタイプの総合栄養食:13 ブランド)がヒトの PTWI を上回った(表 2-1-4)。Hoff ら(1988)はカナダオンタリオ州で飼育されているネコにおいて、Pb 中毒が発生したことを報告している。したがって、フード中の Pb 濃度にも注意を払う必要がある。

EU の基準値や家畜配合飼料の国内の基準値を上回るフード数に比べて、PTWI を上回るフード数は多かった。ネコの場合、毎日同じ内容の食餌を摂るケースが多く、したがって、フード自体は基準値未満の重金属類濃度であっても重金属類の過剰摂取に陥る可能性がある。しかしながら、マグロやカツオ

といった大型海産魚類を原材料に使ったウェットタイプのネコ用フードは長年製造されているものの、明瞭な健康被害は報告されていない。今後、ネコ個体を使った重金属類毒性に関する研究が求められる。

今回供試したウェットタイプのフードの内、5 ブランドが牛肉、鶏肉あるいは豚肉を主体とするものであった。このうち、総合栄養食の1ブランドにおいてのみAs濃度がEUの基準値[European Commission,2010]を上回っており、それ以外は全てEUの基準値およびペットフード安全法における基準値[農林水産省・環境省,2011]を下回っていた。したがって、重金属類の過剰摂取の危険性を減らすには、牛肉、鶏肉あるいは豚肉を主体とするフードの給与が望ましいかもしれない。

表 2-1-1. ウェットタイプのネコ用フードおよびドライタイプのネコ用フード中の
 重金属類濃度(mg/kg)¹

	ウェットタイプ ²	ドライタイプ ³
Hg	0.251 ± 0.278 (ND ⁴ - 0.941) ⁵	0.011 ± 0.023* (ND - 0.119)
As	5.376 ± 2.673 (1.222 - 9.484)	0.477 ± 0.321* (0.140 - 1.285)
Cd	0.107 ± 0.059 (ND - 0.253)	0.085 ± 0.064 (0.018 - 0.295)
Pb	1.065 ± 4.814 (ND - 26.525)	0.263 ± 0.142 (ND - 0.561)

¹ データは平均値 ± 標準偏差で示した

² 水分含量を 12%に換算した現物あたりの値、n = 30

³ 現物あたりの値、n = 40

⁴ 検出下限未満

⁵ 範囲を示した

*ウェットタイプのネコ用フードとドライタイプのネコ用フードとの間に有意差あり
 (p<0.05)

表 2-1-2. 大型海産魚類主体のウェットタイプのネコ用フードおよび畜肉主体のウェットタイプのネコ用フード中の重金属類濃度(mg/kg)¹

	大型海産魚類主体 ²	畜肉主体 ³
Hg	0.067 ± 0.079 (0.005 - 0.274) ⁴	0.012 ± 0.018* (ND ⁵ - 0.044)
As	1.41 ± 0.69 (0.60 - 3.11)	0.37 ± 0.31* (0.35 - 0.85)
Cd	0.025 ± 0.017 (ND - 0.070)	0.030 ± 0.014 (0.012 - 0.044)
Pb	0.020 ± 0.046 (ND - 5.390)	0.049 ± 0.021 (0.023 - 0.075)

¹ データは平均値 ± 標準偏差で示した

² 現物あたりの値、n = 25

³ 現物あたりの値、n = 5

⁴ 範囲を示した

⁵ 検出下限未満

*大型海産魚類主体のウェットタイプのネコ用フードと畜肉主体のウェットタイプのネコ用フードとの間に有意差あり(p<0.05)

表 2-1-3. ウェットタイプのネコ用フードおよびヒト用ツナ缶詰中の重金属類濃度(mg/kg)¹

	ネコ用フード ²	ヒト用ツナ缶詰 ³
Hg	0.062 ± 0.060 (ND ⁴ - 0.274) ⁵	0.044 ± 0.029 (0.021 - 0.092)
As	1.24 ± 0.75 (0.35 - 3.11)	1.160 ± 0.220 (0.900 - 1.450)
Cd	0.030 ± 0.020 (ND - 0.070)	0.010 ± 0.000* (ND - 0.010)
Pb	0.022 ± 0.098 (ND - 5.390)	ND

¹ データは平均値 ± 標準偏差で示した

² 現物あたりの値、n = 30

³ 現物あたりの値、n = 5

⁴ 検出下限未満

⁵ 範囲を示した

*ウェットタイプのネコ用フードとヒト用ツナ缶詰との間に有意差あり(p<0.05)

表 2-1-4. PTWI とラベルに基づくネコの重金属類推定摂取量の比較(μg/kg 体重/週)

PTWI ¹	推定摂取量												
	ウェットタイプ						ドライタイプ						
	総合栄養食 ²				栄養補完食 ³				総合栄養食 ⁴				
Hg	5	ND ⁵	-	85.2 ⁶	(10) ⁷	3.5	-	76.6	(7)	ND	-	20.8	(2)
As	15	17.4	-	1739.5	(13)	84.3	-	806.2	(17)	17	-	225	(17)
Cd	7	6.4	-	37.6	(10)	ND	-	14.1	(15)	1.9	-	38.7	(10)
Pb	25	ND	-	52.9	(5)	ND	-	1508.7	(2)	ND	-	68.8	(13)

¹ヒトにおける暫定耐容一週間摂取量

² n = 13

³ n = 17

⁴ n = 17

⁵ 検出下限未満

⁶ 範囲を示した

⁷ PTWI を上回ったサンプル数

第 2 節 ICP-MS 半定量法によるキャットフード中有害金属類の同時分析

重金属類には、前節で測定した Hg、As、Cd および Pb 以外にも有害な元素があり、その摂取については注意する必要がある [Chang ら, 1996]。NRC(2005)は、健康被害のリスクがある元素として、37 種の元素 (Li・B・F・Mg・Al・Si・P・S・K・Ca・Ti・V・Cr・Mn・Fe・Co・Ni・Cu・Zn・Ge・As・Se・Br・Rb・Sr・Mo・Ag・Cd・Sn・Sb・I・Ba・W・Hg・Pb・Bi・U) について、げっ歯類、家禽類、ブタ、ウマ、ウシ、ヒツジおよび魚類における MTL を示している。しかし、ネコをはじめとした伴侶動物における多くの重金属類の MTL や許容上限量は記載されていない。前節では、Hg、As、Cd および Pb の 4 元素を対象として市販のペットフード中の濃度を定量測定したが、これら以外の重金属類濃度を測定した報告は見当たらない。また、ペットフード安全法においても、As、Cd および Pb 以外の重金属類の規制値は未だ決められていない [農林水産省・環境省, 2011]。ペットフードにおいて汚染が危惧される一部の重金属類は、フードの原料からある程度予測は可能であるが、予期しない重金属類がフードを汚染する可能性もある。したがって、様々な重金属類による汚染を防止するため、網羅的なペットフード中重金属類の分析が必要である。

通常、重金属類の分析には、種々の測定装置が用いられている。ペットフードや飼料に含まれる元素測定の公定法 [農林水産省・環境省, 2011、農林水産省, 2012] で用いられている原子吸光分析装置では、標準液の使用が必須であり、そのため予期せぬ重金属類の汚染の検出には、手間と時間がかかる。ICP-MS は、ICP 中で生成したイオンを質量分析部に導入して、その質量数およびイオン強度により定性および定量を行う分析法であるが、多元素の迅速な定量が可能であり、低濃度域の定量に威力を発揮することから、近年、金属元素の微量成分分析法の中心を占めるようになってきている [上本, 2008]。Kim ら

(2011)は、ICP-MS により得られるマススペクトルから、目的とする金属の標準液を用いることなしに、サンプル中の元素を一斉検出できる半定量測定モード法に着目し、ラット肝臓中の金属類を網羅的にスクリーニングする手法を開発した。また、ICP-MS を用いた分析には元素ごとに異なる前処理方法が用いられることもあるが、上記の Kim らの検討では単一の前処理手法で肝臓を処理し、分析を行った。したがって、本節においても、Kim らの方法に準じて、単一の前処理手法を用いることとした。一方、ICP-MS を用いた生物材料の元素分析においては、生物材料の持つ複雑なマトリックスに由来する干渉の問題も存在することが指摘されている[上本,2008]。本節では ICP-MS を用いた半定量分析により、ドライタイプおよびウェットタイプの市販ネコ用フードに含まれる重金属類濃度について、同時分析を試み、その有効性を検討した。

材料および方法

サンプル採取

8 社、10 ブランドのドライタイプの市販ネコ用フードおよび 6 社、10 ブランドのウェットタイプの市販ネコ用フードを用いた。ドライタイプのフードはすべて総合栄養食であり、ウェットタイプのフードの内、1 フードが総合栄養食、9 フードが栄養補完食であった。

測定元素

測定する元素は、NRC(2005)が、健康被害リスクがあるとしている 37 種の元素の内、主要無機物(Mg・Si・P・S・K・Ca)、ハロゲン(F・Br・I)、放射性元素(U)を除いたLi・B・Al・Ti・V・Cr・Mn・Fe・Co・Ni・Cu・Zn・Ge・As・Se・Rb・Sr・Mo・Ag・Cd・Sn・Sb・Ba・W・Hg・Pb・Bi の 27 元素を対象とした。

分析

ドライおよびウェットタイプのフードは、前節と同様の方法で、密閉状態で高圧灰化処理した。灰化後のドライおよびウェットタイプのフード、それぞれ 10 サンプルすべてから 1 ml ずつを正確に採取し、20 ml チューブに加え、攪拌することでプールしたサンプルを、ICP-MS の半定量測定モード(TotalQuant III)を用いて、上記の 27 元素が検出可能であるかを確認した。検出可能であった元素について、繰り返して 3 回測定することで変動係数(CV)を得、また、灰化サンプルに各元素をサンプル中濃度が 2~5 倍程度になる様加え、測定することによって添加回収率を求めた。さらに、灰化したサンプルを、それぞれ個別に半定量測定および定量測定し、定量測定値に対する半定量測定値の単回帰分析を行うことで、測定値の差を比較検討した。

検出不能であった元素については、げっ歯類における MTL 水準 [NRC,2005]を添加し、検出確認を行った。

ドライおよびウェットタイプのフード中の水分含量は第 2 章第 1 節と同様の手法を用いて測定し、結果は mg/kg DM で示した。

結果および考察

プールしたドライおよびウェットタイプのフードサンプルを半定量測定した濃度、測定値の CV および添加回収率を表 2-2-1、2-2-2 に示す。本試験で対象とした 27 元素の中で、ドライタイプのフード、ウェットタイプのフードともに、Ge・Ag・W・Bi 濃度は著しく低く、検出されなかった。ドライタイプのフード、ウェットタイプのフードともに、検出可能であった 23 元素は、全て測定値の CV は 10%以下

であった。したがって、著しく濃度が低い元素を除き、半定量測定の繰り返し再現性は比較的高いことが示された。検出可能であった 23 元素の内、ドライタイプのフードにおける各元素の添加回収率は、**B・Fe・Zn・Sb** を除き、食品衛生検査で規定されている一般的な有害成分分析の添加回収率許容範囲である 70～120%[厚生労働省,1997]を満たしていた。また、ウェットタイプのフードにおける各元素の添加回収率は、**B・Ti・Ni・Zn・Sb・Ba** を除き 70～120%を満たしていた。前述の通り、ICP-MS では、マトリックス由来の干渉が問題となっている。半定量分析では、こうした干渉を補正するプログラムが存在し、元素ごとに異なる補正式を用いて濃度を算出するが、**C・N・Ca** といった主要元素による干渉が存在する元素 (**Ti・Fe・Ni・Zn**) および、ICP-MS でキャリアーガスとして用いた **Ar** による干渉が存在する元素 (**Ti・Fe**) では、干渉作用が十分に補正できず、これらの元素における添加回収率の問題につながった可能性がある。さらに、ドライタイプのフード、ウェットタイプのフードともに添加回収率に問題があった **B・Zn・Sb** は、いずれのフードでも添加回収率は低い(**B**)、あるいは高い(**Zn・Sb**)傾向にあったことから、補正式自体に何らかの問題があった可能性もあり、設定した補正式の改善が必要であるかもしれない。いずれにしろ、**B・Ti・Fe・Ni・Zn・Sb・Ba** の 7 元素に関してはキャットフードにおける半定量分析の定量性は高くないものと考えられる。

