ヒトの健康リスクへの適用を目指した齧歯類を用いる 新たな行動毒性試験の開発

掛山正心¹⁾・葩島 旭¹⁾・遠藤俊裕¹⁾・遠山千春¹⁾

Development of novel behavioral toxicity tests in rodents aimed for
application to health risks in humans

MASAKI KAKEYAMA¹⁾, ASAHI HAJIMA¹⁾, TOSHIHIRO ENDO¹⁾ and CHIHARU TOHYAMA¹⁾

Abstract We here introduce characteristic features of the novel behavioral tests, named Flavor Map and IntelliCage, recently developed to elucidate how maternal exposure to environmental chemicals affects executive brain functions in rats and mice. Flavor Map test requires rats to learn the existence of a schema of paired-associate of flavor and location, and enables to examine the short-term memory, long-term memory and paired-associative learning ability in adult rats. We have found that maternal exposure to a low dose of dioxin causes deficit in the paired-associative memory formation. Using the IntelliCage system, we have developed our own test protocol in mice. IntelliCage is versatile in terms of accommodation of as many as 16 mice at a time to monitor and record their basic physical activities and learning function. Our protocol successfully increases the efficiency of detection of the learning behavior with minimal variations between individual mice. We found that male mice born to dioxin-administered dams develop less behavioral flexibility. We believe that these behavioral tests can be used to study the executive functions in rats and mice, in biomedical research fields not only in toxicological study but also in animal psychology.

はじめに

化学物質は人間の活動や発展を支え、生活に欠かすことのできないものである。食品、医薬品、化粧品や農薬のように製品として形になっているもの以外にも、製造工程での原料や中間製品まで含めると、自動車、家電、衣料品など、我々の身近にある極めて多くのものが化学物質の恩恵を受けている。化学物質はしかしその有用性にもかかわらず、適切な管

理がなされないケースではヒトの健康や環境に有害な影響を及ぼすことがあるので、化学物質曝露による健康リスク評価が必要になる。健康リスク評価はこれまで、ヒトにおける知見とともに、実験動物を用いた毒性試験による致死性や催奇形性、発がん性等をもとに評価されてきた。しかし近年、半致死量の数十分の一～数百分の一という、母体にはなんら影響が頭われない極めて低用量の曝露であっても、

1) 東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター
健康環境医工学部門

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

連絡先：掛山正心

E-mail: kake@m.u-tokyo.ac.jp

1) Laboratory of Environmental Health Sciences,
Center for Disease Biology and Integrative
Medicine, Graduate School of Medicine, The
University of Tokyo

Corresponding author: MASAKI KAKEYAMA

その化学物質が胎盤・母乳経由で移行し、子どもの脳発達に影響を及ぼしうることが疫学調査などにより繰り返し示唆され、低用量の化学物質曝露が発達期の子どもの認知・情動機能へ及ぼす影響が注目されるようになってきた。実際に、本稿で紹介するようなダイオキシン類をはじめ多くの化学物質において、妊娠期の母動物へ極めて低用量の曝露により、成熟後の仔動物の認知・情動機能に影響を及ぼすことが次第に明らかになってきた (Kakeyama & Tohyama, 2003)。

発達期の脳神経系に対する化学物質の影響(発達神経毒性)は、他の健康影響と比較してより低い曝露量で観察されることが多い一方で、ヒトにおいてそれを正しく評価するのは非常に難しいと言わざるを得ない。第一の理由として、脳機能のすべての側面を正しく測定できる尺度は存在しないからである。知能検査や心理検査の限界についてはいまさら議論するまでもなく、最先端とされるfMRI検査や遺伝子解析においても、あらゆる検査というものには限界がある。第二の理由として、化学物質の曝露直後には影響が顕れるのではなく、成長してゆく中で、あるいは成熟してから認知・情動機能への毒性影響が顕在化することが多く、原因(曝露)と結果(影響)との間に隔たりがあり、因果関係をつかみにくいことが挙げられる。新生児に大学入試問題が解けないように、また如何に聡明な幼稚園児であってもその時点では法学部なのか医学部なのか進路や適性がわからないように、成長の過程で新たな機能を獲得し成熟し、個性を発揮してゆくヒトの脳機能を、発達途中で見極めることはできないだろう。

