

## 超低周波電磁界とホルモン情報伝達機構

国立環境研究所 石堂正美

今日のいわゆる「電磁界問題」は、1979年に発表された Wertheimer と Leeper 両博士の論文に端を発するとされている。低レベルの超低周波(50~60 Hz)電磁界への暴露によって、白血病、脳腫瘍、などのリスクが上昇している可能性を示唆する疫学データである。

電磁界の生体影響に関する研究は、彼らの発表より以前からなされてきている。1970年代半ば、電界の生体影響が問題にされはじめた頃から多くのホルモンに対する電界の影響が研究された。ほとんどの研究で何らの影響も認められなかったが、1981年メラトニンの夜間分泌が抑制されることが Wilson 博士らによって報告された。ヒトのコルチゾル、成長ホルモン、テストステロンなどが調べられたが、いずれも影響は認められなかった。このような結果と後述する Stevens 博士のメラトニン仮説や Liburdy 博士の報告により、電磁界暴露によるメラトニンへの影響が多くの研究者の関心を集めるようになってきた。

“メラトニン仮説”は、1985年、それまでに示されていたいくつかの関連研究をもとに、米国のバテル研究所でがんの疫学研究をしていた Stevens 博士によって提唱された。産業化社会では、人工照明環境が増加しているために1日の‘暗さ’が減少することによって、また、加藤正道元北大教授らのラット実験で示されているように、夜間の磁界（とくに円極性の磁界への）曝露によって、メラトニン分泌が減少するとすれば、メラトニンに示唆されている抗がん作用が低下し、がんリスク、とくに乳がんリスクが上昇することが説明できるかも知れないとする仮説である。

メラトニンには、概日リズムと性活動に対する作用の他に、正常及び腫瘍形成細胞の増殖に対して抑制作用がある。古くから松果体抽出液がヒトの内分泌線腫瘍の治療に用いられてきたが、松果体の抗腫瘍形成活性は次の2つの観察に基づく。(1)松果体切除により眼細胞が増殖すること。(2)逆に、メラトニン投与により癌増殖が抑えられること。ヒトの疫学研究結果からは裏付けられていないが、動物実験結果では、松果体機能低下によりメラトニン分泌が抑制されると、乳癌が進行するという報告もなされている。悪性乳癌にエストロゲン受容体が存在するかどうかは、乳癌診断における確立された項目であるが、これに加えて、メラトニン受容体が乳癌にあるかどうかは乳癌の予知項目とされる。原発性乳癌細胞ではメラトニン受容体が45.5%で、受容体欠損が42.5%とする報告もなされている。一方、良性乳疾患ではメラトニン受容体陽性が92.7%、受容体欠損は7.5%であった。つまり、メラトニンは、メラトニン受容体を介して、乳癌に直接作用しているのかもしれない。

“メラトニン仮説”は、メラトニンのフリーラジカル・スカベンジャーとしての作用を指摘したテキサスの Reiter 博士や、以下のような実験的知見を見いだした UCLA の Liburdy 博士などによって支持された。Liburdy 博士は、当時アリゾナ大学にいた Blask 博士からヒト乳癌培養細胞(MCF-7)を譲り受け、とくに磁界の影響を調べた。磁界の曝露装置は、一番安定した磁場が得られるとされている Merritt 型 coil (四回巻き) をもちい、こ

れを 80%のニッケルからなる合金でできたミューメタルでシール後、そのまま市販の CO<sub>2</sub> 恒温器に入れたものである。この実験で、まず磁界をかけない場合に、メラトニンが MCF-7 細胞の増殖を抑制することを確認した上で、磁界 (1.2 μT; 60 Hz) をかけると、メラトニンの細胞増殖抑制作用が打ち消されることを見いだした。

筆者らも、この MCF-7 細胞を Liburdy 博士より譲り受け、同様な装置を用いて追試を行った結果、メラトニンの細胞増殖抑制作用が電磁界 (100 μT; 50 Hz) により消失することを確認した。すなわち、10<sup>-11</sup>-10<sup>-9</sup>M 濃度のメラトニンは 20-25%の増殖阻害を示すが、磁界に曝露すると、メラトニンの細胞増殖阻害は約 0-15%に減少する。このことは電磁界によりメラトニンの情報伝達機構が何らかの形で阻害されることを示唆しており、電磁界の生体影響の分子基盤を解明するためには、重要な現象と思われる。なお、メラトニンにより増殖阻害がかかっている状態と電磁界により同作用が抑制された場合で、MCF-7 細胞の形態には有意な差異は認められない。そこで、筆者らは磁界のメラトニン情報伝達機構への作用点を明らかにするために、'磁界感受性' MCF-7 細胞におけるメラトニン情報の窓口となる受容体から調べた。

メラトニンの受容体は、アゴニストに対する親和性により、1型と2型に大別される。また、メラトニン受容体の一次構造は、長らく不明であったが、1994年 Reppert 博士らによってメラトニン 1a 受容体がクローニングされた。続いて、1b 受容体と 1c 受容体が相次いで単離され、それらの一次構造は、細胞膜 7 回貫通型受容体 (heptahelical 受容体) であることが示された。近年、heptahelical 受容体の中には、LNB-TM7 と呼ばれるサブファミリーを形成するものが出てきているが、メラトニン 1 型受容体は、古典的 heptahelical 受容体に属する。

