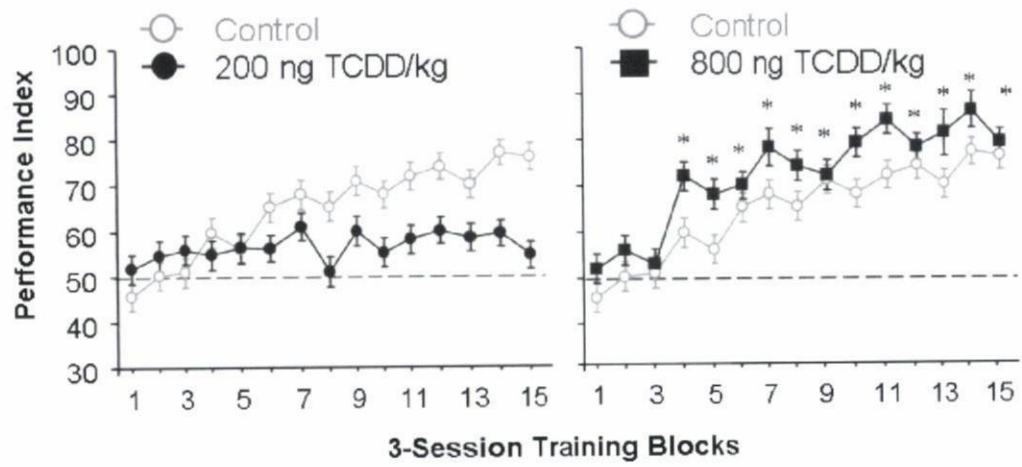


图 2

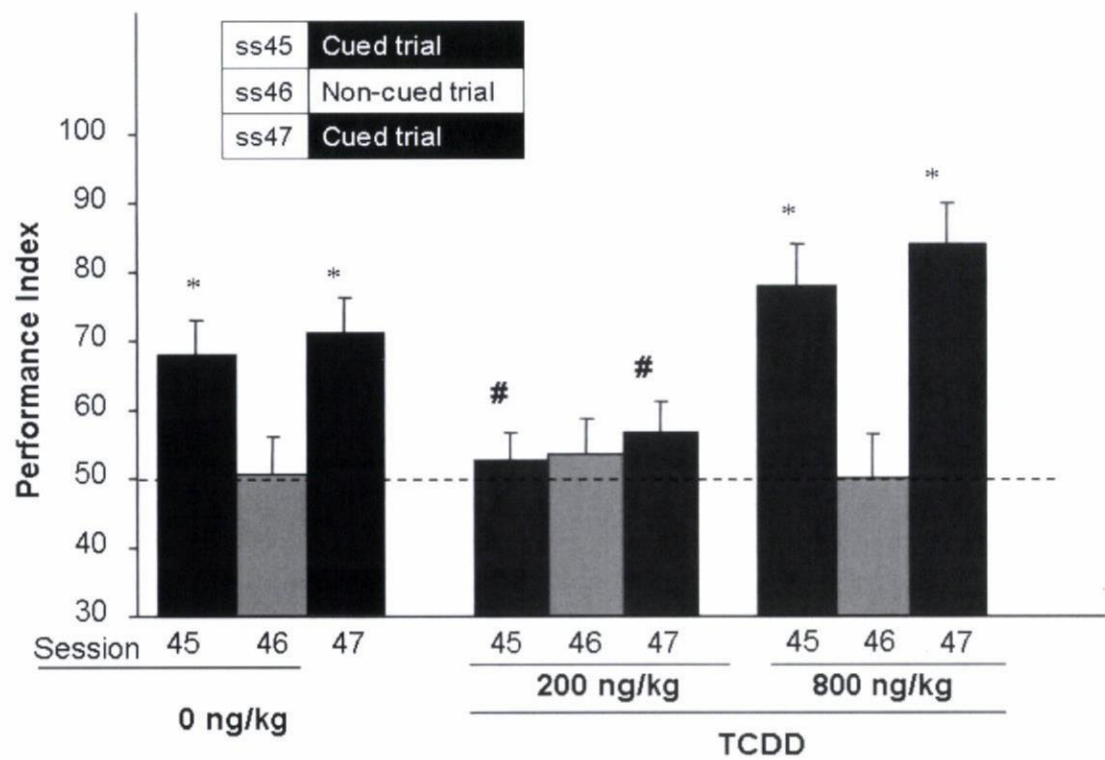
	0	TCDD (ng/kg)	
		200	800
Day 5	9.5 ± 1.74	36.5 ± 5.03*	15.0 ± 3.59
Day 10	12.0 ± 2.18	30.5 ± 2.85*	14.8 ± 0.73
Day 15	10.0 ± 3.60	45.3 ± 7.94*	7.3 ± 1.45
Day 20	3.3 ± 0.93	6.8 ± 2.26	3.8 ± 0.84

0; vehicle-exposed controls, *indicates $p < 0.05$, v.s. control group (n=6 in each group)