したがって、健康影響を未然に防ぐためにも、動物実験に基づいた信頼性の高い科学的知見の集積が非常に重要である。実際、毒性試験の国際化・標準化の流れの中で、in vitro 代替試験法の要求が高まっている今日であっても、例えばOECDテストガイドラインでも、後述するように、神経毒性試験、特に行動毒性試験の実行ならびに高度化の必要性が指摘されるようになってきた。本稿では、行動試験の開発を中心に我々のアプローチ～動物心理学(靄島)や神経行動学(掛山)の教育を受け、いま行動毒性学に身を置く著者らの取り組み～を紹介し、行動毒性学の問題点と動物心理学への期待、そして外(行動毒性学)から見た動物心理学の問題点について、議論する端緒としたい。

ダイオキシンの毒性：背景として

ダイオキシン類は燃焼過程において環境中に放出される非意図的生成物である。我が国では平成9年から、主たる排出元である焼却施設等の対策

が開始され排出量は激減しているが、環境残留性や生物蓄積性が高く、ヒトの摂取量や蓄積量は激減しているとは言えず、その健康リスクの再評価がこれからの課題とされている。行政上ダイオキシン類に分類される化合物はコプラナーPCBを含めて29種類にのぼるが、その中で最も毒性が高い2, 3, 7, 8-四塩素化ジベンゾ-パラ-ジオキシン(2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD))をプロトタイプとして毒性試験が行われることが多い。ダイオキシンの毒性も古典的には発がん性等が注目され、1990年代初めまで、最も感受性の高い指標はラットの発がん性だとされていた。その後ダイオキシン類は胎盤や母乳を介して母体から胎児・乳児へ移行することや、血液脳関門を通過し子どもの脳に到達することが明らかとなり、実験動物を用いたダイオキシン類の胎仔期・授乳期曝露が脳機能へ及ぼす影響に関する研究が盛んになってきた (Birnbaum & Tuomisto, 2000; Schecter & Gasiewicz, 2003)。1998年にはWHO-IPCSが次世代への生殖発生毒性和免疫毒性、そして神経毒性に着目して、ダイオキシン耐容摂取量の再評価を行うこととなった (WHO-IPCS, 1998)。

この時導入されたのが体内負荷量という概念である。ダイオキシンのように体内蓄積性の高いものは、長い時間をかけて徐々に蓄積していくが、ヒトはげっ歯類よりも半減期が数百倍長い(排泄速度が遅い)ため、動物実験の投与量をヒトの摂取量に直接当てはめることはできない。投与量ではなく体内負荷量を用いて動物実験の結果を評価することで、先に述べた「子どもに対する影響」が重要かつ深刻な指標であることが明らかとなった。大人に対する一過的な大量曝露による毒性影響だけではなく、徐々に蓄積されたダイオキシン類が、たとえ大人では影響が顕れない体内負荷量であったとしても、子どもに対しては影響を及ぼしうることが重大な問題なのである。

我々の研究グループでは(メカニズム解析等一部の例外を除けば)、母体と仔の健康状態にはほとんど影響しない状況下、すなわち、妊娠中の仔の体重増加、妊娠中の母獣の死亡率、生きている仔の数、生まれた時の仔の体重にも影響がない曝露条件下で、毒性表現型を同定・解析を行っている。後述する恐怖条件付け試験(Hajjima, Endo, Zhang, Miyazaki, Kakeyama, & Tohyama, 2010)で影響がみられた曝露量は(妊娠12.5日目のC57/BL6マウスに3.0 µg/kgを単回経口投与)、マウスにおけるTCDDの発達神経毒性としては、我々の知る限り最小の投与量(最小有害影響量)である。

記憶か情動か？

ダイオキシンの発達期曝露による行動毒性としてはこれまで、生殖行動の「変化」(Mably, Moore, Goy, & Peterson, 1992; Kakeyama, Sone, Miyabara, & Tohyama, 2003), 放射状迷路学習 (Schantz, Seo, Moshtaghian, Peterson, & Moore, 1996; Seo, Sparks, Medora, Amin, & Schantz, 1999; Seo, Powers, Widholm, & Schantz, 2000), オペラント学習 (Widholm, Seo, Strupp, Seegal, & Schantz, 2003; Markowski, Zareba, Stern, Cox, & Weiss, 2001; Markowski, Cox, Preston, & Weiss, 2002; Hojo, Stern, Zareba, Markowski, Cox, Kost, & Weiss, 2002; Hojo, Kakeyama, Kurokawa, Aoki, Yonemoto, & Tohayama, 2008), 能動的回避学習 (Nishijo, Kuriwaki, Hori, Tawara, Nakagawa, & Nishijo, 2007), 文脈恐怖条件づけ (Mitsui, Sugiyama, Maeda, Tohyama, & Arita, 2006) などが報告されている。

