# マイクロ波暴露による妊娠ラット胎盤循環障害およびその内分泌的機序に関する実験的研究


| メタデータ | 言語: Japanese |
| --- | --- |
| | 出版者: |
| | 公開日: 2017-10-04 |
| | キーワード (Ja): |
| | キーワード (En): |
| | 作成者: 由田, 譲 |
| | メールアドレス: |
| | 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/8570 |

金沢大学十全医学会雑誌　第103巻　第4号　710－720 (1994)

# マイクロ波暴露による妊娠ラット胎盤循環障害および その内分泌的機序に関する実験的研究

金沢大学医学部公衆衛生学講座（主任代理：中村裕之助教授）
由　田　　譲

マイクロ波暴露による胎盤循環動態への影響を実験的に証明し，またその際生じる胎盤血流量の減少に関する内分泌的機序を明らかにするために，妊娠ラットに周波数 2,450 MHz，照射強度 10mW/cm$^2$のマイクロ波を暴露し，経時的胎盤血流量を測定するとともに胎盤循環動態に深く関連する内分泌ホルモンを調べた．その結果，対照ラットではその経過中，胎盤血流量に変化は認められなかったが，マイクロ波暴露を施したラットでは暴露開始後45分から90分値までにわたって有意な低下を認めた．前もってアンギオテンシンⅡ (angiotensinⅡ，AⅡ) を腹腔内注射したラットの胎盤血流量はマイクロ波暴露を受けない対照群では15分と30分値で増加を認めたが，マイクロ波暴露群では増加は認められなかった．AⅡ 前投与の有無にかかわらず，マイクロ波暴露はコルチコステロン，副腎皮質刺激ホルモン，プロラクチンの増加をもたらしたが，一方エストラジオールは減少した．マイクロ波暴露によりプロゲステロンの増加が認められたが，AⅡ 前投与した場合はその増加は認められなかった．AⅡ 前投与の有無にかかわらず，マイクロ波暴露によるプロスタグランジン $E_2$の変化は認められなかった．一方，マイクロ波暴露によるプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ (prostaglandin $F_{2\alpha}$, $PGF_{2\alpha}$) の増加を認めたが，AⅡ 前投与した場合は対照群とマイクロ波暴露群との間に有意差は認められなかった．以上の結果より，過剰なマイクロ波暴露は妊娠ラットの胎盤血流量を減少させるということが実験的に証明された．この減少は，$PGF_{2\alpha}$ を介した作用とマイクロ波暴露における情動ストレスの作用としての下垂体前葉の賦活化により生じると考えられた．

**Key words**　blood flow, microwave, placenta, prostaglandin, stress

マイクロ波は，100MHz から 30GHz 程度までの周波数領域の電磁波を指し[1]，レーダー，通信をはじめ，製造，乾燥，加熱，殺菌などの目的で，食品工業，木工業，化学工業，土木，鉱業など幅広い産業分野で利用されるほか，悪性腫瘍の温熱療法など医学分野から家庭用電子レンジにいたるまで広範な分野で活用されている．それに伴い航空機乗務員，化学者，食品消毒者，家具ベニヤ板張り工，メーザー操作者，ミクロサーム操作者，マイクロ波開発作業者，マイクロ波ジアテルミー操作者，マイクロ波試運転者，ミサイル発射士，レーダー操作者，電子レンジ補修者，電子レンジ操作者など多岐にわたる職種においてマイクロ波に暴露される可能性を有している．さらには高圧線，コンピュータを始めとする様々のターミナルディスプレイからもマイクロ波が発生していることが知られている[2]．このため，マイクロ波は日常生活や様々な職場環境における重要な物理的環境因子となっている．したがって，マイクロ波が生体にどのような影響を及ぼすかを解明するのは極めて重要な課題であり，マイクロ波の生体に及ぼす影響についての基礎的，臨床的あるいは疫学的な研究成果が発表されてきた[3)~5)]．その生体影響として最も知られている機序は，マイクロ波の温熱効果であり，白内障の発生を中心とした水晶体への障害などは，熱の放散や熱を他へ移動する特別の冷却機構をもたない臓器に対する障害の代表的な例としてよく知られている．

しかるにマイクロ波が胎児や生殖器に及ぼす影響については，いまだ十分明らかにされているとは言い難く，疫学的にマイクロ波暴露による正常妊娠への影響などが指摘されたこともある[6]が，その発生機序はもとより因果関係さえ疑問視されている[7]．そこで本研究では妊娠ラットを用いてマイクロ波暴露の胎盤循環動態への影響を調べることにより，妊娠への影響を評価し，さらに胎盤循環動態に深く関連するプロスタグランジン (prostaglandin, PG) 系を中心とした性腺内分泌系機能に及ぼす影響を検討し，胎盤循環障害の機序を明らかにすることを試みた．

## 対象および方法

### Ⅰ．実験対象

使用した動物は妊娠 9～11日，体重 272±17.1g (平均±標準偏差) の Wistar 系雌性ラット (SLC，静岡) 24匹である．同系の雌雄ラットを混合飼育し，毎朝腟垢内を調べ，精子の確認された雌を妊娠ラットとみなし，この日を妊娠 1 日目とした．これらのラットは実験開始前 2 週間，オリエンタル固形飼料 MF

平成6年6月23日受付，平成6年7月25日受理

Abbreviations: ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists; ACTH, adrenocorticotropic hormone; AⅡ, angiotensin Ⅱ; ANSI, American National Standards Institute; BSA, bovine serum albumin; CS, corticosterone; $E_2$, estradiol; P, progesterone; PG, prostaglandin; PGE, prostaglandin E;

(オリエンタル酵母工業，東京）および水の自由摂取が可能なホームケージで，3～4匹を1群として，12時間周期の明暗サイクルの飼育室（23±2℃，湿度50%）で飼育した．24匹のラットは，各群6匹からなる4群に，群間に体重差が生じないように分けた．その4群とは，マイクロ波暴露を施すマイクロ波暴露群，これに対する対照群，アンギオテンシンⅡ（angiotensin Ⅱ，AⅡ）前投与の上，マイクロ波暴露を施すAⅡ＋マイクロ波暴露群，これに対する対照群であるAⅡ群である．

AⅡを前投与する群であるAⅡ＋マイクロ波暴露群とAⅡ群には，実験開始直前にAⅡ 1ng/mlを溶かした生理食塩水0.25mlを腹腔内に注射し，AⅡを前投与しないマイクロ波暴露群と対照群にはAⅡを含まない生理食塩水0.25mlを腹腔内注射した．いずれのラットも実験開始まで前述の固形飼料および水を自由摂取させた．

**Ⅱ．実験方法**

1．胎盤血流量測定

経時的な胎盤血流量の測定のために，電解式水素ガスクリアランス法を使用した[8]．血流量測定装置には電解式水素ガスクリアランス組織血流計 RBF-1（バイオメディカルサイエンス，金沢）にベーター解析装置 BDA-1（バイオメディカルサイエンス）を組み合わせて用いた．この経時的な血流量測定のために，すべてのラットには次の処置を施した．エーテル麻酔下にラットを背臥位に固定し，下腹部正中切開にて開腹，針型2本電極 BE-ND400-30（バイオメディカルサイエンス）を漿膜側より子宮壁を貫通させ胎盤に刺入縫着した．また不関電極 BE-R10（バイオメディカルサイエンス）を皮下組織に固定後，閉腹し，その30分後に実験を開始した．胎盤血流量測定は，負荷開始直前，負荷開始後15，30，45，60，75分，負荷終了直後（負荷開始後90分）の7つの時点で行った．なお針電極が正しい位置に挿入されていたかどうかを，実験終了後の開腹により肉眼的に確かめた．電解式水素ガスクリアランス法による血流測定はすべて，通電時間50秒，通電電流 3mA という条件のもとで，通電後の10秒から20秒間のクリアランス曲線を用いて，前述のベーター解析装置により解析した．

2．マイクロ波暴露

マイクロ波暴露には岡田ら[9]が開発した小動物実験用マイクロ波発生装置を使用した．本装置はマイクロ波エネルギー源として周波数 2,450MHz のマグネトロン ZM53（東芝マグネトロン，東京）を組み込んでおり，マイクロ波エネルギー量を連続的に変化できる発振装置である．マグネトロンからのマイクロ波エネルギーはアプリケーターからの反射によるマグネトロン発振出力の不安定を抑えるアイソレーター（反射してくるエネルギーのみを選択的に吸収する装置）とアプリケーターへ供給されるエネルギー量を測定するカプラーを経由してアプリケーターへ送られ，アプリケーター内に置かれた暴露対象動物に照射される．暴露対象動物は透明なアクリル製ホルダーに入れてアプリケーター内に置く．対象動物に暴露される電磁界が均一になるように金属製のスタラーが設けてあり，アプリケーター壁を貫通するモーターに連接した駆動軸により回転される．また一般に対象動物の挿入によりアプリケーター内のマイクロ波エネルギー密度の減少が大きくなる．そこで，本装置では常時アプリケーター内に負荷が形成されエネルギー密度変化を少なくするため，シリコンゴム製の水管をアプリケーター内に設置し約 300ml の水が存在する構成となっている．本研究では室温23±2℃，湿度50－60%の実験室で，暴露するマイクロ波強度は 10mW/cm²を用いた．実験中すべてのラットに水，飼料のいずれも摂取させなかった．