☒ 3



☒ 4



☒ 5

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

マウスの海馬および扁桃体の神経細胞に及ぼす発達期ダイオキシン曝露の影響
に関する研究

分担研究者 塚原 伸治

独立行政法人国立環境研究所 環境リスク研究センター 主任研究員

研究要旨

TCDD の発達期曝露は成熟個体の記憶学習や情動に影響を及ぼすことが指摘されている。しかしながら、曝露によって変容するこれらの機能への影響の詳細については不明な点が多く残されている。本研究では、記憶学習や情動に関与する海馬と扁桃体に着目し、これらの領域に存在する神経細胞とグリア細胞の細胞骨格タンパク質の発現に対する影響について検討した。TCDD あるいは臭素化ダイオキシンである TBDD を妊娠 12.5 日目に単回経口投与した母ラットから生まれた仔ラットの海馬および扁桃体を成熟期に採取した。採取した組織中の神経細胞の微小管結合タンパク質（tau と MAP2）およびアストログリアの骨格タンパク質（GFAP）の mRNA 発現レベルをリアルタイム PCR 法により解析した。その結果、TCDD 曝露群の雄マウスの扁桃体における tau および MAP2 の mRNA 発現レベルは対照群に比べて有意に増加したが、海馬の tau および MAP2 に対する影響はみられなかった。一方、TBDD を曝露した雄ラットの海馬における tau および MAP2 の mRNA 発現レベルは対照群に比べて有意に高く、扁桃体では TBDD 曝露の影響はみられなかった。雄マウスの海馬および扁桃体における GFAP の mRNA レベルは TCDD および TBDD の影響をうけなかった。雌マウスにおける tau、MPA2 および GFAP の mRNA 発現レベルに対する TCDD および TBDD 曝露の影響は有意ではなかった。以上の結果から、TCDD あるいは TBDD の発達期曝露は成熟した雄マウスの神経細胞の細胞骨格に影響を及ぼすことが示唆された。その影響は TCDD と TBDD との間で異なり、また、TCDD 曝露による影響については雌雄差があることも明らかになった。

A 研究目的

TCDD の発達期曝露は成熟期での記憶学習機能に影響を及ぼすことが

知られている。サルやラットでは、視覚弁別課題の逆転学習における成績が発達期の TCDD 曝露により低下す

ることが報告されている (Schantz et al., 1989; Seo et al., 1999)。他方、雄ラットの放射状迷路課題における学習成績は TCDD の発達期曝露により向上することも知られている (Seo et al., 1999)。また、妊娠 15 日目に TCDD を経口投与したマウスより産出された雄仔マウスでは、成熟期における恐怖条件付け文脈学習でのすくみ反応が低下することが報告されている (Mitsui et al., 2006)。これらの報告から、TCDD の発達期曝露が脳の発達に影響を及ぼし、成熟期において海馬や扁桃体などが関与する記憶学習や情動の機能を変容させていると思われる。しかしながら、その影響のメカニズムについては不明な点が多く残されている。

本研究では、TCDD の発達期曝露による海馬および扁桃体への影響を検証することを目的として、マウスの海馬および扁桃体における神経細胞の細胞骨格タンパク質である微小管結合タンパク質 (tau および MAP2) とアストログリアの細胞骨格タンパク質であるグリア繊維性酸性タンパク質 (GFAP) の mRNA 発現に及ぼす発達期 TCDD 曝露の影響を検討した。さらに、臭素化ダイオキシン類の一つである TBDD の発達期曝露の影響についても併せて検証した。

B 研究方法

1. 試験動物

ダイオキシン高感受性系統である

C57BL/6 マウス (LD50= 0.182 mg/kg) を用いた (Chapman & Schiller 1985)。東京大学クリーン飼育室で室温 24±2°C、湿度 35.0~75.0%、人工照明 (午前 8 時~午後 8 時点灯) で飼育した。滅菌したポリカーボネート製ケージ (280W×440D×180Hmm、東洋理工株式会社) を使用し、7 日に 1 回以上の頻度で交換した。実験動物用固型飼料 (ラボMRストック、日本農産工業製研究検定飼育用) を自由摂取させ、滅菌した水道水をポリカーボネート製給水ボトル (700ml、トキワ科学器械株式会社) を用いて自由に飲ませた。1 ケージあたり、F0 動物の検疫・馴化期間は 1~2 匹 (同性) で飼育した。

14 週齢で雄 1 雌 1 の交配对を単一のケージで設け、交配開始日の夕方から昼夜同居させた。交配開始日の翌日から雌の膣垢を毎日午前中に採取し、膣栓あるいは膣垢標本中に精子が認められた場合を交尾成立とし、その日を妊娠 0 日とした。妊娠 12.5 日目に下記披験物質を母体に投与した。一腹あたり一匹の雄および雌仔マウスを試験に供した。

