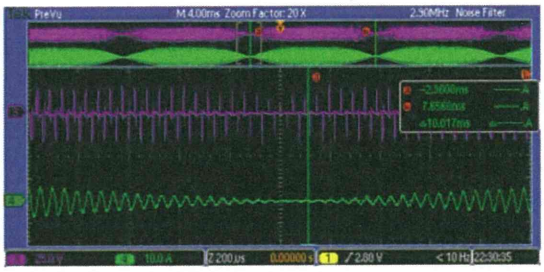


100Hz 変調モード（20.8kHz）
CH3：インバータ出力電圧（OUTPUT 端子台）
CH4：出力電流

図 34　図 32 の実験結果の電流値ゼロ付近の拡大図

D. 結論

本研究では昨年度開発した動物用局所磁界ばく露装置に関して、胎児内の誘導量の不確定性について知るために不均一組織のモデルをベースとして簡易モデルを作成し、数値シミュレーションを行った。まず、胎児の位置の不確定性の影響を検討するため、ラットの前後方向に胎児の位置を2cmの範囲で変位させたときの各胎児の内部誘導電界を計算した。その結果、装置のコイルに90A流した場合、各胎児の内部電界の平均値が2.09V/m以上変動した。次に、成長による胎児の容積の変化の影響を検討するため、各妊娠日数ごとの胎児の重量を手がかりにして、その容積を変え検討した。妊娠16日と20日を比較し、誘導電界が胎児平均で17.2%増加することがわかった。これらのことから、胎児内の誘導電界の不確定性は比較的大きく無視できないことから、ばく露評価に取り入れる必要があることがわかった。

その後、解剖学的構造を考慮し、位置の移動とそのときの頻度をふまえた不確定性の検討を行った。実験時にラット内で子宮の形状が変化することが考えられる。子宮の形状ごとの各胎児の位置を推定し誘導電界の計算を行ない、それらの各形状をとる可能性を仮定した確率分布を用いて表した。そしてそれを基にして内部誘導電界の重み付けを行った。妊娠期間ごとの胎児の内部誘導電界値を計算し、子宮先端部分の胎児は移動の自由度が高いことから内部誘導電界の変動量が大きく、子宮のもと付近の胎児はほとんど動かないことから内部誘導電界の変動量が小さくなることがわかった。このことから、動物実験の発生毒性の評価において、内部誘導電界の変動量が大きくなる胎児群と内部誘導電界の変動量が小さい胎児群に分けることを提案した。誘導電界の変動量が小さい胎児群は誘導電界値が大きく安定した値が得られ、より精度の高い評価が行うことができ、変動量が大きい胎児群は誘導電界値が小さい場合での評価を行えることがわかった。

また、ばく露装置の磁界の波形に関して、現実のIH調理器の波形を反映するため、低周波での振幅変調に関する検討を行った。シミュレーションを行った結果、回路構成を変更することなしに、正弦波形と振幅変調波形を切り替えられる可能性を見いだした。シミュレーションに基づいて検証実験を行った結果、ソフトウェアの変更のみで振幅変調が実際に行えることがわかった。

E. 引用文献

[1] E. Litvak, et al., "Health consequences of exposure to electromagnetic fields in the frequency range 300 Hz to 10 MHz, ". Bioelectromagnetics 23 pp 68-82. 2002.

[2] International Commision on Non-Ionizing Radiation Protection, "Guidelines for limiting exposure in time-varying electric, magnetic, and electromagnetic fields (up to 300GHz) ," Health Phys., 74(4), pp.494-522. 1998.

[3] International Commision on Non-Ionizing Radiation Protection, "Guidelines for Limiting Exposure to time-Varying Electric and Magnetic Fields (1Hz -100kHz) ," Health Phys., 74(6), pp.818-836, 2010.

[4] "Extremely Low Frequency Fields,", Environmental Health Criteria Monograph, No.238.

[5] Dawson.B.V, et al., "Evaluaton of potential health effects of 10kHz magnetic fields, ", Bioelectromagnetics 19(3) pp.162-171, 1998.

[6] Hannele Huuskonen, et al., " Effects of low-frequency magnetic fields on fetal development in rats," Bioelectromagnetics 14 pp.205-213, 1993.

[7] Sung-Ho Kim, et al., "Teratological Studies of Prenatal Exposure of Mice to a 20 kHz Sawtooth Magnetic Field," Bioelectromagnetics, 25 p114-117, 2004.

[8] Sung-Ho Kim, et al., "Toxicity Bioassay in Sprague-Dawley Rats Exposed to 20 kHz Triangular Magnetic Field, " Bioelectromagnetics, 27 p105-111, 2006.

[9] Hae. June. LEE, et al., "Long-term exposure of Sprague Dawley rats to 20 kHz triangular magnetic fields," International Journal of Radiation Biology, 82 p285-291, 2006.

[10] Hae. June. LEE, et al., "Lack of Promotion of Mammary, Lung and Skin Tumorigenesis by 20kHz Triangular Magnetic Fields , " Bioelectromagnetics, 28, p446-453, 2007.

[11] Hae. June. LEE, et al., " Teratological Evaluation of Mouse Fetuses Exposed to a 20kHz EMF, " Bioelectromagnetics, 30, p330-333, 2009.

[12] OM P. GANDHI, et al., "Impedence Method for Calculation of Power Deposition Patterns in Magnetically Induced Hyperthermia," IEEE Transaction on Biomedical Engineering, BME-31, Issue-10, pp.644-651. 1984.

[13] N. Orcutt, et al., "A 3-D impedance method to calculate power deposition in biological bodies subjected to time varying magnetic fields," IEEE Transaction on Biomedical Engi- neering, 35, Issue-8, pp.577-583. 1988.

[14] K. Wake, T. Tanaka, and M. Taki, "Analysis of induced currents in a rat exposed to 50 Hz linearly and circularly polarized magnetic fields," Bioelectromagnetics, 21, p354-363, 2000.

[15] J. Wang, et al., " Development and Dosimetry Analysis of a 2-GHz Whole-Body Exposure Setup for Unrestrained Pregnant and New- born Rats," IEEE Transactions On Microwave Theory And Techniques, 56, pp.2008-2013, 2008.

[16] Gabriel S, et al., "The dielectric properties of biological tissues: III. Paramagnetic models for the dielectric spectrum of tissues. "Physicsin Medicine and Biology, 41, pp.2271-2293. 1996.

[17] F De Luca, et al., "Use of low-frequency electrical impedance measure ments to determine phospholipid content in amniotic fluid"Physics in Medicine and Biology, 41, pp.1863-1869, 1996.

[18] T. W. Dawson, et al., " Evaluation of the Modeling Accuracy of Power Frequency Field Interactions with the human body ", Appl. Comput. Electromag. Soc. J., 16, No.2, pp.162-172. 2001.

[19] 高野 志規 他 " 低周波電磁界曝露に対する数値日本人モデルにおける基本制限と参考レベル の関係 ", 電気学会論文誌. A, 基礎・材料・共通部門誌, 130(12), No. 2, pp. 1092-1098. 2010.

[20] 進藤 将太郎, 寺江 悠太, 安東 至, 大石 潔, 小川 美奈, 高野 博司, " 負荷共振周波数追従制御に基づく単相高周波インバータの一構成法, " 電気学会論文誌D, 131, No. 8, pp. 1078-1086, 2011.

F. 研究発表

１．論文発表

なし

２．学会発表

(1) 鈴木伸也, 和田圭二, 鈴木敬久” 2重渦巻コイルを用いた動物用局所磁界曝露装置,” 電気学会産業応用部門大会 no.1-118, 2011.

(2) Y. Hirai, Y. Suzuki, K. Wada, K. Wake, M. Taki, A.Ushiyama, C. Ohkubo, ” Development of the exposure apparatus with the localized magnetic field at 20kHz for pregnant rats,” BioEM2011, Halifax, Canada, 2011.

(3) 平井佑樹, 鈴木敬久, 鈴木伸也, 和氣加奈子, 和田圭二, 多氣昌生, 牛山明, 大久保千代次 ”妊娠ラット用ばく露装置の開発とドシメトリによる評価 ”, 環境電磁工学研究会, IEICE-EMCJ2011-71, pp. 1-6, 北海道大学, 2011.

