

Experimental Verification of a Localized Magnetic Field Generator Using a Two-Layered Coil

Keiji Wada^{1,*}, Shinya Suzuki¹, Yukihiisa Suzuki¹, and Akira Ushiyama²

¹Tokyo Metropolitan University, Tokyo, JAPAN ²National Institute of Public Health

*Corresponding author e-mail: kj-wada@tmu.ac.jp

INTRODUCTION

Recently, induction-heating(IH) cooking apparatus have come to be widely used in Japan. There has been growing public concern for the biological effect of intermediate frequency magnetic field[1]~[4]. This paper presents a design procedure of a localized alternating magnetic-field generator for exposure to a pregnant rat. A plane shape two-layered coil and a power supply with step-down transformer is designed. The magnetic field generator rated at 28.7 mT and 20 kHz confirms the validity of the design procedure by the experimental results.

System Configuration

Fig. 1 shows a magnetic field generator coil for a pregnant rat. The wire of the coil is used a water-cooled copper pipe because the current density of the wire is set over 10 A/mm². The two-layer and 10 turns plane shape coil is manufactured as shown in Fig. 1. The outside diameter a is 64.5mm, and the inside diameter b set to 22.0 mm. Fig. 2 shows circuit configuration of the magnetic-field generator that consists of an voltage-source inverter and a series LC resonant circuit with step-down transformer. The L_{coil} means the inductance of the a magnetic field generator coil. The inverter rated at 100 V and 25 A is used as a single-phase full-bridge inverter. The duty ratio of the inverter was set to 50%, so that I_2 was controlled by the DC voltage V_{DC} . The turn ratio of the step-down transformer is set to 4.5 ($N_1=18$ turns, and $N_2=4$ turns). Moreover, the resonant capacitor is connected to inverter side because of preventing a DC magnetization of the transformer and reduction of the capacitance.

The total inductance of the circuit is 80.4 μ H including L_{coil} and the leakage inductance of the transformer, and the capacitance C of the capacitor is set to 808 μ F. Therefore the resonant frequency of the circuit is 19.7 kHz.

Experimental Result

Fig. 3 shows the experimental waveforms when the magnetic field generator produces 28.7 mT at the center of the coil($z = 0$). In this case the coil current I_2 flows 100 A when the inverter current I_1 is set to 22 A. Fig. 4 shows experimental and analytical results the relationship between the distance z and the magnetic flux. These analytical results are corresponds to the experimental results.

Fig. 5 shows the experimental setup of the coil, transformer and capacitor.

CONCLUSIONS

This paper shows a localized magnetic field generator using a two-layered coil and the coil can generate 28.7 mT, 20 kHz magnetic field flux at the center of the coil.

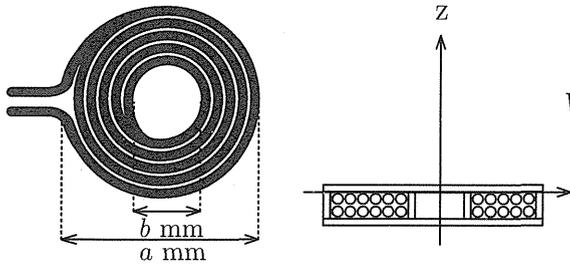


Figure 1: Prototype of the magnetic field coil

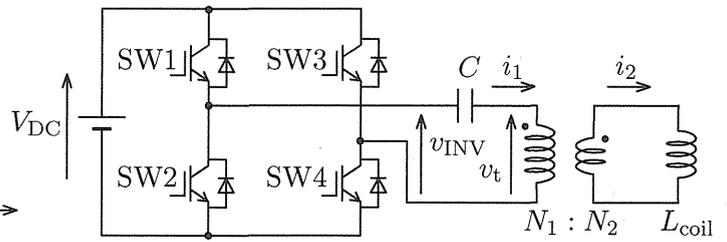


Figure 2: Experiment circuit

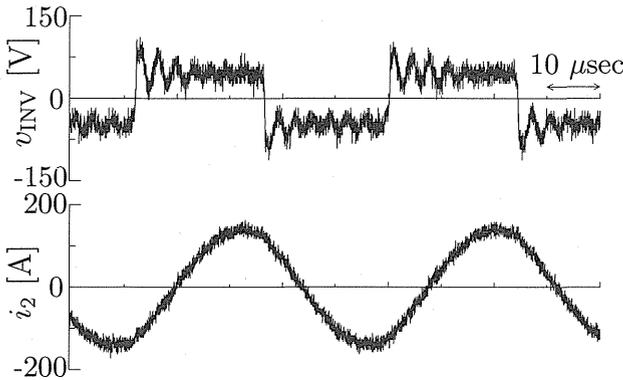
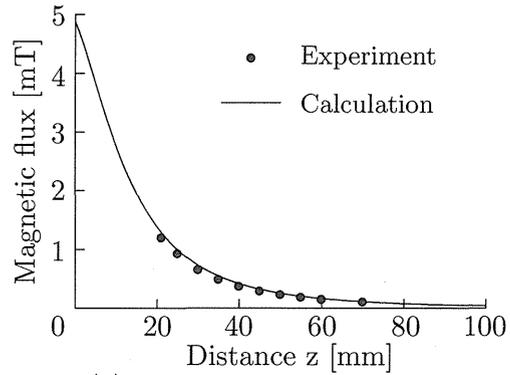


Figure 3: Experimental waveforms



(a) Distance and Magnetic Flux

Figure 4: Analytical and experimental results of magnetic flux

The research was partially supported by Ministry of Health, Labor and Welfare for Health Labor Science Research Grant.

REFERENCES

- [1] Y. Suzuki, M. Taki : "Measurement of Magnetic Field From an Induction Heating Hob and Estimation of Induced Current Density in Human Body", *IEEJ Trans. FM*, Vol. 125, No. 5, pp. 427-433, 2005(in Japanese)
- [2] T. Shigemitsu, K. Yamazaki, S. Nakasono, M. Kakikawa : "A Review of Studies of the Biological Effects of Electromagnetic Fields in the Intermediate Frequency Range", *IEEJ Trans.*, pp. 405-412, 2007
- [3] K. Wada, S. Kogure, Y. Suzuki : "Optimal Design of a Magnetic-field Generator at 20 khz for Biological Research", Bioelectromagnetics Society Annual Meeting, P-A-127, 2010

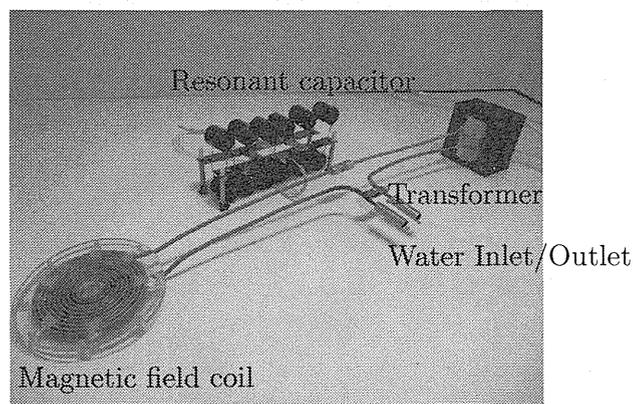


Figure 5: Picture of experimental system

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

平井 佑樹[†] 鈴木 敬久[†] 鈴木 伸也[†] 和田 圭二[†] 和氣 加奈子[†]
牛山 明[†] 多氣 昌生[†] 大久保 千代次[†]

†

E-mail: †hirai@emc.eee.se.tmu.ac.jp

あらまし 近年、中間周波数帯 (300Hz~10MHz) の変動磁界を利用する IH 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をもたれている。ドシメトリと生体実験を関連づけた中間周波数帯での研究例は少なく、また、WHO でも動物実験、数値計算における研究を推奨している。そのような背景から、磁界による胎児の発生への影響を調査するために中間周波数帯における妊娠ラットの磁界ばく露装置開発を行った。本研究では数値シミュレーションを用いて妊娠ラットのばく露評価の結果から、内部誘導電界、電流密度を推定し、磁場発生コイルの設計を行った。その結果、一様磁界に比べ、胎児に局所的にばく露でき、コイルに電流を 80A 流したとき、1998 年版 ICNIRP のガイドラインの一般公衆の基本制限値の 11 倍程度、2010 年版 ICNIRP のガイドラインの一般公衆の基本制限値程度の誘導量が得られる装置の設計が行えた。

キーワード *in vivo*, インピーダンス法, ドシメトリ, 中間周波数帯, 局所磁界

DEVELOPMENT OF THE EXPOSURE APPARATUS FOR PREGNANT RAT AND ITS EVALUATION BY NUMERICAL DOSIMETRY

Yuki HIRAI[†], Yukihisa SUZUKI[†], Shinya SUZUKI[†], Keiji WADA[†], Kanako WAKE[†], Akira USHIYAMA[†], Masao TAKI[†], and Chiyoji OHKUBO[†]

†

E-mail: †hirai@emc.eee.se.tmu.ac.jp

Abstract There are household appliances which generate magnetic field in our daily lives. When such household appliances are used, There are opportunities to exposed to magnetic field for general public. Induction heating hob is one of the example. Therefore, there has been public concern for the health effects of human exposure to magnetic field in intermediate frequency band. WHO recommends the studies for magnetic field exposure in intermediate frequency band. Animal and cellular studies are recommended. Therefore, the *in vivo* exposure apparatus was originally developed to investigate the biological effect of localized magnetic field in intermediate frequency band. Numerical dosimetry is performed with pregnant rat model in designing the configuration of magnetic field generation coil to obtain sufficiently localized induced quantities within fetuses of the rat model. As the result, this apparatus achieved 11 times larger induced current density within fetuses of rat than that provided by the basic restriction of general public by ICNIRP in 1998, and as large induced electric field within fetuses of rat as that provided by basic restriction of general public by ICNIRP in 2010.

