

厚生労働科学研究補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

化学物質の臨界期曝露による生殖内分泌機能の初期影響に視床下部
キスペプチンニューロンの部位特異的变化が果たす役割と閾値に関する研究

分担研究課題：化学物質およびホルモンの臨界期曝露による神経内分泌系への遅発型影響
に対する神経行動学的アプローチ

研究分担者：川口真以子 学校法人明治大学 農学部 動物環境学研究室
研究協力者：服部達哉 学校法人明治大学 研究・知財戦略機構

研究要旨（枠囲）

本研究は周生期にエストロゲン様作用をもつ化学物質(EDs)のうち17 α -ethynyl estradiol(EE)およびTriphenyl phosphate(TPhP)を連続曝露し、雌ラットの発達と成長後の社会性行動発現への影響を明らかにすることを目的とした。その結果、EEは周産期連続曝露によって卵巣の発達を抑制し、成熟後の性行動中の雌特異的な社会性行動を抑制することを明らかにした。さらに、これまでin vivo条件下でのエストロゲン様作用が不明であったTPhPは、その曝露濃度依存的に成熟後の性行動をEEと同様に抑制する作用を持つことを明らかにした。これらの結果は、EDsの臨界期曝露による行動神経内分泌学的変異を示すものであり、化学物質の遅発型影響の機序解明へ必要な知見を示している。また、早期指標を目指した母子分離誘発蹄鳴反応試験において抗不安薬の投与により性差が検出されることを示した。

A 研究目的

多くの動物は雌雄2つの性を持ち、有性生殖を行う。その結果、子孫は多様性に富み、変化し続ける周辺環境へ柔軟な対応をすることが可能になる。この有性生殖を行うためには、雌雄が互いに性特異的な行動を示すことが必要不可欠となる。雌特異的あるいは雄特異的な行動は、脳により制御されることから脳にもまた「性」が存在する。性的に未分化な状態の脳は、卵巣や精巣から分泌される性ホルモンにより性分化の方向性が決定される時期が存在し、これを臨界期と呼ぶ。ラットの臨界期は、出生前5日から出生後5日の間に存在すると報告されており、この時期に性ホルモン様作用をもつ化学物質の曝露を受けると正常な脳の性分化が阻害される場合がある(Negri-Cesi et al., J Steroid Biochem Mol Biol. 2008; Golub et al., Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2010)。昨年度まで、私たちはエストロゲン様物質(EDs)の1つである17 α -etynyl estradiol(EE)を生後24時間以内(周生期)に単回曝露し、その成長後の社会性行動などへの影響を調査した。その結果、

EE曝露は濃度依存的に雌ラットの性選好性を消失させること、性行動中の雌特異的な行動を抑制することを見出した。これらの結果は、周生期の高濃度エストロゲン様物質曝露によって、正常な脳の雌化が阻害され、成熟後の雌特異的な行動の一部が抑制される可能性を示唆している。

室内ダスト中に検出される難燃剤の1つであるTriphenyl phosphate(TPhP)は、培養細胞を用いた(in vitro)研究からエストロゲン作用を持つ化学物質であると報告されている(Suzuki et al., Environ Sci. Technol. 2013)。しかしながら、TPhPが動物の体内(in vivo)に取り込まれた場合、エストロゲン様物質としてどのような影響をもつか、さらには、幼若期あるいは成熟期といった異なる成長段階にある動物へどのような影響をもつかもまた不明である。これまでに、周生期雄ラットに対し、TPhPを28日間連続で経口投与し成長後の社会性行動を解析した。その結果、TPhPを連続曝露された雄ラットは、雌ラットとの性行動中の雄特異的な行動の一部が低下することを見出した。

そこで本年度は、周生期雌ラットに対し、EE および TPhP を 28 日間経口投与し、成長後の社会性行動を解析することで、雌ラットへの EE ならびに TPhP の影響評価を行うことを目的とした。このため、本研究では以下の 2 つの解析を行った。

(1) 発達への影響を評価するために、連続経口投与終了直後である 4 週齢 (幼若期、) と 15 週齢 (成熟期、) の試験雌ラットの臓器重量を測定

(2) 社会性行動への影響を評価するために、12-14 週齢試験雌ラットの性選好性試験 ()、試験雌ラットと同週齢の雄ラット () あるいは同週齢の雌ラット () との性行動を解析