2. 投与液

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)、2,3,7,8-Tetrabromodibenzo-p-dioxin (TBDD) 純度 99.9%、n-ノナン溶媒、50 µg/ml は Cambridge Isotope Laboratories 株式会社より購入した。これらは、最終濃度 4%の n-ノナン (ナカライテスク社製) を含むコー

シーオイル (シグマアルドリッチ社製) を溶媒とする溶液中に $0.06 \mu\text{g/mL}$ の投与溶液を作成した (体重 1kg あたり 1.0 mL の投与溶液を投与)。これらを妊娠 12.5 日目にマウス用胃ゾンデを装着したシリンジを用いて経口投与した (それぞれ、Control 群 (=対照群)、TCDD 群、TBDD 群)。

3. 組織試料の採取

安楽死したマウスの脳を摘出し、速やかに海馬および扁桃体の組織を採取した。扁桃体の組織試料を採取するため、視交叉を嘴側端にして厚さ 2 mm の前額断脳スライスを作製した。その後、肉眼観察により脳スライスの視索、内包および脳梁を確認し、微小ナイフを用いて、これらの組織構造により内周される実質組織を切り出した。採取した海馬および扁桃体の組織試料は、RNA 抽出用バッファーで粉砕懸濁した。

4. 試料調製

海馬および扁桃体における特異遺伝子の mRNA 発現量を解析するため、採取した組織試料よりトータル RNA を抽出した。トータル RNA 抽出は、キアゲン社の RNeasy Mini kit を使用して、同キットのプロトコルに従って実施した。分光光度計を用いて抽出したトータル RNA 量を測定した後、トータル RNA 500 ng を使用して逆転写反応により cDNA を作製した。逆転写反応には、TaKaRa 社の TaKaRa

PrimeScript RT reagent kit を使用した。

5. mRNA 発現量の解析

海馬および扁桃体における神経細胞とグリア細胞の細胞骨格タンパク質の発現に対する TCDD および TBDD 曝露の影響を検証するため、tau、MAP2 および GFAP の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法により解析した。リアルタイム PCR による解析は、SYBR Green I を検出試薬としたインターカレーター法によりおこなった。解析試料の cDNA (100 ng)、特異遺伝子のプライマー (200 nM) および SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa 社) を含む反応溶液 ($20\text{ }\mu\text{l}$) を調製し、ロッシュ社製ライトサイクラー ST300 を用いてリアルタイム PCR をおこなった。標準試料として、各試料の cDNA を等量混合し、段階希釈したものを使用した。解析対象にした特異遺伝子 (tau, MAP2, GFAP, GAPDH) のプライマー塩基配列を表 1 に示す。反応条件は、初期変性 (95C 、 10 秒)、PCR 反応 (95C 、 5 秒 → 60C 、 20 秒 : 50 サイクル) とした。PCR 反応終了後、融解曲線分析をおこない、増幅産物の均一性を確認した。各試料中の tau、MAP2 および GFAP の mRNA 発現量は、同一試料中のハウスキーピング遺伝子である GAPDH の mRNA 発現量で除算して、レベル補正値を求めた。

6. データ解析

各性別の海馬および扁桃体における

tau、MAP2 および GFAP の mRNA 発現レベルに対する TCDD あるいは TBDD 曝露の影響は、t-検定法を用いて解析した。

C 研究結果

雄マウスの海馬における tau、MAP2 および GFAP の mRNA 発現レベルは、TCDD 曝露群と対照群との間に有意な違いはみとめられなかった(図 1 A)。しかし、TCDD 曝露群における雄マウスの扁桃体の tau および MAP2 の mRNA 発現レベルは対照群に比べて有意に ($p < 0.05$) 高くなっていた(図 1 B)。雄マウスの扁桃体における GFAP の mRNA 発現レベルは TCDD 曝露の影響を受けなかった。

雄マウスの海馬における tau および MAP2 の mRNA 発現レベルは、TBDD 曝露により有意に上昇した (tau: $p < 0.0005$; MAP2: $p < 0.005$) (図 2 A)。特に、雄マウスの海馬における tau の mRNA 発現レベルに及ぼす TBDD 曝露の影響は顕著であり、その発現レベルは対照群のおよそ 2.5 倍であった。雄マウスの海馬における GFAP の mRNA 発現レベルに対する TBDD 曝露の影響はみられなかった。一方、雄マウスの扁桃体における tau、MAP2 および GFAP の mRNA 発現レベルは、TBDD 曝露群と対照群との間に有意な違いはみとめられなかった(図 2 B)。

雌マウスの海馬および扁桃体における tau、MAP2 および GFAP の mRNA 発現レベルは、TCDD 曝露群と対照群

との間に有意差はみとめられなかった(図 3)。しかしながら、雌マウスの海馬における tau の mRNA 発現レベルは TCDD 曝露により増加する一方 ($p = 0.055$)、GFAP の mRNA 発現レベルは減少する傾向がみられた ($p = 0.051$)。

