

れている。電波防護指針は平成2年に定められ、その後の平成9年に携帯電話の普及を背景に身体近傍に電磁界の発射源がある場合に適用する局所吸収の指針が追加された。本指針では、管理環境においては、任意の組織10g当たりの局所エネルギー吸収率（Specific Absorption Rate:SAR）が10W/kgを超えないこと、一般環境では、同様に2W/kgを超えないことと定められている。これらで定めるガイドラインは主に電磁界の発熱作用（組織内における熱の発生）、刺激作用（電気刺激による神経、筋、感覚器の興奮）を根拠にしたものであり、非熱的な生物影響については十分な根拠がないため考慮されておらず、防護指針のなかでも今後検討が必要であると述べられおり、科学的な知見の積み重ねが必要とされている。

一方、国際的な動向としては、1996年からWHOにおいて電磁界の健康影響について検討する国際電磁界プロジェクトが開始されている。本プロジェクトは、静電磁界～高周波電磁界までの幅広い周波数領域を対象に、電磁界のリスクアセスメントを行い、広くその情報を発信することを目的の一つとしており、我が国を含め54カ国以上の国々と多くの国際機関が参加している。本プロジェクトの研究諮問委員会においても、高周波電磁界の非熱作用とくに脳神経系に及ぼす影響についての検討が急務であるとされている。これらの背景により、電磁界曝露による非熱作用については研究によるデータの蓄積が必要とされており、本研究においても、熱的な作用とは異なる、非熱的な生物影響について追究することと

する。本研究では脳を対象とするが携帯電話の使用時は頭部近傍に携帯端末を保持して使用することから、脳への影響を多面から詳細に検討することは重要である。その中でも脳の血液脳関門、及び血液髄液関門に対する影響の有無については現在、研究者の間で議論が別れており、またそれを明らかにすることは重要である。本研究では実験動物のラットを用いて電磁界曝露による脳関門への影響を明らかにすることを目的とする。本分担研究では、工学班によって評価された電磁界放射アンテナを用いて、脳に電磁界曝露を行い、生理学的側面から影響を評価することとする。影響の評価方法としては、ラットに電磁界曝露を行いながら脳髄液を連続的に採取し、脳髄液中の蛋白質の定量化を行い、曝露による脳髄液中の蛋白質濃度変化を調べることで、電磁界曝露中のバリアの機能を検証することとする。本年度は構築された計測システムを用いて、成熟ラット（8～10週齢）と幼若ラット（5～6週齢）を用いて、短時間（30分間）の急性曝露を行い、その影響を調べた。

B. 研究方法

実験動物

本研究の遂行にあたっては、動物実験に関する政府指針及び学会等のガイドラインを遵守して行った。実験は、成熟を対象とする実験の場合は、手術の時点で8～10週齢、幼若を対象とする場合は5～6週齢の雄性SPF-SDラット（東京実験動物）を用いた。カニューレ装着後のラットは個別のケージにて飼育し、餌と水は自由摂取とした。実験期間中の飼育

及び全ての実験は、室温 23 ± 1 °C に制御されたバリア領域で行い、室内照明によって 12 時間毎の明暗自動調節を行い、手術並びに実験は、明期に行った。

バリア透過性観察システム

本研究においては、バリア透過性の定量にマイクロダイアリス分析システム（エイコム株式会社、ニューロペプチドダイアリスサンプリングシステム EPPS-10）を使用した。本システムの概要を示した（図 1）。なお、蛍光の検出のため、蛍光分光光度計 FP6500（日本分光）を利用し、オプションとして微量サンプル測定用のマイクロフローセルを光度計に設置した。また連続的に蛍光を測定すると、退光の問題が生じるため、計測は 2 分おきに 1 回の計測になるようソフトウェアレベルで制御をおこなった。

カニューレ装着

カニューレの手術はすでに報告されている方法によっておこなった。以下にその詳細について述べる。

ラットに ketamine hydrochloride / xylazine hydrochloride カクテル液(10:1, 100mg/kg, いずれも Sigma Chemical Co.) の筋注により麻酔する。

脳定位固定装置（ナリシゲ）にラットを伏臥位におき装置にしっかりと固定する。頭部を鼻部から後頭部まで正中切開し、術野を確保する。次に、頭骨の上を覆っている膜を眼科用ハサミで切除し頭骨を露出させる。前部は臭球の上、後部は小脳の後ろまで露出し脱脂綿などで出血した血を止血する。
アンカー用のネジ（PEEK 製アンカーピ

ス、AN-3PEEK, エイコム）を臭球の上（正中を外すようにする）、ラムダの前部に左右 2 カ所の計 3 カ所に埋め込む。なおビスの埋め込みに際しては、0.5mm のドリルチップをつけた精密ドリル（UC200：浦和工業）で予め小穴を開けておく。成熟ラットの場合は Bregma から caudal（縦）0.8mm、lateral 1.3mm、ventral 3.0mm の位置に、また幼若ラットの場合は Bregma から caudal 0.8mm、lateral 1.3mm、ventral 2.7mm の位置にガイドカニューラ（NG-8FS、エイコム）を埋め込む。ガイドカニューラはデンタルセメントでその回りを固める。この際にデンタルセメントはアンカーネジを覆うようにカニューラのネジ山の部分まで盛り上げるようにする。ダミーカニューラ（ND-8、エイコム）をガイドカニューラに入れ、キャップナット（AC-1、エイコム）をかぶせる。手術は、実験の 3 日前までに行った。

手術に使用したカニューレ部品を図 2 に示した。これらは、いずれも電磁界曝露による電界の集中を最小限にするために、非金属製のものをを用いた。手術を完了しカニューレを装着したラットの頭部を図 3 に示した。また、カニューレの挿入部位の概念図を図 4 に示した。ここに示すとおり、カニューレの先端が側脳室内に入るよう、深さ方向に正確にカニューレを挿入する必要がある。

電磁界曝露装置および曝露条件

電磁界曝露については、本報告書の工学班によって報告されている装置を用いた。装置は 8 の字ループアンテナ、シグナルジェネレーター、パワーアンプより

構成され、実験は電磁界シールドルーム内で行った。図5に8の字ループアンテナを示す。本研究においては、ループアンテナより周波数 1.5GHz (PDC 方式)の電磁界をラット頭部へ30分間照射した。使用した電磁界強度は、頭部平均 SAR で 2, 7.5, 35 W/kg とした。なお、麻酔下の動物の体温低下を防止するため、温度を 37°C に保った温水をプレート内で循環させその上にラットを保定してすべての実験をおこなった。また、曝露と同一の操作は行うが電磁界曝露をしないラットを偽曝露群とした。

ラットには、曝露の直前に 2%(w/v)の FITC-albumin (Sigma Chemical) を 100ul/kg body weight で尾静脈から注射した。その後カニユーレを Push-Pull ポンプに装着して流速 1ul/min の速度で人工脳髄液 (CSF) を流した。また、曝露 (偽曝露) は 30 分間行い、曝露 (偽曝露) 終了後、カニユーレをラインを保ったまま動物から外し、CSF に浸し、その後 150 分間に亘り、Push-Pull ポンプを作動させた。実験のプロトコルを図6に簡便に示す。

本実験における CSF の濃度は以下の通りに調整し、十分に脱気したものを使用した。

NaCl	133.5mM
KCl	3.2mM
MgCl ₂	1.33mM
NaHCO ₃	24.5mM
CaCl ₂ /2H ₂ O	1.5mM
Glucose	3.3mM.

