

磁界による細菌細胞の DNA 損傷及び生理状態への影響

柿川真紀子¹・細野隆次²・橋本松進³・岩原正吉⁴・山田外史³

¹〒920-8667 金沢市小立野 2-40-20 金沢大学大学院自然科学研究科, ²〒920-0942 金沢市小立野 5-11-80 金沢大学医学部, ³〒920-8667 金沢市小立野 2-40-20 金沢大学自然計測応用研究センター, ⁴〒920-8667 金沢市小立野 2-40-20 金沢大学工学部,

Makiko KAKIKAWA¹, Ryuji HOSONO², Syoushin HASHIMOTO³, Masayoshi IWAHARA⁴, Sotoshi YAMADA³. :
extremely low frequency, magnetic fields, bacteriophage λ , DNA damage, *Escherichia coli*

1. はじめに

現在、電磁場の生体への影響については多くの報告があり、環境レベルでの ELF 磁界の生体影響評価については、2001 年、国際保健機関 (WHO) - 国際がん研究機関 (IARC) は、不十分な実験証拠を含めた全体の評価として「2B:発ガンの可能性があるかもしれない」と分類した。しかし、分子レベルでの実験的裏付けや客観的基準に乏しいため、正確な生物への影響についてはまだ不明である。

我々はこれまでに分子レベルでの磁界影響実験として、*in vitro* でカタラーゼや制限酵素、核酸合成、DNA 修復能などについて検討し、カタラーゼ活性については磁界により 20%程の減少がみられたが、その他の活性については、顕著な差は認められないとの結果を得た。また *in vivo* では線虫 *C. elegans* を用い、磁界曝露により heat shock protein の発現が増加したことや、Differential Display 法により線虫における磁界応答性遺伝子の探索を行い、20 の候補遺伝子を同定し、神経系で機能する *ncs* 遺伝子群の mRNA 量が有意に変化すること等を明らかにしてきた。

そこで今回は、溶原化ウイルス・ λ ファージを用い、*in vivo* で、細菌細胞への DNA 損傷及び生理状態への影響を測定し、さらには磁界の生体制御、特に遺伝子発現制御への利用の可能性について検討した。

2. λ ファージ

大腸菌の溶原化ウイルスである λ ファージは、大腸菌細胞に感染し、2つの増殖パターン(溶菌サイクル、溶原サイクル)を示す。溶菌サイクルでは λ ファージは感染した細菌細胞内で増殖後、細菌を溶菌、子孫ウイルスを放出し、周囲の菌に感染を繰り返す。一方、溶原サイクルでは、 λ ファージはゲノム DNA を細菌ゲノム DNA に組み込ませて休眠状態(プロウイルス状態)となり、その細菌(溶原菌)は λ ゲノムを保持したまま増殖する。増殖サイクルの切り替え(誘導:溶原から溶菌へ)は、細菌の生理状態に依存し、特に DNA に損傷を与える紫外線やマイトマイシン C によって引き起こされることが明らかとなっている。

そこで本研究では λ ファージを有する溶原菌 *Escherichia coli* W3110 λ 857 に ELF 磁界曝露し、溶菌サイクルへ切り替わり、増殖したファージ数(誘導率)をプラークアッセイ法により測定を行った。

3. 交流磁界曝露によるファージ誘導率

λ ファージが溶原化した大腸菌を 60 Hz, 45 mT の磁界曝露後 1 時間ごとにサンプリングし、溶原菌からのファージ誘導をプラークアッセイ法により計測した結果を Fig.1 に示す。

横軸は磁界曝露時間、縦軸は各曝露時間における磁界曝露していない対照群のプラーク数を 1.00 としたときの倍率を示している。7 時間及び 8 時間曝露時には、磁界によりファージ誘導が 1.38, 1.71 倍に増加した。これらの値は 8 回の実験結果の平均値であり、統計学的に比較したところ有意差が認められた。

一方、陽性対照に用いたマイトマイシン C 添加群においては、3 時間曝露で 46 倍のファージ誘導が見られた。これらの結果より、今回用いた交流磁界、60 Hz, 45 mT はマイトマイシン C 程の強い DNA 損傷作用はないことが判明した。しかしながら明らかに 2 倍ほどのファージ誘導率の昇進が認められ、磁界は細菌細胞に何らかのダメージを与えることが示唆された。

また、ELF磁界はマイトマイシンC やX線と併用した場合、染色体異常が曝露密度依存的に増加したとの報告があることから、交流磁界とマイトマイシンC の併用によるファージ誘導率の測定を試みた。その結果を Fig. 2 に示す。交流磁界とマイトマイシンCを併用した場合、3時間及び4時間曝露後に 2.37, 1.79 倍のファージ誘導が見られた。一方、磁界曝露のみの実験結果では 7, 8 時間曝露した際に2倍程のファージ誘導の増加が見られたことから、マイトマイシンC と交流磁界の併用ではファージ誘導における速度が2倍程度はやくなり、磁界はマイトマイシンC 作用を時間的に増強することが示唆された。