20 種のネコ用ドライおよびウェットタイプのフードを、それぞれ定量分析した値に対する、同一のサンプルにおいて半定量分析した値の単回帰分析を行った結果を図 2-2-1 に示す。決定係数は **Cr・Ni** を除き高かった(決定係数>0.9)。**Li・Al・V・Mn・Co・Cu・As・Se・Rb・Sr・Mo・Cd・Sn・Hg・Pb** の 15 元素に関しては、ドライタイプのフード、ウェットタイプのフードともに添加回収率が 70～120%であり、強い回帰が認められたことから、半定量分析により定量可能であることが示された。一方、**B・Ti・Fe・Zn・Sb・Ba** の 6 元素に関しても、添加回収

率は低いものの、定量分析値と半定量分析値との間に強い回帰が認められたことから、得られる濃度自体には問題はあるが、異常値の検出は可能であると考えられる。Li・B・Al・Ti・V・Mn・Fe・Co・Cu・Zn・As・Se・Rb・Sr・Mo・Cd・Sn・Sb・Ba・Hg・Pb の 21 元素においては、各フードにおける定量分析値と半定量分析値の回帰の結果、いずれの元素においてもドライタイプのフード、ウェットタイプのフードともに、ほぼ同一の回帰直線であったことから(図 2-2-1)、半定量分析により、ドライタイプ、ウェットタイプの双方のフードを同等に解析可能であることが示された。

定量分析値に対する半定量分析値の回帰が高くなかった、Cr・Ni および今回供試したキャットフードからはほとんど検出されなかった Ge・Ag・W・Bi の合計 6 元素に関して、げっ歯類における MTL 水準[NRC,2005]のこれら元素を添加し、半定量分析での検出確認を行った結果を表 2-2-3 に示す。Cr・Ni・Ge の 3 元素は、添加回収率は 82~120%であった。したがって、げっ歯類における MTL 水準程度の濃度であれば、半定量分析により、検出可能であることが示された。添加回収率の悪かった Ag・W・Bi は、いずれのフードでも添加回収率は低い(Ag)、あるいは高い(W・Bi)傾向にあり、前述した、干渉補正式に問題がある可能性もある。げっ歯類の重金属類に対する感受性は高く、MTL も他の動物種と比較し低く設定されていること[NRC,2005]から、Cr・Ni・Ge の 3 元素に関しては、ネコに健康被害をもたらす程度のキャットフード汚染であれば、半定量分析により十分にその検出が可能であると考えられる。

本試験の結果、Li・Al・V・Mn・Co・Cu・As・Se・Rb・Sr・Mo・Cd・Sn・Hg・Pb の 15 元素に関しては、半定量分析により定量可能であり、また、B・Ti・Fe・Zn・Sb・Ba の 6 元素に関しても、添加回収率の問題はあるものの、定量分析と半定量分析との間に有意な回帰が認められたことから、異常値の検出は可能であることが示された。さらに、Cr・Ni・Ge の 3 元素に関しては、げっ歯類における

MTL 水準程度の高濃度であれば半定量分析により、その検出が可能であった。したがって、半定量分析は、健康被害リスクのある、幅広い元素について対応可能であり、予期せぬ重金属類によるペットフード汚染を防止するためのスクリーニングに有効であることが示された。

表 2-2-1. ドライタイプのネコ用フードの有害金属類濃度の半定量モードによる測定値¹

元素	フード中濃度 (mg/kg DM) ²			CV(%)	添加回収率(%)
Li	0.58	±	0.05	8.5	119
B	13.6	±	0.3	2.2	43
Al	120	±	2	1.8	73
Ti	35.3	±	3.0	9.0	106
V	0.52	±	0.02	3.3	119
Cr	3.7	±	0.1	1.8	88
Mn	34	±	1	2.2	79
Fe	168	±	4	2.3	64
Co	1.14	±	0.03	2.3	108
Ni	2.68	±	0.01	0.4	118
Cu	21.2	±	0.3	1.6	104
Zn	231	±	1	0.6	134
Ge		ND ³		-	-
As	0.41	±	0.01	2.3	84
Se	1.8	±	0.1	6.9	81
Rb	5.2	±	0.1	2.4	81
Sr	17.79	±	0.32	1.8	91
Mo	0.61	±	0.04	7.0	79
Ag		ND		-	-
Cd	0.075	±	0.002	2.6	105
Sn	0.132	±	0.009	6.8	97
Sb	0.25	±	0.04	1.4	152
Ba	45.6	±	0.7	1.5	103
W		ND		-	-
Hg	0.72	±	0.05	6.7	72
Pb	0.53	±	0.01	2.3	105
Bi		ND		-	-

¹ 灰化後のサンプルを 10 サンプル、一定量ずつ混合して測定

² データは平均値 ± 標準偏差で示した

³ 検出下限未満(<0.02 mg/kg DM)

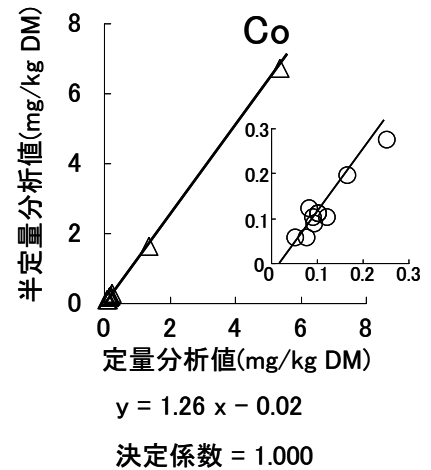
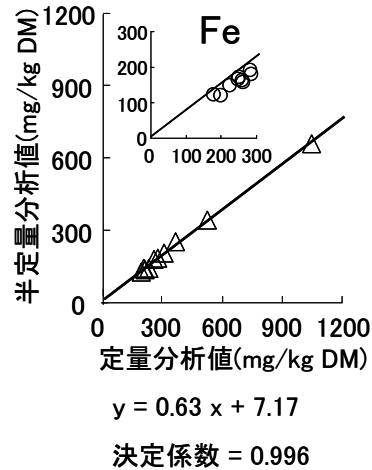
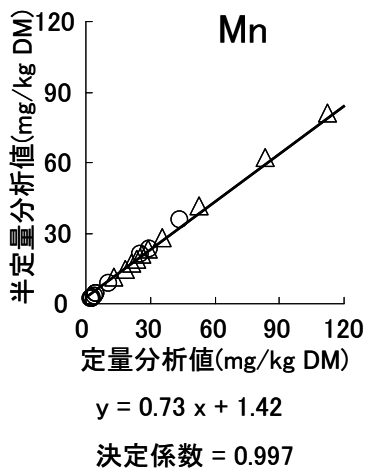
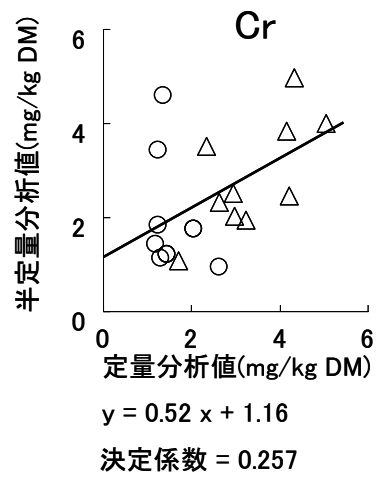
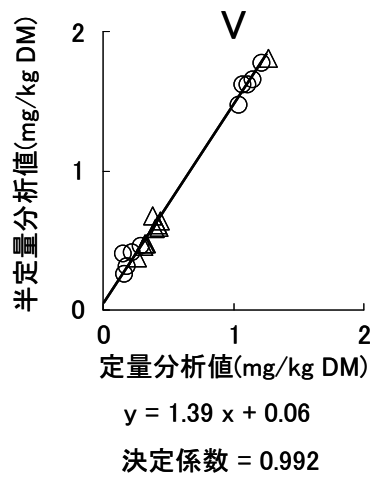
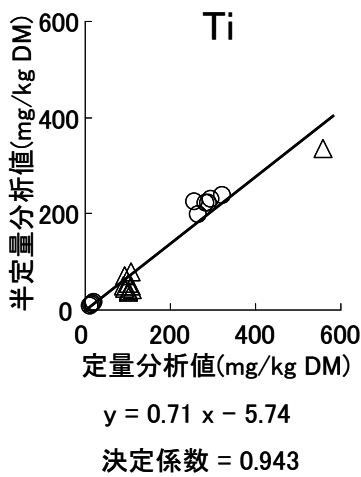
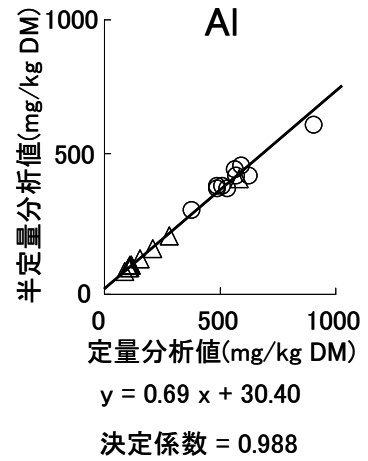
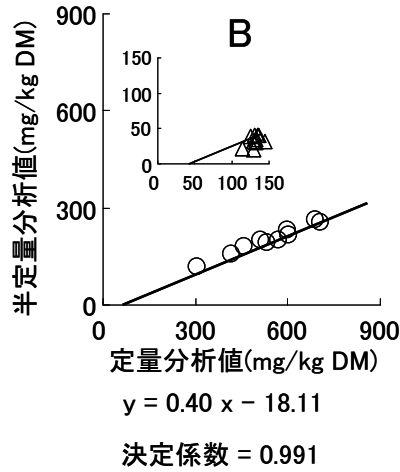
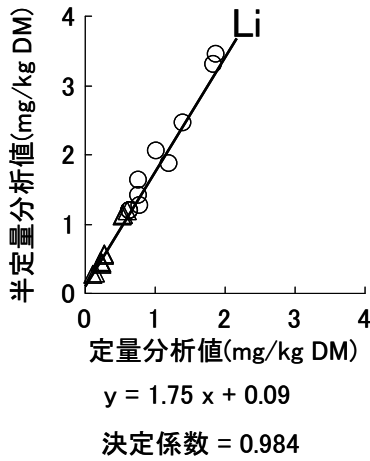
表 2-2-2. ウェットタイプのネコ用フードの有害金属類濃度の半定量モードによる測定値¹

元素	フード中濃度 (mg/kg DM) ²			CV(%)	添加回収率(%)
Li	1.81	±	0.09	5.0	118
B	38.6	±	2.3	5.8	43
Al	274	±	4	1.4	76
Ti	46.5	±	1.4	3.0	134
V	0.96	±	0.01	1.0	112
Cr	3.9	±	0.1	1.9	111
Mn	8.0	±	0.0	0.3	88
Fe	122	±	5	4.5	74
Co	0.10	±	0.00	4.0	109
Ni	1.85	±	0.04	2.4	187
Cu	6.7	±	0.2	2.4	107
Zn	27	±	15	0.5	133
Ge		ND ³		-	-
As	4.79	±	0.08	1.6	94
Se	7.3	±	0.4	5.3	75
Rb	3.0	±	0.1	1.7	86
Sr	12.29	±	0.12	1.0	91
Mo	0.38	±	0.02	4.2	91
Ag		ND		-	-
Cd	0.218	±	0.016	7.6	70
Sn	0.082	±	0.007	8.7	94
Sb	0.37	±	0.02	5.3	160
Ba	247.5	±	8.9	3.6	69
W		ND		-	-
Hg	2.03	±	0.06	2.9	85
Pb	0.62	±	0.06	9.6	106
Bi		ND		-	-