上記の実験に加えて、EDs の行動学的早期指標を確立するために、母子分離誘発啼鳴反応試験にて性差が検出される条件について検討した。

B 研究方法

<EE ならびに TPhP 周生期曝露の影響>

生後 24 時間以内の Wistar-Imamichi 系雌ラットに対して、Sesame oil、Sesame oil に溶解した TPhP (和光純薬工業株式会社) あるいは EE (Sigma Aldrich, USA) を 28 日間連続で経口投与した。それぞれの物質の 1 日あたり投与量は、Sesame oil は 5 ml/kg (X-Ctrl 群)、TPhP は 25 mg/kg (X-LTP 群) あるいは 250 mg/kg (X-HTP 群)、EE は 15 µg/kg (X-EE 群) とし、4 群を作出した。また、周生期雄ラットに対して Sesame oi (5 mg/kg/day) を 28 日間連続で経口投与した群 (Y-Ctrl 群) を同時に作出した。これらの雌雄ラットは一腹あたり 8 匹ずつになるよう里子操作を行い、生後 21 日齢で離乳した。離乳した雌雄ラットは各ケージ 4 匹ずつ、同性で群飼育した。

幼若期臓器重量測定

4 週齢時、各試験雌ラット群のうち半数の体重を測定し、剖検後、肝臓、腎臓、卵巣、そして子宮の各臓器の重量を測定した。また同時に生殖器から肛門までの距離 (Anogenital distance) を測定した。

各群、残り半数は 8 週齢時に卵巣摘出術 (OVX) を行い、卵巣由来の性ホルモンによる影響を排除した。これらの OVX 雌ラットを

行動試験に用いる場合は、試験開始 48 時間前に Estradiol benzoate (EB) を 0.5 µg/ 0.1 ml、さらに 4 時間前に Progesterone を 500 µg/ 0.1 ml、それぞれ皮下投与し、発情誘起処置を行った。

性選好性試験

黒色塩化ビニル製ケージへ成熟雌ラットおよび雄ラット床敷を左右それぞれへ設置した。その後、試験開始前に発情誘起処置を行った 12 週齢の各群雌ラットおよび雄ラットを単独で導入し、5 分間の行動を上部から撮影し録画した。これらの動画を解析し、雌雄床敷領域への接近行動時間・滞在時間を測定した。

雄ラットとの性行動試験

性選好性試験終了後、雌ラットは透明アクリル製ケージへ移動し、60 分の馴化後、同週齢の性経験済み相手雄ラットを導入し、60 分間の行動を正面から撮影し録画した。これらの動画を解析し、相手雄ラットのマウント行動発現回数、試験雌ラットの誘惑行動 (Ear wiggling、Hopping)、拒否行動、そして雄受容姿勢 (Lordosis) の発現回数を測定した。さらに、雄受容姿勢発現回数は、雄ラットのマウント行動発現回数に対する割合を示す Lordosis 商に用いた。

雌ラットとの性行動試験

試験 終了から 1 週間後、再び試験雌ラットへ発情誘起処置を行い、試験 と同様の透明アクリル製ケージへ移動し、60 分の馴化後、同週齢の発情誘起処置済み OVX 相手雌ラットを導入し、60 分間の行動を正面から撮影し録画した。これらの動画を解析し、試験雌ラットのマウント行動発現回数、誘惑行動 (Ear wiggling、Hopping)、攻撃行動を測定した。

成熟期臓器重量測定

OVX の際に体重と卵巣重量を測定した。また全ての行動試験終了後、各群の試験雌ラット (15 週齢) の体重を測定し、剖検後、肝臓、腎臓、そして子宮の各臓器重量を測定した。また同時に Anogenital distance を測定した。

<母子分離誘発啼鳴反応の性差>

0 週齢 Wistar-Imamichi 系雌ラットにおいて、母親および同腹仔から引き離されると発する、20 kHz ~ 60 kHz の超音波領域に主成分を持つ啼鳴反応を指標に、啼鳴反応における 3 時間

前のジアゼパム経口投与の影響が、性差を有するか否かを検討した。仔ラットを母獣から分離後、すぐに防音箱内のシャーレに入れ5分間測定した。鳴き声はマイクロホン(CO-100K、三研マイクロホン株式会社)で集音してアンプ(OCTA-CAPTURE、ローランド株式会社)で増幅し、Spectra PLUS 5.0 (Pioneer Hill Software、Poulsbo)にて解析した。

<倫理面への配慮>

動物の管理、行動試験の実施は明治大学農学部動物実験委員会の許可の下で行った。特に、行動試験は、動物に対し耐え難い苦痛を与えないよう十分な配慮のもと行った。

C 研究結果

<EE ならびに TPhP 周生期曝露の影響>

幼若期臓器重量測定

測定した体重について群間で差はなく、各化学物質の影響は認められなかった($F_{(3,10)} = 2.05, P = 0.11$) (表1)。また、体重あたりに換算した各臓器重量について群間で差は認められず、各化学物質の影響は認められなかった(肝臓： $F_{(3,10)} = 0.87, P = 0.52$ 、腎臓： $F_{(3,10)} = 1.39, P = 0.27$ 、卵巣： $F_{(3,10)} = 0.37, P = 0.86$ 、子宮： $F_{(3,10)} = 1.61, P = 0.20$) (表1)。Anogenital distance については、群間で差が認められ($F_{(4,61)} = 27.22, P < 0.01$)、Y-Ctrl 群がその他全ての群と比較して長くなったが($P < 0.01$)、各化学物質の影響は認められなかった(図1A)。

