原 著

高電撃回避ラットの周産期および出生後に 投与した鉛の学習に及ぼす影響

相川 浩幸*, 鈴木久美子*, 三澤 哲夫*, 百溪 浩*, 重田 定義*

EFFECTS OF PERI- AND POSTNATAL LEAD ADMINISTRATION ON LEARNING OF HIGH AVOIDER RATS

Hiroyuki AIKAWA,* Kumiko SUZUKI,* Tetsuo MISAWA,*
Hiroshi MOMOTANI* and Sadayoshi SHIGETA*

Effects of administration of lead acetate on Sidman avoidance behavior were assessed in juvenile and adult rats which were obtained by continued selective breeding and which have a high level avoidance ability and small individual differences (THA rat: Tokai high avoider rat). THA rats were administered lead acetate solution at 200-300 mg/kg/day as Pb until 7 wk of age through maternal milk before weaning from mothers which had been administered lead acetate from the 13th day of gestation and per os by gastric tube after weaning.

Three series of Sidman avoidance behavior tests were conducted from 49th, 100th and 150th day after birth each for 10 d, 1 h every day. In the first series, a significant delay of shock avoidance acquisition was observed in lead-administered male rats compared with the control subjects, while no acquisition delay was seen in female rats.

The lead administered male rats could be divided into two groups with different response patterns; a low susceptible group (LSG) which exhibited as good acquisition rate from the beginning similar to the control rats and a high susceptible group (HSG) which showed a significant delay and individual differences.

In the 2nd test series, very high avoidance rates were obtained in all the test groups except in male HSG, but in the 3rd test series, male HSG also attained a final acquisition of high avoidance rate.

There was no developmental variation between the groups nor difference in lead contents of the organs of the exposed group. Useful characteristics of THA rats for behavioral toxicology are discussed.

Key words: lead; learning; high avoider rat

I. 目 的

近年鉛の中枢神経系に及ぼす影響を学習行動の変化により究明しようとする研究が多く行われるようになってきた。特に最近では明らかな中毒症状がみられない低濃度の鉛投与による影響や脳発育の著しい周産期における投与の研究が多くなってきた¹⁻¹¹⁾。この場合、従来の実験

方法では、学習行動への影響が小さいため鉛の学習行動への影響が個体差に埋もれて実験成績の解釈が困難となり、また周産期投与実験ではあらかじめ動物の学習行動を揃えることができないため更にその解釈は困難となる。そこで本実験ではこれらの諸種の制約要因をできるだけ除去するため、当教室で開発したレバー押しによる電撃高回避学習を習得し、かつ個体差が少なく、しかも長期間安定な学習成績を得ることができる Tokai High Avoider ラット (THA ラット) を用いて実験を行った。実験は脳発育期間の周産期から発育期の酢酸鉛経口投与の学習行動に及ぼす影響をシドマン回避学習試験により行った。また、脳の発育期間中の鉛の学習行動障害が永

* 東海大学医学部衛生学教室

昭和61年1月14日受付

* Department of Environmental Medicine and Occupational Health, School of Medicine, Tokai University

* Received for publication, January 14, 1986

統計的であるか否かを検討することを目的とした。

II. 実験方法

1. 実験動物

動物は JCL-ウィスター系ラットを用いて、シドマン回避学習試験を 1 日 1 回 1 時間ずつ 10 回行い、高回避率 (95% 以上) を獲得した雌雄を 1 対 1 で交配せしめた。出生後は 1 腹当たり雌雄 4 匹ずつ仔数を揃え、離乳後からは雌雄別に群飼育した。生後 7 週齢日より親と同じ学習スケジュールを 10 回行い、高い回避率を得たラットを選択し交配させた。この回避学習試験と兄妹交配を繰り返した 7 世代のラット (このラットを Tokai High Avoider ラット: THA ラットと呼ぶ) を用いた。この THA ラットはシドマン回避学習試験において、出生仔の 9 割以上のラットはほぼ 5 試行目で 90% の回避率を達成し、10 試行目では 95% 以上の高い回避率を獲得するラットである¹²⁾。この THA ラットを 10 週齢時に雌雄 1 対 1 で同居させ、交尾の確認を陰栓により行い (陰栓確認日を妊娠 0 日とする)、妊娠確認した雌ラットはプラスチックケージ内で、離乳まで個別に飼育した。出生仔は出産 1 日目に、雌雄 4 匹ずつ計 8 匹に揃えるように配慮した。しかし実際には 1 腹当たりの匹数を 7 または 8 匹に揃えることができたものの、雌雄の数に多少の違いはあった。生後 30 日目に親と仔に分け、更に仔は雌雄別に群飼育 (3 あるいは 4 匹/ケージ) をステンレス製ブラケットケージ内で行った。このようにして飼育したラットを鉛投与群 (母親 2 匹, 仔 14 匹)、鉛非投与群 (母親 3 匹, 仔 23 匹) に分け実験に供した。鉛投与群として分別した母親のうち 1 匹は出産がなく実験より除外したので鉛投与群の母親は 2 匹となった。この 1 匹は Salewski の方法¹³⁾により確認をしたが着床痕跡はなかった。さらに仔については学習試験において非レバー押しによる電撃回避を習得したラットを除いたので学習試験以降の数はそれぞれ 13 匹, 20 匹となった。

