

## 電磁界による生体反応の修飾

石堂正美

独立行政法人 国立環境研究所

Modulation by electromagnetic fields of  
chemical reactions in a living cell

Masami Ishido

National Institute for Environmental Studies

## 要約

環境因子が発癌の引き金になることは、よく知られている事実である。今日問題とされている要因の中に電磁界がある。高圧送電の周辺に発生する電磁界への長期曝露によって、小児の白血病や脳腫瘍のリスクが上昇することを示唆する疫学的調査結果が報告され、国際的に大きな議論となった<sup>1)</sup>。また、電気毛布の使用により乳癌リスクがわずかに上昇するという報告もなされた。

いずれも、疫学研究である。疫学研究は一般に、原因と考えられる要因と疑われる病気との関連性を解明し、できる限り因果関係を追求する手法であるが、結果の信頼性、妥当性に関して、次の基準を満たさなければならない。①問題とされる曝露と疑われる健康影響との間に時間的に矛盾がない関連性が示されること。②観察される相対リスクは十分に大きいこと。③交絡因子の影響から独立した特異的なリスクであること。④同様な疫学調査においても再現性が認められること。⑤培養細胞や実験動物等その他の手法による検討結果との整合性があること、である。

そこで、私たちは電磁界に対して応答を示す培養細胞を用い、電磁界の生体反応に対する影響を調べた。特に、松果体ホルモンであるメラトニンの情報伝達機構に対する影響を中心に紹介したい<sup>2~7)</sup>。

《Key words》 electromagnetic fields, melatonin, oncostatic action, signal transduction

## I. 電磁界の生体影響

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<sup>1)</sup>。低レベルの超低周波(50~60Hz)電磁界への曝露によって、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的データである。これらの報告で示さ

れているレベルは、これまで生理的影響を考慮して安全とされてきたレベルより極端に低いレベルであり、その妥当性について国際的に盛んに研究されているところであるが、わが国での研究あるいは行政での取り組みは大幅に遅れている。このような超低周波電磁界への曝露をうけている人口は非常に多く、健康影響の具体的検討が急務で

別刷請求宛先：石堂正美

〒305-8506 つくば市小野川16-2 国立環境研究所・環境ホルモン重点プロジェクト

Reprint Requests to Masami Ishido, Endocrine Disruptor Res Project, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba 305-8506 Japan

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、電磁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、電磁界曝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。

## II. メラトニン

古くから、小児で腫瘍によって松果体の組織が壊れてしまうと、早発性の性成熟が起こることについて多数の報告があった。この知見から、おそらく松果体は性成熟を押しやる働きを持っており、思春期になると松果体の機能が衰え、にわかに性活動が発達すると考えられていた。この推測は、メラトニンの発見によって立証された<sup>8)</sup>。

若い動物にメラトニンを注射し続けると、雄であれば、精巣と精嚢など、雌であれば、子宮、膣などの発達が阻止されてしまう。一方、松果体を摘発すると、異常に早く生殖器官が発達し、このような動物にメラトニンを投与すると、異常な発達が抑えられるのである。メラトニンは、視床下部に働いて性腺刺激ホルモン放出ホルモン(LHRH)の分泌を抑え、それによって下垂体からの性腺刺激ホルモンであるゴナドトロピンが産生されなくなり、生殖腺の発達を阻止するのである。

逆に、松果体からのメラトニンが分泌されない場合には、LHRHの産生がふえて、早期に異常に大量のゴナドトロピンが放出されるため、生殖器官が年齢に似合わず発達するのである。

メラトニンは、主に松果体で産生されるホルモンである。その合成は視床下部の視交叉上核に存在する生体時計及び環境明暗変化に支配され、夜

間に多く分泌されて、血中、髄液濃度が上昇し、日中は分泌量が減少して濃度も低下するという日内変動を示すことが知られている。

外界の明暗とメラトニン分泌の関係は、極地にすむ人たちではっきりしている。長く暗い冬の間は、メラトニンの抑制作用によってほとんど性交することがないが、夏になって終日明るい太陽の光を浴びている季節には、性欲が高まって、妊娠する女性が多い。

メラトニンは、視床下部でLHRHの産生を抑える以外に、脳の活動全般に対して抑制性の作用をもっているから、天然に私たちの体が作り出す精神安定剤として役立つ。夜になると精神的な安らぎが得られるのは、暗さによるメラトニンの効果である。

近年、メラトニンは松果体の他に網膜でも産生され、その分泌量は網膜にも存在するらしい生体時計と明暗変化に制御されていることが明らかになった。

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<sup>9)</sup>。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)松果体切除により癌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ジェ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<sup>9)</sup>。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。