性選好性試験

性選好性試験では、各群について雌床敷への接近行動時間と雄床敷への接近行動時間の差(性選好性スコア)について比較したところ、群間に差が認められ($F_{(4,35)} = 4.61, P < 0.01$)、X-EE 群と Y-Ctrl 群の性選好性スコアが、X-Ctrl 群のそれと比較して高いことが明らかになった($P < 0.05$) (図2)。一方で、X-LTP 群あるいは X-HTP 群の性選好性スコアは、いずれの群とも差がなかった(図2)。

雄ラットとの性行動試験

性行動試験では、各群に対する相手雄ラットのマウント行動発現回数に群間で差が認められ($F_{(3,27)} = 3.87, P < 0.05$)、X-EE 群へのマウント行動発現回数が、X-LTP 群と比較して

少ないことが明らかになった($P < 0.01$) (図3A)。また、試験雌ラットの Lordosis 商に群間で差が認められ($F_{(3,27)} = 18.34, P < 0.01$)、X-EE 群の Lordosis 商が、他の全ての群と比較して低いことが明らかになった($P < 0.01$) (図3B)。試験雌ラットの誘惑行動の1つである Ear wiggling の発現回数にも群間で差が認められ($F_{(3,27)} = 8.08, P < 0.01$)、X-EE 群の Ear wiggling 発現回数が、他の全ての群と比較して少ないことが明らかになった($P < 0.05$) (図3C)。さらに Hopping 発現回数に群間で差が認められ($F_{(3,27)} = 5.80, P < 0.01$)、X-HTP 群と X-EE 群の Hopping 発現回数が、X-Ctrl 群と比較して少ないことが明らかになった($P < 0.01$) (図3D)。一方で、X-LTP 群の Hopping 発現回数は、他のすべての群と比較して差は認められなかった(図3D)。そして雄のマウント行動に対する拒否行動の発現回数は群間で差は認められなかった($F_{(3,27)} = 1.35, P = 0.28$) (図3E)。

雌ラットとの性行動試験

性行動試験では、雌ラットに対する各試験雌ラットマウント行動発現回数に群間の差は認められなかった($F_{(3,27)} = 4.07, P = 0.78$) (図4A)。また、試験雌ラットの誘惑行動のいずれの発現回数にも群間の差は認められなかった(Ear wiggling: $F_{(3,27)} = 1.34, P = 0.28$; Hopping: $F_{(3,27)} = 0.91, P = 0.45$) (図4C, D)。そして雌ラットに対する攻撃行動の発現回数も群間の差は認められなかった($F_{(3,27)} = 2.15, P = 0.12$) (図4B)。

成熟期臓器重量測定

OVX 時(8週齢)に測定した試験雌ラットの体重に群間で差が認められ($F_{(3,60)} = 8.75, P < 0.01$)、X-EE 群の体重が他の全ての群と比較して増加していることが明らかになった($P < 0.05$) (表2)。また体重あたりに換算した卵巣重量について群間で差が認められ($F_{(3,60)} = 7.51, P < 0.01$)、X-EE 群の卵巣重量が低下していることが明らかになった($P < 0.05$) (表2)。

全ての行動試験終了後の15週齢時には、測定した体重について群間で差が認められたが($F_{(5,21)} = 3.99, P < 0.05$)、各化学物質の影響は認められなかった(表3)。また、体重あたりに換算した各臓器重量については群間で差はなく、各化学物質の影響は認められなかった

(肝臓: $F_{(5,22)} = 1.18, P = 0.36$ 、腎臓: $F_{(5,22)} = 2.32, P = 0.08$ 、子宮: $F_{(5,21)} = 1.92, P = 0.15$) (表 3)。Anogenital distance については、群間で差が認められ ($F_{(4,46)} = 116.03, P < 0.01$) Y-Ctrl 群がその他全ての群と比較して長くなったが ($P < 0.01$) 各化学物質の影響は認められなかった (図 1B)。

