

**Addendum 10-5 Macroscopic examinations of female offspring at 7 months of age
- individual findings**

continued

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings
Female	BPA 0.005	540	ta	No abnormalities detected
		541	ta	No abnormalities detected
		545	ta	No abnormalities detected
		546	ta	No abnormalities detected
		547	ta	Uterus nodule ϕ 10mm
		551	ta	No abnormalities detected
		552	ta	No abnormalities detected
		553	ta	No abnormalities detected
		554	ta	Vagina nodule
		556	ta	No abnormalities detected
		557	ta	No abnormalities detected
		561	ta	No abnormalities detected
		562	ia	Subcutaneous tumor ϕ 30mm
		563	ta	Cerebrum ventriculus expansion
		564	ta	No abnormalities detected
		565	ta	No abnormalities detected
		569	ta	No abnormalities detected
		570	ta	No abnormalities detected
574	ta	No abnormalities detected		
575	ta	No abnormalities detected		

ta, terminal autopsy.

ia, interim autopsy

**Addendum 10-5 Macroscopic examinations of female offspring at 7 months of age
- individual findings**

continued

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings
Female	0.05	579	ta	No abnormalities detected
		580	ta	No abnormalities detected
		581	ta	No abnormalities detected
		584	ta	No abnormalities detected
		585	ta	Pituitary gland dark reddish region
		589	ta	No abnormalities detected
		590	ta	No abnormalities detected
		593	ta	Subcutaneous nodule 1.7 x 1.0 x 1.5 mm
		594	ta	No abnormalities detected
		598	ta	No abnormalities detected
		599	ta	No abnormalities detected
		603	ta	No abnormalities detected
		604	ta	No abnormalities detected
		608	ta	No abnormalities detected
		609	ta	No abnormalities detected
		613	ta	No abnormalities detected
		614	ta	No abnormalities detected
		618	ta	No abnormalities detected
		619	ta	Uterus watery contents in lumen

ta, terminal autopsy.

**Addendum 10-5 Macroscopic examinations of female offspring at 7 months of age
- individual findings**

continued

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings
Female	BPA 40	623	ta	No abnormalities detected
		624	ta	No abnormalities detected
		627	ta	No abnormalities detected
		628	ta	Uterus nodule ϕ 3mm Pituitary gland dark reddish region
		631	ta	No abnormalities detected
		632	ta	No abnormalities detected
		636	ta	No abnormalities detected
		637	ta	No abnormalities detected
		638	ta	Kidney(right) pelvic dilatation Vagina nodule ϕ 4mm
		639	ta	No abnormalities detected
		643	ta	No abnormalities detected
		644	ta	No abnormalities detected
		648	ta	No abnormalities detected
		649	ta	No abnormalities detected
		653	ta	No abnormalities detected
		654	ta	No abnormalities detected
		658	ta	No abnormalities detected
		659	ta	No abnormalities detected
		663	ta	Uterus watery contents in lumen
		664	ta	No abnormalities detected
		666	ta	No abnormalities detected
		668	ta	Kidney(right) pelvic dilatation Oviduct cyst
		669	ta	Uterus watery contents in lumen
671	ta	No abnormalities detected		

ta, terminal autopsy.

**Addendum 10-5 Macroscopic examinations of female offspring at 7 months of age
- individual findings**

continued

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings
Female	BPA 400	673	ta	No abnormalities detected
		674	ta	No abnormalities detected
		678	ta	No abnormalities detected
		679	ta	No abnormalities detected
		683	ta	No abnormalities detected
		684	ta	No abnormalities detected
		688	ta	No abnormalities detected
		689	ta	No abnormalities detected
		693	ia	Kidney tumor 90x60x50mm Lung nodule ϕ 2~4mm Spleen enlargement
		694	ta	Uterus watery contents in lumen
		698	ta	Uterus watery contents in lumen
		699	ta	No abnormalities detected
		703	ta	No abnormalities detected
		704	ta	No abnormalities detected
		708	ta	No abnormalities detected
709	ta	No abnormalities detected		
713	ta	Kidney(bilateral) pelvic dilatation Urinary bladder calculus		
714	ta	Ovary (bilateral) hemorrhage 1mm x 1mm		

ta, terminal autopsy.

ia, interim autopsy

**Addendum 10-5 Macroscopic examinations of female offspring at 7 months of age
- individual findings**

continued

Sex	Exp.group (mg/kg/day)	Animal No.	Fate	Macroscopic findings
Female	EE 0.05	718	ta	No abnormalities detected
		719	ta	No abnormalities detected
		723	ta	No abnormalities detected
		724	ta	No abnormalities detected
		728	ta	Cleft phallus
		729	ta	No abnormalities detected
		733	ta	No abnormalities detected
		734	ta	Cleft phallus
		738	ta	Cleft phallus
		739	ta	No abnormalities detected
		743	ta	Cleft phallus
		744	ta	Cleft phallus
		748	ta	Cleft phallus Vulva swelling
		749	ta	Cleft phallus Vulva swelling
		753	ta	Cleft phallus
		754	ta	Cleft phallus
		758	ta	Cleft phallus
		759	ta	Cleft phallus
		760	ta	Cleft phallus
		761	ta	Cleft phallus
765	ta	Cleft phallus		
766	ta	Cleft phallus		

ta, terminal autopsy.

【内分泌かく乱性確定試験開発研究、一生涯試験等】

〈OECD Conceptual Frame Work Level 5 対応試験開発〉

1) 神経・行動

2. Bisphenol Aをモデルとした妊娠期及び授乳期暴露による行動影響の評価とその機序解明

分担研究者 鈴木 勉 星薬科大学 薬品毒性学教室 教授

研究要旨：研究者らはこれまでに、bisphenol-Aを妊娠期および授乳期に曝露した ddY 系マウスでは、依存性薬物に対する反応性が著しく亢進することを見出している。本研究では、ドパミン D₃ 受容体およびエストロゲン受容体遺伝子欠損マウスへの応用を目的として、その親系統である C57BL/6J 系マウスを用いて同様の検討を行った。その結果、morphine に対する精神依存形成および自発運動量の亢進が認められた。一方、17β-estradiol の処置では何ら変化が認められなかった。また、初代培養アストロサイトおよび神経/グリア共培養細胞に bisphenol-A を処置したところ、極めて低濃度でアストロサイトの形態変化ならびに dopamine に対する反応性の亢進が認められた。本研究の結果は、bisphenol-A がエストロゲン作用とは異なる機序により、依存性薬物に対する感受性の亢進を引き起こす可能性を示唆している。さらには、各種遺伝子欠損マウスを使用した検討が可能であることを明らかにした。

A. 研究目的

本研究では、bisphenol-A の胎児期および授乳期暴露による次世代の中枢神経系に及ぼす影響を検討し、依存性薬物に対する感受性亢進の分子機構を明らかにすることを試みた。さらには、神経細胞の保護作用だけでなく、神経細胞に対して積極的な機能制御を行っているグリア細胞にも着目し、その変化を形態学的に解析することで、神経-グリア細胞間の相互作用に及ぼす bisphenol-A 慢性曝露の影響についても合わせて検討する。

