

11	M. Ikehata, S. Yoshie, T. Hayakawa, Y. Suzuki and M. Taki.	EMF issue in Railway systems - Evaluation of Biological Effects and Trends of Regulation in Japan.	WCRR2013			2013年
12	Sachiko Yoshie, Masateru Ikehata, Yuuki Ogawara, Kazuyuki Ishii, Yukihisa Suzuki, Keiji Wada, Kanako Wake, Satoshi Nakasono, Masao Taki and Chiyoji Ohkubo.	Evaluation of Health effect of intermediate frequency magnetic field.	WCRR2013			2013年
13	牛山明, 大谷真, 鈴木敬久, 和田圭二, 樺田尚樹, 大久保千代次	中間周波磁界の全身亜慢性ばく露影響に関する研究	第51回日本生体医工学会大会	日本生体医工学雑誌 (同プログラム抄録論文集)	Vol.50(Suppl.1), p.241. (付属CD-ROM, P1-07-1)	2012年
14	Ushiyama A, Ohtani S, Suzuki Y, Wada K, Kunugita N, Ohkubo C.	The effects of 21 kHz intermediate frequency magnetic fields on blood properties and immune systems in juvenile rats.	the 2012 Korea-Japan EMT/EMC/BE Joint Conference (KJJC-2012)	the Conference Proceedings	pp251-253	2012年
15	Ushiyama A, Ohtani S, Maeda M, Suzuki Y, Wada K, Kunugita N, Ohkubo C.	Lack of teratological effects in pregnant rats being locally exposed to their abdomen of intermediate frequency (21kHz) magnetic fields.	BioEM2013			2013年
16	Ushiyama A, Ohtani S, Suzuki Y, Wada K, Kunugita N, Ohkubo C.	The 21 kHz Intermediate frequency magnetic fields do not affect on Blood Properties and Immune Systems in Juvenile Rats	2013 CIGRE 3rd International Colloquium on Low Frequency Electromagnetic Fields (EMF-ELF 2013)			2013年

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

The investigation on the uncertainty of the induced electric field within the fetuses for the exposure apparatus with the localized magnetic field at 20kHz for pregnant rats

平井 佑樹¹
Yuki Hirai

多氣 昌生¹
Masao Taki

鈴木 敬久¹
Yukihisa Suzuki

牛山 明³
Ushiyama Akira

鈴木 伸也¹
Shinya Suzuki

和氣 加奈子²
Kanako Wake
大久保 千代次⁴
Chiyoji Ohkubo

和田 圭二¹
Keiji Wada

首都大学東京¹
Tokyo Metropolitan Univ.

情報通信研究機構²
NICT

国立保健医療科学院³
National Institute of Public Health

電磁界情報センター⁴
Japan EMF Information Center

1 まえがき

近年、中間周波数帯 [1] の変動磁界を利用する IH(Induction-Heating) 調理器などが一般家庭に普及しており、その漏れ磁界による生体への影響に関心もたれている。そのような背景から、中間周波数帯における妊娠ラットの磁界ばく露実験を計画している。本研究の目的は開発したばく露装置を用いた動物実験のために実験時での胎児内の誘導電界の不確定性を知ることである。

2 ばく露評価方法

本研究ではばく露評価の数値計算手法として、3次元インピーダンス法を用いた [2]。開発した装置のコイルは5巻きの渦型コイルで2段に重ねたものを使用している。流す電流を90A、周波数を20kHzとした。不均一組織の妊娠ラットモデル [3] を基にして簡易モデルを作成し、ドシメトリを実施した。図1にモデルの概要図を示す。これは母体、羊水、胎児の3組織で構成されている。セル数は幅×奥行き×高さが192×384×107であり、セルの格子幅が0.5mmのモデルを使用している。胎児数は10としている。図1(a)(b)にそれぞれ記号が記述された球は簡易化された各胎児である。導電率は妊娠ラットモデルの組織の比率から求めており、4-Cole-Cole分散モデル [4] に基づいている。今回、図1のxの値は簡易モデルの尾の部分から胎児cの中心までの距離であり、 $30 \leq x \leq 50$ の範囲で変位させたときの内部誘導電界の変化の大きさを検討した。また、成長による胎児の容積の変化の影響を検討しており、重量を手がかりに妊娠16日と20日でのモデルを作成し、内部誘導電界を計算した。図1に示すのは16日のモデルであり、球体の胎児の半径は16日で5.0mm、20日で9.5mmとしている。

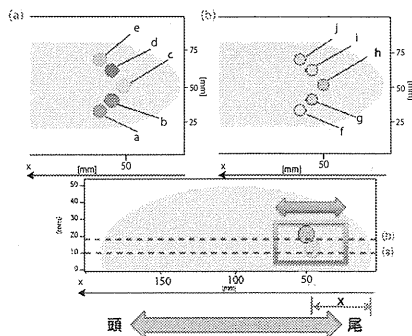


図1 簡易モデルの概要図

3 実験結果

図2に各胎児の内部誘導電界の値を示す。(a)に妊娠16日の結果を、(b)に妊娠20日の結果を示す。図2の棒グラフは $x=40$ のときの各胎児の内部誘導電界を示している。破線は全胎児平均値を示しており、エラーバーは $30 \leq x \leq 50$ の範囲で変位させたときの変動した値となっている。この結果から、ラットの位置が中心部では内部誘導電界が変動した値が大きいことがわかる。また、2cmの範囲で変位した場合の内部誘導電界の変化は各胎児2.09V/m以上となっている。妊娠16日と20日の結果を比較し、全胎児平均値が17.2%大きくなっていることがわかる。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。

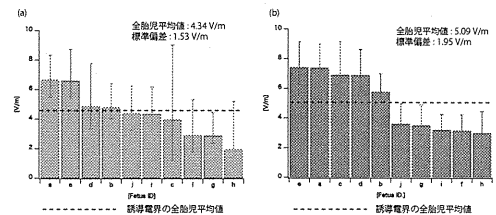


図2 (a) 妊娠期間16日での各胎児の内部誘導電界、(b) 妊娠期間20日での各胎児の内部誘導電界

4 むすび

胎児内の誘導電界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、数値計算によるばく露評価を行った。胎児の位置の不確定性の影響、成長による胎児の容積の変化の影響を検討した。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。今後、妊娠期間ごとのモデルを作成し、各モデルで位置の不確定さの検討を行う予定である。

5 謝辞

本研究は厚生労働科学研究費(H23-健危-一般-008)の助成を受けたものである。

参考文献

- [1] E.Litvak, *et al.*, Bio electromagnetics, **23**, pp.68-82, 2002.
- [2] P. Gandhi, *et al.*, IEEE Trans. Biomed. Eng., **31**, pp.644-651, 1984.
- [3] J. Wang, *et al.*, IEEE Trans MTT, **49**, pp.2008-2013, 2008.
- [4] S. Gabriel, *et al.*, Phys. Med. Biol., **41**, pp.2271-2293, 1996.

P-1-073

中間周波磁界の生物影響評価

池畑 政輝、吉江 幸子、早川 敏雄
 鉄道総研 環境工学研究部 生物工学

【はじめに】電磁界の健康影響に関する社会の関心は依然として高い。そのため、国際保健機関 (WHO) においても、科学的知見を集約し健康リスク評価が進められている。これまでに、定常磁界および周波数100kHz以下の変動磁界に関しては、健康リスク評価が終わり、環境保健クライテリアが刊行されている。これらの評価は、主として多くの研究が報告されている極低周波域 (主に電力周波数 50/60Hz) の結果に基づいていると考えられる。一方、中間周波帯 (300Hz~10MHz) の電磁界については、種々の機器・装置が既に社会に導入されているものの、依然として生物影響・健康リスク評価のための十分な実験データは蓄積されていない。我々は、中間周波の健康リスク評価に関する基礎的な知見を得るため、新規に中間周波磁界曝露装置を製作し、*in vitro*での変異原性、エピジェネティクス、ホルモン応答、分化への影響を評価していく予定である。本研究では、細胞の生育、小核頻度等に関する予備的な試験結果と開発した新規中間周波磁界曝露装置の概要を報告する。

【方法】中間周波磁界の変異原性に関する予備的な検討として、V79 細胞を用いた小核試験を行った。曝露には既設の平面型コイルを用いた曝露装置を用い、2、10、20kHzで最大1mTの磁界を曝露した。細胞を前培養後、35mmのシャーレに分注し、37℃、5%CO₂環境下で中間周波磁界を24時間曝露した。その後細胞を回収し、4穴のスライドフラスコに再度分注した後、24時間後にサイトカラシンB処理を行い、更に24時間培養した後に細胞を固定した。アクリジン染色を行い、約1000個の2核細胞、ならびにその中で小核を持つ細胞を計数することで小核誘発頻度を測定し、磁界曝露を行わず同じ処理を行った対照群の割合と比較した。磁界強度が均一かつ出来る限り強度の高い曝露空間を得るために、Meritt型の曝露用コイルならびに駆動用の電源を新規に開発した。また、曝露コイル内部に設置する樹脂製の炭酸ガス培養器を製作した。