動物は室温 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ の 24 時間空調と、8:00~20:00 明、20:00~8:00 暗の 12 時間サイクルの照明条件とした動物室内に、クリーンラック (日本クレア製) を設置し、この中で飼育した。餌は CE-2 (日本クレア)、水は水道水を学習実験中を除き自由に与えた。

2. 鉛投与

投与鉛濃度は以前に市販ラットを用いた実験⁵⁾において、飲水中の濃度が 5 mg/ml の酢酸鉛水溶液では対照群と鉛投与群との間に明らかな学習成績の差を示したが、2 mg/ml では鉛投与群に学習成績の抑制傾向が見

られたものの、有意差はなかった成績に基づき、2 mg/ml 酢酸鉛を選定した。鉛投与方法は実際には給水瓶で自由に与えている水道水の前日の飲水量を 2 mg/ml 酢酸鉛溶液量と仮定して総 Pb 量を算出し、この総 Pb 量を母親には 2 ml、仔には 1 ml 中に含有するように酢酸鉛液を調製し、この溶液を母親には妊娠 13 日目より分娩後 21 日目まで、仔には生後 22 日目より 48 日目までゾンデよりそれぞれ 1 日 1 回、毎朝、同時刻に行った。なお、鉛投与量はおおむね 200~300 mg/kg/day 相当であった。

3. 発育状態

母親の体重測定は妊娠から離乳時まで、仔の体重測定は出生から鉛投与終了まで毎朝、同時刻に行い、更に仔の体重は全実験終了まで 5 日間隔で測定した。一般発育分化の指標としての耳介展開、発毛、歯牙萌出および開眼の観察は確認するまで、毎日、同時刻に行った。

4. 運動能力試験

テストは Irwin の方法¹⁴⁾による立ち直り反射 (宙返り試験) を 25 日齢に、ロータ・ロード (60 回/分の回転速度で最長 10 分) 試験を 35 日齢に行った。

5. 学習試験

学習試験装置はスキナー箱 (自作) およびミニ・コンピュータ (言語: ACT) による制御・記録部からなるオペラント行動測定装置 (BRS/LVE 社製: 米国) を用いた。スキナー箱の床には 4 本 1 組をスクランブルとした電撃刺激 (DC 100 V, 3 mA) を発するグリッドが設置してある。この電撃を回避するために押すレバーはスキナー箱の側壁に取り付けた 35 mm×25 mm の大きさのステンレス製板で、接点重量は 7 g に調製した。各スキナー箱は外部環境の影響を除くために蛍光灯 (10 W) と換気扇を備えた防音箱に入れた。

学習スケジュールは、負の強化スケジュールで最も基本的なシドマン回避スケジュール (S-S 間隔 5 秒, R-S 間隔 30 秒, 電撃時間 0.5 秒) を用いた。学習試験は 1 日 1 試行, 60 分間, 1 シリーズ連続 10 試行で、鉛投与終了直後の 49 日齢から、同様に鉛投与終了 50 日後の 100 日齢および鉛投与終了 100 日後の 150 日齢の 3 シリーズ行った。なお、学習試験は常に、同じラットについては同時刻に行うように配慮した。また、学習試験成績の集計は雌雄別、ウォームアップ効果の影響がある¹⁵⁾とされている前半 30 分と、その影響が小さい後半 30 分とに分けて行った。

6. 臓器中鉛量

臓器は第三シリーズの学習行動実験終了後 (鉛投与中止後 110 日目)、ラットに軽度のエーテル麻酔を行い、

Fig. 1. Protocol of experiment.

Fig. 2. Water intake of control and lead administered dams during gestation and lactation period.