<母子分離誘発啼鳴反応の性差>

ジアゼパム 1 ml/kg 投与による母子分離誘発啼鳴反応の低下が雄で有意に表れる一方、雌では表れにくいという性差を検出した。

D 考察

<EE ならびに TPhP 周生期曝露の影響>

エストロゲン様物質の発達への影響を評価するために、幼若期および成熟期のそれぞれの体重と化学物質の代謝に関わる肝臓、体外の排泄に関わる腎臓、エストロゲンの主要産生組織である卵巣、そして性ホルモンの作用部位の 1 つである子宮、これら各臓器の重量を測定した。その結果、化学物質の曝露終了直後では、体重と各臓器重量へ化学物質の影響は認められないことが明らかになった。その一方で、性成熟完了直後の 8 週齢時では、EE 曝露によって体重の増加と卵巣重量の低下が認められた。成熟期では、ふたたび体重や卵巣以外の各臓器重量への化学物質の影響が認められなかった。これらの結果は、周生期 EE 曝露が、卵巣組織の発達を抑制していること、さらには体重の増加が認められたことから摂食行動を抑制する卵巣由来のエストロゲン分泌量の低下、あるいはエストロゲンの作用点であるエストロゲン受容体の活性低下を引き起こしている可能性が示唆された。一方で、個体の成長にともない顕著に雌雄で異なる長さを示す Anogenital distance については、幼若期および成熟期のいずれの時期において、化学物質の影響は認められなかった。

社会性行動への影響を評価するために、成熟ラットの床敷に対する接近行動を解析し、雌雄どちらの床敷に対して性選好性を示すかを調査した。その結果、雌ラットへの EE 曝露は、雄床敷よりも雌床敷へ強い性選好性を示す、すなわち雄型の性選好性を示すことを明らかにし、EE 曝露によりその性選好性が雄

型化する可能性が示唆された。その一方で、TPhP 曝露は、雄ラットの性選好性スコアとの差を消失させることから、正常な雌型性選好性の成立を阻害する可能性が示唆された。成熟雄ラットとの性行動試験では、雌特異的な性行動である雄受容姿勢、誘惑行動に着目し解析した。その結果、雌ラットへの EE 曝露により雄受容姿勢、誘惑行動のいずれも示さなくなることが明らかになった。一方で、TPhP 曝露は雄受容姿勢の発現に影響はないものの、高濃度の TPhP 曝露では誘惑行動のうち Hopping の発現が減少する、すなわち曝露濃度により異なる影響があることが明らかになった。成熟雌ラットとの性行動試験では、試験雌ラットのマウント行動、誘惑行動、攻撃行動のいずれの行動発現回数についても化学物質の影響は認められなかった。しかしながら、EE 曝露によって雌ラットへの攻撃行動が増加していることや、TPhP は曝露濃度の違いにより、雌ラットに対してマウント行動が増加する、あるいは攻撃行動が増加することが見出せつつある。これらの行動試験の結果は、周産期のエストロゲン様物質の連続曝露によって、成熟後の雌特異的な社会行動の一部が抑制、あるいは消失し、さらには雄特異的な社会行動の発現が起こることを示している。

以上の結果から、周産期雌ラットへのエストロゲン様物質曝露、特に EE 連続曝露は脳の正常な性分化に影響を与え、卵巣の发育あるいは機能を抑制し、成熟後の雌特異的な性行動を抑制する可能性が示唆される。また TPhP は、曝露濃度依存的に特定の雌特異的な行動の発現を抑制する可能性が見出された。

<母子分離誘発啼鳴反応の性差>

成熟動物の一部の行動において抑制影響に性差が見られるジアゼパムを投与することにより、母子分離誘発啼鳴反応の性差を検出できるのではないかと考え検討し、雄子ラットのほうが雌仔ラットに比べ、ジアゼパムが引き起こす影響が強く現れることを明らかとした。このことから、母子分離誘発啼鳴反応が EDs の早期指標となり得ることを示した。

E 結論

本年度は、雌ラットに対して、EE ならびに in vitro でエストロゲン様作用をもつ化学物質 TPhP を周生期に 28 日間連続で経口投与し、in vivo 条件下でどのような影響をもつかを検討した。その結果、幼若期の体重や臓器重量に影響がないが、EE 曝露は性成熟完了に至るに従い、エストロゲンの主要産生臓器である卵巣の発育を抑制することを示した。また、EE 曝露によって、成熟後の性行動中の雌特異的な行動が抑制されること、TPhP はその曝露濃度によって性行動中の誘惑行動の一部が抑制されることが明らかになった。加えて、母子分離誘発啼鳴反応が EDs の早期指標となり得ることを示した。