しかしこれらの報告のほとんどが、行動の変質・変容 (behavioral alteration) といったものである。個々のケースを分析しても、全体として比較しても容易に結論は出ない問題なので本稿での議論は割愛するが、例えば生殖行動に障害が顕れるという明確な記載はなく、学習試験でも試験項目によっては、少なくとも見かけ上の試験成績が向上しているケースもある (Seo, Powers, Widholm *et al.*, 2000; Hojo, Kakeyama, Kurokawa *et al.*, 2008)。要は、その行動変容が実験動物にとってどのような意味を持ち、さらにヒトに当てはめた場合にどのような機能的異常を反映しているのかについて十分に説明されてこなかったのである。毒性実験に限らずこれに近い現象は、遺伝子改変動物等を用いた多くのマウス実験でも、再現性の問題とあわせて発生しているように思われる (Gerlai, 2001; Tecott, 2003)。

健康リスク評価の際には、発達神経毒性以外にも生殖、免疫毒性など様々なエンドポイントをとりまとめ、種差の問題なども含め総合的に評価される。しかし、上述のように多くの場合、行動レベルでの影響に対する科学的な説明が不十分であったこともあり、発達神経毒性の実験結果は「行動変容 (behavioral alteration)」や「学習成績低下 (learning deficit)」という言葉に要約されてしまうことが多い。故に「マウスの行動と人間の学習成績は同列に扱えない」といった、焦点から外れた反論も散見される。例えば米国環境保護庁 (US Environmental Protection Agency; EPA) のように、発がん性こそが最も信頼できるデータであるとして、リスク再評価を行ったケースすら存在する (US EPA は同時

に、発達神経毒性についてはさらに検討をすすめる必要があることを指摘している) (US EPA, 2000)。行動変化の意味を解釈するために必要な科学的分析、学術的議論を活性化させ、行動試験の結果を正しく評価する必要がある。

我々はその取り組みの一つとして、既存の行動試験パラメータの再検討を行っている。学習行動試験の「行動」には、必ず情動機能が関与するはずであり、行動と情動を切り離すことは不可能であろうことは、動物心理学から見ると当然なことだろう。たとえば我々は、TCDD の発達神経毒性として、文脈および音恐怖条件づけの双方が障害されることを報告した (Haijima, Endo, Zhang *et al.*, 2010; Figure 1)。恐怖条件づけは一般の神経科学では、扁桃体、あるいは海馬依存性の (比較的単純な) 符号化と想起に関するパラダイムとして捉えられる。しかしフリージングという行動自体は記憶とは独立した情動行動であるし、そもそも恐怖とは情動に属する機能である。恐怖記憶は、状況認知と恐怖とを連合させる機能を要する、つまり記憶と情動から成り立つ複雑な神経ネットワークが関与するはずである。

実際に我々のデータでも、ここで用いられた TCDD 曝露用量では、空間学習試験の成績にはなんら影響を及ぼさないで、TCDD 曝露による恐怖条件づけにおけるフリージング行動の低下は、むしろ情動機能異常に起因する可能性のほうが高いと我々は考えている。これまで発達神経毒性は「学習能力低下」に要約しやすいからか、記憶機能ばかりが着目されてきたが、情動機能も含めた「こころ」に対する影響こそが、これからの重要課題となるだろう。これまでに、マウスにおける TCDD 曝露において強制水泳試験における無動行動の増加、独自

Figure 1. Freezing responses during the contextual (A) and auditory (B) fear test. Control, offspring born to dams exposed to corn oil; TC3.0, offspring born to dams exposed to 3.0 $\mu\text{g/kg}$ TCDD. Values represent mean + SEM. Asterisks indicate significant differences from the control group (** $p < 0.01$). Modified from Haijima, Endo, Zhang *et al.* (2010).

の行動試験における固執性亢進, 社会行動異常なども確認しており (鮎島, 遠藤らによる私信), そのような「こころ」の問題に対する化学物質やその他環境要因との関連について積極的に研究を進めている。

ラット対連合学習試験の開発

一方で, 記憶学習機能についても, よりヒトに近い脳機能を実験動物で調べるための取り組みも必要である。はたしてラットは, 過去の経験を自らの知識として利用し, 新たな課題を解決するような, 高次の学習機能を持つのだろうか?