¹ 灰化後のサンプルを 10 サンプル、一定量ずつ混合して測定

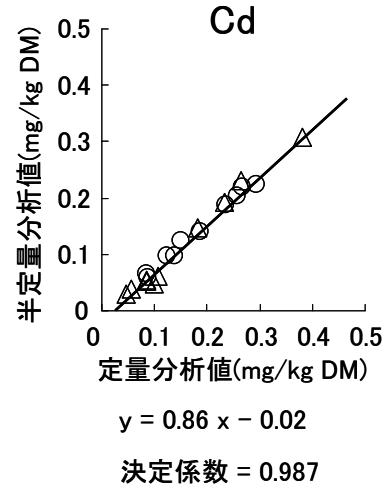
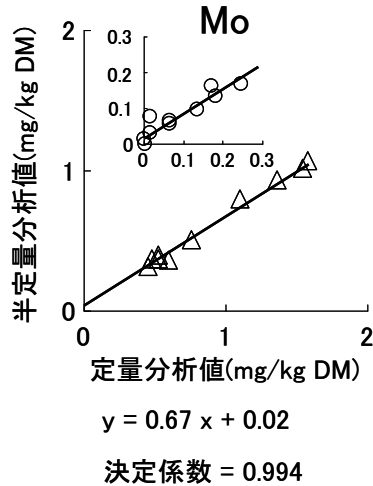
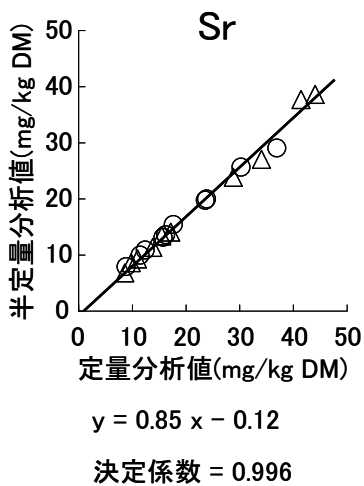
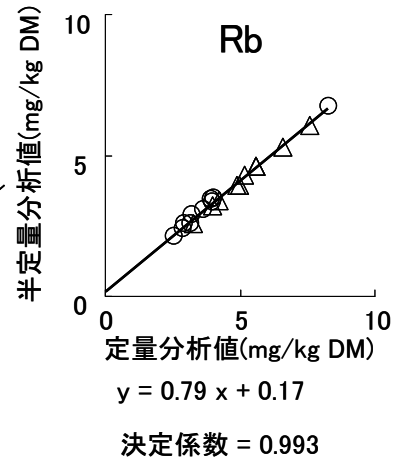
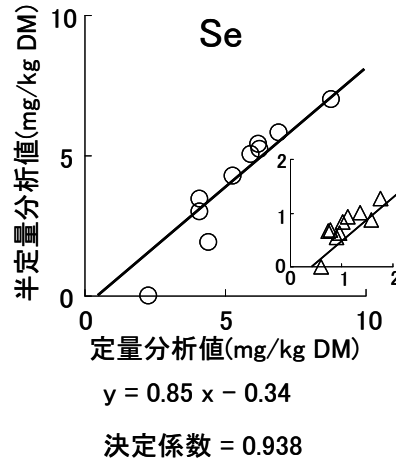
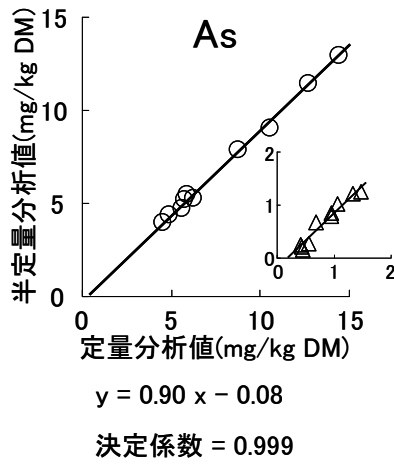
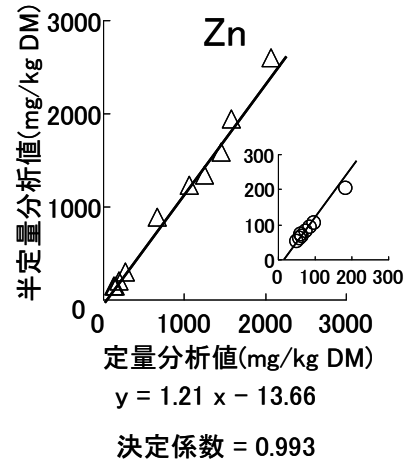
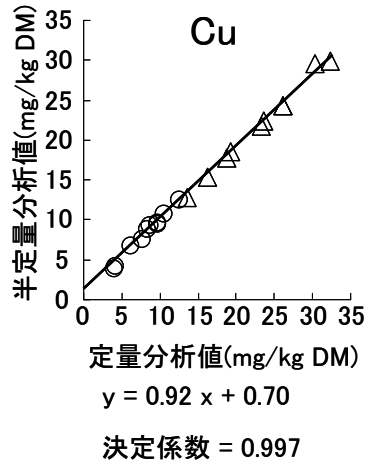
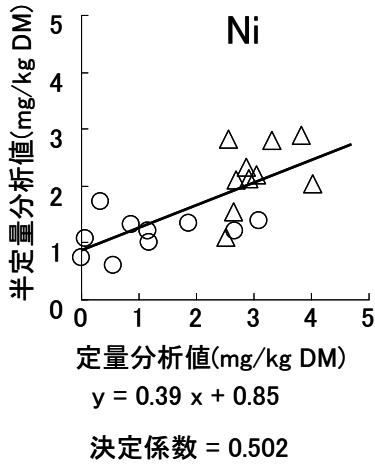
² データは平均値 ± 標準偏差で示した

³ 検出下限未満(<0.01 mg/kg DM)



(続く)

(続き)



(続く)

(続き)

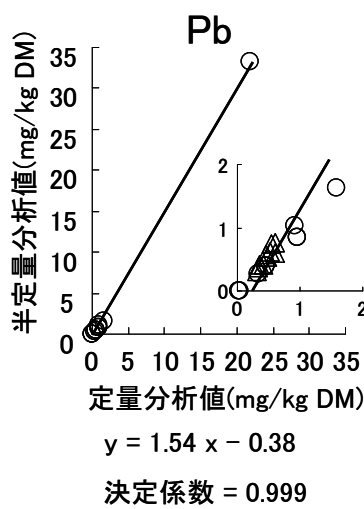
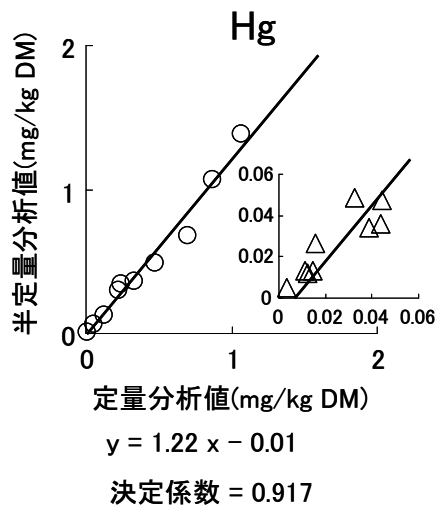
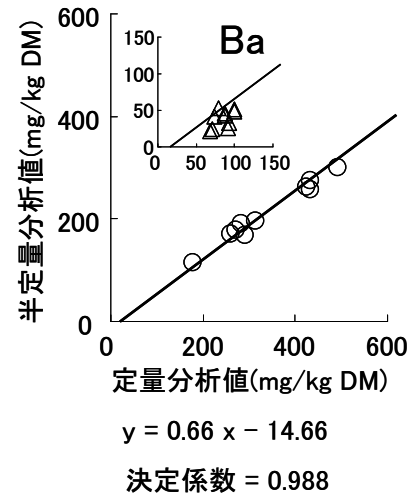
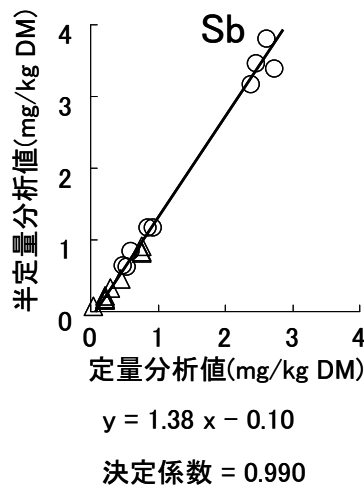
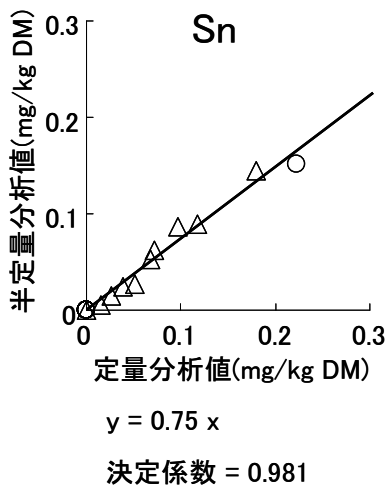


図 2-2-1. 各元素における、定量分析値に対する半定量分析値の回帰

△はドライタイプのフード、○はウェットタイプのフードを示した

B、As、Se、Ba、Hg の差込図はドライタイプのフードにおける回帰を示した

Fe、Co、Zn、Mo の差込図はウェットタイプのフードにおける回帰を示した

Pb の差込図は、異常高値を示した 1 フードを除いた回帰を示した

表 2-2-3. 最大耐容量(MTL)を添加した際の添加回収率(%)

元素	MTL ¹	ドライタイプ	ウェットタイプ
Cr	100	82	82
Ni	50	120	117
Ge	30	97	96
Ag	100	17	15
W	20	135	124
Bi	500	133	136

¹ げっ歯類における値(mg/kg DM)

第 3 章

ネコにおいてフード中 Hg 濃度が被毛中 Hg 濃度に及ぼす影響

第 2 章で記した通り、重金属類の中でも Hg は、生体内に蓄積し易く、比較的低い濃度で毒性を持つ[Chang ら,1996]。したがって、ヒトおよび家畜においては、その摂取量が厳格に制限されている[JECFA,2001、厚生労働省,1947、農林水産省,2012]。一方、ペットフード安全法では、未だ Hg の基準値は設定されていない[農林水産省・環境省,2011]。第 2 章第 1 節では、マグロやカツオを主原料としたウェットタイプの市販ネコ用フード中の Hg 濃度は牛肉、鶏肉あるいは豚肉を主体とするウェットタイプのフード、あるいはドライタイプのフードと比べ高いことを明らかにした。ウェットタイプのフード給与によりネコが Hg 中毒となった報告例は未だないものの、第 2 章第 1 節の結果から、ウェットタイプのフードを常食しているネコでは Hg を過剰摂取している危険性も懸念される。実際、マグロを主原料としたウェットタイプのネコ用フードを 188 日間連続給与されたネコは、Hg 中毒に類似した行動異常を示したという報告もある[Haupt ら,1988]。したがって、ネコの Hg 汚染について調査する必要がある。実験的にネコを Hg 中毒にした報告では、いずれも Hg 中毒の指標として、供試したネコをと殺した後の臓器中 Hg 濃度が測定されているが[Charboneau ら,1976、Eaton ら,1980]、動物福祉の観点から、非侵襲的にネコの Hg 汚染を把握する方法を確立する必要がある。

Hg 過剰摂取の指標や Hg 中毒の指標として、ヒトでは毛髪中 Hg 濃度が測定されること[Corridan,1974]から、ネコでも被毛中 Hg 濃度が Hg 過剰摂取の指標となることが予想される。実際に Willes ら(1977)は、 ^{203}Hg をネコに給与し、体内の放射活性を測定した結果、摂取した ^{203}Hg の 36% が 156 日後でも体

内に残存し、その内 30%が被毛中に存在することを報告しており、ネコにおいても摂取した Hg の多くが被毛中に移行することを明らかにしている。Willes らの試験以外にもネコの被毛中 Hg 濃度を測定した報告は存在するが[Eaton ら,1980、Sakai ら,1995]、検討に必要と思われる十分な数の報告を我々は見出すことができなかった。

第 2 章では、ペットフード中重金属類濃度の測定について、ICP-MS の有用性を明らかにしたが、ICP-MS を用いた生物材料の元素分析においては、生物材料の持つ複雑なマトリックスに由来する干渉の問題も存在することが指摘されている[上本,2003]。一方、被毛について ICP-MS により Hg を分析した報告は少ない。したがって本研究では、最初に、予備的検討として、ヒトの頭髪の認証標準物質を用いて分析精度の妥当性確認を行った。次いで、採取部位、性、毛色、月齢、体重がネコ被毛中 Hg 濃度に及ぼす影響について検討した。さらに、Hg 含量の高いフードを摂取したネコの被毛中 Hg 濃度を検討し、Hg 含量の少ないフードに変更後の被毛中 Hg 濃度の経時変化を検討した。

材料および方法

分析精度の妥当性確認

認証標準物質としてヒト頭髪(CRM No.13、国立環境研究所、つくば、日本)を用いて分析値の確認を行った。日内変動および日間変動を検討するため、標準物質を用い 3 回ずつ、3 日間繰り返して試料を調製し、Hg 濃度を測定した。測定値の変動は CV で示した。測定下限は、14% HNO₃ に含まれる Hg 濃度を 10 回繰り返して測定し、その平均値に 10 倍した標準偏差を加えた値とした。