Key words *in vivo*, Impedance Method, Dosimetry, Intermediate Frequency, Localized Magnetic Field

1. 研究背景

近年、中間周波数帯 (300Hz~10MHz)[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をもたれている。ドシメトリと生体実験を関連づけた中間周波数帯での研究例は

少なく、また、WHOでも動物実験、数値計算における研究を推奨している [2]。そのような背景から、磁界による胎児の発生への影響を調査するために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。

電磁界が与える生体影響は周波数帯により異なっており、1Hzから10MHzまでの範囲では、神経系への影響が考慮されている。100 kHzより高い領域では、加熱などの影響を考慮する必要がある。中間周波数帯(300Hz~10MHz)の範囲では一部高周波の影響と低周波の影響の両者からの防護を考える必要がある。

本研究では100kHz以下の周波数を使用しており、その周波数範囲では神経系への影響を考慮し、ICNIRP(International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection)のガイドライン [3,4]において磁界ばく露により生体内に誘導される電界、電流の制限値が定められている。本研究では内部誘導される電界値、電流値のことを内部誘導量とする。本研究におけるばく露装置の評価も基本制限値を指標としており、ばく露装置の設計において、内部誘導量を考慮する必要がある。しかし、生体内部誘導量を測定することは困難である。そのため、我々は数値シミュレーションを用いたばく露評価の結果から、内部誘導量を推定し、ばく露装置の設計を行う方針をとった。本研究の目的はコンピュータシミュレーションを用いた妊娠ラットのばく露評価を手がかりに中間周波数帯における妊娠ラットの磁界ばく露装置の開発を行うことである。

2. ばく露装置の設計指針

2.1 生活環境下における検討

2.1.1 電磁界の長時間ばく露

近年、多くの家電機器が普及し、中には磁界を発生する機器も含まれており、それらを長時間の使用することが想定されている。これら家電機器は生体影響への配慮としてICNIRPのガイドラインにおける参考レベルを考慮し作製されている場合が多い。しかし、100kHz以下の周波数ではICNIRPガイドラインの基本制限値は神経系への影響として急性影響を考慮し定められており、長時間ばく露され続けるような慢性影響に対して影響が考慮されていない。このことから慢性影響に対して調査が必要となる。

2.1.2 磁界の局所ばく露

生活環境下において、人体への磁界ばく露は局所的にばく露される場合が多い。そのため、妊娠中の妊婦が磁界に曝された場合、胎児付近が局所的に強い電磁界に曝される場合があると考えられる。本研究では、胎児への発生に対する影響を評価することを目的としており、胎児に局所的に磁界をばく露できる局所ばく露装置の開発を行った。

2.2 コイル設計

磁界発生コイルの設計指針として最初に磁界と内部誘導量の相互作用について調べ、その後外部回路、物理的な機器構成に合うように設計するような2段階の設計方針をとった。

まず過去の文献 [5,6]を参考にし、局所的な磁界が発生するコイルの形状を検討した。ばく露装置の設計において、十分なばく露量を得るために高電流をコイルに流し、強い磁界を発生

させる必要がある。しかし、高電流を流すことでコイルの配線から発生する熱量が高くなり、長時間の装置の使用により不備が起ることが考えられる。この予防策として冷却装置によりコイルの温度管理が必要となる。そのためばく露装置の配線として水冷式の銅パイプを使用する。コイル設計ではこのコイルの配線の太さを想定し、設計を行った。胎児へ局所的にばく露できるコイル、胎児の内部誘導量が十分得られるコイルを採用した。

磁界と内部誘導量の相互関係について調べた後、そのコイル形状が外部回路、物理的な機器構成に合うよう設計した。外部回路の構成として、高電流をコイルに流すため、インバータと降圧変圧器を用いた磁界発生コイル用電源装置を用いている。そのためにコイルの温度管理、磁場発生コイルに流す電流量等に工学的制限 [7]が生じる。ばく露評価ではばく露量の目標値を得るためにコイルに流す電流がどの程度必要であるかを評価する。コイルに流す電流量の最大値は90Aを予定している。

また、ラットを長時間ばく露実験する場合、コイルから発生する熱によってラットはストレスを感じる事が考えられる。この影響は磁界のばく露評価として不確定な環境要因となる。このことからコイルから発生するラットへの熱ストレスを軽減する必要がある。装置設計において、ラット腹部での温度がばく露時と擬ばく露(sham)の場合で変化しないよう、ラットとコイルの距離を決定した。

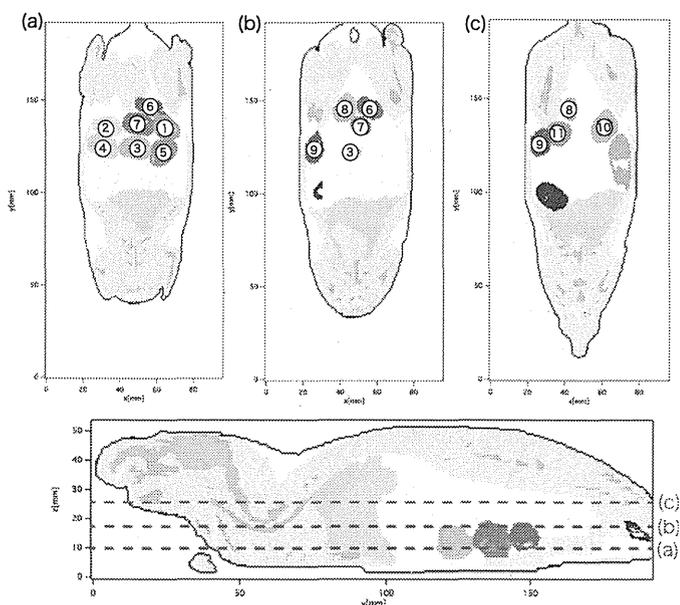


図1 妊娠ラットモデル

3. ばく露評価

3.1 ばく露評価の手法

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 [8]。コイルに流す電流を90A、周波数を20kHzとした。数値計算を用いたことにより特異値が表れることが考えられ、ここでは99.9パーセンタイル値を最大値として採用している。

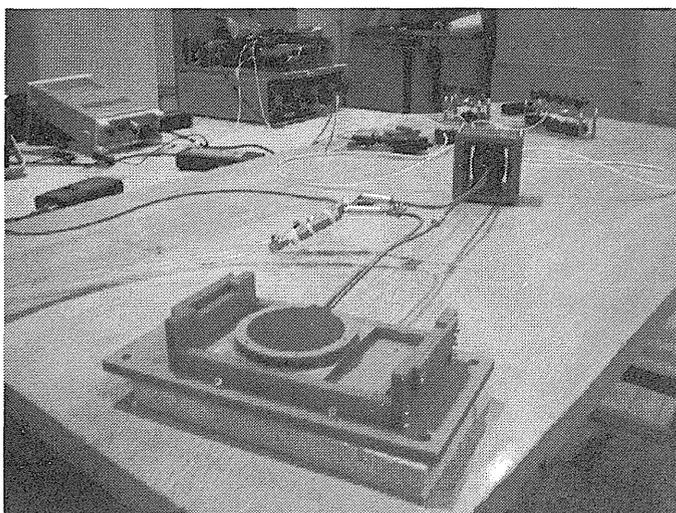


図2 ばく露装置概要図

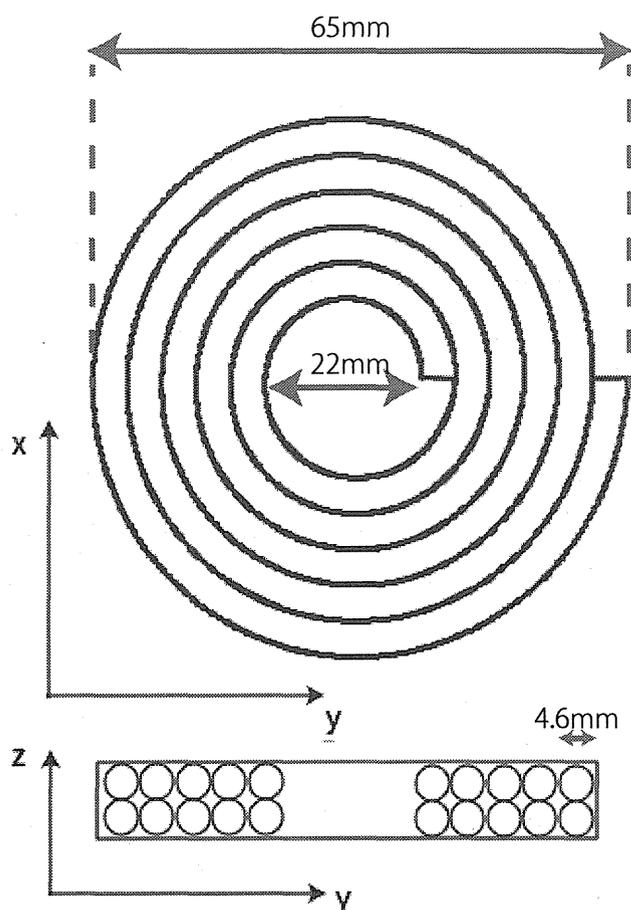


図3 コイルの形状

妊娠ラットモデル [9] は MRI(magnetic-resonance-imaging) 画像からモデル化されたものを用いた。図1にラットモデルの概要図を示す。妊娠ラットは妊娠16日後の個体をモデル化しており、組織数は15、胎児数は11である。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。導電率は4-Cole-Cole分散モデルから求めた[10]。ここでは胎児を脳、及びそれ以外の組織でモデル化した。脳以外の組織は母ラットの組織の比率から導電率を計算している。20kHzでの胎児の脳の導電率を0.095S/m、それ以外の組織を0.2S/m、胎児を覆う羊水を1.27S/mとした[11]。

3.2 指標

過去の研究において、生体への局所ばく露の研究例は少ない。この局所ばく露の環境下での評価を行うための局所化指標を定めることにおいて、過去の文献からの参考例がない。そのため、今回、独自に局所化指標を定め、評価を行った。我々は胎児の発生に対する影響を評価するため、胎児ラットでの内部誘導量平均値をラット全体での内部誘導量平均値で割った値を指標 α_j として検討した。式(1)に指標 α の定義を示す。添字 j は誘導電流密度の場合 J 、誘導電界の場合 E の場合で変わる。 α の値が高いほど、胎児に局所的にばく露できると考え、より高い値が得られる磁場発生コイルを検討した。また、慢性影響を評価することにおいて装置から得られる誘導量の目標値として ICNIRP のガイドライン [3,4] の一般公衆の基本制限値を定めた。誘導電流密度では ($40\text{mA}/\text{m}^2$)、誘導電界では ($2.7\text{V}/\text{m}$) となる。

