

国立環境研究所特別研究報告

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR - 35 - 2001

超低周波電磁界による健康リスクの
評価に関する研究
(特別研究)

Health risk assessment of exposure to extremely low frequency electromagnetic field

平成9～11年度
FY 1997～1999

NIES



NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立環境研究所

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

国立環境研究所特別研究報告

SR - 35 - 2001

超低周波電磁界による健康リスクの
評価に関する研究
(特別研究)

Health risk assessment of exposure to extremely low frequency electromagnetic field

平成9～11年度

FY 1997～1999

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境省 国立環境研究所

特別研究「超低周波電磁界による健康リスクの評価に関する研究」

(期間 平成9～11年度)

特別研究責任者：兜 眞徳

特別研究幹事：新田裕史

報告書編集担当：新田裕史

序

本報告書は平成9～11年度に実施した特別研究「超低周波電磁界による健康リスクの評価に関する研究」の成果をとりまとめたものである。

超低周波電磁界の健康影響に関する報告はすでに20年ほど前になされていたものであるが、世界的に本格的な研究が実施されるようになったのはこの10年ぐらいのことである。本報告書で取り上げている超低周波電磁界は商用周波数である50ないし60ヘルツの電流の周辺に生ずる磁界をさしているが、近年では携帯電話の急激な普及に伴って、より周波数の高い電波による生体影響に対する関心も高まっている。従来 of 諸外国での研究によれば電磁界による健康影響はたとえ存在したとしてもそれほど大きいものではないというのが一般的な研究者の考えであろう。しかしながら、この問題は電力・電波の利用という近代社会の最も重要な基盤にかかわるものであり、健康影響があるとすればそれが極く小さいものであっても、影響の及ぶ範囲は広大である。それがこの問題に対する社会的な関心の高さの所以であり、本特別研究が実施されたきっかけでもある。

本研究では我が国で唯一の施設である超低周波ヒト暴露実験室を用いた実験を実施して超低周波電磁界の急性影響の評価を試みた。このような人の志願者への暴露実験は倫理上の制約が大きいものの、環境リスク評価における貴重なデータをもたらしてくれるものである。そのほか、本報告書には培養細胞を用いた実験、および地域住民の超低周波電磁界への暴露調査の結果が示されている。本研究は超低周波電磁界による健康リスクの評価に関係するすべての課題に網羅的に取り組んだものではないが、これまで世界的に蓄積されてきたデータにさらに重要な知見を加えたものと確信する。

最後に、本研究を進めるにあたって多数の方々に実験・調査に対するご協力を頂いたことに対して深く感謝を申し上げます。

平成13年1月

国立環境研究所

所 長 大 井 玄

目 次

1 研究の目的と経緯	1
1.1 研究の目的	1
1.2 研究の構成	1
2 研究の成果	3
2.1 ヒトを対象とした低レベル電磁界暴露実験	3
2.1.1 実験方法	4
2.1.2 結果と考察	10
2.1.3 結論	17
2.2 動物および培養細胞系を用いた低～高レベル電磁界暴露実験	18
2.2.1 電磁界感受性 MCF-7 を用いた磁界負荷実験	18
2.2.2 ヒト白血球を用いた磁界負荷実験	22
2.3 ヒト集団における暴露レベルと生理影響評価	24
2.3.1 一般家庭における長期測定	25
2.3.2 送電線沿線の住民を対象として暴露レベル測定	27
2.4 まとめ	38
[資料]	
I 研究の組織と研究課題の構成	43
1 研究の組織	43
2 研究課題と担当者	43
II 研究成果発表一覧	44
1 誌上発表	44
2 口頭発表	45

1 研究の目的と経緯

1.1 研究の目的

電力利用の増加した現代社会では日常的となっている50~60 Hzの低レベルの超低周波電磁界への暴露によって白血病や脳腫瘍などのリスクが上昇している可能性を示唆する疫学的データが報告されている。これらの報告で示されているレベルは、これまで生理的影響を考慮して安全とされてきたレベルより極端に低いレベルであり、その妥当性について国際的に盛んに研究されているところであるが、我が国での研究あるいは行政での取り組みは大幅に遅れている。このような超低周波電磁界への暴露を受けている人口は非常に大きいことが予想され、示唆される健康影響の具体的検討が急務である。

これまでの諸実験研究では、磁界強度の単位である μT （マイクロテスラ）レベルの超低周波電磁界の遺伝子傷害性は示されていないので、もし上記リスクが事実であるとすれば、それは発ガンのイニシエーターとしての作用ではなく、プロモーターとしての作用による可能性がある。 μT レベルの電磁界によって実験動物では松果体ホルモンのメラトニン分泌が抑制されることが繰り返し確認されている。しかし、ヒトでは決定的なデータは得られていない。一方、発ガン以外の生体影響については、動物実験研究を含む基礎的検討がなお必要な段階にある。これまでの生化学的研究ではカルシウムイオン代謝などへの影響を認める報告もあるが、疫学研究結果に比べて実験的研究では再現性のある研究結果は乏しいと言わざるを得ない状況である。

以上のような状況から、超低周波電磁界への暴露によって生ずることが示唆されている健康影響の妥当性、特に疫学研究における暴露評価の方法上の問題点を検討し、このような疫学研究結果と実験研究成果との乖離を埋めることが、超低周波電磁界の健康リスク評価で最も重要であると考え、以下のような研究を計画した。計画では研究期間等を考慮して、これまでに報告されている実験的研究の中で比較的再現性があると判断されるエンドポイントを選んで実験を進めるとともに、超低周波電磁界への暴露状況を把握することを目的とした。

1.2 研究の構成

これまでの超低周波電磁界の分子・細胞・組織レベル

への影響についての知見はすでに集積されており、 μT レベルでも影響しうる可能性が示唆されているが、それらの知見がそのままヒト個体レベルのリスク評価に役立つものは少ない。本研究は基本的に個体レベルのリスクを評価することに主眼を置き、超低周波電磁界の健康リスク評価に資するための研究として、以下の3つの課題を設定した。

第1の課題は、日常生活で実際に経験しうる暴露レベルの範囲内で、精密にコントロールしたヒトへの暴露を行い、生理・生化学的変化との定量的な関連性を検討するものである。第2の課題は、ヒトに対する暴露が困難な条件下で動物ないし培養細胞系実験を行う。第3の課題は定量的リスク評価のために必須である一般集団における暴露レベルに関する調査研究、比較的高レベルの暴露集団を対象に、第1の課題の検討から明らかにされる影響指標に関する検討を行う。また、第1のヒト暴露実験での暴露レベルを決定する場合の資料を提供する。

課題1 ヒトを対象とした低レベル電磁界暴露実験

内部に交流電磁界をほぼ均等に発生させる超低周波電磁界ヒト暴露実験室を新たに作成し、約2mの木製ベッドをその中に入れ、被験者を安静状態ないし夜間睡眠を取らせた状態で、 μT レベルの電磁界を暴露時間、パターンあるいはレベルを変化させて、生理的ならびに内分泌系に対する影響の有無あるいは大きさ等について検討する。

課題2 動物および培養細胞系を用いた低~高レベル電磁界暴露実験

研究開始当初、実験動物を用いた実験について検討したが、装置の製作に関して時間的・技術的な困難が明らかとなったため、培養細胞を用いた実験のみを実施することとした。培養細胞系実験では μT レベルでも影響が報告されている培養細胞を用いて、結果の再現性を確認するとともに、その機序を明らかにするための諸実験を行うこととした。

課題3 ヒト集団における暴露レベルと生理影響評価

課題1に先行して一般住民ならびに高圧送電線沿線住民の電磁界への暴露レベルを把握し、それを規定する要因を抽出するために、小型モニターを用いた調査を実施した。さらに、課題1のヒト暴露実験の結果が得られた

後に、磁界暴露による影響が明らかになった指標について、高暴露集団を対象として調査を実施することを計画

していたが、課題1では有意な影響指標が得られなかったため、最終的には暴露調査のみを実施した。

2 研究の成果

2.1 ヒトを対象とした低レベル電磁界暴露実験

本課題では、以下の3点を検証するための3種類の実験を試みた。

実験1 ヒトは磁界を感知できるか。また、磁界負荷は自律神経系の活動に影響を与えるか。

実験2 磁界負荷は、脳の認知機能に影響を与えるか。

実験3 夜間の磁界暴露で、ホルモン分泌および血液中の血球数に変化が現れるか。特に、メラトニン分泌への影響が現れるか。

ここ20年近く議論されている超低周波電磁界の健康リスク評価の中心的課題は、電磁界暴露とヒトの発がんリスクとの関連性を解明することである。本課題のヒト暴露実験もその例外ではなく、実験3はその目的に沿って計画されたものである。これとは異なり、実験1と実験2は電磁界の発がん性の検証をその目的とはしていない。実験1, 2で想定している電磁界の生体影響は、一部の研究領域で問題視されている「電磁界過敏症」、あるいは、高い電磁界レベルの労働作業環境での健康問題（作業能率の低下、自律神経失調症、心血管系疾患のリスク上昇など）である。これらの問題を調査する上で観察の対象となる生理機能（すなわち自覚的な感覚、認知・反応試験に反映される脳機能、あるいは心拍数・心拍変動に反映される自律神経機能）に共通する特徴は何らかの外部刺激に対してすばやく働くことであり、従って実験1, 2は短期暴露・短期観察を原則とするヒト対象の暴露実験がきわめて有効な検証課題と考えられた。