動物試験

第 1 試験では、1.7～1.9 歳の雑種のネコ 5 頭(オス:3 頭、メス:2 頭)を用いた。これらのネコに表 3-1 に示す、マグロ、カツオを主体とするウェットタイプのフード(総合栄養食)を 28 週間給与した。頭部、頸部、背部、腹部および尾部の被毛をはさみで採取し、被毛中 Hg 濃度を測定した。動物試験は北山ラベス株式会社 動物福祉委員会の承認の下で行った。

第 2 試験では、動物病院に来院し、飼育者の同意が得られたネコ 38 頭を供試した。これらのネコは、ワクチン接種、避妊、去勢の目的で来院し、いずれのネコも臨床症状は見られなかった。これらのネコの性、毛色、月齢、体重を調査するとともに、被毛を背部から動物福祉に十分配慮して採取し、被毛中 Hg 濃度を測定した。

第 3 試験では、第 1 試験で供試した 5 頭を含む、1.5～2.6 歳のネコ 20 頭(オス:8 頭、メス:12 頭)を用いた。第 1 試験で給与したウェットタイプのフード(n = 10)、あるいは、表 3-1 に示す、ミートミール、フィッシュミールを主体とするドライタイプのフード(総合栄養食、n = 10)を 28 週間、ME が要求量を満たすように制限給与した。被毛は背部から採取し、被毛中 Hg 濃度を測定した。動物試験は北山ラベス株式会社 動物福祉委員会の承認の下で行った。

第 4 試験では、第 3 試験で供試したネコの内、ウェットタイプのフードを給与されていたネコ 10 頭を用いた。これらのネコに、第 3 試験で給与したドライタイプのフードを 21 ヶ月間給与し、給与開始後 2、3、4、5、6、7、8、9、11、13、15、17、19、21 ヶ月の被毛中 Hg 濃度を測定した。

分析

約 50 mg の被毛を、Hair Analysis Standardization Board の推奨する Cranton らの方法(1982)に従って洗浄した。すなわち、採取した被毛をアセト

ンおよび 0.01% Triton-X100 で 2 回ずつ超音波洗浄した。洗浄した被毛をデシケーター内で、2 日間乾燥させた。乾燥後の被毛の重量を精秤した後、テフロン容器に移し、濃 HNO_3 を 8 mL、 H_2O_2 を 2 mL および測定の際の Hg のメモリー効果を除くため Au を 50 ng 加え、マイクロウェーブ分解装置を用いて密閉状態で高圧灰化した。分解物を純水で 50 mL に希釈して、ICP-MS を用いて Hg 濃度を定量測定した。フード中 Hg 濃度も第 2 章と同様の方法で、マイクロウェーブ分解装置による灰化後に、ICP-MS を用い定量測定した。

統計処理

データは現物あたりの濃度(平均値 \pm 標準偏差)で示した。第 1 試験では、採取部位による被毛中 Hg 濃度の差を、対応のある Student's *t*-test によって検定した。第 2 試験では、毛色については単一色のネコのみを対象とし、白色および有色に区分し、毛色および性による被毛中 Hg 濃度の差を対応のない Student's *t*-test によって検定した。すべてのデータが得られている個体数が少なかったため、毛色と性の効果を考慮した重回帰分析ではなく、被毛中 Hg 濃度に対する月齢および体重の単回帰分析を行った。第 3 試験では、ウェットタイプのフードを給与した群とドライタイプのフードを給与した群の被毛中 Hg 濃度の差を対応のない Student's *t*-test によって検定した。第 4 試験では、Hg 含量の高いウェットタイプのフードから、Hg 含量の少ないドライタイプのフードに変更し、21 ヶ月後のネコの被毛中 Hg 濃度と、第 3 試験において Hg 含量が少ないドライタイプのフードを摂取し続けたネコの被毛中 Hg 濃度の差を、対応のない Student's *t*-test によって検定した。 $p < 0.05$ を統計的に有意な差とみなした。

Hg 含量の高いフードから少ないフードに切り替えた後の被毛中 Hg 濃度の経時変化から、下の回帰式を SAS の NLIN procedure を用いて得て、この式

からネコ被毛中 Hg 濃度の半減期を算出した。

$$y = x_0 + x_1 \times e^{x_2 t}$$

t は試験期間(月)、 x_0 はドライタイプのフード食のネコ被毛中 Hg 濃度、 x_1 はフード切り替え直前の被毛中 Hg 濃度、 x_2 は被毛中 Hg 濃度の減少速度、y は被毛中 Hg 濃度をそれぞれ示す。

結果および考察

ヒトの頭髮中 Hg 濃度測定の日内 CV は 1.9%、日間 CV は 3.0%、回収率は 103.2%であった。また、本試験の分析条件における Hg の測定下限は、88 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。以上の結果から、本法により高精度で被毛中 Hg 濃度を分析できることが示唆された。

本試験で供試されたネコは、いずれも外見上 Hg 中毒が疑われる異常所見は示していなかった。

第 1 試験として、ネコの被毛全体の平均的な Hg 濃度を把握するのに適切な被毛採取部位を決定することを目的とし、異なる部位の被毛中 Hg 濃度を比較した。頭部、頸部、背部、腹部および尾部の被毛中 Hg 濃度を表 3-2 に示す。本研究における Hg の測定下限は、88 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であったが、今回測定した被毛中 Hg 濃度は、全て定量可能な範囲内であった。腹部の被毛中 Hg 濃度は、尾部におけるそれと比較して有意に高い値 ($p < 0.05$) を示したものの、その他の部位間には有意差はなかった。合計 25 例の Hg 濃度の平均値は 38.2 mg/kg であり、背部および頸部の被毛が、平均に近い Hg 濃度を示した。このうち背部の被毛の方が頸部被毛よりも容易に採取できることから、被毛中 Hg 濃度の検討には、背部の被毛を用いることとした。

第 2 試験において、毛色および性による被毛中 Hg 濃度の差は認められな

かった(表 3-3)。また、被毛中 Hg 濃度に対する月齢および体重の有意な回帰は認められなかった(図 3-1)。

第 3 試験で給与したドライタイプおよびウェットタイプのフードの Hg 濃度はそれぞれ 0.04 mg/kg DM あるいは 1.73 mg/kg DM であった。これらを水分含量が 12%となるように補正した濃度は、0.035 mg/kg あるいは 1.522 mg/kg であり、ウェットタイプのフードの Hg 濃度は EU の設定した基準値(0.3 mg/kg 水分含量 12%補正現物)[European Commission,2010]を上回っていた。表 3-4 に示す通り、1 日あたりの ME 摂取量には、群間でほとんど違いはなかったが、Hg 摂取量は、ドライタイプのフード群で 3 µg/d であったのに対して、ウェットタイプのフード群では 143~180 µg/d と 40 倍以上の違いがあった。ドライタイプのフード群の被毛中 Hg 濃度は 2.6 ± 0.7 mg/kg であったのに対し、ウェットタイプのフード群のそれは 37.2 ± 4.9 mg/kg であった($p < 0.01$)。以上の結果はネコにおける被毛中 Hg 濃度が、フード由来の Hg 過剰摂取に影響を受けることを示唆するものであると考えられた。ヒトでは、毛髪中 Hg 濃度は Hg 摂取量を反映していることが示唆されているが[Corridan,1974]、これは本研究の結果を支持するものである。

第 4 試験において、Hg 含量の高いウェットタイプのフードを 28 週間給与後、Hg 含量の低いドライタイプのフードを給与されたネコの被毛中 Hg 濃度の経時変化を図 3-2 に示す。それぞれのネコについて半減期を算出した結果、ネコの被毛中 Hg 濃度の半減期は 6.4 ± 1.6 ヶ月であった。これはヒトにおける毛髪中 Hg 濃度の半減期(64 日)[Yaginuma-Sakurai ら,2012]と比較して長い。ヒト以外の動物種の被毛中 Hg 濃度の半減期について検討した報告は少なく、Willes ら(1977)は、 ^{203}Hg をネコに給与し、体内の放射活性を 156 日間測定した結果、ネコ体内の Hg の半減期は、被毛を含めた場合では 117 日であるのに対して、被毛を除いた場合には 76 日であることを明らかにしている。被毛自

体の半減期については明らかにされていないが、ネコ被毛中 Hg 濃度の半減期はヒト毛髪と比較して著しく長いことは明らかである。

マグロやカツオといった大型海産魚類を原材料に使ったウェットタイプのネコ用フードは長年製造されているものの現在までに明瞭な健康被害は知られていない。しかし、潜在的な Hg 中毒を指摘した報告もある[Hauptら,1988]。ネコを含めた伴侶動物では、毎日同じ内容の食餌を与えられている場合も多く、給与されるフードによってはヒトよりも Hg の過剰摂取に陥る可能性が高いと考えられる。第 3 試験の結果から、ネコの被毛中 Hg 濃度を測定することで、ネコの Hg 過剰摂取を簡便かつ非侵襲的に把握できる可能性が示唆された。一方、第 4 試験では、Hg 含量が高いフードを 28 週間給与されたネコでは、その後に、Hg 含量が少ないフードを 21 ヶ月間給与した場合に、被毛中 Hg 濃度は 10 % 程度 ($4.3 \pm 1.5 \text{ mg/kg}$) にまで減少するものの、先に示した第 3 試験で Hg 含量が少ないフードを摂取し続けたネコの被毛中 Hg 濃度 ($2.6 \pm 0.7 \text{ mg/kg}$) と比較して依然として有意な高値 ($p < 0.05$) であった。本試験では、Hg 含量の高いフードを給与開始後、経時的に被毛中 Hg 濃度の増加を検討しなかったため、摂取から被毛への蓄積までに要する期間は明らかでないが、被毛中 Hg 濃度は Hg 過剰摂取の即時的な指標とはなり得ないかもしれない。Willes ら (1977) は、 ^{203}Hg の血中から被毛中への移行は、 ^{203}Hg 給与後 28 日後から生じることを報告している。ヒトでは、血中から毛髪中への Hg の移行は 21 日と報告されており[Yaginuma-Sakurai ら,2012]、ネコと比較して短い。ネコとヒトとでは、被毛中あるいは毛髪中の Hg 代謝には差があるかもしれない。

本研究において、ネコ被毛の適切な採取部位および被毛中 Hg 濃度の測定方法を確立した。続いて、背部の被毛を用いてネコ被毛中 Hg 濃度とフードに含まれる Hg 濃度の関係を明らかにした。ヒトでは毛髪中 Hg 濃度が、Hg 摂取量の指標としてだけでなく、Hg 中毒の指標としても用いられていること

[Corridan,1974]から、ネコにおいても被毛中 Hg 濃度は、Hg 過剰摂取を検出する有用な指標となり得ることが示された。

表 3-1. 供試フードの成分 ¹

	ドライタイプ	ウェットタイプ
現物あたり		
DM 含量(g)	92	26
DM あたり		
ME(kcal)	402	307
粗タンパク質(g)	32.6	65.3
粗脂肪(g)	12.0	8.5

¹ データは 100 g あたりの成分で示した

表 3-2. 採取部位の相違がネコ被毛中 Hg 濃度に及ぼす影響(mg/kg)¹

	採取部位				
	頭部 ²	頸部 ²	背部 ²	腹部 ²	尾部 ²
被毛中 Hg 濃度	42.2 ± 10.2 ^{ab}	39.0 ± 8.5 ^{ab}	39.1 ± 7.0 ^{ab}	42.2 ± 6.8 ^a	30.0 ± 13.3 ^b

¹ データは平均値 ± 標準偏差で示した

² n = 5

a、b 異なる文字間で有意差あり(p<0.05)

表 3-3. 健常ネコの毛色および性と被毛中 Hg 濃度の関係 (mg/kg)¹

被毛中 Hg 濃度		
毛色		
有色 ³	2.2 ± 1.1	(0.2 - 4.0) ²
白色 ⁴	1.8 ± 1.5	(ND - 5.8)
性		
雄 ⁵	1.6 ± 1.6	(ND - 5.8)
雌 ⁶	1.7 ± 1.6	(ND - 6.4)