頸静脈を切断して採血した後、脳・肝臓および腎臓を摘出した。また、第一シリーズの学習実験成績と臓器中鉛との関係を調べる目的で、別にラットを購入して本実験と同様の手順で鉛投与を行い、第一シリーズの学習実験終了と同時期（鉛投与中止後 10 日目）に各臓器を摘出し検体とした。検体は硫酸-硝酸-過塩素酸の混酸による湿式灰化後、血液については DDTC-MIBK, その他の臓器は APDC-MIBK で抽出し、原子吸光法（日立 170-50）により定量した。

7. 統計処理

結果の有意差検定は Student's *t* test あるいは Co-Chran-Cox の検定法で行った。以上のような実験手順

は Fig. 1 に示した。

III. 結 果

1. 飲水量

母親の妊娠および授乳期間中の飲水量は、出産の直前・直後に、対照群と比べて鉛投与群に明らかな減少がみられたが、その他の期間では両群の間に差がなかった (Fig. 2)。離乳以後の仔の飲水量は対照群および鉛投与群とも、加齢とともに微増しているが、両群の間に差がなかった (Fig. 3)。

2. 体重

妊娠から離乳までの母親の体重は妊娠経過とともに増

Fig. 3. Water intake of control and lead administered pups.

Fig. 4. Body weight changes of control and lead administered mother rats during gestation and lactation period.

加し、出産後は授乳の最も盛んな 15~20 日をピークとした体重変化がみられたが、対照群と鉛投与群の間にはいずれの期間も差がなかった (Fig. 4)。仔の体重は、雄では 20 日齢を除き生後から 80 日齢まで、雌では 40 日から 80 日齢の間に対照群と比して鉛投与群に体重増加の抑制がみられたが、100 日齢 (第二シリーズの学習実験の開始日) では、雌雄とも両群の間に差はみられなかった (Fig. 5)。生後 5 日目の体重を基準とした体重増加率では、全実験期間を通して、雌雄ともに対照群と鉛投与群の間に差はなかった。

3. 発育

発育分化についてそれぞれ耳介展開、発毛、歯牙萌出および開眼を確認した日齢数はいずれも個体差が少なく、対照群と鉛投与群とに差はみられなかった (Table 1)。

4. 運動能力

宙返り試験では全匹が正常に着地ができ、また、ロータ・ロッド試験では 10 分間追従できたラットが対照群は 23 匹中 19 匹 (雄: 9 匹中 7 匹, 雌: 14 匹中 12 匹)、鉛投与群は 14 匹中 11 匹 (雄: 9 匹中 6 匹, 雌: 5 匹中 5 匹) であり、両試験とも対照群と鉛投与群との間に差はみられなかった。

5. 学習試験

第一シリーズの学習成績は、前半 30 分値および後半 30 分値のいずれも、学習試験の試行が進むごとに電撃の回避率 $\{(\text{レバー押し 0 回時の被ショック数} - \text{実際の被ショック数}) \times 100 / \text{レバー押し 0 回時の被ショック数}\}$ の上昇が全群でみられたが、雄の鉛投与群における回避率の上昇は雄の対照群および雌の両群に比して小さく、前

Fig.5. Body weight increase curves of control and lead administered male and female rats.

Table 1. The time (day) of appearance of observed developments in experimental rats.

Developments	Control				Pb-administration			
	No.	Mean	S.D.	Range	No.	Mean	S.D.	Range
Pinna detachment	23	3.0	0.5	2- 4	14	3.0	0	3
Primary coat of downy hair	23	7.5	0.5	7- 8	14	7.5	0.5	7- 8
Incisor eruption	23	11.0	0.5	10-12	14	11.1	0.7	10-12
Eye opening	23	15.5	0.5	15-16	14	15.7	0.6	15-17

Fig.6. Avoidance rate of control male rats in the latter half of the 60 min test of the first test series.

半 30 分値では 3 試行目以降から、後半 30 分値では 5 試行目以降から対照群に比して有意差がみられた。また、学習成績の標準偏差も他の 3 群より著しく大きかった (Table 2)。また一方、ウォームアップ効果の影響がみられなかった後半 30 分値について、雄の学習成績を一

匹ずつプロットすると、対照群では 3 試行の学習成績は全匹が 80% 以上の回避率を示し (Fig.6)、6 試行以降の成績は 1 匹を除き 90% 以上の回避率を示した。これに対して、鉛投与群は対照群と同様なパターンの成績を示したグループ {これを鉛に対する低感受性グループと

Table 2. Avoidance rate of control and lead administered groups in the first test series.