【結果および考察】小核試験においては、各周波数における実験を6回以上繰り返し行い、対照群と磁界曝露群の間での小核出現頻度を比較したが、いずれの曝露条件であっても、磁界曝露群と対照群との間で統計学的に有意な差は見られなかった。これらのことから、本研究で検討した1mT程度の中間周波磁界は、V79細胞において小核を誘導しないことが明らかとなった。一方、新規に製作した曝露装置は、一辺が約30cmの矩形コイル4個からなり、専用電源での駆動の結果、150mm×150mm×150mmの空間内に20kHz、最大3.4mT (ICNIRPによる磁界の曝露制限に関するガイドラインの一般公衆における参考レベル (6.25 μT) の約540倍) の一様磁界 (磁界強度の偏差が±5%以内) を発生し、この空間に、90mmシャーレまたは96wellプレートを8枚同時曝露が可能な炭酸ガス培養器を組み合わせることで、細胞の培養環境を保持しながら、強い中間周波磁界に曝露可能な実験環境を構築した。現在、本曝露装置を用いて、V79細胞およびCHL/IU細胞を用い、小核試験等の基礎試験を行っている。

【謝辞】本研究では、首都大学東京 多氣昌生教授、鈴木敬久准教授、情報通信研究機構 和氣加奈子氏に多大なるご協力を頂きました。ここに深く感謝申し上げます。また、本研究の一部は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によって行われました。

P-1-074

磁場の染色体異常誘発亢進作用に及ぼすメカニズム (5)

鈴木 勇司、池畑 政輝、柳澤 裕之
 東京慈恵会医科大学環境保健医学講座

【目的】我々は職場環境や日常生活環境において磁場と種々の変異原物質に曝露する機会が多い。これまでに強静磁場に弱いながら小核誘発が認められた。また、強静磁場と化学物質の複合曝露により化学物質による小核誘発頻度が亢進した。アスコルビン酸の前投与により複合曝露により亢進した小核誘発が抑制されることも明らかにした。また、強静磁場を曝露すると肝臓に過酸化脂質が生成される (Watanabe et al.; *Industrial Health* 1997)。さらに、強静磁場がフリーラジカル誘発を修飾していることも、8-OHdGをマーカーとして明らかにしてきた。今回は、X線により誘発される小核誘発と8-OHdGを抗酸化剤により低減できるかを明らかにする。

【方法】

1) BALB/cマウスに1GyのX線を照射し、直ちに5Tの静磁場 (東芝) を24時間曝露した。大腿骨より骨髓細胞を得て、小核試験を実施すると共に、DNAを抽出してnuclease P1にて加水分解後、高感度8-OHdG Check (日本老化学研究所) にて8-OHdGを測定した。

2) マウスに、アスコルビン酸を投与し、1GyのX線を照射し、直ちに5Tの静磁場を24時間曝露した。小核誘発能と8-OHdG産生量を検討した。

【結果】

1) 1GyのX線を照射後24時間目に、有意に小核誘発頻度と8-OHdG産生が高くなった。

2) 1GyのX線を照射後、直ちに強静磁場を曝露して24時間目の小核誘発頻度と8-OHdG産生は、X線単独照射時よりも高くなった。

3) アスコルビン酸投与により、X線と強静磁場の複合曝露による小核誘発と8-OHdG産生を抑制した。

【考察】

アスコルビン酸は酸性を示すが、これは3位のOH基が解離してH⁺とアスコルビン酸アニオンになるためである。生体内の中性領域においては主にアスコルビン酸アニオンとして存在している。アスコルビン酸が強い還元作用を示すのは、容易に酸化されてデヒドロアスコルビン酸になるためである。アスコルビン酸が、X線と強静磁場の複合曝露による小核誘発と8-OHdG産生を抑制したのは上記の理由によると考えられる。今後、ラジカル消去剤のEdaravoneを用いて、さらなるメカニズムをかいめいする予定である。

労働環境や日常生活環境中の化学物質 (フリーラジカル誘発物質) と磁場複合曝露による染色体異常誘発を抗酸化剤摂取により抑制し、発癌リスクを低減できる可能性がある。

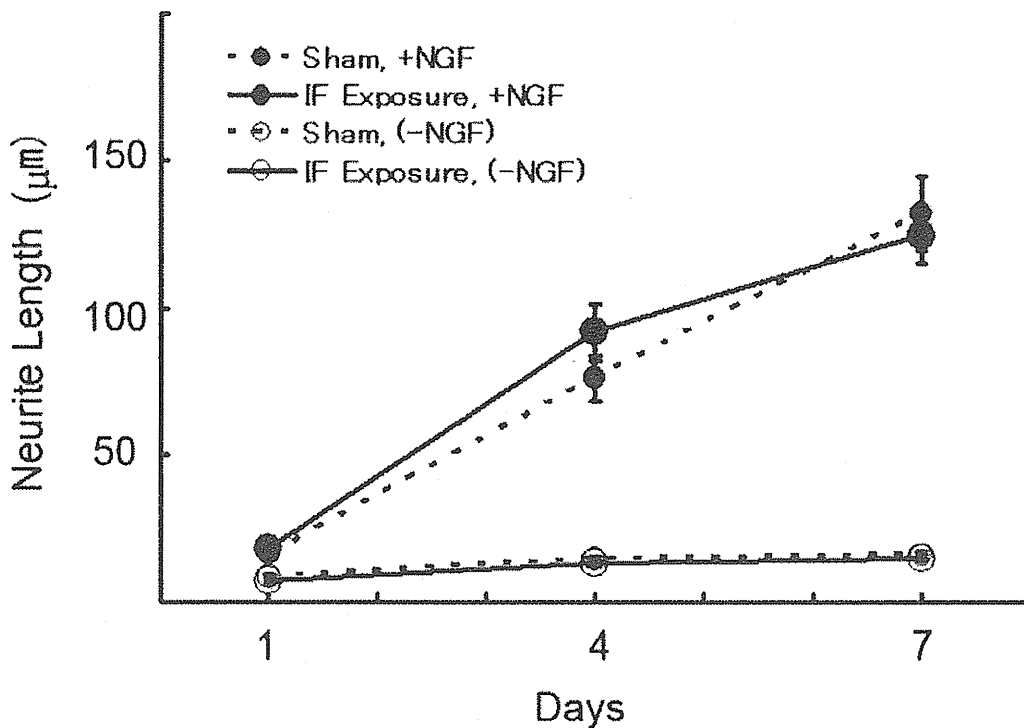


Figure 2. Neurite outgrowth (average length)

PA-67 [10:30]

Effects of exposure to 21kHz magnetic fields on estrogen-regulated gene expression in MCF-7 cells

Yuki Ogasawara¹, Masateru Ikehata², Sachiko Yoshie², Yukihisa Suzuki³, Satoshi Nakasono⁴, Chiyoji Ohkubo⁵ & Kazuyuki Ishii¹

¹Meiji Pharmaceutical University, Kiyose, Japan, 204-0004

²Railway Technical Research Institute, Kokubunji, Japan, 185-8540

³Tokyo Metropolitan University, Hachioji, Japan, 192-0364

⁴Central Research Institute for Power Electric Industry, Abiko, Japan, 270-1194

⁵Japan EMF Information Center, Minato-ku, Japan, 105-0014

To evaluate biological effects of intermediate frequency magnetic fields (IF-MF), estrogen-regulated gene expression under magnetic fields were studied using ERE-luc integrated MCF-7 cell. Exposure to IF-MF (21 kHz, up to 3.9mT) for 24 hr did not affect luciferase activity. Also, no significant difference in luciferase activity was observed by IF-MF exposure for 4 days although slight tendency of increase was observed. These results suggest that IF-MF is unlikely to affect directly estrogen-regulated gene expression.

Long Abstract

INTRODUCTION

IH hobs that uses intermediate frequency magnetic field (IF-MF) to generate heat by its electromagnetic coupling with metallic cookware are becoming popular in Japan. However, the fact remains that people concern about health risk of IF-MF because assessment of health risk is not enough to date.

We have evaluated mutagenicity and promotion potential of the IF-MFs using several test systems, so far. The IF-MFs (0.91mT at 2kHz, 1.1mT at 20kHz or 0.11mT at 60kHz) did not have mutagenicity itself or co-mutagenicity for known various mutagens in the bacterial mutation assay [1] and also did not induce micronucleus formation in V79 cells [2]. The IF-MF (21kHz, up to 3.9mT) did not induce micronucleus formation in CHL/IU cells [3] and did not increase gene mutation at *hprt* locus in CHO and DNA repair defective derivative cells [4].

To evaluate a possible health risk of the IF-MF, it is important to investigate various biological effects of exposure to the IF-MFs. In case of using IH cooking hob, effect on the pregnant woman and the fetus should be carefully investigated in addition to evaluate its carcinogenic and toxic effect. In this study, estrogen-regulated gene expression under IF-MFs was studied in order to clarify its possible effect on hormonal responsiveness of female derived cells.

MATERIALS AND METHODS

Genetically modified MCF-7 cells (human breast adenocarcinoma cell line) that were transfected with the ERE-Trans Lucifer Reporter Vector (Panomics) using Lipofectamine were used in this study. As the result of transfection, EREs-luc fusion gene (Estrogen Response Elements with luciferase gene) was translocated on genome of the cells. Thus, estrogen induces expression of the luciferase in these cells.

For IF-MFs exposure, an original exposure system that was capable of generating 21 kHz, IF-MF up to 3.9mT (144 times higher than reference level for public in the ICNIRP guideline) within exposure space (150mm×150mm×150mm) within ± 5% deviation was used [5].