¹ データは平均値 ± 標準偏差で示した

² 範囲を示した

³ n = 11

⁴ n = 9

⁵ 去勢雄を含む、n = 21

⁶ 避妊雌を含む、n = 16

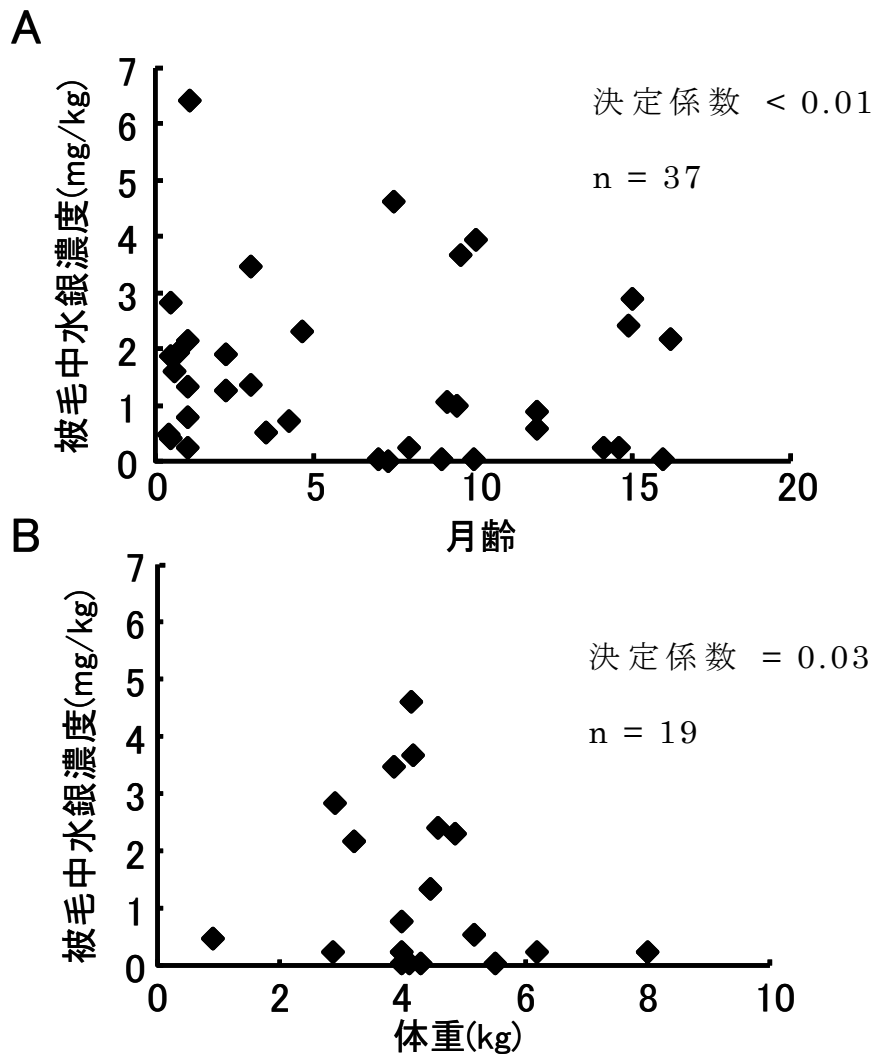


図 3-1. 健常ネコの被毛中 Hg 濃度と月齢(A)および体重(B)の関係

表 3-4. ドライタイプのフードおよびウェットタイプのフードの 1 日 1 頭あたり摂取量および、各フード給与群のネコ背部被毛中 Hg 濃度

	ドライタイプ	ウェットタイプ
1 日あたり摂取量		
フード(g 現物あたり)	80	320 ~ 400
フード(g DM)	74	83 ~ 104
ME(kcal)	297	255 ~ 319
Hg(μg)	3	143 ~ 180
Hg($\mu\text{g}/\text{kcal ME}$)	0.01	0.56
被毛中 Hg 濃度(mg/kg) ¹	2.6 \pm 0.7	37.2 \pm 4.9**
	(1.5 - 3.7) ²	(28.1 - 43.8)

¹ データは平均値 \pm 標準偏差で示した

² 範囲を示した

**ドライタイプのフード群とウェットタイプのフード群との間に有意差あり
($p < 0.01$)

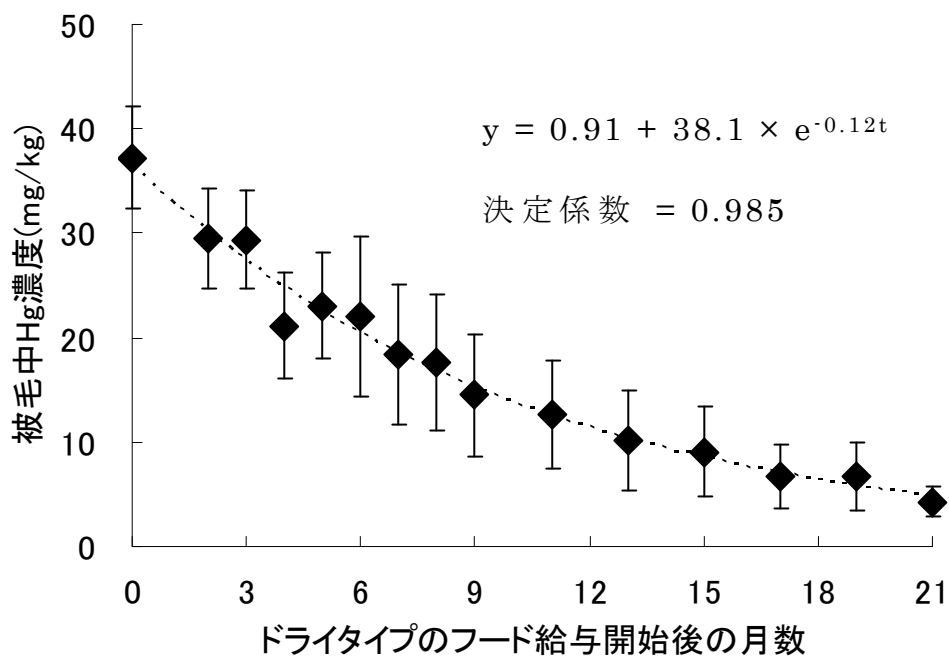


図 3-2. ネコの被毛中 Hg 濃度の経時変化¹

¹ Hg 含量の高いウェットタイプのフードを 28 週間給与後、Hg 含量の少ないドライタイプのフードに切り替えた

データは平均値 ± 標準偏差で示した、n = 10

t は試験期間(月)、y は被毛中 Hg 濃度をそれぞれ示した

第 4 章

第 1 節 各種疾病ネコにおける被毛中 Hg 濃度の検討

第 2 章第 1 節で示した通り、マグロ、カツオを主体とするウェットタイプのフード中 Hg 濃度は高い。通常飼育されているネコが、大型海産魚類を主原料としたウェットタイプのフード給与により Hg 中毒となった報告例は日本国内では未だないものの、ネコなどの伴侶動物では、毎日同じフードを摂取する場合も多く、特定の物質を過剰摂取する恐れがある。したがって、ウェットタイプのフード常食による Hg 過剰摂取も懸念される。実際、マグロを主原料としたウェットタイプのキャットフードを 188 日間連続給与されたネコは、Hg 中毒に類似した精神神経系疾患を示したという報告もある[Hauptら,1988]。また、厚生労働省(2010)は胎児への Hg 暴露の危険性から、妊娠しているまたは妊娠する可能性のあるヒトに対し、魚介類摂取の目安量(クロマグロでは 80 g/週)を公表している。以上のことから、現在まで原因不明であった疾病が Hg 過剰摂取に起因していた可能性は否定できない。

Hg 中毒の症状として、精神神経系疾患が知られており、実験的に Hg を過剰摂取させたネコでは、立ち直り反射障害、歩行障害、異常行動が報告されている[Charboneau ら,1976、山下ら,1964]。また、ヒトにおいては、精神神経系疾患以外にも、Hg 暴露による心拍の異常[Choi ら,2009]や心筋梗塞リスクの増加が報告され[Guallar ら,2002]、高濃度の Hg を含む大型海産魚類を長期間多量に摂取し続けることで、ヒトにおいて交感神経迷走神経インバランスを含む循環器系疾患の潜在的リスクが高まる可能性も指摘されている[村田ら,2011]。また、魚を多く摂取する子供では血中 Hg 濃度が高く、全血中 Hg 濃度と血漿中炎症マーカーとの間に相関があることも報告されている[Gump

ら,2012]。さらに、上述の Houpt らの試験(1988)において一頭のネコが心筋症により死亡している。

第 3 章では、Hg 濃度の高いフードを給与したネコでは被毛中 Hg 濃度が著しく上昇することを明らかにした。この結果から、ネコの被毛中 Hg 濃度は Hg 過剰摂取を反映し、非侵襲的に Hg 過剰摂取を判断するための有用な指標であると考えられる。本節では、各種疾病に罹患したネコと健常ネコにおける被毛中 Hg 濃度を比較することにより、特定の疾病が Hg 過剰摂取に起因する可能性について検討した。

材料および方法

供試動物

動物病院に来院し、飼育者の同意がえられたネコ 110 頭を供試した。この内、38 頭は、第 3 章の第 2 試験で供試したネコであり、ワクチン接種、避妊、去勢の目的で来院し、臨床症状が見られなかったことから、これらを健常ネコとした。疾病があると診断されたネコは 72 頭であった。診断された疾病を表 4-1-1 に示す。

被毛は背部から動物福祉に十分配慮して採取した。

分析

採取した被毛中の Hg 濃度は、第 3 章と同様の方法を用いて測定した。健常ネコにおける被毛中 Hg 濃度の平均値 + $1.96 \times$ 標準偏差を算出し、本試験における暫定参照値上限とした。被毛中 Hg 濃度が測定下限を下回っていたサンプルについては、測定下限の半分の値($44 \mu\text{g}/\text{kg}$)として計算を行った。

統計処理

データは現物あたりの濃度(平均値 ± 標準偏差)で示した。特定の疾病に罹患した複数のネコにおける被毛中 Hg 濃度が暫定参照値上限を上回った場合には、暫定参照値上限を上回る被毛中 Hg 濃度を危険因子、疾病発症をアウトカムとしオッズ比を算出した。

結果および考察

健常ネコの被毛中 Hg 濃度は 1.7 ± 1.6 mg/kg、ND - 6.4 mg/kg の範囲であり(図 4-1-1)、暫定参照値上限は 4.8 mg/kg であった。

治療目的で来院したネコの被毛中 Hg 濃度は ND - 17.5 mg/kg の範囲であり(図 4-1-1)、その内 8 頭の被毛中 Hg 濃度は、暫定参照値上限を上回っていた。これらのネコの疾病は、口内炎 2 頭、皮膚炎 1 頭、慢性腎不全による脱水症状 1 頭、ネコウイルス性鼻気管炎 1 頭、ネコ免疫不全ウイルス感染症 1 頭、嘔吐 1 頭および失神発作 1 頭であった。ヒトやネコでの Hg 中毒症状である精神神経系疾患[Charboneau ら,1976、山下ら,1964]およびヒトでの症状として報告されている循環器系疾患[Choi ら,2009、Guallar ら,2002]を示すネコが、それぞれ 3 頭(興奮 1 頭、癩癩 2 頭)および 4 頭(不整脈 2 頭、心筋症 2 頭)認められたが、いずれも被毛中 Hg 濃度の暫定参照値上限を下回っていた。本試験では、被毛中 Hg 濃度が暫定参照値上限を上回り、失神発作を呈したネコ 1 頭がいた。失神発作では、その病因が明らかでないことから、精神神経系疾患、循環器系疾患には分類しなかったが、失神の原因疾患には、神経原性失神、心原性失神も存在する[Kulakowski,2012]。また、実験的にネコに Hg を過剰摂取させた Charbonneau らの試験(1976)では、ネコの失神は

報告されていないが、振戦、痙攣など、失神発作に類似した症状が報告されている。したがって、本試験で被毛中 Hg 濃度が暫定参照値上限を上回った失神発作のネコについては、Hg 過剰摂取との関連も否定できない。

口内炎症状を示したネコ 4 頭の内、2 頭が暫定参照値上限を大きく上回っており(図 4-1-1)、オッズ比は 12.3(95%信頼区間、1.5 - 98.9)であった。したがって、本試験において、被毛中 Hg 濃度の高かったネコにおける口内炎発症の原因が Hg の過剰摂取である可能性は否定できない。現在まで、実験的に Hg を過剰摂取させたネコにおいて、明確に口内炎の発症を報告している論文は見当たらない。ヒトでは、歯の治療に用いられているアマルガムからの無機 Hg 暴露による口内炎発症が報告されている[Traub ら,1938]。一方、アマルガムによる口内炎発症は、Hg やその他のアマルガム構成成分によるアレルギーを有する少数のヒトに限定されることも示唆されている[Eley ら,1988]。なお、本試験で認められた口内炎を発症しているネコは、アマルガムによる歯科治療は行われていなかった。

被毛中 Hg 濃度の参照値や被毛中 Hg 濃度と各種疾患との関連を正確に明らかにするには、本試験での供試動物数は十分とはいえないが、本試験の結果から、ネコにおいて、一部の口内炎症状が Hg 過剰摂取に起因する可能性が明らかになった。