F 研究発表

1 論文発表

- 1) Horii Y, Kawaguchi M. Higher detection sensitivity of anxiolytic effects of diazepam by ledge-free open arm with opaque walled closed arm elevated plus maze in male rats. Behav Brain Res. 2015 Nov 1;294:131-40
- 2) Shiga T, Nakamura TJ, Komine C, Goto Y, Mizoguchi Y, Yoshida M, Kondo Y, Kawaguchi M. A Single Neonatal Injection of Ethinyl Estradiol Impairs Passive Avoidance Learning and Reduces Expression of Estrogen Receptor α in the Hippocampus and Cortex of Adult Female Rats. PLoS One. 2016 Jan 7;11(1):e0146136

2 学会発表

- 1) 田邊郁也、小峰千亜希、吉田緑、川口真以子: 生後 24 時間以内の雌ラットへの ethynyl estradiol 曝露が受動回避学習に及ぼす影響: 第 62 回日本実験動物学会総会 (2015 年 5 月 28 日 ~ 30 日、京都)
- 2) 立川直之、志賀健臣、中村孝博、小峰千亜希、堀井康之、渡辺元、田谷一善、溝口康、吉田緑、

川口真以子: 雌ラットへの生後 24 時間以内 ethynyl estradiol 曝露が大脳皮質と海馬の estrogen receptor(ER) α 及び ER β 発現に及ぼす影響: 第 62 回日本実験動物学会総会 (2015 年 5 月 28 日 ~ 30 日、京都)

3) Nakajima S, Horii Y, Ohta R, Takahashi K, Sato Y, Sato K, Shiraishi Y, Kawaguchi M: Altered emotional reactivity of offspring induced by cross-fostering between Hatano high and low active avoidance rats, and its relationship with maternal care: 第 38 回日本神経科学大会 (2015 年 7 月 28 日 ~ 31 日、神戸)

4) 中山愛里、服部達哉、大河原利、田辺郁也、磯部安菜、穴戸浩孝、鈴木剛、滝上英孝、川口真以子: 幼若期雌ラットへの ethynyl estradiol と triphenyl phosphate の 28 日間曝露が成熟後の性行動に及ぼす影響: 第 42 回日本神経内分泌学会・第 23 回日本行動神経内分泌研究会合同学術集会 (2015 年 9 月 17 日 ~ 19 日、宮城)

5) 中山愛里、服部達哉、穴戸浩孝、磯部安菜、鈴木剛、滝上英孝、川口真以子: 幼若期雌ラットへの ethynyl estradiol (EE) と triphenyl phosphate (TPhP) の 28 日間曝露が成熟後の臓器重量、情動行動、性嗜好性、性行動に及ぼす影響: 環境ホルモン学会第 18 回研究発表会 (2015 年 12 月 10 ~ 11 日、栃木)

6) 磯部安菜、川口真以子: 仔ラットの母子分離誘発啼鳴反応の発声回数に対する抗不安薬ジアゼパムの抑制作用には性差がある: 第 89 回日本薬理学会年会 (2016 年 3 月 9 日 ~ 11 日、神奈川)

G 知的財産権の出願・登録状況

1 特許取得

該当なし

2 実用新案登録

該当なし

3 その他

該当なし

表1 幼若期（4週齢）体重および臓器重量測定の結果

Treatment	B.W.	Per kg			
		Liver	Kidney	Ovary	Uterus
Ctrl	77.3 ± 5.98	43.0 ± 0.62	10.7 ± 0.32	0.3 ± 0.06	0.9 ± 0.27
LTP	81.5 ± 3.41	43.1 ± 1.68	9.8 ± 0.41	0.4 ± 0.04	0.9 ± 0.11
HTP	79.7 ± 1.59	49.8 ± 1.99	10.2 ± 0.21	0.4 ± 0.03	1.0 ± 0.13
EE	86.7 ± 3.34	46.9 ± 1.48	10.8 ± 0.40	0.3 ± 0.05	2.1 ± 0.22

表2 性成熟完了後（8週齢）体重および卵巣重量測定の結果

Treatment	B.W.	Per kg
		Ovary
Ctrl	225.2 ± 3.49	0.7 ± 0.01
LTP	226.3 ± 3.06	0.6 ± 0.01
HTP	227.2 ± 4.05	0.6 ± 0.01
EE	248.5 ± 3.97 *	0.4 ± 0.00 *

表3 成熟期（15週齢）体重および臓器重量測定の結果

Treatment	B.W.	Per kg		
		Liver	Kidney	Uterus
Ctrl	383.3 ± 21.88	35.2 ± 1.69	5.3 ± 0.30	0.3 ± 0.03
LTP	360.9 ± 1.22	35.3 ± 2.60	6.1 ± 0.26	0.9 ± 0.31
HTP	409.6 ± 10.70	35.9 ± 0.39	5.0 ± 0.06	0.4 ± 0.02
EE	434.0 ± 21.10	37.1 ± 2.09	5.2 ± 0.20	2.1 ± 1.13