(4) 平井佑樹, 鈴木敬久, 和氣加奈子, 和田圭二, 多氣昌生, 牛山明, 大久保千代次, ”妊娠ラット用20kHz 局所磁界ばく露装置における胎児の内部誘導電界の不確定性の検討 ”, 電子情報通信学会総合大会, 岡山大学, 2012.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

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）
分担研究報告書

居室における中間周波電磁界に関する研究
～細胞を対象とした遺伝子と分化に関する研究～

分担研究者　池畑政輝　(公財)鉄道総合技術研究所　人間科学研究部
生物工学研究室　主任研究員
吉江幸子　(公財)鉄道総合技術研究所　人間科学研究部
生物工学研究室　副主任研究員
石井一行　明治薬科大学　衛生化学教室　教授
小笠原裕樹　明治薬科大学　衛生化学教室　准教授

研究要旨

IF 磁界の健康影響評価に関しては、これまでに非常に限られた知見しかないため、少なくとも安全性評価の常法に則り、*in vitro* および *in vivo* 双方での種々の試験の実施が必要である。本研究では、開発した *in vitro* 試験用 IF 磁界ばく露装置（21kHz において最大 3.9mT（ICNIRP ガイドラインにおける公衆ばく露の参考レベルの 144 倍）を発生）を用いて、レポーター遺伝子を導入したヒト乳がん由来細胞（MCF-7）のエストロゲン応答性、DNA メチル化およびマウス ES 細胞の分化に対する IF 磁界ばく露の影響評価を行った。その結果、エストロゲン応答性については、24 時間のばく露による有意な影響は認められず、細胞分化についても分化の過程での 10 日間ばく露による有意な影響は認められなかった。またエストロゲン応答性に関しての長時間（4 日間）ばく露、DNA メチル化の評価でも同様に顕著な影響は認められないという予備的な結果を得た。

これらの結果より、居室等での環境中でのばく露より 100 倍以上高い磁束密度の中間周波磁界であっても、遺伝子やその発現、また分化に対して顕著な影響を与えないことが明らかとなった。

A. 研究目的

IH 調理器などの家電製品や盗難防止装置等の設備、また鉄道などの高出力インバーターなど、身の回りの IF 磁界源からばく露する機会が増えているが、IF 磁界の健康影響に関しては、これまでに行われた研究は限られている。そのため、2007 年に発刊された WHO の超低周波電磁界に関する環境保健クライテリア（EHC238）では以下の通りに記載され、研究の推進が必須とされている。「この領域のデータが欠落している現状を鑑み、全てを包括する必要事項として、通常は 300Hz～100kHz とされる中間周波数（IF）電磁界に関する更なる研

究が必要である。健康リスク評価に必要とされる知識ベースの極僅かしか集まっておらず、既存の研究の多くは結果が一貫していないので、さらなる具体化が必要である。健康リスク評価のための十分なIFデータベースを構成するための一般的な要件には、ばく露評価、疫学研究、ヒト実験室研究、動物および細胞（*in vitro*）研究が含まれる」したがって、早期にIF磁界の安全性の評価を進める必要がある。そのためには、*in vivo* での影響評価ならびに *in vitro* での影響評価双方の知見を得ることが不可欠である。

本分担研究では、このうち *in vitro* 研究として、培養細胞を用いたIF磁界ばく露の影響評価を実施している。平成23年度は、平成22年度に引き続き、ほ乳類培養細胞を用いたIF磁界の細胞影響評価として、ヒト乳がん由来細胞を用いたエストロゲンレポータージーンアッセイ系によるIF磁界ばく露によるエストロゲン応答遺伝子の発現変化の有無、DNAメチル化、およびマウスES細胞を用いた *in vitro* 発生毒性試験であるEmbryonic Stem cell Test (EST)に基づいた細胞分化へのIF磁界ばく露の影響を評価することを目的として研究を実施した。

B. 研究方法

1．IF磁界ばく露によるエストロゲン応答性の変化

胎児への影響評価の必要性を鑑み、胎児の神経分化過程に関わる代表的な女性ホルモンの一つであり、その高値は双児や巨大児、低値により胎児死亡や仮死、無脳児の出生の危険性を高めるエストロゲンへの応答性に着目し、IF磁界ばく露によるエストロゲン応答性変化の有無を内分泌撹乱化学物質のスクリーニング系であるレポータージーンアッセイを用いて調べた。

その原理はエストロゲンが細胞膜を通過し核内に存在するエストロゲンレセプターに結合してホモ2量体の複合体を形成する。その複合体が染色体に組み込まれたベクタ

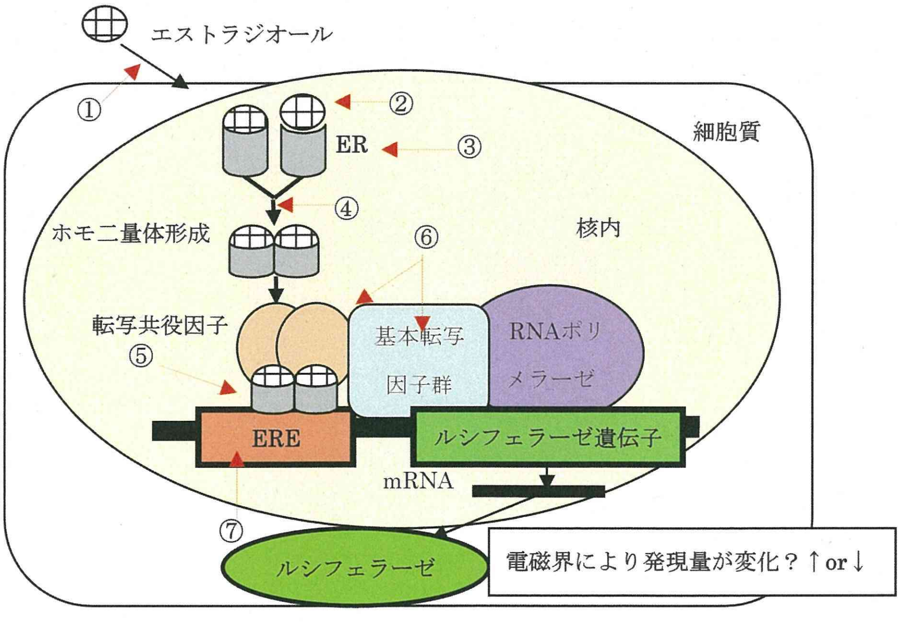


図1　核内でのエストロゲン応答遺伝子の活性化機構

一の有するエストロゲン応答配列に結合することで多数の共役因子を始めとする転写因子群がリクルートされ、下流にあるホタルルシフェラーゼ遺伝子の転写活性化を促してルシフェラーゼが発現される。ルシフェラーゼはヒト細胞内に存在しないため、微弱なシグナルもエストロゲン活性として評価できる。

この系における磁界ばく露の影響として ① 細胞へのエストロゲンの取り込み阻害 ② エストロゲンレセプターへの結合阻害 ③ エストロゲンレセプターの量的変化 ④ エストロゲンレセプターのホモ二量体形成阻害 ⑤ エストロゲン応答配列への結合阻害 ⑥ 転写共役因子、基本転写因子への量的変化・質的変化の影響 ⑦ メチル化等のDNA への影響 等が検出可能と考えられる(図 1)。

1.1 細胞株

IF 磁界ばく露によるエストロゲンの転写系の応答性の評価には、レポータージーンアッセイを用いた。使用細胞は、エストロゲンレセプターが高発現しているヒト乳癌由来 MCF-7 細胞にエストロゲン応答配列(-AGGTCACAGTGACCT-) を tandem に 3 回繋ぎ、その下流にホタルルシフェラーゼ遺伝子を組み込んだ pTransLucent ベクターを形質導入した株を用いた。培養条件は、MEM 非必須アミノ酸、L-グルタミン、ピルビン酸ナトリウム、ヒト組み換え型インスリン、活性炭処理済みウシ胎児血清を含むフェノールレッド不含 MEM 培地で 37℃、5% CO_2、湿度 100%で 3 日間培養した後、同培地中で以下に示す各種処理を 24 時間行った。