表 4-1-1. 治療目的で来院したネコの診断結果¹

疾病	頭数	疾病	頭数
外傷	5	精神神経系疾患	3
		癩癩	2
消化器系疾患	11	興奮	1
消化障害	4 ²		
ネコ伝染性腹膜炎	3 ^{3,4}	眼科系疾患	2
肝臓疾患	2	緑内障	2
嘔吐	1		
ガン性腹膜炎	1	耳鼻咽喉科系疾患	4
		口内炎	4
循環器系疾患	4		
心筋症	2 ⁵	皮膚系疾患	4
不整脈	2	皮膚炎	3
		アレルギー	1
呼吸器系疾患	3		
呼吸器感染症	1	その他	14
呼吸不全	1	ネコ免疫不全ウイルス感染症	4 ^{4,6,7}
ネコウイルス性鼻気管炎	1	貧血	3 ²
		脱水症状	1
腎泌尿器系疾患	24	乳ガン	1
腎不全	18 ^{5,6}	乳頭状腺ガン	1
膀胱炎	3	ネコ白血病ウイルス感染症	1 ⁷
尿道閉塞	2	肛門嚢処置	1
血尿	1	発熱	1
		失神発作	1
代謝・内分泌系疾患	3	老衰	1
糖尿病	1		
副腎皮質機能亢進症	1 ³		
甲状腺機能亢進症	1		

¹ n = 72

²⁻⁷ 同じ肩数字は、合併症の個体を示した

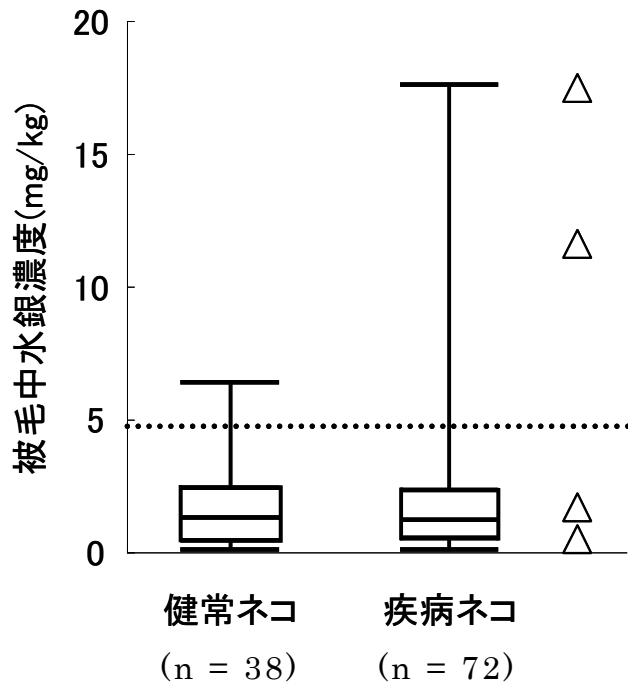


図 4-1-1. 健康ネコおよび疾病ネコの被毛中 Hg 濃度¹

¹ 図中のバーは Hg 濃度の最大値と最小値、ボックスは 75 パーセンタイル値と 25 パーセンタイル値、ボックス中の線は中央値、点線は暫定参照値上限を示した

△は口内炎のネコの値を示した

第 2 節 各種疾病ネコにおける被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd および Pb 濃度の検討

第 4 章第 1 節では、Hg のみに注目したが、Hg 以外の重金属類に関しても Mn、Cu、Zn、As、Mo、Cd および Pb については中毒リスクが高いとされている。これら重金属類の中で、NRC(2006)および AAFCO(2011)は Zn について維持期のネコにおける安全上限あるいは最大量を記載し、また、ペットフード安全法では As、Cd および Pb について規制値を設定している[農林水産省・環境省,2011]。しかし、ネコにおけるこれら重金属類の毒性研究は少なく、摂取量や中毒量などについても不明な部分が多い。日本国内では、ネコにおける、市販フード由来の重金属類過剰摂取については報告されていないが、Hg 同様に現在まで原因不明であった疾病がこれら重金属類の過剰摂取に起因していた可能性は否定できない。特に Pb については、第 2 章第 1 節で示した通り、ペットフード中に突発的に高濃度で混入する危険性があり、中毒をもたらす危険性が懸念される。

ネコにおいて、これら重金属類の被毛中濃度を測定した報告はほとんど無く、ネコの被毛におけるこれら重金属類の代謝は明らかではない。一方、ヒト、イヌ、ラット、ウシ等では毛髪中あるいは被毛中濃度がその摂取量と相関があることが、Cu[Cunningham ら,1958]、Zn[Combs ら,1983]、As[Neiger ら,1992]、Cd[Petering ら,1973]および Pb[Rabinowitz ら,1976]について示されている。したがって、ネコにおいても Hg 同様に、これら重金属類の過剰摂取が被毛中濃度に反映される可能性が考えられる。第 3 章で記したとおり、ICP-MS を用いた生物材料の元素分析においては、生物材料の持つ複雑なマトリックスに由来する干渉の問題も存在することが指摘されている[上本,2003]。したがって本節では、最初に、予備的検討として、ヒトの頭髮の認証標準物質を用いて分析

精度の妥当性確認を行い、測定可能であった重金属類について、Hg 同様に健常ネコと疾病ネコにおける被毛中濃度の差について比較検討を行った。

材料および方法

分析精度の妥当性確認

第 3 章と同様に、認証標準物質としてヒト頭髪を用いて、Mn、Cu、Zn、As、Mo、Cd および Pb の 7 元素の被毛中濃度について分析値の確認を行った。日内変動および日間変動を検討するため、標準物質を用い 3 回ずつ、3 日間繰り返して試料を調製し、各元素濃度を測定した。測定値の変動は CV で示した。測定下限は、14% HNO₃ に含まれる各元素濃度を 10 回繰り返して測定し、その平均値に 10 倍した標準偏差を加えた値とした。

供試動物

第 4 章第 1 節で供試したネコ 110 頭から採取した被毛を本節でも用いた。

分析

採取した被毛中の Mn、Cu、Zn、Mo、Cd および Pb 濃度は、Hg と同様の方法を用いて ICP-MS により定量測定した。第 1 節同様に、健常ネコにおける被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd および Pb 濃度の平均値 + 1.96 × 標準偏差を算出し、本試験における暫定参照値上限とした。被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd および Pb 濃度が測定下限を下回っていたサンプルについては、測定下限の半分の値として計算を行った。

統計処理

データは現物あたりの濃度(平均値 ± 標準偏差)で示した。第 1 節同様に、特定の疾病に罹患した複数のネコにおける被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd、Pb 濃度が暫定参照値上限を上回った場合には、暫定参照値上限を上回る被毛中重金属類濃度を危険因子、疾病発症をアウトカムとしオッズ比を算出した。

結果および考察

ヒトの頭髮中重金属類濃度について、分析精度の妥当性確認試験の結果を表 4-2-1 に示す。頭髮中濃度が測定下限以下であった As を除いて高精度で分析できることが明らかになった(表 4-2-1)。本試験の手法は、ICP-MS 以外の特殊な機器を必要としない簡便な方法であり、同一の前処理で多元素分析が可能であることから、Hg 以外の重金属類汚染に関するモニタリングにも有用であると考えられる。

本法がネコの被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd、Pb 濃度を分析するのに有用であることが示唆されたことから、以下ネコの被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd、Pb 濃度と各種疾患の関係を検討した。

健常ネコおよび疾病ネコにおける被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd および Pb 濃度、ならびに算出された暫定参照値上限を表 4-2-2 に示す。また、暫定参照値上限を上回ったネコの疾病について表 4-2-3 に示す。Mo、Cd については、すべての疾病ネコで、被毛中濃度が暫定参照値上限以下であった。Mn、Cu および Zn については、被毛中濃度が暫定参照値上限を上回るネコが数頭認められたが、特定の疾病により、複数のネコで被毛中濃度が暫定参照値上限を上回ることはなかった。一方、Pb については、7 頭の被毛中 Pb 濃度が暫定参照値上限を上回っていた。貧血症状を示したネコ 3 頭の内、2 頭が暫定参照値上限を上回っており(表 4-2-3)、オッズ比は 40.8(95%信頼区間、3.1 -

529.3)であった。また、腎不全を示したネコ 18 頭の内、3 頭が暫定参照値上限を上回っていたが(表 4-2-3)、オッズ比は 4.4(95%信頼区間、0.9 - 21.7)であった。ネコの被毛における Pb 代謝は明らかではないが、ヒト[Rabinowitzら,1976]、ウシ[Dornら,1974]では、環境中 Pb濃度が被毛中濃度に反映されることが報告されており、またウサギにおいても、摂取した²¹⁰Pbが被毛に蓄積することが報告されている[Jaworowskiら,1966]。ヒトでは、Pb中毒の典型症状として、ヘム合成に関連する酵素活性を阻害することでの溶血性貧血が報告されていること[Lubran,1980、Koppら,1988]から、本試験において、被毛中 Pb濃度の高かったネコにおける貧血の原因が Pbの過剰摂取である可能性も懸念される。第2章第1節で示した通り、Pbは、ペットフードに突発的に高濃度で混入する危険性があり、Pbが混入したフードを摂取したことによる Pb中毒発症の可能性について検討が必要かもしれない。

また、第4章第1節において、被毛中 Hg濃度が暫定参照値上限を上回った8頭のネコについては、被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd および Pb濃度はいずれも暫定参照値上限以下であった。したがって、第4章第1節において、被毛中 Hg濃度の高かったネコの疾病については、本節で検討をおこなった重金属類は強くは影響していないと考えられる。

表 4-2-1. ヒト頭髪中重金属類濃度の変動係数(CV)、回収率および検出下限

元素	日内 CV(%)	日間 CV(%)	回収率 (%)	検出下限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Mn	8.4	5.9	80.5	9
Cu	2.0	3.4	89.4	11
Zn	5.0	5.6	108.4	848
As	12.7	14.7	74.5	124
Mo	3.5	4.1	97.5	71
Cd	2.6	4.5	97.0	21
Pb	7.1	6.2	110.5	44

表 4-2-2. 健常ネコおよび疾病ネコの被毛中重金属類濃度(mg/kg)¹

	元素					
	Mn	Cu	Zn	Mo	Cd	Pb
健常ネコ ²						
被毛中濃度	2.53 ± 1.91 (0.2 - 10.1) ³	10.3 ± 1.6 (8.3 - 14.9)	168 ± 23 (129 - 245)	0.56 ± 0.74 (ND ⁴ - 2.98)	0.01 ± 0.01 (ND - 0.09)	0.25 ± 0.34 (ND - 1.47)
検出下限	0.009	0.011	0.848	0.07	0.02	0.04
暫定参照値上限	6.3	13.4	213	2.00	0.03	0.92
疾病ネコ ⁵						
被毛中濃度	1.49 ± 1.73 (ND - 7.60)	10.4 ± 3.6 (7.7 - 34.6)	165 ± 21 (129 - 231)	0.16 ± 0.23 (ND - 1.22)	0.01 ± 0.01 (ND - 0.04)	0.28 ± 0.63 (ND - 4.28)
暫定参照値上限を 上回った個体数	2	3	2	0	0	7

¹ データは平均値 ± 標準偏差で示した

² n = 38

³ 範囲を示した

⁴ 検出下限以下

⁵ n = 72

表 4-2-3. 暫定参照値上限を上回ったネコの疾病

個体数 ¹		疾病		
Mn	2	消化障害 (6.84) ²	外傷 ^a (7.60)	
Cu	3	肥大型心筋症 (22.8)	乳がん (34.6)	腎不全 (18.1)
Zn	2	ネコ伝染性腹膜炎 ^b (231)	外傷 ^a (215)	
Mo	0			
Cd	0			
Pb	7	消化障害・貧血 (1.36)	貧血 ^a (1.65)	腎不全 (4.28, 1.06, 1.34)
		ネコ伝染性腹膜炎 ^b (1.53)	呼吸不全 (19.5)	

¹ 暫定参照値上限を上回った個体数

² 被毛中重金属類濃度(mg/kg)を示した

a,b 同じ文字は同一個体を示した

第 5 章

総括

ペットフードでは、近年、安全性の高さが求められている。大型海産魚類は、ウェットタイプのキャットフードの原料として海外ではあまり利用されていないが、日本では多用されている。しかし、大型海産魚類には Hg などの有害重金属類が高濃度で蓄積する可能性があり、大型海産魚類を主原料とするウェットタイプのキャットフードを長期間摂取したネコでは、重金属類を過剰摂取する危険性があると考えられる。現在まで、キャットフード中の重金属類濃度を測定した報告は少ない。本論文では、国内で市販されているキャットフード中の重金属類濃度を調査するとともに、これらフードの常食による健康被害の可能性について検討した。