灌流固定 (in vivo) 並びに凍結標本の作製

曝露操作の終了後に、0.1%(w/v)のエバンスブルー溶液を 2ul カニユーレより注入し、5分後に全身灌流固定を行った。灌流固定は、ヘパリンナトリウム含有生理食塩水で全身の血液を脱血したのちに、4%ホルムアルデヒド-リン酸緩衝液で固定した。固定した後に、脳を摘出し、その後 10%ショ糖液、30%ショ糖液に順次置換をおこなった。

凍結標本の作製にあたっては、ショ糖液に置換したサンプルを O.C.T.compound (Tissue Tek, Sakura finetechnical Co.)で包埋し、凍結切片作製機 (CM1850 LEICA) にて厚さ 10 μm の切片を作製した。

温度計測

アンテナの出力によって脳室の温度がどの程度上昇するかを検証するために、ファイバー温度計を用いて、曝露中の温度計測を行った。方法としては、カニユーレを装着していないラットに麻酔の処置を施し、カニユーレを挿入する部位と同じ場所に精密ドリルで小さな穴を開けた。その穴にファイバー温度計のファイバーを挿入し、深さ方向約 3 mm のところにファイバー温度計の先端が固定されるようにした。

ラットは通常の曝露と同様に保定され、曝露中の温度を 1 秒毎に測定した。

C. 結果

検出装置の構築とその基礎特性

昨年度の検討において FITC-albumin の検出においては励起波長 491nm、蛍光

波長 520nm に固定すると極大蛍光がみられたので、本年度も同一の波長にて測定した。

FITC-albumin の濃度と蛍光強度の相関を調べる目的で、様々な濃度の FITC-albumin 溶液をマイクロフローセルに流して、蛍光強度との関係を調べた。その結果、図 7 に示すとおり、FITC-albumin 濃度と蛍光強度は強い相関を持つことが示され、試料中の蛍光強度は FITC-albumin 濃度を反映するものと考えられた。

コントロール実験

カニューレを装着したラットを、麻酔下で保定し、Push-Pull ポンプによる灌流を行った。その典型例を示した(図 8)。カニューレを装着し Push-Pull ポンプを流速 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ で作動させるとカニューレから蛍光検出部までの管内の容量が 75 μl であるため、回収される脳髄液が検出部で観察されるのは、始動から 75 分後からということになる。また、カニューレを 30 分後に外すため、脳髄液が検出器に入ってくるのは原理的には始動から 75 分から 105 分の間であるが、蛍光検出器のマイクロフローセルユニットの容量が 15 μl であること、管径が狭く灌流液(髄液)と管との間の相互作用が働くことなど考慮すると、検出器で検出される蛍光はより幅広い時間帯に観察される。そこで本研究では、ポンプの始動から 180 分までを観察することとした。始動から 75 分を過ぎると、若干の蛍光値の上昇が見られるが、これは脳髄液に微量の FITC-Albumin が漏出してきているためだと考えられた。なお、連続的に蛍光を測定すると、退光の問題が生じるため、計測

は 2 分おきに 1 回の計測になるようソフトウェアレベルで制御をおこなった。

また、カニューレを外したラットにエバンスブルー液を注入し、即時に灌流固定を行った脳の凍結切片を作成し、カニューレが正しく目的とする側脳室に入っているかどうかを確認した。凍結切片の一例を図 9 に示す。この例においては、脳の実質が青く染まっていないこと、切片中でエバンスブルーによって青く染まっている部分と側脳室の部位が一致すること、また注入されたエバンスブルーが脳室間を移動して第 3 脳室などでも見られることから、カニューレが正しく側脳室に挿入されていたことが推測される。

電磁界急性曝露実験

図 6 の実験プロトコールに従って、電磁界曝露を行った。本研究においては、脳局所 SAR が 2, 7.5, 35W/kg の 3 条件で、30 分間の連続曝露を行った。また、ラットは、成熟条件として 8~10 週齢、幼若条件として 5~6 週齢のものをを用いた。成熟条件での結果を図 10 に、幼若条件の結果を図 11 に示した。この結果においては、曝露をしたものの、固定凍結切片の結果から正しく側脳室にカニューレが挿入されていないものや、ポンプによる灌流中に輸液管が何らかの理由で詰まってシグナルが乱れたものを除いてあり測定個体数は各グラフに示してありとおりである。

条件の設定により、蛍光のピークの位置にややずれがあるが、全体の傾向として sham 群ならびに曝露群の双方において、75 分から蛍光強度の一過性の上昇が見られ、脳髄液に若干の蛍光物質が含ま

れることが示唆された。しかしながら、このレベルを考えると非常に低レベルであり、sham 群でも同程度の蛍光シグナルが見られることから、常態生理的条件として問題ないと考えることができる。

また、カニューレを挿入する代わりにファイバー温度計の先端が脳室内にあるような条件で、曝露中の脳室内の温度の変化を調べた。その結果を図 12 に示した。図 12 は幼若ラットを用いた結果であるが、最大入力で、局所 SAR35W/kg を入力しても顕著な温度上昇は見られなかった。このことは、熱的な影響を排除されている条件下で実験が行われたことをしめしている。図 13 は同様な温度測定の結果であるが、成熟ラットで平成 15 年度に使用したループアンテナと今年度使用した 8 の字ループアンテナの比較である。どちらのアンテナも SAR35W/kg での入射ではあるが、ループアンテナは脳平均 SAR であるのに対して、8 の字ループアンテナでは脳表面に限定した平均 SAR 値である。従ってループアンテナでは、照射開始後 8 分で約 2 度の温度上昇が見られたが、8 の字ループアンテナではそのような上昇は見られなかった。平成 15 年度の研究においては本年度使用したアンテナではない別のアンテナを使用して 35W/kg という条件で、蛍光の漏出が見られた例があったが、これは曝露による温度上昇が原因となりバリア機能に影響があったものと考えられる。

D. 考察

電磁界が人々の健康を害するのではないかという電磁界の健康リスクについては大きな社会的関心が持たれている。近

年では高圧送電線や電気機器から発生する超低周波（特に商用周波数：50～60 ヘルツ）だけでなく、携帯電話等で用いられている高周波（マイクロ波）の議論が国際的に取り上げられている。

電子レンジなどに代表されるように、マイクロ波は高いレベルで生体に曝露されるとエネルギーが組織に吸収されて熱に変換される。これらの熱作用については以前より多くの研究が行われており、現在の国際非電離放射線防護委員会（ICNIRP）によって推奨されているガイドラインも主に、熱作用に基づいて設定されている。しかしながら、非熱作用についての研究はまだ例が少なく、確定した作用は認められておらず、これまでの動物実験の結果は携帯電話で用いられている程度のレベルでは急性、慢性影響とも認められていない。

このような背景をもとに、WHO 国際電磁界プロジェクトでは、2003 年に WHO research agenda for radio frequency fields（WHO 高周波(RF)電磁界の研究課題 <http://www.who.int/peh-emf/research/rf03/en/print.html>）を発表し、RF 電磁界に関して、疫学、ヒトの実験的研究、動物の実験的研究、in vitro での組織、細胞、無細胞を用いた研究の各分野で行われるべき優先的な研究課題を示した。その中で至急行われるべき研究として、動物を用いた血液脳関門の透過性に関する研究が挙げられている。

血液脳関門に関する研究ではこれまでに、いくつかの報告があり、ポジティブとネガティブな相反する結果が報告されている。スウェーデンルンド大学の Salford らは微弱なマイクロ波がラット

の脳に影響を与える可能性を示唆する報告を行っている。この研究は、幼若ラットに高周波磁界を2時間曝露し、50日後に脳を調べると、血液脳関門の透過性が高まっていることを示した。計算による曝露条件は、全身平均 SAR で、2, 20, 200mW/kg であり、これらが透過性との量反応関係を示すことを示唆した。彼らの行った SAR 算出法については、専門家からの異論もあり、かつ2時間の曝露の後に、50日間の空白期間があることから、血管の透過性が仮に認められたとしてもその結果はあまりにも限定的であり、電磁界曝露との因果関係については疑問点も多い。

また、最近フランスの Aubineau らは、ループアンテナを用いて電磁界の脳への局所曝露実験を行い、血液脳関門透過性亢進と SAR 並びに曝露時間の組み合わせについて曝露後の屠殺した動物から摘出した脳を用いて免疫組織化学的手法をもちいた結果を報告した。彼らの結果によれば、透過性の認められるいき値として、0.75W/kg で2時間、または3.0W/kg で40分であるとしている。Salford らの実験同様、免疫組織化学的手法は多くの研究者によって利用されているが、ポジティブな結果を報告しているのは、上に述べた2つの報告のみで、そのほかの研究ではおおむねネガティブな結果である。たとえば、Tsurita らは、ラットに1439MHz の TDMA 変調波を1日あたり1時間、脳局所 SAR 2 W/kg の強度で、2週ないし4週の連続曝露をおこなったが、脳内の血管透過性ならびに脳の形態に影響を及ぼさないことを示している。

血液脳関門はイオンや有機物あるいは

血球成分が血液から脳組織へ移行するのを防御する選択的機構を持つ毛細血管で連続した内皮細胞層がタイトジャンクションを形成して組織されている。血液脳関門の透過性が亢進する例としては、リポ多糖 (lipopolysaccharide) を末梢投与した場合や、脳虚血を起こした場合、などが知られている。病態的には、中枢神経系の感染症及び脱髄性疾患である多発性硬化症の症例について、液中のアルブミン濃度の上昇が見られ、疾患との関連が報告されている。またかん発作時に脳関門が一過性に影響を受けている可能性も指摘されており、脳関門が脳の保護ならびに生体の恒常性の維持に重要な役割を担っていることが考えられる。