4. まとめ

溶原化ウイルス λ を用いて、交流磁界 (60 Hz, 45 mT) の細菌細胞への DNA 損傷及び生理状態への影響を検討した結果、マイトマイシンC 程の強いDNA 損傷作用はないことが明らかとなった。この点では、同程度の磁界密度における変異原性はなかったという他の報告^[6]と一致する。しかし、Fig. 1 の実験結果より、60 Hz, 45 mT の交流磁界曝露により、交流磁界は明らかに2倍程度ファージ誘導率を上げることから、細菌細胞に何らかのダメージを与えることが示唆された。

Fig. 2 の結果から、60 Hz, 45 mT の交流磁界曝露とマイトマイシンC の併用では、磁界のみの結果に比べファージ誘導における速度は2倍程度はやくなり、マイトマイシンC 作用を増強することが示唆された。

また、ファージ誘導の際にはファージゲノムにおいて遺伝子発現パターンに変化が起こることが知られている。このことから、本研究結果より、遺伝子発現制御への磁界の応用の可能性が示唆された。

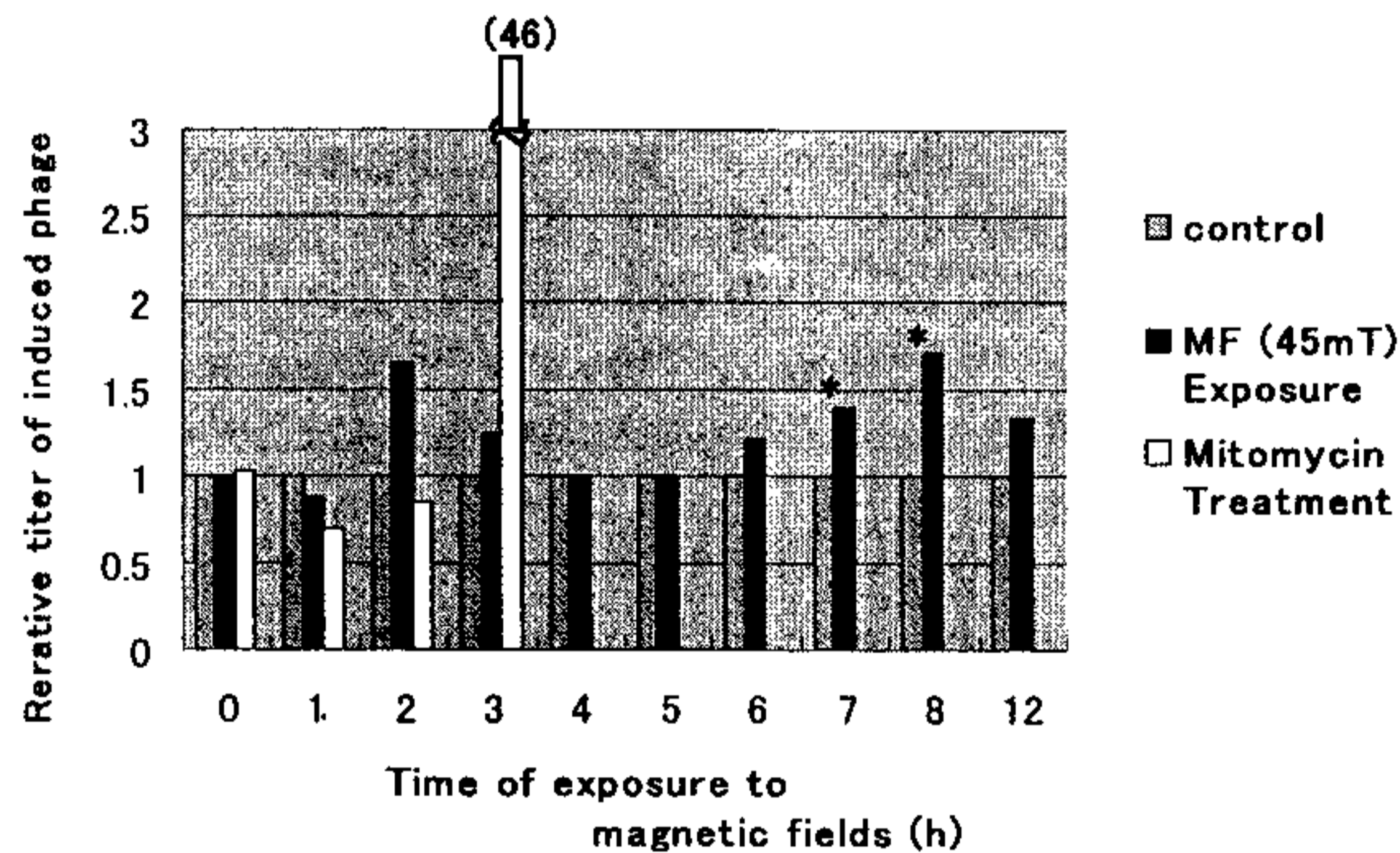


Fig.1 Effects of magnetic fields (MF) on induction of λ phage (*n=8, p<0.012)

