

## 線虫の誘引・忌避行動における交流磁界影響

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/16944">http://hdl.handle.net/2297/16944</a>

# 線虫の誘引・忌避行動における交流磁界影響

山田 外史, 柿川 真紀子, Chomsuwan Komkrit

自然計測応用研究センター 人間計測制御研究部門

## 1. はじめに

近年、交流磁界と神経との関係が注目されている。神経伝達においては微細な電流がシグナルとして細胞間を高速に流れており、交流磁界曝露によって生じる二次電流がこの神経伝達機構に何らかの影響を及ぼしているのではないかと考えられている。医療応用分野では、難治性神経疾患の治療にパルス磁界によって生じる渦電流の利用が検討されており、研究が進められている。しかしながら、その影響メカニズムについては不明な点が多い。

一方、50 Hz 交流磁界がマウスの行動異常を引き起こすという研究報告<sup>1,2)</sup>や 60 Hz 交流磁界曝露により線虫の行動軌跡に異常が認められたとの報告がある<sup>3)</sup>。交流磁界のさらなる医療応用に向けて、交流磁界が神経機能へ及ぼす影響のメカニズム解明は重要な問題である。

本研究では、神経回路が細胞、分子レベルで解明が進んでおり、かつ行動と関連付けて神経機能の解析が容易である線虫をモデル動物として用いた。そして、線虫の化学物質への誘引・忌避行動、及び機械刺激への慣れ学習に着目し、行動を解析することで、それらに関連した神経機能への商用周波数交流磁界影響を検討した。

## 2. 交流磁界曝露装置と線虫を用いた行動解析

### 2.1 交流磁界曝露装置

線虫への磁界曝露に用いた交流磁界発生装置を Fig. 1 に示す。この装置は、周波数  $f = 60$  Hz, 磁束密度  $B = 0.5$  T の均一磁界をギャップ部に発生するように設計され、ギャップ部にはアクリルケースが取り付けられており、ケース内部に水を循環させることで、実験環境の温度を一定 ( $20$  °C) に保ち、中央部に線虫を入れたプレートを挿入し、磁界曝露を行った (Fig. 2)。

### 2.2 線虫を用いた行動解析

線虫 *C. elegans* (N2 株, Fig. 3) は全長約 1 mm 程度であり、半透明で、生きたまま顕微鏡で細胞を観察することが可能である。成虫の全細胞数は 959 個、その内 302 個が神経細胞であり、神経細胞を有する最も小さなモデル動物であり、化学走性や各刺激への反応、記憶の保持等における神経回路網がかなり判明しており、これら行動解析により線虫の神経機能を解明する研究が広く行われている<sup>1)</sup>。線虫は、同調培養した孵化後約 72 時間の成虫を Fig. 2 のように装置に挿入し、交流磁界曝露を行った。交流磁界曝露は、これまでに線虫の行動軌跡に異常が認められたと報告のあった磁界曝露条件、周波数  $f = 60$  Hz, 磁束密度  $B = 0.5$  T, 曝露時間  $t = 1$  h で行った<sup>3)</sup>。この後、あらかじめ用意しておいた 3 種の実験プレート (Fig. 4) のスタート地点に線虫を 50 匹程度置き、行動解析を行った。なお、磁界以外の温度、湿度、光、振動などの環境要因については、線虫にストレスを与えない条件下で実験を行った。

実験プレート 1 では、線虫の誘引物質である DA (*Diacetyl*) の原液を 500 倍に希釈し、同容量の 1 M の  $\text{NaN}_3$  水溶液との混合液  $1 \mu\text{l}$  を寒天プレートの丸印 (線虫の到達地点) にスポット、スタート地点に線虫を約 50 匹置き、線虫の誘引行動を観察した。DA には  $\text{NaN}_3$  を混入してあるため、DA まで到達した虫は麻痺し、静止する。この静止した虫を、実験開始から 15 分毎に 1 時間後までの 4 点においてカウントした。

実験プレート 2 では、寒天の上に、線虫を置く 10 分前に 1 mM の  $\text{CuSO}_4$  水溶液で直径 25 mm の円状障壁を作成し、スタート地点に線虫を約 50 匹置き、線虫の忌避行動を観察した。線虫をスタート地点に置くと、線虫

は寒天上を移動し、CuSO<sub>4</sub>の障壁付近で忌避反応を示す。しかし時間が経つにつれ、CuSO<sub>4</sub>に忌避反応を示さず障壁を突破する虫が出てくる。この突破した虫を、実験開始から15分毎に1時間後までの4点においてカウントした。