1.2 MCF-7 細胞における IF 磁界ばく露によるエストロゲン応答性の変化

凍結保存した細胞を、インシュリンを添加した MEM 培地にて前培養し、一度植え継いだ細胞を試験細胞とした。

24 時間のばく露試験では、試験細胞は、エストロゲンおよびエストロゲン様物質を除去するため活性炭処理を行ったウシ胎児血清を含むフェノールレッド不含 MEM 培地で 3 日培養し、内在性のエストロゲンを枯渇させた。この MCF-7 細胞を 6well のアッセイプレートに 6.0-7.0 × 10^6cells/well(3ml)で播種後、半数の well には DMSO で溶解したエストラジオール(E2)を終濃度 10^{-11}mol/L となるように 30μL 添加し、残りの 3well にはエストラジオール溶解に使用した DMSO のみを 30μL 加えた。同一試験プレートを 3 枚作成し、それぞれ IF 磁界ばく露用、疑似ばく露用、対照とする通常の CO_2 培養器用の 3 箇所に静置した。培養は 37℃、5% CO_2、湿度 100%のインキュベーター内で行い、IF 磁界ばく露群では磁界ばく露を行った。

24 時間培養後、それぞれの試験プレートを取り出し、培地を吸引した後、ルシフェラーゼ活性測定試験まで氷上に保持した。ルシフェラーゼ活性測定では、界面活性剤を含む 1 倍濃度の Cell Culture Lysis Reagent [CCLR :組成;25mM Tris(pH7.8) -H_3PO_4、2mM EDTA、2mM DTT、10% グリセロール、1% Triton X-100]で細胞を溶解し、遠心分離上清を細胞粗抽出液とし、ルシフェラーゼ活性測定及びタンパク質定量に用いる試料とした。ルシフェラーゼの活性測定には Luciferase Assay System (Promega) を用い、ルシフェリンールシフェラーゼによる化学発光の発光量を測定した。タンパク質

定量には Lowry 法を用い、DC Protein Assay Kit (Bio-Rad)を用いて定量した。
比活性は次式により求めた。

$$比活性(\frac{RLU}{mg\ protein}) = \frac{試料発光量 \times 50(\frac{RLU}{ml})}{タンパク濃度(\frac{mg}{ml})}$$

長時間ばく露については、前培養後の試験細胞を試験細胞を活性炭処理を行ったウシ胎児血清を含むフェノールレッド不含 MEM 培地に懸濁したのち、90mm の滅菌済みプラスチックシャーレ 3 枚に分注し、それぞれ IF 磁界ばく露用、疑似ばく露用、対照とする通常の CO_2 培養器用として、3 箇所で 3 日間培養し、磁界ばく露群では IF 磁界をばく露しながら内在性のエストロゲンを枯渇させた。3 日間培養後、それぞれの細胞を回収し、6well のアッセイプレートに 6.0-7.0×10^6cells/well で播種し、24 時間のばく露試験と同様の処理によりそれぞれの細胞での試験プレートを作成した後、再度それぞれの培養環境下で 24 時間培養した。その後、24 時間のばく露試験と同様にルシフェラーゼ活性を行った。

2．DNA メチル化に対する磁界ばく露の影響評価

IF 磁界に関しては、安全性評価に関する研究報告が極めて限られるため、有害性の評価の中でも特に管理上の大きな要素となる発がん性の有無を調査することは重要である。そのため、本研究ではこれまでに小核、遺伝子変異を対象として、変異原性の評価を行った。その結果、遺伝子修復能力の異なる培養細胞を用いた増殖に対する影響、培養細胞を用いた小核試験ならびに *HPRT* 遺伝子変異試験いずれにおいても、磁界ばく露による影響を認めなかった。したがって、一般的な安全性評価における遺伝毒性は認められないと考えられる。ただし、近年のがんの研究においては、直接的な遺伝子の DNA 配列の変化、欠失に加え、遺伝子の制御部位のメチル化やタンパク質をコードしない種々のノンコーディング RNA が大きな要因となっていることも示され、機能性遺伝子の構造や配列などと生物の関係を研究するジェネティックスに対し、個体内での後天的な修飾等による変化を研究するためエピジェネティックスと呼ばれ、様々な研究が進められている。

本節では、DNA メチル化に着目し、ゲノム中のメチル化度について評価を行った。

2.1 細胞株

DNA メチル化の評価には、チャイニーズハムスターの肺由来の細胞である CHL/IU 細胞と、エストロゲン応答の評価に用いたヒト乳がん由来細胞の MCF-7 細胞を用いた。

2.2 IF 磁界へのばく露

凍結保存した細胞を、CHL/IU 細胞では αMEM 培地に、また MCF-7 細胞ではインシュリンを含む MEM 培地を用いて培養し、一度継代した細胞を試験細胞とした。

この細胞を各々の新しい培地に懸濁し、1×10^4cells/ml の濃度に調整し、角型の培養プレート（No. 166508、Nunc）を 3 枚作成し、試験プレートした。それぞれのプレートを IF 磁界ばく露用、疑似ばく露用、対照とする通常の CO_2 培養器用の 3 箇所に静置した。培養は 37℃、5% CO_2、湿度 100%のインキュベーター内で 3 日間行い、IF 磁界

ばく露群では磁界ばく露を行った。

2.3 DNA メチル化度の測定

3 日間培養した細胞を回収し、全血・組織用 DNA 抽出キット（DNeasy, Qiagen）を用いて DNA を回収した。回収した DNA をを用い、全 DNA 中の 5-mC を ELISA 法 (Methylamp Global DNA Methylation Quantification Ultra kit, EPIGENTEK)により測定し、全 DNA 中の 5-mC 量をメチル化の指標として評価した。

3．細胞分化に与える影響の評価

中間周波数磁界については、WHO も指摘している通り研究例自体が少なく、健康リスクを評価するためには幅広い知見が必要とされている。特に本研究で対象とする IH 調理器や鉄道の主インバーターなどに起因する 20kHz 帯の正弦波磁界の場合、調理作業に起因する妊産婦のばく露なども考慮するべきである。本研究では動物実験班により中間周波磁界の催奇形性が評価されているところであるが、異なる試験系でも評価を行うことにより、より信頼性の高い結果が得られるため、本節では、特に胎児の発生に関連する細胞の分化に対する影響評価を行った。

個体の発生は、受精した卵細胞から、細胞が分裂・増殖すると共に、プログラムされた通りに細胞が分化し、様々な器官を形成する過程を経る。本研究では、個体の発生に伴う分化に比較的近い条件で影響評価が可能な動物代替試験法である Embryonic Stem Cell Test（EST）法に準じた方法で、IF 磁界が細胞分化に与える影響の評価を行った。EST 法では、マウス ES 細胞を用いる。マウス ES 細胞は胚盤胞に戻し発生させることでマウス個体中の全ての細胞に分化する能力を持ち、培養によっても心筋細胞、神経細胞その他多くの種類の細胞へと分化させることができる。EST 法では、このマウス ES 細胞が培養皿中で心筋細胞に分化する過程で化学物質などにばく露し、分化した心筋細胞の拍動を指標として ES 細胞において、発生毒性に関連する細胞分化への影響を評価する。この試験は、未分化細胞が分化する過程で影響を評価するため、動物を用いる発生毒性試験において、評価すべき対象をばく露または投与する感受性の高い期間である器官形成期（ラットにおいて受精後 7 日～17 日）と比較して、似通った細胞の分化過程を評価し、発生毒性の評価を補完するものである。

3.1 細胞株

細胞株として、マウス由来の ES 細胞 D3 株（ATCC CRL-1934）用いた。本細胞を Geltrex マトリックス（Life Technologies 社）でコーティングしたフラスコ中で、15%KSR（Life Technologies 社）および mLIF を含む Knockout DMEM（Life Technologies 社）培地で 37℃、5%CO_2 条件下でフィーダーレスに馴化し、試験に用いた。試験に用いる際の前培養は、同じ培養液を用いて行った。一方、ばく露試験には FBS を 20%含む DMEM 培地を用いた。

3.2 細胞増殖測定

細胞の濃度が 1×10^3 cells/ml となるように細胞懸濁液を調整し、96 穴細胞培養プレートに 50μl/well（50cell/well）ずつ分注した。炭酸ガスインキュベータ内で 2 時間培養した後、各ウェルに培地 50μl を添加し、IF 磁界または陽性コントロールの 5-Fluorouracil