血液脳関門の機能を議論する際には、一般的に、主要血漿蛋白質の一つであるアルブミンの透過度が一つの指標になる。血液脳関門は脳の内部環境を維持するために血液を流れる物質の脳組織への移行を制限しており、常態生理下では血漿の蛋白質成分の脳間質液への移行も制限されている。脳室とクモ膜下腔を満たしている脳髄液も関門を通じて産生され、脳髄液と脳間質液は相互交換が起こることといわれている。このことから、脳髄液と脳間質液は生理的に同質であり、血漿との大きな違いとして脳関門による選択的な物質透過があるため、脳髄液中の総蛋白質濃度は血漿の0.5%以下と少ない。Felgenhauer の報告によればアルブミンは血漿蛋白質中の約70%をしめ、血漿/髄液比は236であり、血液-髄液間のバリア機能により、その移行は著しく制限されている。このことから脳髄液（あるいは細胞間液）のアルブミン濃度はバリ

ア機能の正常性を示す指標として用いることができる。しかしながら脳髄液成分は生成と吸収により常に入れ替わるため、脳髄液中の成分分析を行うためには、脳室内脳髄液をリアルタイムにモニタリング可能なシステムを用いることが必須である。これらの条件を満たす解析方法として本研究では、プッシュプルポンプを用いるマイクロダイアリス方法を検討した。プッシュプルの原理は様々な臓器で応用されているが、脳に関しては、これまでに脳髄液の産生速度などを決定する研究に応用されている。マイクロダイアリスはモノアミンやアミノ酸、アセチルコリンなど低分子の活性物質については、きわめて良いデータを得ることができるが、ペプチド・蛋白など分子量が大きい物質については透過率が低くそのサンプリングは難しいと言われている。また従来のプッシュプルサンプリング法は送液ポンプの精度等に問題が認められていた。本研究で用いたニューロペプチドダイアリスサンプリングシステムは、ガスタイトシリンジを用いた高精度のプッシュプルポンプとサンプリングのためのバルブ式サンプリングユニット、並びに試料分注のフラクションコレクタから構成されている。本分析システムを用いることにより、目的部位に挿入したカニューレより連続的に必要量の試料液を一定速度で採取することができる。本研究では側脳室にカニューレを埋め込み人工髄液を超低速で注入することにより脳内圧を一定に保ちながら脳髄液を採取した。本研究では、脳髄液中の蛍光分子 FITC-Albumin の検出のために、蛍光色素を高感度で検出可能な分光蛍光光度計

FP6500 (日本分光) を接続し、さらに検出部ではセル容量 15 μ l のマイクロフローセルユニットを配置し、微量でかつ、高感度に検出することを目的とした。この方法はラットの脳に埋め込んだプッシュプルカニューレに加圧減圧を施し、連続的に局所パーフュージョンを行うシステムである。カニューレ及び固定するガイドカニューレ等は一般的には金属製であるが、電磁界曝露の際の発熱を避けるためメーカーと協議を重ね、フューズドシリカ及びプラスチック素材等の絶縁体で特別に作製した。カニューレはあらかじめ手術によりラットの脳室内に埋め込んだ。カニューレには入路と出路の 2 系統の管があり、入路からは人工脳髄液を加圧注入し、出路からは脳髄液を回収した。出路側はマイクロフローセルを取り付けた蛍光検出器に接続し、血液中の蛍光標識アルブミン (FITC-labeled Albumin) を高感度で検出できるように設定した。偽曝露条件下で、検出器の設定を最適化し、次に上記の 8 の字ループアンテナを用いて、30 分間連続曝露による急性曝露影響を図 6 の実験プロトコールにしたがって検討した。本研究においては、携帯電話の使用を模した条件をラットで再現できる 8 の字ループアンテナを使用し、かつ成熟ラットだけでなく成長過程にある幼若なラットを使用して、脳局所 SAR が 2, 7.5, 35W/kg の 3 条件で、30 分間の連続曝露を行いその急性影響を検討した。図 10 に成熟ラットの結果を、また図 11 に幼若ラットの結果を示したが、顕著な FITC-Albumin の漏出は見られず、本条件下においては曝露の顕著な影響は見られなかった。

本研究では曝露中の脳室内の温度の変化についても調べた(図 12)。最大入力で、局所 SAR35W/kg を入力しても顕著な温度上昇は見られなかったため、本研究では熱的な影響を排除されている条件下で実験が行われたことがわかる。また、平成 15 年度に使用したループアンテナと今年度使用した 8 の字ループアンテナの熱的な反応の比較もおこなった(図 13)。どちらのアンテナも SAR35W/kg での入射ではあるが、ループアンテナは脳平均 SAR であるのに対して、8 の字ループアンテナでは脳表面に限定した平均 SAR 値であった。したがってループアンテナでは、照射開始後 8 分で約 2 度の温度上昇が見られたが、8 の字ループアンテナではそのような上昇は見られなかった。平成 15 年度の研究においては本年度使用したアンテナではない別のアンテナを使用して 35W/kg という条件で、蛍光の漏出が見られた例があったが、これは曝露による温度上昇が原因となりバリア機能に影響があったものと考えられる。

以上をまとめると、今年度は幼若ラット、成熟ラットともに、最大で局所 SAR で 35W/kg の入射で 30 分間の連続曝露を行ったが、影響は見られなかった。単一の曝露条件であったことや、アンテナとカニューレの相互作用については検討できなかったためさらなる詳細な検討は必要である。またこれまで多くの報告で用いられている免疫組織染色による検討についても同時に行う必要があり現在検討を進めている。

E. 結論

脳におけるバリア機能のリアルタイム計測のために、蛍光検出器を組み込んだダイアリススサンプリング法を用いて検討を行った。

今年度は脳の均一曝露の観点から、用いるアンテナを 8 の字ループアンテナに変更し、動物実験では曝露を行いながら脳髄液のサンプリングを行い、成熟ラットに対する短時間曝露の影響についてその曝露時間内の変化に注目した。また、幼若段階で脳関門が影響を受けやすいか否かを検討するため、幼若ラットを用いて短時間の曝露実験を行った。脳表面の平均 SAR で、2 W/kg, 7.5W/kg, 35W/kg の曝露条件で 30 分間の連続曝露を行った際の急性影響を検討した。その結果、本実験条件下ではバリア機能への影響は見られなかった。

F. 謝辞

本研究の遂行にあたり、研究補助をしていただいた廣田彰吾さん、佐々木律子さん、鈴木佳子さん、高橋美雪さんに感謝致します。

G. 参考文献

総務省 電波防護指針(諮問第 89 号「電磁界利用における人体防護のあり方」)平成 9 年

Tsurita G, Nagawa H, Ueno S, Watanabe S, Taki M. Biological and morphological effects on the brain after exposure of rats to a 1439 MHz TDMA field. *Bioelectromagnetics* 2000 21(5):

364-71.

Salford LG, Brun AE, Eberhardt JL, Malmgren L, Persson BR. Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones. *Environ Health Perspect.* 2003; 111(7) :881-3.

Finnie JW, Blumbergs PC, Manavis J, Utteridge TD, Gebiski V, Swift JG, Vernon-Roberts B and Kuchel TR: Effect of global system for mobile communication (gsm)-like radiofrequency fields on vascular permeability in mouse brain. *Pathology* 33: 338-40., 2001.

Aubineau F, Dulou PE, Haro E, Veyret B, Aubineau P. Effect of 2 hour GSM-900 microwave exposure at 2.0, 0.5, and 0.12 W/kg on plasma protein extravasation in rat brain and dura mater. 24th Annual Meeting of Bioelectromagnetics Society, Abstract Book p60 (2002)

H. 発表

Masuda H, Hirota S, Ushiyama A, Ohkubo C, Watanabe H, Wake K, et al. Intravital microscopic and histological evaluation of acute effects on the brain by local exposure to radio-frequency

electromagnetic fields in rats. Asia-Pacific Electromagnetic Field Conference; 2004 Jan 26-30 Bangkok, Thailand: Abstract book.

