極低周波交流磁界応答遺伝子の同定とその遺伝子発現に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/2110

極低周波交流磁界応答遺伝子の同定とその遺伝子発現に関する研究

池田　隆[1]・原田真市[2]・細野隆次[3]・柿川真紀子[4]・岩原正吉[5]・山田外史[4]

[1]〒920-8667 金沢市小立野　金沢大学大学院自然科学研究科電子情報システム専攻；[2]〒920-8640 金沢市宝町　金沢大学医学部研究教育機器センター；[3]〒920-0942 金沢市小立野　金沢大学医学部保健学科；[4]〒920-8667 金沢市小立野　金沢大学自然計測応用研究センター；[5]〒920-8667 金沢市小立野　金沢大学工学部電気電子システム工学科

Takashi IKEDA[1], Shin-ichi HARADA[2], Ryuuji HOSONO[3], Makiko KAKIKAWA[4], Masayoshi IWAHARA[5] and Sotoshi YAMADA[4] : Identification and Expression of Genes Responding to Extremely Low Frequency Magnetic Fields in *C.elegans*

1. はじめに

近年，静磁界ならびに交流磁界曝露が生体に及ぼす影響について，遺伝子レベルから固体レベルでの生化学的研究や疫学研究など様々な報告がなされてきた．現在特に社会問題化しているのは，日常生活で用いる電気に由来する 50 ないし 60 Hz の商用周波数などの極低周波交流磁界，ELFMFs（Extremely Low Frequency Magnetic Fields）である．世界各国の公的機関において，ELFMFs 曝露に対する人体影響の疫学調査が行われ，生活環境中での磁界曝露による人体への健康リスクが指摘された．そして，磁界曝露時間や磁界強度などに関する防護規格や，磁界曝露による健康リスクに対する予防的対策が取り上げられてきた．しかしその影響は多様で，生体内での磁界応答メカニズムは未だ明確に実証されていない．そこで，本研究ではまずモデル動物による磁界影響評価をすることを目的とし，全ゲノム配列がすでに解読されている線虫 *C.elegans* をモデル動物として用い，ELFMFs 曝露下での生体機能への影響を遺伝子レベルにおいて評価した．特に DNA から messenger RNA（mRNA）への転写段階における発現量に着目し，ELFMFs 曝露に特異的な応答を示す候補遺伝子を同定し，さらにそれぞれの候補遺伝子の mRNA 発現量を厳密に定量化することによって，遺伝子発現レベルと磁界応答との関係を調べた．

2. ELFMFs 発生装置と mRNA 発現量の定量的解析

今回の実験で用いた ELFMFs 発生装置は，E 字型の鉄心を 2 つ対向させ，実験領域となる中央に空間を確保している．実験領域内には誤差 2.0%以内の一様な磁界を発生させることができる．コイルにより発生する熱の影響を避けるため，恒温装置により水を循環させることで実験領域内部の温度を 0.1℃単位で制御した．本装置を用いた実験では磁界を曝露しない線虫群を control，対照実験として周波数 60Hz，磁界強度 0.5T の ELFMFs を 120 分間曝露した線虫群を exposed とし，それぞれの線虫から抽出した Total RNA を用いて mRNA 発現量の比較を行った．まず Differential Display 法により磁界に特異的な応答を示す候補遺伝子を探索する．それらの候補を全てクローン化した後，同定した候補遺伝子の mRNA 発現量をさらに感度の高い定量的 RT-PCR（Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction）法により解析する．

3. ELFMFs 応答性候補遺伝子の同定とその mRNA 発現量の定量的解析

3.1　ELFMFs 応答性候補遺伝子の探索と同定

Differential Display により ELFMFs に特異的な応答を示す 56 個の候補遺伝子を同定した．そのう

ちELFMFs曝露により発現量が増加したクローン（up-regulated gene）は33個，発現量が減少したクローン（down-regulated gene）は23個であり，シークエンスの結果をデータベースと照合すると，そのうち22個のクローンは既知遺伝子であることが判明した．またこれら候補遺伝子の大部分は，転写調節関連因子や核タンパク，神経系や表皮・筋収縮関連因子として機能する遺伝子であった(Fig. 1).