（最終濃度 0.05μg/ml）に 10 日間ばく露した。培養開始時および 3、5、10 日後に WST-1(Premix WST-1、 TAKARA 社)を各ウェルに 10μl ずつ添加し、2 時間反応させた。反応後、生成した色素を 450nm で測定し、バックグラウンドとして 630nm の吸光度を吸光マイクロプレートリーダー（Benchmark、Bio-Lad 社）を用いて測定した。450mm の吸光度と 630nm の吸光度の差分を取り、正味の吸光度として各群の比較を行なった。1 回の測定につき、各細胞の吸光度は少なくとも 6 ウェル以上とし、2 回の測定から平均値を算出した。

3.3 細胞分化試験

細胞の濃度が 3.75×10^{3}cells/ml となるように細胞懸濁液を調整し、丸底型 96 穴細胞培養プレート（リピジュアコートプレート、Thermo Scientific 社）に 200μl/well（750cells/well）ずつ分注した。37℃、5% CO_2 条件下で 5 日間培養を行い、胚様体を形成させた。数日ごとに培地を交換し、培養 5 日目に 1 ウェルに 1 つの胚様体が入るよう、ゼラチンコートした 24 穴細胞培養プレートに胚様体を移し、さらに 5 日間培養を行った。培養期間 10 日の間、21kHz、0 または 3.9mT の IF 磁界に連続ばく露した。陽性コントロールには、5-Fluorouracil を 0.05μg/ml 含む培地を用いた。培養 10 日目に各ウェル中の細胞塊を顕微鏡により観察し、心筋に分化した細胞の拍動の有無を確認した。全細胞塊数に対する拍動する細胞塊数の割合を算出し、この割合を指標として、細胞分化に与える IF 磁界の影響を評価した（図２）。

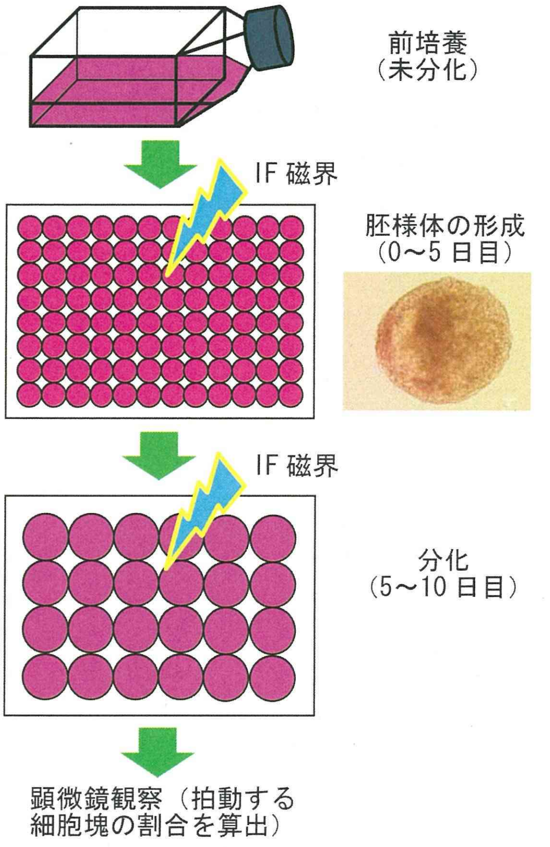


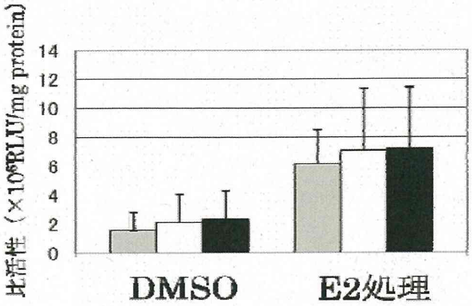
図２　細胞分化試験の概要

C. 研究結果

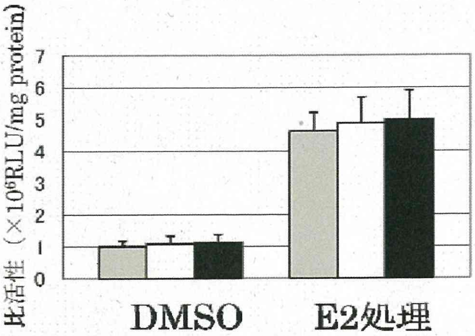
4．エストロゲン応答性変動評価

磁束密度 0(Sham), 2, 3, 3.9mT の IF-MF による 24 時間のばく露を 37℃、5% CO_2、湿度 100%のインキュベーター内で行った (n=3 以上)。図３~６にそれぞれのばく露条件における IF 磁界ばく露によるルシフェラーゼ遺伝子の発現を測定した結果を示す。2 標本 *t* 検定を行った結果、DMSO 群、E2 処理群において、ばく露群、非ばく露群間で、最大 3.9mT までのいずれのばく露条件であっても、有意差は認められなかった。有意水準は 5%で検定した。

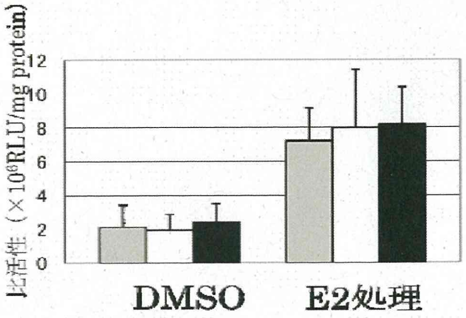
長時間ばく露試験では、2mT における予備的な検討までを行った。結果を図 7 に示すが、現在のところ生物学的に有意と考えられるような影響は認められていない。



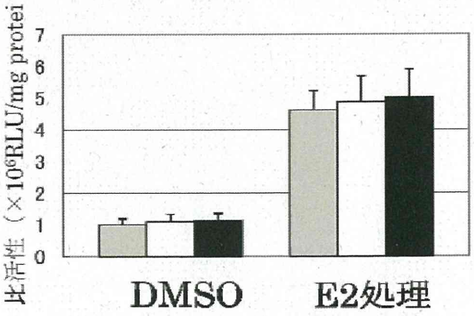
■：対照群　・：疑似ばく露群
■：IF 磁界ばく露群（磁界なし）
図3　ばく露装置内で 24 時間培養した細胞中のエストロゲン応答性のルシフェラーゼ遺伝子の発現（IF 磁界非ばく露、疑似ばく露、対照の通常の培養器）



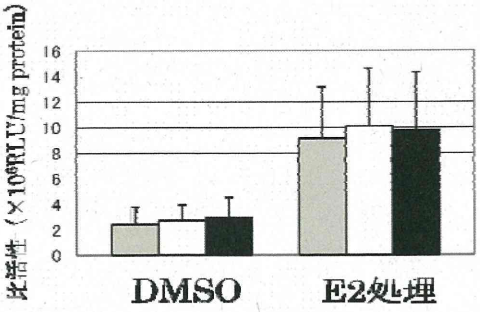
■：対照群　・：疑似ばく露群
■：IF 磁界ばく露群
図6　3.9mT の IF 磁界への 24 時間のばく露下でのエストロゲン応答性のルシフェラーゼ遺伝子の発現（IF 磁界非ばく露、疑似ばく露、対照の通常の培養器）



■：対照群　・：疑似ばく露群
■：IF 磁界ばく露群
図4　2mT の IF 磁界への 24 時間のばく露下でのエストロゲン応答性のルシフェラーゼ遺伝子の発現（IF 磁界非ばく露、疑似ばく露、対照の通常の培養器）



■：対照群　・：疑似ばく露群
■：IF 磁界ばく露群
図7　2mT の IF 磁界への 4 日間のばく露下でのエストロゲン応答性のルシフェラーゼ遺伝子の発現（IF 磁界非ばく露、疑似ばく露、対照の通常の培養器）



■：対照群　・：疑似ばく露群
■：IF 磁界ばく露群
図5　3mT の IF 磁界への 24 時間のばく露下でのエストロゲン応答性のルシフェラーゼ遺伝子の発現（IF 磁界非ばく露、疑似ばく露、対照の通常の培養器）

２．DNA メチル化度の評価

今年度は CHL/IU 細胞と MCF-7 細胞それぞれのメチル化度に関する検討として、CHL/IU 細胞における 0mT と 2mT の条件を予備的に検討した。図８には 0mT での装置環境の検討結果、また図９には 2mT ばく露での予備的な結果を示す。現在まで、有意な影響は認められていないが、測定された値は測定キットの下限に近く、そのため実験館も含め誤差が大きい結果となっている。今後、測定する DNA 量の検討、ばく露条件