B. 研究方法

Bisphenol-A 慢性曝露および 17β-estradiol 慢性曝露マウスを作成し、morphine に対する反応性を条件づけ場所嗜好性試験法および自発運動測定法に従い検討した。さらに、初代培養ア

ストロサイトおよび神経/グリア共培養細胞に bisphenol-A および 17β-estradiol を処置し、その形態変化および機能変化を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究を遂行するにあたり、星薬科大学動物実験指針に従い、動物に対する倫理面を十分に考慮してすべての実験を行なった。

C. 研究結果

1. ドパミン D₃ 受容体遺伝子欠損マウスおよびエストロゲン受容体遺伝子欠損マウスの親系統である C57BL/6J 系マウスにおいて、bisphenol-A 慢性曝露により、morphine に対する精神依存形成および自発運動量の亢進が認められた。
2. 17β-estradiol 慢性曝露マウスにおいて、morphine に対する反応性に変化は認められな

かった。

3. 初代培養アストロサイトおよび神経/グリア共培養細胞に極めて低用量の bisphenol-A を処置することにより、アストロサイトの形態変化が引き起こされ、さらには、dopamine 誘発 Ca 応答の亢進が認められた。なお、このような変化は 17 β -estradiol の処置では認められなかった。

D. 考察

1. C57BL/6J 系マウスにおいて、ddY 系マウスと同様、morphine に対する反応性の亢進が認められたことから、今後、ドパミン D₃ 受容体およびエストロゲン受容体遺伝子欠損マウスに適用可能であると考えられる。

2. 17 β -estradiol 慢性曝露により、morphine に対する反応性の亢進は認められなかったことから、bisphenol-A はエストロゲン作用とは異なった機構により依存性薬物に対する反応性の亢進を引き起こすと考えられる。

3. 初代培養アストロサイトおよび神経/グリア共培養細胞に極めて低用量の bisphenol-A を処置することにより、アストロサイトの形態変化および dopamine 誘発 Ca 応答の亢進が引き起こされ、17 β -estradiol の処置ではこのような変化が認められなかったことから、bisphenol-A 慢性曝露によって引き起こされる依存性薬物に対する反応性の亢進は、エストロゲン作用とは異なった機構によりアストロサイトを活性化させることが考えられる。

現在、我が国では第 3 次覚せい剤乱用期を迎え、覚せい剤乱用が若年層にまで浸透し、深刻な社会問題となっている。現在までに著者らが明らかにしている結果は、高度成長期に bisphenol-A を含む内分泌かく乱化学物質を飲食物とともに摂取した母親から生まれた現代人

が、依存性薬物の精神依存に対する脆弱性が引き起こされている可能性を提示するものであり、第 3 次覚せい剤乱用期は、食生活などを背景とした環境からも誘導されているという大胆な仮説を提示することになるかもしれない。

G. 研究発表

1. 論文発表

・K. Mizuo, M. Narita, T. Yoshida, M. Narita, T. Suzuki: Functional changes in dopamine D₃ receptors by prenatal and neonatal exposure to an endocrine disruptor bisphenol-A in mice. *Addiction Biol.* 9 19-25 (2004)

・K. Mizuo, M. Narita, K. Miyagawa, M. Narita, E. Okuno, T. Suzuki: Prenatal and neonatal exposure to bisphenol-A affects the morphine-induced rewarding effect and hyperlocomotion in mice. *Neurosci. Lett.* 356 95-98 (2004)

2. 学会発表

・第 34 回日本神経精神薬理学会
2004 年 7 月 21 日～23 日、東京
Bisphenol-A の胎児期および授乳期曝露による脳内報酬系に及ぼす影響

鈴木 勉、水尾圭祐、宮川和也、成田 年

・第 77 回日本薬理学会年会
2004 年 3 月 8～10 日、大阪
薬物依存の研究 (第 389 報): Bisphenol-A 胎児期および授乳期曝露による dopamine D₃ 受容体の機能変化

水尾圭祐、成田 年、宮川和也、中島直弓、鈴木 勉

H. 知的所有権の取得状況

無し

3. マウスのオペラント条件付けを用いた内分泌かく乱化学物質の神経系高次機能影響の評価

分担研究者 宮川 宗之 独立行政法人産業医学総合研究所 研究企画官

研究要旨 個体発生初期における内分泌かく乱化学物質曝露が、神経系高次機能（認知機能＝学習・記憶・注意）に及ぼす影響をマウスのスケジュール制御オペラント行動（SCOB: Schedule-Controlled Operant Behavior）を用いて検証・評価するためのプロトコル確立と、BPA の影響評価への適用を目的とする。学習習得、短期記憶の保持、状況に応じた行動の適切な制御に及ぼす化学物質の影響評価をラットを被験動物として行うことを前提に考案した「タイムアウト付交替型混合 FR DRO スケジュール」を使用する。本年度は、ラットのデータにもとづき、マウス（C57BL/6J）での SCOB 測定条件を設定するための基礎的な検討を行うとともに FR10 スケジュールまでの訓練を実施した。ラットでの BPA 投与実験についても報告する。

A. 研究目的

内分泌かく乱化学物質の次世代影響として、知能や行動特性（衝動性等）への有害作用が懸念されているが、ヒトでのデータ及び生物試験データともに明確な証拠は乏しい。実験動物を用いた神経行動毒性・発達神経毒性の評価では、スクリーニング試験の標準化は進みつつあるが、認知機能影響評価のための確認試験として確立された標準的な方法はない。化学物質が学習や記憶に及ぼす影響を、齧歯類を被験体として走路や迷路課題を用いて評価する場合には、新奇な場面・状況におかれた場合の行動特性、すなわち「場面適応」への化学物質の影響が大きく交絡する。新奇な状況への適応と認知機能とをある程度分離して評価するためには、オペラントチャンバーを用いた試験法（オペラント条件付けによって学習・習得された行動を指標とした試験）の利用が有効と考えられる。また、神経行動毒性・発達神経毒性の評価ではラットを用いることが多いが、内分泌かく乱作用を検討対象として作用メカニズムの検討に解析を進めることを考慮すると、遺伝子改変動物の使用等が可能となるマウスを用いた試験が重要となる。

以上を背景として、本研究ではマウスのス

ケジュール制御オペラント行動（SCOB）を指標とした次世代認知機能影響試験の適否を検討する。餌を報酬（食餌強化）とした強化スケジュールは我々の考案した「タイムアウト付交替型混合 FR DRO スケジュール」を使用する。この試験では、オペラント反応の獲得過程から学習習得に対する影響を評価することになるが、さらにタイムアウト時間をセッション内で変化させつつ FR での反応と DRO での反応の切替えの正確さを測定することで、短期記憶の保持曲線に相当するデータが得られる。これまでラット用に開発・使用してきたプロトコルおよびコンピュータプログラムをマウス用に適用するため再検討し、「タイムアウト付交替型混合 FR DRO スケジュール」下で、マウスが適切な反応パターンを習得することが可能かどうかを調べる。つぎに、周産期の曝露による神経行動影響が懸念されている BPA について、「反応の習得」、「反応パターンの切替え」「短期記憶の保持」等に対応するパラメータを指標に用いて、経母体曝露の影響を解析し、BPA の認知機能（学習・記憶・行動制御）に及ぼす影響の有無を測定する。