一方、上記の実験3は、いわゆる「メラトニン仮説」の検証を主な目的として実施した。「メラトニン仮説」は基本的に2つの仮説を組み合わせたものである。すなわち、1) 脳の松果体より分泌されるメラトニンが生体内で発がんの過程に抑制的に作用する、および2) 電磁界に暴露された生体でメラトニンの生成・分泌、あるいは標的組織でのメラトニン作用が抑制される、というものである。1番目の仮説については、その成り立ちの発端となったのは、松果体腫瘍の患者や実験的に松果体を摘出した動物で乳がんや悪性黒色腫などの悪性腫瘍の発症率が高いことなどの古くから知られていた経験的事実であった。その後のメラトニンの発見によって同ホルモンの抗腫瘍活性について多くの研究者の関心が集まり、仮

説の形成につながった。2番目の仮説は、メラトニンの発見以前からの松果体に関するさまざまな考察にその起源がある。松果体は他の脳と異なり左右一対では存在せず、脳の中央部に単独で位置しており、多くの動物種の比較解剖によって、一部の動物ではその松果体が頭頂部の頭蓋表面にまで長くその器官を伸ばし、「第3の眼」と言うべき外観を備えていることがわかり、松果体が光・その他の外部刺激を受容している可能性が示唆されるようになった。メラトニンの発見と、その明瞭な一日リズムの発見、そして光照射によりメラトニン分泌が抑制される事実の発見を受けて、光（可視光線）と同じ物理因子と言うべき低周波電磁界、静電界/静磁界にも、光と同様、松果体に作用する可能性が予想されるに至った。

この2つの仮説を組み合わせた「メラトニン仮説」は、本来、ヒトのライフスタイルの都市化に伴う乳がんの増加を説明する社会的因子として、都市化を特徴づける「電力消費量」、さらにはそれに付随する「人工照明」と「電磁界」とを呈示し、それに生理学的解釈を付け加えたものであった（Stevens. Am.J.Epidemiol. '87）。この仮説が、疫学研究によって提起された電磁界の発がん性の可能性を説明する作業仮説として、90年代初めごろより重要視されるようになったため、電磁界の生体影響を検証する研究分野において、電磁界に暴露された生体のメラトニンの動態を観察することが90年代後半の大きな課題となった。

実験3の焦点は、夜間の磁界暴露で血液中のメラトニンに変化が現れるかを観察することにあるが、さらに本実験では、メラトニン以外でヒトより採取・収集でき、かつ、発がんの過程との関連づけが可能なものとして、免疫機能の指標となる末梢血液中免疫担当細胞の個数、DNAの酸化的損傷の指標となる尿中8-OH-dGなどについても評価を行った。

なお、実験1~3は、国立環境研究所の医学研究倫理審査委員会の承認を得たうえで実施したものである（通知番号97-01S）。また、各被験者には、あらかじめ実験の目的・内容、および暴露により予想される生体への影響に関してのすべての情報を提供したうえで、各人より実験参加の同意を得た。

2.1.1 実験方法

(1) 暴露実験室の設計

ヒト暴露実験でこれまでに多くの実績をあげている Midwest Research Institute (Kansas City, USA) の研究チームに協力を要請し、技術者を当研究所に招へいして暴露室の設計を依頼した。

暴露室全体は二重構造状に設計した。すなわち、4×3mの部屋の内部に磁界負荷用の2.7m四方の部屋(暴露室)を組み立て(図1 A, B)、二つの壁にはさまれた空間(外室)に磁界発生用のコイルを設置した。暴露室およびコイル固定用の枠組みは、磁界の攪乱を防ぐためすべて木造とした。コイルの配線は「メリット式」を採用した。すなわち、1軸方向の4つの平行な平面内で銅線を正方形に巻き、その巻き数を16:8:8:16、コイルの間隔を4:3:4となるようにした(図2)。この配線方式は、内部に発生する磁場強度の空間的ばらつきを小さく抑えることを目的として考案されたものである。このコイルを部屋の3軸方向それぞれに同じ形式で設置したが、水平方向のコイルについては、戸を横切る部分のみ戸を上下に迂回する配線とした。配線はすべてツイストペア銅線(#10-AWG)を用い、ペアのうちの片方の線は外室に設置したトグルスイッチによって極性が切り替わるように設計した。このスイッチにより、同じ大きさの対向電流をペア銅線に発生させることが可能となり、これにより、通電量が同じで発生磁界がゼロのコントロール条件を作り出すことができた。

暴露室の内部は木目調パネルで囲み、通路および室内からはコイルが全く見えないようにした。室内照明は白熱灯・蛍光灯兼用で光度連続可変式のもの(HNP 2435, 松下電工)を天井に設置した。ただし実験中の照明は白

熱灯を基本的に用い、高周波ノイズ磁界を発生させるインバータ作動の蛍光灯は用いないようにした。室内は気温24度・湿度50%に設定した。

暴露室内では、磁界を発生させたときに配線の振動音、照明のちらつき、気温の変化などの物理的な変化は認められないことをあらかじめ確認し、室内の被験者が磁界の存在を感知する物理的な手がかりがいかないように配慮した。暴露室には外部環境からの磁界を遮蔽する仕様を加えなかったため、通常の室内と同様に地球の静磁界や外部からの電波などは進入する状態であった。暴露室は戸のある壁面が西北西を向いており、磁界プローブ(Mag-03 MCES, Bartington Instruments, England)による計測では、暴露室内の静磁界の強度は水平方向で約26 μT 、鉛直方向で約31 μT であった。戸を隔てて暴露室に隣接する部屋(図1 C)は、実験3において睡眠時に採血を行う場所として用いた。

暴露室コイルからの銅線は、床下を通して磁界コントロール室(図1 E)に設置したアンプ(Model-7572, Techtron, USA)に接続し、コントロール室において発生させた電流を暴露室に導くように配備した。アンプは、それぞれ暴露室の3軸方向コイルの1軸分に対応するように3台用意した。

磁界用の電流波形は二つの方式で作成した。実験1, 2では、パソコン内の計測制御用ソフトウェア(LabVIEW, National Instruments, USA)で発生させたサイン波形を、パソコンに接続したインターフェイス・ボード(AT-MIO-16 E-10, National Instruments, USA)からアナログ出力させた。3軸方向の3波形に関しては、それぞれを独立に別のチャンネルから出力し、おたがいを時間的に同期させたうえで、位相や振幅をそれぞれ独立して調節

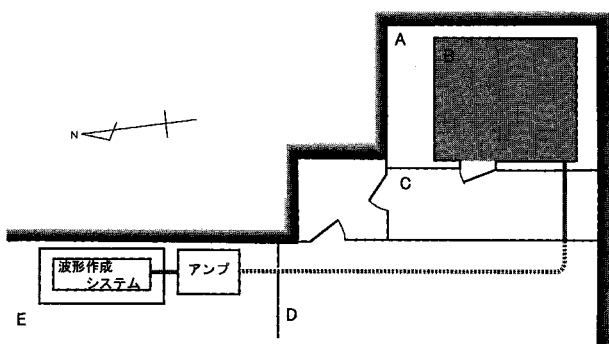


図1 暴露システム全体の俯瞰図
(A:外室, B:暴露室, C:実験3での採血室,
D:処置室, E:磁界コントロール室)

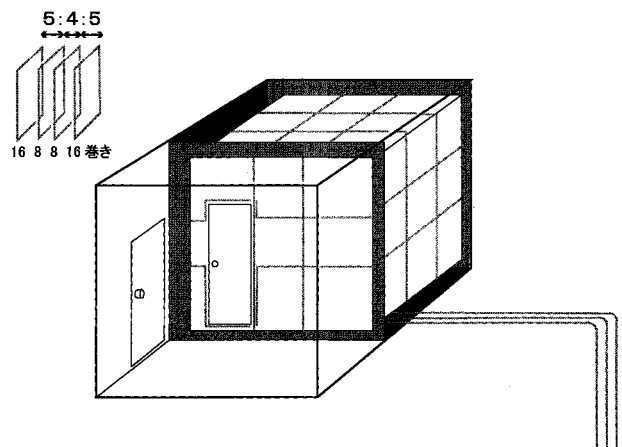


図2 暴露室におけるコイルの配線

した。この方式により、暴露室内に、直線変動のみならず、任意の形状・任意の変動面の楕円変動磁界を作成することが可能となった。実験3では、任意波形発生器(MFG-206, Micronix Co., 東京)を用いて複数の波形の重畳波形を作成し、アンプに導入した。