我々は2004年から Richard Morris 教授 (Edinburgh 大学) との共同研究を開始し, この問題に取り組み, Flavor Map 法と名付けた対連合学習試験を確立した。イベント・アリーナ装置は1999年に発表された行動試験装置で, 水迷路とほぼ同サイズの乾いた平面状のフィールド (アリーナ) である (Biegler & Morris, 1999) (Figure 2A,B)。アリーナの任意の場所に, 報酬ペレットを砂で隠した壺 (sand-well) を埋めこむことができる。ラットはすぐに sand-well の砂を掘って隠されたペレットを獲得できるようになり, いずれペレットの位置を学習することができる。一度空間記憶の成立したラットでは, スタート地点を変えても正しくペレットの位置にたどりつくことができるようになる。

我々はこの装置を用いてペレットの味 (flavor) を位置によって変えて, 言わばレストラン・マップとして学習させることで, ラットにおける (flavor-place pair) の対連合学習を約1カ月で成立させることに成功した (Figure 2C,D)。トレーニングでは, 定められた6か所に常に sand-well が設置されているのだが, 報酬ペレットが隠されているのは1カ所だけにする。例えば手がかりがチョコレート味 (Flavor 1) なら, チョコレートに定められた sand-well (Location 1) にだけ, ペレット (チョコレート味) が隠されていることになる。スタート地点で手がかりペレットを与えてから, ラットにアリーナでの自由探索の機会を与えて, 自身で正解ペレットを探し当てるまで待つ。このトレーニングを1日6カ所 (6つの味, すなわち, 6つの Flavor-Location pairs) で行ってゆくことで, ラットはこのシティ・マップを学習できるようになるのである。

さらに, 一度 Flavor Map を習得した動物は, 新規の対連合刺激 (new flavor-place pair) を1回の試行で学習しうることを明らかにした。すなわちラットは flavor map の経験を整理して知識 (スキーマ) として獲得し, スキーマを利用することで新たな課題を迅速に解くことができるようになることが

わかった (Figure 2C,E)。

海馬を破壊した動物は Flavor Map を習得することができないことから, Flavor Map 対連合学習の習得には海馬が必須であること, Flavor Map 習得 (スキーマ形成) の48時間後に海馬を破壊しても想起できることを明らかにした。すなわち, 48時間後には海馬で形成された対連合記憶が脳の他の部位 (おそらく前頭前野) に移行することが明らかとなった (Tse, Langston, Kakeyama, Bethus, Spooner, Wood, Witter, & Morris, 2007)。

Flavor Map は我々の知る限り, ラットにおいて最も高次の学習課題を提示する行動試験である。そして低用量の TCDD 曝露を受けた仔ラットでは, Flavor Map 対連合学習の習得ができなくなることともわかった。数秒前, 数時間前, 数日前に経験した餌のある場所は曝露動物も正確に選択できることから, 単純な空間記憶の機能は正常であるにも関わらず, 対連合学習機能が阻害されているものと考えられる。ラットの対連合学習機能が影響を受けやすいのか, ヒトにもそれが当てはまるのか, 対連合学習の神経機構を明らかにして, 比較して検証してゆくことが今後の課題である。

マウス認知的柔軟性試験の開発

次に, マウスを用いた新たな行動試験について紹介する。マウスは, 解剖・組織学的情報, 遺伝学的情報の豊富さ, 飼育コスト等の面からも優れており (古瀬・山田・若菜, 2010), その行動解析は健康リスク評価にとっても動物心理学にとっても極めて重要な位置づけとなる。しかし従来のマウス行動試験は記憶・学習の中でも比較的単純な要素を対象とした試験系がほとんどであり, ヒトの高次認知機能への外挿を目指した, より統合的な認知行動を評価する試験系は非常に少ない。また行動解析に特化した一部の研究室以外では, 試験の再現性が十分確保されているとは言い難い。

そこで我々は, 集団型全自動行動・学習測定システム IntelliCage (New Behavior社, Zurich) (Galsworthy, Amrein, Kuptsov, Poletaeva, Zinn, Rau, Vyssotski, & Lipp, 2005) を用いたマウス行動試験の開発を進めている。IntelliCage とは, チューリッヒ大学 Hans-Peter Lipp 教授が開発したもので, ホームケージ内でマウスに実験者のハンドリング等によるストレスを与えることなく, 自発活動量の測定と学習行動試験を行うことのできる装置である (Figure 3A)。測定するマウスの皮下に ID チップを埋め込むことで, 最大16匹のマウスを同じケージ内で飼育しながら, 個々の動物の試験成績を自動測定することができる。ケージの4隅

Figure 2. Schemas and paired-associate learning. (A) Overview of an event arena apparatus. (B) Rats were trained to find six different flavors of food in six different locations, cued by a different one of the flavors. (C) Gradual learning of the six paired associates over sessions of training. Performance index is calculated as the number of errors (digging at an inappropriate sand-well) during a trial. Chance performance is 2.5 errors per trial. Performance index were significantly above chance level ($*p < 0.05$). (D) Performance during Probe Test 1 (non-rewarded). The animals significantly dig at the correct (cued) location compared to incorrect location ($*p < 0.05$). (E) After a single trial of training to novel flavors (F7 and F8, at two of the six locations shown in Panel B), performance in a second probe test conducted. The animals significantly dig at the new correct location compared to old and new incorrect location ($*p < 0.05$). Values represent mean $\pm$ SEM. Modified from Kakeyama, Tse, Bast, Tohyama, & Morris (2005).

