

て比較することとした。ここではその精子懸濁液をさらに希釈して、血球換算盤にて精子数をカウントした。

シヨ糖溶液に希釈した精子は遊泳活性が低い。そこで 37°C の Hank's 液にさらに希釈し、希釈およそ 5 分後に遊泳しているも精子をビデオ記録し、運動率を調べた。Hank's 液の組成は、150 mM NaCl, 5.5 mM KCl, 0.4 mM MgSO₄, 1 mM CaCl₂, 10 mM NaHCO₃, HEPES-NaOH (pH=7.4) である。

C. D 研究結果および考察

1. 体重および臓器重量における磁場暴露の影響

形態的な異常はすべての項目において見られなかった。体重、肝臓、腎臓、精巣の重量を調べた結果を表 1 に示した。すべての項目について、有意な差は見られなかった。

2. 精子の密度と運動性に対する磁場の影響

精子形成における磁場の影響を調べた。オス ICR マウスでは、生後 5~6 週間で精巣上体尾部に精子が出現する。そこで離乳 (3 週齢) 後 3 週間の間連続的に磁場に暴露し、精子形成における影響を調べた。マウスで射出精子を得ることは難しいため精巣上体尾部を摘出し、そこから出来る限り精子を搾り出して、一定量の希釈液に希釈して精子密度を測りコントロール群と比較することとした。この方法では運動性の悪い精子も多量に混入してくるため、一般の精子調製法に比べると運動率はかなり悪くなる。図 1A は精子密度の測定結果を失している。400 μ T 暴露ではむしろ磁場暴露の方が高い値を示したが、これはコントロール群に精子数が極端に低い個体がいたためである。標準偏差をとると、有意差は認められなかった。

精子の運動率についても図 1B に示すように、むしろ暴露群のほうが多少高めの値を示したが、有意な差はなかった。これもコントロール群に非常に精子数が少なく運動性も悪い精子がいたためである。今回の結果も、磁場暴露は精子形成に影響を与えないといえるであろう。本研究と比較されるのは Kim らの実験 (Kim, Y.W., et al., 2009) であるが、彼らの実験に比べると、本実験は磁場の強度は 2 倍であるが暴露時間がおおよそ 1/5 であった。より長期間の暴露によって影響が出てくる可能性は否定出来ないが、実験スケジュール上長期間暴露ができなかった。

3. 磁場のレプチンに対する影響

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。結果を図 2 に示す。前年度不十分だった 400 μ T の結果であるが、有意な差は得られなかった。今回は 3 週齢から 3 週間の曝露実験を行った。この期間、3 週齢では乳離れし、6 週齢では生殖器がほぼ形成され、精巣上体尾部に精子が出現する時期であり、様々な環境要因に感応しやすい時期である。しかし結果では、400 μ T の 50 Hz 交流磁場はほとんど影響しないことが明らかになった。

E. 結論

雄マウスを用いて、曝露時間を 3 週間として、50 Hz 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。

参考文献

- (1) Brash, I. A. et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive signal. *Endocrinol.* 137-3147, 3144, 1996
- (2) De-Kun, Li., et al. Exposure to magnetic fields and the risk of poor sperm quality. *Reprod. Toxicol.*, 29, 86-92, 2010
- (3) Iorio, R., et al., A preliminary study of oscillating electromagnetic field effects on human spermatozoon motility. *Bioelectromagnetics*, 28, 72-55, 2007.
- (4) Kim, Y.W., et al., Effects of 60 Hz 14 microT magnetic field on the apoptosis of testicular germ cell in mice. *Bioelectromagnetics*, 30, 66-72 2009.
- (5) McShane, T. M., et al., Central action of neuropeptide-Y may provide a neuromodulatory link between nutrition and reproduction. *Bio. Reprod.*, 46, 1151-1157, 1992
- (6) Tena-Sempere, M & Barreiro, M.L., Leptin in male reproduction: the testis paradigm. *Mol. Cell Endocrinol.* 188, 9-13, 2002.
- (7) Touma, C. et al., Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice. *Gen Comp. Endocrinol.* 130, 267-278, 2003.
- (8) Yan, J.G., et al., Effects of cellular phone emissions on sperm motility in rats. *Fertil Steril*, 88, 957-64, 2007.