In short term test, pre-cultured cells are re-inoculated in estradiol free media (phenol red free MEM media with insulin and activated charcoal treated FBS) for three days to deprive cellular estradiol. Then cells were harvested and divided into three 6-well plates. One was for the IF-MF exposure, second group was for sham exposure. Last one was incubated in a conventional incubator for control. In each plate, three wells contained 10^{-11} M estradiol. For exposure period, exposure group was incubated under 21 kHz IF-MF for 24 hrs while sham exposure group was incubated in identical exposure device without power unit (sham device). In long term test, pre-cultured cells were divided three petri dishes with estradiol free media. Exposure group was incubated under the IF-MF for three days while sham exposure group was incubated in the sham device. Then cells in each group were transferred to 6 well plate and were incubated for another 24 hrs under each condition.

After exposure period, total protein was extracted from each well using cell culture lysis reagent (Promega Co., U.S.A.) on ice. The extract was directly used for chemiluminescence assay using the Luciferase assay kit (Promega Co., U.S.A) and chemiluminescence meter (Lumat LB 9507, Berthold Technologies, U.S.A). Protein concentration was determined by Lowry method using Bio-Rad DC protein Assay Kit (Bio-Rad, U.S.A.). Measurements of experimental samples were conducted with blind manner.

RESULTS AND DISCUSSION

We confirmed environmental condition of both exposure and sham exposure devices in 0mT-sham experiment. There was no significant difference between 0mT and sham with/without 10^{-11} M estradiol.

In short term test, we performed two to four independent tests in sham-sham, 2mT-sham, 3mT-sham and 3.9mT-sham condition in short term test, respectively. As the result, there was no significant difference between exposure and sham group with/without 10^{-11} M estradiol in each exposure condition.

In long term test, 2mT-sham experiment has finished. There was no significant difference in luciferase activity between exposure and sham groups although slight tendency of increase in luciferase activity of exposure group compared with sham group was observed several times.

Therefore, it is suggested that the 21kHz IF-MF is unlikely to cause biological effect based on perturbation of estrogen responsiveness.

CONCLUSION

The possible effects of strong 21kHz magnetic fields on estrogen-regulated gene expression under were evaluated. As the results, we did not found any significant effect by exposure to 21kHz, strong IF-MF (up to 3.9mT for 24 hrs and 2mT for 4 days) in female breast adenocarcinoma derived MCF-7 cells.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported in part by The Ministry of Health Labour and Welfare in Japan, Health Labour Sciences Research Grant (08150668).

REFERENCES

- [1] S. Nakasono, M. Ikehata, M. Dateki, S. Yoshie, T. Shigemitsu and T. Negishi, Intermediate frequency magnetic fields do not have mutagenic, co-mutagenic or gene conversion potentials in microbial genotoxicity tests. *Mutation Research*, 649, 187–200, 2008
- [2] S. Nakasono, M. Ikehata, M. Dateki, S. Yoshie, T. Shigemitsu and T. Negishi, Intermediate Frequency Magnetic Fields did not Have Micronucleus Formation Potential in *in vitro* Tests. Abstract of 30th Annual Meeting of Bioelectromagnetics Society, p.340-341, San Diego, USA, June 8-12,2008]
- [3] M. Ikehata, K. Wada, Y. Suzuki, S. Yoshie, T. Sakai, K. Wake, S. Nakasono, M. Taki, C. Ohkubo, Evaluation of genotoxic effects of intermediate frequency magnetic field in *in vitro* micronucleus assay using CHL/IU cells, 2010 Asia-Pacific Radio Science Conference, KP-2, Toyama, Japan, September 22-25, 2010
- [4] 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, The XXX General Assembly and Scientific Symposium of the International Union of Radio Science (URSI), Istanbul, Turkey, August 13-20, 2011
- [5] S. Kogure, K. Wada and Y. Suzuki, "Development of a magnetic field generator at 20 kHz using a voltage source inverter for a biological research", Technical report of IEICE, Vol. 109, No. 350, EMCJ2009-88, pp. 19-24, 2009 (in Japanese)

P1-94 中間周波磁界が細胞分化に与える影響の評価

Evaluation of effect of intermediate frequency magnetic field on cell differentiation

○吉江 幸子¹⁾、池畑 政輝¹⁾、小笠原 裕樹²⁾、石井 一行²⁾、大久保 千代次³⁾

¹⁾公益財団法人鉄道総合技術研究所、²⁾明治薬科大学、³⁾電磁界情報センター

鉄道やIH調理器などから発生する中間周波磁界 (IF 磁界; 周波数300Hz~10MHz) の生体影響については、未だ知見が少なく、科学的知見の収集とそれに基づく健康リスク評価を行うことが課題となっている。特に強磁界の長期曝露に関する研究が少ないことから、我々は、周波数21kHz、最大磁束密度3.9mT (国際非電離放射線防護委員会 (ICNIRP) のガイドライン参考レベル (公衆) の約144倍) の条件下で、連続して安定した曝露が可能 in vitro 試験用の IF 磁界曝露装置を開発してきた。本装置は、炭酸ガスインキュベータの周りにコイルが設置されており、細胞の培養条件を維持しながら、磁界の曝露が可能である。これまでに、本曝露装置を用いて、哺乳類細胞株を用いた小核試験および hprt 突然変異試験により、IF 磁界の変異原性を評価したところ、3.9mT の IF 磁界曝露においても変異原性は認められないという結果が得られている。

本研究では、マウス ES 細胞を用いて IF 磁界が細胞分化に与える影響を調べた。具体的には、マウス ES 細胞が胚様体を形成し、形成した胚様体が分化し、心筋細胞の拍動が確認されるまでの10日間、磁束密度3.9mT の IF 磁界に連続的に曝露した。10日目に顕微鏡観察を行うことにより、心筋に分化した細胞の拍動を確認し、全細胞塊数に

対する拍動の確認された細胞塊数を算出した。この結果、疑似曝露群と IF 磁界曝露群とでは、拍動する細胞塊の割合に統計的に有意な差は見られなかった。一方、陽性コントロールとして用いた5-Fluorouracil 曝露群では、疑似曝露群と比較して、拍動の観察された細胞塊の割合は有意に低かった。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曝露群と比較して顕著に小さかったのに対し、IF 磁界曝露群との比較では、ほとんど差が見られなかった。以上の結果から、3.9mT の磁束密度の IF 磁界を曝露しても、マウス ES 細胞の心筋への分化に影響を与えない、もしくはあったとしても本評価法では検出できない極めて弱いレベルの影響であると考えられる。

本研究の一部は、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によって行われた。

中間周波磁界、細胞分化、発生毒性

P1-95 マウスを用いた放射線の遺伝的影響調査結果についての考察

○浅川 順一、中村 典

放射線影響研究所 遺伝学部

RLGS 法 (Restriction Landmark Genome Scanning) は、³²P で末端標識した数千個の DNA 断片を2次元オートラジオグラムの spot として可視化できる技法であり、常染色体に生じた遺伝子欠失を spot サイズの50%減少として検出できる。この方法を4Gy の X 線を照射された精原細胞に由来するマウス個体のゲノム解析に適用し、検出された欠失突然変異に基づいてゲノムワイドな突然変異誘発頻度の推定を行った。

対照群502頭と照射群505頭の合計1,007頭の子供を対象として、各マウスについて1,190個の父親由来 spot と1,240個の母親由来 spot の解析を行った。その結果、非照射の父親由来の502ゲノム中に1個の欠失突然変異 (0.2%) を、X線照射した父親由来の505ゲノム中に5個の欠失突然変異 (1%) を検出した。遺伝子欠失の大きさは2Mb から13Mb であった。線量反応が直線的であると仮定し、上記の欠失突然変異の数をそのまま用いるならば、4Gy照射による正味の突然変異率の増加は0.8%となるから、1 Gy当たりでは0.2%となる。ゲノムの全ての部分に生じる欠失突然変異に着目するならば、今回の RLGS ではゲノムの0.2%を検索しているため、欠失突然変異生成の確率は推定値0.2%の500倍 (1/0.002)、即ち1Gy 当たりゲノムに約1個とい

う計算になる。

一方、1枚のスライドに210万プローブを平均1kb 間隔で貼り付けた高密度マイクロアレイを用いた比較ゲノムハイブリダイゼーション (HD-アレイ CGH) 法を用いると、ゲノムの約70%について欠失突然変異を調べることができる (RLGS 法と比較して約350倍; 70%/0.2%)。今回、HD-アレイ CGH 法で4Gy のガンマ線を照射した精原細胞に由来するマウス80頭と対照80頭について解析した。検出された欠失突然変異は、対照群で7個、照射群で6個であった (今中他、本学会発表)。照射群での欠失突然変異数は、RLGS 法の結果から期待される値 (約220個; 80×4Gy/1Gy×70%) よりはるかに少ない。この結果は、ゲノム全般では放射線で誘発される大きな欠失突然変異は従来考えられているよりかなり少ない可能性を示唆している。