実験開始後90分時の胎盤血流量測定後，直ちに断頭を行い軀幹血を採取し，遠心分離（3,000rpm, 20min）して血漿を分離後，

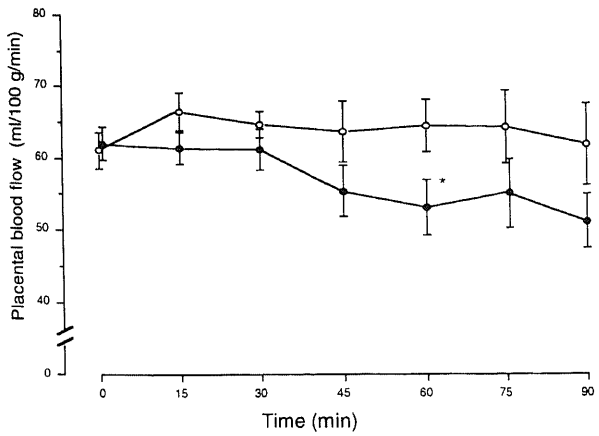


Fig. 1. Changes of placental blood flow induced by the whole-body microwave exposure (microwave) and no exposure (control) in rats. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. ○—○, control; ●—●, microwave. Significant difference from the control value; *p<0.05.

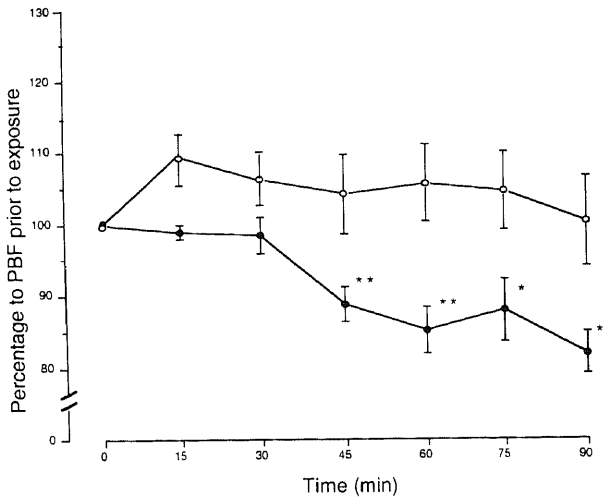


Fig. 2. Changes of percentage of placental blood flow (PBF) to the value prior to exposure induced by the whole-body microwave exposure (microwave) and no exposure (control). Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. ○—○, control; ●—●, microwave. Significant difference from the control value; *p<0.05, **p<0.01.

---

$PGE_1$, prostaglandin $E_1$; $PGE_2$ prostaglandin $E_2$, $PGF_{2\alpha}$, prostaglandin $F_{2\alpha}$; PRL, prolactin; RIA, radioimmunoassay; SAR, specific absorption rate

血液中パラメーター測定まで−80℃で保存した．

3．血中パラメーターの測定

1）血中コルチコステロン (corticosterone, CS) および副腎皮質刺激ホルモン (adrenocorticotropic hormone, ACTH) の測定

CS の測定には Silber ら[10]の蛍光法を用い，また ACTH の測定は 2 抗体を使った固相化ビーズ法[11]を用いた．すなわち EDTA 加血漿検体または ACTH 標準液 200μl に，ACTH の C 端 (34−39) に対し特異的なポリクローナル抗体にビオチンを結合させたものおよびN端 (1−17) に特異的なモノクローナル抗体を$^{125}$I で標識したものの混合液 100μl を加え，アビジンを固相化したビーズとともに20時間インキュベートし，洗浄後アビジン−ビオチン結合によりビーズに結合した ACTH (1−39) の放射能をγシンチレーションカウンター ARC-950 (アロカ，東京) で測定し，標準曲線上より検体の ACTH (1−39) を特異的

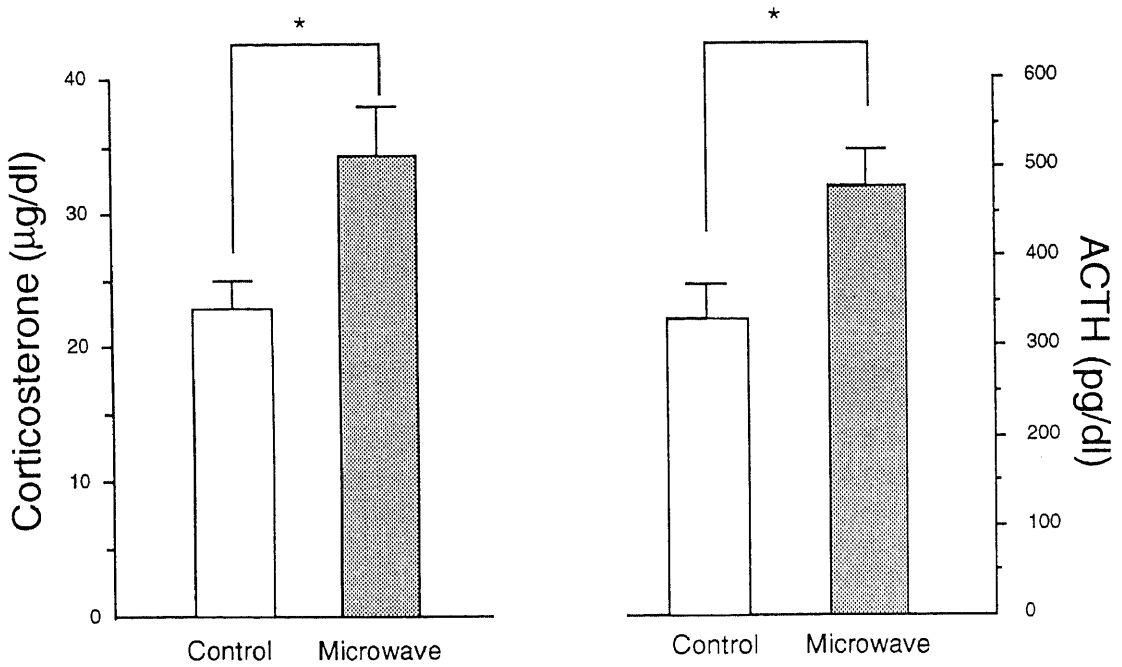


Fig. 3. Effects of the whole-body microwave exposure (microwave) on plasma corticosterone and adrenocorticotropic hormone (ACTH) in rats after the exposure. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. Significant difference from the control value ; *$p<0.05$.

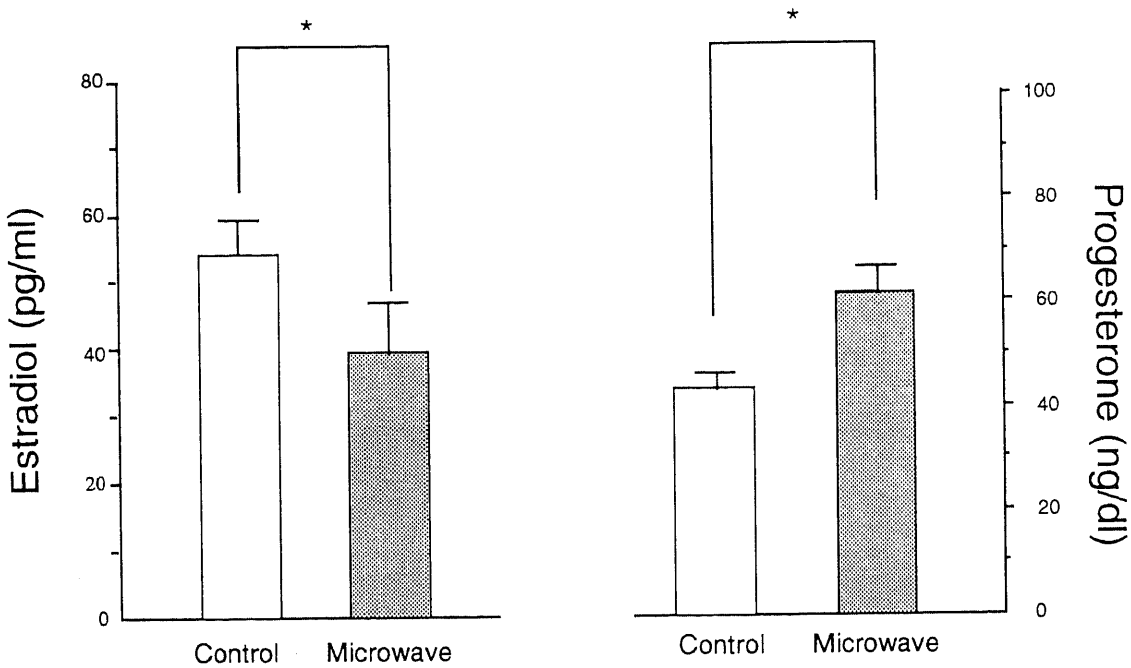


Fig. 4. Effects of the whole-body microwave exposure (microwave) on plasma estradiol and progesterone in rats after the exposure. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. Significant difference from the control value ; *$p<0.05$.