を変えた試験サンプルの調整を行い、測定を進めると同時に、試験に供する細胞についても今回用いた細胞に加え、ヒト正常細胞を用いた検討を行う予定である。

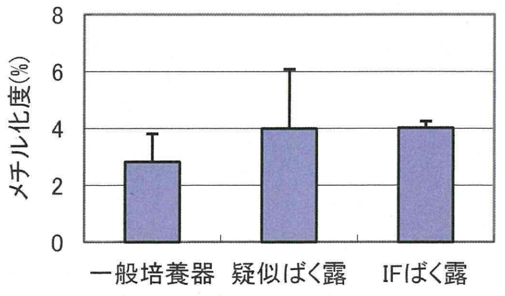


図８　ばく露装置内で培養した CHL/IU 細胞におけるゲノム DNA のメチル化度（IF ばく露群に磁界は非ばく露）

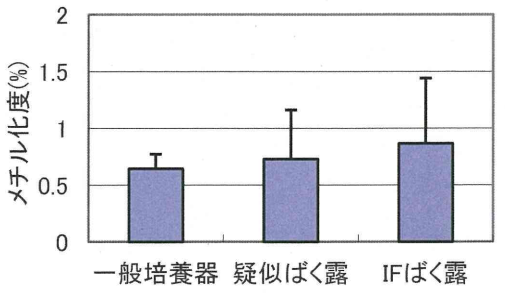


図９　IF 磁界 2mT 下で培養した CHL/IU 細胞におけるゲノム DNA のメチル化度

３．細胞分化に与える影響評価

3.1 マウス ES 細胞の心筋への分化を指標とした細胞分化に対する影響

図１０に分化試験の結果を示す。0mT の結果から、ばく露装置で培養した細胞群と疑似ばく露装置で培養した細胞群では、拍動する細胞塊の割合に統計的に有意な差がないことがわかった（図１０ (a))。このことは、IF 磁界ばく露装置と疑似ばく露を行う装置とでは、培養条件がほぼ同等であることを示す。この結果を踏まえて、IF 磁界のばく露実験を行った。磁束密度 3.9mT の IF 磁界ばく露の結果、IF 磁界ばく露群と疑似ばく露群では統計的に有意な差は観察されなかった（図１０ (b))。

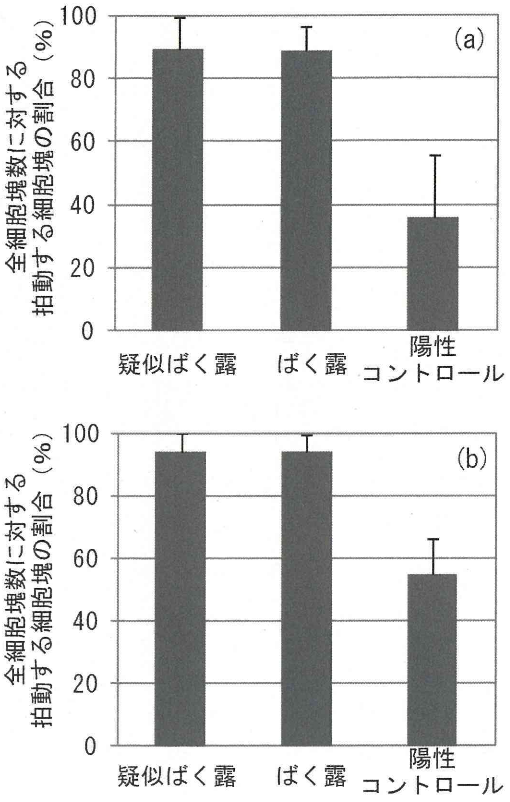


図１０　心筋への分化に与える IF 磁界の影響評価 (a) 0mT, (b) 3.9mT

また、培養 5 日目の胚様体の大きさや培養 10 日目の細胞塊の大きさを顕微鏡観察したところ、陽性コントロール群は疑似ばく露群と比較して顕著に小さかったのに対し、IF 磁界ばく露群との比較では、ほとんど差が見られなかった。

以上の結果より、IF 磁界ばく露は、マウス ES 細胞の心筋への分化に影響を与えないことが示された。

3.2 マウス ES 細胞の増殖への影響

今年度は、予備的な検討として、ばく露装置（0mT）と疑似ばく露装置において、細胞増殖に違いがないかどうか確認を行った。図１１に細胞増殖の結果を示す。この

結果、ばく露装置と疑似ばく露装置では、細胞増殖に差が見られないことが確認された。しかし、今回行った実験条件では、各ウェル間でデータのばらつきが大きかった。このことは、細胞の初期添加量 50cells/well と少なかったことが原因と考えられるため、今後細胞の初期添加量を増加させてばく露実験を行うことが必要と考える。

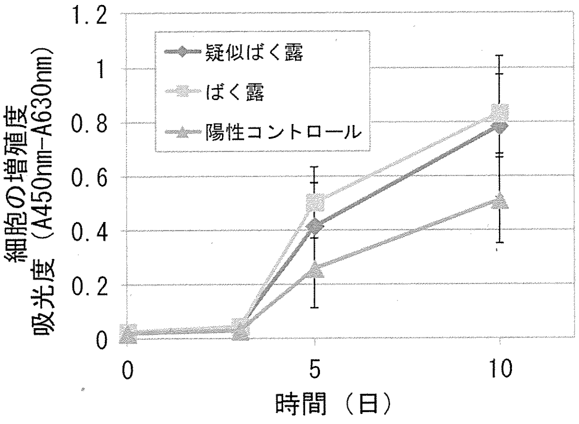


図１１　細胞増殖の結果

４．考察

人体ばく露防護のための国際的なガイドラインとして、国際非電離放射線防護委員会（ICNIRP）や IEEE（米国電気電子技術者協会）などが発行されている。特に ICNIRP のガイドラインは、欧州連合の指針となっているほか、日本においても同ガイドラインに準拠した磁界規制が電力設備に関して導入された。2010 年に改訂されたガイドラインでは、本報告で検討した 21kHz の磁界ばく露に関しては、参考レベルとして一般環境で 27μT、職業環境で 100μT が示されている。ただし、この ICNIRP ガイドラインは、低周波磁界については神経刺激などの影響を防止するために策定されたものであり、その他の影響については、科学的根拠が確立していないため、対象としていない。その理由としては、商用周波数の磁界については、研究結果が一貫していないことが指摘されているが、IF 磁界については、充分な研究が行われていないことが挙げられている。本研究は、日本において普及が進む IH 調理器などから漏洩する 20kHz 帯の IF 磁界について、一般の関心も高いものの、研究が限られ科学的不確かさも高い、発がん性、内分泌かく乱性、催奇形性について、科学的な不確かさを減らし、必要な情報を得るために研究を実施している。

今年度は、細胞を用いた IF 磁界ばく露の生物影響評価として、エストロゲン応答性に関する影響、細胞分化に及ぼす影響を主として進め、また DNA メチル化に関する予備的な検討を行った。その結果、本研究では、IF 磁界（21kHz）が、上記の ICNIRP のガイドラインにおける一般環境の磁界参考レベルの 144 倍となる最大 3.9mT の強度であっても、エストロゲン応答性に関して、24 時間ばく露では影響は認められず、マウス ES 細胞の分化への影響も認められなかった。また、予備的に実施したエストロゲンによる遺伝子の長期的応答性を考慮した長期ばく露による影響、DNA メチル化についても顕著な影響は認められていない。今後、これらの試験データを蓄積し、3.9mT までの結論を得る予定である。

D. 結論

本研究により、21kHz、最大 3.9mT の IF 磁界には、ヒト乳がん由来細胞におけるエストロゲン応答性への短時間ばく露の影響がないこと、マウス ES 細胞の分化に対する影響がないことを明らかにし、IF 磁界ばく露の内分泌かく乱性や催奇形性は無いか、

極めて低いことを明らかにした。

今後、エストロゲン応答性への長時間ばく露の影響、DNAメチル化に関する影響を評価し、これまでの試験データと合わせ、発がん性、内分泌かく乱性、催奇形性についての *in vitro* での総合的な評価を行う。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

吉江幸子、池畑政輝、鈴木敬久、和田圭二、和氣加奈子、酒井泰二、中園聡、多氣昌生、大久保千代次、哺乳類細胞を用いた中間周波磁界の変異原性評価、第84回産業衛生学会、2011年5月、東京

M. Ikehata, S. Yoshie, T. Hayakawa, Y. Suzuki and M. Taki, EMFs in Railway system -Evaluation of Biological Effects and Current Trends of its Health Risk Assessment-, WCRR2011, May 2011, Lille.

