

- electromagnetic fields on human osteoblastlike cells (MG-63): a pilot study. *Clin Orthop Relat Res.* 2010 Aug;468(8):2260-77.
19. Söderqvist F, Hardell L, Carlberg M, Mild KH. Radiofrequency fields, transthyretin, and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2010;20(2):599-606.
20. Campisi A, Gulino M, Acquaviva R, Bellia P, Raciti G, Grasso R, Musumeci F, Vanella A, Triglia A. Reactive oxygen species levels and DNA fragmentation on astrocytes in primary culture after acute exposure to low intensity microwave electromagnetic field. *Neurosci Lett.* 2010 Mar 31;473(1):52-5
21. Gerner C, Haudek V, Schandl U, Bayer E, Gundacker N, Hutter HP, Mosgoeller W. Increased protein synthesis by cells exposed to a 1,800-MHz radio-frequency mobile phone electromagnetic field, detected by proteome profiling. *Int Arch Occup Environ Health.* 2010 Aug;83(6):691-702.
22. Reyes-Guerrero G, Guzmán C, García DE, Camacho-Arroyo I, Vázquez-García M. Extremely low-frequency electromagnetic fields differentially regulate estrogen receptor-alpha and -beta expression in the rat olfactory bulb. *Neurosci Lett.* 2010 Mar 3;471(2):109-13.
23. Hao Y, Yang X, Chen C, Yuan-Wang, Wang X, Li M, Yu Z. STAT3 signalling pathway is involved in the activation of microglia induced by 2.45 GHz electromagnetic fields. *Int J Radiat Biol.* 2010 Jan;86(1):27-36.
24. Chen J, He HC, Xia QJ, Huang LQ, Hu YJ, He CQ. Effects of pulsed electromagnetic fields on the mRNA expression of RANK and CAII in ovariectomized rat osteoclast-like cell. *Connect Tissue Res.* 2010;51(1):1-7.
25. Yang Y, Tao C, Zhao D, Li F, Zhao W, Wu H. EMF acts on rat bone marrow mesenchymal stem cells to promote differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Bioelectromagnetics.* 2010 May;31(4):277-85.
26. Amara S, Douki T, Garel C, Favier A, Sakly M, Rhouma KB, Abdelmelek H. Effects of static magnetic field exposure on antioxidative enzymes activity and DNA in rat brain. *Gen Physiol Biophys.* 2009 Sep;28(3):260-5.
27. Hintzsche H, Stopper H. Micronucleus frequency in buccal mucosa cells of mobile phone users.

Toxicol Lett. 2010 Mar 1;193(1):124-30.
Epub 2009 Dec 29.

28 Di Campli E, Di Bartolomeo S, Grande R, Di Giulio M, Cellini L. Effects of extremely low-frequency electromagnetic fields on *Helicobacter pylori* biofilm. *Curr Microbiol.* 2010 Jun;60(6):412-8.

29. Focke F, Schuermann D, Kuster N, Schär P. DNA fragmentation in human fibroblasts under extremely low frequency electromagnetic field exposure. *Mutat Res.* 2010 Jan 5;683(1-2):74-83.

30. Girgert R, Hanf V, Emons G, Gründker C. Signal transduction of the melatonin receptor MT1 is disrupted in breast cancer cells by electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics.* 2010 Apr;31(3):237-45.

31. Xu S, Zhou Z, Zhang L, Yu Z, Zhang W, Wang Y, Wang X, Li M, Chen Y, Chen C, He M, Zhang G, Zhong M. Exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation induces oxidative damage to mitochondrial DNA in primary cultured neurons. *Brain Res.* 2010 Jan 22;1311:189-96.

32. Sun LY, Hsieh DK, Lin PC, Chiu HT, Chiou TW. Pulsed electromagnetic fields accelerate proliferation and osteogenic gene expression in human bone marrow mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation. *Bioelectromagnetics.* 2010 Apr;31(3):209-19.

E. 結論

文献調査および磁場影響の考察から、日常生活で経験する電磁場での健康障害への明らかな直接的リスクは認められなかった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

学会発表

第 25 回日本生体磁気学会大会 さわやか
ちば県民プラザ

低周波磁界の妊娠マウスへの影響

堀内 新一郎, 郭 文智, 佐藤 清敏, 深津
晋, 奥野 誠, 梅景 正, 牛山 明, 村越
隆之, 久保田 俊一郎

日本生体磁気学会誌 Vol.23 No.1 July
2010(第 25 回日本生体磁気学会大会 論
文集) p.28-29.

第 25 回日本生体磁気学会大会 さわや
かちば県民プラザ

低周波磁界の神経系への影響とその機構
の解明

郭文智, 大城博矩, 堀内新一郎, 梅景正,
牛山明, 奥野誠, 深津晋, 村越隆之, 久
保田俊一郎

日本生体磁気学会誌 Vol.23 No.1 July
2010(第 25 回日本生体磁気学会大会 論
文集) p.160-161.

H. 知的財産権 なし

表1 電磁場の影響 2010.1～2010.12

著者(文献)	電磁場	サンプル	研究方法	結果
1.Mayer-Wagner S	5mT EMF	human mesenchymal stem cells (hMSCs)	軟骨細胞の分化の程度	collagen type II 発現 and glycosaminoglycan 量の増大
2.Roux D	2.6 to 73 mW/kg (900 MHz carrier frequency)	Human keratinocytes	47000 のヒト遺伝子について大規模 microarray screening	有意な変化をするgeneなし
3.Kumar G	2 W/kg 900-MHz continuous radiofrequency radiation	rats bone marrow cells	maturaton rate, proliferation rate, DNA damage of lymphocytes	有意な変化なし (rats hematopoietic system)
4.Kumar G	2 W/kg	bone marrow cells	Proliferation rate of bone marrow cells, maturation rate of erythrocytes, proliferation rate of lymphocytes, DNA damage of lymphocytes	有意な変化なし
5.Lee HM,	ELF-EMF 1.8mT	human intervertebral disc (IVD) cell	aggrecan, collagen type I, and type II mRNA expression	有意な変化なし (no cytotoxicity)
6.Heredia-Rojas JA	8 and 80 μ T, 60 Hz	plasmid	hsp70 expression (luciferase assay)	INER-37 cellsでは有意差あり、RMA E7 cell linesでは有意な変化なし
7.Garaj-Vrhovac V	microwave radiation 3 , 5.5 and 9.4 GHz	(workers occupationally ; marine radars)	濃度 (glutathione and malondialdehyde) , comet assay and micronucleus test	有意差あり (oxidative stress)
8.Yang X	ELF-EMF	N9 microglial cells	immunoreaction, RT-PCR, ELISA, western blotting	有意な誘導あり (phosphorylation of JAK2 and STAT3)
9.Emre M	ELF-EMF	male Wistar rats liver, kidney tissue	percentage of apoptotic and necrotic cells , monitoring DNA degradation using gel electrophoresis, etc	有意差あり (oxidative stress, cell death)