Sessions	The first half of the 60 min test				The latter half of the 60 min test			
	Male rat		Female rat		Male rat		Female rat	
	Cont. (N= 9)	Pb-ad. (N= 9)	Cont. (N=11)	Pb-ad. (N= 4)	Cont. (N= 9)	Pb-ad. (N= 9)	Cont. (N=11)	Pb-ad. (N= 4)
1	50.1± 9.4 ^a	49.3±21.9	49.8± 9.4	51.6±12.8	68.3± 6.4	57.5±26.5	67.5±11.0	64.2± 8.6
2	67.0±17.5	49.5±25.9	54.3±16.4	66.0±12.5	76.1±21.1	69.9±18.3	69.2±13.7	75.7±14.5
3	76.0±11.7	55.0±27.0 ^b	74.5±13.3	67.2±12.0	86.2± 5.6	75.4±18.7	85.9± 7.0	83.1± 9.7
4	81.2±12.5	64.5±21.5	80.2±13.9	82.8± 8.3	82.8± 4.1	77.5±19.6	93.0± 4.8	93.4± 2.7
5	82.5± 7.6	59.2±29.5 ^b	87.2± 9.7	85.8± 7.3	93.7± 4.9	74.2±23.3 ^b	94.2± 4.9	92.2± 5.8
6	88.5± 6.9	55.9±24.9 ^c	86.3± 9.0	87.9± 7.6	95.3± 3.4	79.2±21.4 ^b	95.8± 2.9	93.0± 4.5
7	87.7± 9.3	67.2±19.7 ^b	91.5± 7.5	86.6± 9.5	96.5± 2.7	85.9±11.5 ^b	96.4± 2.0	95.7± 3.0
8	92.0± 3.6	68.7±18.2 ^c	94.7± 3.9	85.9±15.1	96.8± 1.8	85.8±13.7 ^b	97.4± 1.4	96.6± 3.5
9	85.1±14.9	73.5±17.1	94.5± 3.9	82.4±22.4	96.5± 1.8	89.3±10.8	97.0± 2.1	96.8± 3.8
10	93.0± 4.0	75.8±15.8 ^c	94.8± 4.4	91.9± 7.4	97.8± 0.5	90.2± 9.4 ^b	97.5± 1.9	97.7± 2.4

^a: Values given as mean±S.D., ^b: Significantly different from the control at $p<0.05$, ^c: Significantly different from the control at $p<0.01$.

Fig.7. Avoidance rate of lead administered male rats in the latter half of the 60 min test of the first test series.

し、以下 LSG (Low Susceptible Group) と略す} (4 匹) と、このグループより被ショック数が多く、9 試行目に至って始めて回避率 80% 以上を習得し、また、試行ごとの学習成績に大きな変動があるグループ {これを鉛に対する高感受性グループとし、以下 HSG (High Susceptible Group) と略す} (5 匹) に分かれているのがわかった (Fig.7)。この二つのグループ間には、親による偏りはみられなかった。鉛投与終了後 50 日経過してから行った第二シリーズの学習試験では、1 試行目よりいずれの群においても回避率は第一シリーズの学習成

績と比べて高い回避率を示した (Table 3)。特に雌雄の対照群と雌の投与群では後半 30 分の試行において 96~98% の回避率を示し、ほぼ学習の習得の安定がうかがわれた。この結果よりこれら 3 群については第三シリーズの試験は行わなかった。鉛投与終了 100 日後の第三シリーズの試験は上記のごとく雄の鉛投与群のみについて行ったが、試行開始より第二シリーズに比較して更に高回避が認められ、特に後半 30 分の試行では 95% 以上の安定した回避率を示した (Table 4)。また試みに第一シリーズの試験において雄の鉛投与群で回避習得パターン

Table 3. Avoidance rate of control and lead administered groups in the second test series.

Sessions	The first half of the 60 min test				The latter half of the 60 min test			
	Male rat		Female rat		Male rat		Female rat	
	Cont. (N= 9)	Pb-ad. (N= 9)	Cont. (N=11)	Pb-ad. (N= 4)	Cont. (N= 9)	Pb-ad. (N= 9)	Cont. (N=11)	Pb-ad. (N= 4)
1	83.3±16.1 ^a	73.1±17.5	92.2± 4.8	92.9± 2.3	97.9± 2.0	91.5± 9.0	96.6± 0.5	98.8± 0.7
2	86.6±12.3	75.9±19.2	92.6± 7.1	94.3± 3.3	97.7± 1.3	93.8± 6.9	98.8± 0.7	97.9± 1.7
3	82.7±21.2	81.2±16.7	96.1± 2.2	96.8± 2.1	95.8± 5.6	95.0± 3.8	98.3± 0.8	98.4± 0.9
4	85.4±14.8	78.4±16.0	96.4± 1.6	95.8± 2.6	95.5± 6.4	93.8± 6.4	98.6± 0.7	98.5± 0.7
5	84.9±17.1	85.0± 8.6	96.1± 2.8	96.7± 2.6	97.3± 1.6	95.2± 3.7	98.6± 0.7	98.2± 0.9
6	87.2±14.1	84.4±10.0	96.2± 4.0	97.8± 1.2	97.2± 2.2	96.7± 1.6	98.1± 1.7	98.8± 0.4
7	84.9±17.9	85.8± 8.7	96.2± 4.2	97.2± 0.8	97.2± 2.2	95.2± 3.0	98.3± 1.5	98.7± 0.9
8	84.6±15.8	87.3± 7.4	96.2± 3.3	96.9± 2.9	96.9± 1.6	94.5± 6.2	98.3± 0.6	98.9± 0.7
9	86.8±13.3	82.9±12.0	95.5± 4.8	96.5± 1.9	97.7± 1.8	96.3± 2.1	98.7± 0.6	98.7± 0.7
10	84.7±15.8	88.4± 6.4	96.5± 3.4	96.3± 4.3	97.2± 1.8	96.0± 3.6	98.4± 0.9	98.3± 0.8