平成 16 年度は、BPA 経母体曝露をうけたラットで当該スケジュール制御行動の獲得の様子を再検討するとともに、マウスを被験体と

するための実験条件の確立を目指して、基礎的な検討を行った。すなわち、食餌強化のための体重統制基準やスケジュールの細部（1セッションでの強化数等）について測定条件を求め、マウス（C57BL/6J）を被験体に用いて、自動反応形成（auto-shaping）及び定率強化（FR2 - FR10）スケジュール下で条件づけを実施しデータを収集した。また、ラットのデータと比較・検討して、最終的に「タイムアウト付交替型混合 FR DRO スケジュール」を用いてマウスで実験を行う際の条件を設定した。比較のためのラットのデータには、我々のグループが過去におこなった実験で得た背景データを使用するとともに、今後 BPA の影響をみる実験を計画していることから、妊娠中に BPA 経口投与を実施したラットおよび対照群ラットから得られた仔ラットについて、自動反応形成、FR およびタイムアウト付交替型混合 FR DRO（タイムアウト時間は 4 秒に固定）の各スケジュール下で訓練を行って曝露の影響を測定した結果を報告し、今後の比較参考データとした。

次年度以降は、マウスを用いて、タイムアウト付交替型混合 FR DRO スケジュールによる訓練を最終段階（セッション内でタイムアウト時間を変化させるとともに薬理的負荷試験を実施）まで行い、最終スケジュール下で適切な反応が習得されることを確認する。その後、妊娠マウスに BPA を投与（妊娠期及び授乳期）し、成長後の仔マウスを使用して行動を測定し、BPA 経母体曝露による認知機能影響を測定する。過去のラットの結果とあわせて解析し、認知機能影響評価のために、タイムアウト付交替型混合 FR DRO スケジュール下での SCOB が有効な手法となることを示すことを最終目標とする。

B. 研究方法

被験動物：実験に用いたラットおよびマウスは、すべて温度 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ の清浄環

境下で飼育され、行動測定も同様の環境の飼育施設内別室にて実施された。妊娠ラット、離乳前の仔ラット、およびマウスの飼育にはポリカーボネート製ケージを使用し、離乳後の仔ラットの飼育にはステンレス製のケージを使用した。

ラットによる SCOB 習得過程と BPA 経母体曝露影響の測定には、以下の手続きで得られた動物を使用した。すなわち、SD 系妊娠ラット（Crj: CD (SD) - IGS、日本チャールスリバー）を購入し、妊娠第 6 日（GD 6）から出産後 20 日（PND 20）までの間、コーンオイルに溶解した BPA（10 mg/kg/b. w. /day, 10 ml/kg/b. w.）の強制経口投与（対照群ではコーンオイル 10 ml/kg/b. w. のみ）を行った（1群 2 匹）。BPA は、高純度の測定用標準品（純度 99.8%、和光純薬工業）を使用した。得られた仔ラットから投与群・対象群ともに雌雄各 10 匹を選んで SCOB 測定実験に供した。

また、マウスでの実験ではすべて C57BL/6J マウス（日本チャールスリバー）を使用した。基本的実験条件決定のため予備的検討 1~6 には、雄 6 匹を 9 週齢で購入し 10 週齢から使用した。予備的検討 7 には、雄 6 匹を 12 週齢で購入し 12~17 週齢にかけて使用した。また SCOB の測定実験には、雄 48 匹を 10 週齢で購入し、11 週齢から給餌制限を開始して 13 週齢から SCOB 測定実験に使用したが、給餌制限の不調から体重が大幅に減少した 4 匹を途中から除外したため、今回報告するデータは 44 匹分となった。

SCOB 測定では食餌を報酬するため、ラットおよびマウスとも行動測定開始前に個別飼育とし、体重を基準に給餌量の調整・制限を行った。ラットの場合は雄では体重 300 g、雌では体重 200 g を一律の目標値としたが、マウスでは、基本的実験条件決定のための予備的検討結果にもとづき、給餌制限開始前の体重の 85% 体重（維持目標体重）を維持するように給餌量の調整・制限を行った。いずれも

飲用水は実験セッション中をのぞき自由摂取とした。

マウス SCOB 測定における基本的実験条件決定のための予備的検討：ラットで使用した SCOB の実験条件をマウスで実施する際には、主としてラットとマウスの体重や通常の摂食量の差から、制限給餌に際しての適当な目標体重、目標体重維持のための適切な給餌量、約 1 時間弱のセッションで摂取可能な報酬量（報酬として使用する粒餌は通常の市販品はラットでは 45 mg、マウス用は 20 mg で、当該制限給餌条件下、1 時間でどの程度の粒餌を摂食可能かが重要な要因）を決定する必要がある。このため、マウス（6 匹）を用いて以下の検討を順次実施した。測定はホームケージとは別のポリカーボネート製ケージ内で実施した。

検討 1（10 週齢）：通常飼育下での個体間の体重のバラツキを検討し、また体重を制限給餌開始前の 85–90% で維持するために必要な給餌量の測定を実施した。10 週齢で絶食後、翌日から 4 日間給餌量を調整し体重の変化を調べた。

検討 2（11 週齢）：報酬に使用する粒餌を与えて 1 時間の摂取数を求めた。空腹状態を維持する必要から、測定は 5 日間行い 1–3 日目は 100 個、4 日目は 150 個、5 日目は 150 または 200 個の粒餌を呈示した。体重は粒餌摂取の前後に測定した。

検討 3（12 週齢）：粒餌 100 個を摂取するのに要する時間を測定した。試験は 5 日間行った。体重は粒餌摂取の前後に測定した。

検討 4（13 週齢）：粒餌 50 個の摂取時間を測定した。試験は 5 日間行った。体重は粒餌摂取の前後に測定した。

検討 5（14 週齢）：摂取量測定ケージ内で飲料水を自由に摂取できる条件で、粒餌 50 個の摂取時間を測定した。試験は 5 日間行った。体重は粒餌摂取の前後に測定した。

検討 6（15 週齢）：摂取量測定ケージ内で飲料水を自由に摂取できる条件で、粒餌 100 個の摂取時間を測定した。試験は 5 日間行った。体重は粒餌摂取の前後に測定した。

また、検討 3 から検討 6 の期間中、体重維持のために必要なホームケージにおける飼料量について検討した。粒餌摂取測定終了後の体重により、個体別に飼料量を調節し、翌日の測定終了時の体重が絶食前の体重の 85% を維持できる給餌量を推定した。

予備的検討 7：検討 6 までのデータにもとづき適当と判断した給餌量について、別のマウス（6 匹）を用いて追加の検討・確認を行い、体重の統制・維持に最適な給餌量を最終決定した。