10. Cuccurazzu B	ELF-EMF 1mT	C57BL/6 mice	hippocampal neurogenesis	in vivo neurogenesis増加 (新たな治療法の可能性を示唆)
11. Kim J	ELF-EMF 6mT	human normal and cancer cells	apoptosis in cancer and normal cells	apoptosisの誘導を起こした
12. Collard JF,	ELF-EMF	epidermis cells	gene expression (microarray screening, real-time rPCR)	発現量の増加 (DKK1, TXNRD1, ATF3, and MME)、発現量の減少 (MACF1)
13. Jansen JH	15 Hz, 1 Gauss EM field, pulsed	human osteoprogenitor cells	Quantitative RT-PCR	mRNAの増加 (bone morphogenetic protein 2, transforming, osteoprotegerin, osteocalcin, and bone sialoprotein)
14. Sun W	ELF-MF 0.4mT	human chorionic villi	mRNA levels of apoptosis-related genes bcl-2, bax, caspase-3, p53, and fas (RT-PCR)	有意な変化なし
15. Garip AI	ELF-EMF (1mT, 50 Hz)	K562 human leukemia cell line	number of apoptotic cells	影響は細胞の状態により異なる
16. Chavdola ED	GSM-900MHz and DCS-1800MHz (Digital Cellular System) mobile phone	Drosophila melanogaster	insect's reproductive capacity	影響あり (decreases the reproductive capacity and alters the actin-cytoskeleton network of the egg chamber)
17. Ammari M	1.5 W/kg or 15 min/day	Sprague-Dawley rat brain	measuring the glial fibrillary acidic protein (GFAP) expression	増加 (GFAP levels)
18. Sollazzo V	PEMF	human osteoblastlike cells	Gene expression (DNA microarray analysis)	有意な変化あり (cell proliferation and differentiation)
19. Söderqvist F	890-MHz GSM 1.0 Watt/kg	41 persons (temporal area of the brain)	serum transthyretin (TTR)	有意な増加 (serum TTR)
20. Campisi A	10V/m 900MHz	rat neocortical astroglial cell cultures	ROS levels and DNA fragmentation	影響あり

21. Gerner C	RF-EME 2 W/kg	cultured human cells	protein synthesis	増加あり (protein synthesis in Jurkat T-cells and human fibroblasts)
22. Reyes-Guerrero G	ELF EMF	adult female and male rats	olfactory bulb estrogen receptor- α mRNA and β -casein mRNA expression	影響あり (female adult rats), 影響なし (in male rats)
23. Hao Y	2.45 GHz EMF	N9 microglial cells	protein expressions, DNA binding activity	増加 (STAT3 DNA-binding ability)、活性化 (JAK1 and JAK2) など
24. Chen J	PEMF 3.8 mT, 8 Hz	ovariectomized rat osteoclast-like cells.	mRNA expression of the receptor activator of NF- κ B and carbonic anhydrase II	有意差あり (in the marrow culture system.)
25. Yang Y,	EMF 15 Hz, 1 mT	rat bone marrow mesenchymal stem cells	mRNA expression, 酵素活性	影響あり (osteogenic or adipogenic lineages)
26. Amara S	static magnetic field 128 mT	male rat brain	antioxidative enzymes activity malondialdehyde (MDA) concentration and DNA oxidation	保護作用を示唆 (protect probably DNA against oxidative damage)
27. Hintzsche H	mobile phone use	human oral cavity's mucosa cells	microscope	有意差なし
28. Di Campli E	ELF-EMF 50Hz 1 mT	Helicobacter pylori	effect on the cell adhesion and on the mature biofilm detachment	影響あり
29. Focke F	ELF-EMF 1 mT 50 Hz	human cells	Comet assay are dependent on cell proliferation	明らかな影響なし
30. Giergert R	50 Hz EMF of 1.2 microT	breast cancer cells	Signal transduction of the melatonin receptor MT1	影響することを示唆
31. Xu S	1800 MHz radiofrequency (RF) radiation	primary cultured neurons	levels of 8-hydroxyguanine (8-OHdG), a common biomarker of DNA oxidative damage	mitochondrial DNAに影響する可能性

32.Sun LY	pulsed electromagnetic fields (PEMFs)	human bone marrow mesenchymal stem cells	cell proliferation, differentiation.	促進効果あり (cell proliferation)
-----------	---------------------------------------	--	--------------------------------------	-----------------------------

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
22年度分担研究報告書

磁界の発がんへの影響とその機構の解明
磁界の生殖機能への影響とその機構の解明

研究分担者 久保田俊一郎 東京大学大学院教授
研究分担者 深津 晋 東京大学大学院教授

研究要旨

厚生労働行政の課題として、低周波磁界曝露のヒトへの健康影響（発癌性、妊産婦とその児への影響、脳への影響）が挙げられる。本研究は、文献調査および実験的研究により、これらの課題に回答する研究である。本分担研究では、実験的研究を実施した。生活環境レベルを少し超える磁束密度の低周波磁界（50Hz, 40 μ T）およびその 10 倍の低周波磁界（50Hz, 400 μ T）の曝露は、細胞増殖、活性酸素発生、生殖能（妊娠マウスと胎児）に関して影響はないとの結果を得た。