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 体重および各臓器における磁場の影響

	Control		400uT	
	AV	SD	AV	SD
Body weight (g)	32.6	1.4	30.7	1.4
Liver weight (g)	2.1	0.13	1.99	0.14
Kidney weight (mg)	618	28	634	29
Testis weight (mg)	93	22	89	17

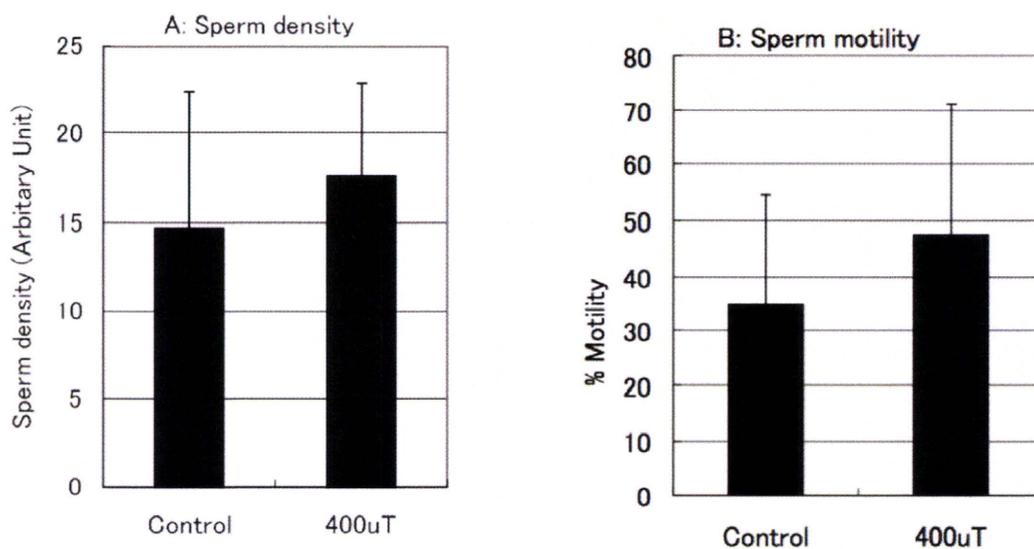


図1 精子形成における低周波数交流磁場 (400 μ T) の影響。A : 精子の密度における磁場暴露の影響。相対値で表してある。B : 精子の運動率における磁場暴露の影響。運動率は%で表してある。N=4

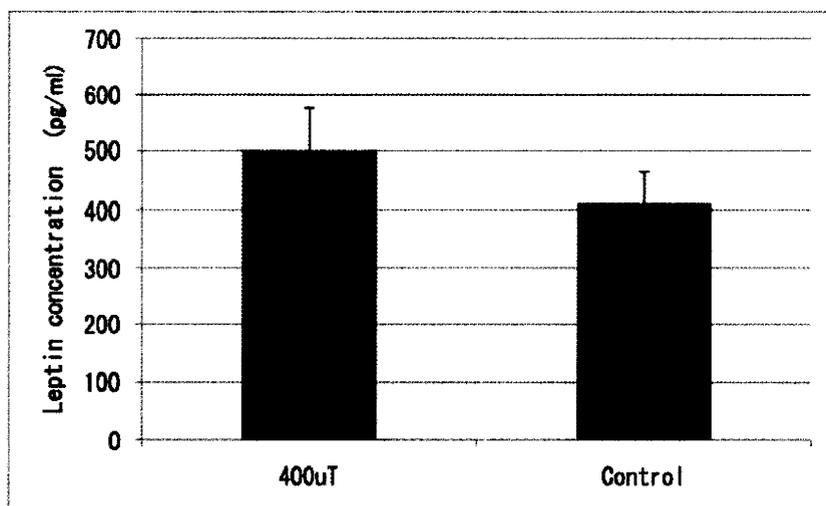


図 2. 3 週齢から 6 週齢までの 3 週間の低周波数交流磁場 ($400 \mu\text{T}$) 曝露によるオスマウスの血中レプチンに対する磁場の影響。N=4

研究発表一覧

学会発表および抄録

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.