Ushiyama A, Suzuki Y, Hirota S, Masuda H, Taki M, Ohkubo C. Effects of continuous whole-body exposure to 50 Hz electromagnetic fields with repetitive transient magnetic fields on the intramicrovascular leukocyte behavior in mice. Asia-Pacific Radio Science Conference 2004; 2004.Aug 24-28; Qingdao, China: Abstract book p.424-426.

Masuda H, Poullietier FG, Sanchez S, Haro E, Lagroye I, Billaudel B, et al. Effect of exposure to radio frequency electromagnetic fields on cytokine-induced nitric oxide production in organ cultured rat aorta. Bioelectromagnetics Society Annual Meeting; 2004 Jun 20-24 Washington, D.C., U.S.A.: Abstract book.

Watanabe H, Wake K, Hanazawa M, Watanabe S, Masuda H, Ohkubo C, et al. Dosimetry of rat-head SAR caused by a high-performance "8"-shaped loop antenna. Bioelectromagnetics Society Annual Meeting; 2004 Jun 20-24 Washington, D.C., U.S.A.: Abstract book

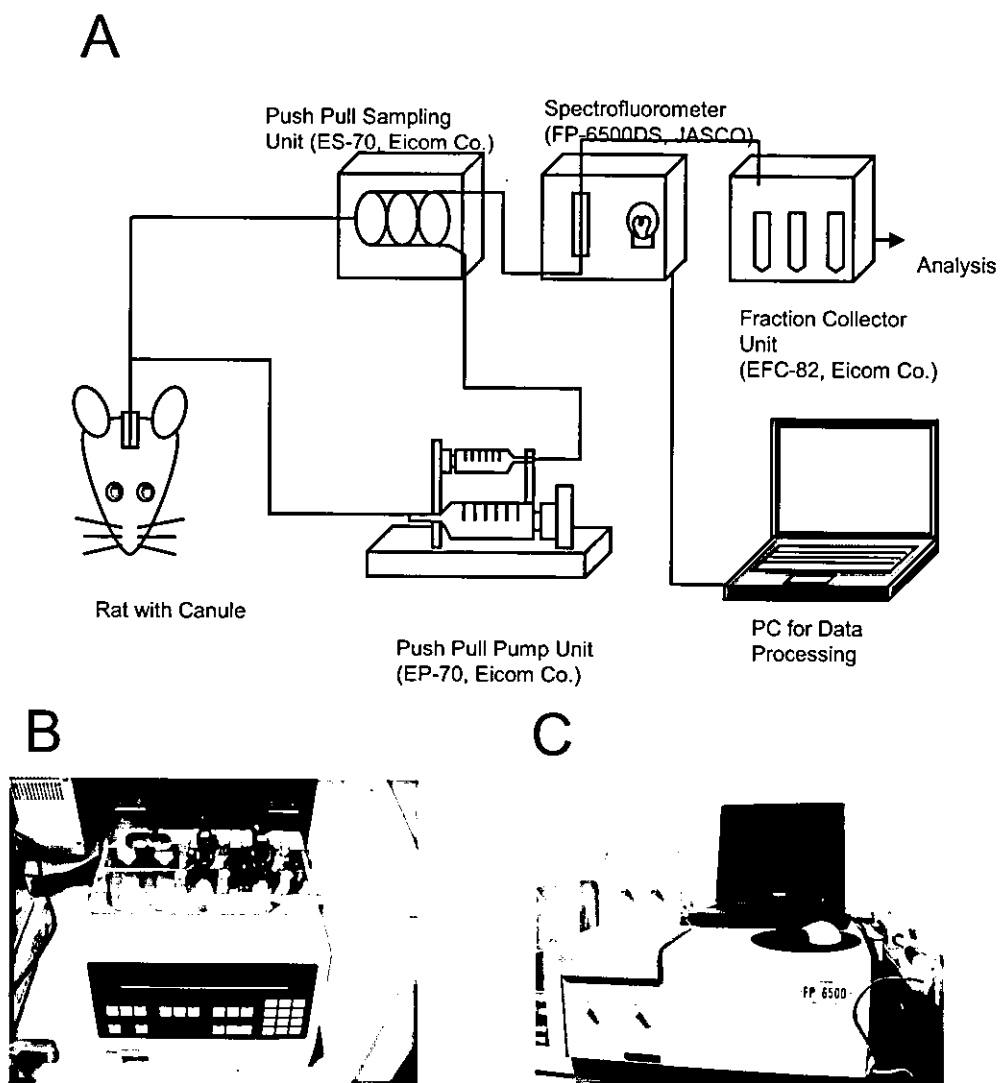


図1 計測システムの構成図および各接続機器

A 本計測システム全体の構成図。プッシュプルポンプユニットならびにサンプリングユニットを介して回収される髄液は、蛍光分析計を経てサンプリングされる。

B プッシュプルポンプユニット 左からプッシュポンプ、プルポンプ、補助プルポンプの各ポンプがある。

C 蛍光光度計とデータ記録用 PC

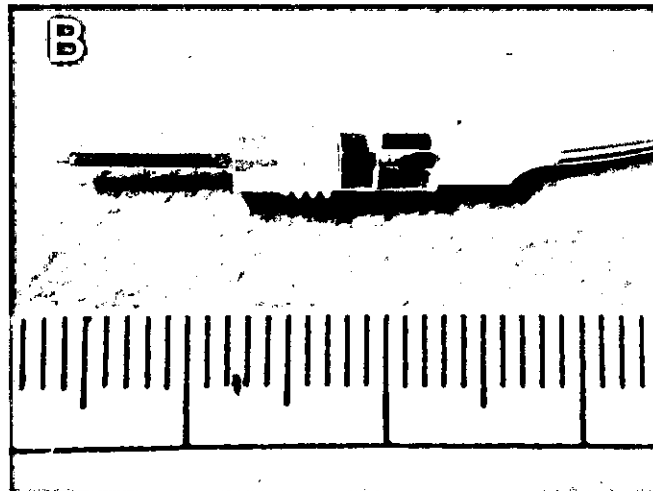
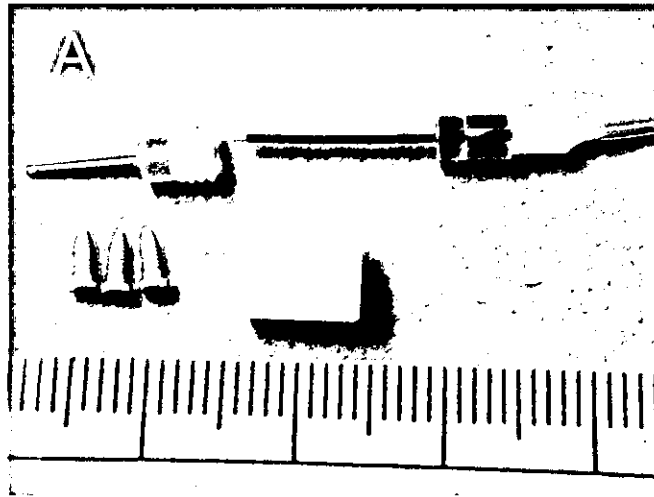


図2 脳内カニューレの各パーツ

A 1個体のカニューレ作成に必要な全パーツ（左上：ガイドカニューレ、左下：アンカービス、右上：カニューレ本体、右下：カニューレキャップ）

B カニューレ本体をガイドカニューレに挿入した図。実際の脳内では写真の形で挿入される。



図3 カニユーレを装着したラット

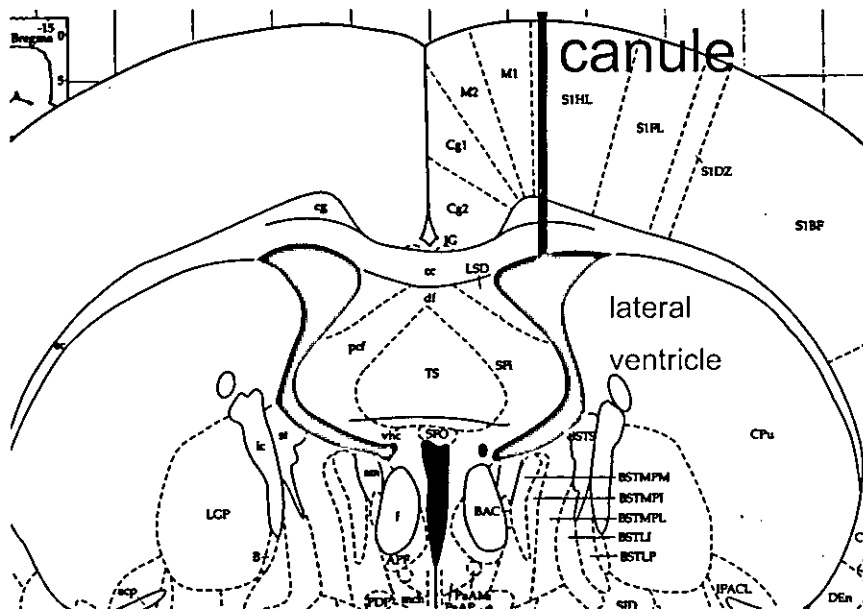


図4 カニユーレの挿入部位

本図は Bregma から後方 0.8mm の断面を示す。黒く塗りつぶしてある部分は、側脳室および、第3脳室であり、カニユーレの挿入部位は黄色い線で示したとおり、側脳室に先端が入るようにする。