実験プレート3では、寒天の上に線虫を置く10分前に1 mMのCuSO<sub>4</sub>水溶液でシャーレの中心部に寒天地を上下に分断するように障壁を作成し、丸印にDAを1 μl置き、スタート地点からの線虫(約50匹)の誘引・忌避行動を観察した。線虫は、DAに誘引反応を示し、丸印の方に向かって移動する。しかし、途中にはCuSO<sub>4</sub>の障壁があり、障壁に到達した虫は忌避反応を示して後退し、異なる方向に向かって移動する。しかし時間が経つにつれ、障壁を突破し、DAに向かう虫が出てくる。この突破した虫を、実験開始から15分毎に1時間後までの4点においてカウントした。

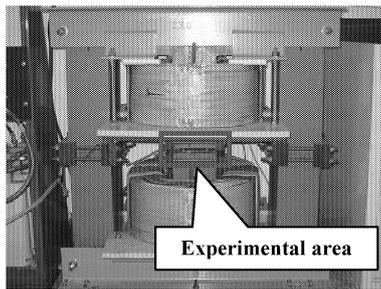


Fig.1 Magnetic fields generator

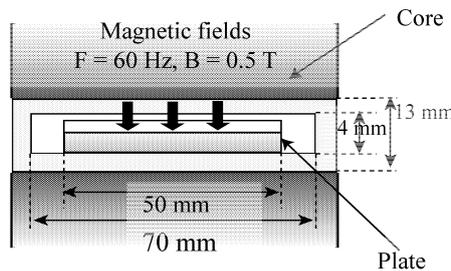


Fig.2 Plate exposed to magnetic fields

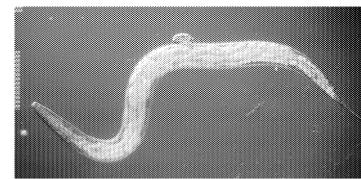


Fig.3 The nematode, *C. elegans*

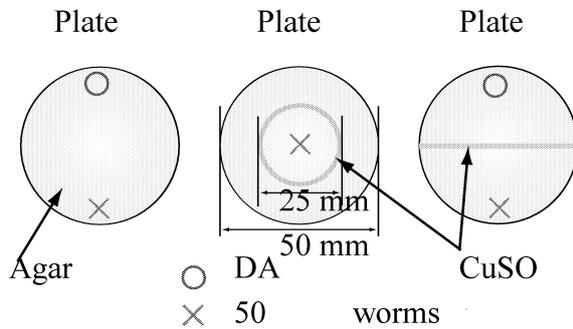


Fig.4 Assay Plate

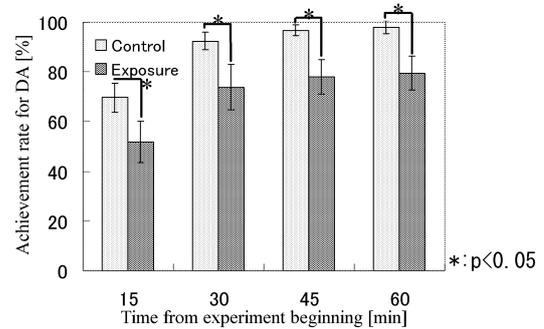


Fig.5 Achievement rates for plate 1 DA.

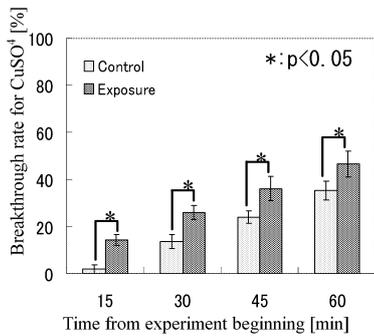


Fig.6 Breakthrough rates for plate 2 CuSO<sub>4</sub>.

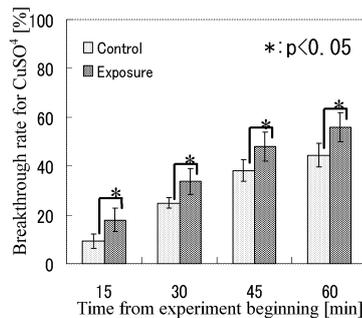


Fig.7 Breakthrough rates for plate 3 DA + CuSO<sub>4</sub>.

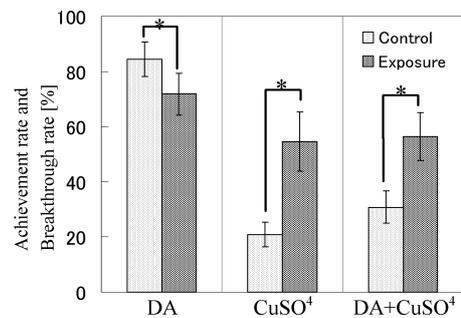


Fig.8 Influence during exposure to magnetic fields.