A. 研究目的

厚生労働行政の課題として、低周波磁界（高圧送電線、家電など）曝露のヒトへの健康影響（発癌性、妊産婦と児への影響）が挙げられる。健康への影響を明らかにして（安全域を明らかにする）、漠然とした不安を解消し、あるいは、その対策をとることが求められている。低周波磁界曝露の健康影響については、発癌（1, 2）との関連が報告されている。影響はないとの報告もある（3）。妊婦への低周波磁界曝露が、先天性奇形、流産、発達異常を惹起するとの危惧もある（4）。WHOの環境保健クライテリア238（2007）では、低周波磁界の影響として、細胞増殖、細胞死、細胞悪性化（発癌性）に関しては、種々の報告に一貫性がないと記載されている（5）。WHOの国際電磁界プロジェクト

で、2007年に低周波電磁界への曝露による健康リスクに関して、環境保健クライテリア238（EHC238）を刊行した。評価対象となった文献は、商用周波（50/60Hz）磁界に関する研究であるが、細胞レベルでの実験的研究が少ないことから、本分担研究は、低周波磁界曝露による細胞増殖、細胞死、細胞悪性化に関して、実験的研究を行い、健康影響を明らかにすること、また、マウスの実験で、生殖系への影響を明らかにすることを目的とする。影響を認めた場合は、その機序を解明する。

B. 研究方法

1. 低周波磁界の細胞増殖への影響
培養細胞を用いて解析した。
培養細胞および曝露方法：種々の培養細胞、U251MG（ヒト神経膠腫）、U87MG（ヒ

ト神経膠腫), YKG-1(ヒト神経膠腫)、KP2 (ヒト睪臓癌)、LC540 (ラット精巣腫瘍細胞)、CPAE (ウシ血管内皮細胞)、NSC34 (マウス神経細胞)、HMY-1 (ヒトメラノーマ)、LK2(ヒト肺癌細胞)、U937 (ヒト白血病細胞) を低周波磁界 (50Hz, 400 μ T) に 6、12、24、48 時間曝露し、曝露時間を含めて 48 時間後に Cell Counting kit-8 (同仁化学) によって細胞数を測定して (マイクロプレートリーダーを用いて、吸光度 450nm で解析)、細胞死あるいは細胞増殖効果を triplicate で解析した。

5 % 炭酸ガスインキュベーター内に設置した低周波磁界発生装置に 9 6 穴ディッシュを静置し、細胞を低周波磁界に曝露した。

2. 低周波磁界の活性酸素発生への影響

種々の培養細胞、U251MG(ヒト神経膠腫)、U87MG(ヒト神経膠腫)、YKG-1(ヒト神経膠腫)、E10 (ヒト中皮腫) (愛媛大学医学部内科 濱田泰伸博士よりご供与)、LC540 (ラット精巣腫瘍細胞)、NSC34 (マウス神経細胞)、HMY-1 (ヒトメラノーマ)、LK2(ヒト肺癌細胞)、U937 (ヒト白血病細胞) を低周波磁界 (50Hz, 400 μ T) に 15 分間曝露し、細胞外へ放出された過酸化水素発生を解析した。細胞 2×10^6 を播種し、細胞接着後、PBS 3ml に培養液を交換後、磁界に曝露した。過酸化水素は、Luminol を基質として (PBS 0.5ml + 5.6mM Luminol / 5% NaOH)、ルミノメーター (ATTO Luminescencer 2200) を用いて、測定した。

3. 低周波磁界の生殖系への影響

生殖系への影響を明らかにするため、妊娠マウスを低周波磁界 (50Hz, 400 μ T) に 16 日間曝露し、胎児の生死、奇形の有無および母獣への影響で評価した。ICR mice (妊娠マウス) (コントロール 3 匹、曝露群 3 匹) を馴化後、低周波磁界 (50Hz, 400 μ T) に 16 日間曝露した。帝王切開で胎児を取り出して、生死および奇形の有無を観察した。母獣への影響は、行動観察および下痢の有無などで判定した。実験は 2 回実施した。

C. D 研究結果および考察

1. 低周波磁界の細胞増殖への影響

低周波磁界 (50Hz, 400 μ T) に曝露し、曝露時間を含めて 48 時間後に Cell Counting kit-8 (同仁化学) によって生細胞数を測定した結果 (平均値でデータを示す) を図 1 に示す。

U251MG(ヒト神経膠腫)、U87MG(ヒト神経膠腫)、YKG-1(ヒト神経膠腫)、KP2 (ヒト睪臓癌)、LC540 (ラット精巣腫瘍細胞)、CPAE (ウシ血管内皮細胞)、NSC34 (マウス神経細胞)、HMY-1 (ヒトメラノーマ)、LK2(ヒト肺癌細胞)、U937 (ヒト白血病細胞) のいずれの細胞においても、低周波磁界の細胞増殖への顕著な影響はなかった。

2. 低周波磁界の活性酸素発生への影響

種々の培養細胞を低周波磁界 (50Hz, 400 μ T) に 15 分間曝露し、細胞外へ放出された過酸化水素発生を解析した結果を図 2 に示す。U251MG(ヒト神経膠腫)、U87MG(ヒト神経膠腫)、YKG-1(ヒト神経膠腫)、E10 (ヒト中皮腫)、LC540 (ラット精巣腫瘍細胞)、NSC34 (マウス神経細胞)、HMY-1 (ヒトメラノーマ)、

LK2(ヒト肺癌細胞)、U937(ヒト白血病細胞)のいずれの細胞においても、低周波磁界の過酸化水素発生への影響はなかった。活性酸素は、細胞の老化、動脈硬化のみならず、細胞の癌化に関与していることが知られている(6-8)。

3 低周波磁界の生殖系への影響

生殖系への影響を明らかにするため、ICR mice(妊娠マウス)(コントロール3匹、曝露群3匹)を低周波磁界(50Hz, 400 μ T)に16日間曝露し、胎児の生死、奇形の有無および母獣への影響で評価した。実験は2回実施した。その結果を表1に示す。比較のため、昨年度すでに報告済みの50Hz, 40 μ T曝露の結果も表1に示す。