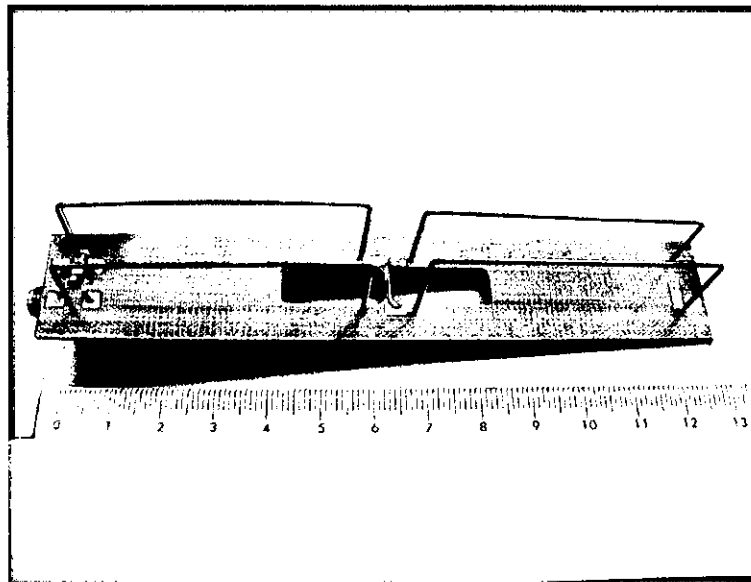


図5 カニューレを装着したラット

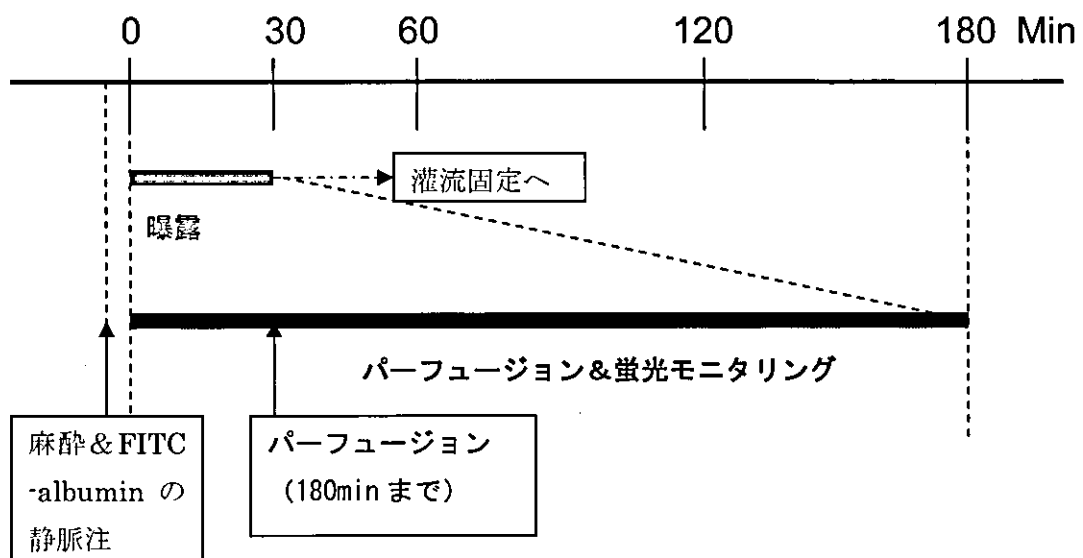


図6 曝露実験におけるプロトコール

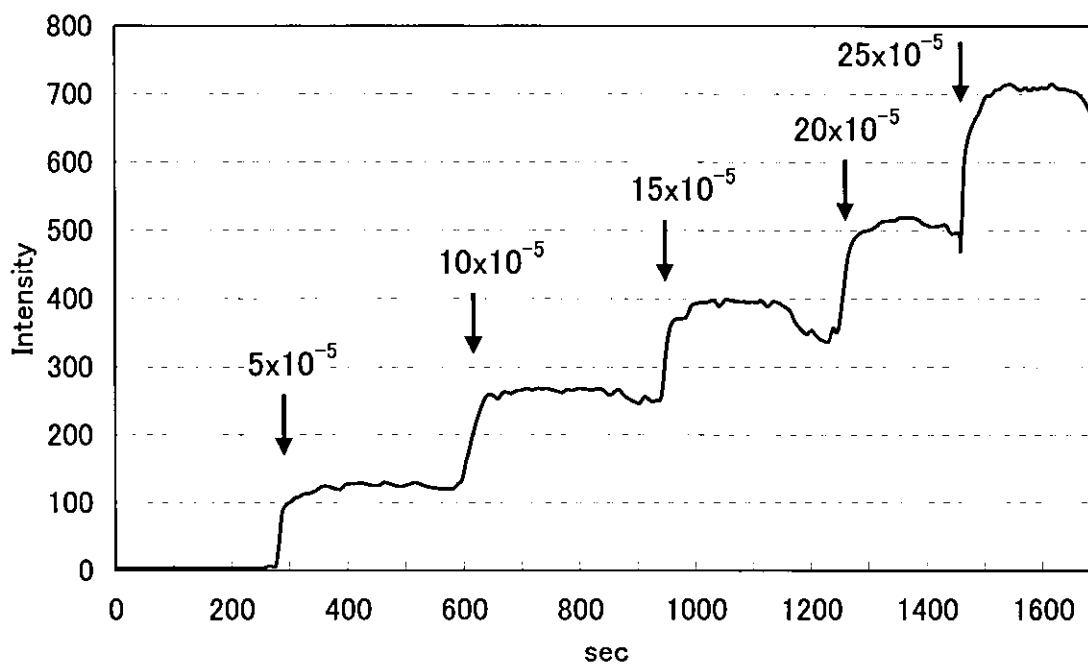


図7 FITC-Albuminの蛍光スペクトル (A) と検量線 (B)
 検量線における各プロットは平均値を示す。数値は濃度を示し、人工脳
 髄液に溶解した FITC-Albumin の濃度(w/v)%の値を示す。

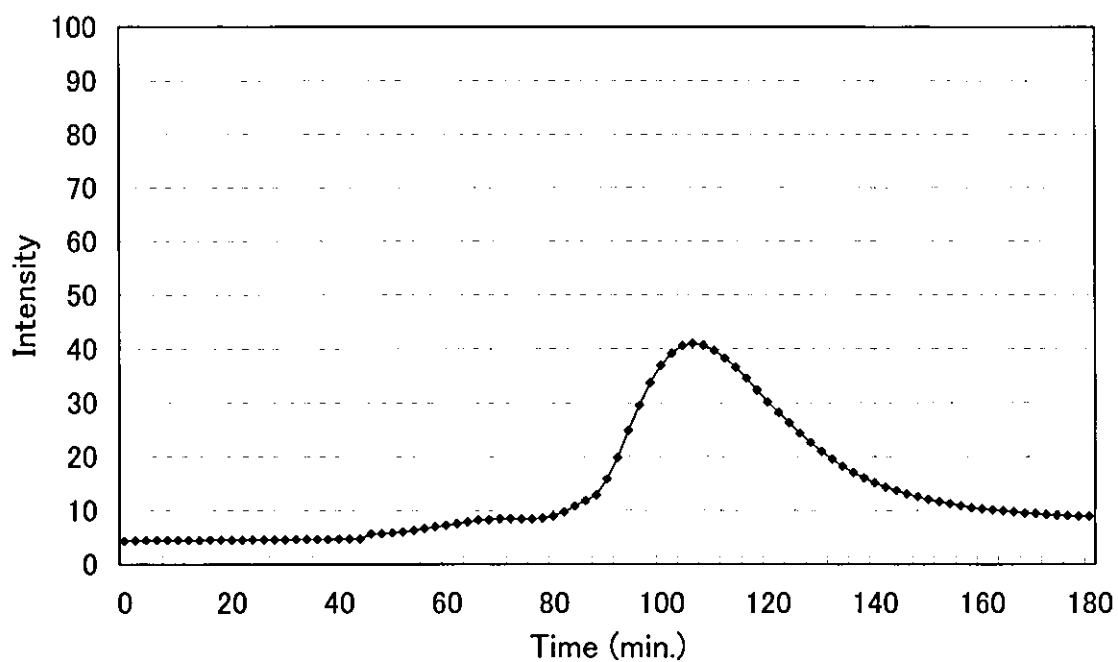


図8 Push Pull ポンプによる脳髄液灌流による溶出液の蛍光チャート
 プロトコールにしたがって灌流を行った場合の溶出チャートを示す。本
 個体には電磁界曝露を行っていない。