に測定した．

2）血中エストラジオール (estradiol, $E_2$)，プロゲステロン (progesterone, P) およびプロラクチン (prolactin, PRL) の測定

$E_2$およびPの測定にはチューブ固相法を用いる放射免疫測定法 (radioimmunoassay, RIA) を使った[12)13)]．すなわち，$E_2$測定には，$E_2$-3-牛血清アルブミン (bovine serum albumin, BSA) を抗原として得た抗 $E_2$-3-BSA 家兎血清を固相化したポリプロピレンチューブ（日本ダイアグノースティック・プロダクト，東京）に，血清検体または $E_2$標準液 100μl および $^{125}$I で標識した $E_2$ 1ml を加え，室温で3時間反応後，反応液を除き，チューブに結合した放射能をγシンチレーションカウンター ARC-950（アロカ）で測定し，標準曲線上より検体 $E_2$ の濃度を求めた．

同様の RIA 法によりPを測定したが，抗原には P-11-BSA を用いた．

PRL の測定には，PRL RIA キット DP-1062（第1ラジオアイソトープ研究所，東京）を用いた[14)]．すなわち，標準 PRL 溶液および検体 50μl を各試験管に分注後，$^{125}$I-PRL 溶液および抗 PRL 家兎血清溶液をそれぞれ 100μl 加え，4℃で24時間インキュベーションを行った．次に，沈殿安定剤を加えた抗家兎γグロブリン血清溶液 500μl を加えて室温で30分間インキュベーションを行った．その後，4℃，2,000rpm で30分間遠心分離した．上清吸引後，γシンチレーションカウンター ARC-950（アロカ）を用いて計測した．

3）血中プロスタグランジン $E_2$ (prostaglandin $E_2$, $PGE_2$) およびプロスタグランジン $F_2\alpha$ (prostaglandin $F_2\alpha$, $PGF_2\alpha$) の測定

血中 $PGE_2$ および $PGF_2\alpha$ の測定には，2抗体法を用いる RIA 法を用いた[15)]．$PGE_2$ および $PGF_2\alpha$ の血漿分離には EDTA 加インドメサシンを用いた．血漿をミニカラム Amprep C18 (Amersham, Greenwhich, USA) にかけて酢酸エチルで $PGE_2$を溶出させた．得られた $PGE_2$をメトキシアミン塩酸塩にてメトキシイミノ化 $PGE_2$へと誘導体化した．その後塩化ナトリウム含有のゼラチンリン酸緩衝液で最終容量 500μl に希釈し，検体とした．検体もしくは標準液 100μl にメトキシイミノ化 $^{125}$I-$PGE_2$ 100μl およびメトキシイミノ化誘導体に特異的な抗

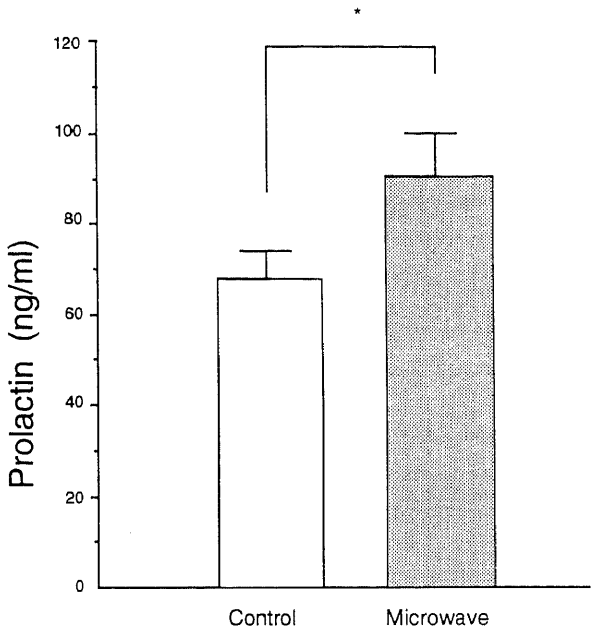


Fig. 5. Effect of the whole-body microwave exposure (microwave) on plasma prolactin in rats after the exposure. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. Significant difference from the control value ; *p<0.05.

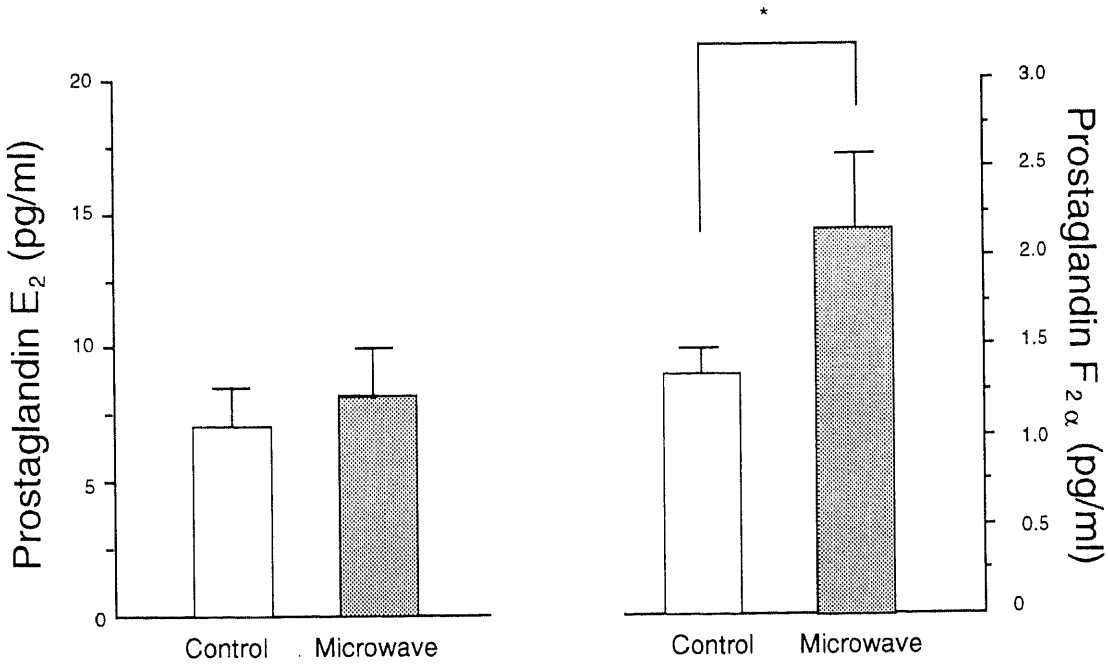


Fig. 6. Effects of the whole-body microwave exposure (microwave) on plasma prostaglandin $E_2$ and prostaglandin $F_2\alpha$ in rats after the exposure. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. Significant difference from the control value ; *p<0.05.