M. Ikehata, K. Wada, Y. Suzuki, S. Yoshie, T. Sakai, K. Wake, S. Nakasono, M. Taki and C. Ohkubo, Evaluation of Genotoxic Effects of Intermediate Frequency Magnetic Field in in vitro Micronucleus Assay Using CHL/IU Cells, XXX URSI-GA, Aug. 2011, Istanbul

S. Yoshie, Y. Suzuki, K.Wada, K. Wake, T. Sakai, S. Nakasono, M. Taki, C. Ohkubo, and M. Ikehata, Estimation of Mutagenic Effects of Intermediate Frequency Magnetic Field using mammalian cells, XXX URSI-GA, Aug. 2011, Istanbul

Y. Ogasawara, M. Ikehata, R. Sakaguchi, S. Awano, S. Yoshie, C. Ohkubo and K. Ishii, Effects of exposure to intermediate frequency magnetic fields on gene expression of estrogen-regulated gene in MCF-7 cells, XXX URSI-GA, Aug. 2011, Istanbul

M. Ikehata, Evaluation of Biological Effects of Magnetic Fields -from static to intermediate frequency- ISAP2011, Oct. 2011, Jeju.

小笠原　裕樹、坂口　涼、粟倉　志歩、石井　一行、池畑　政輝*、吉江　幸子、大久保千代次、エストロゲン応答性レポータージーンアッセイを用いた中間周波磁界の生物影響評価、マグネティックス研究会、MAG-11-080、2011年11月、我孫子

F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

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）
分担研究報告書

居室における中間周波電磁界に関する研究
（実験動物を対象とした研究）

分担研究者　牛山　明　　国立保健医療科学院生活環境研究部　上席主任研究官
分担研究者　欅田　尚樹　国立保健医療科学院生活環境研究部　部長

研究要旨

IH 調理器の普及に伴って、国民が中間周波電磁界にさらされる機会が増加している。IH 調理器は調理者が機器に近づいて調理作業を行うことから、その健康影響が懸念されている。本分担研究においては、実験動物へ 21kHz の磁界をばく露するための装置の開発し、妊娠ラットの胎児器官形成期にあたる妊娠７日〜17 日に１日１時間、腹部局所ばく露をおこなった際の胎児への発生への影響を調べた。腹部表面の中心磁束密度で国際ガイドラインの約 400 倍にあたる 10.3mT の磁界ばく露をおこなっても奇形の発生率に影響は見られなかった。

A. 研究目的

電磁界の生体作用は、低周波領域では神経や筋の刺激作用が支配的であり、高周波領域では生体の組織で電力エネルギーが吸収されることによって生じる温度上昇（熱作用）が支配的であると言われる。

中間周波（intermediate frequency, 以下 IF と略）電磁界は、これらの間に挟まれる周波数帯、すなわち 300Hz から 100kHz 程度の周波数の電磁界であり、刺激作用を持つ低周波領域と、熱作用を持つ高周波領域の中間に属する。これまで、この周波数領域においては、工業用の誘導加熱等を除けば、生活基盤を支える技術には応用されてこなかったため、その生体影響に関する研究についても余り行われてきていなかった。しかしながら近年、20kHz〜50kHz の電磁界を誘導加熱に利用する家庭用 IH 調理器が普及し、その健康影響について心配する市民も多い。その懸念に答えるためには科学的根拠に基づくデータを示す必要があるが、しかしながらこの周波数帯の電磁界に関しては、これまで研究対象としての関心が低く、十分な科学的な知見が存在していないという現状がある。2007 年に発刊された WHO の超低周波電磁界に関する環境保健クライテリア（EHC238）[1]においても以下の通りに記載され、研究の推進が必須とされている。「この領域のデータが欠落している現状を考慮し、すべてを包括する必要事項として、通常は 300Hz〜100kHz とされる中間周波電磁界に関する更なる研究が必要である。健康リスク評価に必要とされる知識ベースの極少数しか集まっておらず、

既存の研究の多くは結果が一貫していないので、更なる具体化が必要である。健康リスク評価のための十分な IF データベースを構成するための一般的な要件には、ばく露評価、疫学研究、ヒト実験室研究、動物および細胞（*in vitro*）研究が含まれる」（下線は分担研究者が加筆）

以上を背景に、本分担研究では最終的に中間周波磁界の動物に対する影響の有無を明らかにし、中間周波磁界の健康影響に関して科学的根拠の蓄積に資することを目的とした。

今年度は、平成 22 年度に電気工学班との協働作業によって開発した局所ばく露装置を用いて、中間周波磁界を妊娠ラットの腹部にばく露し、胎児への影響を調べた。先行研究においては、VDT（ビデオディスプレイターミナル）から発せられる磁界を模した 20kHz 前後の鋸歯状磁界によるばく露実験が多くなされている。マウスを用いた Floren ら[2]の実験では胚の吸収や低体重胎児の増加などの磁界影響が示唆されている。しかしながら Huuskonen ら[3][4]によって行われた再現実験ではその結果は再現されないと報告されている。また、Dawson ら[5]の研究では交尾前も含めて３種類の異なる期間、雌雄両性のラットを 10kHz の磁界にばく露し、いずれの実験でも生殖毒性に差がないことを示している。韓国の Lee YS ら[6,7]は 20kHz で 6.5μT (1998 年版 ICNIRP のガイドライン値に相当[8]）の鋸歯型波形を持つ磁界に対してラットを用いてその影響を調べている。彼女らの報告[6]によれば、１日８時間のばく露を妊娠期間中におこなっても、仔数の変化や仔の奇形に影響はなかった。 最近の研究[7]においては、ICR マウスを用いて、最大 30μT のばく露を行い、妊娠マウスの胎児の発生、ならびに性別等には全く影響を与えなかったことを示している。

しかしながらこれらの先行研究は IH 調理器を念頭に置いたものではないため、電力中央研究所の西村らは、IH で使用される正弦波形（実際の IH 調理器では正弦波形に一部低周波による変調がされている）を用いて実験を行い報告している[9, 10]。西村らは 20kHz の正弦波形の磁界を発生するばく露装置を使用し、0.2mT の正弦波磁界を１日 22 時間ラットの妊娠７日目から 17 日目までばく露した際の影響を調べ、胎児の外表異常、内臓異常、骨格異常の出現率を始め、諸指標においてもばく露の影響が見られなかったことを報告している。しかしながら、妊婦が IH 調理器の使用する際には腹部を器具に接近あるいは密着させて調理器を使用することを考えると腹部への局所ばく露を行うことも重要であると考えられる。また、その場合、腹部を中心に不均一な磁界にさらされるため、精度の高いドシメトリに基づいた評価を行うことが必要である。

本研究では平成 22 年度に電気工学班と協働して、21kHz の正弦波形の強い磁界を局所をばく露することが可能なばく露装置を開発した。そして今年度は本装置を用いたドシメトリ解析を行う一方で、妊娠ラットを用いて、現行の ICNIRP ガイドライン値[11]より 400 倍高い磁束密度である 10.3mT の磁界（ラットの腹部中心における平均）を１日１時間のばく露を行った際の胎児への影響を調べた。