放射線、遺伝的影響、欠失突然変異

P1-96 p53遺伝子発現抑制細胞での放射線適応応答の検討

○安井 尚彦、立花 章

茨城大学院理工学研究科理学専攻生物系

細胞にあらかじめ低線量の放射線を照射すると、その後の高線量放射線照射による染色体異常、突然変異誘発、細胞死などの影響が軽減される現象が知られており、放射線適応応答と呼ばれている。適応応答は広く生物界に見られることから、生物が普遍的に有する基本的な防御機構であると考えられるが、その分子機構はまだ明らかではない。放射線適応応答に関しては、これまでに p53ノックアウトマウスの胎児由来線維芽細胞では放射線適応応答が見られないことなど、p53遺伝子が関与することが明らかにされているが、その分子機構の詳細は分かっていない。本研究では、これまでに我々が放射線適応応答の解析に用いてきたマウス m5S 細胞を用いて、p53遺伝子の役割を解析することを目的としている。これまでの解析で、m5S 細胞では p53 遺伝子が高発現していることがわかっている。p53タンパク質が放射線適応応答に必要であることを確認するために、RNA 干渉法 (RNAi) を用いて m5S 細胞の p53タンパク質発現量を抑制することを試みた。3種類の siRNA を m5S 細胞に導入したところ、いずれの siRNA を用いても p53タンパク質量は一定程度低下していた。これら細胞を用いて、微小核形成を指標として、低濃度過酸化水素の前処理による放射線適応応答の誘導を検討した。RNAi 処理をしていない

細胞では、低濃度過酸化水素前処理をした場合は前処理をしなかった場合に比べて微小核頻度が低下し、放射線適応応答が確認できるのに対し、RNAi 処理を行った細胞では微小核頻度の低下はほとんど見られなかった。従って、p53タンパク質が一定量存在することが放射線適応応答誘導には必要であると考えられる。低濃度過酸化水素処理により p53タンパク質に何らかの変化が生じるものと考え、現在リン酸化を解析中であり、その結果も併せて報告する予定である。

放射線適応応答、p53、DNA 損傷

P

Bioelectromagnetic Society 2012

PB-46 [10:15]

Effects of abdominal local exposure of intermediate frequency (21kHz) magnetic fields on fetal development in rats

Akira Ushiyama¹, Shin Ohtani², Machiko Maeda², Yuki Hirai³, Yukihisa Suzuki³, Keiji Wada³, Naoki Kunugita¹ & Chiyoji Ohkubo⁴

¹Department of Environmental Health, National Institute of Public Health, Wako, Japan, 351-0197

²Department of Hygienic Chemistry, Meiji Pharmaceutical University, Kiyose, Japan, 204-8588

³Tokyo Metropolitan University, Hachioji, Japan, 192-0397

⁴Japan EMF Information Center, Minato-ku, Japan, 105-0014

Due to the lack of science based evidences of exposure effects of intermediate frequency magnetic fields (IF-MFs), we teratologically evaluated them by using pregnant rats. Using newly-devised in vivo exposure apparatus which can expose IF-MFs locally to the abdomen of rats being similar exposure conditions with pregnant women standing close to induction heating (IH) cooking hob. Obtained data are currently under analysis.

Long Abstract

Introduction

The Environmental Health Criteria No.238 published by the World Health Organization requires the need for biological studies on hazard identification and health risk assessment of IF-MFs. The induction heating cooking hob emits such IF-MFs (20-90 kHz) and is recently wide spreading in some countries including Japan. When people use the IH cooking hob, abdomen is close to the hob. Therefore, reproductive and developmental effects are one of the main public concerns. Although it is reported that there are lack of teratological effects in rats due to 20 or 60 kHz MFs exposure [1], rats are whole-body exposed with relatively low intensities. In this study, we evaluated teratological effects of abdominal exposure to pregnant rats at higher level of IF-MFs.

Materials and Methods

Both sexes of Sprague Dawley rats (Japan SLC Inc.) were purchased at the age of 11 and 9 weeks, respectively. After one week habituation, females were checked optimal day for mating with a vaginal impedance checker, and mated with male if their impedance value are enough high. In the morning of the next day, vaginal smear was checked to identify copulated females as gestation day 0. Pregnant rats were randomly divided into three groups (n=10-11 each): exposure, sham exposure and cage control group, respectively. For the abdominal exposure, we used originally developed apparatus, which have the spiral coil and emit sinusoidal MFs with 21 kHz [2]. We set MFs intensity to 10.3 mT at the center of abdominal surface. Exposure (or sham exposure) was done for 1hr/day from gestation day 7 up to 17. During exposure, dams were fixed in an acrylic holder except cage control group. On the gestation day 20, their fetuses were excised and weighed. The number of live fetuses, dead fetuses, and implantation sites were recorded. Half of live fetuses were placed in Bouin's fixative and examined for external and internal abnormalities. Other half of live fetuses were eviscerated then fixed in alcohol, and their skeletons were stained with Alizarin red S and Alcian Blue 8GX. All teratological evaluations were conducted in a blind fashion.

All experimental procedures complied with the ethical guidelines for animal experiments at the National Institute of Public Health, Japan.

Results and discussion

In this study, we examined numeral dosimetry using a pregnant rat model of gestation day 16 rat. Under the exposure conditions described above, induced electric field of each fetus ranged between 0.611 to 5.74 V/m (mean 3.01V/m) depending on the relative position to the spiral coil. The mean value is higher than the basic restriction to general public exposure (2.83 V/m at 21 kHz) of ICNIRP guidelines[3].

So far, no significant difference was observed in dams' body weight, average weight of fetuses, number of fetuses per dam and number of implantation sites. The data of teratological evaluations are currently under analysis. All teratological data will be presented at the BEMS meeting.

Acknowledgement

This work was supported by Health Labour Science Research Grant, The Ministry of Health Labour and Welfare, Japan.

References

- [1] Hirai *et al.*, The Bioelectromagnetic Society 33rd Annual Meeting, platform #09-3, 2011.
- [2] Nishimura *et al.*, Birth Defects Research (Part B), 92, pp.469-477, 2011.
- [3] ICNIRP, Health Phys., 99(6),pp.818-836, 2010.

PB-48 [10:15]

Impacts of arbitrary radiofrequency exposure restrictions on operation of mobile networks

Jack Rowley¹, Peter Zollman², Brent Gerstle³ & Lars-Eric Larsson⁴

¹GSM Association, London, UK, EC4A 3BF

²Vodafone Group Research and Development, Newbury, UK, RG14 2FN

³Singtel Optus, Sydney, Australia, NSW 2113

⁴TeliaSonera, Karlstad, Sweden, SE-651 15

「中間周波数磁界の催奇形性に関する研究
および BEMS2012参加報告」

国立保健医療科学院
牛山 明

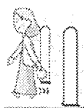
医学生体電磁気学研究会 平成24年8月2日

中間周波数磁界の催奇形性に関する
研究

- 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)「居室における中間周波電磁界に関する研究」(代表研究者:大久保千代次)の一環として実施中(平成21~24年度)
- 同研究では、電気工学班、細胞研究班、動物研究班の3班を組織し、連携して研究を実施。

中間周波数(300Hz-10MHz)の電磁界発生源

- VDT 15~25kHz
 - 電磁誘導加熱装置 (IH) 20~90kHz
 - 電子タグ (RFID) 1代「ラジカセ」 - 135kHz以下
 - 電子商品監視機器 (EAS) 8.2MHz前後
 - 非接触ICカード Suica, Edy 13.56MHz
 - 放送・通信機器など
- IH調理器からは、商用周波数電磁界も発生している



(JEIC 大久保先生より)

3

中間周波電磁界について

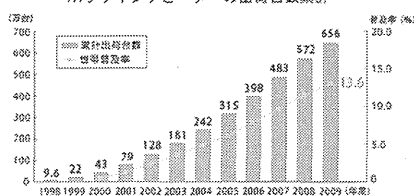
WHO環境保健クライテリア (EHC)
238 (2007) では今後の研究推奨事項として

「中間周波数帯(300Hzから100kHz)の電磁界に関するデータが欠如しているため、健康リスク評価のための十分なデータベースを構築する必要がある。」と明記。

4 (JEIC 大久保先生より)

JEIC

IHクッキングヒーターの出荷台数累計



日本電機工業会 民生用電気機器自主統計調査

【IHクッキングヒーター】の出荷台数

2011年出荷	1~9月	合計	60.9万台
	1~3月		7.6万台/月
	4~9月		6.3万台/月
2012年出荷	1~6月	合計	36.8万台
			6.1万台/月

目的

IH調理器で使用される中間周波数帯(20kHz)の磁界の催奇形性の有無を評価する。

方法

催奇形性試験

胎児の器官形成期に妊娠ラット腹部に局所的に強い磁界にばく露し、胎児への影響を調べる。
ばく露に用いる装置は、既存のIH調理器ではなく、動物実験用に新たに開発し、同時に曝露評価(ドシメトリ)も電気工学班と十分に検討する。

電力中央研究所における先行研究

- ・IH調理器のばく露を想定した研究＝正弦波のばく露

鶏卵に20kHz、1.1mTのばく露→発生には影響なし
 妊娠ラット(7日目～17日目)に20kHz、0.2mTの全身ばく露 →親獣の血液指標・仔の発生には異常なし、と報告

しかし

- ・IH調理器は、短時間かつ腹部への局所ばく露
- ・誘導電界、誘導電流の発生状況についてドシメトリが必要

開発したばく露装置の概要図

- ・設計したコイルと装置の概要図を示す。
- 渦型コイルは胎児付近に位置する母ラットの腹部の下に設置した。
- コイルの形状は渦型コイルの巻き数を5とし、2段重ねるものとした

数値ドシメトリによる評価で以下の要件を満たすばく露装置を設計した

- ・周波数:20kHz
- ・胎児に局所化された磁界、内部誘導電界を得る。
- ・胎児平均値でICNIRPガイドライン[2]の基本制限値(2.7V/m)の誘導電界を達成