1回目の実験では、コントロールでは、32匹の胎児で、胎児死亡1匹、奇形は見られなかった。低周波磁界曝露群40匹の胎児中1匹の胎児死亡が見られたが、コントロールとの比較(χ 二乗検定)で有意差はなかった($p=0.88$)。奇形も見られなかった。2回目の実験では、コントロールでは、39匹の胎児で、胎児死亡5匹、奇形は見られなかった。低周波磁界曝露群で40匹の胎児中2匹の胎児死亡が見られたが、コントロールとの比較(χ 二乗検定)で有意差はなかった($p=0.28$)。奇形も見られなかった。母獣に下痢は見られず、行動異常も見られなかった。ただし、行動異常の有無は、観察のみでなく、Y字型迷路を用いる等で、空間認識能力に影響がないかを、今後検討する必要がある。

以上のように、低周波磁界に曝露した妊娠マウス(母獣)及び胎児には影響

はなかった。考察として、コントロール群および磁界曝露群の胎児に死亡例が見られたが、文献(9)にも記載されているように、自然胎児死亡率の範囲内であり、問題はないと考えられる。

E. 結論

1. 低周波磁界(50Hz, 400 μ T)の細胞増殖への影響

種々の培養細胞、U251MG(ヒト神経膠腫)、U87MG(ヒト神経膠腫)、YKG-1(ヒト神経膠腫)、KP2(ヒト膵臓癌)、LC540(ラット精巣腫瘍細胞)、CPAE(ウシ血管内皮細胞)、NSC34(マウス神経細胞)、HMY-1(ヒトマラノーマ)、LK2(ヒト肺癌細胞)、U937(ヒト白血病細胞)を低周波磁界(50Hz, 400 μ T)に曝露し、細胞増殖への影響を解析した結果、顕著な影響は見られなかった。

2. 低周波磁界の活性酸素発生への影響

種々の培養細胞を低周波磁界(50Hz, 400 μ T)に15分間曝露し、細胞外へ放出された過酸化水素発生を解析した。U251MG(ヒト神経膠腫)、U87MG(ヒト神経膠腫)、YKG-1(ヒト神経膠腫)、E10(ヒト中皮腫)、LC540(ラット精巣腫瘍細胞)、NSC34(マウス神経細胞)、HMY-1(ヒトマラノーマ)、LK2(ヒト肺癌細胞)、U937(ヒト白血病細胞)のいずれの細胞においても、低周波磁界の過酸化水素発生への影響はなかった。

3. 低周波磁界の生殖系への影響

生殖系への影響を明らかにするため、ICR mice(妊娠マウス)(コントロール

3匹、曝露群3匹)を低周波磁界(50Hz, 400 μ T)に16日間曝露し、胎児の生死、奇形の有無および母獣への影響で評価した。実験は2回実施した。その結果、コントロール群と磁界曝露群の間に、胎児死亡の率で有意の差は見られなかった。両群ともに胎児に奇形は見られなかった。

母獣には、下痢は見られず、行動異常も見られなかった。

以上のように、低周波磁界(50Hz, 400 μ T)に曝露した妊娠マウス及び胎児には影響はなかった。

参考文献

1. Kheifets L, Repacholi M, Saunders R, van Deventer E. The sensitivity of children to electromagnetic fields. *Pediatrics*. 2005 Aug;116(2): 303-13.
2. Schmiedel S, Brüggemeyer H, Philipp J, Wendler J, Merzenich H, Schüz J. An evaluation of exposure metrics in an epidemiologic study on radio and television broadcast transmitters and the risk of childhood leukemia. *Bioelectromagnetics*. 2009;30(2):81-91.
3. Merzenich H, Schmiedel S, Bennack S, Brüggemeyer H, Philipp J, Blettner M, Schüz J. Childhood leukemia in relation to radio frequency electromagnetic fields in the vicinity of TV and radio broadcast transmitters. *Am J Epidemiol*. 2008 Nov 15;168(10):1169-78.
4. Juutilainen J. Developmental effects of electromagnetic fields. *Bioelectromagnetics*. 2005; Suppl 7: S107-15.
5. WHO. Extremely Low Frequency Fields.

Geneva, Switzerland: World Health Organization 2007.

6. Desai NR, Kesari KK, Agarwal A. Pathophysiology of cell phone radiation: oxidative stress and carcinogenesis with focus on male reproductive system. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009 Oct 22;7:114.
7. Minelli A, Bellezza I, Conte C, Culig Z. Oxidative stress-related aging: A role for prostate cancer? *Biochim Biophys Acta*. 2009 Apr;1795(2):83-91.
8. Mena S, Ortega A, Estrela JM. Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutat Res*. 2009 Mar 31; 674(1-2):36-44.
9. Haque S.F., Izumi S., Aikawa H., Suzuki T, Matsubayashi H., Murano T., Kika G., Ikeda M., Goya K., Makino T. Anesthesia and acoustic stress-induced intra-uterine growth retardation in mice *J. Reprod. Dev.* 50, 185-190 (2004)

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

学会発表

第25回日本生体磁気学会大会 さわやかちば県民プラザ

低周波磁界の妊娠マウスへの影響

堀内 新一郎, 郭 文智, 佐藤 清敏, 深津 晋, 奥野 誠, 梅景 正, 牛山 明, 村越 隆之, 久保田 俊一郎

日本生体磁気学会誌 Vol.23 No.1 July 2010(第25回日本生体磁気学会大会論文集) p.28-29.

第25回日本生体磁気学会大会 さわやか

かちば県民プラザ
低周波磁界の神経系への影響とその機
構の解明

郭文智，大城博矩，堀内新一郎，梅景
正，牛山明，奥野誠，深津晋，村越隆
之，久保田俊一郎

日本生体磁気学会誌 Vol.23 No.1 July
2010(第 25 回日本生体磁気学会大会
論文集) p.160-161.