### III. Stevens 博士の「メラトニン仮説」と Liburdy 博士の実験報告

現代生活では、夜になっても煌々と照明され、安息の時間帯が著しく短縮されてしまっている。これがメラトニン分泌を抑えていることは確かであり、メラトニンの生理作用からみて喜ばしいことではない。性活動の抑制と精神安定に必要なメラトニンの分泌が欠乏してくる。

また、乳癌は現代病の一つである。電力を膨大に消費する産業化が乳癌の原因とは考えにくいだが、1985年 Stevens 博士は次の仮説を提唱した<sup>10)</sup>。産業化に伴い一日の‘暗さ’が減少し、乳癌細胞に対して抑制的に作用するメラトニン分泌が減少し、乳癌細胞が増殖しやすくなってきているとする、

いわゆる‘メラトニン’仮説である。この仮説は、唯一 UCLA 大学の Liburdy 博士によって支持されてきた<sup>11)</sup>。Liburdy 博士は、当時アリゾナ大学で研究していた Blask 博士のヒト乳癌培養細胞 MCF-7を譲り受け、電磁界の影響を調べた。電磁界の曝露装置は、4個の Merritt-coil 型で、これをそのまま市販の CO<sub>2</sub> 恒温器に入れたものである。メラトニンは MCF-7細胞の増殖を抑制した。しかし、電磁場のかかっているところでは (1.2 μT; 60Hz)、メラトニンの細胞増殖抑制作用が打ち消され、MCF-7細胞は増殖し続けた。Liburdy 博士は、更に電磁場のかかっている細胞では、Ca<sup>2+</sup>イオン流入が増大することを報告した。Ca<sup>2+</sup>イオン流入の初期相には変化はみられな