SCOB 測定装置：ラットおよびマウスのスケジュール制御オペラント行動（SCOB）の測定には、8 台のラット用オペラントチャンバー（MED Associates 製）および 8 台のマウス用オペラントチャンバー（MED Associates 製）を使用した。パーソナルコンピュータ用の行動実験プログラム作成システム（MED Associates 製）上で、一連の条件付け訓練に必要な（各種の SCOB に対応した）プログラムを作成し、これらを用いてチャンバーを制御するとともに、反応を記録した。各オペラントチャンバー内部の前面パネル中央には、ペレットディスペンサー（粒餌提示装置）に接続された餌皿が設置され、その左右には反応レバーが 1 基ずつ備えられているが、今回は右側のレバーのみを使用した。餌皿と両反応レバーの上部には、cue light が 1 つずつ合計 3 個設置され、反対側の後面パネル上部中央には house light 1 基が設置された。各チャンバーを防音箱（MED Associates 製、換気ファン付でファンから実験中一定レベルのノイズを発生し外部騒音の影響を低減）内に置き、さらに全ての装置を外部からの騒音等を軒弱するため、動物舎内の専用室に設置して

実験を行った。ラット用チャンバーは幅×奥行×高さが 305 × 241 × 292 mm で cue light は豆電球に白色プラスチックカバーが付いたものを使用し、報酬の呈示を知らせる音刺激は 4500 Hz (75–80 dB に調整、持続 1 秒) を使用した。また、マウス用チャンバーは幅×奥行×高さが 160 × 134 × 127 mm で cue light は黄色の LED 製、報酬の呈示を知らせる音刺激は 4500 Hz (75–80 dB に調整、持続 1 秒) を使用した。なお、ラットおよびマウスともレバー押し反応には 2900 Hz の短いクリック音を随伴させた。

SCOB の測定手続き：食餌を報酬とした SCOB 測定のため、給餌量の調整・制限を行い体重が目標値付近で安定した後、ラットでは 11 週齢から、またマウスでは 13 週齢から、レバー押し反応の条件づけ訓練を開始した。訓練は、1 日 1 セッションで週 5 日行い、実験終了まで継続した。レバー押し反応に随伴させて報酬となる粒餌を提示する (反応の強化) が、反応回数や反応間隔など一定の条件を設定し、その条件を満たした反応のみ強化を行う。この条件を強化スケジュールと呼ぶ。強化スケジュールを、1) 自動反応形成 (auto-shaping) スケジュール (7 セッション)、2) 定率強化 (fixed rate : FR) スケジュール (FR2×2 セッション、FR5×1 セッション、FR10×10 セッション)、3) タイムアウト付交替型混合定率強化他反応分化強化 (alternating mixed FR 10 DRO 10sec with TO) スケジュール (ラットでは 24 セッション、マウスでは今年度実施せず) と順次変更し、条件付け訓練を実施した。毎回のセッションは、あらかじめ規定した回数まで報酬が与えられるか規定の時間が経過することで終了とした (規定時間はマウスの自動反応形成訓練では 60 分、他はすべて 50 分に設定)。なお、報酬にはラットでは 45 mg マウスでは 20 mg の粒餌 (Bio-Serv 社製オペラント条件付け用

ペレット) を使用した。

一連の SCOB 条件付け学習訓練の初めの段階となる自動反応形成スケジュールでは、セッション中、ラットまたはマウスがレバーを押す反応を自発した場合には“ピー”という報酬呈示を予告する刺激音に引き続いて粒餌が餌皿上に一つ供された。セッション中 100 秒間反応が生じない場合は、レバー上部に設けられた cue light が 20 秒間点滅し、その後予告音に続いて粒餌が与えられた。セッション中 house light は常時点灯とした。合計 100 回反応が生じるか 100 個の粒餌が提示された時点で、規定の時間経過をまたずにセッション終了とした。

定率強化スケジュールによるセッションでは、FR 率にしたがって粒餌が与えられた。すなわち、FR2 では 2 回の反応毎に、FR5 では 5 回の反応毎に、FR10 では 10 回の反応毎に、報酬が提示された。合計 100 個の粒餌が提示されるか、50 分経過した時点でセッション終了とした。

最後に使用した交替型混合スケジュールは、定率強化 (FR) と他反応分化強化 (Differential Reinforcement of Other Behavior: DRO) の 2 種類のコンポーネントスケジュールとタイムアウト (TO) を含むもので、Fig. 1 に概要を示した。このスケジュールでは、10 回の反応完了時に報酬が与えられる定率強化 (FR10) と 10 秒間無反応で待機することで報酬が与えられる他反応分化強化 (DRO 10 sec) の 2 種類のコンポーネントスケジュールを、遅延時間となるタイムアウト (TO) を挟んで報酬提示 (強化) 毎に交替させた。今回の実験では、このタイムアウト (TO) 時間は 4 秒に固定した。毎回の実験セッションでは、Fig. 1 に示した様に、初めに FR コンポーネントがスタートし、左右の反応レバー及び餌皿上部の cue light と、反対側パネル上部の house light が点灯する。この状態で被験体が反応レバーを 10 回押すと、粒餌 1

粒が餌皿上に与えられる(報酬の提示・強化)。その後はタイムアウトとなって、cue light は消灯し house light のみに暗転する。規定の長さのタイムアウト後、DRO コンポーネントとなり、左右の反応レバー及び餌皿上部の cue light が再び点灯する。DRO では、10 秒間無反応で経過すれば自動的に粒餌が与えられるが、反応があった場合にはタイマーがリセットされ、さらに 10 秒間の無反応が要求される。報酬提示後は再び暗転しタイムアウトとなる。タイムアウト終了後は、再び FR が始まる。なお、タイムアウト中に反応が生じた場合には、タイムアウト時間がリセットされ、規定長のタイムアウトがその時点から計り直されることとなる。このように FR であるか DRO であるかを示す弁別刺激が提示されない(どちらも同様に cue light が点灯)ため、スケジュール制御オペラント条件づけの用語では混合スケジュールという分類となる。ただし、FR か DRO を示す弁別刺激は提示されないものの、両スケジュールが強化毎に交代するので、どちらのスケジュールにしたがって前報酬が与えられたかが手がかりとなり、これにしたがって被験体は適切な反応パターンを選択することが可能である。一種の遅延交替反応課題となり、記憶の評価に使用可能と考えられる。実験中のラットの反応の様子(反応中及び待機中で、別の同種の実験時に防音箱をあけてストロボで撮影)を Fig. 2 に示した。このスケジュールでは、FR-T0-DRO-T0-を 1 サイクルとして合計 51 サイクル 102 回の報酬提示が行われるか、50 分間経過した時点でセッションを終了した。

SCOB における反応の指標: 各スケジュール下での被験体の反応習得過程と、それに対して化学物質曝露が及ぼす影響を解析するための指標には、主として反応率(1 分間当りのレバー押し反応頻度)を用いた。タイムアウト付交替型混合スケジュールに関しては、FR と