D 考察

本実験では、雄マウスの扁桃体における tau および MAP2 の mRNA 発現レベルに及ぼす TCDD 曝露の影響および海馬における tau および MAP2 の mRNA 発現レベルに及ぼす TBDD 曝露の影響がみとめられ、TCDD あるいは TBDD の発達期曝露は記憶学習や情動の機能を司る脳領域の成熟期における神経細胞に対して影響及ぼすことが示唆された。

本研究結果では、雄マウスの海馬における tau および MAP2 の mRNA 発現レベルは TBDD 曝露により増加したが、扁桃体における曝露影響はみとめられなかった。これに反して、雄マウスの扁桃体における tau および MAP2 の mRNA 発現レベルは TCDD 曝露により有意に上昇したが、海馬における mRNA 発現レベルは TCDD 曝露によって変化しなかった。この結果は、曝露した TCDD と TBDD の脳への影響が異なっており、影響には脳領域特異性があることを示している。さらに、雄マウスの海馬および扁桃体における GFAP の mRNA レベルは TCDD および TBDD の曝露によって変化しな

かったことから、グリア細胞に対する曝露の影響に比較して、神経細胞に対する影響はより顕著である可能性があると考えられた。

TCDDの発達期曝露は成熟した個体の記憶学習の能力低下を引き起こすことが知られている。妊娠15日目にTCDD (1 µg/kg)を経口投与したマウスより産出された雄仔マウスでは、恐怖条件付け文脈学習でのすくみ反応が低下し、海馬CA1領域のリン酸化CREBのタンパク質発現量が減少する(Mitsui et al., 2006)。本研究では、海馬のtauおよびMAP2のmRNA発現はTCDDの発達期曝露によって変化しなかったが、扁桃体では影響がみとめられた。最近では、神経芽細胞腫におけるtauのリン酸化がTCDDによって増加することが報告されている

(Sul et al., 2009)。TCDDの発達期曝露が成熟期における扁桃体のtauとMAP2の発現制御を修飾することで、神経細胞の細胞骨格に影響を及ぼし、ひいては扁桃体機能を変容させる一因になる可能性があると考えられた。海馬のtauおよびMAP2のmRNA発現についてはTBDD曝露による影響がみとめられた。しかしながら、TBDD曝露による記憶学習機能への影響については不明な点が多く残されており、今後詳細な解析が必要である。

発達期のTCDD曝露による扁桃体のtauおよびMAP2の発現への影響は雄マウスではみとめられたが、雌マウスではみられなかった。このことは、

TCDD曝露による影響には性差があることを示している。発達期のTCDD曝露による記憶学習機能への影響は雌よりも雄において顕著であることが報告されている(Seo et al., 1999; Mitsui et al., 2006)。本研究結果は、これらの報告が指摘するTCDDの曝露影響の性差を支持するものである。

E 結論

TCDDおよびTBDDの発達期曝露は、成熟した個体の記憶学習や情動を司る脳領域の神経細胞におけるtauおよびMAP2の発現を修飾することが明らかになった。

F 参考文献

- Schantz SL and Bowman RE (1989) Learning in monkeys exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Neurotoxicol. Teratol.*, 11, 13-19.
- Seo BW, Sparks AJ, Medora K, Amin S, Schantz SL (1999) Learning and memory in rats gestationally and lactationally exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Neurotoxicol. Teratol.*, 21, 231-239.
- Mitsui T, Sugiyama N, Maeda S, Tohyama C, Arita J (2006) Perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin

suppresses contextual fear conditioning-accompanied activation of cyclic AMP response element-binding protein in the hippocampal CA1 region of male rats. *Neurosci. Lett.*, 398, 206-210.

Sul D, Kim HS, Cho EK, Lee M, Kim HS, Jung WW, Hwang KW, Park SY (2009) 2,3,7,8-TCDD neurotoxicity in neuroblastoma cells is caused by increased oxidative stress, intracellular calcium levels, and tau phosphorylation. *Toxicology*, 255, 65-71.

G. 図の説明

図1. 雄マウスの海馬 (A) および扁桃体 (B) における tau、MAP2 および

GFAP mRNA 発現レベルに対する TCDD 曝露の影響。*, 有意差あり ($p < 0.05$)。n=5.

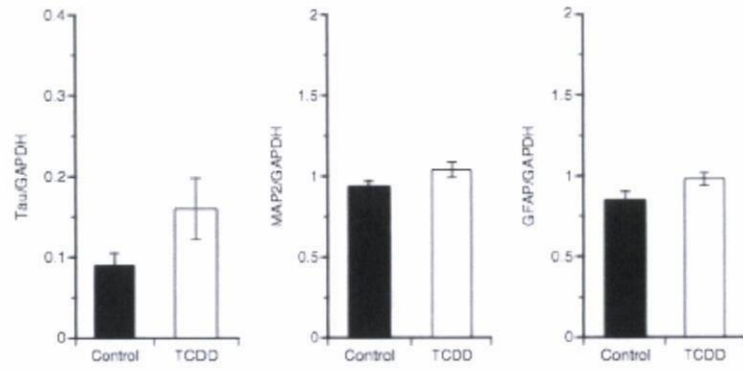
図2. 雄マウスの海馬 (A) および扁桃体 (B) における tau、MAP2 および GFAP mRNA 発現レベルに対する TBDD 曝露の影響。†, 有意差あり ($p < 0.005$) ; ††, 有意差あり ($p < 0.0005$)。n=5.