(2) 暴露条件の設定

我々が生活環境中で暴露している低周波領域の電磁界は、商用周波数(50/60 Hz)のサイン波(以下、基本波と略す)と、それに重畳するノイズ成分とから成っている。それらの波形の持つ基本的特性は以下のとおりである。

1) 磁界の強度：磁界の強度はT(テスラ)を単位として表されることが多い。厳密に言えば、Tは磁束密度の単位であり、磁界の強度の単位はA/mである。すなわち、磁界の強度は電流量と電流からの距離によって決まる。しかしながら、電磁環境における人への暴露の大きさに直接かかわるのは磁界の強度に空間の透磁率をかけた磁束密度であるので、磁束密度の単位を用いて磁界レベルを表現することが慣例である。

2) 電磁界の変動の極性：送電線は3本単位で3つの異なる位相の電流(3相波)を担送しているので、送電線周辺に発生する磁界の極性は円形(ほとんどの場合、細長い楕円形)の極性を持っている。例えば、50 Hzの場合であれば、ある軸の周りを磁界ベクトルが楕円状の軌跡を描いて毎秒50回の速さで回転している。これに対して、一般家庭に引き込まれた電流は一つの位相しか持たないので、引き込み線そのものや家庭内の電気製品・電子機器に由来する電磁界は直線状の極性を持っている。すなわち、磁界ベクトルが直線上を伸び縮みして一秒間に50ないし60回の周期でプラス・マイナス方向に向きを変えている。変動磁界が生体に影響を及ぼす場合に想定されるメカニズムとして最も考えられるのは、変動磁界によって生体内に発生する誘導電流が生体の機能を修飾する(特に興奮性細胞膜を刺激する)可能性である。磁界の極性が変われば、体内に発生する誘導電流の極性も変わり、違った生物学的効果を発揮することも考えられる。一部の動物実験では、円形変動磁界に暴露されたラットのメラトニン分泌が抑制され、直線変動磁界では抑制が見られなかったとする報告がある。

3) 電磁界の連続性：環境中の基本波はほとんどの場合、持続的・連続的に発生していると考えられるが、サー

モスタットに代表されるような、断続的に発生する場合もある。

4) 高調波：基本波形が電気器具・電子機器の内部においてトランジスタ、コンデンサなどの電子回路部品によってゆがめられた場合に、その波形の周波数スペクトル上には、基本波の整数倍(主に奇数倍)の周波数成分、すなわち高調波が現れてくる。

5) トランジェント波：過渡的に現れるノイズ成分、すなわちトランジェント波には、不規則・偶発的に発生する型のものと同様に発生する型のものとの存在する。前者は電源スイッチのON/OFF操作などから発生し、後者はサイリスタ、スイッチング電源、インバータ、ブラウン管などの内部部品から発生する。これらの波形は、基本波周辺の超低周波帯域(数Hz~数百Hz)と電波の周波数帯域(GHz以上)との間にはさまれた周波数(kHz~MHz)を持っている。これらは短時間しか持続しないとはいえ、大きな時間変化率(dB/dt)を持っているため、その波形の電磁界が生体に負荷された場合、瞬間的に大きな誘導電流が生体内に発生する可能性がある。

本課題では磁界に関する以上の各特性を考慮して実験条件を決定した(表1, 図3~4)。実験1では強度、極性、持続性の異なる20種類の磁界を被験者に負荷したが、実験2, 3では1種類の磁界のみを負荷した。図4に示したとおり、実験1, 2では50 Hzのサイン波形のみを用いたが、実験3では50 Hzのサイン波に高調波成分およびトランジェント波を重畳させた波形を用いた。実験3で用いた磁界の波形を図4(2)に示す。この波形は、 $20 \mu\text{T}$ ・50 Hzのサイン波を基本波として、150 Hzで振幅が30%のサイン波(3次高調波)と250 Hzで振幅が10%のサイン波(5次高調波)を重ね合わせ、1 kHz・最大 $100 \mu\text{T}$ で指数関数的に減衰する波形(トランジェント波)を1秒おきに加えたものである。

50 Hz基本波の磁界の強度は、本研究の課題3の暴露調査結果を参考として、これまでの先行研究でよく用いられてきた $20 \mu\text{T}$ を基本としたが、実験1においては最大でその5倍までの強度の負荷を試みた。極性に関しては、正円形変動と直線変動のいずれかを選択した。実験1では正円形変動の変動面が水平と鉛直の2種類を用い、変動面が鉛直の場合は変動面自体を回転させて、変動面(正円形)と人体との相対的な位置関係を変化させた(図3)。連続性に関しては、実験2, 3では連続的に発生させ

表1 実験に用いた変動磁界の特性

	実験1		実験2	実験3			
	グループ1	グループ2		重畳波形			
周波数	50Hz		50Hz	50Hz	150Hz	250Hz	1kHz
強度(磁束密度)	5通り ①20 μ T ②40 μ T ③60 μ T ④80 μ T ⑤100 μ T		20 μ T	20 μ T	6 μ T	2 μ T	100 μ T(最大) 50ミリ秒で 減衰・消失
変動の極性	正円形		正円形	直線			
軌跡	水平面		鉛直面	水平			
変動方向	2通り		連続的	連続的			
連続性	①連続的 または ②間欠的(5秒ごとの ON/OFF)					1秒ごと	
曝露時間	2分間		55分間	12時間			

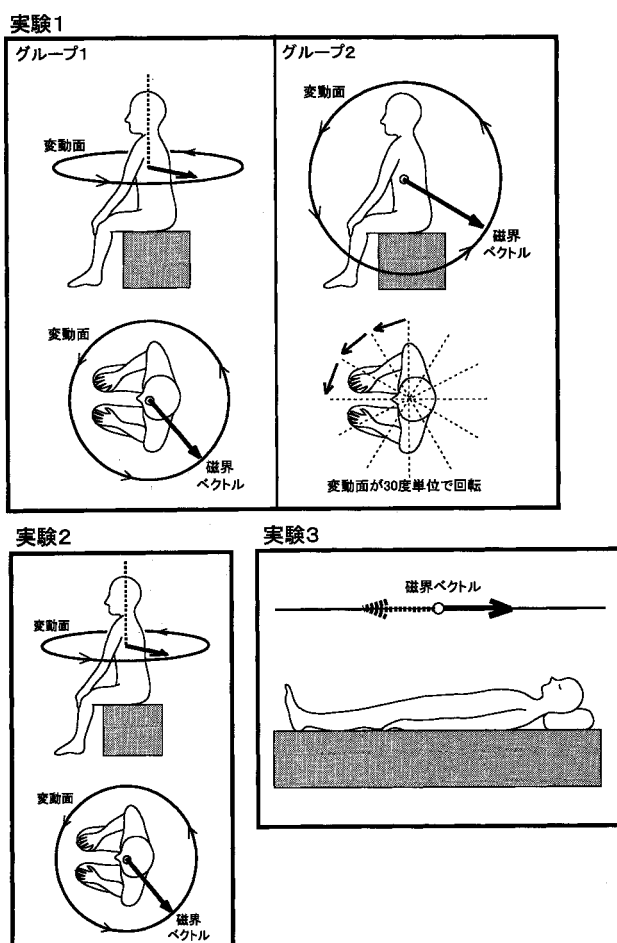


図3 実験に用いた変動磁界の空間特性

たが、実験1では間欠暴露(5秒ごとのオン・オフ)も試みた。

(3) 評価指標

- 1) 心拍数・心拍変動の指標(実験1~3のすべてで評価)

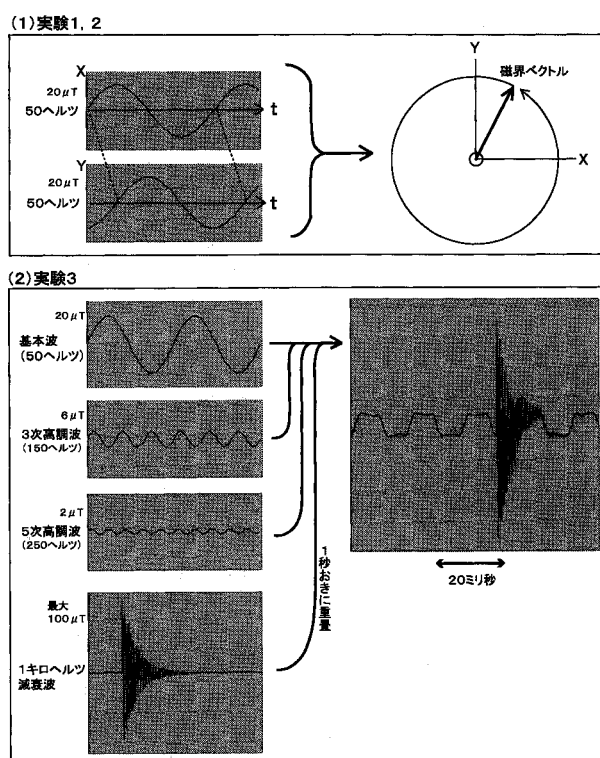


図4 変動磁界のもととなる電流波形の作成

心電図 RR 間隔の時系列より、以下の6項目の指標を算出した。

- ①平均 RR 間隔 (avRR)
- ②RR 間隔の標準偏差値 (sdRR)
- ③RR 間隔変動スペクトルの 0.05 Hz 以下の周波数帯域パワー値 (pVLF)
- ④RR 間隔変動スペクトルの 0.05~0.15 Hz 帯域のパワー値 (pLF)
- ⑤RR 間隔変動スペクトルの 0.15~0.50 Hz 帯域のパワー値 (pHF)