DRO での初発反応の潜時を求め、これらの潜時から両コンポーネントにおける反応切替えの正確さを示す指標「Accuracy」と全般的な反応性の指標「Bias」も算出した。すなわち、FR ではコンポーネント開始から 10 秒以内に反応があれば「HIT」とし、なければ「MISS」としてカウントし、「HIT」となる確率(P[HIT])を計算するとともに、DRO ではコンポーネント開始から 10 秒経過する前に反応があった場合に「FA(false alarm)」とし、無反応で 10 秒経過すれば「CR(correct rejection)」とカウントして、「FA」となる確率(P [FA])を計算した。その後、次式によって、「Accuracy」と「Bias」を求めた。

$$\text{Accuracy} = P [\text{HIT}] - P [\text{FA}]$$

$$\text{Bias} = P [\text{HIT}] + P [\text{FA}] - 1$$

両指標とも、-1 から +1 の範囲で変化する。両指標の計算は、各セッション最初の 1 サイクルを除き、合計 50 サイクルの測定結果に基づいて行った。したがって、T0 長毎に 10 回の FR と DRO での初発反応潜時が得られた。

被験体は条件づけ訓練の進行によって、FR では各タイムアウト終了後数秒以内に高頻度でレバーを押し反応を示すようになり、また DRO では殆どレバー押し反応を抑制し 10 秒間待機するようになり、それぞれ高率で「HIT」あるいは「CR」に分類される反応パターンが得られるようになることを、これまでの研究で明らかにしている。この Accuracy は、FR と DRO それぞれに適応したパターンで適切な反応が生じたかどうかを示すものとなる。セッション内でタイムアウト時間を変化させ、タイムアウト時間に対して Accuracy をプロットすると、遅延時間(タイムアウト長)と反応切替えの正確さの関係を示す曲線が得られる。被験体には、タイムアウトを挟んで適切に反応パターンを交替させること、すなわち遅延時間後に前回と異なる反応パターンを

選択することが求められており、遅延時間の間は前回 FR であったか DRO であったか(あるいは次にどちらの反応パターンを選択すれば良いか)を記憶しておくことが求められる。したがって、タイムアウト長に対して Accuracy をプロットしたものは、一種の短期記憶の保持曲線と考えられるものとなるが、今回は変動タイムアウトでの測定は実施しなかった。一方、Bias は FR と DRO を通じて、各タイムアウト終了後 10 秒以内にレバー押し反応が生じた割合に対応するもので、「反応性」の全般的な指標となり、反応の適切な制御・抑制に対する影響を評価するための指標となる。

(倫理面への配慮)

実験は「独立行政法人産業医学総合研究所動物実験に関する指針」にしたがって実施された。

C. 研究結果

マウス SCOB 測定における基本的実験条件決定のための予備的検討：主としてマウスの摂食量と体重統制に関する一連の検討から以下の結果を得た。

検討 1：通常飼育下での個体間の体重のパラッキを考慮して、体重統制の目標値をラットの場のように一律の値とはせず、個体毎に制限給餌開始前の 85% に維持することとしたが、そのために必要な 1 日当たりの給餌量は 2.5 g 程度と推定されるデータを得た (Fig. 3)。条件付けの報酬として使用する粒餌 125 個分の重量となる。

検討 2：報酬に使用する粒餌を与えて 1 時間の摂食数を求めたところ、日毎に増加して 5 日目には 126-142 個となった (Fig. 4)。この間、給餌は粒餌のみであったが、最終的な体重は目標値程度となった。

検討 3：粒餌 100 個を摂取するのに要する時間を測定したところ、約 30 分から 35 分程度となった (Table 1)。粒餌 1 つを摂食する

のに要した時間は、およそ 15-25 秒であった。

検討 4：呈示する粒餌数を 50 個として摂取時間を測定したところ、日毎に短縮し 5 日目には 7-9 分となり、粒餌 1 当たりの時間は 10 秒程度となった (Table 2)。

検討 5：摂取量測定ケージ内で飲料水を自由に摂取できる条件で粒餌 50 個の摂取時間を測定したところ、この段階では飲水をする個体は見られず摂食に影響しなかった (Table 3 および Table 4)。

検討 6：摂取量測定ケージ内で飲料水を自由に摂取できる条件で、粒餌 100 個の摂取時間を測定したところ、飲水行動が 6 匹中 2 匹に出現し、摂食時間の延長が生じた (Table 5 および Table 6)。

また、検討 3-6 期間中、体重維持に必要なホームケージにおける飼料の量について検討したところ、粒餌摂取数が 50 個の場合は約 1.5 g の通常飼料を与えることで体重が維持された (Fig. 4)。また粒餌摂取数 100 個の場合はホームケージ給餌をなしとしても目標体重がほぼ維持可能なことが示された。

検討 7：実験を実施しない土曜日・日曜日の給餌量をふくめ、最終的なホームケージ給餌量を Table 7 のように決定した。検討 6 までの結果にもとづき、金曜日に約 2.5 g を供することで体重維持が可能と見込まれたが、実際の SCOB 訓練に用いた個体で給餌量の不足を示したものがあつたことから、体重制限後 SCOB 測定開始前までは、Table 7 「体重制限時」の欄に示された量の通常飼料と報酬用粒餌 35 個 (0.7 g) を与えることとした。また、SCOB 測定開始後は、Table 7 「SCOB 実験期間」の欄に示された量の通常飼料を与えることとした。なお、SCOB 訓練を実施しない土曜日・日曜日には一律 2.8 g の通常飼料を与えることとした。

ラットの SCOB 習得過程と BPA 曝露の影響：レバー押し反応を習得させる自動反応形成スケ

ジュールでの訓練時の結果を Fig. 8 に示した。横軸はセッション数、縦軸は各セッション中の平均反応率（1 分間あたりのレバー押し反応数）である。殆どの個体は、3 回のセッションでレバー押し反応を自発し粒餌を摂取するようになった。その後も 7 回目のセッションに向けての反応率の漸増が認められた。FR スケジュールでの訓練の結果は Fig. 9 に示した。FR 率を段階的に増加させる過程（FR2×2 セッション、FR5×1 セッション、FR10×10 セッション）に対応するものであるが、第 4 セッション以降 FR10 となってからの反応率をみると、雄の曝露群で比較的高値となった。タイムアウト付交替型混合スケジュール下での SCOB 習得過程は、上述したように FR 反応率、DRO 反応率、Accuracy、Bias の 4 指標を用いて解析した。これらの行動指標について、群毎に平均値と標準誤差を求め、訓練セッション数を横軸にとってプロットしたものを図示した（Fig. 10—Fig. 13）。タイムアウト時間は 4 秒とした固定長タイムアウト条件（TO 4s）である。雄の Bias では、第 9 セッションまで曝露群が対照群と比較して低い値を示したものの、FR 反応率、DRO 反応率および Accuracy については両群に差は認められなかった。

マウスの SCOB 習得過程：レバー押し反応を習得させる自動反応形成スケジュールでの訓練時の結果を Fig. 12 に示した。各セッションでの総反応数は Fig. 12（左）に示したように 4 回目のセッションで全個体平均が 100 近くとなり、殆どの個体は 4 回のセッションでレバー押し反応を自発し粒餌を各セッションでの最大限度近くまで摂取するようになった。反応率（セッション中 1 分間あたりの反応数）も Fig. 12（右）に示しように典型的な学習曲線を描いて上昇し、6～7 回のセッションで天井値に達している。