図3. 雌マウスの海馬 (A) および扁桃体 (B) における tau、MAP2 および GFAP mRNA 発現レベルに対する TCDD 曝露の影響。n=5.

表 1. リアルタイム PCR に使用したプライマーの塩基配列

Target gene	Forward primer (5' to 3')	Reverse primer (5' to 3')	NCBI reference sequence
tau	GCCCAGGGCTACCTATT	CAAGGACAGGAACTGCG	NM_001038609 and NM_010838
MAP2	CTCTTTCTCTCTGAATAGCTCCATC	GGGTACGTGAAGAGTAGCTTG	NM_001039934 and NM_008632
GFAP	CGGCTGGACCAGCTTAC	TCTGCCTCCTGTCTATACGC	NM_001131020 and NM_010277
GAPDH	CACTGCCACCCAGAAGA	TCCACGACGGACACATT	NM_008084

(A) 海馬



(B) 扁桃体

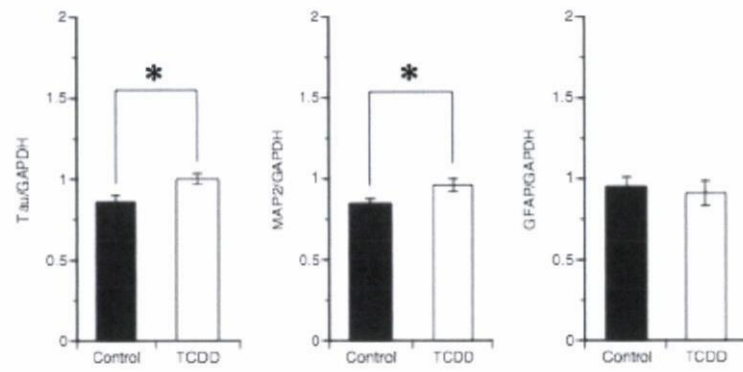
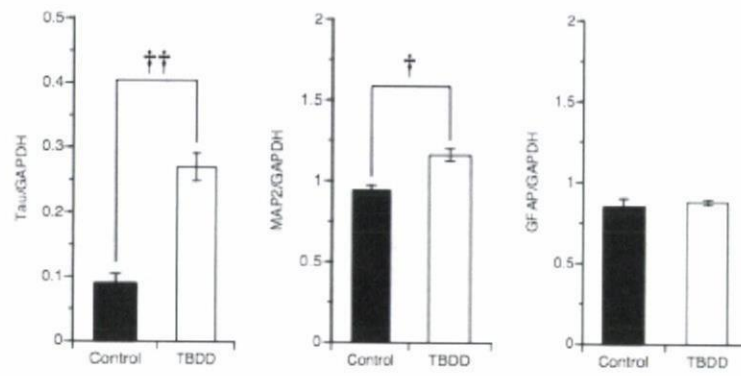


図 1

(A) 海馬



(B) 扁桃體

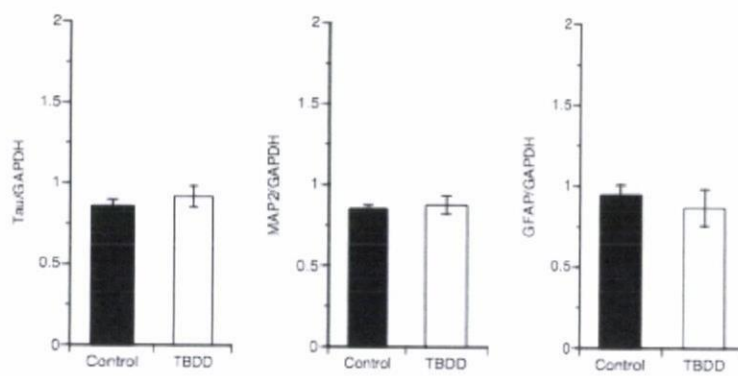
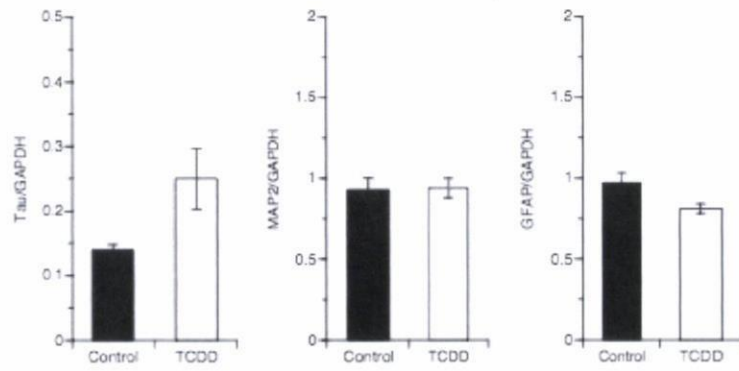