[2] ICNIRP, Health Phys., 99(6), pp.818-836, 2010

妊娠ラットの解剖学的モデル

情報通信研究機構によりMRI (magnetic resonance - imaging) 画像からモデル化されたラットモデル[4]

- ラットモデルの組織数: 15
- ボクセル一辺の長さ:0.5mm
- 胎児数:11
- 妊娠期間:16日

表 組織の導電率[S/m]
 (4-Cole-Cole分散モデル[5]から求めている。)

組織外	0.0	盲腸	0.568
脂肪	0.0240	その他内臓	0.345
筋肉	0.345	胃	0.531
肺	0.0607	羊水	1.27
胆	0.0971	胎児(脳)	0.095
眼	0.512	胎児(脳以外)	0.2
脳	0.0727	皮膚	0.000214
骨	0.00290		

[4]Jianqing Wang, et al, IEEE Transactions On Microwave Theory And Techniques, Vol.56, pp.2008-2013, 2008.
 [5]S. Gabriel, et al, Phys Med. Biol.,pp2271-2293,1996

内部誘導電界分布

- ・周りの組織に比べ胎児の内部の値は小さい。
- ・母体に比べ胎児に高い誘導電界を得るのは困難であることがわかる。

各胎児の誘導電界

全胎児平均値: 3.01 V/m
 標準偏差: 1.71 V/m

誘導電界の全胎児平均値

標準偏差の値が比較的大きく、胎児ごとの誘導電界にばらつきがある
 → 各胎児の位置や成長による個体差の影響も考慮すべきである。

局所ばく露への発生毒性への評価

目的：妊婦へのばく露を想定し、妊娠ラットを用いて胎児器官形成期に腹部局所が強い中間周波磁界にさらされた際の胎児への影響を明らかにする。

【ばく露中のイメージ図】

方法：

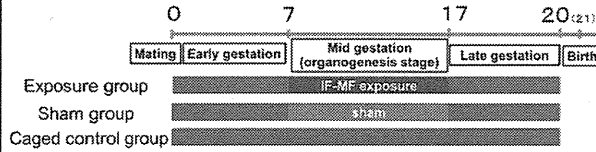
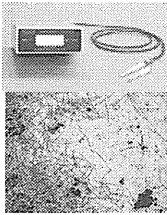
- ・以下の各群を用意(各n=11)。
- ① ばく露
- ② 偽ばく露
- ③ ケージコントロール
- ・妊娠7日～17日(器官形成期)の毎日午前中に1時間ばく露
- ・コイル中心磁束密度(ラットの腹部中心表面)は10.30 [mT] (ICNIRPガイドラインの約400倍)
- ・妊娠20日(正常は21日で出産)に帝王切開により胎児を摘出し、胎児の生死、発育、骨格形成および内臓の器官形成に及ぼす影響を検討
- ・動物実験計画は国立保健医療科学動物実験委員会承認済み

動物とばく露条件

SDラット 雌10週齢、雄ラット12週齢 で交配
雌ラットの発情期を陰インピーダンスチェック法で確認。インピーダンス値3.0Ω以上で発情期と判定しオスと1:1で同居。翌朝、スミアチェックを行い、精子を確認したら妊娠0日とする。

器官形成期である妊娠7日~17日まで毎日ばく露をおこなう。

ばく露は1日1時間とする。



エンドポイント

母獣の体重変化・健康状態
母獣の解剖時、血液検査(生化学、血球検査)
生存および死亡胎児の数、着床数
胎児の体重、性別、健康状態
胎児に対する催奇形性の評価(盲検法)
外形異常
内臓異常
骨格異常

異常に関しては、生存に直接影響する『奇形(malformation)』と生存には影響がない『異常(variation)』に分けて観察をした。

まとめ

- 本研究では、胎児の器官形成期にあたる妊娠7日から17日まで、1日1時間の腹部局所ばく露を行った。
- ばく露は腹部表面の最大値で10.3mT(ICNIRPガイドラインの約400倍)、数値計算では胎児に誘導される電界は平均で3.01V/m(最小0.611、最大5.74V/m)であり、ICNIRPガイドラインの基本制限値よりも高いばく露環境である(2.83V/m at 21kHz)。
- 現在までのところ、磁界ばく露と催奇形性の関連性は認められない。
- しかしながら、化学物質の催奇形性試験では最低20個体の母獣を用いて統計処理をすることが推奨されていることから、さらに個体数を増やして統計的信頼性を高める必要がある。
- また、超音波音、コイルの加熱による温度環境などについてもアーチファクトになり得ることからこれらについても厳密に管理をする必要がある。
- 影響が認められた場合は、胎児のドシメトリの不確実性を考慮し結論に結びつける。

第34回 annual meeting

34 BE/MS

- 2012年6月17-22日
- オーストラリア・ブリスベン市
- 参加登録者 210名
 - 主たる内訳
 - ・日本 45、韓国 26、中国 7
 - ・豪国 39、NZ 6
 - ・米国 26、カナダ 6
 - ・欧州 54

34 BE/MS

Plenary 1

- EMF Safety: Looking Backwards, Looking Forwards
 - Michael Repacholi, University of Rome
 - Carl Blackman, US EPA

Plenary 2

- Advances in Electroporation
 - Andrei Pakhomov, Old Dominion University, US
 - Luis Mir, CNRS, FR
 - P. Thomas Vernier, Univ. of Southern California, US

Plenary 3

- Risk Communication
 - Peter Wiedemann, Karlsruhe Institute of Technology, Germany
 - Ray Kemp, RKCL, UK
 - Roslyn Young, RozYCOMMS AU
 - Ray McKenzie, Australian Mobile Telecommunications Association

Plenary 4

- Windfarms and Public Health
 - David Black, University of Auckland, New Zealand

Plenary 5

34 BE/MS

• Developments in Epidemiology

- Joachim Schuz, *IARC, FR*
- Mark Elwood, *University of Auckland, New Zealand*
- John Dockerty, *University of Otago, New Zealand*
- Malcolm Sim, *Monash University, Melbourne, AU*

Tutorial

• Science & Media

facilitated by Janie Page, BEMS Newsletter Editor

- Rodney Croft, *University of Wollongong, AU*
- Roslyn Young, *RozYCOMMS, AU*
- Leigh Dayton, *The Australian newspaper*

Oral Session (total 69)

34 BE/MS

- | | |
|-------------------------------|-----------------------------|
| • Epidemiology | • ELF Dosimetry |
| • In-vitro | • Policy + ELF Epi |
| • RF Dosimetry - Emissions I | • ELF/IF/Pulsed |
| • RF Dosimetry - Emissions II | • In-vitro (ELF) |
| • Dosimetry MRI | • Dosimetry – Absorption I |
| • Electroporation | • Dosimetry – Absorption II |
| • In-vivo | • Mechanism & Theory I |
| • Human & Clinical | • Mechanism & Theory II |

Poster Session (total 104)

- Session A and B

その他

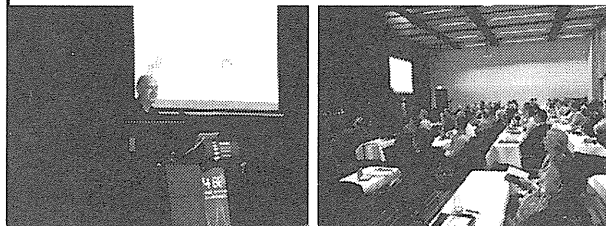
34 BE/MS

- US Airforce Workshop
 - “EMF High-Peak-Power Pulse Bio Effects and Standard”
- Bioelectromagnetic Research at the University of Queensland
- ENA Workshop
 - “Smart Meter”

d'Arsonval Award

34 BE/MS

- Niels Kuster, *IT'IS Foundation, Switzerland*



Student Award (poster)

34 BE/MS

(1st prize)

1,763 MHz Radiofrequency Radiation Acts on Induction of Growth Factors via Cellular Signaling

Kyu Tae Kim, Sun Young Yoon, Seong Jin Jo, Gahee Park, Woosung Chung, Oh Sang Kwon, Woong Yang Park
Seoul National University, Korea

Student Award (poster)

34 BE/MS

(2nd prize)

Pulsed Temperature Stimulus limits growth of Fibrosarcoma HT1080 Cells

Lucas Portelli, Aditya Kausik, Frank Barnes
University of Colorado, USA

(3rd prize)

SAR Reduction Technique by the High Impedance Surface Using the Artificial Magnetic Conductor

Seungwoo Lee, Nam Kim
Chungbuk National University, Korea

Student Award (Oral)

(1st prize)

AustinMan and AustinWoman: High Fidelity, Reproducible, and Open-Source Electromagnetic Voxel Models

Jackson Massey, Cemil Geyik, Natcha Techachainiran, Che-LunHsu, Robin Nguyen Trevor Latson, Madison Ball, Emin Celik, Ali Yilmaz

The University of Texas at Austin, USA

Student Award (Oral)

(2nd prize)

Inhomogeneity in Magnetic Fields of incubators is a confounder for Biological Variability and experimental reproducibility

Lucas Portelli, Theodore Schomay, Frank Barnes
University of Colorado, USA

(3rd prize)

A Numerical Framework for Modeling Electrotaxis in Bone Cell Cultures

Juan Carlos Vanegas Acosta, Vito Lancellotti, Peter Zwamborn
Technical University of Eindhoven, Eindhoven, the Netherlands