胎児内に誘導される量を大きくするための局所性の向上と上記のように目標以上の誘導量を得ることをばく露装置の設計指針として検討を行う。

$$\alpha_j = \frac{\text{胎児ラットでの内部誘導量平均値}}{\text{ラット全体での内部誘導量平均値}} \quad (1)$$

4. 結果

4.1 ばく露装置の概要

図2に今回設計したばく露装置の概要図を示す。また、図3にコイルの形状、図4にラットとコイルの位置関係の図を示す。検討段階では局所的な磁界が発生するコイルとして8の字コイル [5,6]、カスプコイル等を用いて高い局所性と目標以上の誘導量の2つを満たすコイルを比較検討した。その結果、設計したコイルの形状はIH調理器で用いられるような渦巻き型のコイルを採用した。5巻きのコイルを2段重ねることでばく露量を増やしている。このコイルをラットの腹部胎児付近に設置することで胎児に局所的な磁界ばく露を行える。図5にその位置でのコイルから発生する磁界分布を示す。図5からコイル中央部分では磁界が強く、離れていくほど弱まっていく局所磁界が発生していることが分かる。

4.2 装置のばく露評価

表1に一樣磁界分布と今回検討した磁場発生コイルでの磁界分布による誘導量の局所性の指標 α を示す。表では誘導電流密度の場合、誘導電界強度の場合をそれぞれ示している。一樣

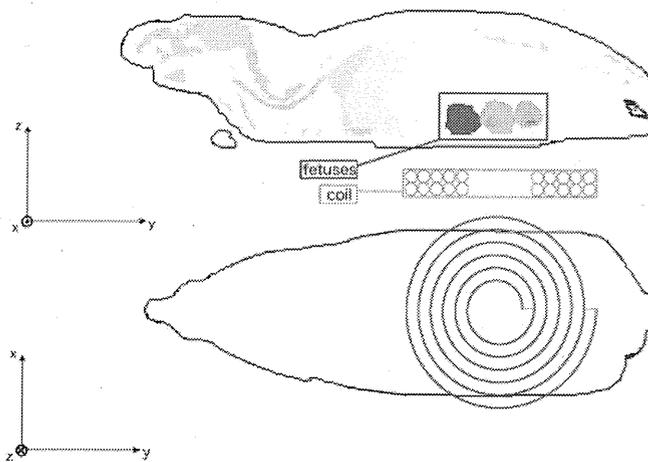


図4 ばく露装置下でのラットとコイルの位置関係

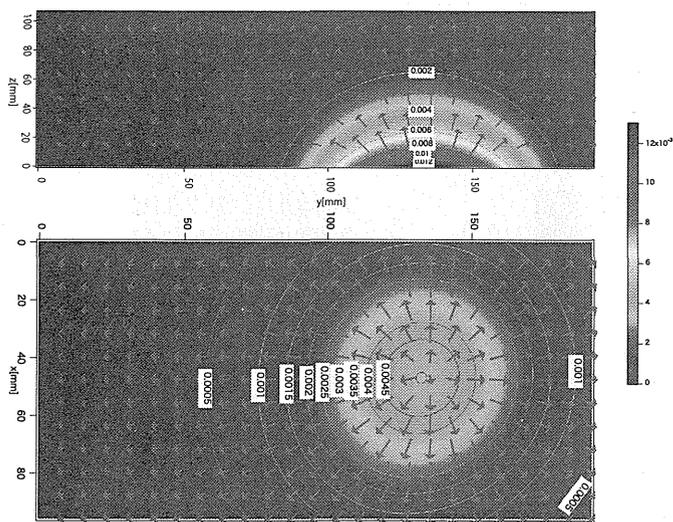


図5 コイルから発生する磁界分布

界の α 値が一番カップリングの強い入射方向として、誘導電流密度ではラットの左右方向、誘導電界ではラットの前後方向の結果をそれぞれ示している。左右方向、前後方向は図4のx方向、y方向をそれぞれ表している。この表1から一様磁界入射と比較して渦型コイルでの胎児への局所性が高いことがわかる。

また、表2、表3にラット全体、胎児での最大値、平均値をそれぞれ示す。胎児の平均値は各胎児ごとの誘導量の平均値を求め、それぞれの値を胎児数で平均した値となる。この値を本研究では全胎児平均値と呼ぶ。局所化指標算出時にはボクセル平均による体積あたりの誘導量の平均値を求めていて、全胎児平均値とは異なっている。誘導電流密度が最大となる組織はラット全体では筋肉組織、胎児では脳以外の組織となった。また、誘導電界が最大となる組織はラット全体では脂肪組織、胎児では脳以外の組織となった。全胎児平均値から胎児が基本制限値の誘導量を得るためにコイルに流す必要がある電流量を計算し示す。全体胎児平均値が1998年度版のICNIRPのガイドラインの一般公衆でのばく露での基本制限値($40\text{mA}/\text{m}^2$)を満たすためには8.27A、2010年度版のICNIRPのガイドラインの一般公衆でのばく露での基本制限値($2.7\text{V}/\text{m}$)を得るため

表1 局所化指標

	一様磁界	渦型コイル
誘導電流密度の指標 α_J	0.480(左右方向)	1.45
誘導電界の指標 α_E	0.486(前後方向)	1.16

表2 内部誘導電流密度の最大値・平均値(コイルに流す電流量:90A@20kHz)

	ラット全体	全胎児平均
最大値 [A/m^2]	3.94(筋肉)	3.43(脳以外の胎児組織)
平均値 [A/m^2]	0.362	0.436

表3 内部誘導電界の最大値・平均値(コイルに流す電流量:90A@20kHz)

	ラット全体	全胎児平均
最大値 [V/m]	27.9(脂肪)	22.1(脳以外の胎児組織)
平均値 [V/m]	3.01	3.01

には80.6Aをコイルに流す必要がある。このことから工学的制限である最大電流量90Aを満たし、ばく露装置の目標値を達成できることがわかった。家電製品の多くは1998年度版のICNIRPのガイドラインの一般公衆のばく露の参考レベルを考慮しており、ばく露装置は参考レベルの値に関連している基本制限値の11倍程度の誘導電流密度が得られる設計となっている。また、2010年度版のICNIRPのガイドラインと比較しても基本制限値程度のばく露実験を行うことができる。

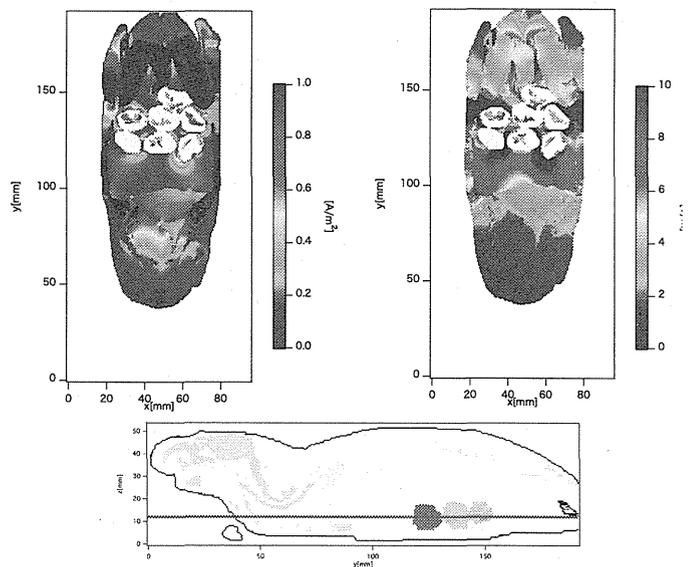


図6 妊娠ラット内の内部誘導量

図6に内部誘導量の分布を示す。これら内部誘導量分布はラットモデルの赤線の部分での断面図での分布を示している。この図から胎児周辺の組織の誘導量が大きく胎児にのみ局所ばく露を行うことは困難であると考えられる。また、図7、8に内部誘導電流密度、誘導電界のヒストグラムを示す。縦軸、横軸はそれぞれ最大ボクセル数、各誘導量の最大値で規格化されている。赤線が胎児、黒線がラット全体でのヒストグラムとなっている。このヒストグラムからも胎児の内部誘導量が大きく局

所的なばく露が行えていることが分かる。

また、図9、10に胎児ごとの内部誘導量の平均値を示す。縦軸は各誘導量の値、横軸は胎児ごとに割り振った番号を示している。この番号は図1のラットモデル断面図に示されている番号である。また、標準偏差の値をそれぞれ示している。標準偏差の値からばらつきが大きいことがわかる。これらの結果から胎児の中には、設計値から2倍程度高い値や1/3程度の誘導量となることが予測される。

4.3 実測値との比較

設計したばく露装置を駆動させ得られた実測値から設計で用いた計算値と比較を行う。図11、12に実測値と計算値との比較した結果を示す。実測値、計算値ともにコイルに流す電流値を1mAとして比較を行った。図3から高さ方向をz軸、水平方向をx軸とする。図11はコイル中心でz方向に測定点の距離を変えた場合の磁束密度の値、図12はコイルからz方向に15mmの点、x方向に測定点の距離を変えた場合の磁束密度の値の結果をそれぞれ示している。それぞれの図から中心で10%程度の誤差が生じている。図12では中心部が計算値より低い値となっている。