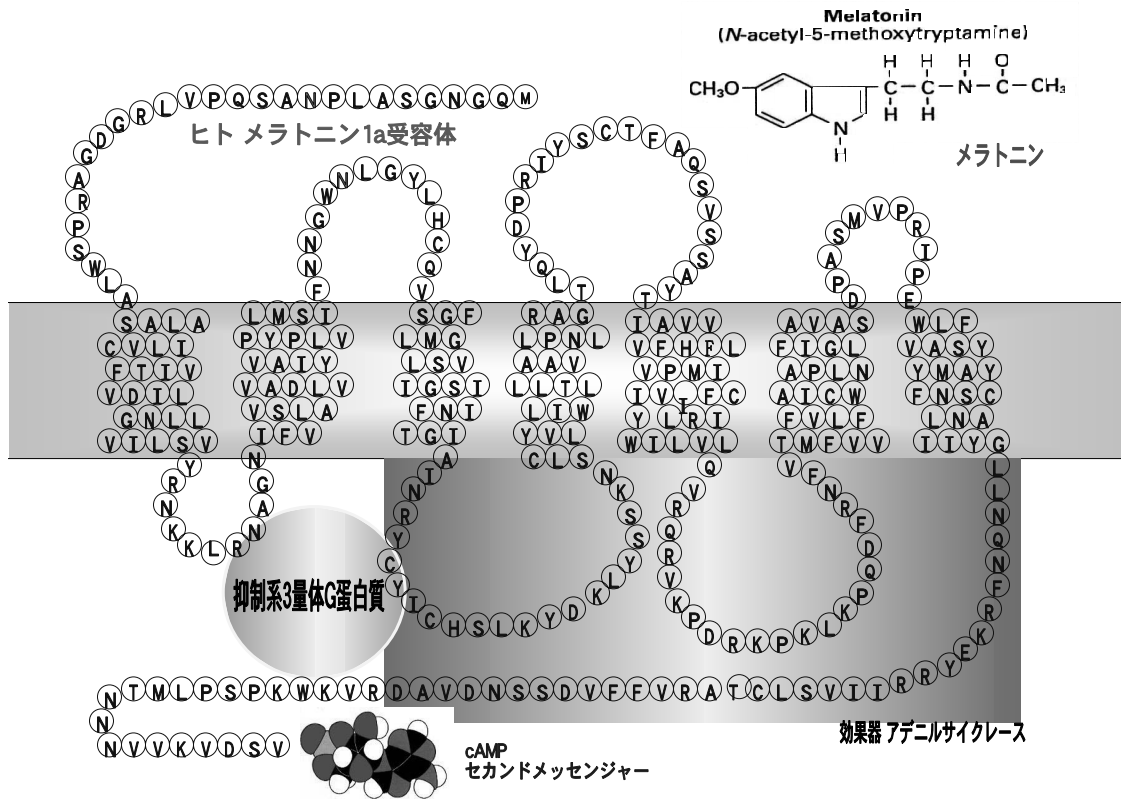


図1 メラトニン1a受容体 (MT1) を介するアデニルサイクラーゼ抑制系の模式図

主に、松果体から分泌されるメラトニンは、標的器官の細胞膜上に存在する MT1受容体に結合することにより抑制系三量型 G 蛋白質を活性化し、アデニルサイクラーゼの活性化を抑制する。その結果、セカンドメッセンジャーである cAMP の産生が低下する。電磁界が作用すると、これら三者の機能的連結が消失し(uncoupling)、メラトニンの抗癌作用が阻害される (詳細は、本文参照)。

いが、定常相の  $\text{Ca}^{2+}$  イオン流入が電磁界により増大するという。筆者らも、いわゆる‘電磁界感受性’ MCF-7細胞を Liburdy 博士より譲り受け、追試を行った。確かに博士の報告通りに、メラトニンの細胞増殖抑制作用が電磁界 (100  $\mu\text{T}$ 、50Hz) により消失することが確認された<sup>2)</sup>。10%血清存在下の MCF-7の増殖に対して、 $10^{-11}$ – $10^{-9}$  M 濃度のメラトニンは20–25%の増殖阻害を示すが、電磁界 (100  $\mu\text{T}$ 、50Hz) 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ていることを示唆している。電磁界の生体影響の分子基盤を解明するためには、電磁界感受性 MCF-7細胞のメラトニンの情報伝達機構を解析することが重要になってくる。そこで、筆者らは電磁界感受性 MCF-7細胞に存在するメラトニン受容体を同定することから着手した。

#### IV. メラトニン受容体

メラトニンの情報は、その特異的な受容体に結合することによって伝達され、その生理作用が発揮する (図1)。アゴニストに対する親和性により、メラトニン受容体は1型と2型に大別される。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 博士のグループによりメラトニン1a受容体 (MT1) がクローニングされた<sup>13)</sup>。続いて、1b受容体 (MT2) と1c受容体が相次いで単離された。それらの一次構造は、細胞膜7回貫通型受容体 (heptahelical 受容体) であった。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。構造上 heptahelical 受容体族であるが、他の heptahelical 受容体とのホモロジーは高々25%に過ぎない。

ヒトの場合少なくともメラトニン1a受容体とメラトニン1b受容体の2つのサブタイプが存在することが判明している。1a受容体は、主に視交叉上核や下垂体の *pars tuberalis* に発現して

おり、メラトニンの生体時計や季節性生殖活動に対する効果を媒介していると考えられている。

1b受容体は、網膜に多く発現しており、網膜でみられる光受容体産生の概日リズムをメラトニンがコントロールしている可能性が指摘されている。

視交叉上核にある生体時計は松果体のメラトニン産生を支配し、網膜の生体時計は網膜のメラトニン産生をコントロールしているらしい。そして、視交叉上核及び網膜のいずれにもメラトニン受容体が多く発現しているという事実は、メラトニンと生体時計の密接な関わりを示唆している。

Reppert 博士のグループは、メラトニン1a受容体のノックアウトマウスを作製し、メラトニンの作用の変化を調べた。低濃度メラトニンによる位相変位作用が弱くなり、メラトニンによる視交叉上核の神経細胞活動電位の抑制作用が消失するなど、ある程度メラトニンへの感受性が低下していることは見いだされたが、メラトニンによる位相変位作用は完全に消失しなかった。また、メラトニン1b受容体を欠損しているハムスターでは生体リズムの異常は全く見られなかった。

メラトニン1c受容体は、ヒトでは見つからず、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュや鳥類で報告されている。メラトニン2型受容体の一次構造及び生理作用は依然不明のままである。

1985年にグルココルチコイド受容体 cDNA がクローニングされて以来、他の核内受容体が次々にクローニングされた。それらの構造及び機能解析の結果、核内受容体は共通のドメイン構造を持つファミリーを形成する DNA 結合性の転写制御因子であることが明らかになった。その中には、既存の受容体とのホモロジーを指標として、あるいは他の転写制御因子の研究から、核内受容体スーパーファミリーに属するリガンド不明のいわゆるオーファン受容体が多数単離された。1994年、オーファン受容体の一種である RZR  $\alpha$  及び RZR  $\beta$  がメラトニンの核内受容体ではないかという報告がなされた。