Figure 3. Behavioral flexibility and reversal learning-set of mice. (A) Overview of the IntelliCage apparatus. (B) Diagrams of behavioral sequencing task. Mice obtained a drop of water as reward by alternately visiting the two rewarded corners (open circle). (C) Acquisition of behavioral sequencing task in C57Bl/6 mice. Discrimination error rate was defined as the number of visits to the two never-rewarded corners. (D) Acquisition of serial reversal task. After the acquisition of place learning in the behavioral sequencing task, the patterns of corner conditions were reversely changed repetitively every reversal stage. (E) Intra-session dynamics of behavioral flexibility. Cumulative errors of the first 100 visits in sessions. Dotted line indicates a chance value. (F) Rapid adaptation to the reversed contingency. Discrimination error rates for every five-visit block. The asterisks indicate a statistically significant difference in discrimination error rate (* $p < 0.05$) compared with that in the first 5 visits in Rev 8 or 9. Values represent mean $\pm$ SEM. Modified from Endo, Maekawa, Voikar et al. (2011).

にはオペラント・チャンバー（コーナー・チャンバー）が設置され、ノーズ・ポーク反応により報酬となる飲水が提示される仕組みである。

IntelliCage 装置のために我々が開発した新たな試験法は、2つのコーナー・チャンバー間を往復させる行動系列の獲得を伴う空間学習（behavioral sequencing task）と、その後の反復逆転課題からなる（Endo, Maekawa, Vöikar, Haijima, Uemura, Zhang, Miyazaki, Suyama, Shimazaki, Wolfer, Yada, Tohyama, Lipp, & Kakeyama, 2011）

（Figure 3B）。まず空間学習では、マウスの誤答率を、1週間以内に40%から5%程度まで低下させることができる（Figure 3C）。また、課題開始から学習成立までの成績の変化をみても、個体間のばらつきが非常に小さく、異なる研究室・研究者であっても同様の学習曲線が得られることを、東京大学、自治医科大学、チューリッヒ大学において確認した。この結果から、我々が確立した空間学習試験法は、単に学習ができたかできないかを判断するだけではなく、より定量性の高い学習機能評価法として期待される。

次に反復逆転課題でも、高次認知機能の一つである認知的柔軟性（cognitive flexibility）を精密に評価できることがわかった。最初の逆転課題では、マウスは不正解コーナー（前回正解だったコーナー）へのアクセスが多いままである（Figure 3D-F）。二度目の逆転課題では、試験の前半ではマウスは不正解コーナーでの往復行動を繰り返して続けるが、後半では新たな正解行動系列にシフトすることができるようになる。個体差が小さく、かつ高い再現性をもつ試験により、Figure 3C に示したようなマウス行動の時間経過（的）解析が可能となり、マウスの認知的柔軟性における一連の過程を、精度の高い実験的指標として評価することができるようになった。

さらに反復逆転課題を繰り返してゆくと逆転直後の成績が徐々に上昇してゆき、遂には10試行程度で新たな正解にシフトできることがわかった（Figure 3E,F）。すなわちマウスは逆転課題のルールに順応してゆくことができる、言い換えるなら、マウスは逆転課題に対する「規則学習」（reversal learning-set）を持ちうる事が明らかとなった。Learning-set の概念は Harry F. Harlow によって確立されたもので、サルにおいて、弁別課題を繰り返してゆくと誤答が激減することから、サルが弁別課題のルールや方略そのものを理解したことを示している、と解釈されるものである（Harlow, 1949）。Learning-set はサル以外にもアシカ、鳥やラットで報告されているが（Schusterman, 1964, 1966 ; Bond,

Kamil, & Balda, 2007 ; van der Plasse, & Feenstra, 2008）、マウスが繰り返しのトレーニングによって逆転課題に対する迅速な行動系列の転移、すなわち reversal learning-set を形成したことは、我々の報告が初めてのものと思われる。