### 3. 線虫の行動への交流磁界影響結果

磁界曝露 ( $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $B = 0.5 \text{ T}$ ,  $t = 1 \text{ h}$ ) 後, 実験プレート 1 での解析開始から 15, 30, 45, および 60 分の各時点における線虫の DA への到達率を百分率で表し, Control と Exposure を比較した結果を Fig. 5 に示す. 各時点において磁界曝露した虫の DA への到達率は, 磁界曝露を行っていない虫に比べて 17~19 %程度低下し, DA への誘引行動の低下が認められた. なお各時点での値は Control, Exposure とともに, 10 回の実験プレートで得られたデータの平均値 ( $\pm \text{SD}$ ) であり, 統計的にも有意差 ( $p < 0.05$ ) が認められた.

一方, 磁界曝露後, 実験プレート 2 における解析開始後, 15, 30, 45, および 60 分の各時点の線虫の  $\text{CuSO}_4$  の突破率を Control と Exposure とで比較した結果を, Fig. 6 に示す. 各時点において磁界曝露した虫の  $\text{CuSO}_4$  の突破率は, 非磁界曝露群に比べて 11~13 %の有意な上昇が認められた ( $p < 0.05$ ,  $n=10$ ).

また, プレート 3 を用いた磁界曝露後の線虫の  $\text{CuSO}_4$  突破率の結果を, Fig. 7 に示す. 各時点において磁界曝露した虫の  $\text{CuSO}_4$  の突破率は, 非磁界曝露群に比べ, 8~12 %程度上昇した ( $p < 0.05$ ,  $n=10$ ).

50 Hz 交流磁界曝露によりマウスの行動異常が認められたとの報告では, 磁界曝露の影響は, 曝露直後, 最も顕著にみられる傾向にあった. そこで, 本研究では, 実験プレート 1~3 を用い, 磁界曝露中 ( $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $B = 0.5 \text{ T}$ ,  $t = 0.5 \text{ h}$ ) での線虫の行動解析を行った. 実験プレート 1 での線虫の DA への到達率, 実験プレート 2, 3 での線虫の  $\text{CuSO}_4$  の突破率を Control と Exposure とで比較した結果をまとめて Fig. 8 に示す. なお各値は Control, Exposure とともに, 5 枚の実験プレートで得られたデータの平均値 ( $\pm \text{SD}$ ) であり, 統計的にも有意差 ( $p < 0.05$ ) が認められた.

実験プレート 1 における磁界曝露中の線虫の DA への到達率は, 非磁界曝露の虫に比べて 13 %程度の低下がみられ, 磁界曝露後の結果 (Fig. 6) と同様の傾向が認められた. 実験プレート 2 では磁界曝露した虫の  $\text{CuSO}_4$  の突破率は, 磁界曝露を行っていない虫に比べて 34 %程度の上昇が認められた. また, 実験プレート 3 で磁界曝露した虫の  $\text{CuSO}_4$  の突破率は, 非磁界曝露群の虫に比べて 26 %程度の上昇が認められた. つまり,  $\text{CuSO}_4$  の突破率については, プレート 2, 3 の結果共に, 磁界曝露中の方が磁界曝露後の解析結果 (Figs. 7, 8) に比べ, 非曝露群との差も大きく, 有意に  $\text{CuSO}_4$  に対する忌避行動の低下が認められた.

### 4. まとめ

本研究では, 線虫の化学物質への誘引・忌避行動解析により, 神経機能への商用周波数交流磁界影響を検討した結果, Diacetyl に対する誘引行動および  $\text{CuSO}_4$  に対する忌避行動の低下が認められた. また, 磁界曝露中の方が磁界曝露後に比べ, 有意に  $\text{CuSO}_4$  に対する忌避行動の低下が認められた. 線虫の神経細胞において Diacetyl への誘引行動と  $\text{CuSO}_4$  に対する忌避行動に参与する神経細胞群が同定されており (ADL, ASH, AIA 等), 磁界がこれらの神経細胞に影響を及ぼすことが示唆された.

### 参考文献

- 1) Sienkiewicz ZJ, Haylock RG, Bartram R, and Saunders RD: *Bioelectromagnetics*, **19**, 486 (1998).
- 2) Kavaliers M, Ossenkopp KP, Prato FS, Innes DG, Galea LA, Kinsella DM, and Perrot-Sinal TS: *J Comp Physiol*, **179**, 715 (1996).
- 3) T. Ikeda, S. Harada, R. Hosono, M. Kakikawa, M. Iwahara, and S. Yamada, *J. Magn. Soc. Jpn*, **27**, 447 (2003).