図 2

(A) 海馬



(B) 扁桃體

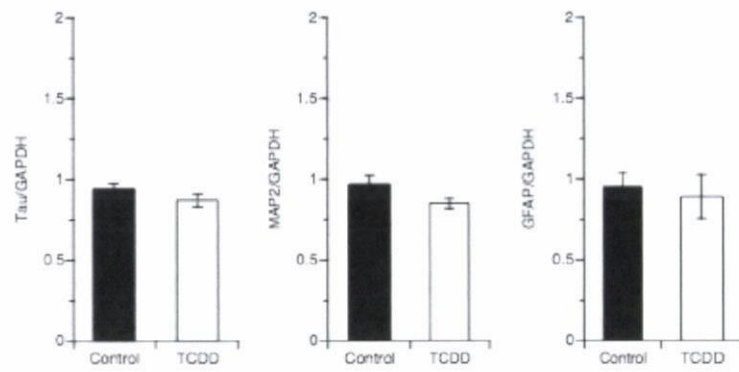


図 3

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

バレル皮質を用いた化学物質の神経系発達期における作用の評価に関する研究

主任研究者 船橋 利也
横浜市立大学 医学部生理学 准教授

研究要旨

本年度は、化学物質の中樞神経系への影響を見る目的でその指標を探索した。その中で、発達期においてラットのバレル皮質のシナプス形成がホルモン曝露の影響を受けることが明らかとなった。すなわち、IV層を電気刺激してII/III層で記録した場合、そのシナプスにおけるAMPA受容体GluR1のシナプスへの移行が雄性特異的にエストロゲン依存性であることがわかった。また、エストロゲンは局所で作用していることが示唆された。このことは、様々な精神疾患の罹患率に性差のあること、特に発達障害の性差の形成機序を考える上で大変興味深い知見がもたらされた。

A 研究目的

神経系の発達期は様々な環境の変化の影響を受けやすい時期で、この時期における発達の障害は、後の高次機能に様々な影響を与える。例えばラットのバレル皮質は、ヒゲの経験依存的に刺激を受けて、II/III層のシナプスではAMPA受容体のシナプスへの移行をもとにした可塑的な変化が起こっている。一方で、グルタミン酸を神経伝達物質にする興奮性のシナプスは、早い応答はNMDA受容体とAMPA受容体を介して行われ、特にAMPA受容体のシナプスへの移行が経験依存的な可塑的な変化、例えば学習や記憶の

成立に重要であると言われている。

AMPA受容体はGluR1～GluR4をサブユニットとして4量体で構成され、わけでもGluR1とGluR4のシナプスへの移行が可塑的な変化に重要であると言われている。バレル皮質においては、生後12日の発達期にGluR1がヒゲの経験依存的にII/III層のシナプスに移行する。そこで、このシナプスへの移行を電気生理学的に調べることにした。

B 研究方法

3. 実験動物

生後12日齢の雌雄のSDラットを実

験に用いた。フロセン麻酔下に両側のバレル皮質のII/III層を中心にリコンビナント GluRI-GFP-シンドビスを投与し、同時にごま油もしくはタモキシフェンを皮下に投与した。次の実験では、リコンビナント GluRI-GFP-シンドビスとタモキシフェンを混合して投与した。最終的にはリコンビナント GluRI-GFP-シンドビスとエストロジェン受容体アンタゴニストを混合して投与した。投与 40-48 時間後にフロセン麻酔にて安楽死の後、直ちに断頭し、ブレインスライサーにより厚さ 295 μm の切片を作成した。人工脳脊髄液で環流しながらIV層を刺激し、II/III層から記録した。

4. ウイルス調整

GluRI のシグナルペプチドの下流に GFP を挿入したリコンビナント GluRI をシンドビスウイルスに組み替え、定型的に 293T 細胞を用いてウイルス粒子を得た。

5. 電気生理

ホールセル・パッチクランプ法を用いて、目的とする細胞から電気記録を行った。Axopatch-1D アンプにて増幅の後、DigiData 1322 を用いてパソコン内にデータを記録した。解析は、pClamp 10.0 を用いて行った。

C 研究結果

II/III層からグルタミン酸を介したシナプス応答が記録された。通常の小

胞では内向き整流指数 (+40 mV/-60 mV) は約 1.5 であるが、GFP 陽性のものからは有意に大きい内向き整流指数が雌雄ともに得られた (図 1)。しかし、エストロジェン受容体のアンタゴニストであるタモキシフェンを投与すると雄性ラットにおいてのみ内向き整流指数がおおきくならなかった。またタモキシフェンは局所に投与しても作用は同様であった。そこで雄性ラットを用いて、どのタイプのエストロジェン受容体を介しているのか調べるために α もしくは β に選択的なアンタゴニストを投与したところ、エストロジェン β の選択的なアンタゴニストのみが作用した。