家兎血清 100μl をそれぞれ加えた．攪拌後ウォーターバス中25℃で2時間インキュベーションを行った．さらに第2抗体試薬として抗家兎血清ロバ血清の Ameriex-M (Amersham) 250μl を加え室温で15分間インキュベーションを行った．遠心分離後，上清を除き5分間水をきり，そのチューブをγシンチレーションカウンター ARC-950 (アロカ) で少なくとも1分間以上測定した．結果より標準曲線を使って検体 $PGE_2$ 濃度を算出した．

血中 $PGF_{2\alpha}$ の測定[16]には血漿 1ml から中性脂肪を 3ml の石油エーテルで除き，酢酸エチル：イソプロピルアルコール：0.2N HCl (3：3：1, v/v/v) の混液 3ml を加えて15秒2回攪拌した．その後，酢酸エチル 2ml と水 3ml を加えて遠心し，分離してきた有機層をポリプロピレンの試験管に移し，$N_2$気流下で蒸発乾燥固定した．それを珪酸のカラムにかけ PGF 分画を分離した．Tris 緩衝液に，得られた分画もしくは標準液 100μl を加え，次にそれぞれに $^3$H-$PGF_{2\alpha}$ 50μl および抗 $PGF_{2\alpha}$ 家兎血清50μl を加えた後，攪拌して37±2℃のウォーターバスで60分間インキュベーションを行った．正常な家兎血清 100μl および抗家兎血清ヤギ血清 100μl を加え攪拌後，5℃で20時間インキュベーションを行った．遠心分離を行い上清を除き，残った

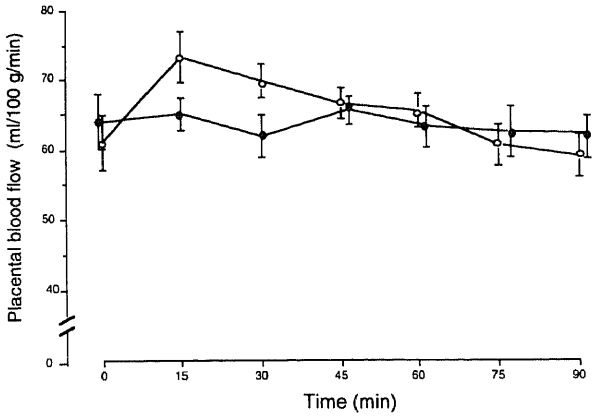


Fig. 7. Changes of placental blood flow induced by the whole-body microwave exposure (microwave) and no exposure (control) pretreated with intraperitoneal administration of angiotensin Ⅱ in rats. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. ○—○, control ; ●—●, microwave.

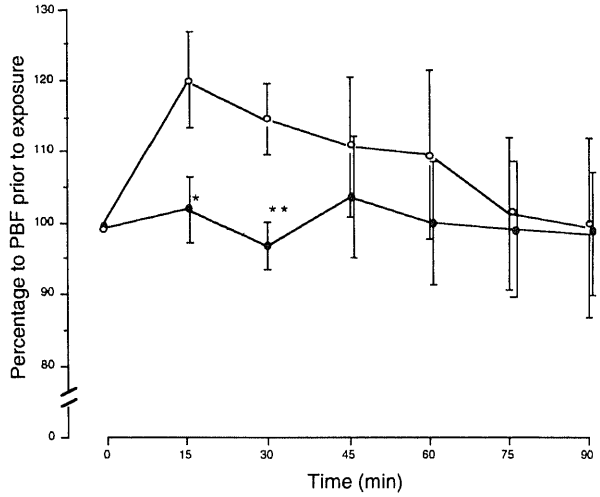


Fig. 8. Changes of percentage of placental blood flow (PBF) to the value prior to exposure induced by the whole-body microwave exposure (microwave) and no exposure (control) to rats, which were pretreated with intraperitoneal administration of angiotensin Ⅱ. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. ○—○, control ; ●—●, microwave. Significant difference from the control value ; *$p<0.05$, **$p<0.01$.

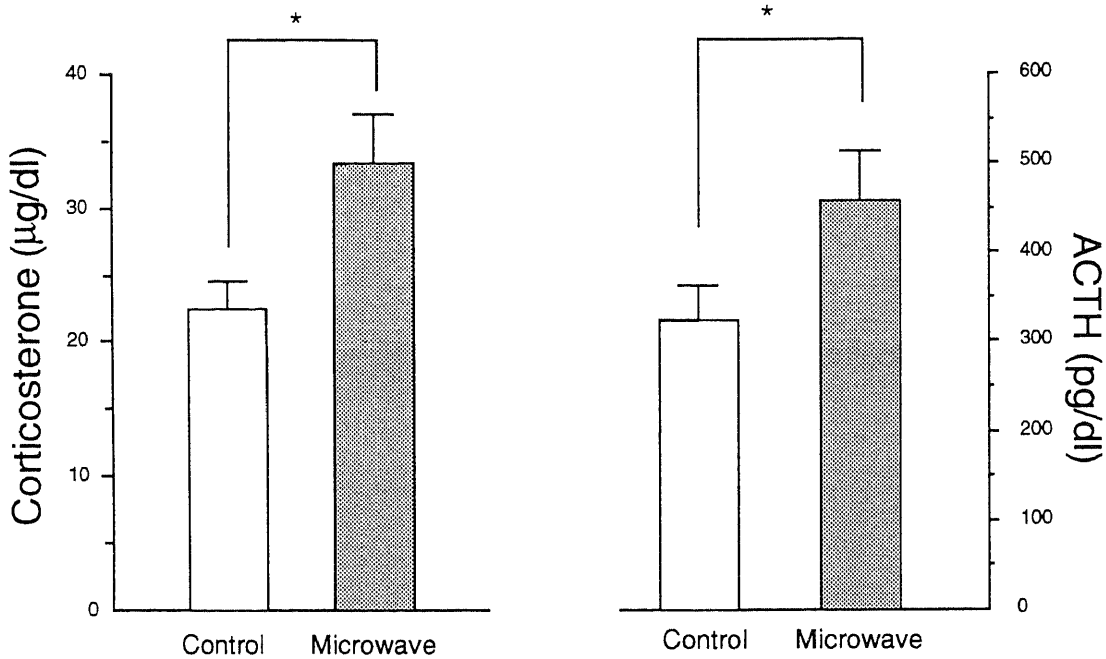


Fig. 9. Effects of the whole-body microwave exposure (microwave) on plasma corticosterone and adrenocorticotropic hormone (ACTH) in rats pretreated with intraperitoneal administration of angiotensin Ⅱ. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. Significant difference from the control value ; *$p<0.05$.

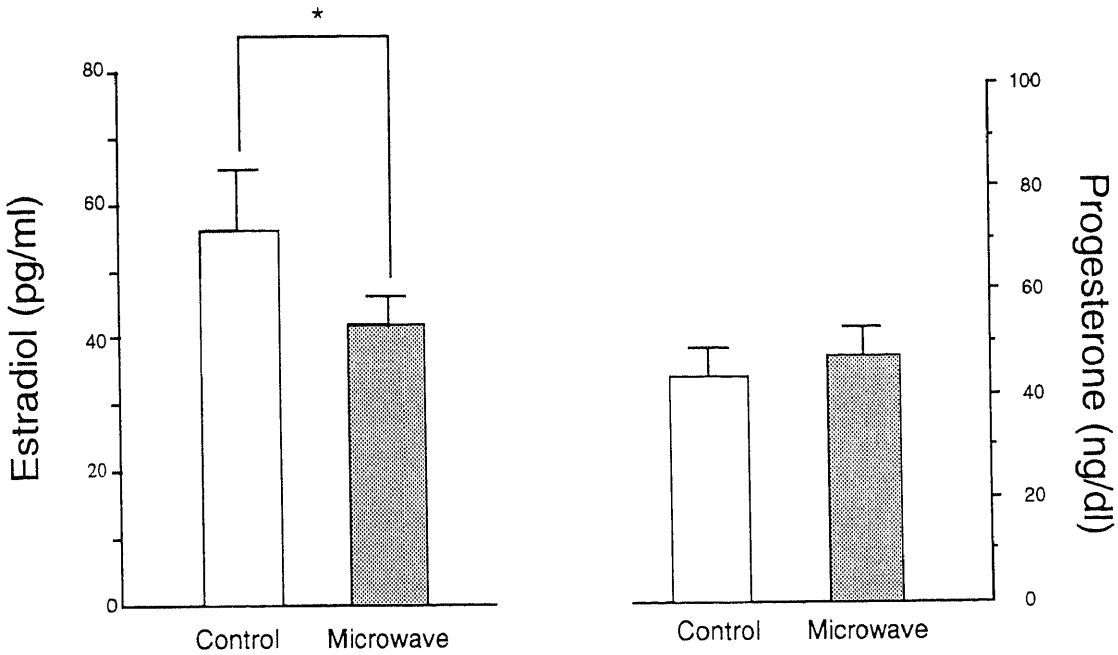


Fig. 10. Effects of the whole-body microwave exposure (microwave) on plasma estradiol and progesterone in rats pretreated with intraperitoneal administration of angiotensin Ⅱ. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. Significant difference from the control value; *p<0.05.