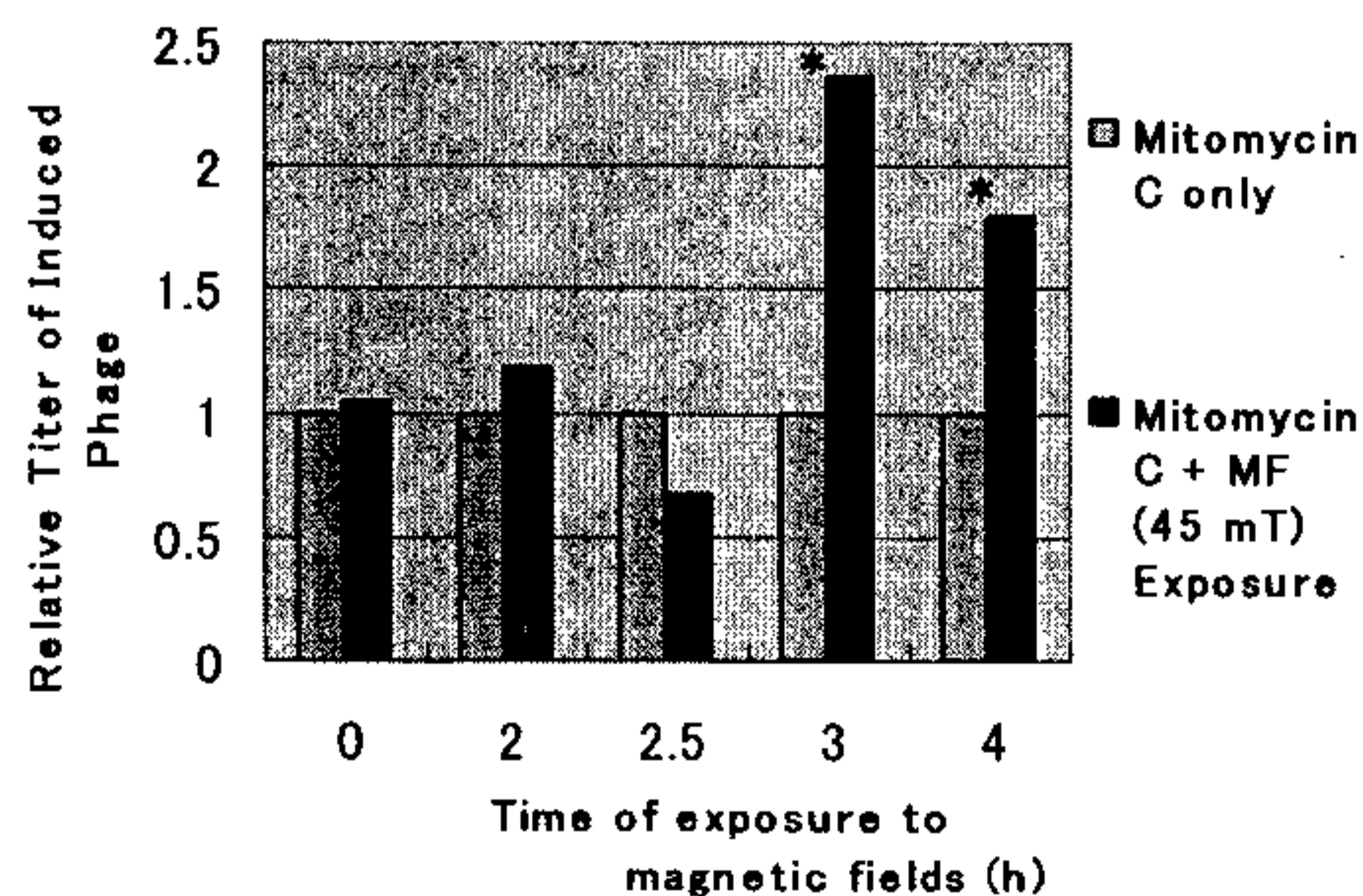


Fig.2 Effects of magnetic fields (MF) and mitomycin C on induction of λ phage (*n=6, p<0.0010)