Business Meeting

Agenda

1. Adoption of Agenda (Schüz)
2. Approval of Minutes of Annual Business Meeting #33 (Schüz)
3. Report of the President (Schüz)
4. Journal Report by the Editor in Chief (Lin)
 - a. 2011 Most Cited Paper Award Presentation
Wilén J, Johansson A, Kalezić N, Lyskov E and Sandström M. Psychophysiological tests and provocation of subjects with mobile phone related symptoms. Bioelectromagnetics Volume 27, Issue 3, April 2006, Pages: 204–214.
5. Report of the Secretary (Wilén)
6. Report of the Treasurer (Chadwick)
 - a. BEMS Fiscal Year Financial Report
7. Report of the Newsletter Editor (Page)
8. Web Site report (Carson)
9. Recognition: (Schüz)
 - a. Retiring 2012 Board Members: Jeff Carson, Osamu Fujiwara, Thomas Vernier, Andrew Wood and Maria Scarfi
 - b. BEMS 2012 Technical Program Committee Chair: Andrew Wood
 - c. BEMS 2012 Technical Program Committee Members
 - d. BEMS 2012 Local Organizing Committee Members: Andrew Wood and David Black
10. Election Results (Schüz)
11. Transfer of gavel & recognition of retiring president (Schüz/Black)
12. New Business (Black)
June 2013, BioEM2013 Thessaloniki, Greece (Mevissen, Chadwick)

感想 1

- プレナリーセッションは時間が充分取ってあって、とても有益であった。
- 運営等はスムーズだった。
- 参加者の減少
 - 特に、ヨーロッパからの参加者が少ない(経済的な問題?、開催地が遠い?)
- プログラム編成が良くなかった。
 - セッションの名前にそぐわない演題。
 - 生体のセッションが2つ平行。
 - Oralの時間枠が埋まっていないセッション。
 - ポスターBグループのオーディエンスが少ない。

感想 2

- ナノパルス、Electroporationに関連した発表が増加
 - さまざまな細胞影響が報告されている一方、実験条件も様々で整理が必要
- 疫学、Human Studyに関しては、昨年に比べて注目度が低下
- 細胞・動物実験については高レベルのばく露実験で、影響ありなしの双方の結果
 - ばく露の評価やthermal effectについて検討が不十分である。
- Biological effects について、エビデンスとしての実験科学(in vivo, in vitro)の発表数の減少傾向。

感想 3

- 日本からのSTUDENT賞へのエントリーが少ない(1件のみ)ため、もっと積極的に登録すべき。
- 年会期間を短縮してもよいと思う。
- 参加費が高額
- オーストラリア(ブリスベン)は物価が高い(おそらく世界一高いのでは?)

生活環境中の電磁界：測定・規制・健康影響

牛山 明 (国立保健医療科学院)

現代社会の生活空間では、様々な周波数や強度の異なる電磁界が存在し、それらは直接・間接に我々の生活の利便性を向上させている。

たとえば医療機関でのMR検査では、我々の体は数テスラという強さの静磁界に晒され検査がおこなわれる。また、送配電線・家電製品からは、超低周波(50/60ヘルツ)の電磁界が発生するし、電磁調理器では数十キロヘルツの磁界の性質を利用して鍋(金属)を加熱し調理がおこなわれる。さらにはSuica、Icocaなどの非接触型カードシステムの普及も著しい。これらのカードシステムや、ラジオやテレビ、携帯電話やスマートフォンといった通信においてはメガヘルツからギガヘルツといった周波数帯の電波を利用している。

我が国では電磁界については、経済産業省および総務省により生体防護のための規制がかけられているが、いずれも基本的には国際非電離放射線防護委員会(ICNIRP)のガイドラインを参考にした値が採用されており、生活空間においてはいずれも基準を満たした運用がされている。一方で健康影響については、WHOの関連組織である国際がん研究機関(IARC)が、2001年に低周波磁界に関して、また2011年に携帯電話端末からの電磁界の発がん性についてともに「ヒトに対して発がん性があるかも知れない」(グループ2B)と判定し、その後、多くの報道があったのも記憶に新しいところである。また、近年では化学物質過敏症と同様の症状が電磁界環境により惹起されるという電磁過敏症に関しても、社会的な問題になりつつある。

以上を背景に、電磁界の影響に関して漠然とした不安を持つ市民も多いと思われるが、電磁界は、電離放射線と同様に、物理量であるため測定器を使えば瞬時に数値化することが可能であり、得られた値と規制値との比較を容易に行うことができるといった特徴がある。しかしながら、数多くある測定器の中から適切な測定器を用いて測定をおこなわないと信頼性の面から十分であるとはいえず、また測定方法に関しても標準法に従っておこなうことが重要である。

本フォーラムにおいては、様々な周波数の電磁界についての基礎事項、またそれら電磁界の測定法とその評価について、さらには規制動向や健康影響に関する最新の研究動向について解説をおこないたい。

【略歴】

1996年3月東京工業大学大学院博士課程終了(博士(理学))。同4月より国立公衆衛生院生理衛生学部研究員。国立保健医療科学院生活環境部主任研究官、同快適性評価室長を経て、現在は同生活環境研究部上席主任研究官。専門分野は環境生理学・微小循環学。現在、電磁界全般の生体影響、健康影響研究に主に従事。

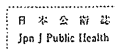
JAPANESE JOURNAL OF PUBLIC HEALTH

日本公衆衛生雑誌

第59巻・第10号 特別附録 平成24年10月

第71回日本公衆衛生学会総会抄録集

山 口



日本公衆衛生学会
Japanese Society of Public Health

10

特別附録

家庭用 IH 調理器で利用される 21kHz の中間周波磁界の

生体ばく露による発生毒性評価

○牛山明¹、大谷真²、前田満智子²、樺田尚樹¹、
鈴木敬久³、和田圭二³、大久保千代次⁴
(¹国立保健医療科学院、²明治薬科大学、
³首都大学東京、⁴電磁界情報センター)

[目的]

中間周波 (intermediate frequency, 以下 IF と略) 電磁界は 300Hz から 100kHz 程度の周波数の電磁界をことを指し、近年、20kHz~50kHz 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。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おらず、WHO でも研究の必要性を指摘している。本研究では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、妊娠ラットを用いて国際非電離放射線防護委員会 (ICNIRP) ガイドライン値より 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。

[方法]

ばく露装置と動物へのばく露

実験動物用中間周波局所ばく露装置は、特別に製作したものを用いた。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である。実験には、SD ラット (雄は 12 週齢、雌は 10 週齢) を用いた。発情期の雌を交配させて、膣スメアにより妊娠確認をした日を妊娠 0 日とし、器官形成期の妊娠 7 日~17 日に

アクリル製の保定筒に保定し、腹部局所に 1 日 1 時間のばく露を行った。本研究ではばく露群、シヤムばく露群、ケージコントロール群各 11 匹計 33 匹を実験に供した。シヤムばく露はばく露群と同様にばく露用の保定筒に入れ磁界をばく露しない群、ケージコントロール群は保定筒に入れずにケージで飼育を続けただけの群である。

解剖及び検査

妊娠 20 日に開腹し胎児数、着床痕数を調べた。また胎児を摘出・秤量を行い、外表・内臓検査用、骨格検査用に二分した。

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に浸漬し、検査に供した。骨格検査用の標本は、常法によりアルシアンブルー、アリザリンレッド S による染色を行い、検査に供した。

なお病理検査は第三者機関で実施し、検査担当者に対してはばく露の条件を伏せ盲検法で検査をした。

動物実験の倫理的配慮

本研究の実施にあたり、国立保健医療科学院動物実験委員会の承認を得た。

統計処理

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。

[結果]

ばく露群、シャムばく露群、ケージコントロール群の3群（各11匹）を実験に供したところ、解剖日である妊娠20日において、母ラットの体重、血液生化学指標、血球指標、および母ラットあたりの胎児数ならびに各胎児の平均体重に統計的有意差は見られなかった。着床痕の有無に関しても統計的有意差は認められなかった。

胎児の外形異常

本研究では全215検体を調べ、そのうち一部の胎児に異常が認められたが、統計的有意差は認めなかった。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。奇形と判定したもののうち、ばく露群の1個体は奇形（口蓋裂）と判定された。またそれ以外の例は全て変異として考えられる口蓋ヒダ不整列であった。

胎児の内臓異常

胎児の内臓異常について全215検体を調べたが、そのうち一部の胎児で異常が認められた。異常と指摘された検体はケージコントロール群に比べてばく露群、シャム群に多い傾向があるが、統計的有意差は見られなかった。ばく露群69検体のうち2検体、シャム群76検体のうち1検体、またケージコントロール群では、70検体中2検体に奇形が見られたが、奇形の発生率については条件による違いは見られなかった。一方、変異については、いずれの群においても「胸腺頸部遺残」が多くを占めた。

胎児の骨格形成の異常

骨格検査では、全部で210検体を調べたところ、異常が認められた胎児は21検体であり、そのうちばく露群は12検体、シャム群は6検体、ケージコントロール群は3検体であった。このうち、奇形と考えられるのは、ばく露群の1検体でありその他は全て変異とみなせるものであった。全体

として統計的有意差は見られないが、今後例数を増やし検討をする必要がある。

母ラットの腹単位の奇形発生頻度

OECDガイドラインを始めとする、催奇形性の評価については、異常を呈した胎児の数で評価するよりも、異常を呈した胎児をもつ母の割合で評価をおこなうことが推奨されている。本実験でも母ラットの腹単位での奇形発生頻度を比較した。各群11匹中、奇形を呈した胎児を持った母ラットはばく露群3匹、シャム群1匹、ケージ群2匹であり、現時点ではばく露群に有意に奇形発生率が多いということはなかった。