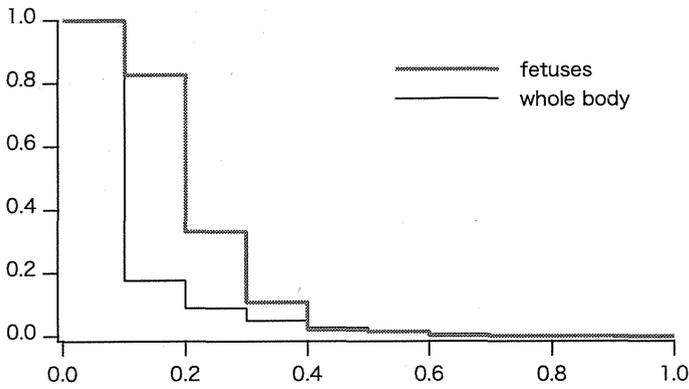


図7 内部誘導電流密度のヒストグラム

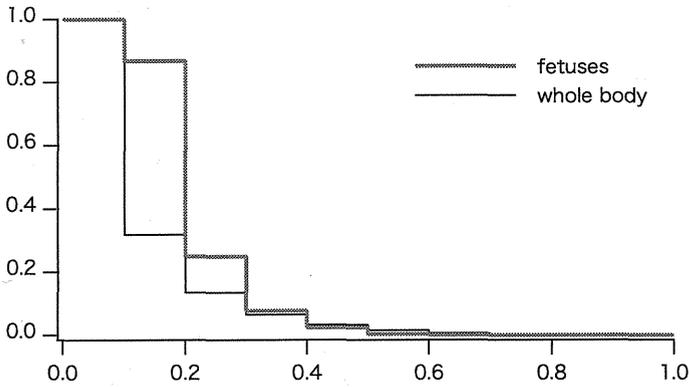


図8 内部誘導電界のヒストグラム

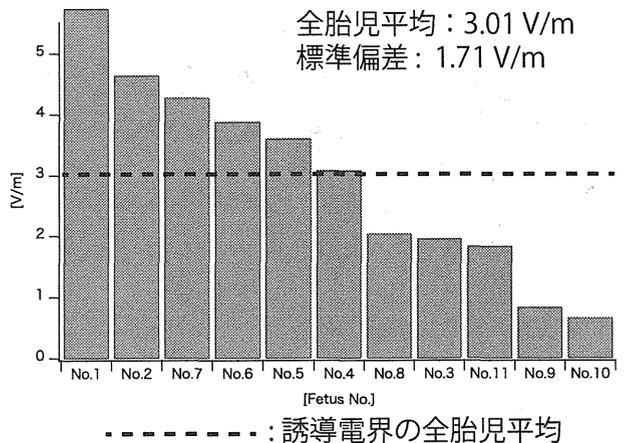


図10 胎児ごとの内部誘導電界

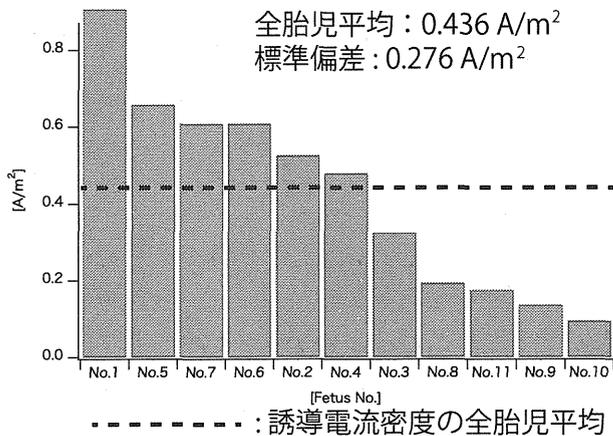


図9 胎児ごとの内部誘導電流密度

5. 考 察

図9、10から胎児によりばく露量にばらつきがある。ばく露実験での評価を行う際、各胎児のばく露量からどのような要因により誘導量が変わるのか特定することが望ましい。ばく露量のばらつきの要因として、図1から胎児の位置関係、発育の個体差による大きさの違いが挙げられる。特に、腹部に近い胎児のほうが誘導量は大きなことが考えられる。動物ばく露実験の胎児の評価において、腹部からの近い距離の胎児を強いばく露群、離れた距離の胎児を弱いばく露群として分け、それぞれの誘導量から評価を行う予定である。

図11、12より入射磁界に対し実測値と計算値との間に10%程度の誤差が生じていることが分かる。この原因として、測定時のずれ、設計時と作製後のコイルモデルの巻方、配線の太さ等の違いが考えられる。その結果、中心部で減衰していることから母ラットでの誘導量の影響は少ないが、胎児での誘導量

が 10 % 程減少することが考えられる。そのため、10 % 程度局所化指標も下がることと考えられる。

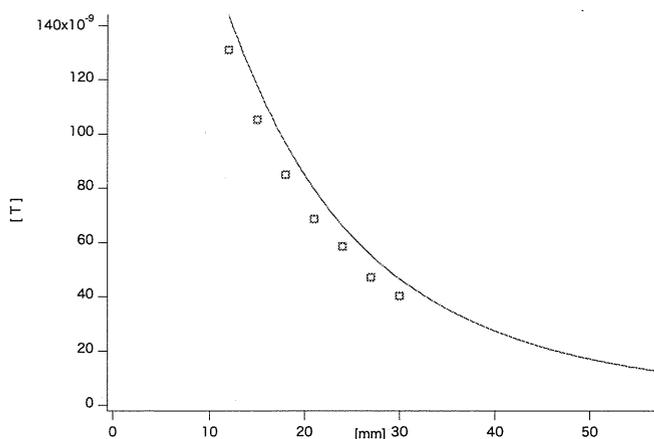


図 11 実測値高さ方向比較

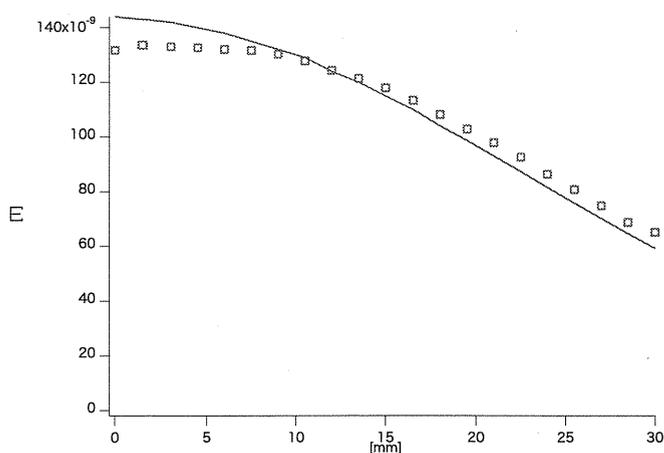


図 12 実測値水平方向比較

6. 結 論

数値計算によるばく露評価を利用し、ばく露装置の開発を行った。胎児に局所的にばく露することを評価するため独自に局所化指標を設定した。設計したばく露装置では誘導電流密度の胎児への局所化指標 α_J で 1.45、誘導電界の局所化指標 α_E で 1.16 が得られた。その結果、一様磁界に比べ局所的にばく露が行えることがわかった。コイルに電流を 90A 流したとき、1998 年版 ICNIRP のガイドライン [3] の一般公衆の基本制限値の 11 倍程度、2010 年版 ICNIRP のガイドライン [4] の一般公衆の基本制限値程度の誘導量が得られる装置の設計が行えた。

7. 謝 辞

本研究は厚生労働科学研究費 (H22-健危-一般-008) の助成を受けたものである。

文 献

[1] E.Litvak, K.R. Foster and M. H. Repacholi, "Health and safety implications of exposure to electromagnetic fields in

the frequency range 300 Hz to 10 MHz", *Bioelectromagnetics*, **23**, pp.68-82, 2002.

- [2] "Extremely Low Frequency Fields", *Environmental Health Criteria Monograph*, No.238.
- [3] International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, "GUIDELINES FOR LIMITING EXPOSURE TO TIME-VARYING ELECTRIC, MAGNETIC, AND ELECTROMAGNETIC FIELDS (UP TO 300 GHz)" *Health Phys.*, **74**(4), pp.494-522, 1998.
- [4] International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, "GUIDELINES FOR LIMITING EXPOSURE TO TIME-VARYING ELECTRIC AND MAGNETIC FIELDS (1 Hz TO 100 kHz)" *Health Phys.*, **99**(6), pp.818-836, 2010.
- [5] s. Ueno, T. Matsuda, and O. Hiwaki, "Localized stimulation of the human brain and spinal cord by a pair of opposing pulsed magnetic fields" *Journal of Applied Physics*, **67**, pp.5838 - 5840, 1990.
- [6] L. G. Cohen, B. J. Roth, J. Nilsson, Nguyet Dang, *et al.*, "Effects of coil design on delivery of focal magnetic stimulation. Technical considerations" *Electroencephalography and clinical Neurophysiology*, **75**, pp.350-357, 1990.
- [7] 鈴木 伸也, 他, 平成 23 年, 電気学会全国大会, 発表.
- [8] OM P. Gandhi, J. F. Deford, H. Kanai, "Impedance Method for Calculation of Power Deposition Patterns in Magnetically Induced Hyperthermia" *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, BME-31, Issue-10, pp.644-651, 1984.
- [9] J. Wang, O. Fujiwara, H. Kawai, K. Wake, S. Watanabe, "Development and Dosimetry Analysis of a 2-GHz Whole-Body Exposure Setup for Unrestrained Pregnant and Newborn Rats" *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, **56**, Issue-8, pp.2008-2013, 2008.
- [10] S. Gabriel, R. W. Lau, C. Gabriel, "The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues" *Physics in Medicine and Biology*, **41**, pp.2271-2293, 1996.
- [11] F De Luca, C Cametti, G Zimatore, B Maraviglia and A Pachi, "Use of low-frequency electrical impedance measurements to determine phospholipid content in amniotic fluid" *Physics in Medicine and Biology*, **41**, pp.1863-1869, 1996.