RZR  $\alpha$  は、大量に末梢白血球と毛根に発現し、更に肝臓、肺、心臓、骨格筋と一部の脳に発現し

ている。一方、RZR  $\beta$  は脳、特に生体リズムにかかわりある組織である網膜、松果体や視交叉上核で高い発現が認められ生体リズムの調節と密接に関係していると考えられた。興味深いことに視交叉上核での RZR  $\beta$  mRNA の発現は主に出力ニューロンの局在している背内側にみられ、松果体での RZR  $\beta$  mRNA の発現が夜間が高く昼間は低い日内変動を示す。

しかしながら、この報告は他の研究者により追試できていないことから、RZR の真のリガンドがメラトニンであるかは判然としない。近年、かつてオーファン核受容体と言われた CAR (Constitutive activator of retinoic acid response element) や FXR (farnesoid X receptor) はそれぞれアンドロスタイン代謝物や胆汁酸がリガンドであることが明らかになったが、RZR は変わらずオーファンである。

それでは、メラトニンの作用発現に関して電磁界感受性を持つことが予想される MCF-7 における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による結合実験では、メラトニン 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。以上の結果より、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<sup>2)</sup>。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かどうかを調べてみると、電磁界 (100  $\mu$ T、50Hz) は受容体レベルでメラトニンの情報伝達を阻害しないようである<sup>2)</sup>。

## V. メラトニンの情報伝達機構

メラトニンが受容体に結合することにより、細胞内のセカンドメッセンジャーの変化を介して特異的な細胞応答が引き起こされる。その際、メラ

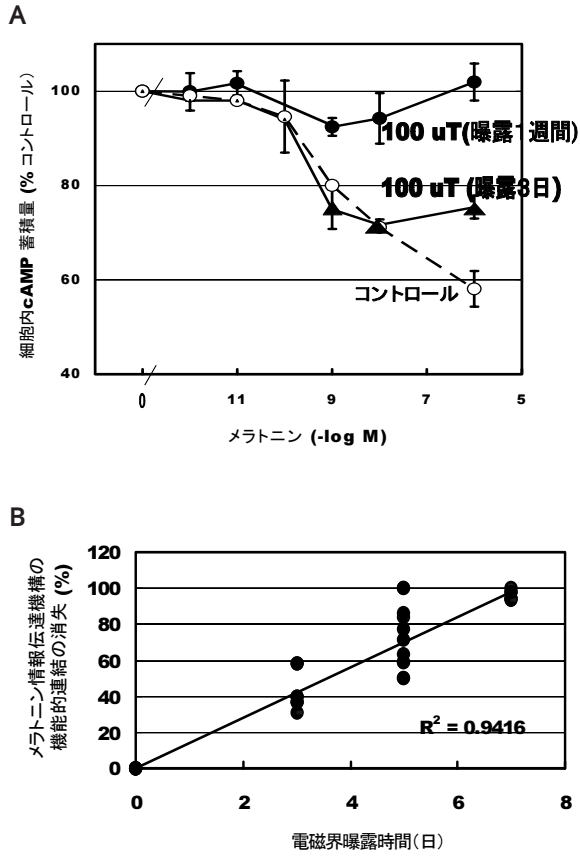
トニンの情報は特異的な伝達機構により運ばれる。ホルモンの情報伝達機構は、その窓口になる受容体の一次構造によりある程度推測される。メラトニンの 1 型受容体は、古典的 heptahelical 受容体に属するので、メラトニンの情報は G 蛋白質を介した、アデニルサイクレス調節系に与するものと推測される。実際、単離されたメラトニン 1 a 受容体を培養細胞に発現させると、メラトニンはアデニルサイクレスの活性化因子であるフォルスコリンによる cAMP の細胞内蓄積を減少させることが示された。

## VI. 電磁界感受性ヒト乳癌細胞におけるメラトニンの作用機序と電磁界の影響

電磁界感受性ヒト乳癌細胞 MCF-7 ではどうか。電磁界が 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<sup>2)</sup>。続いて、電磁界 (100  $\mu$ T、50Hz) が効果器アデニル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、電磁界曝露によりアデニル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<sup>2)</sup>。

メラトニン 1 a 受容体は、細胞膜において G タンパク質・アデニルサイクレスと連結し、アデニル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。アデニル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) と電磁界曝露との関係をみたところ、メラトニンによる抑制が電磁界 (100  $\mu$ T、50Hz) により阻害され、その阻害率と曝露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 (図 2)。以上のことから、電磁界は上記の分子群の連結部に作用することが示唆された<sup>2)</sup>。