IntelliCage を用いて、恐怖条件づけで影響がみられた条件で経胎盤・経母乳のダイオキシン曝露を行ったところ、空間学習の成立には影響を及ぼさなかったが、認知的柔軟性が低下するという知見を得ている。すなわちダイオキシン曝露動物では、2回目の逆転課題開始時の成績が、試験後半になっても改善せず、前回の正解コーナーにアクセスする割合が高かった。比較的単純な記憶機能よりも、高次認知機能は化学物質の影響を受けやすい可能性が示唆される。今後このような再現性・汎用性の高い試験法のさらなる開発が望まれる。

認知・行動毒性学と動物心理学：まとめにかえて

本稿ではこれまで行動実験を中心に行動毒性学として議論を進めてきたが、「まとめ」では、方法論を限定せずに中枢神経系に対する影響を対象とするという意味で、「認知・行動毒性学」という表現を用いることにしたい。認知・行動毒性学は、化学物質など環境要因による神経系への影響に関する科学的知見を集積し評価を行うという、明確な命題を持った応用科学領域と位置づけられる。神経科学そして動物心理学を基礎領域として、より直接的に社会貢献に結び付ける新しい領域である。

動物心理学と認知・行動毒性学は、単に被験体が同じというだけでなく、動物とヒトの比較という動物心理学の一大テーマと、ヒトへの外挿という認知・行動毒性学の命題とが同一のものである。「ヒトに関して知りたいのであればヒトについて研究すべき」「心理学の中で動物心理学はマイノリティである」（澤, 2008 ; 渡辺, 2008）といった葛藤に対して、認知・行動毒性学は、動物心理学の研究志向が正しいことを裏付けるものとして、また社会貢献のための出口の一つとなるだろう。健康リスク評価における神経毒性実験の結果の意味を正しく解釈するために、さらなる動物心理学の貢献が、強く求められる。

実験結果を「行動変化」に集約させないためには、記憶、学習、個性、情動、「ころ」といった用語を正しく定義する必要がある、それは言うまでもなく、神経科学と心理学の命題である。しかし永遠のテーマともいえるこの命題に対して、リスク評価は「いま」行う必要がある、その時点における最新の最も妥当な学術的成果に依拠することが求められている。その都度、その時点でより良い言葉の定義を確立・更新してゆかねばならない。

さて、Jean Piaget は基礎研究と応用研究の発展について、諸分野間で交流し用語の相互理解を進める段階、諸分野が分担し相加的に成果を示す段階、諸分野が統合し相乗的に発展する段階として説明している（ピアジェ、波多野（訳）、1976）。高砂（2010）の比較心理学の歴史に関する総説を見ると、動物心理学は当初から、心理学の中では科学を重んじ、学術領域・分野を跨いで歩んできたことがわかる。そして澤（2008）は「翻訳という概念」により比較研究の妥当性を議論しているが、これは「諸分野間で交流し用語の相互理解を進める段階」における先端的試みと言える。渡辺（2008）の比較神経解剖学と比較認知科学についての議論は、「諸分野が分担し相加的に成果を示す段階」から、さらに相乗的發展段階を強く意識させるものである。

リスク評価を念頭においた認知・行動毒性学の動物実験においては、リスク評価のために必要な事はすべて取り入れることが出発点になるので、更にリベラルな位置付けといえるかもしれない。我々は、まず実験動物において個体レベルでの現象を記述するという観点から行動実験を行う。次に、解剖・組織・細胞・分子レベルで検証することにより、その行動変化の意味に科学的解釈を付与することを目指す。そして全体として、行動から分子までの諸分野の結果の「比較科学」により、実験動物とヒトとの共通性と違いを考察することになる。例えば最近では、「こころ」の問題を抱えたヒトにおいても前頭葉と扁桃体の神経活動に問題があることが報告され注目を集めている（Meyer-Lindenberg, Kohn, Kolachana, Kippenhan, Mcinery-Leo, Nussbaum, Weinberger, & Berman, 2005；Inoue, Yamasue, Tochigi, Abe, Liu, Kawamura, Takei, Suga, Yamada, Rogers, Aoki, Sasaki, & Kasai, 2010）。他方、スキーマ依存性の学習には前頭葉が必須であることや、ダイオキシン曝露により行動変化を示した動物では、前頭葉とともに扁桃体で神経活動異常があることを、我々は見出している。行動と脳の神経活動に関する知見を総合化することにより、実験動物における高次脳機能の知見からヒトの「こころ」の問題を解明することに近づくことができると期待している。