図9 ラット脳の灌流固定後の脳（上図）と凍結切片像（下図）
側脳室にカニューレが挿入された場合の例を示す。

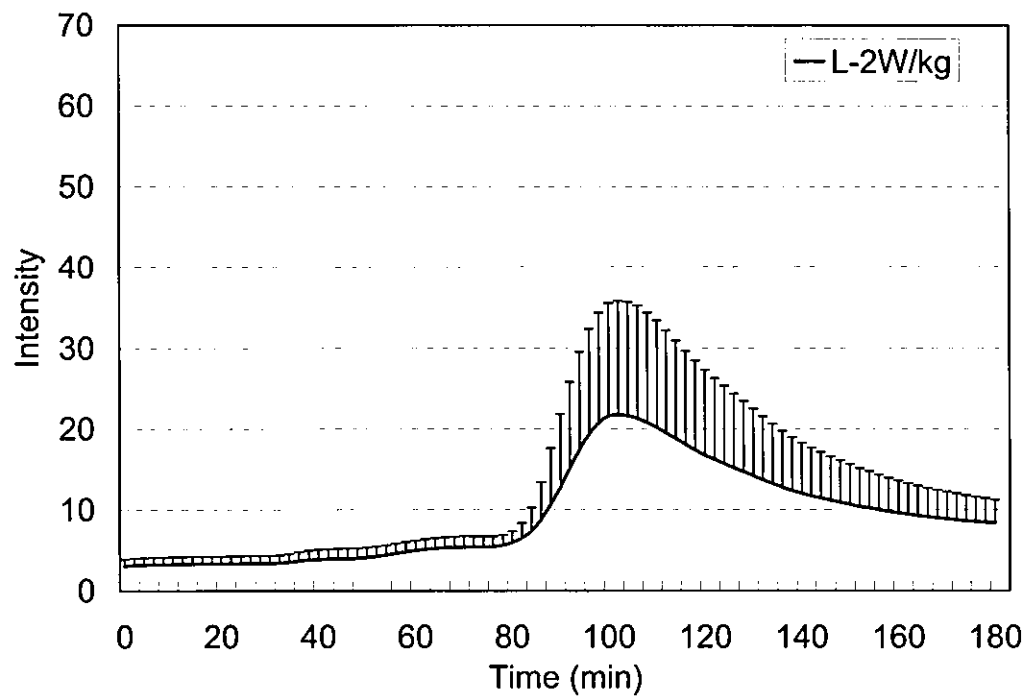
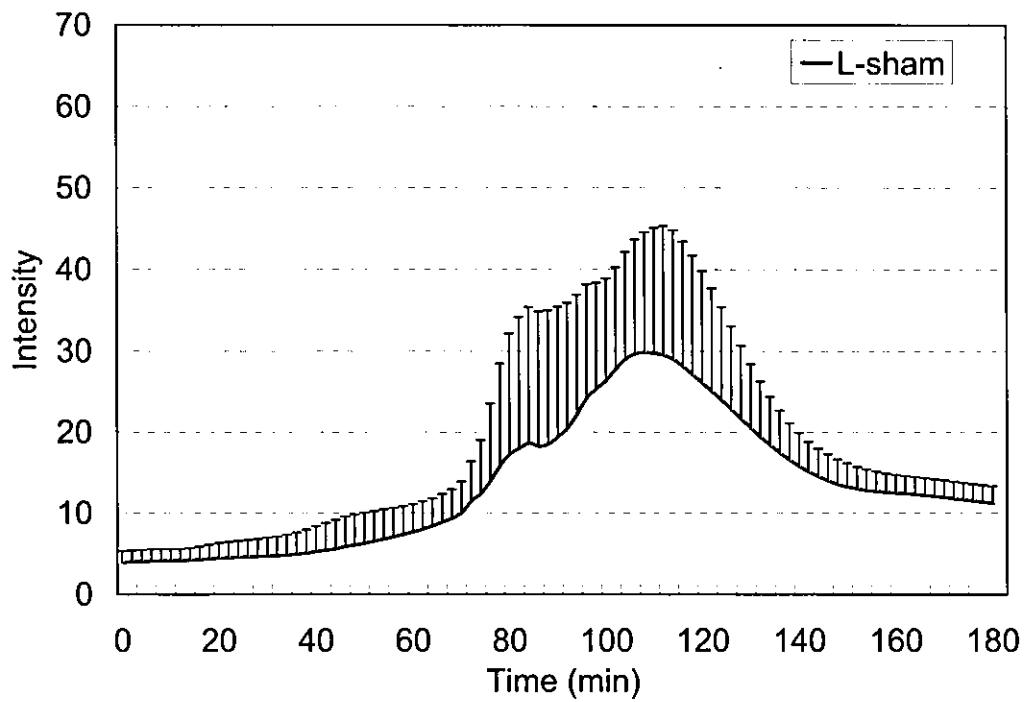


図 10-1 成熟ラットに電磁界曝露を行った際の溶出液の蛍光チャート
 上図：sham 群 (N=6)、下図：2W/kg 群 (N=9)
 (誤差範囲は SD を示す)

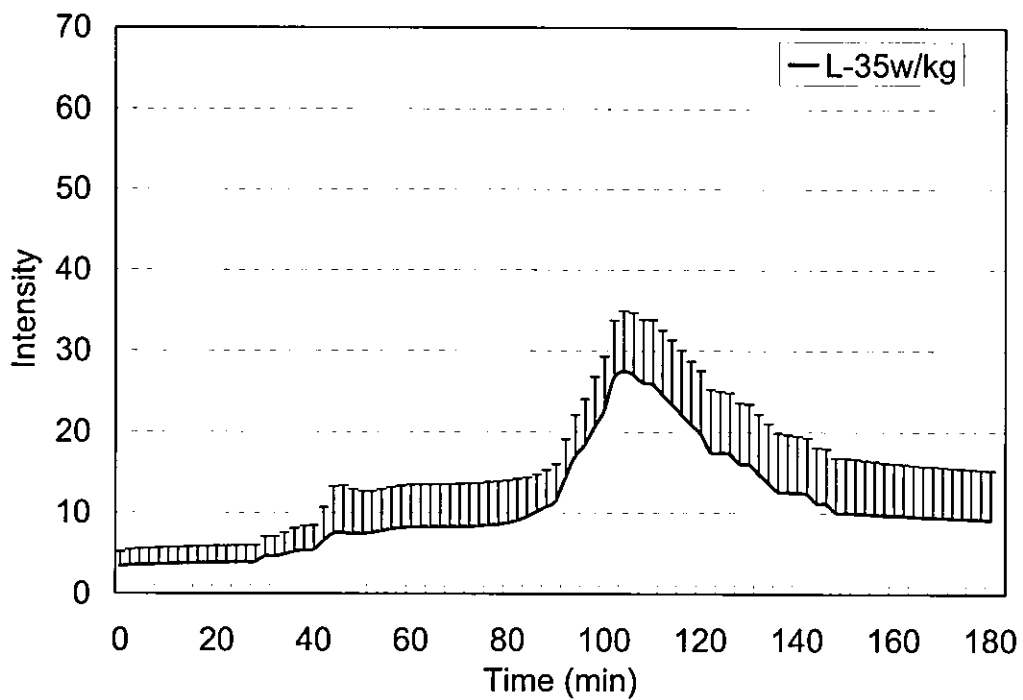
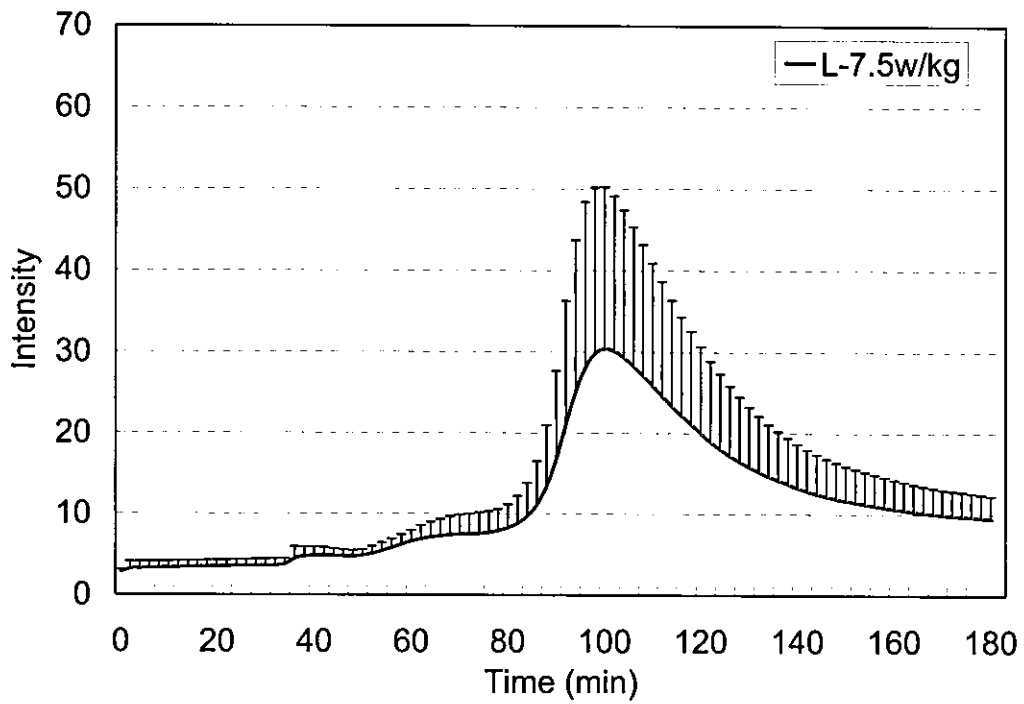