^a: Values given as mean±S.D.

Table 4. Avoidance rate of lead administered male rats in the third test series.

Sessions	The first half of the 60 min test	The latter half of the 60 min test
1	84.6±10.3 ^a	97.8± 1.3
2	91.4± 4.5	97.4± 2.1
3	87.8± 8.3	97.3± 1.7
4	91.0± 5.4	97.0± 2.1
5	87.2± 2.7	97.4± 4.1
6	91.1± 5.5	96.7± 1.6
7	85.7±13.7	96.3± 2.8
8	91.3± 4.3	97.4± 1.5
9	90.5± 7.2	95.1± 3.0
10	92.2± 4.4	97.4± 1.4

^a: Values given as mean±S.D.

の異なる LSG と HSG を比較してみると、第二シリーズでは HSG は試行の進むごとに回避率が上昇しているものの、なお LSG と比較して回避習得の遅れがみられた。しかし、第三シリーズにおいては5試行目以降、HSG と LSG の間に有意差はなく、特に後半 30 分の試行においては安定した回避を習得するに至った (Table 5)。

6. 臓器中鉛量

各臓器中の鉛量はいずれの投与群においても鉛投与中止 10 日目に比して 110 日目に各臓器とも有意の減少を

示した (Table 6)。減少率は血液では雄 45.9%, 雌 41.0%, 脳では 57.3%, 雌 48.1%, 肝臓では雄 36.7%, 雌 16.4%, 腎臓では雄 22.4%, 雌 27.8% と雌雄ほぼ同程度であった。また、鉛投与中止 10・110 日目のいずれの時期においても雌雄間および LSG と HSG 間に各臓器とも、鉛量に差はなかった。

IV. 考 察

1. 育 児

本実験の鉛投与群と非鉛投与群の間では、母仔の飲水量、母親の体重、仔の体重増加率、は育中 (生後 1 日から離乳) の死亡仔数、発育指標 (耳介展開、発毛、歯牙萌出、開眼)、運動能力 (立ち直り反射、ロータ・ロッド試験) に差がなく、鉛投与の母親の育児に及ぼす影響はなかったものと考えられる。

2. 投与量

本実験の酢酸鉛投与量 (Pb として 200~300 mg/kg/d) ではいずれの群においても発育指標である一般分化および運動能力には影響がみられなかった。これは Padich ら⁹⁾ の報告と同様であった。一方体重は生後 80 日齢まで増加抑制がみられた。しかし Hasting ら⁷⁾ や Taylor ら⁸⁾ の報告によれば同様の投与量で仔の体重に鉛の影響はみられず、Padich ら⁹⁾ は出生時のみ鉛投与群の体重増加抑制をみており、また Angell ら⁹⁾ や Driscoll ら¹⁰⁾ は実験期間を通じて鉛投与群に増加抑制があったとしており、体重増加に及ぼす影響は一定していない。すなわち、この投与量あたりを境として、仔の体重増加に

Table 5. Avoidance rate of lead administered male rats in the second and third test series.