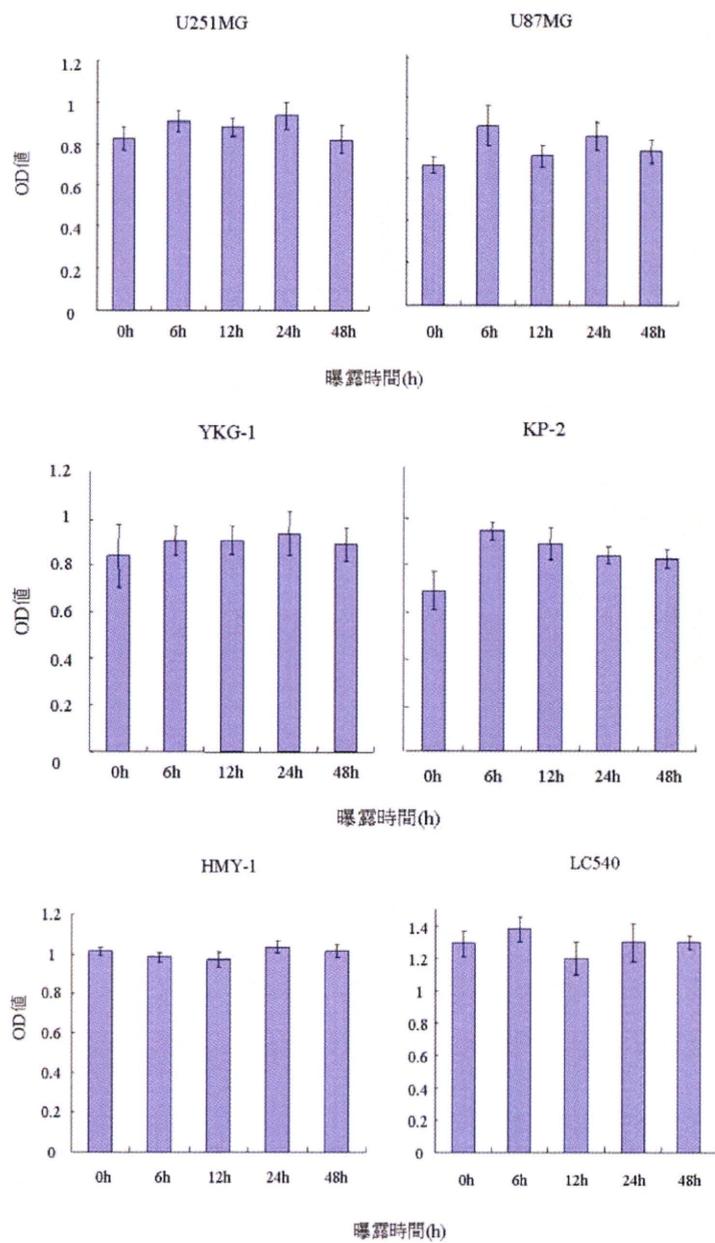
H. 知的財産権 なし

謝辞

本分担研究は、厚生労働省リサーチレ
ジデント 郭文智博士および東京大学
大学院総合文化研究科 堀内新一郎博
士、佐藤清敏助教のご協力を得ました。

感謝いたします。E10細胞をご供給頂き
ました愛媛大学医学部内科 濱田泰伸
先生に感謝いたします。

図1 低周波磁界曝露の細胞増殖への影響



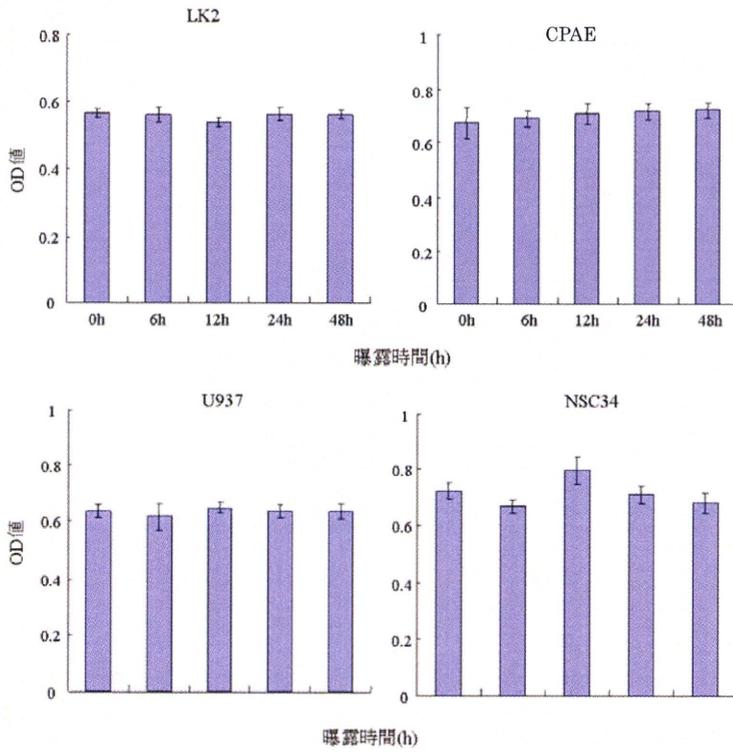
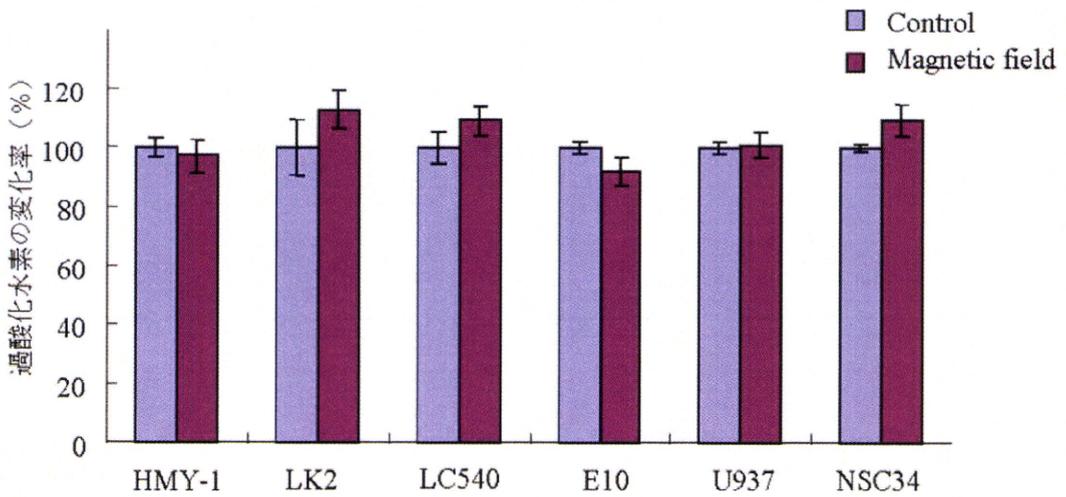