著者らは、Liburdy 博士の提唱する 'Ca<sup>2+</sup>仮説' は検証していない。この説に関しては、物議をかもしだしているが、最近、メラトニン 1 a 受容体は、アデニルサイクレス抑制経路のみならず、Ca<sup>2+</sup>動員経路にもカップリングしていることが報



**図2** 電磁界曝露 (100  $\mu$  T、50Hz) による抑制系アデニルサイクラーゼを介するメラトニン情報伝達機構の機能的連結の消失

(A) 各濃度のメラトニンによるフォールスコリン刺激細胞内 cAMP 蓄積の抑制。(B)  $10^{-6}$  M メラトニンによるフォールスコリン刺激細胞内 cAMP 蓄積の抑制の時間変化。

告されているので、 $Ca^{2+}$  仮説も再検証するべきであろう。

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癌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、乳癌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 が示されたヒト乳癌細胞には、エストロゲン受容体  $\alpha$  の存在が確認された。100nM のエストロゲンを1週間曝露すると乳癌細胞は約50%の増殖を示した。この系に100  $\mu$  T の電磁界を1週間曝露しても、乳癌細胞の増殖速度に変化は見られなかった<sup>4)</sup>。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。

## VII. 新たな電磁界影響評価の指標

研究を進める上での「仮説の功罪」は、正しいあるいは正しくないとはっきり判断できる仮説が功で、白黒はつきりできない仮説は罪である。この点 Stevens 博士のメラトニン仮説は、多くの研究者をその検証に駆り立て、しかも Liburdy 博士や著者らを含め5つの研究室により支持されているのであるから「功」である。著者らは、電磁界感受性培養細胞を用いることにより、独自に電磁界の影響はメラトニン受容体を介したアデニルサイクラーゼ抑制系の uncoupling を引き起こすことを見出した。この新しい知見が他のホルモン情報伝達機構にも適用できるのであろうか。あるいは、他の培養細胞でもみられるのであろうか。いろいろ興味の尽きないところであるが、著者らは、培養細胞レベルで見いだした電磁界の影響指標がヒトをはじめとする個体レベルへの応用を現在試みている。

## 文献

- 1) Wertheimer N, Leeper E: Electrowiring configurations and childhood cancer. *Am J Epidemiol* 109: 273-284, 1979
- 2) Ishido M, Nitta H, et al: Magnetic fields (MF) of 50 Hz at 1.2  $\mu$  T as well as 100  $\mu$  T cause uncoupling of inhibitory pathways of adenylyl cyclase mediated by melatonin 1a receptor in MF-sensitive MCF-7 cells. *Carcinogenesis* 22: 1043-1048, 2001
- 3) Ishido M, Nitta H, et al: The mechanism of biological magnetic field effects on

- oncostatic actions of melatonin. Magnetic field and spin effects in chemistry and related phenomena 4: 72-74 2002
- 4) Ishido M, Kabuto M: Disruption by magnetic field (50 Hz; 100 microtesla) of protein-protein communications in melatonin signal transduction pathways, but not in estradiol-evoked cell proliferation pathways in human breast cancer cells. *Environ Sci* 10: 349-357 2003
  - 5) 兜 真徳、石堂正美：電磁波の健康リスク。科学 (岩波書店) 71 : 150-159 2001
  - 6) 石堂 正美：超低周波電磁界のメラトニン情報伝達機構への影響。電磁環境工学情報 EMC 168 : 37-39 2002
  - 7) 石堂 正美：超低周波電磁界とホルモン情報伝達機構。物性研究 82 : 90-93 2004
  - 8) Lerner AB, Case JD, et al: Isolation of melatonin and 5-methoxyindole-3-acetic acid from bovine pineal glands. *J Biol Chem* 235: 1992-1997 1960
  - 9) Kerenyi NA, Pandula E, et al: Oncostatic effects of the pineal gland. *Drug Metab Drug Interact* 8: 313-390 1990
  - 10) Stevens RG: Electric power use and breast cancer: a hypothesis. *Am J Epidemiol* 125: 556-561 1987
  - 11) Liburdy RP: ELF magnetic fields, breast cancer, and melatonin: 60 Hz fields block melatonin's oncostatic action on ER<sup>+</sup> breast cancer cell proliferation. *J Pineal Res* 14: 89-97 1993
  - 12) Reppert SM, Weaver DR, et al: Cloning and characterization of a mammalian melatonin receptor that mediates reproductive and circadian responses. *Neuron* 13: 1177-1185 1994