第 2 章第 1 節では、30 ブランドのウェットタイプの市販ネコ用フードと、40 ブランドのドライタイプの市販ネコ用フードおよび 5 ブランドの市販ヒト用ツナ缶詰中の重金属類(Hg、As、Cd および Pb)濃度を ICP-MS を用いて定量測定した。大型海産魚類を主原料とするウェットタイプのフードは、ビーフを主原料とするウェットタイプのフードおよびドライタイプのフードと比べ Hg および As 濃度が著しく高く、また、Cd 濃度はウェットタイプのネコ用フードの方がヒト用ツナ缶詰よりも有意に高いことを示した。ウェットタイプのネコ用フードについて、EU が定めた重金属類濃度に対する基準値と比較したところ、13 ブランドの総合栄養食の内、As、Hg に関してそれぞれ 9 ブランド、1 ブランドが基準値を上回り、17 ブランドの栄養補完食では、As、Hg に関してそれぞれ 13 ブランド、7 ブランドが基準値を上回ることを示した。また、ペットフード安全法における日本国内での重金属類基準値を上回ったフードは、Pb に関してのみ 1 ブランドあり、一方、

全てのドライタイプのネコ用フードで、いずれの基準値も下回っていた。

第 2 節では、ICP-MS の半定量測定モードを用いて、20 ブランドの市販キャットフード(ドライタイプのフード:10 ブランド、ウェットタイプのフード:10 ブランド)の有害金属類の同時分析を試みた。健康被害リスクがあるとされる元素の内、Li・B・Al・Ti・V・Cr・Mn・Fe・Co・Ni・Cu・Zn・Ge・As・Se・Rb・Sr・Mo・Ag・Cd・Sn・Sb・Ba・W・Hg・Pb・Bi の 27 元素を対象に、添加回収率、CV、また、定量測定値との回帰を検討したところ、Li・Al・V・Mn・Co・Cu・As・Se・Rb・Sr・Mo・Cd・Sn・Hg・Pb の 15 元素で、ドライタイプのフード、ウェットタイプのフードともに、添加回収率が 70%~120%、CV が 10%以下であり、定量分析値に対する強い回帰(決定係数 > 0.9)が認められた。また、B・Ti・Fe・Zn・Sb・Ba の 6 元素は、添加回収率の問題があるものの、定量分析値に対する強い回帰が認められた。Cr・Ni・Ge の 3 元素は、定量性は低い、あるいはキャットフードからはほとんど検出されなかったが、NRC(2005)の定める、げっ歯類における最大耐容量を添加したところ、添加回収率は 82~120%であり、検出可能であることを示した。以上の結果から、ICP-MS を用いた半定量分析は、健康被害リスクのある、幅広い元素について対応可能であり、多様な有害金属類によるペットフード汚染を防止する上で有効なスクリーニング手法となりうる可能性が示された。

第 3 章では、ICP-MS の定量モードによるネコ被毛中 Hg 濃度測定を検討した。認証標準物質であるヒト頭髪を用いた結果、日内 CV は 1.9%、日間 CV は 3.0%、回収率は 103%、測定下限は 0.088 mg/kg であり、高精度で定量可能であることを示した。また、ネコ 5 頭の頭部、頸部、背部、腹部および尾部の被毛中 Hg 濃度を測定した結果、Hg 濃度は背部が全体の平均値に最も近い値であることを示した。ついで、20 頭のネコにウェットタイプのフード(Hg 含量 1.73 mg/kg DM)あるいは、ドライタイプのフード(Hg 含量 0.04 mg/kg DM)を

28週間給与し、背部の被毛中 Hg 濃度を測定した結果、ウェットタイプのフードを給与されたネコの被毛中 Hg 濃度はドライタイプのフードを給与されたネコより有意に高かった($p < 0.01$)。ウェットタイプのフードを給与されていたネコについて、給与フードをドライタイプのフードに変更し、被毛中 Hg 濃度の経時変化を検討した結果、被毛中 Hg 濃度の半減期は 6.4 ± 1.6 ヶ月であることを示した。本章の結果、ネコの被毛中 Hg 濃度は Hg の過剰摂取を反映することが示された。

第 4 章第 1 節では、ネコにおける被毛中 Hg 濃度と各種疾病の関係の検討として、動物病院に来院した健常ネコと疾病ネコの被毛中 Hg 濃度を測定した。健常ネコの被毛中 Hg 濃度から暫定参照値上限を算出し、各種疾病のネコにおける被毛中 Hg 濃度との比較を行った結果、口内炎と診断されたネコ 4 頭の内、2 頭が暫定参照値上限を大きく上回っており(オッズ比 12.3、95%信頼区間 1.5 - 98.9)、ネコにおける口内炎の一部が Hg 過剰摂取と関連する可能性が示された。

第 2 節では、ネコにおける被毛中 Mn、Cu、Zn、Mo、Cd および Pb 濃度と各種疾病の関係について、第 1 節同様に検討を行った。Mn、Cu、Zn、Mo および Cd については、特定の疾病により、複数のネコで被毛中濃度が暫定参照値上限を上回ることはなかったものの、Pb において、貧血と診断されたネコ 3 頭の内、2 頭が暫定参照値上限を上回っており(オッズ比 40.8、95%信頼区間 3.1 - 529.3)、ネコにおける貧血の一部が Pb 過剰摂取と関連する可能性が示された。

謝辞

本研究を行うにあたり、直接御指導、御助言いただき、勉強不足の私に初歩的なことから丁寧に教えてくださった松井徹教授、舟場正幸准教授に心から感謝いたします。また、本研究に賛同していただき、ネコ被毛のサンプリングを行っていただきました岩田動物病院 岩田法親先生、菱山動物病院 菱山信也先生および北山ラベス株式会社の職員の皆様に厚く御礼申し上げます。

動物栄養科学研究室の全スタッフのおかげで楽しい日々を送ることができ、6年間という長い期間でしたが、瞬く間に過ぎていったように感じます。その間に多くの先生、先輩方、同僚、後輩達から支えられ、この論文を書き上げることができ、心からお礼申し上げます。

この研究室で学んだことを今後も生かしたいと思えます。ありがとうございました。

引用文献

AAFCO. 2011. 2011 Official Publication pp146-155.

阿部又信. 2008. 動物看護のための小動物栄養学. ファームプレス. 東京.

Andreani, G., S. Cottignoli, B. Perfetti, G. Kismali, E. Carpenè and G. Isani. 2010. Trace elements and metallothionein in liver and kidney of *Felis catus*. *Biol. Trace Elem. Res.*, 137: 177-189.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1999(a). Toxicological Profile for Cadmium. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, U.S.A.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1999(b). Toxicological Profile for Mercury. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, U.S.A.

ATSDR(Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2003. Zinc Online.
<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=302&tid=54>

Barry-Sterman, M., M. N. Shouse, M. D. Fairchild and O. Belsito. 1986. Kindled seizure induction alters and is altered by zinc absorption. *Brain Res.*, 383: 382-386.

Beauchamp, G. K., O. Maller and J. G. Rogers. 1977. Flavor preferences in cats (*Felis catus* and *Panthera* sp.). *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 91: 1118–1127.

Bernhoft, R. A. 2013. Cadmium toxicity and treatment. *ScientificWorldJournal.*, 3: 394652.

Boyer, C. I., Jr., E. J. Andrews, A. deLahunta, C. A. Bache, W. H. Gutenmann and D. J. Lisk. 1978. Accumulation of mercury and selenium in tissues of kittens fed commercial cat food. *Cornell. Vet.*, 68: 365-374.

Bremner, I. 1998. Manifestations of copper excess. *Am. J. Clin. Nutr.*, 67: 1069S-1073S.

Chang, L. 1996. *Toxicology of Metals*. CRC Lewis Publishers, Boca Raton. FL, U.S.A.

Charbonneau, S. M., I. C. Munro, E. A. Nera, F. A. J. Armstrong, R. F. Willes, F. Bryce and R. F. Nelson. 1976. Chronic toxicity of methylmercury in the adult cat. *Toxicology*, 5: 337-349.

Cheng, Y., J. Xue, C. Yao, L. Gao, D. Ma, Y. Liu and Z. Zhang. 2013(a). Resveratrol ameliorates the oxidative damage induced by

arsenic trioxide in the feline lung. *J. Vet. Med. Sci.*, 75: 1139-1146.

Cheng, Y., J. Xue, H. Jiang, M. Wang, L. Gao, D. Ma and Z. Zhang. 2013(b). Neuroprotective effect of resveratrol on arsenic trioxide-induced oxidative stress in feline brain. *Hum. Exp. Toxicol.*, Epub ahead of print.

Choi, A. L., P. Weihe, E. Budtz-Jørgensen, P. J. Jørgensen, J. T. Salonen, T. P. Tuomainen, K. Murata, H. P. Nielsen, M. S. Petersen, J. Askham and P. Grandjean. 2009. Methylmercury exposure and adverse cardiovascular effects in Faroese whaling men. *Environ. Health Perspect.*, 117: 367-372.

Combs, D. K., R. D. Goodrich and J. C. Meiske. 1983. Influence of dietary zinc or cadmium on hair and tissue mineral concentrations in rats and goats. *J. Anim. Sci.*, 56: 184-193.

Corridan, J. P. 1974. Head hair samples as indicators of environmental pollution. *Environ. Res.*, 8: 12-16.

Council of European Communities. Council Directive 79/373/EEC of 2 April 1979 on the marketing of compound feeding stuffs. *Off. J.*, L86, 2.

Cranton, E. M., J. S. Bland, A. Chatt, R. Krakovitz and J. V. Wright. 1982. Standardization and interpretation of human hair for elemental concentrations. *J. Holistic. Med.*, 4: 10-20.

Cunningham, I. J. and K. G. Hogan. 1958. The influence of diet on the copper and molybdenum contents of hair, hoof and wool. *N. Z. J. Agric. Res.*, 1:841.

Dorn, R. C., R. E. Phillips, J. O. Pierce, II and G. R. Chase. 1974. Cadmium, copper, lead and zinc in bovine hair in the new lead belt of Missouri. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 12: 626.

Drinker, K. R, P. K. Thompson and M. Marsh. 1927. An investigation of the effect of long-continued ingestion of zinc, in the form of zinc oxide, by cats and dogs, together with observations upon the excretion and storage of zinc. *Am. J. physiol.*, 80: 31-64.

Eaton, R. D., D. C. Secord and P. Hewitt. 1980. An experimental assessment of the toxic potential of mercury in ringed seal liver for adult laboratory cats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 55: 514-521.

Eley, B. M. and S. W. Cox. 1988. 'Mercury poisoning' from dental amalgam-an evaluation of the evidence. *J. Dent.*, 16: 90-95.

European Commission. 2010. Commission Directive 2010/6/EU of 9

February 2010 amending Annex I to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards mercury, free gossypol, nitrites and Mowrah, Bassia, Madhuca. Off. J. Eur. Union., L37, 29.

European Parliament and Council of European Union. 2002. Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of The Council of May 2002 on undesirable substances in animal feed. Off. J. Eur. Communities., L140, 8.

Falcó, G., J. M. Llobet, A. Bocio and J. L. Domingo. 2006. Daily intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by consumption of edible marine species. J. Agric. Food Chem., 54: 6106-6112.

Finch, N. C., H. M. Syme and J. Elliott. 2012. Association of urinary cadmium excretion with feline hypertension. Vet. Rec. 170: 125.

Fosmire, G. J. 1990. Zinc toxicity. Am. J. Clin. Nutr., 51: 225-227.

Fowler, B. A., R. C. Fay, R. L. Walter, R. D. Willis and W. F. Gutknecht. 1975. Levels of toxic metals in marine organisms collected from Southern California coastal waters. Environ. Health Perspect., 12: 71-76.

Gershoff, S. N., D. M. Hegsted and E. Lentini. 1956. The

development of palatability tests for cats. *Am. J. Vet. Res.*, 65: 733-737.

Greger, J. L. 1998. Dietary standards for manganese: overlap between nutritional and toxicological studies. *J. Nutr.*, 128: 368S-371S.