⑥ pLF と pHF の比 (LF/HF)

avRR は心拍数の逆数であり、交感神経系・副交感神経系をあわせた自律神経系全体の活動度を反映した指標である。pLF または LF/HF は (心臓) 交感神経系の活動度の指標、pHF は (心臓) 副交感神経系の活動度の指標とされている。pVLF は、その生理学的意義が現在のところ定まっていないものの、体温調節のゆらぎや脳の覚醒度のゆらぎ (1/f ゆらぎ、など) との関連が指摘されている。sdRR は、以上のゆらぎ 3 成分 (VLF, LF, HF) を含めて心拍ゆらぎ全体を総括した大きさの指標である。

2) 認知・反応試験 (実験 2 で評価)

コンピュータに接続したモニター画面を見ながらキーボードで各事象を認知する試験を実施し、以下の 4 項目を評価した。

- ①単純反応時間：画面上に合図となる信号が現れるのを確認してからキーボードを押すまでの時間
- ②選択反応時間：横一線に並んだ 3 つの丸のうち 1 つの色が変化するのを確認してから、その丸に対応したキーを正しく押すまでの時間
- ③時間認知機能：1 秒間隔の標準音を 10 秒間聞いた後、頭の中で数えた主観的 10 秒間の実際の時間
- ④図形認知機能：画面左半分に示された「矢羽根」付き線分 (ミュラー・ライヤーの錯視図形) を参照して、画面右半分に同じ長さの線分を再現した場合の、その実際の長さ。図 5 に、その試験の実施方法を示した。

これら 4 つは、いずれも、大脳皮質レベルの認知機能を反映する指標と考えられている。単純反応時間と選択反応時間は、認知・反応試験における基本的指標である。この場合、両反応時間の差が視覚刺激の識別に要した時間とみなされる。時間認知機能は、設定する時間の長さや標準時間の提示の仕方によりさまざまな試験の設定が可能であるが、本実験では 10 秒間の時間認識の場合に、直前に提示した標準カウントを被験者がいかに正確に脳内で再現できるかを評価した。錯視は、年齢・性別による差や人種差の小さい普遍的な生理現象とされ、眼球・網膜や視神経のレベルで起こるものではなく、視覚認知にかかわる大脳レベルで起こる現象であると考えられている。

3) 血漿中ホルモン濃度 (実験 3 で評価)

以下の 4 種類のホルモンについて、その分泌動態を評

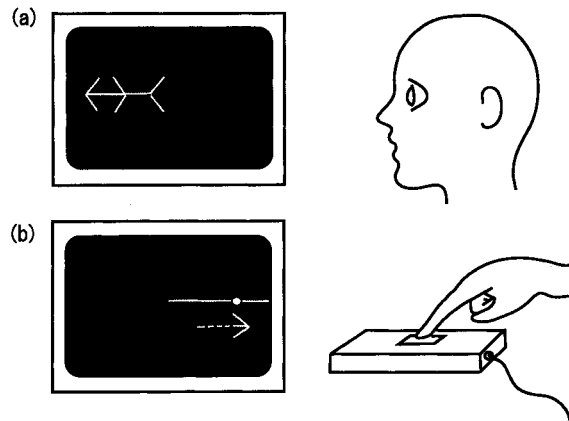


図 5 図形認知試験の方法

(モニター画面 (a) と (b) は 5 秒おきに入れかわる。被験者は、(a) の図形を見て、(b) に (a) の左側線分と同じ長さの線分を再現する。)

価した。

- ①メラトニン
- ②コルチゾール
- ③成長ホルモン
- ④プロラクチン

この 4 種のホルモンはいずれも夜間から明け方にかけて血液中に分泌されるホルモンであり、その分泌は大脳の支配を強く受けている。メラトニンおよびコルチゾールの分泌は大脳のいわゆる「体内時計」に強く支配され、成長ホルモンおよびプロラクチンの分泌は大脳の睡眠中枢に強く支配されると考えられている。

4) 血液中の血球に関する検査 (実験 3 で評価)

末梢血液を用いて、以下の項目を評価した。

- ①赤血球 3 項目 (赤血球数、ヘマトクリット、ヘモグロビン濃度)
- ②血小板数
- ③白血球 10 項目 (総白血球数、顆粒球数、好酸球数、単球数、リンパ球数、リンパ球 5 サブセット数 (CD 3, CD 4, CD 8 high, CD 16/CD 56, CD 19))
- 5) 尿中 8-OH-dG (実験 3 で評価)

8-OH-dG は、DNA の構成成分である dG (デオキシグアノシン) が酸化された結果として細胞外に切り出されてくる物質であり、体液中や尿中の量は DNA の酸化傷害、生体の酸化的ストレスの指標となる。

(4) 生体情報の収集およびその解析

1) 心電図 RR 間隔 (実験 1~3)

RR 間隔記録計 (ML-2000, MiniMitter 社, USA) を

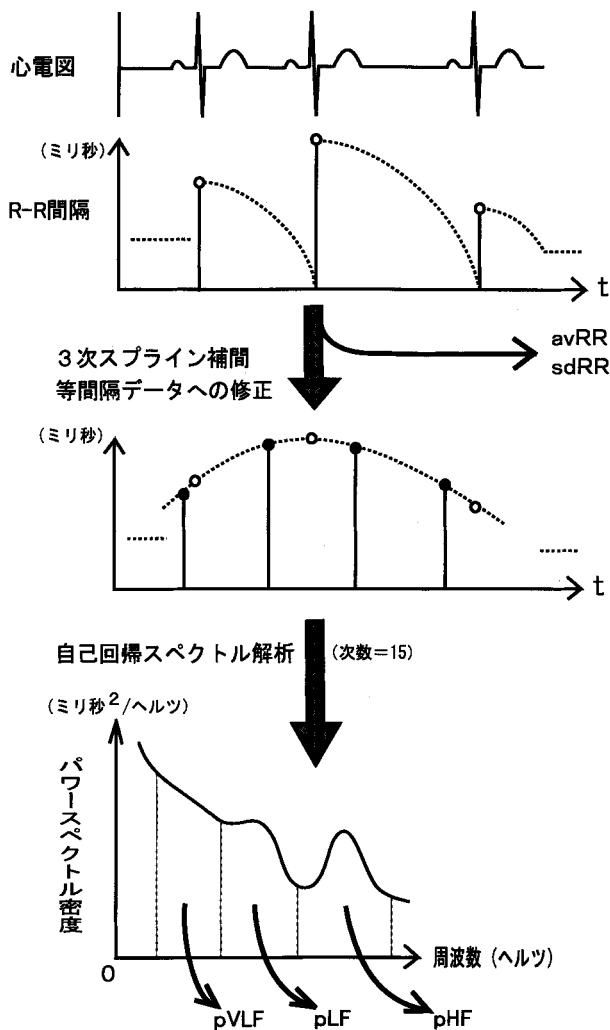


図6 心拍変動解析の手順

用いて、胸部誘導で導出した心電図よりR波を1ミリ秒の時間分解能で検出し、1拍ごとのRR間隔を連続記録した。収集したRR間隔(ミリ秒)の時系列を用いて、平均値(avRR)および標準偏差値(sdRR)を求めた。さらにBurgの最大エントロピー法のアルゴリズムを用いて、次数15の自己回帰スペクトル解析を行い、求めたパワースペクトルより3つの周波数帯域のパワー値(pVLF, pLF, pHF)、およびpLFとpHFとの比(LF/HF)を計算した。以上の手順を図6に示した。

2) 認知・反応試験(実験2)

すべての試験は、座位を維持した被験者が、暴露室中央の机に置いたモニター用画面を見ながら、手元のテン・キーボードを操作する形ですすめられた。なお、モニター用画面としては、磁界によるちらつき・ゆれが生じない液晶モニターを用いた。なお、単純反応時間、選択反応時間、時間認知機能の評価における時間分解能は

約0.1ミリ秒、図形認知機能の評価における角度分解能は0.1度であった。

3) 血液採取(実験3)