Sessions	The first half of the 60 min test				The latter half of the 60 min test			
	2nd test series		3rd test series		2nd test series		3rd test series	
	HSG (N= 5)	LSG (N= 4)	HSG (N= 5)	LSG (N= 4)	HSG (N= 5)	LSG (N= 4)	HSG (N= 5)	LSG (N= 4)
1	63.2±17.5 ^a	85.5± 6.3 ^b	80.1±11.9	90.2± 4.3	86.0± 8.7	98.4± 0.5 ^b	97.0± 0.9	98.9± 0.9 ^b
2	64.8±19.3	89.6± 5.8 ^b	88.7± 4.3	94.8± 1.1 ^b	89.6± 6.9	99.0± 0.3 ^b	96.8± 2.4	98.1± 1.6
3	73.7±19.6	90.6± 4.7	83.1± 7.5	93.8± 4.7 ^b	92.6± 3.6	97.9± 0.5 ^b	96.3± 1.7	98.6± 0.5 ^b
4	68.7±15.7	90.5± 2.7 ^b	87.1± 4.0	95.9± 0.6 ^c	89.6± 7.1	97.9± 0.9	96.2± 2.3	98.1± 1.4
5	76.6± 3.4	91.4± 2.7 ^c	83.5± 8.2	91.8± 3.9	92.2± 2.9	98.2± 0.5 ^c	94.5± 4.8	98.9± 0.6
6	77.4± 7.8	93.2± 1.8 ^c	88.5± 6.1	94.4± 2.2	96.0± 1.9	97.7± 0.5	95.9± 1.8	97.7± 0.8
7	79.0± 6.8	92.5± 2.9 ^c	79.8±16.2	93.1± 4.5	92.6± 1.6	97.8± 0.5 ^c	95.5± 3.3	97.4± 1.8
8	81.2± 6.3	91.9± 4.0 ^b	89.4± 4.6	93.8± 2.6	91.6± 8.2	97.4± 1.0	96.9± 1.8	98.0± 0.8
9	75.7±11.3	91.9± 4.7 ^b	87.6± 8.5	94.2± 3.1	94.9± 1.6	98.0± 1.1 ^b	94.0± 3.8	96.4± 1.1
10	85.1± 5.9	92.5± 4.6	91.0± 4.8	93.8± 3.6	94.5± 4.2	98.0± 1.2	96.9± 1.8	98.1± 0.4

^a: Values given as mean±S.D., ^b: Significantly different ($p<0.05$), between HSG (High Susceptible Group) and LSG (Low Susceptible Group), ^c: Significantly different ($p<0.01$), between HSG and LSG.

Table 6. Lead concentration in the organs 10 days and 110 days after lead administration.

Organs	10 days after		110 days after			
	Male rats (N=16)	Female rats (N=15)	Male rats			Female rats (N= 4)
			HSG (N= 5)	LSG (N= 4)	Total (N= 9)	
Blood ($\mu\text{g/g}$)	0.37±0.10	0.39±0.08	0.20±0.06	0.19±0.03	0.20±0.05	0.23±0.02
Brain ($\mu\text{g/g}$)	1.03±0.35	1.06±0.28	0.49±0.11	0.41±0.19	0.44±0.16	0.55±0.20
Liver ($\mu\text{g/g}$)	0.79±0.35	0.73±0.25	0.46±0.15	0.56±0.19	0.50±0.16	0.61±0.18
Kidney ($\mu\text{g/g}$)	6.02±2.55	6.45±1.72	3.82±1.23	5.74±3.47	4.67±2.50	4.66±0.79

影響を及ぼすと考えられる。また一方、Winder ら¹⁰⁾は体重と脳重量、Harry ら¹¹⁾は体重とミエリン形成の間に相関がみられなかったと報告しており、また我々の成績でも HSG と LSG 間には体重増加に差がなく (Fig.8), 学習への影響は体重増加抑制が誘発した2次的な影響ではないことが推察できる。さらに、雌雄間や、HSG と LSG の間に体内鉛取り込み量には差がなかったことから (Table 5), その影響の差は鉛に対する個体差によるものと推測される。

3. THA ラットの有用性

市販ラットを使用した重田ら⁵⁾の飲水中濃度が2 mg/ml 酢酸鉛投与実験によれば、学習は阻害される傾向を示すに過ぎなかったが、THA ラットを用いた本実験では、雄ラットの鉛投与群には明らかな学習の阻害がみられた。この違いの理由は、前回使用した一般市販ラット

の大きな個体差によって隠蔽されていた鉛の学習行動への影響を、個体差の少ない THA ラットを用いたことで、鉛の学習行動に及ぼす変化をより鋭敏に捕らえた結果と考えられる。

4. 鉛による学習障害の回復

従来報告された鉛の神経行動学的研究において、投与後から回復に至るまで長期間学習行動実験を追究したものは見当たらない。我々は安定した学習成績が得られる THA ラットの使用によって、長期間、酢酸鉛による影響変化を追究することができた。この結果、HSG においても学習試験第三シリーズの5試行目 (鉛投与中止109日)以降には鉛の影響が学習行動に現れなくなったこと、また第一シリーズの学習成績に有意差がみられた時点と比して体内鉛量は脳の約60%を始めとし、約50~20の減衰が見られることを考察すると、回避学習の習

Fig. 8. Body weight increase curves of lead administered male rats.