ISSN 0915-0374

日本生体磁気学会誌

The Journal of Japan Biomagnetism and
Bioelectromagnetics Society

特 別 号

第 25 回日本生体磁気学会大会論文集

Vol.23 No.1 July 2010

日本生体磁気学会

低周波磁界の妊娠マウスへの影響

Effects of extremely low frequency magnetic fields on pregnant mice

堀内新一郎⁽¹⁾, 郭文智⁽¹⁾, 佐藤清敏⁽¹⁾, 深津晋⁽¹⁾, 奥野誠⁽¹⁾, 梅景正⁽²⁾, 牛山明⁽³⁾,

村越隆之⁽¹⁾⁽⁴⁾, 久保田俊一郎⁽¹⁾

⁽¹⁾東京大学 総合文化 生命環境 ⁽²⁾東京大学 環境安全本部 ⁽³⁾国立保健医療科学院
⁽⁴⁾埼玉医大 生化学

Shinichiro Horiuchi⁽¹⁾, Wen-zhi Guo⁽¹⁾, Kiyotoshi Satoh⁽¹⁾, Susumu Fukatsu⁽¹⁾, Makoto Okuno⁽¹⁾,
Tadashi Umekage⁽²⁾, Akira Ushiyama⁽³⁾, Takayuki Murakoshi⁽¹⁾⁽⁴⁾,
and Shunichiro Kubota⁽¹⁾

⁽¹⁾Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo

⁽²⁾Division for Environment, Health and Safety, University of Tokyo

⁽³⁾National Institute of Public Health

⁽⁴⁾Department of Biochemistry, Saitama Medical University

Abstract

To elucidate the effects of extremely low frequency magnetic fields (ELF) on fetuses and pregnant mice, pregnant ICR mice were exposed to ELF (50 Hz, 40 μ T or 400 μ T) for 16 days. The animals were sacrificed on the 18th day of gestation by cesarean section. The fetuses were examined for mortality, growth retardation, and morphological abnormalities. The adult mice were examined for diarrhea and abnormal behavior. Exposure to 40 μ T and 400 μ T with 50 Hz ELF did not cause any observable adverse effects on the fetuses, and the pregnant adult mice.

目的

低周波磁界の健康への影響、特に妊娠に対する影響を明らかにすることは、公衆衛生学的観点あるいは厚生労働行政的観点からも重要である。し

かし、疫学的研究では、妊娠に対する影響に関して一貫性がない⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾。そこで本研究では、低周波磁界の影響を妊娠マウスおよび胎児を用いて解析した。

方法

着床1日目のICRマウスを購入し、1日間順化させた。順化後、着床2日目のマウスを3匹ずつ低周波磁界下と地磁気下で着床18日目まで飼育した。帝王切開により胎児を取り出して生死判定を行い、さらに外部奇形の観察を行った。実験には交流コイルを2つ直列につないだ装置を用いて、国際ガイドライン(100 μ T)よりも強度が低い低周波磁界(50Hz、40 μ T)とその10倍の強度の低周波磁界(50Hz、400 μ T)をマウスに曝露した。マウスの飼育には磁界との相互作用(ジュール熱や渦電流など)が発生しないようにアクリル製の

ケージを使用した。

結果

実験は 40 μ T の低周波磁界で 2 回、400 μ T の低周波磁界で 1 回行った。40 μ T の低周波磁界に曝露する実験では、流死産率が低周波磁界下で 7.9% (1 回目) と 2.2% (2 回目)、地磁気下で 0% (1 回目) と 4.3% (2 回目) であった (Table 1)。カイ二乗検定を行った結果、P 値が 0.09 と 0.57 で、2 回の実験とも、流死産率に有意差はなかった。400 μ T の低周波磁界に曝露する実験では、流死産率が低周波磁界下で 2.4%、地磁気下で 3.0% であった。カイ二乗検定による P 値が 0.88 で有意差はなかった。胎児の外部奇形は、いずれの条件においても観察されなかった。なお、低周波磁界下における母獣への影響を評価するために飼育中の母獣の行動や下痢の有無についても観察したが、いずれの条件においても異常は見られなかった。

Table 1 マウスの妊娠に対する低周波磁界の影響

	40 μ T 1回目		40 μ T 2回目		400 μ T	
	Mag.	Con.	Mag.	Con.	Mag.	Con.
生存胎児数	35	34	45	45	40	32
死亡胎児数	3	0	1	2	1	1
流死産率 (%)	7.9	0	2.2	4.3	2.4	3.0
P-Value	0.09		0.57		0.88	

考察

本研究における低周波磁界条件 (40 μ T、400 μ T、50Hz) では、流死産への影響、胎児の外部奇形への影響は観察されなかった。本実験での流死産率は 0-7.9% であり、これまでに報告されている ICR マウスの自然流死産率 (日本 SLC : 11.9%、文献 4 : 2.6 \pm 3.1%) より低いか、同程度であった。以上から、本研究における流死産は自然流死産と判断した。母獣に対する低周波磁界曝露の影響の評