図2 低周波磁界曝露による活性酸素（過酸化水素）発生への影響
磁場(400 μ T)により細胞外過酸化水素の放出



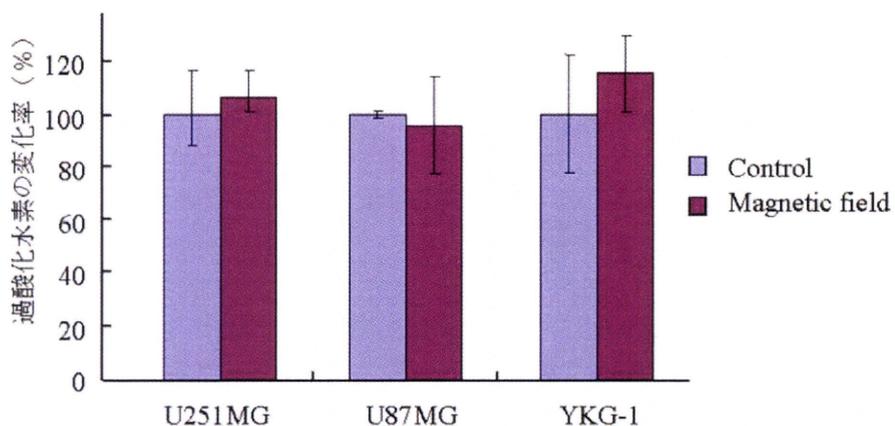


表 1 低周波磁界の妊娠への影響

		磁界			地磁気			カイ二乗検定 P-Value	
		個体1	個体2	個体3	個体1	個体2	個体3		
40 μ T	1回目	生存	13	13	9	14	15	5	0.09
		死産	2	0	1	0	0	0	
		流死産率 (%)	7.9			0			
	2回目	生存	16	14	15	17	13	15	0.57
		死産	1	0	0	1	0	1	
		流死産率 (%)	2.2			4.3			
400 μ T	1回目	生存	14	12	14	15	8	9	0.88
		死産	1	0	0	1	0	0	
		流死産率 (%)	2.4			3.0			
	2回目	生存	13	12	14	9	18	12	0.28
		死産	0	1	1	1	1	3	
		流死産率 (%)	4.9			11.4			

電磁界の辺縁系シナプス機能に対する影響

第三報

分担研究者 村越 隆之 埼玉医科大学大学 医学部 生化学、教授

研究要旨

前部帯状回皮質（ACC）における興奮性および抑制性シナプス伝達機構に対する慢性均一磁場暴露の影響を検討した。ACCは統合失調症、大鬱病、ADHD、PTSD等、種々の精神疾患で病態に関係することが示唆されており、特にその神経回路に内在するGABA作動性抑制性機構の変化が重要であると考えられているが、この機能に対する電磁界の影響をシナプスレベルで検討した研究は見られない。そこで昨年引き続きラット生体を低周波均一磁場（50Hz・400 μ T）に慢性暴露し、これらの動物から作成した帯状回皮質を含む脳スライス標本を用いて、同部位で観察される皮質神経回路シナプス伝達、特に抑制性機能の状態を電気生理学的に評価した。慢性的磁場暴露群（7日間）において対照群との有意な差は見られなかった。

A. 研究目的

昨年に引き続き、大脳辺縁系神経機能に対する電磁界の影響を検討した。帯状回皮質および扁桃体は大脳辺縁系を構成する脳部位であり、それぞれ前頭葉前頭前野、海馬との連絡を密にもち、様々な情動・認知活動において非常に重要な調節を行う部位である。また、これらの部位の脳機能異常は様々な精神疾患や情動障害の病態に関わるとされ、うつ病、PTSD（精神外傷後ストレス症候群）、ADHD（注意欠陥多動障害）、不安障害、などに際し変化が報告されることから、それらの予防・治療にとっても重要な対象となりうる（Yucel et al., 2008; Schlösser et al., 2008, Hamner et al., 1999; Woodward et al., 2006, Bush et al., 2005; Pliszka, 2007）。

これらの脳部位は成長期を含め、成熟後も様々な身体的、心理的ストレスに対して、解剖学および物質的基盤が脆弱性を示すこ

とが知られている。周産期の薬物や放射線暴露、乳幼児期の栄養異常、母子分離などが実験的にもこれらの神経回路の機能異常をもたらすことが報告され、現在精力的にその分子メカニズムが解明されつつある。脳組織に対する身体的ストレスのひとつに、遠隔的に作用する物理的因子としての電磁場の影響が考えられる。なぜならば、脳の構成要素であるニューロンの細胞膜上には膜たんぱく質であるイオンチャネルが存在し、脳機能はその活性化・不活性化過程の総和であると換言することが可能であるが、その活性機序の本質は電場の与えるクーロン力と言えるからである。しかしながら、これまで中枢神経系に対する電磁場作用は必ずしも体系的に研究されたとは言えず、殊に情動・認知活動の基盤である辺縁系神経回路のシナプス機能に焦点を絞った解析は例を見ない。

以上の背景のもとに一昨年度からの本研

究では、ラットの脳組織よりスライス標本を作製し、帯状回、扁桃体神経回路のニューロンからシナプス活動を記録し、磁場暴露群と対照群との間における電気生理学的差異を見出すことを目的としてきた。

一昨年度は、磁場暴露群と対照群のラットからの帯状回スライスにおいて、皮質内神経伝達機能が基本的には変化しないことを報告した。また昨年度は扁桃体において見出された自発的な抑制性の神経回路オシレーションに注目し、磁場が脳組織の複合的高次機能変化に影響を与えるか否かを検討した。そこで今年度は帯状回皮質回路に再び焦点を当て、昨年度より整った方法として均一慢性磁界暴露の実験条件のもとでの影響を検討した。