なお、生殖発生毒性を評価するための試験として OECD 毒性試験ガイドラインの催

奇形性試験の試験法においては、ラットの使用を推奨し、交配確認後、器官形成期にあたる期間（ラットでは妊娠7日〜17 日）で対象物質を毎日投与することとしている。

本研究では、このうち、ラットを用いて器官形成期に中間周波磁界をばく露することでヒトへの健康リスクに関して予知的・探索的な研究を行うことを目的とする。

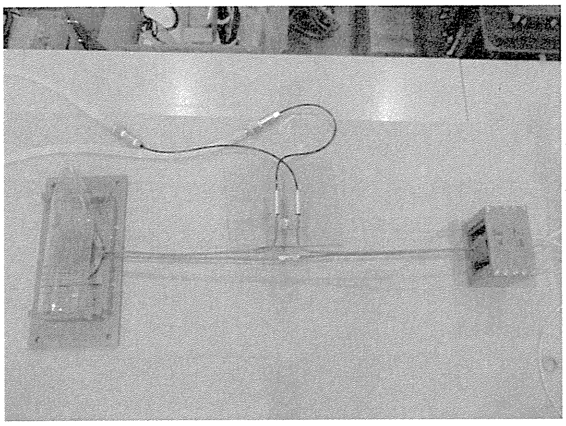
B. 方法

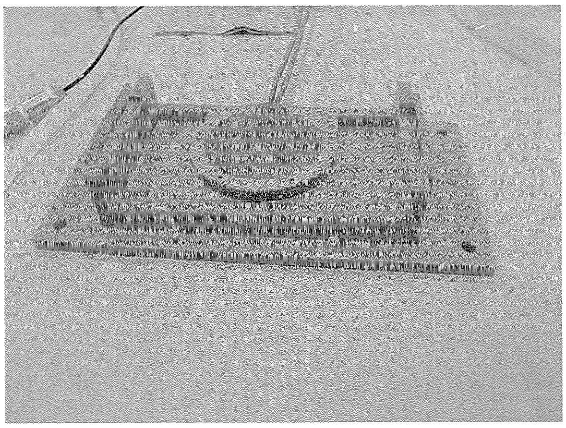
1. 磁界ばく露装置

実験動物用中間周波局所ばく露装置は、平成 22 年度の本補助金を用いて製作したものを用いた（図１）。コイルは直径約 10cm の円形であり、その中央を中心として強い磁界を発生することが可能なものである。コイルに通電した際に生じる熱については、コイル管内を冷却水循環装置（東京理化器械:CA-1114B）を用いて 20℃の冷却水を強制循環させせることにより制御できるようになっている。コイルはバリア区域内の動物実験専用室に設置した。飼育室内は温度が 23±1℃、湿度 50±20%となるように制御した。今回はばく露群用のコイルだけでなく別室に設けたシャムばく露群用のコイルにも同様の冷却水循環装置を接続し、冷水を流すことでポンプからの微振動なども同条件になるようにした。

2. 動物

実験に使用した動物は、Slc:SD(Splague Dawley)系統のラットで日本エスエルシー(株)から購入した。購入は実験開始日の 1 週間以上前におこない、実験（交配）開始日に雄は 12 週齢、雌は 10 週齢となるように購入時の週齢を調整し、実験開始まで飼





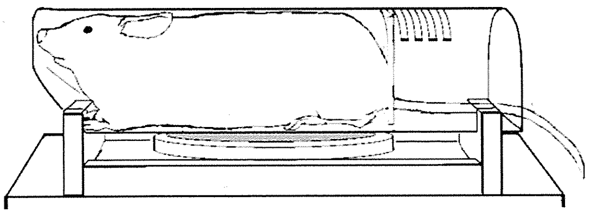


図１　磁界ばく露装置の概要

（左上）コイルとコンデンサ、（右上）コイル拡大写真、（下）ラットのばく露中の模式図

育室内で馴化した。動物の飼育は、アイソレーションラック（Super Rat 1400™夏目製作所(株)）を用いて、飼育中は専用ケージに１匹ずつ動物をいれ飼育をおこなった。飼育中、塩素を添加した水、ならびに飼料（放射線滅菌飼料 FR-2、10kGy）は自由摂取とし、床敷きにはアルファドライを使用して週１回の頻度で床敷きを交換した。

3. 交配と群分け

交配は以下とおり行った。10 週齢の雌ラットの交配適期を判定するために、ラット用膣インピーダンス・チェッカー（MK-11、室町機械(株)）を用いて、製品のプロトコールに従い膣インピーダンス値を測定した。その膣インピーダンス値が 3.0 を超える値を示した雌は交配適期であると判断し、その時点から 12 週齢の雄ラットを 1:1 で同居させた。

翌朝、膣スメアをとり、ギムザ染色をし顕微鏡下で精子の有無を調べ、精子を確認した場合を交配確認日（妊娠 0 日）とした。交配が確認された場合は、同居を終了させ、以後雌１匹で飼育を継続した。交配成立後、動物は毎日体重の測定、目視に健康観察をおこなった。交配は基本的に３匹おこない、全て交配が成立した場合には３匹を無作為にシャム群、ばく露群、ケージコントロール群に割り付けをおこないその３匹を１グループとして扱った。交配成立したラットが１～２匹であった場合は翌日も交配をおこない、３匹に達するように調整を行った。

4. 磁界ばく露

妊娠を確認した動物は飼育室において飼育を継続し、毎日午前中に体重を記録すると共に、妊娠７日～17 日まではばく露の操作を行った。ばく露群及びシャム群の動物は専用のアクリル製保定器にラットを保定した上でばく露装置のコイルの上に固定し、１時間のばく露またはシャムばく露を行った（図１）。ばく露条件はばく露装置の項に述べたとおりである。１時間のばく露終了後は直ちにラットをもとのケージに戻し、無用な拘束を行わないようにした。なお、ケージコントロール群は保定器に入れずにケージ内で飼育を継続した。

ばく露期間中は毎日１回体重を測定および動物を観察し外見上の健康状態を確認した。

5. 血液学的検査

雌親は妊娠 20 日に解剖を行った。動物はイソフルラン吸入麻酔により前麻酔をおこない、ケタミン-キシラジン混合液により深麻酔をおこなった。開腹し心採血をおこない、血液は直ちに血液生化学分析用にヘパリンリチウム含有微量採血管（ヘルスウェーブ社）、及び血球分析用に EDTA 含有微量採血管（ヘルスウェーブ社）にそれぞれ 300 μl 程度ずつ分注し混和した。

6. 血液生化学の分析

ヘパリンリチウム含有微量採血管に採取した血液は直ちに動物用・生化学自動分析装置 VS2（アバクシス社）を用いて分析した。分析には、事前にすべての試薬や希釈液などがセットされた試薬ローターを用いるが、本研究においては Comprehensive Diagnostic Profile（#500-0038）ローターを用いて、以下の主要 14 項目の定量を行った。アルブミン（ALB）、アルカリホスファ

ターゼ（ALP）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT），アミラーゼ（AMY），尿素窒素（BUN），カルシウム（CA），クレアチニン（CRE），グロブリン（GLOB，グルコース（GLU），カリウム（K+），ナトリウム（NA+），リン（PHOS），総ビリルビン（TBIL），総タンパク質（TP）

7．血球分析

EDTA 含有微量採血管に採取した血液は直ちに動物用・自動血球計測装置 HM2（アバクシス社）を用いて分析を行った。本装置で測定した指標は以下の通りである。

白血球関連：総白血球数、リンパ球数、単球数、顆粒球数、リンパ球%、単球%、顆粒球数%

赤血球関連：赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、赤血球分布幅

血小板関連：血小板数、血小板%、平均血小板容積、血小板分布幅

8．剖検

雌親は生化学分析と血球分析のための採血の後、脱血させ胸腺を摘出した。また、開腹しあとで、胎児の空間的な位置情報がわかるように写真撮影・記録を行った。その後子宮を観察し胎児数、着床痕数を調べた。また胎児は生存胎児を対象として、胎児の表面の水分をガーゼで吸収したのちに体重を測定した。摘出した胎児は、基本的に子宮内での並び位置に基づき１匹ずつ交互に外表・内臓検査用、骨格検査用に二分した。

9．外表検査・内臓検査

外表検査・内臓検査用の標本については摘出胎児を 10%中性緩衝ホルマリン液（和光純薬）に浸漬し、数日後にブアン固定液（和光純薬）に交換し、さらに数日後飽和ピクリン酸水溶液に交換して剖検に供した。

10．骨格検査

胎児の骨格をエタノールで固定し、その後アルシアンブルー、アリザリンレッド S による染色を常法に従って行い、最終的にグリセリンに浸漬した骨格標本を作成し検査に供した。