表中のCtrlはSesame oil（5 ml /kg /day）曝露群、LTPは低TPhP（25 mg /kg /day）曝露群、HTPは高TPhP（250 mg /kg /day）曝露群、EEはEE（15 µg /kg /day）曝露群を示す。*: P < 0.05

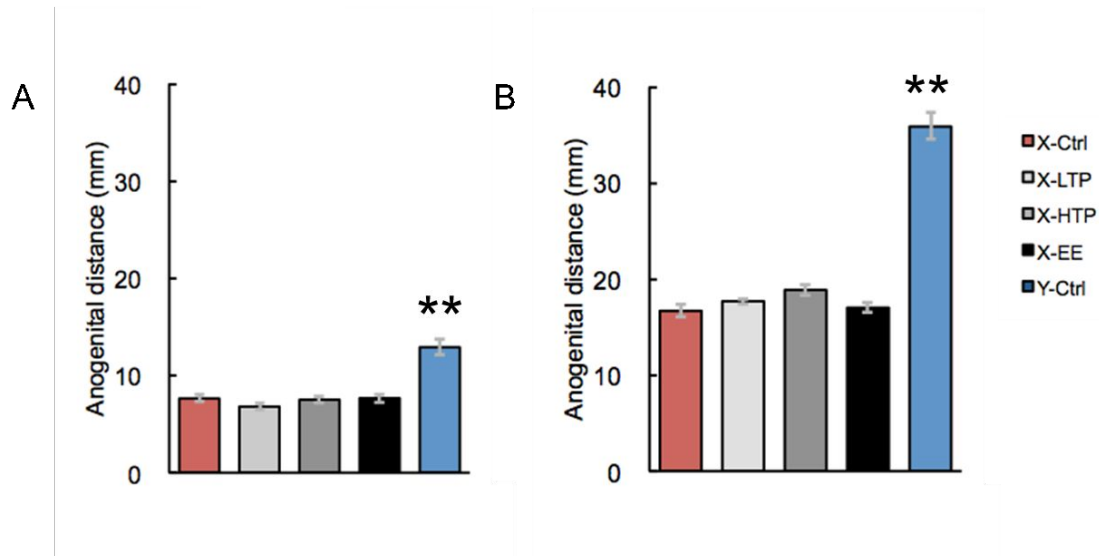


図1 幼若期（4週齢）および成熟期（15週齢）Anogenital distance測定の結果

幼若期のAnogenital distance測定の結果（A）、Y-Ctrl群がその他の全ての群と比較して長かった（ $P < 0.01$ ）。成熟期のAnogenital distance測定の結果（B）も同様に、Y-Ctrl群がその他の群と比較して長かった（ $P < 0.01$ ）。図のX-CtrlはSesame oil（5 ml /kg /day）曝露雌群、X-LTPは低TPhP（25 mg /kg /day）曝露雌群、X-HTPは高TPhP（250 mg /kg /day）曝露雌群、X-EEはEE（15 μ g /kg /day）曝露雌群、Y-CtrlはSesame oil（5 ml /kg /day）曝露雄群を示す。*: $P < 0.01$