D 考察

ラットのバレル皮質は、ヒゲの経験という刺激に反応してII/III層のシナプスでは可塑的な変化が惹起される。その中心となるのは AMPA 受容体 GluRI もしくは GluR4 のシナプスへの移行である。少なくとも生後 12 日の時期では GluRI である。一方で、学習や記憶の分子基盤となる long-term potentiation の成立にやはり GluRI のシナプスへの移行が必須の役割を演じている。

この時期にバレル皮質が正常に発達しないと何が起こるであろうか。その一つは、いわゆるバレルのマップの乱れである。齧歯類のヒゲは体性感覚の受容として重要で、一つの認知機能と考えられる。従って、バレルの形成

不全は、単なる体性感覚の乱れのみならず認知機能の障害となることが推測される。このことは、バレル皮質の発達という過程が、様々な発達障害の神経生物学的な背景となっている可能性がある。

本実験から、エストロジェンが雄性特異的にエストロジェン受容体 β を介してバレル皮質に作用して、GluRIのシナプス移行を促している事が示唆された。このことは雄においてのみエストロジェンが作用していることを推測させる。

エストロジェンは中枢神経系において、生殖機能を調節するのみならず様々な役割を演じている。例えば海馬においては、エストロジェン受容体 β を介して long-term potentiation の成立を促す作用をもっている。従って、エストロジェンがエストロジェン受容体 β を介して GluRI のシナプスへの移行を促すことは説明が合致する。

本研究ではいかなる機序によりエストロジェンにより GluRI のシナプスへの移行が否がされるのか全く不明である。しかし、二つの点が重要である。

第一点は、このような現象があるが故、バレルの発達には脆弱性があり、化学物質の格好の標的となることである。第二点は、性差のある現象である。この理由も定かではないが、やはり性差の認められる様々な精神疾患の温床となる危険性がある。

E 結論

雄性ラットのバレル皮質は環境の変化に対して脆弱である可能性が示唆された。このことはある種の精神疾患の性差の神経生物学的な背景に、AMPA 受容体のシナプスへの移行が関与している可能性が示唆された。

F 参考文献

Mitsushima D, Takase K, Funabashi T, Kimura F. Gonadal steroids maintain 24 h acetylcholine release in the hippocampus: organizational and activational effects in behaving rats. *J Neurosci*. 2009 29: 3808-15

Win-Shwe TT, Mitsushima D, Yamamoto S, Funabashi T, Fujimaki H. Strain differences in extracellular amino acid neurotransmitter levels in the hippocampi of major histocompatibility complex congenic mice in response to toluene exposure. *Neuroimmunomodulation*. 2009 16: 185-90

Murota Y, Fujii M, Sugiyama Y, Funabashi T, Yagami T, Takahashi T, Goshima Y. DOPA cyclohexyl ester, a DOPA antagonist, blocks the depressor responses elicited by microinjections of nicotine into the nucleus tractus solitarii of rats. *Neurosci Lett*. 2008 442: 114-7.