沈殿物に 0.1N NaOH 1.0ml を加え攪拌して溶解した．さらにシンチレーション液 11ml を加えよく攪拌した．5分間β線をγ-シンチレーションカウンター LSC-900 (アロカ) で測定し，その結果より標準曲線を使って検体の $PGF_{2}\alpha$ 濃度を算出した．

Ⅲ．統計処理

測定値の統計処理はマイクロ波暴露群と対照群，AⅡ＋マイクロ波暴露群と AⅡ 群の間の各パラメーターの分散が等しいときには，Student の t 検定を用い，等しくないときには Welch の t 検定を用いた．この比較以外の検定はその都度記述した．すべての統計処理で有意水準は危険率 5％ (両側検定) で有意差ありとした．

## 成　　績

### Ⅰ．AⅡ 前投与を施さないラットにおけるマイクロ波暴露の影響

1．胎盤血流量の変化

マイクロ波暴露群と対照群の胎盤血流量の経時的変化を調べると，暴露前値には両群間に有意な差は認めず，また対照群ではその経過中，胎盤血流量の有意な変化は認められなかった (前値に対する対応のある t-検定)．一方，マイクロ波暴露群では対照群に比較して60分値で有意な減少を認めた ($p<0.05$) (図1)．両群の関係は，暴露前値を100％として表すとマイクロ波暴露群では暴露45分から90分値まで有意な低下を認めた (45分と60分では $p<0.01$，75分と90分では $p<0.05$) (図2)．

2．CS および ACTH

マイクロ波暴露群の暴露後の CS, ACTH の値をその対照群と比較した．いずれもマイクロ波暴露群では対照群に比較してマイクロ波暴露後の有意な増加を認めた (ともに $p<0.05$) (図3)．

3．$E_2$, P および PRL

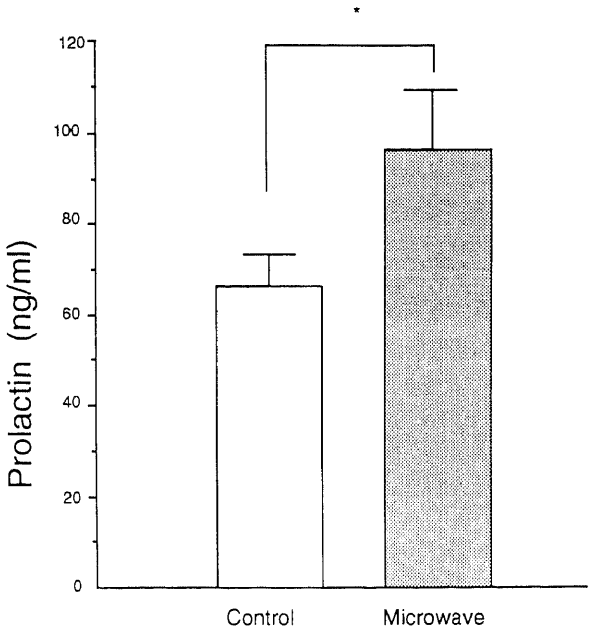


Fig. 11. Effect of the whole-body microwave exposure (microwave) on plasma prolactin in rats pretreated with intraperitoneal administration of angiotensin Ⅱ. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats. Significant difference from the control value; *p<0.05.

マイクロ波暴露群の $E_2$ は対照群に比較して有意な減少を認め ($p<0.05$), P についてはマイクロ波暴露群では対照群に比較して有意な増加を認めた ($p<0.05$) (図4)．マイクロ波暴露群の PRL では対照群に比較して有意な増加を認めた ($p<0.05$) (図5)．

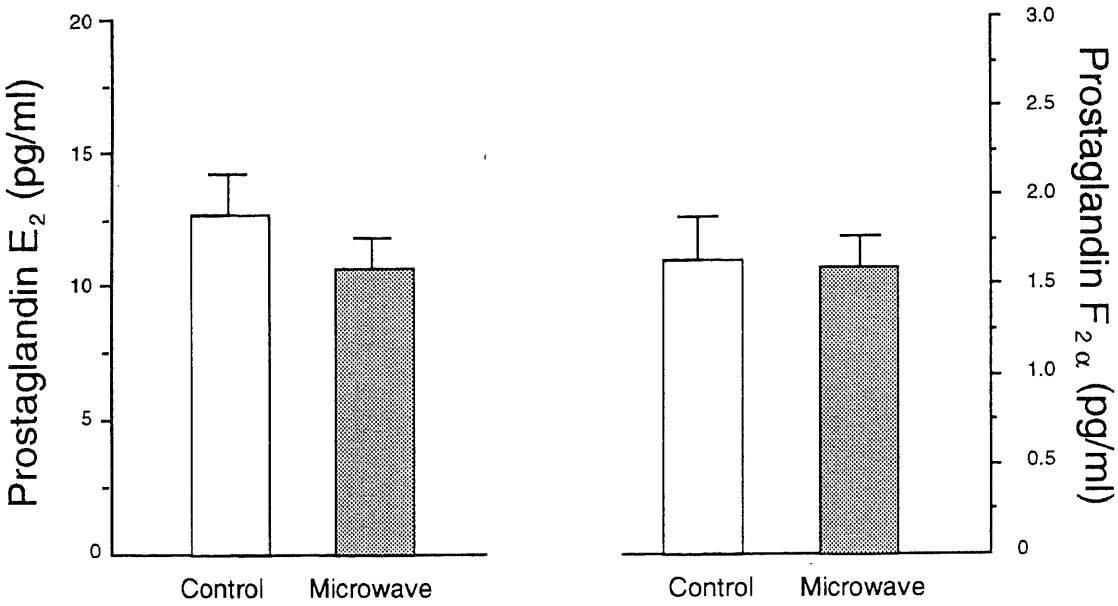


Fig. 12. Effects of the whole-body microwave exposure (microwave) on plasma prostaglandin $E_2$ and prostaglandin $F_2\alpha$ in rats pretreated with intraperitoneal administration of angiotensin Ⅱ. Each point represents the mean±SEM. Each group is composed of 6 rats.

4．$PGE_2$ および $PGF_2\alpha$

マイクロ波暴露群と対照群の間で有意な $PGE_2$ の差は認められなかったが，$PGF_2\alpha$ についてはマイクロ波暴露群は対照群に比較して有意な増加を認めた ($p<0.05$) (図6)．

**Ⅱ．AⅡ 前投与ラットにおけるマイクロ波暴露の影響**

1．胎盤血流量の変化

図7は AⅡ を前投与した場合のマイクロ波暴露群と対照群の胎盤血流量の経時的変化を示している．対照群では，前値に対して15分と30分値で胎盤血流量の有意な増加が認められた (前値に対する対応のある t-検定，ともに $p<0.05$)．しかしながらマイクロ波暴露群と対照群の比較では有意な差は認めなかった (図7)．両群の関係は，暴露前値を100%として表すとマイクロ波暴露群では暴露15分と30分値で有意な低下を認めた (15分では $p<0.05$，30分では $p<0.01$) (図8)．

2．CS および ACTH

マイクロ波暴露群の CS, ACTH はいずれも対照群に比較して有意な増加を認めた (ともに $p<0.05$) (図9)．

3．$E_2$, P および PRL

$E_2$についてはマイクロ波暴露群では対照群に比較して有意な減少を認めた ($p<0.05$)．マイクロ波暴露群のPは対照群に比較して有意な差は認められなかった (図10)．マイクロ波暴露群の PRL では対照群に比較して有意な増加を認めた ($p<0.05$) (図11)．

4．$PGE_2$ および $PGF_2\alpha$

AⅡ を前投与した実験では，$PGE_2$ および $PGF_2\alpha$ の値はともにマイクロ波暴露群と対照群の間で有意な差は認められなかった (図12)．

## 考　　察

正常な妊娠の継続には必要十分な子宮胎盤血流量が保たれていなければならない．子宮胎盤血流量の減少は流産，早産，子宮内胎児発育遅延，胎児仮死，子宮内胎児死亡の原因となることはよく知られている[17)18)]．本研究ではマイクロ波暴露の正常妊娠に対する影響を，マイクロ波暴露中の胎盤血流量の変化により評価した．その結果，2,450MHz で 10mW/cm²の照射強度のマイクロ波暴露により妊娠ラットの胎盤血流量の減少が確認された．ところで 10mW/cm²の照射強度は，労働者に対する米国政府産業衛生者会議 (American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH) の勧告に基づく許容基準の上限であり，ほとんどすべての労働者が悪影響を被ることのない値とされている[19)]．1982年には米国国内基準協会 (American National Standards Institute, ANSI) により，300KHz から 100GHz までの周波数別の許容基準が勧告され，その中で 2,450MHz の周波数での許容基準は労働現場では 10mW/cm²，住民環境では 5mW/cm² とされた[20)]．周波数ごとの許容基準を設定する論拠は周波数ごとに決定された特異的吸収率 (specific absorption rate, SAR)[21)22)] にあり，SAR を0．1時間あたり 0.4W/kg に抑えることを基準としている．このとき，ラットの実験結果をヒトに外挿する問題点は多々あるが，中でもヒトにおける 2,450MHz, 10mW/cm²のマイクロ波が，ヒトに比べはるかに体重，体表面積の小さいラットにおけるどれだけに相当するかが問題となる．マイクロ波照射強度 1mW/cm² に対する SAR を指標にした場合，ヒトでは 0.028W/kg であるのに対し，ラットでは 0.23W/kg と約8倍大きいとされている[21)22)] 通り，ヒトにおける 10mW/cm² のマイクロ波はラットにとっては約 80mW/cm² と，ANSI の基準値と比べはるかに大きいと考えられる．したがって本結果の解釈においては現行の基準値，10mW/cm² が正常妊娠の継続に極めて危険であることにはならないが，ラットにおいても体重差によって大きくその影響を異にする[1)] ことも同時に考え合わせれば，ヒトの体型などの個体差は，場合によっては本結果の如く過剰なマイクロ波暴露となり正常妊娠への影響をもたらすこともあり得ると考えられる．したがって本研究はマイクロ波暴露による正常妊娠障害のモデルと考えられ，マイクロ波暴露時における胎盤血流量の減