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

鈴木 敬久¹
Yukihisa Suzuki

和氣 加奈子²
Kanakano Wake

和田 圭二¹
Keiji Wada

多氣 昌生¹
Masao Taki

牛山 明³
Ushiyama Akira

大久保 千代次⁴
Chiyoji Ohkubo

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がもたれている。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。

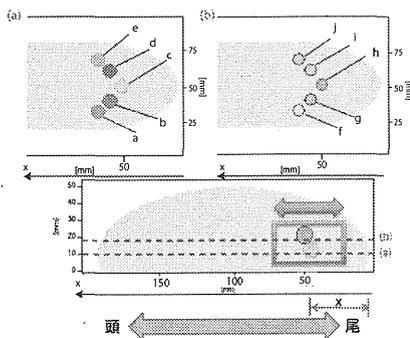


図1 簡易モデルの概要図

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くちがわかる。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。

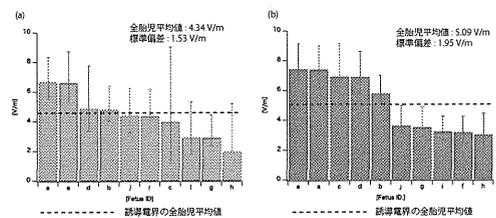


図2 (a) 妊娠期間16日での各胎児の内部誘導電界、(b) 妊娠期間20日での各胎児の内部誘導電界

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性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.

PA-91 [10:30]**Magnetic Fields in Intermediate Frequency Band generated by IH-hobs.**

Kanako Wake¹, Tomoyuki Nojima², Soichi Watanabe¹, Osamu Hashimoto², Yukihiisa Suzuki³, Masao Taki³ & Chiyoji Ohkubo⁴

¹*Applied Electromagnetic Research Institute, National Institute of Information and Communications Technology, Koganei, Japan, 1848795*

²*Aoyama Gakuin University, Japan, 2525258*

³*Department of Electrical and Electronic Engineering, Tokyo Metropolitan University, Hachioji, Japan, 1920397*

⁴*Japan EMF Information Center, Japan, 1050014*

There have been growing public concerns about possible health effects of electromagnetic fields in intermediate frequency band (300 Hz~10 MHz). An IH-hob is given as a source of electromagnetic fields in intermediate-frequency band. We measured the magnetic fields in the vicinity of IH-hobs based on the IEC 62233.

Long Abstract**Introduction**

There have been growing public concerns about possible health effects of electromagnetic fields in intermediate frequency band (300 Hz~10 MHz). An IH-hob is given as a source of electromagnetic fields in intermediate-frequency band. In the vicinity of IH-hobs, the distribution of the field is non-uniform. In these cases the measurement of the maximum field strength in the position of space occupied by the body result in a conservative exposure assessment [1]. IEC-62233 set the standard method to measure magnetic fields from household appliance [2]. In this study, we measured the magnetic fields in the vicinity of IH-hobs based on the IEC-62233.

Method

We used seven commercially available IH-hobs. Operating of frequencies of the IH-hobs are around 20 kHz for a stainless pan and more than 60 kHz for an aluminum pan. The magnetic field was measured with the magnetic field meter (HIOKI, 3470) along the vertical line at the distance of 300 mm from the surface of IH-hobs as shown in Fig.1. Measurement interval was 50 mm. The measured frequency regions were 10 Hz – 400 kHz (frequency range 1) and 2 kHz – 400 kHz (frequency range 2).

Results

The main operating frequency and maximum power for each IH-hob are listed in Table 1. Figure 2 shows the maximum magnetic fields measured for each IH-hob. The magnetic fields around 20 kHz for stainless pans were higher than over 60 kHz for aluminum pan. There was a difference around 3 times among the IH-hobs even in the similar operating frequency. The magnetic fields measured with frequency range 1 which include frequency of commercial power supply were higher than that of frequency range 2. We confirmed that the magnetic fields measured with IEC-62233 were below the reference level [1].

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] ICNIRP, Health Physics, Vol. 99, pp. 818-836, 2010.
- [2] International Electrotechnical Commission, IEC 62233, 2005.

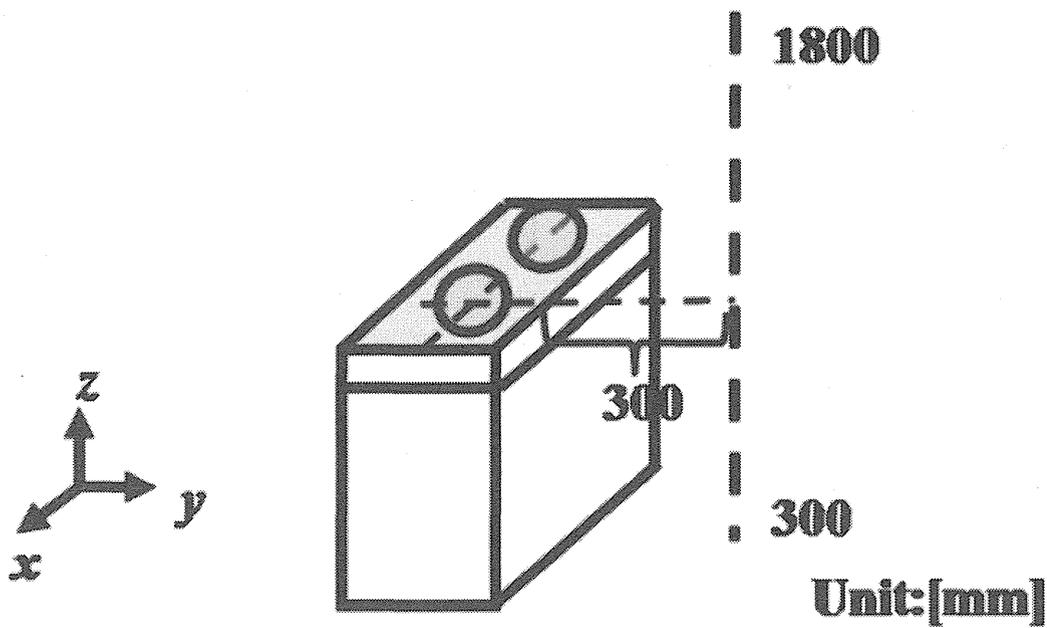


Figure 1. Schematic view of measurement

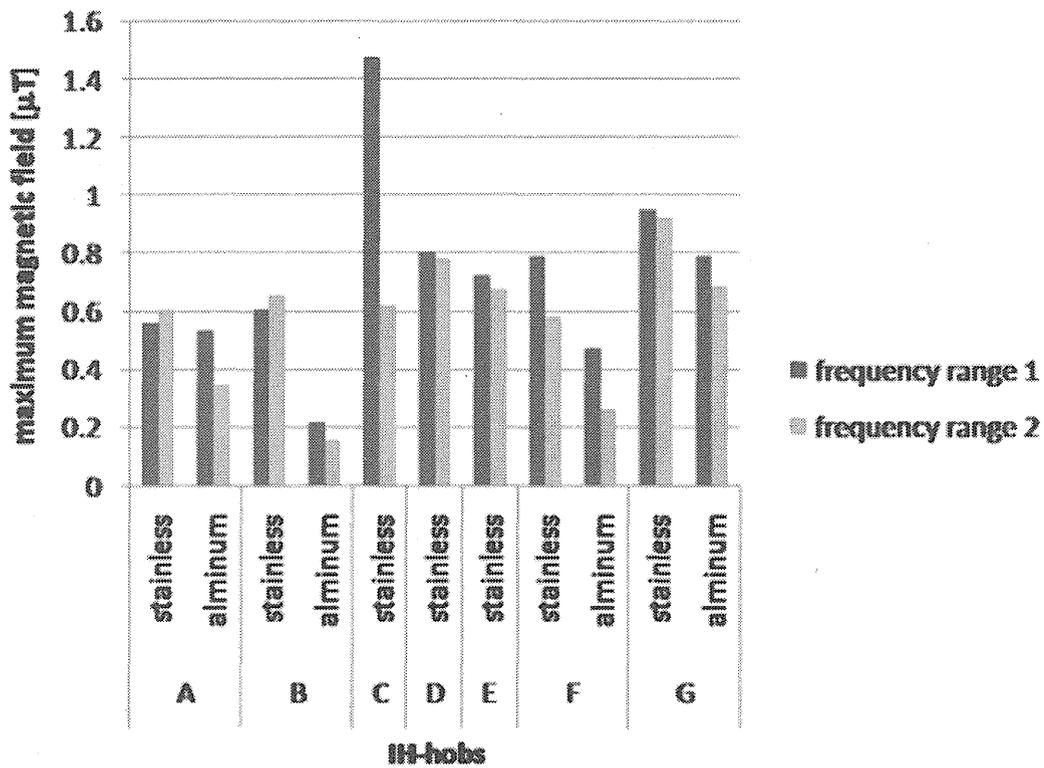


Figure 2. Maximum magnetic field for each IH-hob (frequency range 1: 10 Hz - 400 kHz, frequency range 2: 2 kHz - 400 kHz)
 Table 1. Operating frequency and power for each IH-hob

type	pan	operating frequency [kHz]	power [kW]
A	stainless	22.9	3
	aluminum	88.1	2.5
B	stainless	23.1	3
	aluminum	89.3	2.5
C	stainless	23.4	3
D	stainless	21.8	3
E	stainless	21.1	3
F	stainless	23	2
	aluminum	60	2
G	stainless	20.3	3
	aluminum	76.7	2.6

PA-93 [10:30]

Study on a simple detection system for breast-cancer at early stage

Mingyeong Seo¹, Ji-Yeon Mun¹, Soon-Ik Jeon², Hyung-Do Choi² & Jeong-Ki Park¹

¹Dept. of Radio Science and Engineering, Daejeon, Korea, 305-764

²Radio Technology Research Group, ETRI(Electronics and Telecommunications Research Institute), Daejeon, Korea, 305-700

In this paper, we investigated feasibility of a simple detection system for breast cancer at early stage using proper detection metrics based on the input impedance of antenna and the scattering characteristics. Possibility of detection was tested for two types of antennas by changing tumor size, number of antennas and frequency. We found that cancer tissues can be detected using the proposed system configuration and the detection metric for scattering parameters.