図 10-2 成熟ラットに電磁界曝露を行った際の溶出液の蛍光チャート
 上図：7.5W/kg 群 (N=7)、下図：35W/kg (N=5)
 (誤差範囲は SD を示す)

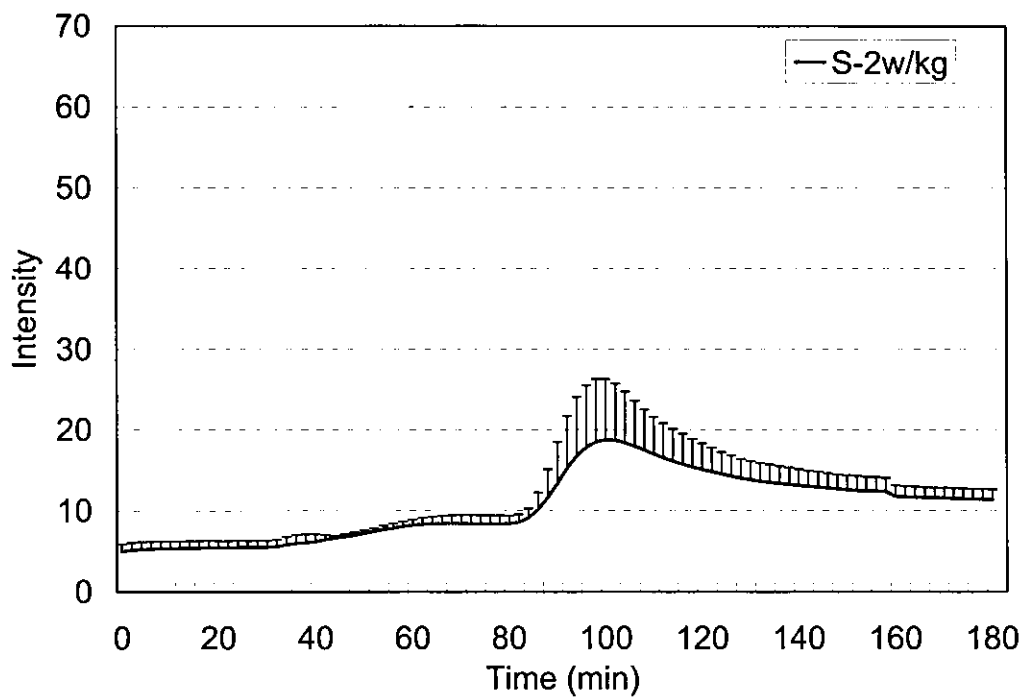
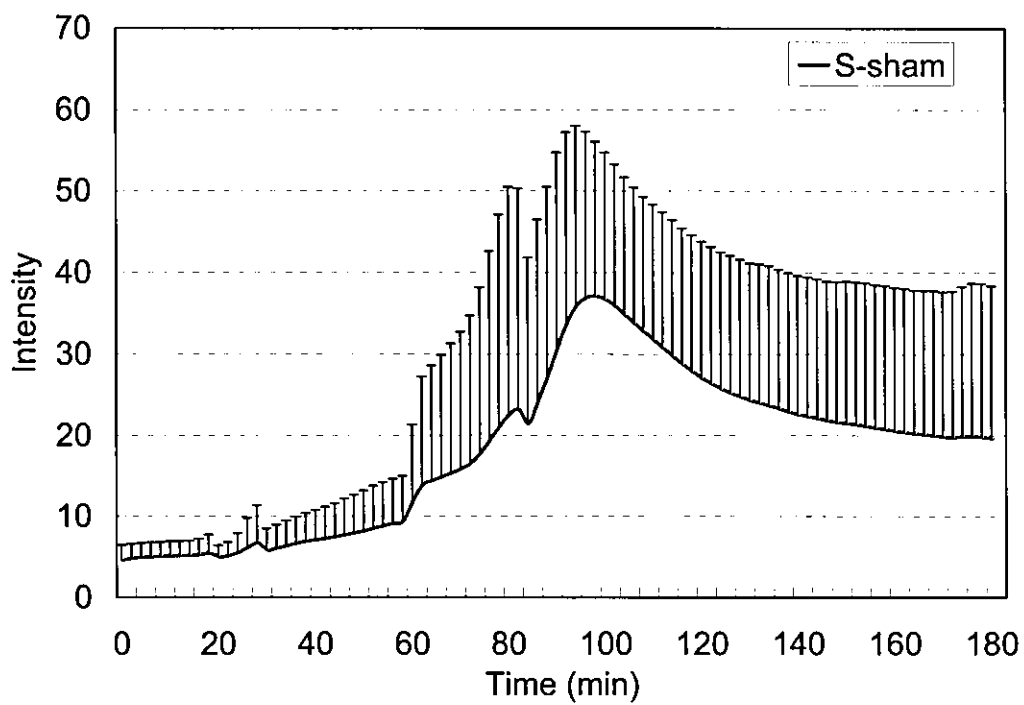


図 11-1 幼若ラットに電磁界曝露を行った際の溶出液の蛍光チャート
 上図 : sham 群 (N=5)、下図 : 2W/kg 群 (N=7)
 (誤差範囲は SD を示す)