少が生じる際の内分泌的機序の解明を可能としている．

ところで，マイクロ波は物理的環境刺激の1つであり，このような物理的環境刺激の生体影響の発現様式には非特異的作用としての情動ストレス作用と，物理的刺激固有の特異的作用としての機械的な直接的作用があることが知られている[23]．非特異的なストレスによって影響を受ける下垂体前葉－副腎皮質系機能を調べた結果，ACTH, CS はいずれもマイクロ波暴露群では対照群に比較して有意な増加を認めた．このことはマイクロ波が，非特異的ストレスとして情動変化をもたらすために十分大きい刺激であることが示された．CS はエストロゲン (estrogen, E) 由来の子宮血流量の増加を抑制することが知られている[24]．$E_2$ の投与により子宮血流量が増加することは実験的によく知られているが[25)~28)]，その機序は $E_2$ が直接血管に作用するのではなく，プロスタグランジン $E_1$ (prostaglandin $E_1$, $PGE_1$) を介して血管拡張作用を誘発することによると考えられている[29]．CS がこの $E_2$ 由来の子宮血流量増加を抑制する機序は現在のところ明らかになってはいないが PG 系の関与が示唆されている[24]．本研究ではマイクロ波暴露により CS は増加し，$E_2$ は減少しており，このことが胎盤血流量減少の一因と考えられる．

子宮循環動態に関与する因子として $E_2$ 以外にも，P, $PGE_2$ および $PGF_{2\alpha}$ などの内因性物質が知られている[29)30)]．Pは妊娠維持に欠かせない物質であることはよく知られており[18]，子宮循環動態においてPはおそらくは細胞質にあるEに対するレセプターを消耗させることにより[28)30)]，$E_2$ 由来の子宮血流量増加を抑制[31]または調節しているとされる．しかしながら，Pはまた子宮内膜，筋層において $PGF_{2\alpha}$ の産生を抑制し，その結果，$PGF_{2\alpha}$ の血管収縮作用および子宮筋の収縮作用を遮断することにより胎盤血流量を維持しているとされている[18)32)]．したがってPの増加が単純に胎盤血流量減少のみをもたらすと考えることは困難である．また本研究ではマイクロ波暴露によりPと同時に $PGF_{2\alpha}$ も増加したので，Pの増加は，情動作用と関連深い ACTH[33]をはじめとした下垂体前葉ホルモンによるものと推定される．なぜならば，情動ストレス時には副腎由来のPの放出の促進が報告されており，雄ラットや卵巣を摘出した非妊娠雌ラットでもストレスによるPの増加はおこるが，副腎を摘出すると雌雄ラットともにPの増加はおこらず，しかもこのPの分泌には後述する PRL が深く関わっていることが報告されている[34]からである．

近年，子宮胎盤血流動態に関与する物質として PG 系が注目されているが，子宮胎盤血流量に及ぼす $PGE_2$ と $PGF_{2\alpha}$ の生理作用を論ずる場合，子宮および胎盤の血管に対する作用と子宮筋に対する作用の両方を考慮する必要がある．血管に対する作用は動物種によってさまざまの報告[35)~37)]があるが，ちなみにヒト子宮の分離動脈を用いた実験によれば，$PGF_{2\alpha}$ は低濃度では血管拡張性に，高濃度では血管収縮性に作用するが，$PGE_2$ は血管拡張性にのみ作用するという報告[38]もあれば，反対に $PGE_2$ も $PGF_{2\alpha}$ も血管収縮性に作用するという報告[39]もある．またヒト胎盤動脈に対しては $PGE_2$ も $PGF_{2\alpha}$ も血管収縮性に作用するとされている[38]．一方，子宮筋に対する作用に関しては $PGE_2$ も $PGF_{2\alpha}$ もともに強力な収縮作用を有し[29)38)40)]，いずれも治療的流産剤，分娩誘発剤，陣痛促進剤さらには弛緩出血の止血剤としてすでに臨床応用されている[41]．結局，血管作動性については異なった報告がみられるが，生体であらわれる現象としては $PGE_2$ も $PGF_{2\alpha}$ もともに子宮筋収縮作用が加わって子宮血流量を減少させる[29)42)]．本研究では $PGE_2$ はマイクロ波暴露群と対照群との間で有意差はみられなかった．したがってマイクロ波暴露による胎盤血流量の減少を $PGE_2$ の動態で説明することはできない．一方，$PGF_{2\alpha}$ はマイクロ波暴露群では対照群に比較して有意に増加した．したがって $PGF_{2\alpha}$ による子宮胎盤血流量の減少が推測され，その機序としては，子宮および胎盤血管への直接作用と子宮筋収縮を介しているものと推定された．

ところで，AⅡ は強力な血管収縮作用を有しているにもかかわらず，子宮胎盤血流量を増加させることはよく知られている[43)~46)]．その機序は動脈圧の増加によるとされており，動脈圧を実験的に上昇させないようにすると，AⅡ を投与しても子宮胎盤血流量は減少するという[46]．また AⅡ 投与により PGE が増加し，その PGE の血管拡張作用を介して子宮胎盤血流量増加がおこるともされている[43)45)]．おそらくこの PGE は $PGE_1$ であろうと推測されている[29]．本研究においても，AⅡ 前投与だけでマイクロ波暴露を受けないラットでは胎盤血流量が増加することを確認できた．そこでマイクロ波暴露による胎盤血流量減少に PG 系が関与しているかどうかは，AⅡ 前投与による実験によって解明されると思われる．本結果では，AⅡ を前投与してマイクロ波暴露した場合，対照群のような胎盤血流量の増加はみられなかった．したがってマイクロ波暴露は本来，AⅡ 投与によってもたらされるはずの子宮胎盤血流量増加の機序を阻害していることが判明した．この阻害は動脈圧の上昇の抑制かまたは $PGE_1$ の作用の抑制のいずれか，あるいは両方によってもたらされると推定された．また AⅡ の前投与は，マイクロ波暴露によってもたらされたPおよび $PGF_{2\alpha}$ の増加を抑制した．特に $PGF_{2\alpha}$ についての結果は，AⅡ により同時に起こる胎盤血流量の増加に対する抑制作用を考え合わせれば，マイクロ波暴露時には $PGF_{2\alpha}$ による子宮および胎盤血管への直接作用によって子宮胎盤血流量の減少が生じているとする推定を強く支持するものと考えられる．

近年，特に情動ストレス物質としても注目され，また胎盤循環動態ならびに多くの性腺内分泌系ホルモンと密接な関係が指摘されている PRL が，マイクロ波暴露により有意に増加することを認めた．非特異的な情動ストレスに対して血中 PRL が増加する[47)~49)]ことはよく知られており，分泌調節機序ならびに生理学的作用を含めて現在注目を浴びている研究分野である．しかしながら，PRL の生理学的作用は乳汁分泌作用以外にも免疫機能[50]を含めて多岐にわたっており，例えばストレス胃潰瘍に対し，PRL はその進行を抑制する細胞防御的作用があるとされている[51]．一方，PRL は黄体[52)~54)]，胎盤[55]および副腎[34]からのPおよび $E_2$ の分泌調節を介して性腺内分泌系に関与しているとされる．したがって本結果のマイクロ波暴露による $E_2$ の減少とPの増加に PRL が関与していた可能性は十分に考えられる．

以上の妊娠ラットを用いた結果により，マイクロ波暴露時における胎盤血流量の減少は，マイクロ波暴露時の下垂体前葉の関与と，$PGF_{2\alpha}$ を介した作用により生じることが示された．下垂体前葉ホルモンの賦活化はマイクロ波の有する情動ストレスの作用によるという機序が，$E_2$, P, PRL についての結果を通して示された．本来，温熱作用によって認められるべき局所的血流量の亢進については，温熱作用を有するマイクロ波暴露によ