B. 研究方法

・ 磁場暴露条件

生後 2 週齢 Wistar 系ラットを母獣による哺育状態で購入し、1 週間動物飼育施設において安定化する。慢性暴露条件として、50 Hz, 400 μ T の均一磁場を 21 日齢から 7 日間、を設定した。また、対照群としては、同時間、同じ暴露槽に置きながらも磁場暴露は行わない動物を用いた。

・ スライス標本作成

磁場暴露または非暴露後の生後 28-32 日齢の段階で電気生理実験に供した。吸入麻酔薬であるエンフルレンによる深麻酔下で断頭し、前脳部より冠状断にて帯状回を含む厚さ 350 μ m の脳スライスを複数枚作成した。損傷からの回復のため 1-2 時間待った後に、顕微鏡ステージ上の実験槽に配置した。標本に対し 32.5 度 C の人口脳脊髄液 (ACSF) を毎分 2.5ml の速度で灌流した。ACSF の組成は以下のとおりである (単位 mM)。120 NaCl, 3 KCl, 2.5 CaCl₂, 1.3 MgCl₂, 26 NaHCO₃, 1.25

NaH₂PO₄, 15 glucose。また ACSF は 95% O₂-5%CO₂ により飽和され、pH は 7.2 に維持された。

・ 電気生理学実験

帯状回 Cg 1 領域の皮質浅層 (第 II/III 層) より細胞外フィールド記録法によりシナプス電位記録を行った。記録用電極には内液として 0.5 M NaCl 溶液を用いた。また刺激電極を同領域の皮質深部層 (第 V/VI 層) に配置し、0.06 Hz の頻度で (15 秒に 1 回) 求心性線維の電気刺激を行った。この条件で記録されるシナプス電位は初期の単シナプス性興奮性シナプス後電位 (fEPSP) と、それに引き続く多シナプス性の興奮性および抑制性シナプス後電位 (fIPSP) から構成される。刺激は一回あたり、50ms の間隔で 2 発ずつ与え、それぞれで誘発される fEPSP を fEPSP-1、および fEPSP-2 とし、それらの比率 (fEPSP-2/fEPSP-1) を PPR (paired-pulse ratio) とした。fEPSP は刺激直後の二つ目の陰性波 (通常 10-15ms) の初期相最大陰性スロープを計測して得た。また、それぞれの刺激により誘発される GABA 作動性抑制性神経伝達は、fEPSP-1 と fEPSP-2 に対し異なる減弱作用を持ち、結果的に PPR に影響するが、GABA_A 受容体拮抗薬 bicuculline を適用後に同じ実験を行うとその作用がなくなり、PPR が変化することが知られている (Ito et al. 2010)。そこで bicuculline 適用前後の PPR 変化を見ることで、帯状回皮質内で機能している GABA 抑制系を評価することができる。

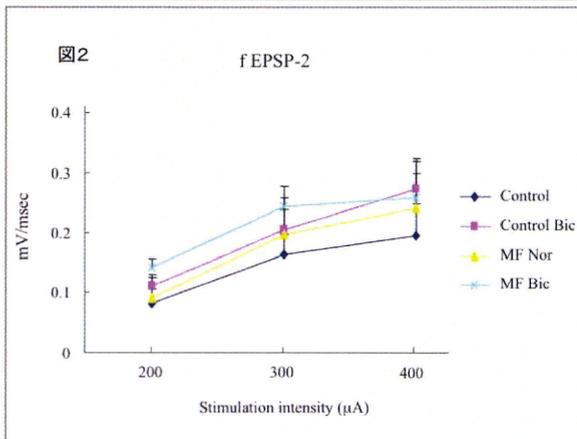
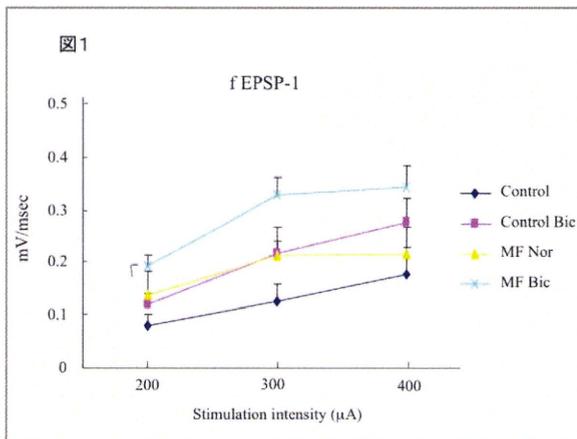
・ 実験ガイドライン

すべての実験は埼玉医科大学動物実験指針に基づき、認可を得たものである。

C. 結果

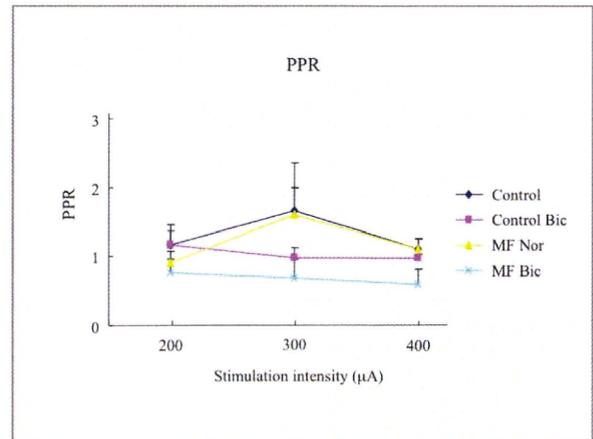
1) 興奮性の評価：刺激強度-反応特性

まず帯状回皮質浅層ニューロンの興奮性に対する影響を評価する目的で、深層を通過する求心性線維刺激の応答特性を、暴露群と



対照群で比較した。刺激強度（双極電極間を流れる電流量）を増大させることにより被刺激線維数が増加し、それに比例してシナプス反応が増大すると考えられる。

図に示すように、コントロール群と磁場暴露群の間で、刺激強度に応じた fEPSP-1 (図1) および fEPSP-2 (図2) の刺激-反応関係におおむね差はなかった。(唯一、bicuculline 下 200 μA に対する fEPSP-1 に関し、磁場群がコントロール群より有意に大きかった)。これらをもとに、正常灌流液と bicuculline 灌流下における PPR を計算したが、コントロール群および磁場暴露群ともに、