健康リスク評価では、ヒトと動物の比較を行う際に、単に表現型（機能と構造）の違いだけでなく、化学物質に対する感受性の違い、体内動態の違いなど多くの尺度（説明軸）を用いる必要があるので、「比較科学」的アプローチによる諸分野の統合が、最もリーズナブルな方策である。動物心理学、神経科学、認知・行動毒性学という基礎研究と応用研究の交流が進み、相乗的に発展してゆくことを心より望む次

第である。

謝辞

本稿の作成にあたって、筑波大学・坂本敏郎先生との議論が有益であったことを記すとともに感謝の意を表す。また本稿にて紹介した我々の研究は、内閣府食品安全委員会、厚生労働省、文部科学省そして環境省の研究助成の支援を受けて行われたものである。講演での発表内容については上記のほか、民間からの研究助成（日本化学工業協会、株式会社山田養蜂場、ライカ・マイクロシステムズ）のサポートを受けた。

引用文献

- Biegler, R., & Morris, R. G. 1999 Blocking in the spatial domain with arrays of discrete landmarks. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, **25**, 334-351.
- Birnbaum, L. S., & Tuomisto, J. 2000 Non-carcinogenic effects of TCDD in animals. *Food Additives & Contaminants*, **17**, 275-288.
- Bond, A., Kamil, A., & Balda, R. 2007 Serial reversal learning and the evolution of behavioral flexibility in three species of North American corvids (*Gymnorhinus cyanocephalus*, *Nucifraga columbiana*, *Aphelocoma californica*). *Journal of Comparative Psychology*, **121**, 372-379.
- Endo, T., Maekawa, F., Vöikar, V., Haijima, A., Uemura, Y., Zhang, Y., Miyazaki, W., Suyama, S., Shimazaki, K., Wolfer, D. P., Yada, T., Tohyama, C., Lipp, H-P., & Takeyama, M. 2011 Automated test of behavioral flexibility in mice using a behavioral sequencing task in IntelliCage. *Behavioural Brain Research*, **221**, 172-181.
- 古瀬民生・山田郁子・若菜茂晴 2010 マウス行動表現型解析プラットフォームの国際的標準化の背景と現状 動物心理学研究, **60**, 119-127.
- Galsworthy, M. J., Amrein, I., Kuptsov, P. A., Poletaeva, I. I., Zinn, P., Rau, A., Vyssotski, A., & Lipp, H-P. 2005 A comparison of wild-caught wood mice and bank voles in the IntelliCage: assessing exploration, daily activity patterns and place learning paradigms.

- Behavioural Brain Research*, **157**, 211-217.
- Gerlai, R. 2001 Behavioral tests of hippocampal function: simple paradigms complex problems. *Behavioural Brain Research*, **125**, 269-277.
- Hajima, A., Endo, T., Zhang, Y., Miyazaki, W., Kakeyama, M., & Tohyama, C. 2010 *In utero* and lactational exposure to low doses of chlorinated and brominated dioxins induces deficits in the fear memory of male mice. *Neurotoxicology*, **31**, 385-390.
- Harlow, H. 1949 The formation of learning sets. *Psychological Review*, **56**, 51-65.
- Hojo, R., Stern, S., Zareba, G., Markowski, V. P., Cox, C., Kost, J. T., & Weiss, B. 2002 Sexually dimorphic behavioral responses to prenatal dioxin exposure. *Environmental Health Perspective*, **110**, 247-254.
- Hojo, R., Kakeyama, M., Kurokawa, Y., Aoki, Y., Yonemoto, J., & Tohayama, C. 2008 Learning behavior in rat offspring after in utero and lactational exposure to either TCDD or PCB 126. *Environmental Health and Preventive Medicine*, **13**, 162-168.
- Inoue, H., Yamasue, H., Tochigi, M., Abe, O., Liu, X., Kawamura, Y., Takei, K., Suga, M., Yamada, H., Rogers, M. A., Aoki, S., Sasaki, T., Kasai, K. 2010 Association between the oxytocin receptor gene and amygdalar volume in healthy adults. *Biological Psychiatry*, **68**, 1066-1072.
- ジャンピアジェ (原著) 波多野完治 (翻訳) 1976 人間科学序説 岩波書店.
- 高砂美樹 2010 20世紀前半における日本の比較心理学の展開 動物心理学研究, **60**, 19-38.
- Kakeyama, M., Sone, H., Miyabara, Y., & Tohyama, C. 2003 Perinatal exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin alters activity-dependent expression of BDNF mRNA in the neocortex and male rat sexual behavior in adulthood. *Neurotoxicology*, **24**, 207-217.
- Kakeyama, M., & Tohyama, C. 2003 Developmental neurotoxicity of dioxin and its related compounds. *Industrial Health*, **41**, 215-230.
- Kakeyama, M., Tse, D., Bast, T., Tohyama, C., & Morris, R. G. M. 2005 Flavour maps: paired-associate learning in an event arena as an animal model of associative recall. *Society for Neuroscience Abstract*, **31**, 995.5.
- Mably, T. A., Moore, R. W., Goy, R. W., & Peterson, R. E. 1992 *In utero* and lactational exposure of male rats to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. 2. Effects on sexual behavior and the regulation of luteinizing hormone secretion in adulthood. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **114**, 108-117.
- Markowski, V. P., Cox, C., Preston, R., & Weiss, B. 2002 Impaired cued delayed alternation behavior in adult rat offspring following exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on gestation day 15. *Neurotoxicology and Teratology*, **24**, 209-218.
- Markowski, V. P., Zareba, G., Stern, S., Cox, C., & Weiss, B. 2001 Altered operant responding for motor reinforcement and the determination of benchmark doses following perinatal exposure to low-level 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Environmental Health Perspective*, **109**, 621-627.
- Meyer-Lindenberg, A., Kohn, P. D., Kolachana, B., Kippenhan, S., McInery-Leo, A., Nussbaum, R. L., Weinberger, D. R., & Berman, K. F. 2005 Midbrain dopamine and prefrontal function in humans: interaction and modulation by COMT genotype. *Nature Neuroscience*, **8**, 594-596.
- 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. *Neuroscience Letters*, **398**, 206-210.
- Nishijo, M., Kuriwaki, J., Hori, E., Tawara, K., Nakagawa, H., & Nishijo, H. 2007 Effects of maternal exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on fetal brain growth and motor and behavioral