価のため、行動異常の有無や下痢の有無を観察したが、異常は観察されなかった。家庭の電気機器から発せられる低周波磁界は高くても 10 μ T (ホットカーペット 10 μ T、電子レンジ 1.4 μ T、パソコン 0.3 μ T : 東京電力のホームページを参照した) である。本実験では、電気機器から発せられるレベルより 40 倍以上も高い 400 μ T の低周波磁界において、胎児および母獣への影響が観察されなかったことから、家庭用電気機器から発せられるレベルの低周波磁界は妊娠に対して影響はないと考えられる。ただ、本実験では、母獣・胎児の各臓器への影響は調べていないため、今後、病理組織学のおよび分子生物学的解析 (遺伝子およびタンパク質) を行なう必要がある。

結論

低周波磁界 (50Hz、40 μ T・400 μ T) は、妊娠マウスおよび胎児に影響がないと考えられる。

参考文献

- [1] Belanger K (1998) Epidemiology 9(1) : 36-42
- [2] Lee GM (2000) Epidemiology 11 : 406-15
- [3] Li DK (2002) Epidemiology 13 : 9-20
- [4] Haque SF (2004) J. Reprod. Dev. 50 : 185-190

謝辞

本研究は、平成 21 年度厚生労働科学研究補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業) 「磁界の生体への影響とその機構の解明」の助成による研究である。

低周波磁界の神経系への影響とその機構の解明 Effects of extremely low frequency magnetic fields on neuronal system and elucidation of its mechanism

郭文智¹、大城博矩^{1,4}、堀内新一郎¹、梅景正²、牛山明³、奥野誠¹、深津晋¹、
村越隆之^{1,4}、久保田俊一郎¹

1 東京大学 総合文化 生命環境 2 東京大学 環境安全本部 3 国立保健医療科学院
4 埼玉医大 生化学

Wen-zhi Guo¹, Hironori Ohshiro^{1,4}, Shinichiro Horiuchi¹, Tadashi Umekage², Akira Ushiyama³,
Makoto Okuno¹, Susumu Fukatsu¹, Takayuki Murakoshi^{1,4}, Shunichiro Kubota¹

1 Department of Life Sciences, Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo

2 Division for Environment, Health and Safety, University of Tokyo

3 National Institute of Public Health

4 Department of Biochemistry, Saitama Medical University

目的

低周波磁界曝露の神経系への影響が懸念されている。そこで、本研究では、低周波磁界の神経細胞の増殖および活性酸素の発生への影響、さらに扁桃体抑制性シナプスへの影響を解析して、低周波磁界曝露の神経系への影響を明らかにすることが目的である。

方法

1. 磁界発生装置を 37°C、5% CO₂ 炭酸ガスインキュベータ内に設置して、グリオーマ細胞 U251MG、U87MG、YKG-1 を低周波磁界 (50Hz・400μT) に 6、12、24、48 時間曝露し、cell counting kit 8 によって細胞数を測定した (マイクロプレートリーダーを用いて、吸光度 450nm で解析)。
2. グリオーマ細胞 U251MG、U87MG、YKG-1 を低周波磁界 (50Hz・40μT) に 15 分曝露し、細胞外へ放出された過酸化水素発生を解析した。細胞 2×10⁶ を培養ディッシュに播種し接着させた。培養液を PBS 3ml に交換後、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 0.5ml)、ルミノメーター (ATTO Luminescencer 2200) を用いて測定した。
3. Wistar 系ラットを低周波磁界 (50Hz・40μT) に

急性、1 時間 (14 日齢) および慢性 14-16 日間 (7 日齢から) 曝露し、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扁桃体を含む厚さ 400μm の脳スライスを複数枚作成した。損傷からの回復 1 時間後、標本に対し 32.5 度の人工脳脊髄液 ACSF (120mM NaCl、3mM KCL、2.5mM CaCl₂、1.3mM MgCl₂、26mM NaHCO₃、1.25mM NaH₂PO₄、15mM glucose) を 2.5ml/min の速度で灌流した。扁桃体基底外側核よりホールセルパッチクランプ法により膜電流記録を行った。また、記録細胞には保持電位 -45mV での電位固定を行い自発的なシナプス活動の結果発生する全膜電位を記録した。