Takase K, Mitsushima D, Funabashi T, Kimura F. Postpubertal feeding

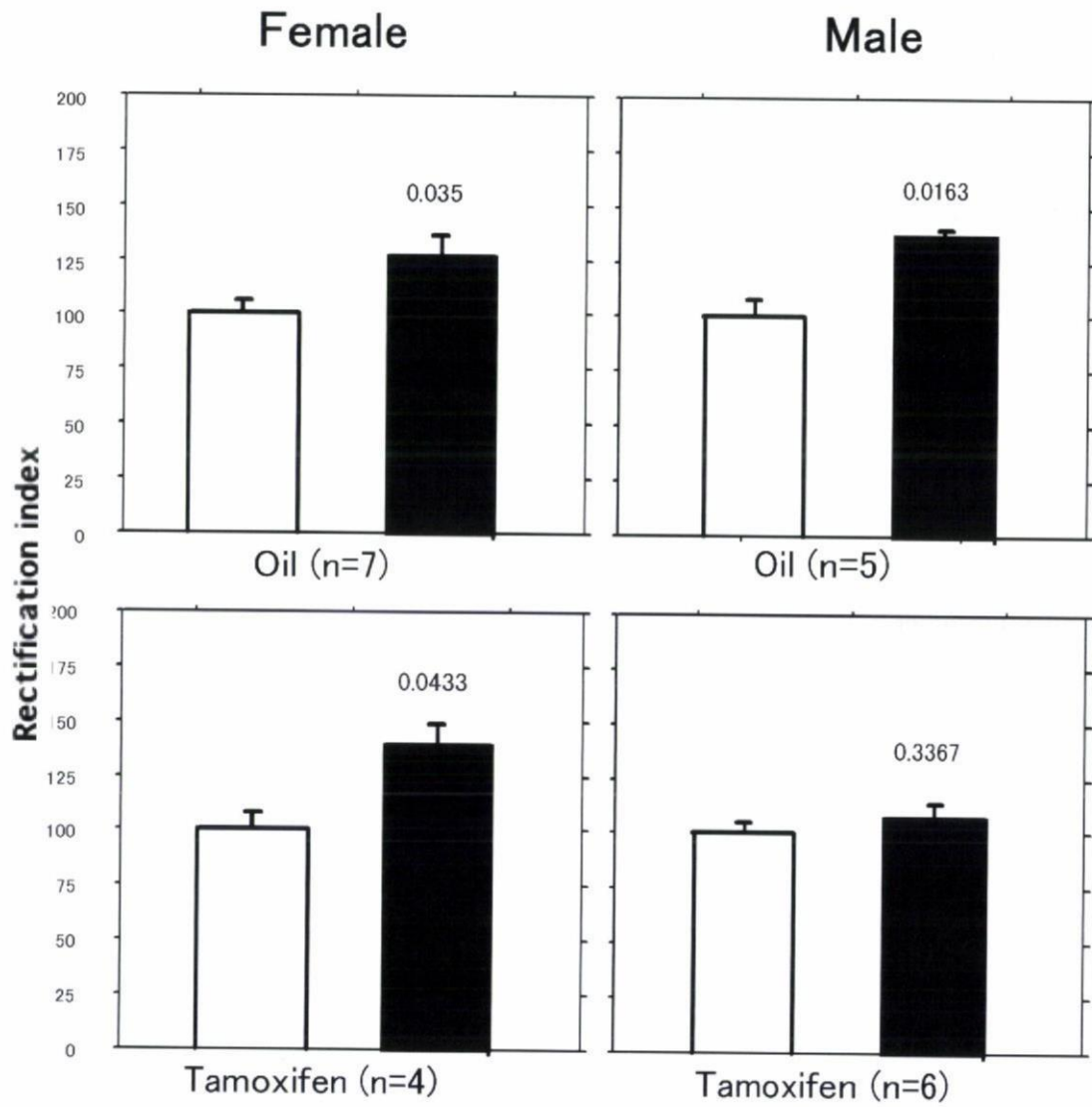
experience affects sex-specific spatial ability in rats. *Physiol Behav.* 2008 93: 553-9.

Mitsushima D, Takase K, Funabashi T, Kimura F. Gonadal steroid hormones maintain the stress-induced acetylcholine release in the hippocampus: simultaneous measurements of the extracellular acetylcholine and serum corticosterone levels in the same subjects. *Endocrinology.* 2008 149: 802-11.

Tin-Tin-Win-Shwe, Mitsushima D, Yamamoto S, Fukushima A, Funabashi T, Kobayashi T, Fujimaki H. Changes in neurotransmitter levels and proinflammatory cytokine mRNA expressions in the mice olfactory bulb following nanoparticle exposure. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008 226: 192-8.

G. 図の説明

図1. 雌雄12日齢ラットの内向き整流指標に及ぼすタモキシフェンの効果。



厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

マウス集団型全自動行動解析システムを用いた毒性試験に関する研究

研究代表者 掛山 正心

東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 助教

研究要旨

われわれはこれまでに、イベント・アリーナ装置における Flavor Map 法を確立し、ラットにおける対連合学習を数週間で成立させることに成功した。本研究では、Flavor Map 試験時の神経活動依存的蛋白の発現を組織学的に解析し、Flavor Map 試験が確かに大脳新皮質依存性の学習課題であることを確認した。次に、ダイオキシン発達期曝露ラットをモデルとして、毒性試験への適用を行った。その結果、低用量ダイオキシン曝露特異的に対連合学習機能を阻害することが明らかとなった。

研究協力者

遠藤俊裕（東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター） 藪島旭（東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター）、小川園子（筑波大学大学院人間総合科学研究科）

A 研究目的

現行 TDI の再評価（ダイオキシンの健康影響評価に関するワーキンググループ報告書、平成 14 年）では、最も感受性の高いエンドポイントとして生殖毒性が議論された。しかしその後、より低用量曝露であっても学習機能に影響が現れることが報告されている（生殖毒性の LOAEL 25 ng/kg に対して、2.7 ng/kg、Hojo et al. 2002）。

子どもの脳機能の健全な発達を願う社会のニーズも強く、ダイオキシン類の発達神経毒性について検討を進めていく必要がある。しかし、行動毒性実験で定評のある Schantz 博士らは、ダイオキシンにより学習行動試験の成績が上昇したと報告するなど (Seo et al. 2000)、動物種や研究室により試験結果が異なるのが実情である。

我々はラットに低用量のダイオキシンを発達期に曝露することにより、対連合学習機能の阻害とうつ様症状が惹起されるとの実験結果を得た。この結果は次の点で興味深く、同時に今後の問題点（必要性）を提起している。第一に、ダイオキシン影響の用量特異的な影響である。