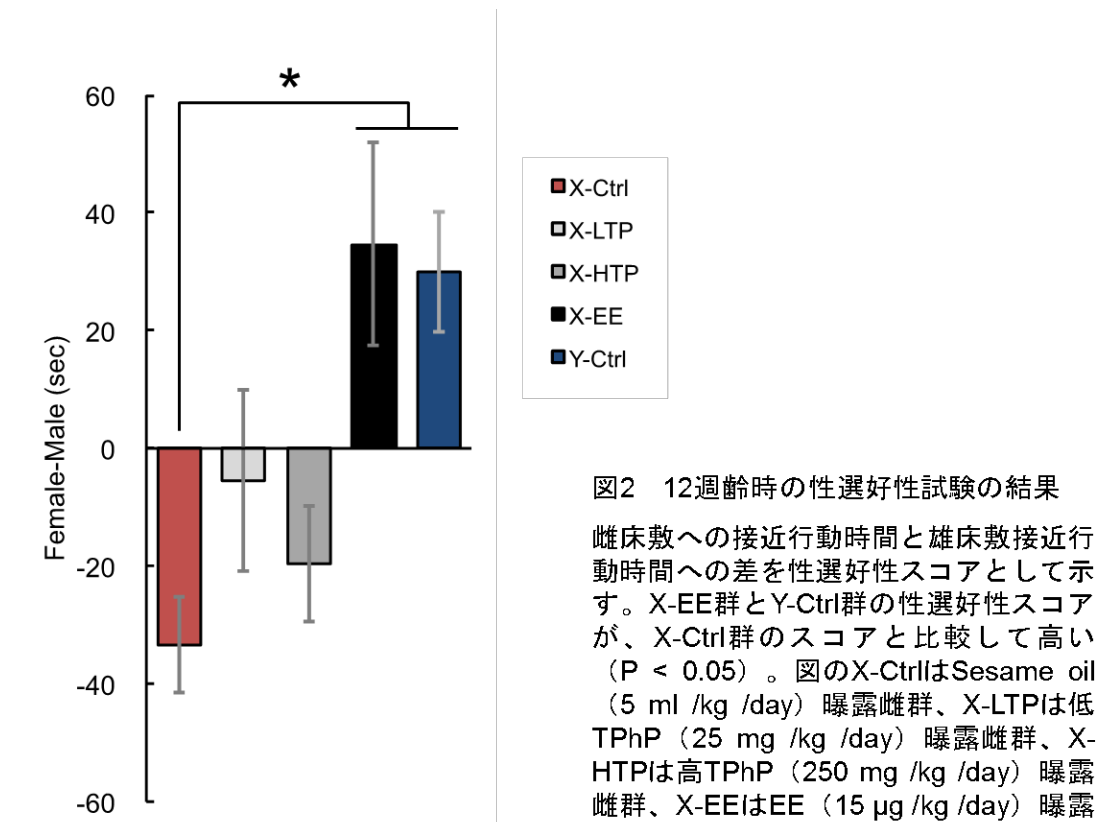


図2 12週齢時の性選好性試験の結果

雌床敷への接近行動時間と雄床敷接近行動時間への差を性選好性スコアとして示す。X-EE群とY-Ctrl群の性選好性スコアが、X-Ctrl群のスコアと比較して高い（ $P < 0.05$ ）。図のX-CtrlはSesame oil（5 ml /kg /day）曝露雌群、X-LTPは低TPhP（25 mg /kg /day）曝露雌群、X-HTPは高TPhP（250 mg /kg /day）曝露雌群、X-EEはEE（15 μ g /kg /day）曝露雌群、Y-CtrlはSesame oil（5 ml /kg /day）曝露雄群を示す。*: $P < 0.05$