FR スケジュールでの訓練の結果は、各セッ

ションの総反応数（左）と反応率（右）として Fig. 13 に示した。FR 率を段階的に増加させる過程（FR2×2 セッション、FR5×1 セッション、FR10×10 セッション）に対応するものであるが、第 4 セッション以降（FR10 となった時点から）1000 回近い総反応数となっており、毎回平均して上限である 100 回近い回数の強化（報酬）を受ける結果となった。反応率も FR 率とともに上昇し、4 回目のセッションから天井値レベルとなった。

以上のマウスの反応率のデータを過去のラットと比較した結果を Fig. 14 に示した。このラットのデータは、我々のグループが蓄積した背景データ（雄ラット 55 匹の平均）である。ラットと比較すると反応率は FR10 の初めの数セッションをのぞきマウスで小さな値となった。

D. 考察

餌を報酬とした SCOB 訓練では、空腹による動因を一定にするために、給餌量を調節して体重を一定に保つ等の手続きが必要となる。今回、ラットでは、雄 300 g、雌 200 g を目標体重として、またマウスでは自由摂食ベースラインの 85%（20 g ～ 28 g）を目標体重として SCOB の訓練・測定を行った。通常の飼育状態での体重や必要とする餌の量は、当然種あるいは性によって異なり、今回の設定条件でマウスとラットが同程度の動因レベル（空腹状態）となったかどうかは保証されていない。また、オペラント条件付けは反応に伴って報酬が呈示されることによって学習が漸進的に進行する過程であって、日々のセッションにおける反応—報酬呈示の反復回数は学習進行に大きな影響を及ぼす。この点からは、セッション内の報酬呈示回数を可能なかぎり多くすることが望ましいと考えられるが、訓練中に飽食状態となつては、粒餌は強化子として機能しなくなる。今回のデータでも示されているように、ラットでは現在の条

件設定で確実に学習が進行する。マウスの SCOB 訓練が、最終目標とするタイムアウト付交替型混合 FR DRO スケジュールまでラットと同様に進行するかどうかは、体重統制と報酬呈示回数の設定が第一に重要な要因と考えられる。今回実施した予備的検討結果にしたがえば、1セッションでの報酬呈示数は50個程度が適当と考えられるが、平日のホームケージでの給餌を少なくすれば100個も不可能ではないと考えられた。なお、乾燥した粒餌を容易に摂取できるように、実験中飲用水を呈示することを考慮したが、今回の予備的検討の結果をみると、飲水行動が出現することで粒餌の摂取が中断することから、一連の SCOB の遂行状況に影響を与えることが懸念されたため、SCOB における飲用水同時呈示は実施しないこととした。

マウスの SCOB 訓練は、以上述べた基礎的な条件検討結果にもとづいて1セッションでの報酬呈示上限をラットと同様100個として開始した。結果は自動反応形成訓練および FR 訓練ともにレバー押し反応の習得は順調に進み、これまでのラットの背景データと比較しても、ラットと同様の訓練セッション数で反応形成が確実に行なわれる結果となった。反応率についてみると、一時期を除きマウスの方が低い値を示しているが、学習の進行自体は得られた学習曲線からみるかぎりラットより遅いものとはなっていない。反応率の絶対値は粒餌の摂食に要する時間によって影響を受けるものであり、100個の粒餌をマウスが摂取する時間はラットよりかなり長くなる（予備的検討の結果や自動反応形成訓練の最終段階における1セッション終了に要する時間などから推定可能）こと、マウスでは FR 率の切替に応じて直ちに反応率の上昇が示され、FR10 になってから徐々に反応率の上昇を示すラットよりも早く天井値に到達していることをみると、学習の進行はラットに劣らないものと解釈できる。

なお、粒餌100個は連続した餌の摂取としては限界に近いものと考えられ、ホームケージにおける給餌量によっては直ちにパフォーマンスに影響が及ぶものと考えられた。ホームケージでの給餌量は最終的に Table 7 に示したものが適当との結果が得られたが、これが見られる前に今回の SCOB 訓練を開始しており、FR 訓練前半は体重が目標値をやや下回った状態で実施された。一方9回目のセッション（月曜日）で反応率が低下したのは、休日を挟んで給餌量が影響した（給餌が多すぎた）ものと考えられる。今後実施する交替型混合スケジュールの訓練では Table 7 の給餌条件にしたがう予定である。

試験方法の開発では、このような基礎的条件の設定とそのための試行錯誤が重要であるが、細部の実験実施条件はいわゆるノウハウとして公開されない場合も多い。行動試験においては、このような条件の差異が、試験の感度に影響を与える可能性があり、追試の実施や結果の解釈において注意が必要である。本報告では、このような観点からマウスを用いた実験手続きの細部に関わる事項について記載することとした。

今回報告した BPA に関するラットの SCOB 実験では、妊娠・授乳期に 10 mg/kg の BPA の強制経口投与を行い、生まれた仔ラットが成長後に被験体として使用している。仔ラットの数は1群雌雄各10匹を確保しているものの、母動物の個体数が1群2匹と少なく予備的なものであり、本報告書では統計的検定を実施していない。FR スケジュール訓練段階で雌の曝露群で比較的高い反応率が得られ、また交替型混合 FR DRO スケジュール訓練初期で雄の Bias がやや低くなるという結果が得られたが、母動物数が少ないデータである点と単一用量実験であることから、曝露影響を示すデータとしては不十分である。今後、マウスで BPA に関する実験を行う場合の比較参考データを示したものと考えている。

今回使用した強化スケジュールは、タイムアウト時間をセッション内で変化させることで、短期記憶の保持等の認知機能に対する影響把握も可能なようにわれわれが開発したものであり、今後、変動長タイムアウト条件までマウスで訓練を実施するとともに、曝露影響の解析に進む予定である。他の試験法（特に異なる行動試験）によってポジティブな影響が認められたとする曝露条件で、マウスの実験を実施し、我々の試験方法の感度や結果の示す意味について検討しようと考えている。

E. 結論

本年度はマウスを使用しての測定に関わる基礎的条件についての予備的検討が中心であり、マウスでの SCOB 訓練は現在も進行中である。これまでの結果では、ラットと基本的に同等の条件で SCOB の訓練を実施し FR10 スケジュールで確実なパフォーマンスが得られることが示された。最終目標とする交替型混合スケジュールで適切な行動パターンが獲得されるかどうか、また最終的にラット同等のパフォーマンスが得られるかどうか、次年度以降検討の予定である。

(謝辞：本研究遂行にあたって村瀬正、渡辺智子両氏からは多大な技術的支援を受けた。)

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Katsumi Ohtani, Shigeru Yamazaki, Hisayo Kubota, Muneyuki Miyagawa and Junzo Saegusa. Comparative Investigation of Several Sperm analysis Methods for Evaluation of Spermatotoxicity of Industrial Chemical: 2-Bromopropane as an Example. *Industrial Health* 42: 219-225. (2004)
- 2) Takeshi Honma, Megumi Suda, Muneyuki Miyagawa. Inhalation of 1-Bromopropane