結果

1. グリオーマ細胞 U251MG、U87MG、YKG-1 において、低周波磁界の細胞増殖への顕著な影響はなかった。

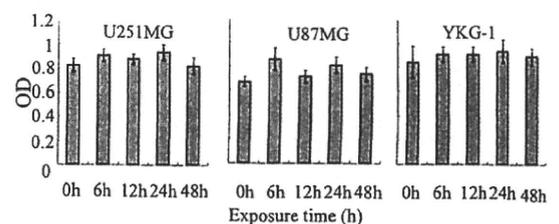


図 1. 低周波磁界の細胞増殖への影響

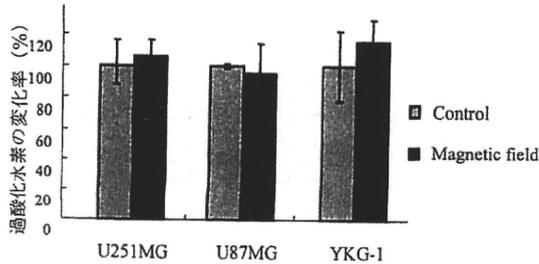


図2. 低周波磁界の過酸化水素発生への影響

2. グリオーマ細胞 U251MG、U87MG、YKG-1 を低周波磁界 (50Hz・40 μ T) に 15 分曝露し、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。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. (1) 自発的抑制性シナプス活動の 30 秒間の膜電流に対しパワースペクトル分析を行い、0.1-3Hz の領域での積分値 (パワー) を求めた。急性曝露 (n=8) と慢性曝露 (n=8) において、いずれの条件でも有意差がないことが明らかである (図3 a)。(2) 抑制性神経回路オシレーションの特徴を精査し、4 群 (急性・慢性、対照群・曝露群) (急性 n=8, 慢性 n=14) について比較したものを図 3 の b、c、d に示す。オシレーションの周波数、最大振幅、時間幅などリズム内容においても、磁界曝露による有意な影響は見られなかった。

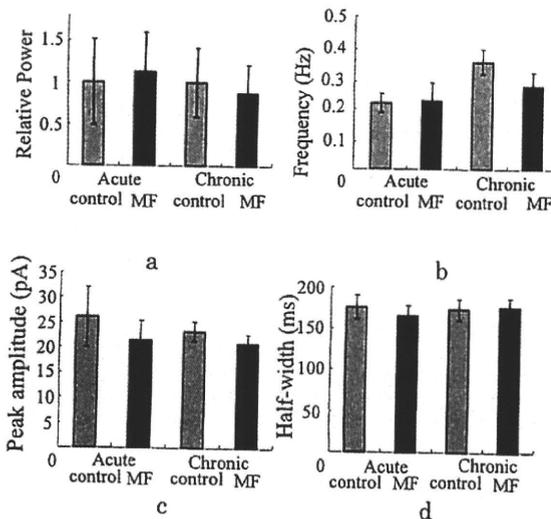


図3. 低周波磁界の過酸化水素発生への影響

考察

1. これまでに、数十から数百ヘルツの低周波電磁界がヒトや動物の培養神経系細胞の増殖に及ぼす影響について研究が行われているが、必ずしも統一した見解が得られていない。本研究では、神経系のグリア細胞由来の3種類のグリオーマ細胞で検討したが、増殖への影響は見られなかった。今後、神経細胞への影響も検討する必要がある。

2. 活性酸素は発癌に関与すると考えられている。低周波磁場は活性酸素の産生に関与することが報告されている⁽¹⁾⁽²⁾。今回、低周波磁界により3種類のグリオーマ細胞から放出された過酸化水素を測定したが、影響はなかった。今後、スーパーオキシドアニオンなどの活性酸素も測定し、低周波磁界の影響を明らかにする必要がある。

3. 脳辺縁系扁桃体は情動・認知機能にとって重要な役割を担い、この部位の脳機能異常はうつ病など精神疾患に関わる⁽³⁾。低周波磁界の扁桃体機能に対する影響をシナプスレベルで検討した研究は見られない。本研究では、急性および慢性の均一磁界曝露条件下で扁桃体シナプス伝達の統御機能に対する影響を初めて検討した。いずれの条件でも差は見られなかった。

結論

低周波磁界は、神経系細胞増殖、活性酸素発生および扁桃体抑制性シナプスへの影響はないと考えられる。

参考文献

- [1] Di Loreto S (2009). *J Cell Physiol.* 219(2):334-43.
- [2] Lupke M (2004). *Free Radic Res.* 38(9): 985-93
- [3] Schlosser RG (2008). *Neuroimage.* 15: 645-655

謝辞

本研究は、平成21年度厚生労働科学研究補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業)「磁界の生体への影響とその機構の解明」の助成による研究である。