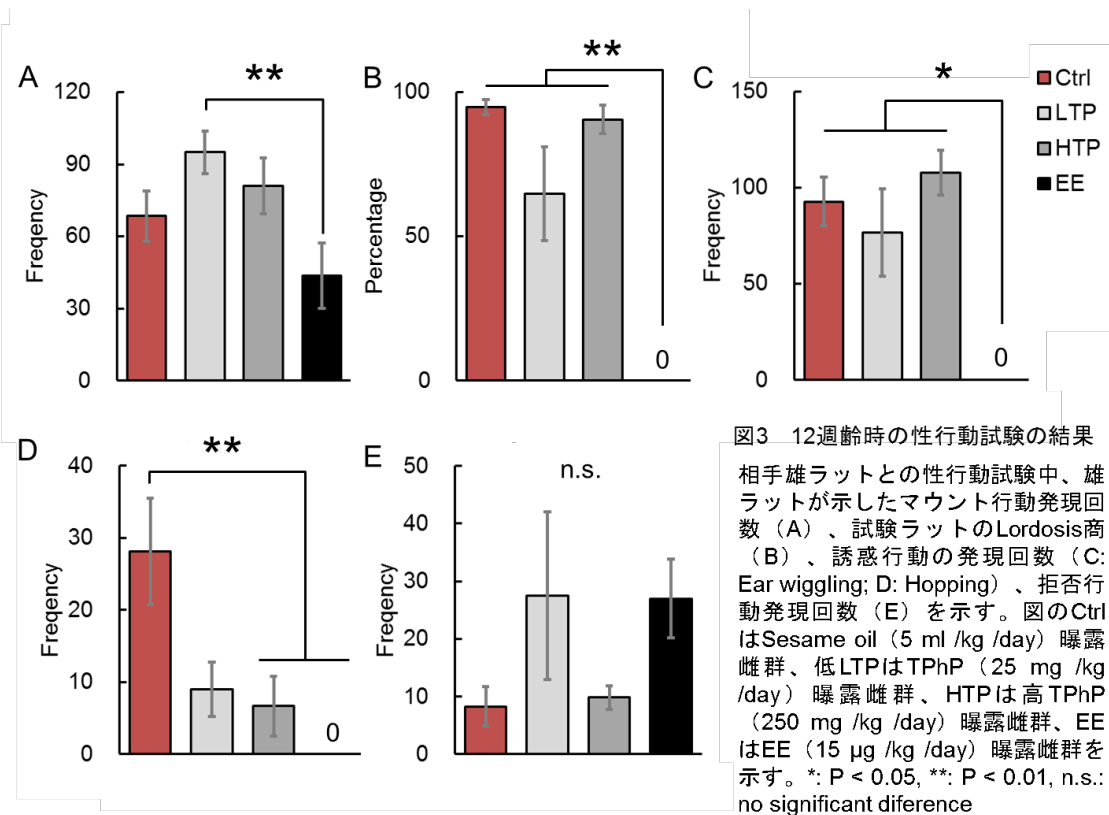


図3 12週齢時の性行動試験の結果

相手雄ラットとの性行動試験中、雄ラットが示したマウント行動発現回数 (A)、試験ラットのLordosis商 (B)、誘惑行動の発現回数 (C: Ear wiggling; D: Hopping)、拒否行動発現回数 (E) を示す。図のCtrlはSesame oil (5 ml /kg /day) 曝露雌群、低LTPはTPhP (25 mg /kg /day) 曝露雌群、HTPは高TPhP (250 mg /kg /day) 曝露雌群、EEはEE (15 μg /kg /day) 曝露雌群を示す。*: P < 0.05, **: P < 0.01, n.s.: no significant difference

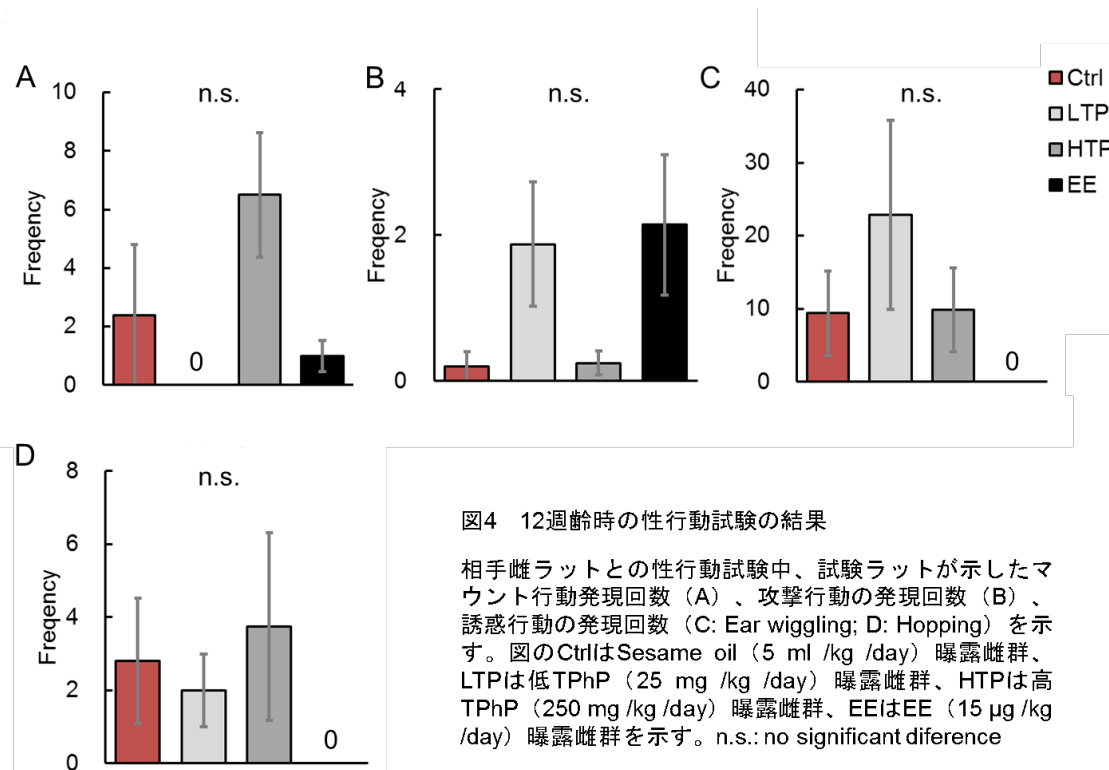


図4 12週齢時の性行動試験の結果

相手雌ラットとの性行動試験中、試験ラットが示したマウント行動発現回数 (A)、攻撃行動の発現回数 (B)、誘惑行動の発現回数 (C: Ear wiggling; D: Hopping) を示す。図のCtrlはSesame oil (5 ml /kg /day) 曝露雌群、LTPは低TPhP (25 mg /kg /day) 曝露雌群、HTPは高TPhP (250 mg /kg /day) 曝露雌群、EEはEE (15 μg /kg /day) 曝露雌群を示す。n.s.: no significant difference