得は遅れがあるものの非鉛投与群および LSG 群レベルの学習成績に達することが明らかとなった。このように鉛によって学習障害を示したラットの障害回復は、ラットの脳の発育形成が出生後 50 日前後では完了するがその後もミエリン成分については老齢期に入る直前まで増え続けるという報告¹⁷⁾や、障害されたミエリン形成が回復したという報告¹⁸⁾からもうなずける。一方、我々とほぼ同投与量の鉛を親には投与せず、仔のみに出生後直接投与した実験ではミエリン形成障害が永久であったという報告¹⁹⁾もある。親を介した我々の実験において授乳期間中の仔の 1 日推定鉛摂取量を推定ミルク量²⁰⁾とミルク中鉛量²¹⁾より算出すると 0.4~1.2 mg/kg であるのに対し、この実験では 200~300 倍の高い摂取量である。このような高濃度鉛投与では、今日まで定説とされていた中枢神経障害は不可逆的であろうが、我々が行った周産期の酢酸鉛投与量では、仔は学習習得の遅延を生ずるがその影響は回復しうることが推察される。

5. 性 差

動物の学習行動実験においては通常雄が用いられる。この理由は、自発行動^{22~24)}や学習行動²⁵⁾および電撃の感受性に性差がみられ^{24,26)}、雌では内分泌機能特に性周期の影響をうけやすく学習行動実験に雌の使用が避けられてきたためと考えられる。しかしながら、寺田ら²⁵⁾はシャトル型電撃回避実験で性差がなかったと報告しており、水谷²⁶⁾は水迷路とシャトル型電撃回避実験で性周期の影響を認めなかったと報告している。また石崎²⁹⁾も水迷路実験により同様な報告をしている。本実験においても鉛非投与群では電撃回避に性差がなかった。これは使用した THA ラットが雌雄共に安定した均一な高電撃回避率を有しているためと考えられる (Table 2, 3)。つま

り、従来より懸念されていた学習行動成績に対する性差は一定のレベルで、かつ安定性のある学習行動を有したラットを使用するのであれば雌を学習実験に使用することができよう。しかしながら鉛投与群では学習行動は臓器中鉛量には性差がみられなかったものの (Table 5)、雄に影響が大であった。一般には雄のほうが雌よりも鉛の影響が少ないと言われており、また Harry ら¹¹⁾や Petrusz ら³⁰⁾の報告と異なったものであり、鉛に対する雌雄への学習行動やミエリン形成および内分泌機能などにおける感受性の違いは今後さらに検討する必要がある。いずれにしても、本実験の結果は鉛の学習行動への影響が雌雄で異なることを示唆するものといえよう。

V. 結 論

回避学習で速やかに、かつ高い習得成績を示し、しかも個体差の少ない THA ラットを用いて、ラットの脳発育期に投与した酢酸鉛 (Pb として 200~300 mg/kg/d) の中枢神経系におよぼす影響をシドマン回避学習により検討し、次の結論を得た。

1) 投与は妊娠 13 日目より離乳までは母親に、離乳以降は仔に行ったが、体重に若干の増加抑制をきたしたのみで発育分化には影響がなかった。

2) 酢酸鉛投与終了後の長期間にわたった学習実験により、雌ラットには学習成績に鉛の影響がみられなかったが、雄ラットの HSG には学習習得の遅延がみられた。しかしこの遅延は鉛投与中止後 109 日目に降に非鉛投与群および LSG 群の学習習得レベルまで達した。