る胎盤循環動態に対する影響では認められなかった．マイクロ波の特異的作用については，温熱作用以外によって生じる固有の作用の存在も知られている[7]．したがって，特に $PGF_{2}\alpha$ を介した胎盤血流量の減少はマイクロ波固有の作用によるものとも考えられるため，さらに今後，マイクロ波暴露における PG 系に関連する諸因子の関与を解明する必要があると考えられる．

最後にマイクロ波暴露が胎児におよぼす影響も今後検討すべき問題である．すなわちマイクロ波が胎盤血流量減少以外に胎児に直接的な影響をもたらす可能性も無視できない．なぜならば子宮胎盤循環系および下垂体ー性腺内分泌系に大きな影響をもたらすマイクロ波暴露が母体にのみ作用して，胎児の方には母体が受けた影響を間接的に胎盤血流量減少という形でしか影響されないとは考えられないからである．少なくともマイクロ波による情動ストレスは直接胎児にも及ぶであろうことは想像に難くない．したがってストレスに対する胎児副腎の応答を考慮することも今後の課題と考えられる．

## 結　　論

マイクロ波暴露による胎盤循環動態への影響を実験的に証明し，またその際生じる胎盤血流量の減少の機序に PG 系をはじめとする性腺内分泌系がいかに関与しているか明らかにするために，妊娠ラットに周波数 2,450Hz，照射強度 10mW/cm² のマイクロ波を暴露し，経時的胎盤血流量を測定するとともにマイクロ波暴露後の血中の CS, ACTH, $E_2$, P, PRL, $PGE_2$, $PGF_{2}\alpha$ を測定し，次の結果を得た．

1．対照ラットではその経過中，胎盤血流量に変化は認められなかったが，マイクロ波暴露を施したラットでは暴露開始後45分から90分値までにわたって有意な減少を認めた．AⅡ を前投与したラットの胎盤血流量はマイクロ波暴露を受けない対照群では15分と30分で増加を認めたが，マイクロ波暴露群では増加は認められなかった

2．AⅡ 前投与の有無にかかわらず，マイクロ波暴露は CS, ACTH, PRL の増加をもたらした．

3．AⅡ 前投与の有無にかかわらず，マイクロ波暴露後に $E_2$ の減少が認められた．

4．マイクロ波暴露によるPの増加が観察されたが，AⅡ 前投与した場合は対照群との間で有意差は認められなかった．

5．マイクロ波暴露による $PGE_2$ の変化は認められなかったが，$PGF_{2}\alpha$ についてはマイクロ波暴露により増加を認めた．AⅡ 前投与した場合は対照群とマイクロ波暴露群との間の $PGF_{2}\alpha$ の有意差は認められなかった．

以上の結果から，ACGIH と ANSI に基づくヒト対する上限暴露値である 10mW/cm² のマイクロ波暴露のラットに対する諸影響をヒトに外挿する問題はあるものの，過剰なマイクロ波暴露は妊娠ラットの胎盤血流量を減少させるということが実験的に証明された．この減少は，$PGF_{2}\alpha$ を介した作用とマイクロ波暴露における情動ストレスの作用としての下垂体前葉の賦活化により生じると考えられた．

## 謝　　辞

稿を終えるにあたり，終始懇篤な御指導と御校閲を賜りました恩師の岡田　晃金沢大学長に深甚なる謝意を表します．また御懇切な御校閲を賜りました金沢大学医学部生理学第一講座の永坂鉄夫教授に深謝致します．また終始，直接の御指導を頂きました金沢大学医学部公衆衛生学講座の中村裕之助教授をはじめ同講座の諸先生方に深く感謝致します．なお本論文の要旨は，第36回日本産業衛生学会北陸甲信越地方会(1993年，甲府）および第64回日本衛生学会（1994年，金沢）において発表した．

## 文　　献

1）岡田　晃，中村裕之，長瀬博文：マイクロ波とその生体影響．産業医学レビュー，6, 32-47 (1993).

2）**Albrecht, R. M., & Landau, E.**: Microwave radiation: An epidemiologic assessment. Rev. Environ. Health, **3**, 43-58 (1978).

3）石毛龍之介：マイクロ波は生体にどのような影響を与えるか．エレクトロニクス，8, 962-971 (1973).

4）岡田　晃：マイクロ波の生体影響．医学のあゆみ，**144**, 98 (1988).

5）**Michaelson, S. M.**: Effects of exposure to microwaves: problems and perspectives. Environ. Health Perspect., **8**, 133-156 (1974).

6）**Silverman, C.**: Epidemiologic studies of microwave effects. Proc. Inst. Electrical Electronics Engineers, **68**, 78-84 (1980).

7）**Michaelson, S. M.**: Health implications of exposure to radiofrequency/microwave energies. Br. J. Ind. Med., **39**, 105-119 (1982).

8）**Koshu, K., Kamiyama, K., Oka, N., Endo, S., Takaku, A. & Saito, T.**: Measurement of regional blood flow using hydrogen gas generated by electrolysis. Stroke, **13**, 483-487 (1982).

9）岡田　晃，小森谷豊，安斉　勲，入江　哲，樋口亮一，諸治隆嗣，新井　栄，小倉浩一：小動物実験用マイクロ波発生装置の開発．医科器械学，**47**, 238-241 (1977).

10）**Silber, R. H., Busch, R. D. & Oslapas, R.**: Practical procedure for estimation of corticosterone or hydrocortisone. Clin. Chem., **4**, 278-285 (1958).

11）福地　稔，松尾優子，村上　稔，表　正宏，河中正裕，松嶋裕明：固相化 Avidin-Biotin 結合を利用した IRMA 法による血中 Intact ACTH (1－39) 測定に関する基礎的ならびに臨床的検討．核医学，**27**, 155-163 (1990).

12）**Ratcliffe, W. A., Carter, G. D., Dowsett, M., Hillier, S. G., Middle, J. G. & Reed, M. J.**: Oestradiol assays: applications and guidelines for the provision of a clinical biochemistry service. Ann. Clin. Biochem., **25**, 466-483 (1988).

13）牧野恒久，岡　親弘，原　利夫，元山鎮雄，田淵土志夫，原　崇文，飯塚理八，西江晴男：新しいチューブ固相法 RIA キットによるヒト血中の Estrtadiol, Progesterone の動態の研究．ホルモンと臨床，**36**, 79-83 (1988).

14）深谷孝夫，古橋信晃，新川　尹，高橋　徹：短時間測定が可能であるプロラクチン RIA Kit (DP-1062) の基礎的検討．ホルモンと臨床，**31**, 105-109 (1983).

15）**Dray, F., Charbonnel, B. & Maclouf, J.**: Radioimmunoassay of prostaglandins $F\alpha$, $E_1$, and $E_2$ in human plasma. Eur. J. Clin. Invest., **5**, 311-318 (1975).

16）**Jaffe, B. M., Behrman, H. R. & Parker, C. W.**: Radioimmunoassay measurement of prostaglandins E, A and F in human plasma. J. Clin. Invest., **52**, 398-405 (1973).

17) **Pulkkinen, M. O., Pitkanen, Y., Ojala, A. & Hannelin, H.**: Decrease of utero-placental blood flow during prostaglandin F2$\alpha$ induced abortion. Prostaglandins, **9**, 61-66 (1975).

18) **Smith, S. K. & Kelly, R. W.**: The mechanisms of action of progesterone and the anti-progestin ZK 98734 on PGF2$\alpha$ synthesis by early human decidua. Prostaglandins, **41**, 433-450 (1991).

19) **American Conference of Governmental Industrial Hygieniests**: Threshold Limit Values For Physical Agents Adopted By ACGIH, 1st ed., p1-66, ACGIH, Cincinnati, 1979.

20) **American National Standards Institute**: Safety Levels With Respect to Human Exposure To Radio Frequency Electromagnetic Fields 300 kHz to 100 GHz, 1st ed., C95. 1, ANSI, New York, 1982.

21) **Durney, C. H., Johnson, C. C., Barber, P. W., Massoudi, H., Iskander, M. F., Lords, J. L., Ryser, D. K., Allen, S. L. & Mitchell, J. C.**: Radiofrequency Radiation Dosimetry Handbook, 2nd ed., p78-122, Books Air Force Base, San Antonio, 1978.

22) **Justesen, D. R.**: Microwaves and behavior. Am. Psychol., **30**, 391-401 (1975).

23) **中村裕之**：物理的環境刺激と神経生物学．日衛誌，**47**, 785-797 (1992).

24) **Monheit, A. G. & Resnik, R.**: Corticosteroid suppression of estrogen-induced uterine blood flow in nonpregnant sheep. Am. J. Obstet. Gynecol., **139**, 454-458 (1981).

25) **Markee, J. E.**: Rhythmic vascular uterine changes. Am. J. Physiol., **100**, 32-39 (1932).