Long Abstract

OBJECTIVE: Breast cancer is the most common type of cancer among women. The earlier breast cancer is found, the better the chances that the treatment will work. The existing devices for detecting breast cancer such as Mammography, MRI (Magnetic Resonance Imaging) have some limitations. The objective of this study is to develop an inexpensive portable device for early detection of breast cancer. Tumor detection at microwave frequencies is based on the significant contrast in dielectric properties between malignant tumors and normal fatty breast tissue [1]. The sensing method for early detection is based on the left and right symmetry of the human breast. In this paper, we studied the possibility of sensing the presence of breast cancer with proper detection metrics by changing the tumor size, frequency, and number of antennas.

METHODS: The detection system studied in this paper consists of 4 antennas placed around a circle of radius 150 mm as shown in Figure 1. One of the antennas is a transmitting antenna and the others are receiving antennas. The detection metrics used in this paper is defined as the normalized variation of the input impedance (Z) of the transmitting antenna and scattering parameters between the transmitting antenna and the receiving antennas (S_{k1}):

$$|Z - Z_0|/|Z_0|, \sum_{k=2}^n (|S_{k1} - S_{k1-0}|/S_{k1-0})$$

, in which the parameters with subscript 0 denotes the values for a breast without cancer.

Breast was simplified as a hemisphere (radius 50 mm), and a spherical tumor was located at the center of the breast tissue. The electrical property of breast tissue was obtained from the volume average of fibro-glandular tissue and fat tissue for typical Korean women (HD type). The values in Table 1 are based on the measured data by Chungnam National University. Simulations were performed using REMCOM's XFDTD for cancer radii of 1, 2.5, 5, and 7.5 mm at a frequency of 700 ~ 1700 MHz, using dipole antennas and folded microstrip antennas. FMA (Folded Microstrip Antenna) was designed to miniaturize the antenna and to improve the directivity. It is not shown here, but the efficient choice of number of antennas was also tested. To analyze the effect of the body (160 x 160 x 180 mm³), simulation was also performed for the configuration in figure 2(b). The body is composed of muscle and its size was determined from the typical body size of Korean women.

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、Merit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プレートをも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 (日本老化制御研究所) 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ものと考えられる。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での化学物質 (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。

Development of exposure system of intermediate frequency magnetic fields for *in vitro* test systems

Masateru Ikehata^{1*}, Keiji Wada², Yukihsa Suzuki², Sachiko Yoshie¹, Taiji Sakai³,
Kanao Wake³, Satoshi Nakasono⁴, Masao Taki² and Chiyoji Ohkubo⁵

¹ Biotechnology Laboratory, Railway Technical Research Institute, Kokubunji-shi, Tokyo, Japan, ² Department of Electrical Engineering, Tokyo Metropolitan University, Hachioji-shi, Tokyo, Japan, ³ National Institute of Information and Communications Technology, Koganei-shi, Tokyo, Japan, ⁴ Central Research Institute of Electric Power Industry, Abiko-shi, Chiba, Japan, ⁵ Japan EMF Information Center, Minato-ku, Tokyo, Japan

*Corresponding author e-mail: ikehata@rtri.or.jp

INTRODUCTION

Health effects of magnetic fields and electromagnetic fields (EMFs) are still concerning in the society. Therefore, WHO is conducting the International EMF Project to evaluate health risk by exposure to EMFs. They already published two environmental health criteria monographs for static electric/magnetic field (No. 232, in 2006) and time-varying (<100 kHz) electric field and magnetic field (No. 238, in 2007). In the EHC No. 232, they summarized that the biological effects of intermediate frequency (IF; from 300 Hz to 10 MHz) MFs have not been studied enough to estimate its health risk, and recommended further research in frequencies between 300 Hz and 100 kHz. In order to deal with this situation, we have started new research project to estimate biological effects and health risks of IF-MFs. In this study, we developed newly designed IF-MFs exposure system for *in vitro* test systems and started to evaluate biological effects.

MATERIALS AND METHODS

Recently, it is becoming popular to use IH cooking apparatus in Japan. A time-varying magnetic field with frequency range 20 kHz to 100 kHz is used as the fundamental heating frequency and among those, a 20 kHz IF-MF is mainly used. Besides, industrial inverters (e.g. inverter used for VVVF electric train) are also used in these frequencies. From these, IF-MFs are possibly strayed in environment. Thus, 20 kHz is primary target frequency in this study.

Existing guideline by the International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) provided reference level of exposure (6.25 μ T in these frequencies range for public). Thus, we decided 3 mT (about 500 times higher than reference level of ICNIRP guideline) was set as maximum field strength of IF-MFs. In order to achieve this strength and sufficient exposure space, Merritt coil was chosen as the coil configuration. The configuration of circuit and coil of this system will be presented by Prof. Wada, et al. in detail at another presentation of this conference. Temperature, humidity and concentration of CO₂ was controlled using an incubator that made by resin that was located inside of the coil. We developed two identical units of the coil and also the incubator. We arbitrarily combined each unit and used one for exposure and the other for sham-exposed control. Culture condition was examined by incubation of CHL/IU, a Chinese hamster lung cell line, cells.

For biological experiment, CHL/IU cells are incubated in exposure apparatus with or without MFs for 24h in 90mm Petri dishes or 96 well test plates. After the exposure, cells are fixed and stained for counting micronucleus. The ratios of micronucleus formation are estimated by counting micronucleus in approximately 2,000 cells. Growth of cells is

estimated by colorimetric assay using WST-1.

RESULTS AND DISCUSSION

Newly developed exposure system is capable of generating 20 kHz, up to 3.9 mT IF-MF (624 times higher than reference level (6.25 μ T) for public in existing ICNIRP guideline) within exposure space (150mm \times 150mm \times 150mm) within \pm 5% deviation.

Six 90mm Petri dishes or six 96 well test plates are able to be putted in the resin CO₂ incubator that located inside the Merrit coil. This water-circulated incubator was able to maintain temperature in exposure space at 37 ± 1 °C with IF-MF exposure up to 3.9 mT or without IF-MF. It was confirmed that the culture condition of this resin incubator was appropriate since CHL/IU cells revealed normal growth in the incubator without IF-MF. Thus, strong IF-MF exposure for cell culture was established for *in vitro* experiments, such as cell culture system using this exposure system (Fig. 1).

In the biological experiment, analysis of cell growth and micronuclei frequency in CHL/IU cells under IF-MF exposure are underway. Preliminary result shows no difference in growth and the results of effect on growth and frequency of micronucleus will be presented at the conference. Previously, lack of genotoxicity of IF-MFs (20 kHz, up to 1.1 mT for long term exposure[1], and 23 kHz, 6.05 mT for short term exposure[2]) have already been reported. We will confirm this result in part and also investigate several epigenetic indices in the future.

CONCLUSION

We developed exposure system of strong IF-MF (20 kHz, up to 3.9 mT) for *in vitro* test systems, such as cell culture.

ACKNOWLEDGEMENT

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

REFERENCES

- [1] Nakasono S, Ikehata M, Dateki M, Yoshie S, Shigemitsu T, Negishi T., Intermediate frequency magnetic fields do not have mutagenic, co-mutagenic or gene conversion potentials in microbial genotoxicity tests, *Mut. Res.*, vol. 649:187-200, 2008.
- [2] Sakurai T, Kiyokawa T, Kikuchi K, Miyakoshi J.t. Intermediate frequency magnetic fields generated by an induction heating (IH) cooktop do not affect genotoxicities and expression of heat shock proteins. *Int J Radiat Biol.* Vol.85(10):883-90, 2009.

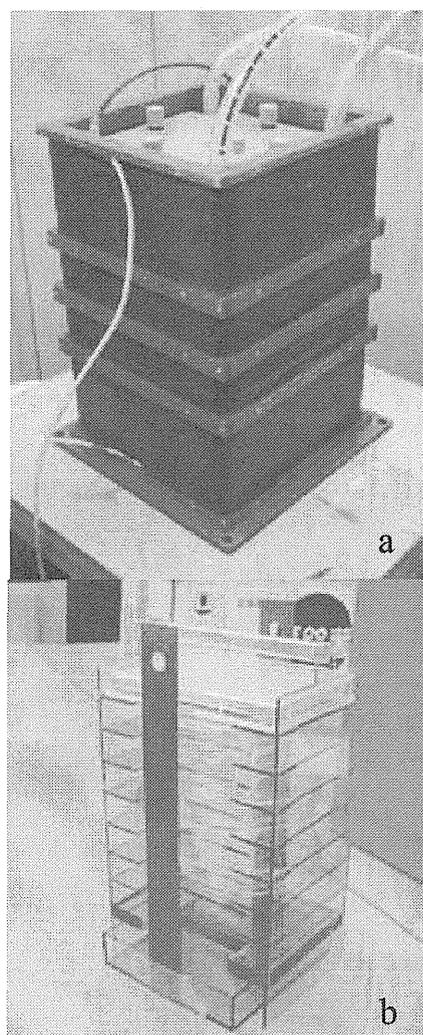


Fig. 1 Photographs of the exposure system. (a) : the Merritt coil and the incubator, (b): the rack used for the incubator.

Evaluation of Genotoxic Effects of Intermediate Frequency Magnetic Field in *in vitro* Micronucleus Assay Using CHL/IU Cells

M. Ikehata¹, K. Wada², Y. Suzuki², S. Yoshie¹, T. Sakai³, K. Wake³, S. Nakasono⁴,
M. Taki² and C. Ohkubo⁵

¹Railway Technical Research Institute, ²Tokyo Metropolitan University, ³National Institute of Information and Communications Technology, ⁴Central Research Institute of Electric Power Industry, ⁵Japan EMF Information Center
Biotechnology Laboratory, Environmental Engineering Division,
Railway Technical Research Institute
Kokubunji-shi, Tokyo 185-8540, Japan
E-mail: ikehata@rtri.or.jp

Introduction

Environmental health criteria (EHC) monograph for time-varying (<100 kHz) electric field and magnetic field (No. 238, in 2007) published recently by World Health Organization (WHO) summarized that the biological effects of intermediate frequency (IF; from 300 Hz to 10 MHz) MFs have not been studied enough to estimate its health risk, and recommended further research in frequencies between 300 Hz and 100 kHz. In order to deal with this situation, we have started new research project to estimate biological effects and health risks of IF-MFs, especially for several tens kHz that frequencies are used in IH cooking heaters, main inverters in railway vehicles, etc. In this study, genotoxic effects of strong intermediate frequency magnetic field (IF-MF) was evaluated in *in vitro* micronucleus assay using CHL/IU cells.