夜8時~朝8時の時間帯において、1時間おきの採血(夜10時~2時に限っては、10分おきの採血)を実施した。暴露開始の1時間前に、実験被験者の左前腕部静脈に20ゲージ留置針(SR-OT 2032 C, テルモ)を穿刺し、ただちに生理食塩水の微量持続点滴(速度:30 ml/時間)を開始した。点滴ボトルと前腕穿刺部との間は長さ2.4 m、内容量2.0 mlの延長チューブ(X1-L 120, トップ)で接続し、点滴ボトル側の三方活栓より採血を行った。睡眠中には、暴露室の戸に設置した穴を通して延長チューブを隣接した部屋に導き出し、採血担当者は暴露室に入ることなく採血を行った。この方法により、被験者の睡眠を妨げることなく採血を行うことができた。採取した血液はただちにサンプル・チューブ内に分注した。ホルモン定量用のサンプルはヘパリンナトリウム入り5 ml真空採血管(ベノジェクト II VP-H 050, テルモ)に移し変え、血球検査用のサンプルはEDTA・2ナトリウム入り2 ml真空採血管(ベノジェクト II VP-NA 052, テルモ)に移し変えた。前者はただちに遠心分離して血漿を分別採取し、その血漿をただちに-85°Cのディープ・フリーザー内に保存した。後者は、その後の処置までに1~6時間、室温下に静置保存した。

4) 血漿中ホルモンの定量(実験3)

メラトニンの定量は、ラジオイムノアッセイ用キット(Bühlmann Lab., Switzerland)を用いて行った。固相抽出カラム(C18結合レジン, Bühlmann Lab.)により前処理をした後、RI標識メラトニンとの競合法によるイムノアッセイを行った。コルチゾールの定量はラジオイムノアッセイ用キット(Diagnostic Products Co., USA)を用いて行った。成長ホルモンおよびプロラクチンはサンドイッチ法による高感度アッセイにより定量した。

5) 血球検査(実験3)

室温保存されたEDTA添加全血を3つの検査ルートに分けた。すなわち、A)ひとつは自動血球計数器(MEK-5208, 日本光電)によって赤血球3項目、血小板、総白血球数の5項目を調べた。B)ひとつはプレパラート上に塗抹し、エオジン-チオニン染色(メルク社製ヘマカラー迅速染色キットを使用)を施し、後に顕微鏡下での観察で好酸球数を調べた。C)残りはPBSで洗浄した後、フローサイトメトリー用の蛍光標識モノクローナル抗体3

種 ① Leu シリーズ サイマルテスト CD 3/CD 16+
CD 56 ② Leu シリーズ サイマルテスト CD 4/CD 8
③ Leu シリーズ CD 19; 以上, すべて Becton-Dickinson
社) と反応させた後, ホルムアルデヒド入り PBS で
固定し, 冷蔵保存した。D) 上記 C のサンプルをフローサ
イトメーター (FACSCalibur, Becton-Dickinson 社,
USA) に導入し, リンパ球サブセット 5 種の計数を行っ
た。

なお, これらの操作の A~C は, 12 時間の実験時間帯
のうちの 2 つの時間帯 (午前 2~3 時, 午前 8~9 時) に
まとめて行い, D は午前 11~12 時に実施した。

6) 尿の採取, および尿中 8-OH-dG の定量 (実験 3)
19 時~23 時, および 23 時~朝 7 時 (就床時間帯) の
2 つの時間帯において, 全尿を採取した。尿中 8-OH-dG
については, 8-OH-dG 用 ELISA キット (日本老化制御
研究所) を用いて定量した。

(5) 実験スケジュール

実験 1~3 のスケジュールを図 7 にまとめた。磁界負
荷の最小ユニットの時間は, 実験 1~3 でそれぞれ 2 分
間, 55 分間, 12 時間であった。

1) 実験 1

被験者は 22~42 歳の健常人 30 名 (男子 21 名, 女子 9

名) であった。この 30 名を, 性別・年齢の内訳がほぼ同
じになるように 2 つのグループに分けた。第 1 グループ
には水平円形変動, 第 2 グループには鉛直円形変動の磁
界を負荷した。1 種類の磁界につき 1 回の 10 分間セッ
ションを実施し, 各被験者には, 5 分の休憩をはさんだ連
続 5 個の 10 分間セッションを 2 日にわたりすることに
より, 1 被験者あたり計 10 種類の磁場を負荷した。実験
時間帯は各実験日で厳密に一致させ, また飲食後の心拍
機能の変化を実験条件から除外するため, 実験時間帯の
前 2 時間は絶飲食とさせた。

各セッションは 5 回反復する 2 分間ユニットより組み
立て, 各ユニットは 1 分間の安静と 1 分間の単純計算よ
り構成した。単純計算は標準型内田クレペリン精神検査
用紙 (日本・精神技術研究所, 東京) を用いて行った。
すなわち, 1 列に並んだ一桁の数字の隣り合う 2 個を足
し算してその一桁目の数字を中間の余白に記入する作業
を, 被験者に繰り返して行ってもらった。ただし, 本来
のこの試験の標準的手技である「可能な限り迅速に計算
する」方法は適用せず, 各自のペースでリラックスして
計算させるように指示した。この計算の目的は, その作
業成績を評価するものではなく, 被験者の覚醒水準を 10
分間セッションを通してなるべく均一に維持することに
あった。なお, 1 分ごとの安静と計算の切り替えは, パソ

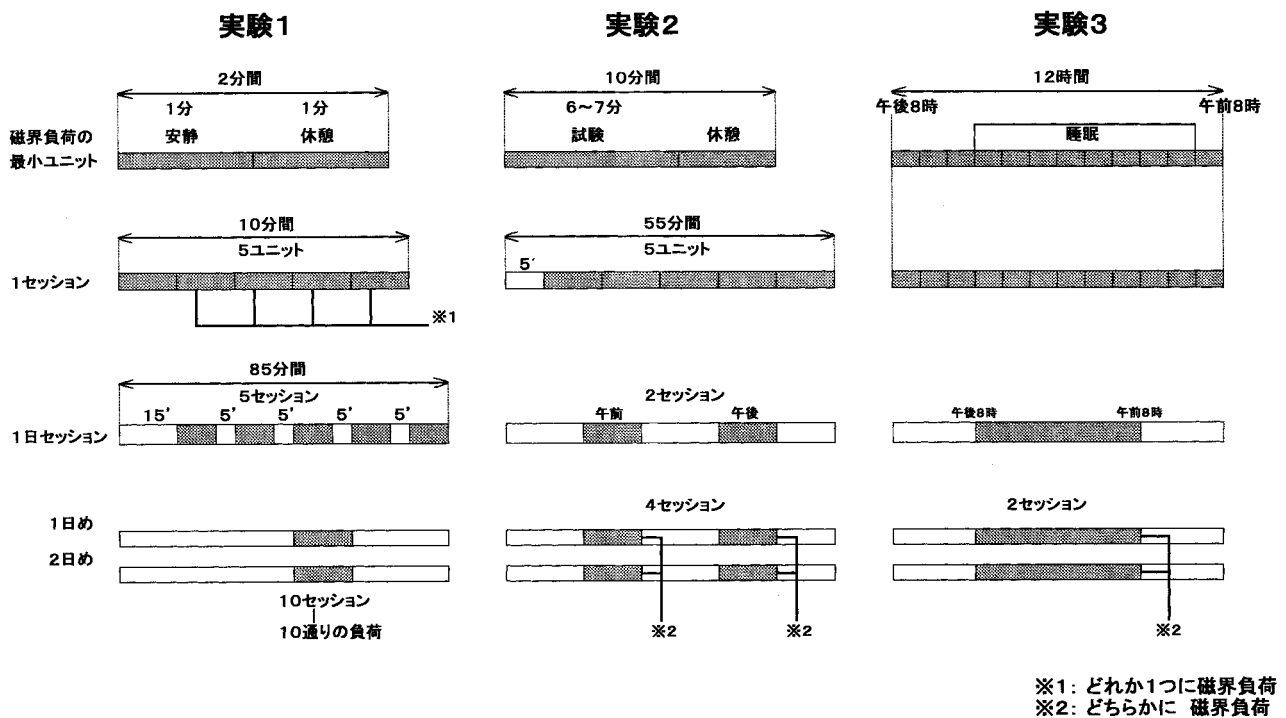


図 7 実験のスケジュールのスキーム

コンに組み込んだソフトウェアによる1分ごとの時刻読み上げを合図に行った。

被験者にはあらかじめ、各セッションの5ユニットのうち1つをランダムに選んで磁界を負荷する旨を伝えておいたが、実際には最初の1ユニットを除いた4ユニットのうちの1つに負荷した。これにより、磁界負荷ユニットとその直前ユニットのデータをペアとして得ることができた。RR間隔の時系列に関しては、安静1分間と計算1分間のユニット別に、各1分間ユニットの時系列のうち最初と最後の5秒間を除いた安定な50秒間のデータを解析に用いた。

2) 実験2

被験者は22~25歳の健常人20名であった。うち14名(男子7名,女子7名)については単純反応速度・選択反応速度・時間認知機能の評価を実施し、残り6名(男子5名,女子1名)については図形認知機能の評価を実施した。

図7に示したとおり、午前2回、午後2回の4セッションを2日にわたって実施した。1セッションは55分間で、(数分間の作業)+(2~3分間の休憩)を数回繰り返した。午前2回のうちのどちらか一方、午後2回のうちのどちらか一方に磁界を負荷した。

3) 実験3

被験者は20~37歳の健常男子10名であった。性周期の影響でホルモン濃度の評価が困難になる場合などを考慮して女子は被験者としなかった。被験者の選定のために、規則正しい生活が送れていることを絶対条件とし、各被験者には、実験日前の少なくとも1週間は不規則な生活を絶対に避けるように指示した。

