

超低周波変動磁界曝露はマウス副腎由来Y-1細胞のホスホジエステラーゼ活性を抑制させる

Exposure of extremely low-frequency magnetic field inhibits phosphodiesterase activity in mouse Y-1 adrenal cell line

北岡 和義⁽¹⁾, 川田知代⁽²⁾

(1) 徳島大学教養教育院(仮称)設置準備室 (2) 徳島大学医学部スチューデントラボ
Kazuyoshi Kitaoka (1) and Shiyori Kawata (2)

(1) Institute of Institution of Liberal Arts and Fundamental Education (provisional name),
Tokushima University

(2) Student Lab, Tokushima University Faculty of Medicine

Abstract We previously reported that exposure of extremely low-frequency magnetic field (ELF-MF) induces adrenal steroid synthesis in mouse Y-1 adrenal cell line via increase of intracellular cyclic adenosine monophosphate (cAMP) concentration. However, precise mechanism of the increasing is unknown. In this study, we investigate the effect of G α -subunit inhibitor NF449 on the increase of cAMP concentration by ELF-MF exposure and phosphodiesterase (PDE) activity in ELF-MF exposed cell to clarify the mechanism on the ELF-MF induced adrenal steroid synthesis in Y-1 cell. Our results suggest that the increase of intracellular cAMP concentration induced by ELF-MF in Y-1 cell may be involved in the decrease of PDE activity not the activation of G protein-coupled receptors.

1. 目的

我々は先行研究において、超低周波変動磁界(ELF-MF)の曝露がマウス副腎皮質由来細胞であるY-1細胞に対して副腎皮質ホルモン分泌刺激作用を持つことを報告し、そのメカニズムとして細胞内cAMP濃度の上昇が関与することを示した[1]。しかしながら、ELF-MF曝露が細胞内cAMP濃度を上昇させるメカニズムについては現在のところ不明である。

細胞内cAMP濃度は、その合成酵素であるアデニル酸シクラーゼ(AC)活性と、分解酵素であるホスホジエステラーゼ(PDE)活性の比によって調節されている[2]。本研究ではこの点に注目し、AC

を活性化させるGタンパク質Gs α サブユニットの拮抗薬(NF449)の投与により、ELF-MF曝露によるcAMP濃度上昇が誘導されるか、およびELF-MF曝露によりPDE活性が変化するかについて検討することで、ELF-MF曝露による細胞内cAMP濃度上昇のメカニズムを検討することを目的とする。

2. 方法

Y-1細胞(RBRC-RCB533)をコンフルエントに至るまで培養を行い、その後ELF-MF曝露装置(60 Hz, 0.25~3mT強度)もしくは疑似曝露装置によって6時間もしくは24時間の曝露を行った。曝露後に培地および細胞のサンプリングを行い、培地中コルチコステロン、細胞内cAMP濃度の定量をELISA法(Cayman chemical社製)にて、PDE活性の評価についてはPDE活性測定キット(Enzo life sciences社製)を用いて行った。NF449はY-1細胞の培養において用いているRPMI1640+10%牛胎児血清により10 μ Mもしくは30 μ M濃度となるように調整し、6時間のELF-MF曝露前に培養用シャーレに投与した。

3. 結果

NF449投与実験の結果として、30 μ Mの投与により、細胞内cAMP濃度は6時間の疑似曝露群、ELF-MF曝露群ともに有意な減少を示した。しかしながら、疑似曝露群とELF-MF曝露群間の細胞内cAMP濃度差は有意にELF-MF曝露群が高いままで維持されていた(図1)。一方、PDE活性におい

ては、6時間、24時間曝露ともにELF-MF曝露による有意な減少が認められた (図2)。

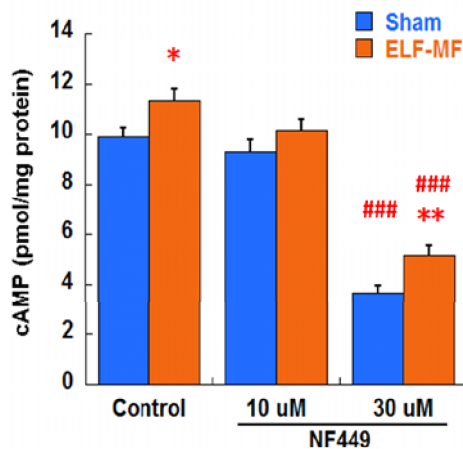


図1. NF449の投与は6時間ELF-M曝露(1.5mT強度)による細胞内cAMP濃度の上昇作用を阻害しなかった。n = 8~12, *P < 0.05, **P < 0.01 vs. Sham control, ### P < 0.001 vs. vehicle control.