26) **Huckabee, W. E., Crenshaw, C., Curet, L. B., Mann, L. & Barron, D. H.**: The effect of exogenous oestrogen on the blood flow and oxygen consumption of the uterus of the nonpregnant ewe. Q. J. Exp. Physiol., **55**, 16-24 (1970).

27) **Killam, A. P., Rosenfeld, C. R., Battaglia, F. C., Makowski, E. L. & Meschia, G.**: Effect of estrogens on the uterine blood flow of oophorectomized ewes. Am. J. Obstet. Gynecol., **115**, 1045-1052 (1973).

28) **Resnik, R.**: The endocrine regulation of uterine blood flow in the nonpregnant uterus: a review. Am. J. Obstet. Gynecol., **140**, 151-156 (1981).

29) **Still, J. G. & Greiss, F. C. Jr.**: The effect of prostaglandins and other vasoactive substances on uterine blood flow and myometrial activity. Am. J. Obstet. Gynecol., **130**, 1-8 (1978).

30) **Resnik, R., Brink, G. W. & Plumer, M. H.**: The effect of progesterone on estrogen-induced uterine blood flow. Am. J. Obstet. Gynecol., **128**, 251-254 (1977).

31) **Caton, D., Abrams, R. M., Lackore, L. K., James, G. & Barron, D. H.**: Effect of exogeneous progesterone on the rates of uterine blood flow and oxygen consumption of sheep in early pregnancy. Q. J. Exp. Physiol., **59**, 233-239 (1974).

32) **Kelly, R. W., Healy, D. L., Cameron, M. J., Cameron, I. T. & Baird, D. T.**: The stimulation of prostaglandin production by two antiprogesterone steroids in human endometrial cells. J. Clin. Endocrinol. Metab., **62**, 1116-1123 (1986).

33) **Barnea, E. R., Lavy, G., Fakih, H. & Decherney, A. H.**: The role of ACTH in placental steroidogenesis. Placenta, **7**, 307-313 (1986).

34) **Deis, R. P., Leguizamon, E. & Jahn, G. A.**: Feedback regulation by progesterone of stress-induced prolactin release in rats. J. Endocrinol., **120**, 37-43 (1989).

35) **Einer-Jensen, N.**: Decreased endometrial blood flow and plasma progesterone level after instillation of 10$\mu$g prostaglandin $F_2\alpha$ into the lumen of the uteri of rhesus monkeys. Prostaglandins, **4**, 517-522 (1973).

36) **Rankin, J. H. G. & Phernetton, T. M.**: Effect of prostaglandin $E_2$ on ovine maternal placental blood flow. Am. J. Physiol., **231**, 754-759 (1976).

37) **Kimura, T., Yoshida, Y. & Toda, N.**: Mechanisms of relaxation induced by prostaglandins in isolated canine uterine arteries. Am. J. Obstet. Gynecol., **167**, 1409-1416 (1992).

38) **Maigaard, S., Forman, A. & Andersson, K. E.**: Relaxant and contractile effects of some amines and prostanoids in myometrial and vascular smooth muscle within the human uteroplacental unit. Acta Physiol. Scand., **128**, 33-40 (1986).

39) **Wilhelmsson, L., Lindblom, B., Wikland, M. & Wiqvist, N.**: Effects of prostaglandins on the isolated uterine artery of nonpregnant women. Prostaglandins, **22**, 223-233 (1981).

40) **Chang, M. C. & Hunt, D. M.**: Effect of prostaglandin $F_2\alpha$ on the early pregnancy of rabbits. Nature, **236**, 120-121 (1972).

41) **高木繁夫，田　根培，飯塚貞男**：プロスタグランディンとオキシトシン．産と婦，**55**, 1462-1472 (1988).

42) **Clark, K. E., Austin, J. E. & Seeds, A. E.**: Effect of bisenoic prostaglandins and arachidonic acid on the uterine vasculature of pregnant sheep. Am. J. Obstet. Gynecol., **142**, 261-268 (1982).

43) **Terragno, N. A., Terragno, D. A., Pacholczyk, D. & McGiff, J. C.**: Prostaglandins and the regulation of uterine blood flow in pregnancy. Nature, **249**, 57-58 (1974).

44) **Speroff, L., Haning, R. V. Jr. & Levin, R. M.**: The effect of angiotensin II and indomethacin on uterine artery blood flow in pregnant monkeys. Obstet. Gynecol., **50**, 611-614 (1977).

45) **Franklin, G. O., Dowd, A. J., Caldwell, B. V. & Speroff, L.**: The effect of angiotensin-II intravenous infusion on plasma renin activity and prostaglandins A, E and F levels in the uterine vein of the pregnant monkey. Prostaglandins, **6**, 271-280 (1674).

46) **Woods, L. L.**: Role of angiotensin II and prostaglandins in the regulation of uteroplacental blood flow. Am. J. Physiol., **264**, 584-590 (1993).

47) **Theorell, T.**: Prolactin-A hormone that mirrors passiveness in crisis situations. Integr. Physiol. Behav. Sci., 27, 32-38 (1992).

48) **Kant, G. J., Bauman, R. A., Anderson, S. M. & Mougey, E. H.**: Effects of controllable vs. uncontrollable chronic stress on stress-responsive plasma hormones. Physiol. Behav., 51, 1285-1288 (1992).

49) **Corenblum, B. & Taylor, P. J.**: Mechanisms of control of prolactin release in response to apprehension stress and anesthesia-surgery stress. Fertil. Steril., 36, 712-715 (1981).

50) **Reber, P. M.**: Prolactin and immunomodulation. Am. J. Med., 95, 637-644 (1993).

51) **Drago, F., Continella, G., Conforto, G. & Scapagnini, U.**: Prolactin inhibits the development of stress-induced ulcers in the rat. Life Sci., 36, 191-197 (1985).

52) **Li, Y., Molina, J. R., Klindt, J., Bolt, D. J. & Anderson, L. L.**: Prolactin maintains relaxin and progesterone secretion by aging corpora lutea after hypophysial stalk transection or hypophysectomy in the pig. Endocrinology, 124, 1294-1304 (1989).

53) **Albarracin, C. T. & Gibori, G**: Prolactin action on luteal protein expression in the corpus luteum. Endocrinology, 129, 1821-1830 (1991).

54) **Alila, H. W., Rogo, K. O. & Gombe, S.**: Effects of prolactin on steroidogenesis by human luteal cells in culture. Ferti. Steril., 47, 947-955 (1987).

55) **Barnea, E. R., Fares, F. & Shahar, K.**: Stimulatory effect of prolactin on human placental progesterone secretion at term in vitro: possible inhibitory effect on oestradiol secretion. Placenta, 10, 37-43 (1989).

**Study on Placental Circulatory Dysfunction Induced By Whole-Body Microwave Exposure in Pregnant Rats and Involvement of Endocrine Systems in the Dysfunction**

Yuzuru Yoshida, Department of Public Health, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920
—J. Juzen Med Soc., **103**, 710—720 (1994)

**Key words** blood flow, microwave, placenta, prostaglandin, stress

**Abstract**

Effects of whole-body microwave exposure on normal pregnancy were experimentally studied in rats. To clarify the endocrine pathogenesis for the placental circulatory dysfunction and the involvement of endocrine systems, placental blood flow and seven endocrine indicators, i.e., corticosterone (CS) adrenocorticotropic hormone (ACTH), prolactin (PRL), estradiol ($E_2$), progesterone (P), prostaglandin $E_2$ ($PGE_2$) and prostaglandin $F_2\alpha$ ($PGF_2\alpha$) were measured in rats exposed to whole-body microwave at an intensity of 10 mW/cm$^2$ and at a frequency of 2,450 MHz. While no change in the placental blood flow was observed in the control rats, the value at 45-90 min after the exposure was significantly decreased in the rats exposed to the microwave. Placental blood flow at 15 and 30 min was increased by pretreatment with intraperitoneal administration of angiotensin II (AII). By contrast, no significant change in placental blood flow was recognized in the AII-pretreated rats exposed to the microwave. CS, ACTH and PRL were increased by the microwave exposure independent of the pretreatment with AII. $E_2$ was decreased by the microwave exposure independent of the pretreatment with AII. P was increased by the microwave exposure in rats without pretreatment of AII. $PGE_2$ was not changed by the microwave exposure in the case of either non-pretreatment or pretreatment with AII. $PGF_2\alpha$ was increased by the microwave exposure in rats without pretreatment of AII. The present results indicate the possibility that excessive exposure to whole-body microwave induces disorder in pregnancy in terms of placental circulatory dysfunction. The data suggest endocrine mechanisms in the decrease in placental blood flow which is induced via an effect of microwave on $PGF_2\alpha$ as well as on pituitary functions responding to general emotional stress.