[考察]

本研究では、中間周波磁界が胎児の発生に与える影響を調べるため、ラット胎児の器官形成期に磁界ばく露をおこない、その生殖発生毒性を評価した。今回の結果は、外表、内臓、骨格の奇形の発生に関しては、統計学的な有意差を示すことはなかったが、現時点では準備した母ラットが各群11匹であり、OECD毒性試験ガイドラインの催奇形性試験で推奨されている各群少なくとも20匹を下回る状況であるため、引き続き実験を重ね、十分な検体数を得る必要がある。

[まとめ]

妊娠ラット腹部表面中心で21kHz、約10mTの正弦波磁界ばく露を妊娠7～17日まで1日1時間おこなったところ、現時点で磁界が奇形の発生に寄与しないことが明らかになった。この分野については先行研究が少なく、今後、継続して研究を進めていくことで国民の健康を守る科学的根拠となることが期待できる。

本研究は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によって実施された。

(鉄道総研月例発表会講演要旨)

中間周波磁界の生物影響の評価

人間科学研究部 生物工学研究室
主任研究員 池畑政輝

1. まえがき

鉄道の電気設備が発する商用周波数（50/60Hz）の磁界について、平成24年8月より鉄道に関する技術基準の改正により規制が導入された。今後は、鉄道で発生する幅広い周波数の磁界についての規制のあり方が議論される予定である。この中でも、鉄道の主変換装置等に関連する数kHz～数十kHzの磁界は、安全性に関する研究が十分ではなく、近年少しずつ生物学的な影響に関する研究が進められている段階にある。鉄道総研では、これまでに様々な磁界の生物影響評価を進めている。本発表では、最大21kHz、3.9mT（国際ガイドライン（ICNIRP）の一般公衆向けの磁界参考レベルの144倍の磁束密度）の磁界曝露によるヒトや哺乳類の培養細胞における遺伝子への影響やホルモンへの応答性に対する影響を調べた結果について述べる。

2. 電磁界の健康リスク評価、わが国における規制の現状および鉄道の電磁環境

1996年に、世界保健機関（WHO）では、0～300GHzの周波数帯の電磁界の健康への影響を評価するために国際電磁界プロジェクトを発足させた。その結果、100kHz以下の磁界については、磁界に曝露することで、電磁誘導により体内に生じる電界／電流が一定の値を超えた場合に神経が刺激されるという短期的な効果（磁気閃光や刺激による不随意運動など）は確実に認められるとされた。その一方で、商用周波数（50/60Hz）磁界の影響として疫学研究から報告されている、居住環境もしくは一般的な使用での微弱な磁界への長期間曝露による小児白血病発症の増加などの健康への悪影響については、明確な科学的証拠は得られていない。これらの知見をもとに、WHOは、健康リスクの評価として電磁界に関する2つの環境保健クライテリア（静電界・静磁界；2006年¹⁾、100kHz以下の変動電磁界；2007年²⁾）を発表しており、現在では100kHz以上の高周波電磁界についての準備を進めている。また、この評価に基づき国際非電離放射線防護委員会（ICNIRP）が人体曝露の許容値を定めたガイドラインを発行し³⁾、WHOはこれら国際ガイドラインを採用し、各国で施策することを推奨している。

我が国においては、このWHOの評価・勧告を受け、平成24年3月に経済産業省の所轄する電力会社の電気設備に、また同8月には国土交通省が所轄する鉄道の電気設備に対してICNIRPのガイドラインを根拠とした商用周波数磁界の規制が導入された。この規制により、今後対象となる電気設備を施設する場合は、一般公衆が立ち入る箇所に発生する当該設備からの磁界（実効値）が200 μ T以下となるように施設することとなった。

これらのガイドラインや規制は、上記の短期的な効果を防止するために定められているが、その根拠となる知見は幅広い周波数全体を網羅しているわけではなく、代表的な周波数帯以外は外挿により定められている。また、発がんなどの疾病の原因とされる長期的影響については、未だ科学的根拠が弱いため、このガイドラインでは防護すべき対象とされていないが、WHOの評価では、この問題の解決に向けて更なる研究が推奨されている。

鉄道における電磁環境を考えた場合、今回の規制では、主として電力を受電し鉄道の運行に必要な電気に変換して供給する電力設備や車両に電力を供給する電車線等が対象となる。しかし、これ以外にも鉄道システムは様々な電気・電子機器によって構築されており、例えば車両の場合には、「電車線（き電線、トロリ線、第三軌条など）」および変電所への電気の帰り道である「帰線（レールなど）」からの電磁界

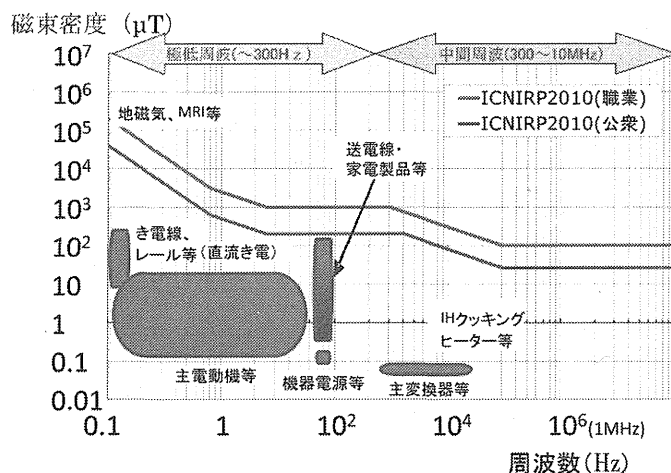


図1 ICNIRPガイドラインと鉄道の電磁界

に加え、車載機器であるリアクトル、電動機、電力変換器など、強度は弱いものの様々な周波数の電磁界が発生する(図1)。特に車両内の電磁環境は時間・空間的に不均一で、複数周波数が同時に発生するということが特徴である。これまでに鉄道環境で電磁界を測定した例では、ICNIRPガイドラインを超える例はほとんどないため、緊急に対策が必要とされる問題は生じないと考えられる。ただし、上記のような特徴を持つ電磁界の健康リスクを具体的に評価した例は少ない。今後、規制の議論を進める上では、鉄道で発生しており、かつガイドラインでは外挿で許容値が定められている領域について、生物学的に適切な評価を行うことは重要である。特に今回は、鉄道の主変換装置等に関連する周波数が数kHz~数十kHzの中間周波帯磁界（WHOの定義では300Hz~10MHzの磁界）に着目し、WHOが発刊した環境保健クライテリアの中で研究の推進が奨励されていることも踏まえ評価を行った。

3. 研究方法

我々は、先行研究においてバクテリアおよびマウス由来の培養細胞を用いた遺伝毒性試験を実施し、20kHz、1mT程度までの磁界には遺伝子変異を起こす影響がないことを明らかにした^{4),5)}。現在は、さらに生物影響評価を深度化するため、新規曝露装置を開発し、様々な影響を指標とした評価を進めている。本発表では、①培養細胞を用いた小核試験および②培養細胞における女性ホルモンによる遺伝子発現への影響評価の結果を報告する。

3.1 中間周波磁界曝露装置

高磁束密度中で多数の生物サンプルを同時に曝露するための新規曝露装置を開発した。本曝露装置は、曝露用コイルと細胞培養器からなり、15cm×15cm×15cmの曝露空間に21kHzで最大3.9mT（2010年に改訂されたICNIRPガイドラインの一般公衆に対する参考レベルの144倍）の磁界を長時間安定して発生させながら37±1℃、炭酸ガス5%、飽和水蒸気的环境下で細胞を安定に培養することが可能である（図1）。

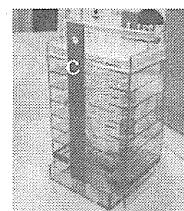
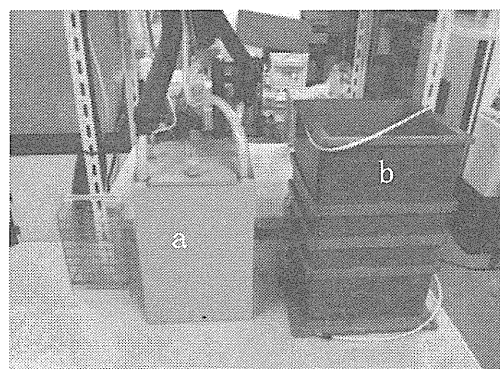


図1 細胞用中間周波磁界曝露装置
a. 曝露用培養器, b. 曝露用コイル, c. 生物試料保持用ラック

3.2 小核試験を用いた中間周波磁界の遺伝毒性評価

「小核」とは、細胞の遺伝情報が収められている細胞核もしくは遺伝情報そのものである染色体に異常が生じた結果、細胞が分裂する過程で生じる正常な細胞核以外の小さな核状物質を指す。細胞内に小核が残った状態は、遺伝的に重篤な異常を起こした事を示し、これを誘発する作用は同時にがんを起こす過程にも大きく関わると考