さらにELF-MF曝露による副腎皮質分泌作用の磁界強度依存性について明らかにするために、0.25mTから3mTの間で24時間のELF-MF曝露を行い培地中コルチコステロン濃度について検討したところ、0.5 mT以上の磁界強度においてコルチコステロン濃度の有意な上昇が認められた (図3)。

4. 考察

NF449投与はY-1細胞の細胞内cAMP濃度を有意に抑制させた。これはNF449のGsαサブユニット抑制作用が、AC活性の抑制を介してcAMP合成を抑制させたことを示す。しかし、ELF-MF曝露群と疑似曝露群の間に認められた有意な差は維持されていた。このことから、ELF-MF曝露による細胞内cAMP濃度上昇作用はcAMP合成系とは関連しないと考えられる。一方、PDE活性はELF-MF曝露群において有意な抑制を示した。このことから、Y-1細胞に対するELF-MF曝露において認められたcAMP上昇作用は、PDE活性の抑制に起因することが示唆された。

また、この作用の磁界強度依存性について検討したところ、0.5 mT以上の磁界強度において有意なコルチコステロン濃度の上昇が認められた。国際非電離放射線防護委員会(ICNIRP)のガイドラインにおいてELF-MFの職業曝露の制限値は1 mTとされているが[3]、本研究において有意な効

果が認められた強度はこれを下回ることから、人体に対するELF-MF曝露影響も今後さらに検討が必要であると考えられる。

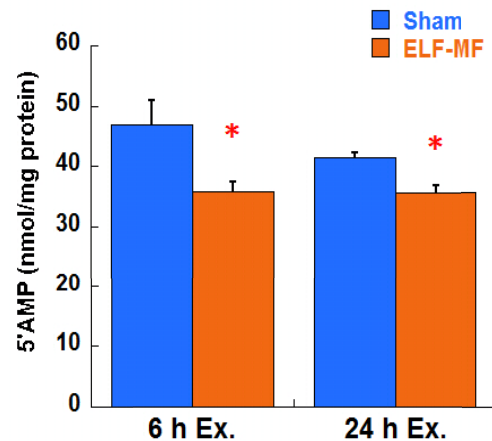


図2. PDE活性は6時間、24時間のELF-MF曝露(1.5mT)によって有意に減少した。n = 各4, *P < 0.05 vs. Sham control.

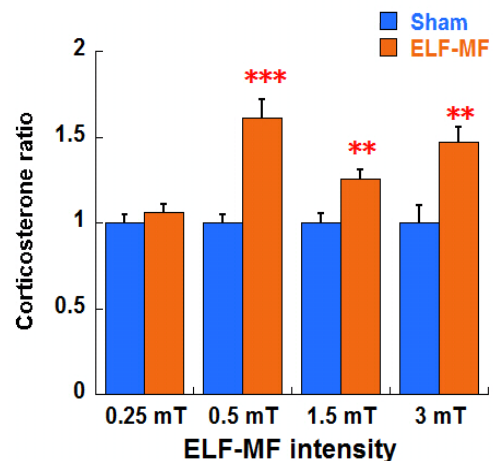


図3. 培地中コルチコステロン濃度は0.5 mTの磁界強度以上のELF-MF曝露(24時間)によって有意に上昇した。n = 各8, **P < 0.01, ***P < 0.001 vs. Sham control.

参考文献

- [1]北岡和義、北村光夫、吉田朋広、角陸文哉、川田知代 2014. 日本生体磁気学会誌特別号. 27(1):72-73.
- [2] Tsai LC, Beavo JA. 2011. *Curr Opin Pharmacol.* 11(6):670-675.
- [3] International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, 2010. *Health Physics.* 99(6):818-836.