- development in offspring rats. *Toxicology Letters*, **173**, 41-47.
- 澤幸祐 2008 動物心理学における研究パラダイム間の「翻訳」について 動物心理学研究, **58**, 73-76.
- Schantz, S. L., Seo, B. W., Moshtaghian, J., Peterson, R. E., & Moore, R. W. 1996 Effects of gestational and lactational exposure to TCDD or coplanar PCBs on spatial learning. *Neurotoxicology and Teratology*, **18**, 305-313.
- Schechter, A., & Gasiewicz, T. A. (Eds.). 2003 Dioxins and Health, 2nd ed., John Wiley & Sons, Hoboken.
- Schusterman, R. 1964 Successive discrimination-reversal training and multiple discrimination training in one-trial learning by chimpanzees. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*, **58**, 153-156.
- Schusterman, R. 1966 Serial discrimination-reversal learning with and without errors by the California sea lion. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, **9**, 593-600.
- Seo, B. W., Powers, B. E., Widholm, J. J., & Schantz, S. L. 2000 Radial arm maze performance in rats following gestational and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Neurotoxicology and Teratology*, **22**, 511-519.
- Seo, B. W., Sparks, A. J., Medora, K., Amin, S., & Schantz, S. L. 1999 Learning and memory in rats gestationally and lactationally exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Neurotoxicology and Teratology*, **21**, 231-239.
- Tecott, L. H., 2003 The genes and brains of mice and men. *American Journal of Psychiatry*, **160**, 646-656.
- Tse, D., Langston, R. F., Kakeyama, M., Bethus, I., Spooner, P. A., Wood, E. R., Witter M. P., & Morris, R. G. 2007 Schemas and memory consolidation. *Science*, **316**, 76-82.
- US Environmental Protect Agency (EPA). 2000 Dioxin re-assessment (draft documents on "Exposure and human health reassessment of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and related compounds").
- van der Plasse, G., & Feenstra, M. 2008 Serial reversal learning and acute tryptophan depletion. *Behavioural Brain Research*, **186**, 23-31.
- 渡辺茂 2008 比較神経解剖学と比較認知科学の統合 動物心理学研究, **58**, 147-157.
- WHO-IPCS. 1998 WHO European Centre for Environment and Health International Programme on Chemical Safety EXECUTIVE SUMMARY Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI) WHO Consultation, May 25-29 1998, Geneva, Switzerland.
- Widholm, J. J., Seo, B. W., Strupp, B. J., Seegal, R. F., & Schantz, S. L. 2003 Effects of perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on spatial and visual reversal learning in rats. *Neurotoxicology and Teratology*, **25**, 459-471.

(2011. 4. 30 受稿, 2011. 6. 14 受理)