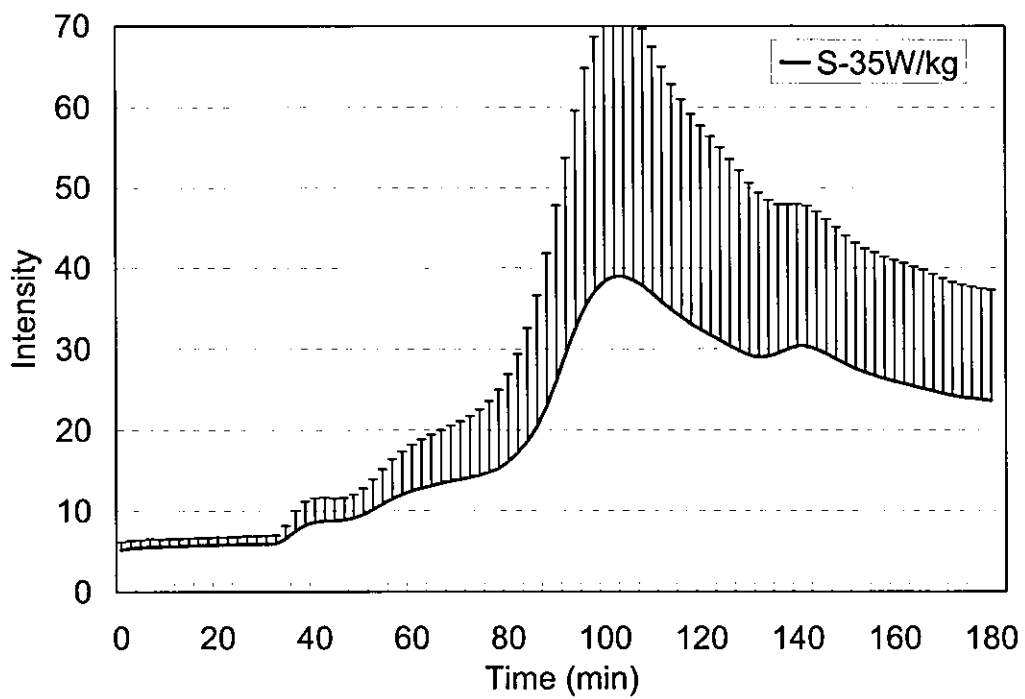
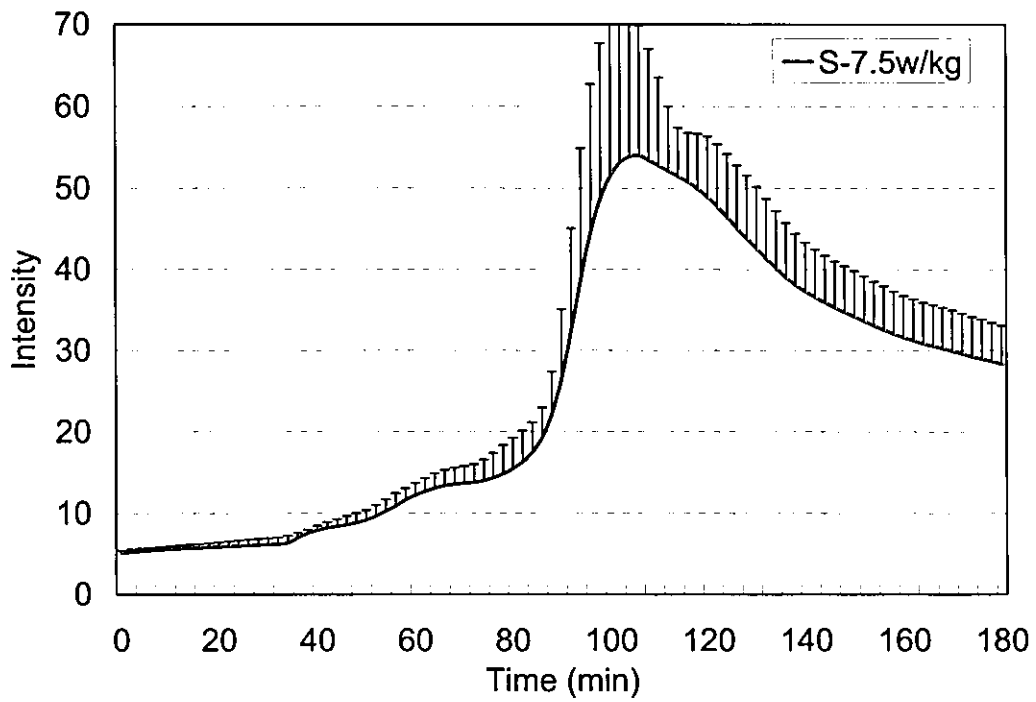


図 11-2 幼若ラットに電磁界曝露を行った際の溶出液の蛍光チャート
 上図：7.5W/kg 群 (N=6)、下図：35W/kg (N=6)
 (誤差範囲は SD を示す)

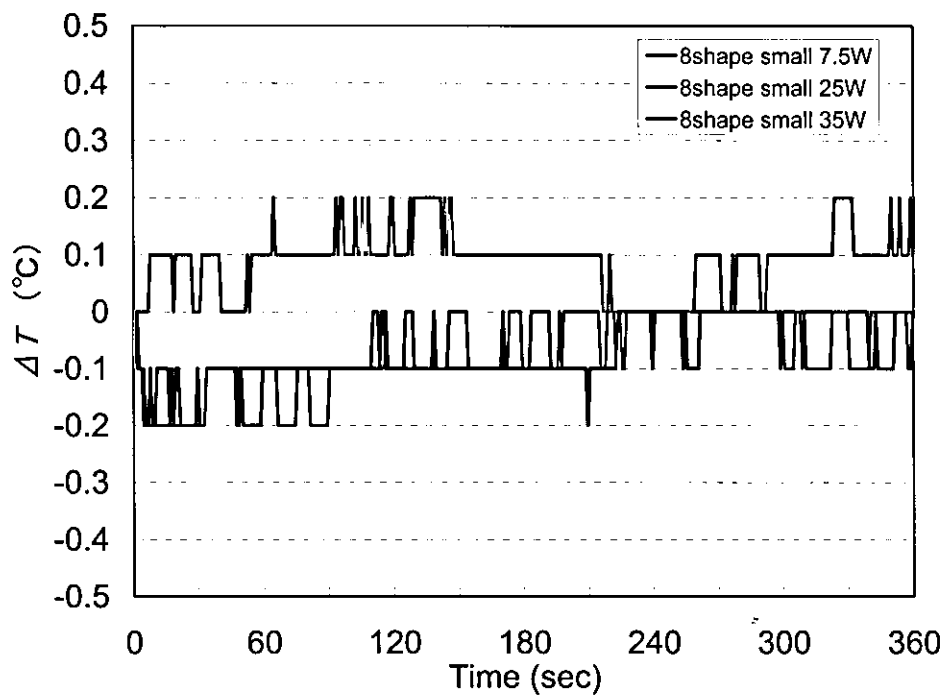


図 12 麻酔下の幼若ラットに8の字ループアンテナで曝露した際の脳室の温度変化

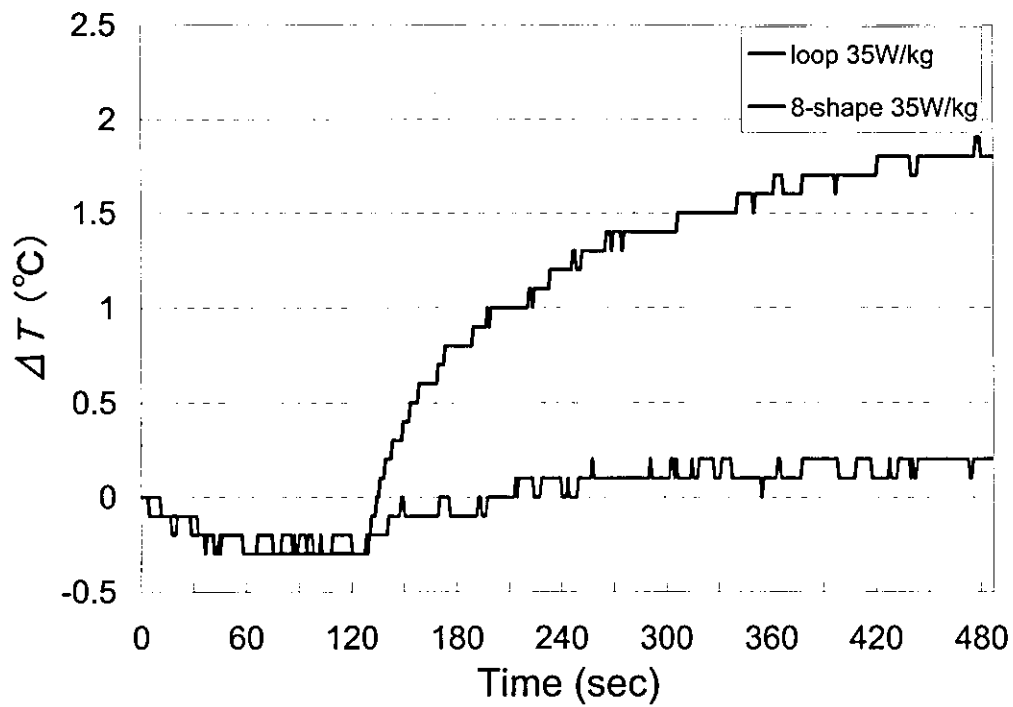


図 13 麻酔下の成熟ラットにループアンテナまたは8の字ループアンテナで曝露した際の脳室の温度変化