3) THA 雄ラットには鉛に対する比較的明らかな感受性の個体差があることが学習成績から明らかとなった。

4) 鉛投与群各臓器中の鉛量には雌雄間など各群の間に差は認められなかった。

文 献

- 1) Bull RJ, McCauley PT, Taylor DH et al. The effects of lead on the developing central nervous of the rat. *Neuro Toxicol* 1983; 4(1): 1-18.
- 2) Petit TL, Alfano DP, LeBoutillier JC. Early lead exposure and the hippocampus: a review and recent advances. *Neuro Toxicol* 1983; 4(1): 79-94.
- 3) Kostas J, McFarland DJ, Drew WG. Lead-induced behavioral disorders in the rat; effects of amphetamine. *Pharmacology* 1978; 16: 226-236.
- 4) Overmann SR. Behavioral effects of asymptomatic lead exposure during neonatal development in rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977; 41: 459-471.
- 5) 重田定義, 三澤哲夫, 相川浩幸ほか. ラットのレバー押しによるシンドマン回避行動におよぼす鉛の影響. *日衛誌* 1979; 34(5): 677-682.
- 6) Padich R, Zenick H. The effects of developmental and/or direct lead exposure on FR behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1977; 6(4): 371-375.
- 7) Hasting L, Zenick H, Succop P et al. Relationship between hematopoietic parameters and behavioral measures in lead-exposed rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 73: 416-422.
- 8) Taylor DH, Noland EA, Brubaker CM et al. Low level lead (Pb) exposure produces learning deficits in young rat pups. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1982; 4: 311-314.
- 9) Angell NF, Weiss B. Operant behavior of rats exposed to lead before or after weaning. *Toxicol Appl Pharmacol* 1982; 63: 62-71.
- 10) Driscoll JW, Stegner S. Lead-produced changes in the relative rate of open field activity of laboratory rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1978; 8: 743-747.
- 11) Harry GJ, Toews AD, Krigman MR et al. The effect of lead toxicity and milk deprivation on myelination in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985; 77: 458-464.
- 12) Shigeta S. Usefulness of high avoidance rat strain on neurobehavioral toxicology, Abstracts on 2nd Int. Symp. on Neurobehav. Method in Occup. and Environ. Health, WHO Regional Office for Europe, 1985.
- 13) Salewski E. Farbemethode zum makroskopischen Nachweis von Implantationsstellen am Uterus der Ratte. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Exp Pathol Pharmacol* 1964; 247: 367.
- 14) Irwin S. Drug screening and evaluation of new compounds in animals. In: *Animal and clinical pharmacological techniques in drug evaluation*. Chicago: Year Book Medical Publishers, 1964; 36-54.
- 15) 田所作太郎, 小川治克. 行動薬理試験—とくにオペラント行動を中心に; その1. オペラント行動の考え方と動物訓練の実際. *薬理と治療* 1974; 2(8): 15-29.
- 16) Winder C, Kitchen I, Clayton LB et al. The effect of perinatal lead administration on the ontogeny of striatal enkephalin levels in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 73: 30-34.
- 17) Ando S, Tanaka Y, Ono Y et al. Incorporation rate of GM1 ganglioside into mouse brain myelin; effect of aging and modification by hormones and other compounds. *Adv Exp Med Biol* 1984; 174: 241-248.
- 18) Lampert PW, Schochet SS. Demyelination and remyelination in lead neuropathy. *J Neuropath exp Neurol* 1968; 27(4): 527-545.
- 19) Toewes AD, Blaker WD, Thomas DJ et al. Myelin deficits produced by early postnatal exposure to inorganic lead or triethyltin air persistent. *J Neurochem* 1983; 41(3): 816-822.
- 20) Bornschein RL, Fox DA, Michaelson IA. Estimation of daily exposure in neonatal rats receiving lead via dams milk. *Toxicol Appl Pharmacol* 1977; 40: 577-587.
- 21) Shigeta S, Aikawa H, Misawa T et al. Lead transfer from mother rats to litters through maternal milk and the difference of lead transfer in the body between mature and immature rats. *Jpn J Hyg* 1978; 32(6): 747-752.
- 22) Blizard DA, Lippman HR, Chen JJ. Sex differences in open-field behavior in the rat; the inductive and activational role of gonadal hormones. *Physiol Behav* 1975; 14: 601-608.
- 23) Fonseca NM, Sell AB, Carlini EA. Differential behavioral responses of male and female adult rats treated with five psychotropic drugs in the neonatal stage. *Psychopharmacologia(Berlin)* 1976; 46: 263-268.
- 24) Beatty WW, Fessler RG. Ontogeny of sex differences in open-field behavior and sensitivity to electric shock in the rat. *Physiol Behav* 1976; 16: 413-417.
- 25) Sfikakis A, Spyraiki C, Sitaras N et al. Implication of the estrous cycle on conditioned avoidance behavior in the rat. *Physiol Behav* 1978; 21: 441-446.
- 26) Denti A, Epstein A. Sex differences in the acquisition of two kinds of avoidance behavior in rats. *Physiol Behav* 1972; 8: 611-615.
- 27) 寺田芳規, 西村耕一, 竹中秀子ほか. 雌ラットの性周期とシャトルボックス条件回避成績および電撃に対する反応性. *先天異常* 1979; 19(3): 193.
- 28) 水谷正寛. 行動奇形学試験における学習効果の性差に関する検討. *先天異常* 1982; 22: 67-81.
- 29) 石崎 倫. 水迷路におけるラットの学習行動について. *実験動物* 1978; 27(1): 9-12.
- 30) Petrusz P, Weaver CM, Grant LD et al. Lead poisoning and reproduction; effects on pituitary and serum gonadotropins in neonatal rats. *Environ Res* 1979; 19: 383-391.

著者への通信先: 相川浩幸, 〒259-11 伊勢原市望星台 東海大学衛生学教室 Reprint requests to Department of Environmental Medicine and Occupational Health, School of Medicine, Tokai University, Bohseidai, Isehara-shi, Kanagawa, 259-11 Japan (H. Aikawa)