一日(一夜)を1セッションとして、計3セッション(3夜)を実施した。ただし、第1夜は実験環境への適応をうながすためのもので、点滴や電極の装着を実験日と全く同じに行った以外は実質的な実験計測は行わなかった。第1夜と第2夜は連続しており、第2夜と第3夜は1カ月の間隔をあけた。第2夜と第3夜のいずれかに磁界を負荷した。

被験者には夜の7時に実験室の処置室に来院してもらい、7時半までに静脈内カテーテル留置・持続点滴の開始および夕食摂取(固定メニュー)を終えた。夜8時から翌朝8時まで暴露室内で過ごしてもらい、そのうち11時から7時までを睡眠にあてさせた。睡眠以外の時間帯は、ベッド上で座位または仰臥位での読書をしてもらい、そ

の間の飲食は最大400mlまでの飲水のみ許可した。被験者の実験期間中の水分摂取量は、飲水と点滴注入との総計500~700ml程度であった。

光暴露によるメラトニン分泌の抑制を極力小さく抑えるようにするために、暴露室内の照明は簡易光度計を用いて、被験者の目元の受光量が睡眠中は1~2ルクス、それ以外は100ルクス以下になるように設定した。

(6) 統計解析方法

すべての統計学的検定は統計解析ソフトウェアSPSS(バージョン8)を用いて行った。

実験で得られたすべての生理学的指標について、反復測定分散分析を行った。そのうち、心拍に関する6項目と赤血球3項目については、各項目が独立していないので、多変量分散分析(rMANOVA)を適用した。それ以外については、それぞれの指標単独で分散分析(rANOVA)を行った。

また、それとは別に、メラトニンおよび成長ホルモンについては、実験時間帯でのAUC(Area Under the Curve:時刻を横軸としたグラフにおける、ホルモン濃度の折れ線がつくる図形の面積。すなわちその時間帯での総分泌量を反映した値)を求め、その値を用いたPaired t-testを行った(AUC解析)。

以上の解析手順の詳細を表2にまとめた。

2.1.2 結果と考察

(1) 自覚的所見

実験1の被験者30名のいずれも、各セッションでの磁界負荷のタイミングを感知することはできなかった。同様に、実験2,3の被験者のいずれも、どの実験時に磁界が負荷されたかを感知することはできなかった。また、暴露実験中、実験後に何らかの自覚的な身体変化を訴えたものはいなかった。ただし、実験1において、上記の被験者以外の1名(35歳女性)が暴露実験中に片頭痛を訴えたため、実験を中断した。磁界負荷との関連が否定できなかったため、後日、同様の暴露実験を本人に試みたが、片頭痛は再現されなかった。

電磁界の生体影響に関しての一部の研究領域では、「電磁界過敏症」と呼ぶべき症候群が存在する可能性について議論されている。しかしながら、この症状に関する報告は自己申告によるもので、実験で感受性を確認したという報告はいまだない。今回の研究結果はヒトの電磁界

表2 実験結果に適用した統計学的解析の詳細

指標	実験	解析手法	因子	因子名	水準
心拍に関する6項目	実験1	rMANOVA	被験者内因子	磁界暴露	2水準(暴露直前、暴露中)
				磁界の強度	5水準(20, 40, 60, 80, 100 μ T)
				磁界の持続性	2水準(持続的、間欠的)
	実験2	rMANOVA	被験者内因子	磁界の極性	2水準(水平、鉛直)
				磁界暴露	2水準(ある、なし)
	実験3	rMANOVA	被験者内因子	時間帯	2水準(午前、午後)
順序				6水準(前、1、2、3、4、5回め)	
認知・反応試験4種	実験2	rANOVA	被験者内因子	磁界暴露	2水準(ある、なし)
				時間帯	2水準(午前、午後)
			被験者内因子	順序	5水準(1、2、3、4、5回め)
				磁界暴露	2水準(ある、なし)
血漿中ホルモン4種	実験3	rANOVA	被験者内因子	時間帯	2水準(ある、なし)
				時刻	13水準(1時間きざみ)
		AUC解析		磁界暴露	2水準(ある、なし)
血球検査	実験3	rMANOVA	被験者内因子	磁界暴露	2水準(ある、なし)
		rANOVA		時刻	13水準(1時間きざみ)
尿中8-OH-dG	実験3	rANOVA	被験者内因子	磁界暴露	2水準(ある、なし)
				時間帯	2水準(19~23, 23~7時)

感受性に関して否定的なものであった。

(2) 生理学的指標

1) 実験結果

心臓自律神経系(心拍数・心拍変動), 認知・反応試験の成績, 夜間のホルモン分泌, 血液中の赤血球・白血球・血小板に与える影響に関する検定結果をまとめて, 表3に示した。図8には, 実験2における4試験の成績分布を示した。また, 図9~12には, 実験3における心拍6指標, 4種のホルモン, 血球検査項目, 尿中8-OH-dGの経時変化を示した。

表3に示したとおり, いずれのANOVA, MANOVAにおいても, 暴露にかかわる因子の主効果および暴露にかかわる因子と他の因子との交互作用ともに, 統計学的に有意な大きさではなかった。すなわち, 磁界暴露により統計学的に有意な変化を示した項目は存在しなかった。また, メラトニンと成長ホルモンのAUC解析では, いずれも有意差を認めなかった。なお, 単球数とリンパ球数に関しては, 統計学的に有意ではないが, 暴露群で高値を示す傾向が見られた。

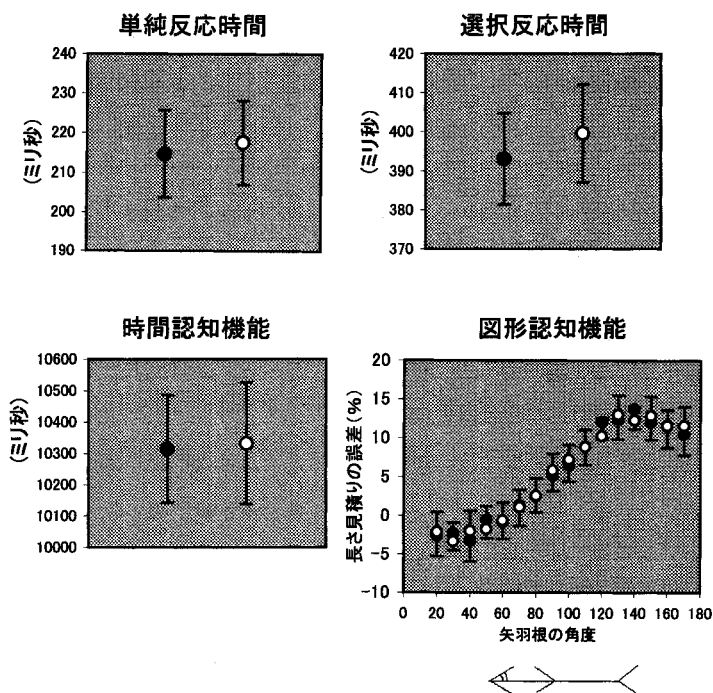


図8 実験2における認知・反応試験の成績分布
●: コントロール, ○: 磁界暴露。各点は, 全被験者のデータの平均±SEMを表す。

表3 統計学的解析の全結果 (検定量, および帰無仮説のもとでの生起確率)

(1) 心拍に関する6項目

rMANOVA

実験1

主効果	磁界暴露 強度 持続性 極性
交互作用	磁界暴露 * 強度 磁界暴露 * 持続性 磁界暴露 * 極性 磁界暴露 * 強度 * 持続性 磁界暴露 * 強度 * 極性 磁界暴露 * 持続性 * 極性 磁界暴露 * 強度 * 持続性 * 極性

安静時	
F	P
1.29	0.30
0.94	0.54
0.44	0.82
0.88	0.62
0.95	0.47
0.35	0.88
1.05	0.40
0.66	0.87
1.17	0.35
1.47	0.088

計算時	
F	P
0.70	0.63
0.85	0.65
0.21	0.96
0.67	0.85
0.82	0.55
1.09	0.39
1.06	0.39
0.47	0.98
1.84	0.14
0.77	0.75