Causes Excitation in the Central Nervous System of Male F344 Rats. *Neurotoxicology* 2: 563-575. (2003)

- 3) Sumiko Watanabe, Rui-Sheng Wang, Muneyuki Miyagawa, Kenichi Kobayashi, Megumi Suda, Soichiro Sekiguchi, Takeshi Honma. Imbalance of Testosterone Level in Male Offspring Rats Perinatally Exposed to Bisphenol A. *Industrial Health* 41: 338-341. (2003)
- 4) Kenichi Kobayashi, Muneyuki Miyagawa, Rui-Sheng Wang, Soichiro Sekiguchi, Megumi Suda, Takeshi Honma. Effects of in Utero and Lactational Exposure to Bisphenol A on somatic Growth and Anogenital Distance in F1 Rat Offspring. *Industrial Health*, 40: 375-381. (2002)
- 5) Takeshi Honma, Megumi Suda, Muneyuki Miyagawa. Synergic Effects of Exposure to Chlorinated Organic Compounds on Rat Hepatotoxicity. *Arch Complex Environmental Studies*. 14: 3-4 (2002).
- 6) 宮川宗之. 化学品の有害性分類表示に関する国際調和システム. *安全工学* 41(2): 84-93. (2002)

2. 学会発表

- 1) 宮川宗之、小林健一、王瑞生、須田恵、本間健資. フタル酸ジ 2-エチルヘキシル (DEHP) の経母体曝露 (妊娠期・授乳期) が成長後のラットの条件付け学習に及ぼす影響. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会) 第 7 回研究発表会, 要旨集 p343. (2004)
- 2) 本間健資, 須田恵, 宮川宗之, 王瑞生, 小林健一, 関口総一郎. PCB 経母体ばく露とラット脳内神経伝達物質. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモ

- ン学会)第7回研究発表会, 要旨集 p356. (2004)
- 3) 王瑞生、宮川宗之、小林健一、須田恵、本間健資. フタル酸ジ2-エチルヘキシルの経母体曝露が成熟後の雄仔ラットの性ホルモン代謝に及ぼす影響. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会) 第7回研究発表会, 要旨集, p277. (2004)
 - 4) 宮川宗之. 化学品の分類・表示に関する世界調和システム(GHS); 健康影響及び環境影響に基づいた化学物質及び混合物の分類基準について. 免疫毒性・アレルギー学会シンポジウム1 (アレルギー性化学物質に抗する国際予防体系を構築する) 日本職業・環境アレルギー学会雑誌 12(1): 31. (2004)
 - 5) 小林健一、宮川宗之、王瑞生、須田恵、関口総一郎、本間健資. フタル酸ジ2-エチルヘキシル (DEHP) の経母体曝露 (妊娠期・授乳期) がラットの発生内分泌系におよぼす影響. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会) 会第7回研究発表会, 要旨集 p281. (2004)
 - 6) 小林健一、宮川宗之、王瑞生、須田恵、関口総一郎、本間健資. PCB153の母ラットへの曝露が産仔の脳下垂体-甲状腺軸におよぼす影響. 日本薬学会第124回年会, 要旨集 p191. (2004)
 - 7) Kenichi Kobayashi, Muneyuki Miyagawa, Rui-Sheng Wang, Megumi Suda, Soichiro Sekiguchi, Takeshi Honma. Effects of in utero exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on postnatal development and thyroid status in rat offspring. 第31回日本トキシコロジー学会学術年会 J Toxicol Sci 29: 465. (2004)
 - 8) Rui-Sheng Wang, Muneyuki Miyagawa, Kenichi Kobayashi, Megumi Suda, Takeshi Honma. Effect of prenatal and neonatal exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate on the metabolism of testosterone in rat. 第31回日本トキシコロジー学会学術年会 J Toxicol Sci 29: 425. (2004)
 - 9) 宮川宗之、小林健一、王瑞生、須田恵、本間健資. フタル酸ジ2-エチルヘキシル (DEHP) の経母体曝露 (妊娠期・授乳期) がラットのスケジュール制御オペラント行動 (SCOB) に及ぼす影響. 第77回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 46(Suppl): 393. (2004)
 - 10) 小林健一、宮川宗之、王瑞生、須田恵、本間健資. フタル酸ジ2-エチルエチルヘキシル (DEHP) の経母体曝露 (妊娠期・授乳期) が仔ラットの発生におよぼす影響. 第77回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 46(Suppl.): 393. (2004)
 - 11) 王瑞生、宮川宗之、小林健一、須田恵、本間健資. フタル酸ジ2-エチルヘキシルの経母体曝露がラットの性ホルモン代謝に及ぼす影響. 第77回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 46(Suppl.): 394. (2004)
 - 12) Takeshi Honma, Muneyuki Miyagawa, Megumi Suda, Rui-Sheng Wang, Kenichi Kobayashi and Soichiro Sekiguchi. Effects of Perinatal Exposure to PCB 153 on the Brain Neurotransmitters of Offspring Rats. 43rd Annual Meeting & Toxexpo™, Society of Toxicology (SOT), Baltimore, Program p175. (2004)
 - 13) Kenichi Kobayashi, Muneyuki Miyagawa, Rui-Sheng Wang, Megumi Suda, Soichiro Sekiguchi, Takeshi Honma. Effects of prenatal exposure to 2, 2',

- 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl (PCB153) on somatic growth and thyroid status in male rat offspring. International Congress of Toxicology (ICT 10), Toxicol Appl Pharmacol 197: 230. (2004)
- 14) 宮川宗之, 小林健一, 王瑞生, 須田恵, 関口総一郎, 渡部すみ子, 本間健資. PCB153 (2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl) 出生前曝露が成長後のラットの認知・行動に及ぼす影響. 第76回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 45(Suppl.): 623. (2003)
- 15) 小林健一, 宮川宗之, 王瑞生, 須田恵, 関口総一郎, 渡部すみ子, 本間健資. PCB153 (2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl) 出生前曝露がラットの体成長及び甲状腺に及ぼす影響. 第76回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 45(Suppl.): 622. (2003)
- 16) 王瑞生, 渡部すみ子, 宮川宗之, 小林健一, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. 性ホルモン代謝に及ぼすノンプラナー型ポリ塩化ビフェニール曝露の影響. 第76回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 45(Suppl.): 624. (2003)
- 17) 本間健資, 須田恵, 王瑞生, 宮川宗之. 化学物質の複合曝露における影響評価. 第76回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 45(Suppl.): 653. (2003)
- 18) 城内博, 宮川宗之. 化学物質の分類と表示に関する国際調和 (GHS). 第76回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 45(Suppl.), 711. (2003)
- 19) 宮川宗之. 認知機能影響試験としての SCOB (Schedule-Controlled Operant Behavior); タイムアウト付交替型混合スケジュールによる短期記憶の測定と次世代影響測定への応用. 第15回産業神経・行動学研究会・神経行動毒性研究会研究交流会, 要旨集 p15-16. (2003)
- 20) 宮川宗之, 王瑞生, 小林健一, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. ラットの Schedule-Controlled Operant Behavior (SCOB) を用いた PCB153 (2, 2', 4, 4', 5, 5' - hexachlorobiphenyl) 出生前曝露の認知・行動影響評価. 第30回日本トキシコロジー学会学術年会, J Toxicol Sci 28(4), 317. (2003)
- 21) 小林健一, 宮川宗之, 王瑞生, 須田恵, 関口総一郎, 渡部すみ子, 本間健資. ラットにおけるノンプラナー型 PCB の出生前曝露が産仔の体成長および甲状腺におよぼす影響. 第30回日本トキシコロジー学会学術年会, J Toxicol Sci 28(4), 322. (2003)
- 22) 王瑞生, 渡部すみ子, 宮川宗之, 小林健一, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. 2, 2', 4, 4', 5, 5' - hexachlorobiphenyl (PCB153) 出生前曝露がラットの性ホルモン代謝に及ぼす影響. 第30回日本トキシコロジー学会学術年会, J Toxicol Sci 28(4), 336. (2003)
- 23) 宮川宗之, 小林健一, 王瑞生, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. PCB153 (2, 2', 4, 4', 5, 5' - Hexachlorobiphenyl) 出生前曝露がラットの Schedule-Controlled Operant Behavior (SCOB) に及ぼす影響. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会) 第6回研究発表会, 要旨集 p317. (2003)
- 24) 小林健一, 宮川宗之, 王瑞生, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. フタル酸ジ2-エチルヘキシル (DEHP) の妊娠期および授乳期曝露が仔ラットの発生におよぼす影響. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会) 第6回研究発表