Guallar, E., M. I. Sanz-Gallardo, P. van't Veer, P. Bode, A. Aro, J. Gómez-Aracena, J. D. Kark, R. A. Riemersma, J. M. Martín-Moreno and F. J. Kok. 2002. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.*, 347: 1747-1754.

Gump, B. B., J. A. MacKenzie, A. K. Dumas, C. D. Palmer, P. J. Parsons, Z. M. Segu, Y. S. Mechref and K. G. Bendinskas. 2012. Fish consumption, low-level mercury, lipids, and inflammatory markers in children. *Environ. Res.*, 112: 204-211.

Hamada, T., A. Tanimoto, S. Iwai, H. Fujiwara and Y. Sasaguri. 1994. Cytopathological changes induced by cadmium-exposure in canine proximal tubular cells: a cytochemical and ultrastructural study. *Nephron*, 68: 104-111.

Hamir, A. N., N. D. Sullivan and P. D. Handson. 1984. Neuropathological lesions in experimental lead toxicosis of dogs. *J. Comp. Pathol.*, 94: 215-231.

Hill, E. F. and J. H. Soares, Jr. 1987. Oral and intramuscular toxicity of inorganic and organic mercury chloride to growing quail. *J. Toxicol. Environ. Health*, 20: 105-116.

Hoff, B., H. J. Boermans and J. D. Baird. 1998. Retrospective study of toxic metal analyses requested at a veterinary diagnostic toxicology laboratory in Ontario (1990-1995). *Can. Vet. J.*, 39: 39-43.

Hogan, K. G., D. F. L. Money and A. Blayney. 1968. The effect of a molybdate and sulphate supplement on the accumulation of copper in the livers of penned sheep. *N. Z. J. Agric. Res.*, 11: 435-444.

Hornfeldt, C. S. and T. E. Koepke. 1984. A case of suspected zinc toxicity in a dog. *Vet. Hum. Toxicol.*, 26: 214.

Haupt, K. A., L. A. Essick, E. B. Shaw, D. K. Alo, J. E. Gilmartin, W. H. Gutenmann, C. B. Littman and D. J. Lisk. 1988. A tuna fish diet influences cat behavior. *J. Toxicol. Environ. Health*, 24: 161-172.

Howell, J. M. and S. R. Gooneratne. 1978. The pathology of copper toxicity in animals. CRC Lewis Publishers, Boca Raton. FL,

U.S.A.

Jaworowski, Z., J. B. Bilkiewicz and W. Kostanecki. 1966. The uptake of ^{210}Pb by resting and growing hair. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.*, 11: 563.

JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). 2001. <http://www.codexalimentarius.net/web/jecfa.jsp>

Johnston, J. N. and G. P. Savage. 1991. Mercury consumption and toxicity with reference to fish and fish meal. *Nutr. Abstr. Rev. (Series A)*, 61: 74-116.

Kaise, T., Y. Horiguchi, S. Fukui, K. Shiomi, M. Chino and T. Kikuchi. 1992. Acute toxicity and metabolism of arsenocholine in mice. *Organomet. Chem.*, 6: 369-373.

Kaise, T., S. Watanabe and K. Itoh. 1985. The acute toxicity of arsenobetaine. *Chemosphere*, 14: 1327-1332.

Kaise, T., H. Yamauchi, Y. Horiguchi, T. Tani, S. Watanabe, T. Hirayama and S. Fukui. 1989. A comparative study on acute toxicity of methylarsonic acid, dimethylarsinic acid and trimethylene arsenic oxide in mice. *Organomet. Chem.*, 3: 273-277.

Kim, K. H., N. Ishizaki, E. Iguchi, M. Funaba and T. Matsui. 2011. Effect of magnesium deficiency on various mineral concentrations in rat liver. *Biol. Trace Elem. Res.*, 144: 865-871.

Kitchin, K. T. 2001. Recent advances in arsenic carcinogenesis: modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 172: 249-261.

Kopp, S. J., J. T. Barron and J. P. Tow. 1988. Cardiovascular actions of lead and relationship to hypertension: a review. *Environ. Health Perspect.*, 78: 91-99.

厚生労働省. 1947. 食品衛生法.

<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S22/S22HO233.html>

厚生労働省. 1997. 食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について(衛食第一一七号).

http://kouseikyoku.mhlw.go.jp/kantoshinetsu/gyomu/bu_ka/shokuhin/hourei/eishoku_no117.html

厚生労働省. 2010. 魚介類に含まれる水銀について.

<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/suigin/>

公正取引委員会・消費者庁. 2010. ペットフードの表示に関する公正競争規

約.

<http://www.pffta.org/pdf/kotorikiyaku1012.pdf>

Kuřakowski, P. 2013. Syncope update 2013: diagnosis and treatment. *Kardiol. Pol.*, 71: 215-223.

Li, W., S. Han, T. R. Gregg, F. W. Kemp, A. L. Davidow, D. B. Louria, A. Siegel and J. D. Bogden. 2003. Lead exposure potentiates predatory attack behavior in the cat. *Environ. Res.*, 92: 197-206.

Li, X., W. Li, H. Wang, J. Cao, K. Maehashi, L. Huang, A. A. Bachmanov, D. R. Reed, V. Legrand-Defretin, G. K. Beauchamp and J. G. Brand. 2005. Pseudogenization of a sweet-receptor gene accounts for cats' indifference toward sugar. *PloS. Genet.*, 1: 27-135.

Li, Y., M. A. Trush and J. D. Yager. 1994. DNA damage caused by reactive oxygen species originating from a copper-dependent oxidation of the 2-hydroxy catechol of estradiol. *Carcinogenesis*, 15: 1421-1427.

Llobet, J. M., G. Falcó, C. Casas, A. Teixidó and J. L. Domingo. 2003. Concentrations of arsenic, cadmium, mercury, and lead in common foods and estimated daily intake by children, adolescents, adults, and seniors of Catalonia, Spain. *J. Agric. Food Chem.*, 51:

838-842.

Lubran, M. M. 1980. Lead toxicity and heme biosynthesis. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 10: 402-413.

McKelvey, W., R. C. Gwynn, N. Jeffery, D. Kass, L. E. Thorpe, R. K. Garg, C. D. Palmer and P. J. Parsons. 2007. A biomonitoring study of lead, cadmium, and mercury in the blood of New York city adults. *Environ. Health Perspect.*, 115: 1435-1441.

Merger, D., H. A. Anderson, L. H. Chan, K. R. Mahaffey, M. Murray, M. Sakamoto and A. H. Stern. 2007. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio.*, 36: 3-11.

村田勝敬, 吉田稔, 坂本峰至, 岩井美幸, 柳沼梢, 龍田希, 岩田豊人, 荻田香苗, 仲井邦彦. 2011. メチル水銀毒性に関する疫学的研究の動向. *日衛誌*, 66: 682-695.

Neiger, R. D. and G. D. Osweiler. 1989. Effect of subacute low level dietary sodium arsenite on dogs. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 13: 439-451.

Neiger, R. D. and G. D. Osweiler. 1992. Arsenic concentrations in tissues and body fluids of dogs on chronic low-level dietary sodium arsenite. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 4: 334-337.

農林水産省. 1953. 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律.

<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S28/S28HO035.html>

農林水産省. 2008. 平成 20 年 4 月 1 日・19 消安第 14729 号. 消費・安全局長通知. 飼料分析基準.

http://www.famic.go.jp/ffis/feed/bunseki/bunsekikijun/01_01_04_inorg.pdf#page=5

農林水産省. 2012. 飼料中の農薬、重金属及びかび毒の基準値(通知)

http://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/siryo/pdf/siryo_kijun_sido_20121217.pdf

農林水産省・環境省. 2008. 愛がん動物用飼料の安全性の確保に関する法律.

<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H20/H20HO083.html>

農林水産省・環境省. 2011. 愛玩動物用飼料の成分規格等に関する省令.

<http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H21/H21F17002003001.html>

NRC. 2005. Mineral tolerance of animals. 2nd revised ed. National Academy Press, Washington, DC.

NRC. 2006. Nutrient requirements of dogs and cats. National Academy Press, Washington, DC.

Parížek, J. and I. Ostádalová. 1967. The protective effect of small amounts of selenite in sublimate intoxication. *Experientia.*, 23: 142-143.

Petering, H. G., D. W. Yeager and S. O. Witherup. 1973. Trace metal content of hair. *Arch. Environ. Health*, 27: 327.

ペットフード協会. 2006. 安全なペットフードの製造に関する実施基準.

<http://www.petfood.or.jp/statistics/manufacture/index.html>

ペットフード協会. 2011(a). ペットフード流通量調査結果.

<http://www.petfood.or.jp/data/chart2008/ryutu.html>

ペットフード協会. 2011(b). 平成 23 年度ペットフード産業実態調査の結果.

http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryu/cyosa/pdf/petfood_h23.pdf

ペットフード協会. 2012. 平成 24 年全国犬猫飼育実態調査.

<http://www.petfood.or.jp/data/chart2012/01.html>

Rabinowitz, M. B., G. W. Wetherill and J. D. Kopple. 1976. Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *J. Clin. Invest.*, 58: 260-270.

Ratnaike, R. N. 2003. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad. Med. J.*, 79: 391-396.

Sakai, T., M. Ito, H. Aoki, K. Aimi and R. Nitaya. 1995. Hair mercury concentrations in cats and dogs in central Japan. *Br. Vet. J.*, 151: 215-219.

Schryver, S. B. 1909. Some investigations on the toxicology of tin, with special reference to the metallic contamination of canned foods. *J. Hyg. (Lond.)*, 9: 253-263.

Selby, L. A., A. A. Case, G. D. Osweiler and H. M. Hayes, Jr. 1977. Epidemiology and toxicology of arsenic poisoning in domestic animals. *Environ. Health Perspect.*, 19: 183-189.

Swinehart, J. H., W. R. Biggs, D. J. Halko and N. C. Schroeder. 1974. The vanadium and selected metal contents of some ascidians. *Biol. Bull.*, 146: 302-312.

Takeuchi, T., F. M. D'Itri, P. V. Fischer, C. S. Annett and M. Okabe. 1977. The outbreak of Minamata disease (methyl mercury poisoning) in cats on Northwestern Ontario reserves. *Environ Res.*, 13: 215-28.

Traub, E. F. and R. H. Holmes. 1938. Dermatitis and stomatitis from

the mercury of amalgam fillings. Arch. Derm. Syphilol., 38:
349-357.

上本道久. 2008. ICP 発光分析・ICP 質量分析の基礎と実際. pp 2-34. オ
ーム社, 東京.

Van Cauwenbergh, R., P. Hendrix, H. Robberecht and H. Deelstra.
1999. Daily dietary lithium intake in Belgium using duplicate
portion sampling. Z. Lebensm. Unters. Forsch. A., 208: 153-155.

Venugopal, B. and T. D. Luckey. 1978. Molybdenum. pp 253-257 in
Metal Toxicity in Mammals, 2. Chemical Toxicity of Metals and
Metaloids. Plenum Press. New York, U.S.A.

Ward, G. M. 1978. Molybdenum toxicity and hypocuprosis in
ruminants: a review. J. Anim. Sci., 46: 1078-1085.

Ward, G. M. 1994. Molybdenum requirements, toxicity and
nutritional limits for man and animals. Stud. Inorg. Chem., 19:
452-476.

White, T. D. and J. C. Boudreau. 1975. Taste preferences of the cat
for neurophysiologically active compounds. Physiol. Psychol., 3:
405-410.

WHO(World Health Organization). 1998. Copper environmental health criteria 200. Geneva: World Health Organization.

Willes, R. F. 1977. Tissue distribution as a factor in species susceptibility to toxicity and hazard assessment example: methylmercury. J. Environ. Pathol. Toxicol., 1: 135-146.

Wyrwicka W. 1974. Eating banana in cats for brain stimulation reward. Physiol. Behav., 6: 1063-1066.

Yaginuma-Sakurai K., K. Murata, M. Iwai-Shimada, K. Nakai, N. Kurokawa, N. Tatsuta, and H. Satoh. 2012. Hair-to-blood ratio and biological half-life of mercury: experimental study of methylmercury exposure through fish consumption in humans. J. Toxicol. Sci., 37: 123-130.

山下昌洋. 1964. 実験的有機水銀中毒時の水銀臓器内分布および排泄. 日内会誌, 53: 23-32.

矢野経済研究所. 2007. 2007年版ペットビジネスマーケティング総覧.

米持千里. 2009. 米国、EU、オーストラリアにおけるペットフードの安全・品質の確保に関する法令制度およびペットフードの流通実態等に関する調査. ペット栄養学会誌, 12: 26-31