実験2

主効果	磁界暴露 時間帯 順序
交互作用	磁界暴露 * 時間帯 磁界暴露 * 順序 磁界暴露 * 時間帯 * 順序

F	P
1.34	0.35
1.23	0.39
2.95	0.0000
0.41	0.83
0.73	0.83
1.52	0.059

実験3

主効果	磁界暴露 時間帯
交互作用	磁界暴露 * 時間帯

F	P
0.39	0.83
3.13	0.0000
1.15	0.20

(2) 認知・反応試験

rANOVA

図形認知以外3種

主効果	磁界暴露 時間帯 順序
交互作用	磁界暴露 * 時間帯 磁界暴露 * 順序 磁界暴露 * 時間帯 * 順序

単純反応時間	
F	P
0.30	0.59
0.010	0.92
1.19	0.33
2.05	0.18
0.42	0.79
0.80	0.53

選択反応時間	
F	P
1.65	0.22
2.64	0.13
1.03	0.40
0.033	0.86
0.91	0.47
0.92	0.45

時間認知	
F	P
0.27	0.61
1.44	0.25
0.23	0.92
0.002	0.96
0.23	0.92
0.047	0.99

図形認知

主効果	磁界暴露 時間帯 角度
交互作用	磁界暴露 * 時間帯 磁界暴露 * 角度 磁界暴露 * 時間帯 * 角度

図形認知	
F	P
0.73	0.43
0.025	0.88
56.5	0.0000
0.24	0.65
1.51	0.12
0.41	0.97

(3) 血漿中ホルモン

rANOVA

主効果	磁界暴露 時刻
交互作用	磁界暴露 * 時刻

メラトニン	
F	P
0.025	0.88
8.08	0.000
0.11	0.99

コルチゾール	
F	P
0.36	0.57
11.7	0.000
0.38	0.97

成長ホルモン	
F	P
2.16	0.22
16.2	0.000
0.74	0.80

プロラクチン	
F	P
1.67	0.24
4.21	0.000
0.52	0.90

AUC解析

メラトニン	
t	P
-0.27	0.80

成長ホルモン	
t	P
0.49	0.64

(4) 血球検査

rMANOVA

主効果	磁界暴露 時刻
交互作用	磁界暴露 * 時刻

赤血球3項目	
F	P
0.86	0.55
5.32	0.0000
1.27	0.16

rANOVA

主効果	磁界暴露 時刻
交互作用	磁界暴露 * 時刻

総白血球数	
F	P
0.14	0.72
2.60	0.006
0.73	0.72

顆粒球数	
F	P
0.19	0.68
3.41	0.001
0.64	0.80

好酸球数	
F	P
0.0005	0.98
1.98	0.042
0.48	0.92

単球数	
F	P
5.20	0.072
2.80	0.0042
1.32	0.23

主効果	磁界暴露 時刻
交互作用	磁界暴露 * 時刻

リンパ球数	
F	P
5.35	0.069
3.13	0.0017
0.94	0.51

CD3+リンパ球数	
F	P
3.57	0.13
1.80	0.075
0.63	0.80

CD19+リンパ球数	
F	P
3.37	0.13
3.47	0.0007
0.68	0.76

CD16、56+リンパ球数	
F	P
1.19	0.34
4.50	0.0000
0.98	0.48

主効果	磁界暴露 時刻
交互作用	磁界暴露 * 時刻

CD4+リンパ球数	
F	P
6.20	0.055
2.76	0.0048
1.04	0.42

CD8+highリンパ球数	
F	P
4.25	0.11
2.34	0.018
0.42	0.95

血小板	
F	P
0.40	0.56
1.10	0.38
0.89	0.57

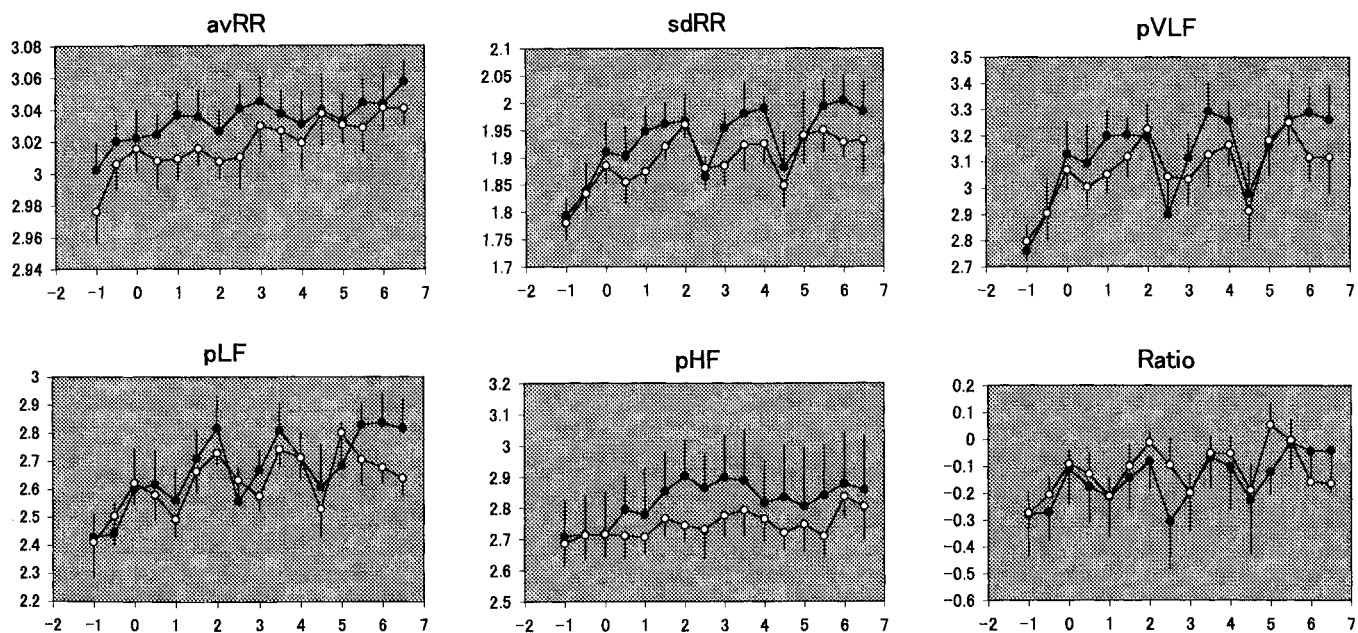
(5) 尿中8-OH-dG

rANOVA

主効果	磁界暴露 時間帯
交互作用	磁界暴露 * 時間帯

尿中8-OH-dG	
F	P
0.002	0.96
3.26	0.10
0.148	0.71

○: 0.10 > p > 0.05
*: p > 0.05



縦軸の単位: avRR, sdRRは Log(ミリ秒); pVLF, pLF, pHFは Log(ミリ秒²); Ratioは Log
 横軸の単位: 午前0時を0とした相対時刻

図9 実験3における心拍変動6指標の経時変化
 ●: コントロール, ○: 磁界暴露。各点は, 7人のデータの平均±SEM を表す。

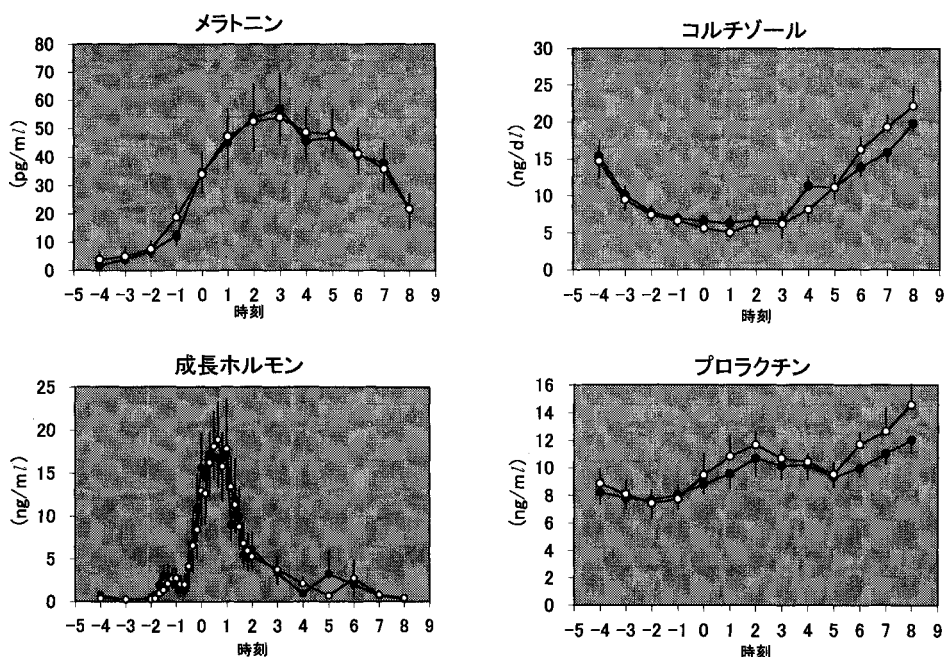


図10 実験3における血漿中ホルモン濃度の経時変化
 ●: コントロール, ○: 磁界暴露。各点は, 10人のデータの平均±SEM を表す。

なお参考までに、表3では実験3で得られた指標のほとんどにおいて、時刻または時間帯の主効果は統計学的に強い有意性を示しているが、これは、それぞれの指標の概日リズムによるところが大きいと考えられる。図

10の4つのホルモンに関しては、数多くの先行研究で見られるような典型的なパターンの推移を示している。すなわち、メラトニンは夜間に特異的に分泌上昇が起こり、真夜中になだらかな単一ピークを描く。コルチゾールは