- 表会, 要旨集 p 356. (2003)
- 25) 本間健資, 須田恵, 宮川宗之, 王瑞生, 小林健一, 関口総一郎. 出生前後における BPA ばく露とラット脳内神経伝達物質. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会) 第 6 回研究発表会, 要旨集 p357. (2003)
- 26) 王瑞生, 渡部すみ子, 宮川宗之, 小林健一, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. PCB153 出生前曝露によるラットの性ホルモン代謝への影響とそのメカニズム. 日本内分泌攪乱化学物質学会 (環境ホルモン学会) 第 6 回研究発表会, 要旨集 p370. (2003)
- 27) 小林健一, 宮川宗之, 王瑞生, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. BPA の母親ラットへの投与が産仔の脳下垂体-甲状腺系におよぼす影響. 第 50 回実験動物学会, 要旨集 p170. (2003)
- 28) Takeshi Honma, Muneyuki Miyagawa, Megumi Suda, Rui-Sheng Wang, Kenichi Kobayashi, Soichiro Sekiguchi Effects of perinatal exposure to bisphenol A on the brain monoamine contents of rats. The 9th Meeting of the International Neurotoxicology Association (INA-9), Book of Abstracts, p53. (2003)
- 29) Kenichi Kobayashi, Muneyuki Miyagawa, Rui-Sheng Wang, Megumi Suda, Soichiro Sekiguchi, Takeshi Honma Pituitary-thyroid axis in the postnatal rat offspring following gestational and lactational exposure to bisphenol A. 41th Congress of the European Sociences of Toxicology, Toxicology Letters 144, s175-176. (2003)
- 30) 小林健一, 宮川宗之, 王瑞生, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資内分泌かく乱化学物質の次世代影響の検討-脳下垂体・甲状腺系を中心として-. 第 23 回 In Vitro 発生毒性研究会環境ホルモンシンポジウム (1). (2002)
- 31) Takeshi Honma, Megumi Suda, Muneyuki Miyagawa, Toxicity Potentiation Observed in Combined Exposure to Chlorinated Organic Compounds. ICCEF 2002 (10th International Conference on the Combined Effects of Environmental Factors), Program and Abstracts, p84. (2002)
- 32) 宮川宗之, 王瑞生, 小林健一, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. 出生前及び授乳期における BPA の経母体曝露がラットのスケジュール制御オペラント行動に及ぼす影響. 第 75 回日本産業衛生学会講演集, 産業衛生学雑誌 44(Suppl.): 785. (2002)
- 33) 須田恵, 宮川宗之, 王瑞生, 小林健一, 関口総一郎, 本間健資. 出生前及び授乳期における BPA の経母体曝露がラットの脳内アミンに及ぼす影響. 第 75 回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 44(Suppl.): 786. (2002)
- 34) 小林健一, 宮川宗之, 王瑞生, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. 出生前及び授乳期における BPA の経母体曝露がラットの生殖腺・甲状腺の発達に及ぼす影響. 第 75 回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 44(Suppl.): 787. (2002)
- 35) 王瑞生, 渡部すみ子, 宮川宗之, 小林健一, 須田恵, 関口総一郎, 本間健資. 出生前及び授乳期における BPA の経母体曝露がラットの性ホルモンとその代謝酵素発現に及ぼす影響. 第 75 回日本産業衛生学会, 産業衛生学雑誌 44(Suppl.): 788. (2002)
- 36) 大谷勝己, 山崎蒼, 久保田久代, 宮川宗之. テトラゾリウム塩発色法による

H. 知的財産所有権の出願・登録状況
なし

- 簡便迅速なラット精巢毒性試験の開発
—プロパンの臭素化物を例として。第
75回日本産業衛生学会，産業衛生学雑
誌 44(Suppl.): 798. (2002)
- 37) 小林健一，王瑞生，宮川宗之，関口総
一郎，須田恵，本間健資。妊娠初期か
ら授乳期における BPA の経母体曝露が
仔ラットの成長および甲状腺機能に及
ぼす影響。第 29 回日本トキシコロジー
学会学術年会，J Toxicol Sci 27(4):
396. (2002)
- 38) 宮川宗之，小林健一，王瑞生，須田恵，
関口総一郎，本間健資。出生前及び授
乳期における BPA 経母体曝露による認
知・行動影響。日本内分泌攪乱化学物
質学会（環境ホルモン学会）第 5 回研
究発表会，要旨集 p 75. (2002)
- 39) 本間健資，須田恵，宮川宗之，小林健
一，王瑞生，関口総一郎。出生前及び
授乳期における BPA ばく露が仔ラット
の若齢期の脳内物質に与える影響。日
本内分泌攪乱化学物質学会（環境ホル
モン学会）第 5 回研究発表会，要旨集 p
335. (2002)
- 40) 王瑞生，渡部すみ子，小林健一，宮川
宗之，須田恵，関口総一郎，本間健資。
出生前及び授乳期における BPA 経母体
曝露が性ホルモンとその合成酵素活性
に及ぼす影響。日本内分泌攪乱化学物
質学会（環境ホルモン学会）第 5 回研
究発表会，要旨集 p336. (2002)
- 41) 小林健一，宮川宗之，王瑞生，関口総
一郎，須田恵，渡部すみ子，本間健資。
2, 2', 4, 4', 5, 5' -
hexachlorobiphenyl (PCB153) の妊娠
期曝露が仔ラットの成長に及ぼす影響。
日本内分泌攪乱化学物質学会（環境ホ
ルモン学会）第 5 回研究発表会，要旨
集 p 359. (2002)