Materials and Methods

Our newly developed exposure system is capable of generating 21 kHz, IF-MF up to 3.9 mT (624 times higher than reference level (6.25 μ T) for public in existing ICNIRP guideline) within exposure space (150mm \times 150mm \times 150mm) within \pm 5% deviation.

For evaluation of genotoxicity by exposure to IF-MF, *in vitro* micronucleus assay (MNvit) using CHL/IU cells was employed as one of world standard genotoxic assay systems in this study. Cells were incubated in exposure apparatus with or without (sham) MFs (2, 3 or 3.9mT) for 24h and 48h in 90mm Petri dishes or 96 well test plates. After the exposure, cells are fixed and stained for counting micronucleus. The ratios of micronucleus formation are estimated by counting micronucleus in approximately 2,000 cells. Growth of cells was estimated by colorimetric assay using WST-1.

Results and Discussion

Preliminary result shows micronucleus frequency in exposed cells (2 mT, 24hr) was 1.1% while that in sham exposed cells was 1.2%. On the other hand, mitomycin C (DNA crosslinker, antitumor agent) treatment (0.04 μ g/ml) induced significant increase of micronucleus (3.4%). This result shows that 24 hr (long term) exposure of 21 kHz IF-MF does not induce micronucleus in CHL/IU cells even in its strength of 2 mT which exceeded 320 times of reference level for general public in current ICNIRP guideline and the result is consistent with previous studies[1,2].

Analysis of cell growth and micronucleus frequency under other IF-MF exposure conditions is underway and will be presented at the conference.

Acknowledgement

This work was supported in part by Research on Health Security Control, Health and Labour Sciences Research Grants.

References

- [1] S. Nakasono, M. Ikehata, M. Dateki, S. Yoshie, T. Shigemitsu, T. Negishi, Mut. Res., vol. 649:187-200, 2008.
- [2] T. Sakurai, T. Kiyokawa, K. Kikuchi, J. Miyakoshi, Int. J. Radiat Biol. Vol.85 (10):883-90, 2009.

Evaluation of Biological Effects of Intermediate Frequency Magnetic Field Based on Growth of DNA Repair Deficient Mammalian Cells and Mutation Assay

S. Yoshie*, M. Ikehata*, Y. Suzuki**, K. Wada**, C. Ohkubo***, T. Hayakawa*

* Railway Technical Research Institute, ** Tokyo Metropolitan University,
***Japan EMF Information Center

* Biotechnology Laboratory, Environmental Engineering Division,
Railway Technical Research Institute, Kokubunji-shi, Tokyo 185-8540, Japan
E-mail: syoshie@rtri.or.jp

Introduction

A few studies on biological effects of intermediate frequency (IF) magnetic fields (MF) have been reported, even though the opportunity that people expose to IF-MF are increasing with several devices such as IH cooker, inverter equipped on electric train and so on. Since there are few reports about long term IF-MF exposure, it is important to evaluate biological effect of long term IF-MF exposure. Recently, we have developed the exposure apparatus of IF-MF, which was designed for long term exposure for *in vitro* study. In this study, the effect of IF-MF on growth rate of various cell lines which are deficient in DNA repair was investigated, and mutagenicity was assessed by *HPRT* mutation assay using CHO-K1 cells.

Materials and Methods

The exposure apparatus of IF-MF employs a meritt type coil as a basic structure^[1]. This exposure apparatus generates homogeneous IF-MF ($\pm 5\%$) under the condition of 20 kHz and maximum magnetic flux density 3.9 mT in the cubic space of 150 mm on a side. A CO₂ incubator is installed in that homogeneous IF-MF space to be able to expose MF to cultured cells. As sham exposure, identical combination system of a CO₂ incubator and a merit coil was prepared and used without energizing (no-magnetic field) in parallel to IF-MF exposure. Chinese hamster ovary cells, CHO-K1 and its DNA repair deficient derivatives, *xrs5* (*Ku86*), *V-3* (*DNA-PK*), *irs1SF* (*XRCC3*) and *EM-9* (*XRCC1*) were chosen in this study. To investigate the growth rates, 100 μ l aliquot (10^4 cells/ml) of these cell lines poured into each well of 96-well plates and incubated for 24 hr prior to the exposure period, then the plates were exposed to IF-MF. After 0, 24, 48 and 72 hr, 10 μ l of WST-1 premix solution (TaKaRa Bio Inc.) was added to 4 well each and then put back to the apparatus. Absorbance at 450 and 630 nm was measured using microplate reader (Bio-Rad laboratories, Inc.) after incubation for 3 hr. Furthermore, *HPRT* mutation assay was done using CHO-K1 cell line. CHO-K1 cells in 60 mm culture plate was exposed to 2 mT IF-MF for 24hr. Exposed cells were subcultured and incubated for several days to fix mutation. After 5 days, these cells were subcultured in Ham's F12 medium for cloning efficiency and the medium containing 6-TG for 6-TG resistant mutant detection.

Results and Discussion

Comparing growth rate between IF-MF exposure and sham exposure, there are no significant difference in CHO-K1, *xrs5* and *V3* in up to 72 hr exposure. This result suggests IF-MF exposure does not affect cell growth regardless of the ability of DNA repair. For cell lines *EM-9* and *irs1SF*, growth rates have been investigated. Furthermore, *HPRT* mutation frequencies were 4.3 ± 2.3 and 6.7 ± 4.3 per 10^6 survival cells for IF-MF and sham exposure, respectively and there is no significant difference between IF-MF exposure cells and sham exposure cells. On the other hand, methyl methanesulfonate (MMS: 5 μ g/ml) significantly induced 6-TG resistant mutant. This result indicates that IF-MF exposure does not cause mutation under experimental condition in this study.

Acknowledgment

This work was supported in part by Research on Health Security Control, Health and Labour Sciences Research Grants.

References

[1] Kogure, S. et al. "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)

Evaluation of biological effects by exposure to intermediate frequency magnetic fields

Masateru Ikehata¹, Sachiko Yoshie¹, Yuki Ogasawara², Kazuyuki Ishii², Keiji Wada³, Yukihisa Suzuki³, Taiji Sakai⁴, Kanako wake⁴, Satoshi Nakasono⁵, Masao Taki³ and Chiyoji Ohkubo⁶.

1Railway Technical Research Institute, 2 Meiji Pharmaceutical University, 3Tokyo Metropolitan University, 4National Institute of Information and Communications Technology, 5Central Research Institute of Electric Power Industry, 6Japan EMF Information Center.

Abstract

To evaluate biological effects of IF-MFs, we investigate growth in various DNA repair deficient cells (such as *Ku86*, *DNA-PK*, *XRCCI*), frequency of micronucleus in CHL/IU cells, gene mutation frequency at *hprt* locus in CHO-K1 cells by exposure to 2 mT 21 kHz IF-MF (320 times higher than reference level (6.25 μ T) for public described in current ICNIRP guideline) for 24-72 hrs.

As the results, we have not observed any significant effects by exposure to 2 mT, 21 kHz IF-MF in every experimental index. This suggests that IF-MF is unlikely to cause adverse biological effects.

Introduction

Health effects of magnetic fields and electromagnetic fields (EMFs) are still concerning in the society. Therefore, WHO is conducting the International EMF Project to evaluate health risk by exposure to EMFs. They already published two environmental health criteria monographs for static electric/magnetic field (No. 232, in 2006) and time-varying (<100 kHz) electric field and magnetic field (No. 238, in 2007).

On the other hand, various intermediate frequency magnetic fields are generated in various situations such as cooking with IH cooking hob, taking electric train, using RF-ID tags or IC cards. However, health risk of intermediate frequency magnetic fields (IF-MFs) is inconclusive because there is a few research to date, thus further research in frequencies between 300 Hz to 100 kHz are recommended by World Health Organization (2007). In order to deal with this situation, we have launched new research project to estimate biological effects and health risks of exposure to IF-MFs. In this study, we developed newly designed IF-MFs exposure system for *in vitro* test systems and started to evaluate biological effects.

MATERIALS AND METHODS

Recently, it is becoming popular to use IH cooking apparatus in Japan. A time-varying magnetic field with frequency range 20 kHz to 100 kHz is used as the fundamental heating frequency and among those, a 20 kHz IF-MF is mainly used. Besides, industrial inverters (e.g. inverter used for VVVF electric train) are also used in these frequencies. From these devices, IF-MFs are possibly strayed in environment. Thus, around 20 kHz is primary target frequency in this study.

Existing guideline by the International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) provided reference level of exposure (6.25 μ T in these frequencies range for public). Thus, we decided 3 mT (about 500 times higher than reference level of ICNIRP guideline) was set as maximum field strength of IF-MFs. In order to achieve this strength and sufficient exposure space, Merritt coil was chosen as the coil configuration. Temperature, humidity and concentration of CO₂ was controlled using an incubator that made by resin that was located inside of the coil. We developed two identical units of the coil and also the incubator. We arbitrarily combined each unit and used one for exposure and the other for sham-exposed control. Culture condition was examined by incubation of CHL/IU, a Chinese hamster lung cell line, cells.

For biological experiments, CHL/IU was used for micronucleus assay. In addition, Chinese hamster ovary cells, CHO-K1 and its DNA repair deficient derivatives, *xrs5* (*Ku86*), *V-3* (*DNA-PK*), *irs1SF* (*XRCC3*) and *EM-9* (*XRCCI*) were used in this study. To investigate the growth rates, 100 μ l aliquot (10⁴ cells/ml) of these cell lines poured into each well of 96-well plates and incubated for 24 hr prior to the exposure period, then the plates were

exposed to IF-MF. After 0, 24, 48 and 72 hr, 10 μ l of WST-1 premix solution (TaKaRa Bio Inc., Japan) was added to 4 or 16 well each and then put back to the apparatus. Absorbance at 450 and 630 nm was measured using microplate reader (Bio-Rad laboratories, Inc., USA) after incubation for 2 or 3 hr.