3.2 ELFMFs応答性候補遺伝子のmRNA発現量の定量的解析

候補遺伝子の中から神経系カルシウムセンサーとしての機能を持つ *ncs-2* 遺伝子について定量的RT-PCRによりDifferential DisplayにおけるmRNA発現量の増加の再現性を確認した．さらに *ncs-2* 遺伝子と同じ *ncs* 遺伝子ファミリーに属する *ncs-1*，*ncs-3* 遺伝子と，*ncs-1* 遺伝子と同様にその遺伝子変異体が温度走性異常を示す *tax* 遺伝子群について定量的RT-PCRを行い，mRNA発現量を定量的に解析した．その結果，*ncs-2* 遺伝子はELFMFs曝露によりmRNA発現量が増加したのに対し，*ncs-1*, *ncs-3*, *tax-2*, *tax-3*, *tax-4* 遺伝子は発現量が有意に減少した（Fig. 2）．これら遺伝子のmRNA発現量の変化は，ELFMFs 曝露による直接的，あるいは間接的（これら遺伝子の上流に存在する転写調節因子がELFMFs曝露の影響を受けた結果，間接的にmRNA発現量が変化した）影響であると示唆される．

5. おわりに

我々はこれまでに線虫の行動がcontrolに比べexposedでは特異的な軌跡を描き，移動距離も極端に短くなることを確認した．*tax-2*，*tax-4* 遺伝子はAFD介在ニューロンに，*ncs-1* 遺伝子はその下流のAIY感覚ニューロンに発現する遺伝子であり，さらにその下流の複数のニューロンが線虫の筋肉活動を制御していることから，ELFMFs曝露により *tax-2*，*tax-4*，*ncs-1* 遺伝子のmRNA発現量が減少した結果，感覚ニューロンと運動ニューロン間のシグナル伝達が抑制され，線虫が行動異常を示したのではないかと推察される．

本研究では工学的アプローチにより最新のELFMFs発生装置を開発し，医学的アプローチにより分子生物学的手法を用いて遺伝子レベルにおける解析を行える環境がすでに確立されており，この分野においてこれまでに数々の先駆的な実績をあげてきた．今後，遺伝子レベルから生体内での神経系，シグナル伝達系などの生体機能までの系統的な影響を特定できれば，将来的にはELFMFs曝露により生体の遺伝子発現の増加・減少を制御することにより，代替的療法など医療分野への応用が期待される．

	Up-regulated	Down-regulated
Neuron Specific (神経系関連因子)	1	0
Transcription (転写調節関連因子)	7	6
Cuticle/ Constrictor (表皮・筋収縮関連因子)	8	2
Apoptosis (アポトーシス関連因子)	0	2
Redox/ Detoxification (酸化還元・解毒作用)	1	0
Modification, Metabolism, etc (修飾・代謝など)	16	13

Fig. 1 Candidate for ELFMFs-responding genes.

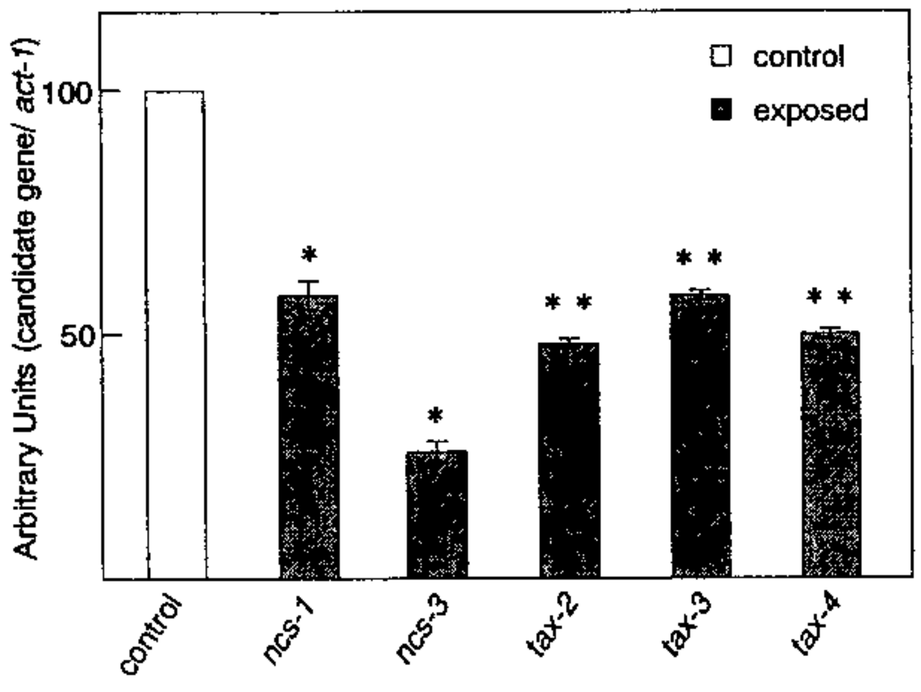

Fig. 2 Expression of *ncs* and *tax* mRNA.
（＊: P<0.01, ＊＊: P<0.001, N= 4）