なお、外表検査、内臓検査、骨格検査は外部の専門機関に検査を委託し、作業者に対しては動物のばく露条件を伏せて盲検法にて検査を実施した。

11．動物実験の倫理的配慮

本研究は、国立保健医療科学院動物実験委員会の承認を得て実験をおこなった。実験の実施にあたっては、関連法令、指針を遵守しておこなった。

12．統計処理

得られた数値データに関しては、一元配置分散分析により群間差の有無について調べ、群間差があった場合は、ケージコントロール群に対しての有意差を検出した。統計処理には統計パッケージソフト PASW Statistics(SPSS) ver.18（日本 IBM）を使用した。

C．結果

1．母獣への一般毒性評価と繁殖成績

今年度はばく露群、シャムばく露群、ケ

ージコントロール群各 11 匹計 33 匹を実験に供した。ばく露群では周波数 20.8kHz、コイル中心磁束密度（ﾗｯﾄの腹部中心表面）は 10.30 mT の正弦波形の磁界を胎児の器官形成期である妊娠 7 日～17 日の毎日午前中に 1 時間のばく露を行った。ばく露中、母獣の健康状態は良好であった。剖検を行った妊娠 20 日目の母獣から採血をおこない、その血液生化学分析、および血球分析を行った。その結果を表 2 および表 3 に示した。その結果、検討した全ての項目において群間の差は見られず、ばく露の影響はないものと考えられた。

解剖日における各群の母獣の体重を表 3 に示した。ばく露群、シャムばく露群においてはケージコントロール群より体重が少ない傾向が見られたが、統計的有意差は見られなかった。体重が少ない理由としてはばく露を行う際に 1 時間保定をおこなう操作が動物にとって若干のストレスになっている可能性がある。

また、動物に極度なストレスがかかると胸腺が萎縮することが知られているため本研究においても胸腺重量を測定した。その結果、表 3 に示すように胸腺も若干重量が軽い傾向が見られたが、有意差は見られなかった。本研究では、動物の腹部に局所的に磁界をばく露した際の影響を明らかにすることを目的としているため、拘束のストレスがあったとしても充分に許容できる範囲のものであると考えた。

母獣 1 匹あたりの胎児数ならびに胎児の平均体重についてまとめた。胎児数については、表 3 に示したとおり、ばく露群は 12.27±1.62 匹、シャムばく露群は 13.64±1.96 匹、ケージコントロール群は 12.73±1.95 匹であり、群間差は認められなかった。また、胎児 1 匹あたりの重量は、表 4 に示したとおり、ばく露群では 3.76±0.49g（n=135）、シャムばく露群では 3.78g(n=151)、ケージコントロール群では 3.85±0.46g（n=140）であり、こちらも群

表1　解剖時のラットの体重、母獣あたりの胎児数、母獣の胸腺重量

	ばく露	シャム	ケージコントロール
体重	335.64 ± 26.00	345.82 ± 23.62	354.09 ± 28.64
胎児数	12.27 ± 1.62	13.64 ± 1.96	12.73 ± 1.95
胸腺	0.39 ± 0.14	0.39 ± 0.07	0.44 ± 0.11

単位g （mean±SD）

表2　解剖日の母獣の血液生化学分析結果

		(unit)	ばく露群	シャム群	ケージコントロール群
ALB	ｱﾙﾌﾞﾐﾝ	g/dL	3.56 ± 0.47	3.40 ± .0.31	3.65 ± 0.26
ALP		g/dL	184.45 ± 57.27	144.18 ± 52.59	156.36 ± 62.39
ALT	GPT	g/dL	54.55 ± 9.80	47.45 ± 7.85	51.27 ± 9.73
AMY	ｱﾐﾗｰｾﾞ	U/L	1277.7 ± 108.2	1174.0 ± 107.2	1211.4 ± 168.0
TBIL	総ﾋﾞﾘﾙﾋﾞﾝ	U/L	0.23 ± 0.05	0.24 ± 0.05	0.23 ± 0.05
BUN	尿素窒素	U/L	17.73 ± 2.69	16.09 ± 2.70	17.82 ± 4.42
CA		mg/dL	10.26 ± 0.48	10.06 ± 0.35	10.23 ± 0.38
PHOS	ﾘﾝ	mg/dL	5.85 ± 0.85	6.17 ± 0.76	5.69 ± 0.82
CRE	ｸﾚｱﾁﾆﾝ	mg/dL	0.45 ± 0.08	0.42 ± 0.08	0.42 ± 0.11
GLU	ｸﾞﾙｺｰｽ	mg/dL	137.18 ± 23.48	141.64 ± 26.10	141.45 ± 14.71
NA		mg/dL	133.18 ± 2.18	134.18 ± 1.78	135.00 ± 2.00
K		mg/dL	4.75 ± 0.64	4.79 ± 0.75	5.05 ± 0.60
TP	総ﾀﾝﾊﾟｸ	mmol/L	5.93 ± 0.49	5.78 ± 0.31	5.96 ± 0.21
GLOB	総ｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ	mmol/L	2.35 ± 0.20	2.37 ± 0.16	2.30 ± 0.21

表3 解剖日の母獣の血液血球分析結果

		(unit)	ばく露群			シャム群			ケージコントロール群		
WBC	白血球	10^6/mL	7.32	±	2.31	7.03	±	2.37	7.28	±	2.36
LYM	リンパ球	10^6/mL	4.12	±	1.39	3.52	±	1.46	4.02	±	1.41
MON	単球	10^6/mL	0.52	±	0.19	0.45	±	0.14	0.56	±	0.26
GRA	顆粒球	10^6/mL	2.68	±	1.24	3.05	±	1.08	2.70	±	0.81
RBC	赤血球	10^9/mL	6.30	±	0.28	6.53	±	0.35	6.34	±	0.36
HGB	ﾍﾓｸﾞﾛﾋﾞﾝ	g/dL	11.99	±	0.54	12.48	±	0.86	12.29	±	0.47
HCT	ﾍﾏﾄｸﾘｯﾄ	%	35.37	±	1.60	35.83	±	2.35	35.47	±	1.64
MCV	赤血球容量	fl	56.27	±	3.23	54.91	±	1.70	55.91	±	1.22
MCH	平均ﾍﾓｸﾞﾛﾋﾞﾝ量	pg	19.03	±	0.72	19.13	±	0.53	19.45	±	0.63
MCHC	平均ﾍﾓｸﾞﾛﾋﾞﾝ濃度	g/dL	33.85	±	1.15	34.88	±	1.15	34.74	±	0.72
RDWc	赤血球分布幅	%	14.13	±	0.46	14.15	±	0.57	14.25	±	0.34
PLT	血小板	10^6/ml	639.18	±	293.10	695.82	±	194.67	857.18	±	141.39
PCT	血小板%	%	0.44	±	0.20	0.50	±	0.14	0.61	±	0.13
MPV	平均血小板容量	fl	6.93	±	0.66	7.22	±	0.49	7.07	±	0.41
PDWc	血小板分布幅	%	32.30	±	1.89	33.24	±	1.23	33.29	±	0.95

表4 母獣単位での着床痕の有無

	着床痕有無		合計
	なし	あり	
ばく露群	6	5	11
シャム群	8	3	11
ｹｰｼﾞｺﾝﾄﾛｰﾙ群	8	3	11

表5 母獣単位での着床痕の個数

	着床痕数(個)				合計
	なし	1	2	5	
ばく露群	6	3	1	1	11
シャム群	8	2	1	0	11
ｹｰｼﾞｺﾝﾄﾛｰﾙ群	8	1	2	0	11

間差は認められなかった。

着床痕の有無については表4に示す通りばく露群では母獣11匹中5匹に着床痕を有し、同様にシャム群では3匹、ケージコントロール群では3匹に着床痕を有する個体が観察された。この場合のカイ二乗値は0.91 (p=0.63) であり、有意差は認められなかった。また、着床痕の個数別の母獣の分布を表5に示した。ばく露群において1個体で着床痕を5個持つものがあったが、これについては現時点では再現性がないため個体特有の他の要因によるものではないかと推測している。また、表4の着床痕以外に胎児の途中死亡例がばく露群とシャム群で各1匹ずつ確認された。

2. 胎児の外形異常

検査胎児の外表観察異常についての結果を表6および表7に示す。本研究では、全215検体を調べたが、そのうち一部の胎児に異常が認められた。異常に関しては、致死性であり発育や機能に悪影響を及ぼす永久的な構造の変化を奇形、構造的に通常の範囲を超えた変化であっても生存に影響しないものを変異と定義し解析した。