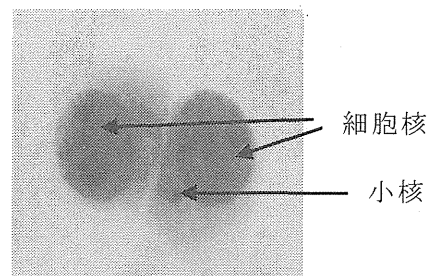


図2 小核を持つ細胞の染色例

えられているため、小核の誘発能力の評価は、簡易な発がん性の評価として用いられている。本研究では、標準的に用いられる、チャイニーズハムスターの肺由来細胞であるCHL/IU細胞を用いた。培養した細胞を4群に分け、1群は曝露群として21kHz、最大3.9mTの中間周波磁界の中で、1群は疑似曝露群として疑似曝露装置（磁界無し）の中で、またこの他に対照群と陽性対照群（マイトマイシンC（MMC；抗がん剤でDNAを損傷する作用を持つ）処理群）として24時間培養した。培養後、細胞をスライドガラス上に固定して、1枚毎に最低1000個の細胞を顕微鏡下で観察し、小核を持つ細胞の頻度を算出した。

3.3 中間周波磁界曝露によるエストロゲン応答性の遺伝子発現への影響評価

本評価法の原理は、エストロゲン応答配列を有するホタルルシフェラーゼ遺伝子を利用して、女性ホルモン的一种であるエストロゲンやエストロゲン作用を持つ物質が存在すると、染色体上に組み込まれたこの遺伝子の転写が促されるため、発現したルシフェラーゼタンパク質の活性により影響を検出することである。本研究では、ヒト乳がん由来MCF-7細胞に、上記遺伝子を組み込んだ遺伝子改変細胞を用いた。培養した細胞を、曝露群、疑似曝露群、対照群の3群に分け、エストロゲンを含まない培地でそれぞれ3日培養した後、さらにそれぞれの細胞を2群に分け、一方のみにエストロゲンを添加して、さらに24時間曝露した後、細胞からタンパク質を抽出し、ルシフェラーゼの活性と全タンパク質濃度を測定し、単位タンパク量当たりのルシフェラーゼ活性を算出した。

4. 結果および考察

4.1 小核試験

細胞1000個あたりの小核形成頻度を算出した結果、疑似曝露群と磁界曝露群との間で統計的に有意な差は見られなかった（図3）。一方で、MMC処理群では統計分析上有意に小核出現頻度が上昇した。したがって、中間周波磁界曝露により小核は誘発されないことが明らかとなった。

4.2 中間周波磁界曝露によるルシフェラーゼの発現変動

細胞内のルシフェラーゼの発現量を、曝露群、疑似曝露群、対照群で比較した（図4）。その結果、エストロゲン処理によりルシフェラーゼの発現量は有意に

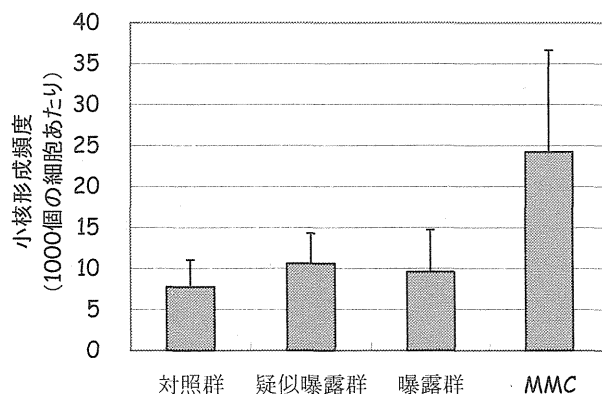


図3 中間周波磁界(21kHz、3.9mT)への24時間曝露に関するCHL/IU細胞を用いた小核試験結果

*:p<0.05, Studentのt検定による

対照群は汎用の培養器で培養した非曝露対照群、曝露群は中間周波磁界曝露群、疑似曝露群は曝露群と同様の曝露装置で、通電しない状態で培養した非曝露の対照群を示す。

増加するが、磁界の曝露による影響については、いずれの群においても顕著な差は認められず、DMSO群およびエストロゲン処理群双方において、曝露群、非曝露群（疑似曝露および対照）間で有意な差は認められなかった。

4.3 考察

本研究では、21kHz、最大3.9mTの中間周波磁界への長時間曝露であっても、一般的な安全性評価で用いられる小核試験にお

いて小核を誘発しないことから、第一に、遺伝毒性は持たないと評価できることが示された。実際に細胞と磁界の結合によるエネルギーは大変小さいことから、磁界そのものがDNAを切断することは予期されないうえに、他の様々な要因を含めた上でも、磁界曝露が遺伝子、核に重篤な影響を与えることは無いことが示された。また、女性乳がん細胞のエストロゲンによる遺伝子発現への磁界曝露の影響が認められないこと、さらに磁界曝露によるエストロゲン応答性遺伝子の発現などの現象が認められないことから、胎児の発生に大きな影響を及ぼす母体への特有な影響がある可能性も低いことが示唆された。以上の結果から、本研究で検討した21kHz、最大3.9mTの中間周波磁界には、健康に対する顕著な作用はないと考える。

5. おわりに

本発表では、新規磁界曝露装置を用いて、染色体や核の損傷を検出する小核試験およびエストロゲンにより発現する遺伝子への影響を評価し、磁界曝露による影響は認められないことを報告した。我々は、この研究成果以外にも、発がんの過程に関わるDNAの後天的修飾であるメチル化や、胎性幹細胞（ES細胞）の分化過程に及ぼす影響などの検討を進めている。

一方、商用周波数の磁界に対する規制が導入された短期影響（神経刺激）については、鉄道で発生している商用周波数以外の幅広い周波数帯の磁界について、規制のありかたに関する議論を進める必要が有る。この際に、特に科学的根拠ではなく外挿によって許容値が定められている周波数領域については、現時点での許容値が適切かどうかを科学的に検証することが必要である。そのため、今後は試験管レベルで短期影響（神経刺激）を再現し、その試験系を用いて、短期影響の許容値の検討を進める予定である。

なお、本研究で使用した曝露装置を共同で開発した、首都大学東京鈴木敬久准教授、同和田圭二准教授に深く感謝する。また、本研究の一部は厚生労働省科学研究費補助金（08150668）により遂行された。

参考文献

- 1) WHO, Environmental Health Criteria 232 Static Field, Geneva: WHO Press; 2006
- 2) WHO, Environmental Health Criteria 238 Extremely Low Frequency Fields, Geneva: WHO Press; 2007
- 3) ICNIRP Health Physics 99(6):818-836; 2010
- 4) S. Nakasono, M. Ikehata, et al, Mut. Res., 649, (2008), 187-200
- 5) 池畑政輝他、鉄道総研報告、Vol. 22、No. 5、41-44、2008

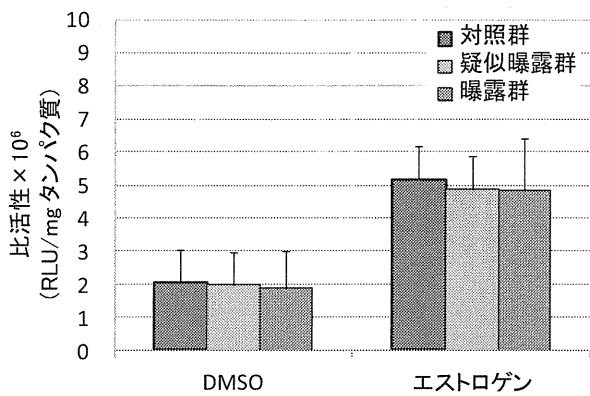


図4 中間周波磁界(21kHz, 3.9mT)へ4日間曝露した細胞のエストロゲン応答性の評価

EMF issue in Railway systems

- Evaluation of Biological Effects and Trends of Regulation in Japan -

Masateru Ikehata

Biotechnology Laboratory, Human Science Division,
Railway Technical Research Institute

Introduction

Last 30 years, biological effects of non-ionizing radiation have been strenuously investigating because of its uncertainty of adverse health effects. In 50/60 Hz power frequency magnetic field, findings in epidemiology show weak evidences of relationship between exposure to magnetic field and a risk of child leukemia[1]. Similarly, a few studies show weak evidences of relationship between exposure to radio frequency electromagnetic field used in mobile telephony (or duration of mobile telephone usage) and a risk of brain tumor [2]. These two fields are both categorized its carcinogenicity as Group 2B by the International Agency for Research on Cancer (IARC) [3,4]. Then, the World Health Organization reviewed scientific evidences and published their monograph (Environmental Health Criteria No. 232 in static field and No. 238 in low frequency field.) and recommended to imply international guideline for limiting exposure to protect people from acute effects and also to promote further fundamental research.

Following this, various responses are seen in the world. In EU, EU adopted the ICNIRP guideline and the EU recommendation for general public was released and EU directive for workers have been discussed. Then, each EU member countries and other countries such as Korea, Israel, etc. including Japan have their own implementation.

In basic scientific knowledge, there is still a little information about biological/health effects by exposure to an intermediate frequency magnetic field (IF-MF, IF; 300Hz-10MHz by the description of WHO) although several devices or technologies that uses intermediate frequency magnetic field have already been installed in our society. Especially, induction heating (IH) cooktops that commonly uses 20kHz to 100kHz magnetic field to heat metallic pans became widely used at home in Japan recently. Besides, several sources are existed such as transportation systems that use inverters to drive main motors on electric railway cars.

In my talk, following three topics 1. trends of regulation in Japan, 2. evaluation of biological MF, 3. evaluation of dosimetry in human body will be presented.