刺激強度 300 μA に対する反応で PPR が減少するものの、両者の間に差は見られなかった。

D. 考察

今回の実験で、ACC における興奮性および抑制性シナプス伝達機構を評価することが出来たが、慢性磁場暴露による統一的な影響は本実験条件下では見いだされなかった。特に bicuculline による脱抑制の前後で PPR を比較することで内在性 GABA 抑制機構を推定することができ、この指標は種々ストレスに応答するものであるが、磁場暴露の影響は観察されなかった。但し両群ともに中間刺激強度でその値が大きく示された理由は不明である。

参考文献

1. Bush G, Valera EM, Seidman LJ (2005), Functional neuroimaging of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: a review and suggested future directions. *Biol Psychiatry* 57:1273-1284.
2. Hamner MB, Lorberbaum JP, George MS (1999), Potential role of the anterior cingulate cortex in PTSD: review and

- hypothesis. *Depress Anxiety* 9:1-14.
3. Ito H, Nagano M, Suzuki H, Murakoshi T (2010) Chronic stress enhances synaptic plasticity due to disinhibition in the anterior cingulate cortex and induces hyper-locomotion in mice. *Neuropharmacology* 58: 746-757
 4. Pliszka SR (2007), Pharmacologic treatment of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: efficacy, safety and mechanisms of action. *Neuropsychol Rev* 17:61-72.
 5. Schlösser RG, Wagner G, Koch K, Dahnke R, Reichenbach JR, Sauer H (2008) Fronto-cingulate effective connectivity in major depression: A study with fMRI and dynamic causal modeling. *Neuroimage*, 15:645-655.
 6. Woodward SH, Kaloupek DG, Streeter CC, Martinez C, Schaer M, Eliez S (2006), Decreased anterior cingulate volume in combat-related PTSD. *Biol Psychiatry* 59:582-587.
 7. Yucel K, McKinnon MC, Chahal R, Taylor VH, Macdonald K, Joffe R, Macqueen GM (2008), Anterior cingulate volumes in never-treated patients with major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology* 33:3157-3163

E. 結論

前部帯状回皮質 (ACC) における興奮性および抑制性シナプス伝達機構に対する慢性均一磁場暴露の影響を検討した結果、慢性的磁場暴露群 (7日間) において対照群との有意な差は見られなかった。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

学会発表

第25回日本生体磁気学会大会 さわやかちば県民プラザ

低周波磁界の妊娠マウスへの影響

堀内 新一郎, 郭 文智, 佐藤 清敏, 深津 晋, 奥野 誠, 梅景 正, 牛山 明, 村越 隆之, 久保田 俊一郎

日本生体磁気学会誌 Vol.23 No.1 July 2010(第25回日本生体磁気学会大会 論文集) p.28-29.

第25回日本生体磁気学会大会 さわやかちば県民プラザ

低周波磁界の神経系への影響とその機構の解明

郭文智, 大城博矩, 堀内新一郎, 梅景正, 牛山明, 奥野誠, 深津晋, 村越隆之, 久保田俊一郎

日本生体磁気学会誌 Vol.23 No.1 July 2010(第25回日本生体磁気学会大会 論文集) p.160-161.

H. 知的財産権 なし

謝辞

本分担研究は、厚生労働省リサーチレジデント 郭文智博士のご協力を得ました。感謝いたします。

磁界の生殖機能への影響とその機構の解明

研究分担者 奥野 誠 東京大学大学院准教授

研究要旨

厚生労働行政の課題の1つとして、低周波磁界曝露のヒトへの健康影響（生殖機能への影響）が挙げられる。本分担研究では、交流磁場がオスの生殖に影響を及ぼす可能性について検討した。今年度は曝露時間を3週間として、50Hz 400 μ Tでの曝露実験を行った。体重および臓器重量における磁場曝露の影響では、曝露群と対照群で、有意な差は見られなかった。精子の密度と運動性に対する磁場の影響についても、曝露群と対照群で、有意な差は見られなかった。長期食欲・生殖力の指標として、血中レプチン濃度を測定したが、曝露群と対照群で、有意な差は見られなかった。

A. 研究目的

我々は日常生活において様々な電磁場にさらされている。近年の電力使用機器の増加に伴い自然発生以外の人工的な電磁場に曝される機会が増え、その影響が懸念されている。本研究では交流磁場がオスの生殖に影響を及ぼす可能性について検討した。昨年度はマウスを40および400 μ Tの50Hz交流磁場に曝した実験を行ったが、曝露期間が短かったのではないかという問題が生じたため、今年度は曝露時間を2週間から3週間に延長し、400 μ Tでの曝露実験を行った。

B. 研究方法

3週齢のICRオスマウスを用いた。それから4匹を一つのケージに入れ、均一に磁場に曝した。磁場の強度は40および400 μ Tの二つの強度で行った。コントロール群としては装置の近傍で磁場の影響のな

い場所に同じケージを用いて飼育したものをを用いた。磁場への曝露は21日間行った。曝露後、マウスをジエチルエーテルで麻酔し、体重を測定した後、開腹し、大動脈から血液を採取した。この血液から遠心により血清を分取し、レプチンを測定した。レプチンはQuantikine Mouse Leptin Immunoassay (R & D Systems, USA)を用いた。その後、精巣-精巣上体の部分を摘出し、精巣の重量を測定した。その後精巣上体尾部から可能な限りの精液を絞り出し、100 μ lのシヨ糖溶液(300mM sucrose、10mM HEPES-NaOH pH 7.6)に希釈した。射出精液を得ることマウスでは難しく、また射出精子濃度も一般に大きく変動することが知られており、産生される精子の量を正確に測定することは困難である。そこで本研究では、精巣上体尾部から絞り出した精子の密度を相対値とし