それでは、メラトニンの作用発現に関して '磁界感受性' を持つことが予想される MCF-7 のメラトニン受容体はどのサブタイプであろうか。<sup>125</sup>I で標識したメラトニンの結合実験では、1 型受容体アンタゴニスト (Luzindole) の存在下でメラトニンの細胞膜受容体への結合が阻害され、2 型受容体アンタゴニスト (GR135531) の存在下では阻害はみられなかった。また PCR 法ではメラトニン 1 a 受容体に対する特異的プライマーにより受容体 cDNA が増幅され、1 b 受容体のプライマーではそれは増幅しなかった。これらの結果から、'電磁界感受性' MCF-7 における細胞膜メラトニン受容体はその大部分がタイプ 1 a 受容体であることが明らかとなった。続いて、電磁界曝露がメラトニンの受容体への結合や受容体遺伝子の発現に影響を与えるかどうかをみると、電磁界 (100 μT; 50 Hz) は、受容体レベルでメラトニンの情報伝達を阻害するのではないようである。

メラトニンは、その受容体に結合することによって、細胞内のセカンドメッセンジャーの変化を促し、さらに特異的な細胞応答を引き起こす。その際、メラトニンの情報は特異的な伝達機構により運ばれる。ホルモンの情報伝達機構は、その窓口になる受容体の一

次構造に依存していると推測される。つまり、1型受容体は、古典的 heptahelical 受容体に属するので、メラトニンの情報は G 蛋白質を介した、アデニレートサイクレス調節系に関与するものと推測される。実際、単離された 1a 受容体を培養細胞に発現させると、メラトニンはアデニレートサイクレスの活性化因子であるホルスコリンによる cAMP の細胞内蓄積を減少させることが示された。そこで、‘電磁界感受性’乳癌細胞 MCF-7 において、磁界が G 蛋白質レベルで影響を与えているかどうかを検討してみると、GTPase 活性も ADP リボシル化においても有意な影響はみられなかった。次に、電磁界が効果器アデニレートサイクレス自身の活性に影響を及ぼしているかを調べたところ、電磁界曝露 (100  $\mu$  T; 50 Hz) によりアデニレートサイクレス自身の活性にも全く変化は認められなかった。

最後に、1a 受容体は、細胞膜において G タンパク質・アデニレートサイクレスと連結し、アデニレートサイクレスによる細胞内の cAMP 蓄積に対して抑制系として機能していると報告されていることから、アデニレートサイクレス刺激後の細胞内 cAMP の蓄積を指標として、メラトニンの作用 (蓄積の抑制) と磁界曝露との関係を調べた。その結果、メラトニンによる cAMP の細胞内蓄積の抑制が電磁界 (100  $\mu$  T; 50 Hz) により阻害され、その阻害率と日数との関係は極めて良好な直線性を示すことが明らかとなった。

以上の一連の結果から、電磁界は上記の分子群、すなわちメラトニン 1a 受容体、G タンパク質とアデニレートサイクレスの連結部に作用することが示唆されたことになる。つまり、上記で述べた、電磁界によるメラトニンの抗発がん作用阻害は、電磁界によるメラトニン 1a 受容体からアデニレートサイクレス間の機能的連結の消失 (uncoupling) によるものと考えられる。

前述の Blask 博士は、ヒト乳がん培養細胞 MCF-7 細胞の増殖をメラトニンが抑制することを示し、更にメラトニンは乳がんの一因とされるエストロゲンによる細胞増殖をも抑制することを報告した。これらの事柄は、メラトニン情報伝達機構とエストロゲン情報伝達機構が相互作用していることを示唆している。そこで、筆者らは電磁界によるメラトニンの抑制作用を逃れ、乳がん細胞の増殖を促進している因子としてエストロゲンを考え、電磁界がエストロゲン情報伝達機構に影響を及ぼすか否かを検討した。電磁界によるメラトニン情報伝達機構の uncoupling が示されたヒト乳がん細胞には、エストロゲン受容体  $\alpha$  の存在が確認された。100 nM のエストロゲンを一週間曝露すると乳がん細胞は約 50% の増殖を示した。この系に 100 マイクロテスラの電磁界を一週間曝露しても、乳がん細胞の増殖速度に変化は見られなかった。エストロゲン情報伝達機構に対する電磁界の影響はないものと考えられた。

以上のように、本研究ではヒト乳がん由来培養細胞という反応の場において二つの生体反応に対する電磁界の影響を検討した。その結果、電磁界はメラトニンの情報伝達機構における生体反応を修飾するが、エストロゲンのそれには影響しないことが示された。電

磁界の生体反応への影響に特異性が考えられるが詳細については不明である。ラジカル対化学反応に及ぼす磁界効果は、ラジカル対機構で系統的に説明されてきているが、一般的生化学反応には言及できない。光励起に伴う電子移動や結合切断によりラジカル対が生じる植物や細菌の光合成の初期反応では磁場効果が観察されている。一般的な生化学的・生理学的反応が電磁界感受性となるための機構を分子レベルで語るには、別の理論が必要なのかもしれない。