In this study, we performed two mutation tests. One is HPRT mutation assay that was done using CHO-K1 cells and the other is *in vitro* micronucleus assay using CHL/IU cells.

In HPRT mutation assay, CHO-K1 cells in 60 mm culture plate was exposed to 2mT IF-MF for 24hr. Exposed cells were subcultured and incubated for several days to fix mutation. After 5 days, these cells were subcultured in Ham's F12 medium for cloning efficiency and the medium containing 6-TG for 6-TG resistant mutant detection.

In *in vitro* micronucleus assay, CHL/IU cells are incubated in exposure apparatus with or without MFs for 24h in 90mm Petri dishes. After the exposure, cells are fixed and stained for counting micronucleus. The ratios of micronucleus formation are estimated by counting micronucleus in approximately 2,000 cells.

RESULTS AND DISCUSSION

Newly developed exposure system is capable of generating 21 kHz, up to 3.9mT IF-MF (624 times higher than reference level (6.25 μ T) for public in existing ICNIRP guideline) within exposure space (150mm \times 150mm \times 150mm) within \pm 5% deviation.

Six 90mm Petri dishes or six 96 well test plates are able to be putted in the resin CO₂ incubator that located inside the Merritt coil. This water-circulated incubator was able to maintain temperature in exposure space at 37 \pm 1 $^{\circ}$ C with IF-MF exposure up to 3.9mT or without IF-MF. It was confirmed that the culture condition of this resin incubator was appropriate since CHL/IU cells revealed normal growth in the incubator without IF-MF. Thus, strong IF-MF exposure for cell culture was established for *in vitro* experiments, such as cell culture system using this exposure system (Fig. 1).

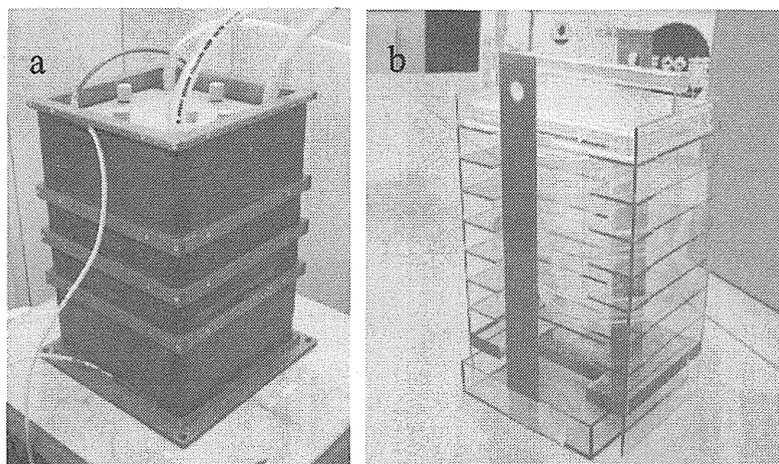


Fig. 1 Photographs of the exposure system. (a) : the Merritt coil and the incubator, (b): the rack used for the incubator.

In the biological experiments, growth rate under IF-MF exposure (up to 3.9mT) was examined in CHL/IU, CHO-K1, xrs5, V3, EM-9 and irs1SF. We observed no significant effect on the growth rate up to 72 hr in all of the cells and there is no difference between exposed and sham exposed group. This result suggests IF-MF exposure does not affect cell growth even in DNA repair deficient cells. Results of CHL/IU cells were shown in Fig. 2 as typical result. Results in other cell lines are similar to the results of CHL/IU cells.

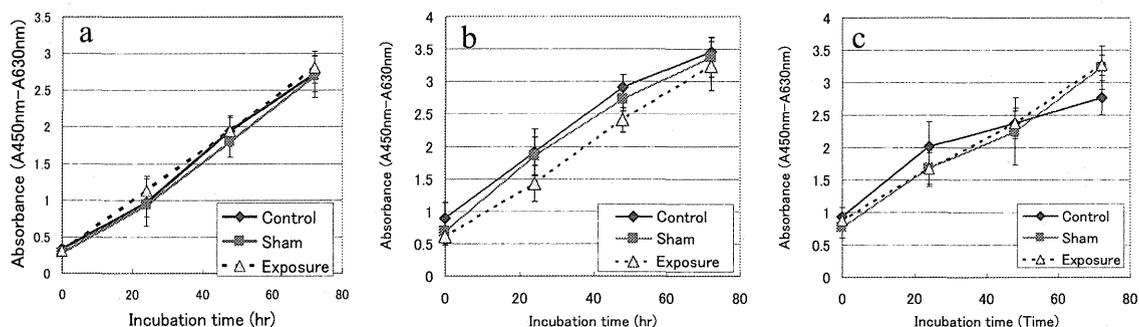


Fig. 2 Cell growth under IF-MFs (a; 2mT, b; 3mT, c; 3.9mT)

BIOLOGICAL EFFECT OF IF-MF

In HPRT mutation assay, mutation frequencies were 4.3 ± 2.3 and 6.7 ± 4.3 per 10^6 survival cells for 2mT, 21kHz IF-MF and sham exposure, respectively and there is no significant difference between IF-MF exposure cells and sham exposure cells. On the other hand, methyl methanesulfonate (MMS: 5 $\mu\text{g/ml}$) significantly induced 6-TG resistant mutant. This result indicates that 2mT, 21kHz IF-MF exposure does not cause mutation under experimental condition in this study. Fig. 3 shows the result.

In *in vitro* micronucleus assay, micronucleus frequency in CHL/IU cells was not affected and remained almost same as sham control by exposure to 2mT, 21kHz IF-MF for 24 hr. On the other hand, treatment with MMC (0.04 $\mu\text{g/ml}$) caused significant increase in micronucleus frequency. These results are shown in Fig. 4. Accordingly, it indicated at least 2mT, 21kHz IF-MF did not induce micronucleus in CHL/IU, cultured mammalian cell line. Analysis of assay by exposure to 3 or 3.9mT, 21kHz IF-MF for 24 hr are underway.

Dosimetry of each sample was estimated by analytical solution method. As the result, average induced currents were estimated 6.33 A/m^2 in 90 mm dish, 4.22 A/m^2 in 60 mm dish and 0.05 A/m^2 in 96 well microtiter plate under 21 kHz, 2mT IF-MFs exposure.

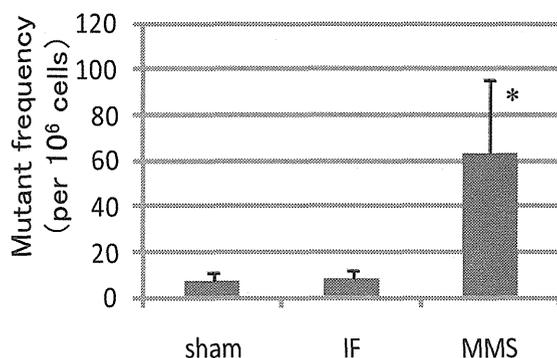


Fig. 3 Mutation frequency at *hprt* allele of CHO-K1 cells by exposure to 2mT, 21kHz IF-MF. (Sham; sham exposure, IF; 2mT, 21kHz IF-MF, MMS; 5 $\mu\text{g/ml}$ of methanesulfonate, *, $p < 0.05$ by Student's *t*-test)

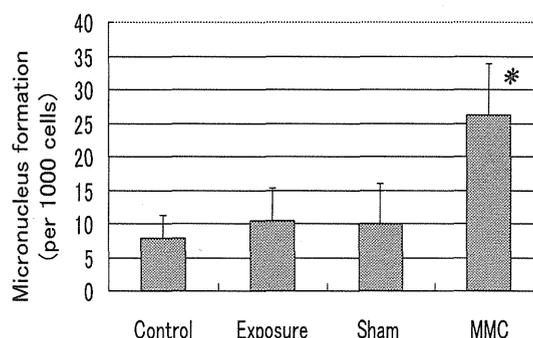


Fig. 4 Micronucleus formation per 1000 cells in CHL/IU cells by exposure to 2mT, 21kHz, IF-MF. (Control; conventional CO₂ incubator, Exposure; 2mT, 21kHz IF-MF, Sham; sham exposure, MMC; 0.04 $\mu\text{g/ml}$ of mitomycin C, *, $p < 0.05$ by Student's *t*-test)

Previously, lack of genotoxicity of IF-MFs (20 kHz, up to 1.1 mT for long term exposure^[1], and 23 kHz, 6.05 mT for short term exposure^[2]) have already been reported. Our results confirm these results in part and also indicate long term exposure to strong IF-MF did not induce mutation and also toxic effect in mammalian cells.

Moreover, to evaluate possible health risk of IF-MF, it is important to investigate various possibilities. In case of using IH cooking hob, effect on pregnant woman and fetus should be carefully evaluated in addition to evaluate its carcinogenic and toxic effect. We are using genetically modified MCF-7 (derived from human breast adenocarcinoma) cells with ERE-luciferase fusion gene construct for investigating effects on cellular response to estrogens in MCF-7 cells or ability to induce cellular hormonal response by exposure to IF-MF. In these cells, response to estrogens in MCF-7 cells is estimated as expression of luciferase that will determine by chemiluminescence. This experiment is underway but preliminary result shows that there is no clear effect by exposure to 2mT, 21kHz IF-MF.

CONCLUSION

We developed an exposure system for *in vitro* test systems, such as cell culture, to expose to strong IF-MF (21kHz, up to 3.9 mT) continuously. Using this system, we demonstrated that at least 2mT, 21kHz IF-MF (that is 320 times higher than current ICNIRP reference level for public) did not have toxic effects in mammalian cell lines including DNA repair deficient cells and also did not induce mutation and micronucleus.

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] Nakasono S, Ikehata M, Dateki M, Yoshie S, Shigemitsu T, Negishi T., *Mut. Res.*, vol. 649:187-200, 2008.
- [2] Sakurai T, Kiyokawa T, Kikuchi K, Miyakoshi J., *Int J Radiat Biol.* Vol.85(10):883-890, 2009.