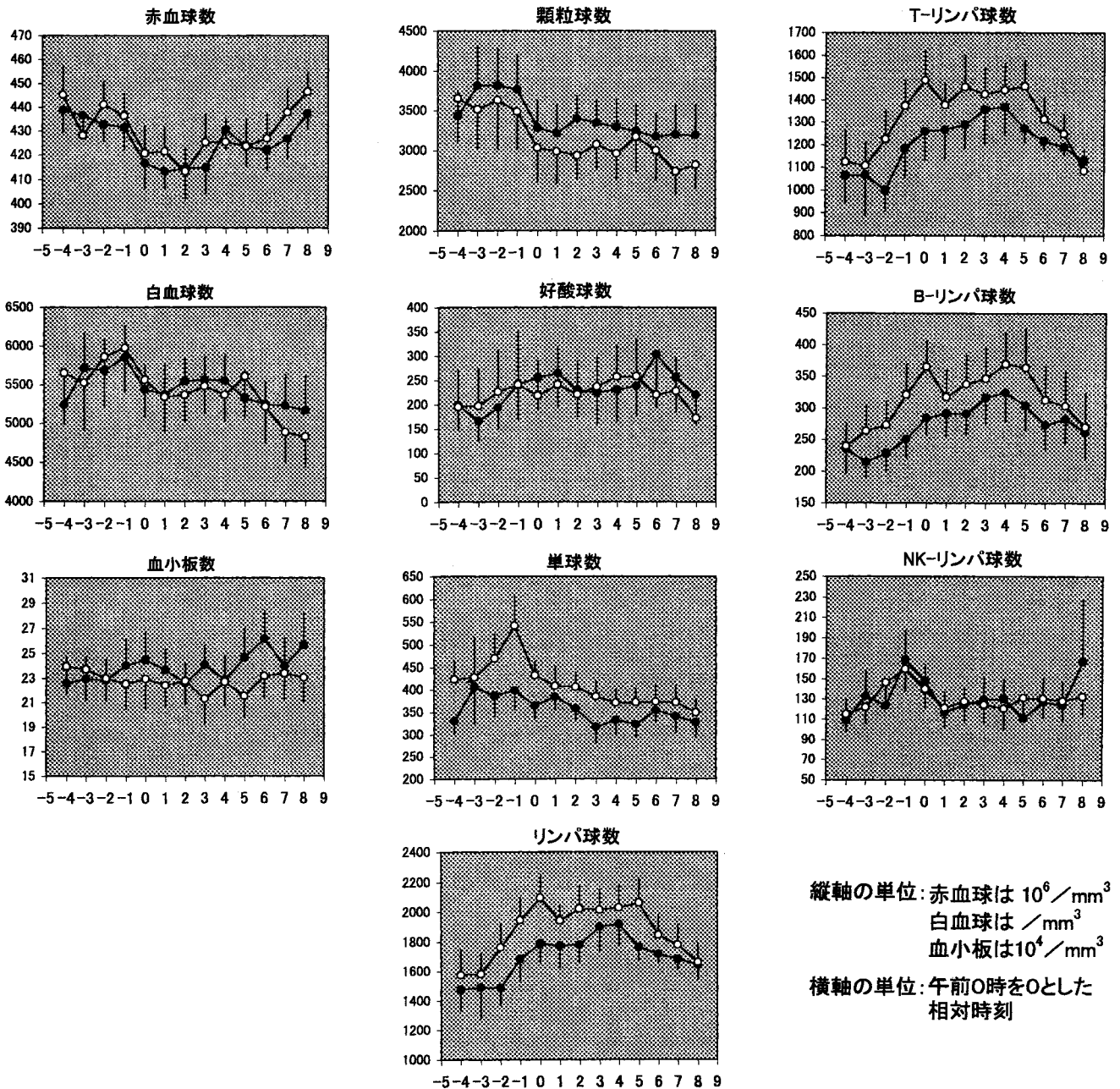


図11 実験3における血球数の経時変化

●：コントロール，○：磁界暴露。各点は，8人のデータの平均±SEMを表す。

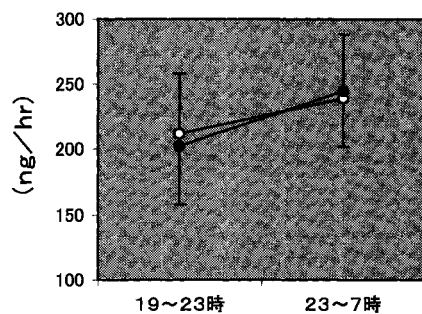


図12 実験3における尿中8-OH-dGの経時変化

●：コントロール，○：磁界暴露。各点は，10人のデータの平均±SEMを表す。

入眠期には一日のうちの最低レベルに落ち込み，明け方に比較的立ちあがりの急な分泌上昇を迎える。成長ホルモンは，先に述べたように入眠を契機として立ちあがりの鋭い上昇を見せ，1~2時間の分泌の峰を形成する。またそれとは独立して2~3時間周期のリズムの小山が重なり合う。プロラクチンは明け方にかけて緩徐に分泌の高まりを示す。図11の血球の経時変化も先行研究との共通点が多い。すなわち，赤血球においては睡眠初期に谷を描き，顆粒球は睡眠前にピークを迎え，リンパ球(T，

B リンパ球) はメラトニンに似た夜間の上昇を示している。これらのパターンはいずれも、内因性のリズムの直接的または間接的な発現と考えられる。

2) 文献的考察

①心臓自律神経系(心拍数・心拍変動)に与える影響
60年代後半から80年代にかけて、主に旧共産圏において電磁界への職業性暴露で心拍数が低下するという報告がなされた。これを受けて表4に示したような研究がなされた。その代表的なものとして80年代後半より90年代前半にかけてMidwest Research InstituteのGrahamらが大がかりな一連のヒト暴露実験を試み、以下のような報告をした。すなわち、①連続的な暴露(電界+磁界)条件のもとでは影響が出ないが、間欠的な暴露条件のもとでは、ある暴露強度において、心拍数の有意な低下が確認された(Bioelectromagnetics, '92, '94)。②間欠的暴露により、夜間睡眠中の心拍変動のうち、LF成分のパワーの低下、およびHF成分のパワーの上昇が確認された(Bioelectromagnetics, '98)。この①の知見は、電磁界暴露による心拍数の減少を厳密な実験で確認したものとして評価されているものである。また、②の知見は心拍変動への影響を調べた最初の研究として評価され

ており、この陽性所見を視野に入れることにより、電磁界暴露とヒトの心疾患との関連性に言及する研究者も認められる。

Grahamらの研究報告を詳細に検討すると、①においては、当該強度よりも低強度、および高強度の条件下では影響は認められていない。また、認められた心拍数の低下も、ある順序での暴露・対照実験で現れ、他の順序では現れない性質のものであった。また②の結果は、間欠的暴露でのみ認められ、さらにその場合に①で認められた心拍数の変化を伴っていない。すなわち、①で認められた変化は一貫性に乏しく、また、①②の変化に共通しているものは、ある間欠性・ある強度・ある順序の暴露でのみ現れるという、生理学的な解釈が困難な特性を示すことである。ところで、最近、Grahamらは、②の結果を得た実験の自己追試を試みており、同じ結果を再現できなかったと報告している(Bioelectromagnetics, 2000)。その報告では、前報と同じ磁界強度に加えて、その4倍の強度で睡眠中の暴露実験を実施した場合でも、心拍数・心拍変動に変化が見られなかったと報告している。なお、今回の我々の実験では、上記①②のいずれの陽性所見についても確認することはできなかった。

表4 心拍数・心拍変動への影響をヒト暴露実験で調べた報告例

報告者(筆頭著者)	国	年	電磁界曝露の方法		種性	連続性	曝露装置	曝露時間	結果	
			60 Hz 磁界 + 60 Hz 電界	強度					評価項目	結果
C.Graham, et al. (M.R.Cook)	USA	1992	60 Hz 磁界 + 60 Hz 電界	20 μT 9 kV/m	直線	連続的	曝露室	10:00-16:00	心拍数	減少
C.Graham, et al.	USA	1994	60 Hz 磁界 + 60 Hz 電界	①10 μT 6 kV/m	直線	連続的	曝露室	09:00-16:00	心拍数	①変化なし
				②20 μT 9 kV/m						②減少
				③30 μT 12 kV/m						③変化なし
C.Graham, et al. (A.Sastre)	USA	1998	60 Hz 磁界	28.3 μT	円形	連続的、または間欠的 (15秒ごとON/OFF、1時間ごとON/OFF)	曝露室	23:00-7:00	心拍数 心拍変動	変化なし 間欠的曝露で P(LF)低下 P(HF)増加
C.Graham, et al. (A.Sastre)	USA	2000	60 Hz 磁界	28.3 μT	円形	連続的、または間欠的	曝露室	23:00-7:00	心拍数 心拍変動	変化なし 変化なし
C.Graham, et al. (A.Sastre)	USA	2000	60 Hz 磁界	127.3 μT	円形	連続的、または間欠的	曝露室	23:00-7:00	心拍数 心拍変動	変化なし 変化なし
C.J.Whittington, et al.	New Zealand	1996	50 Hz 磁界	100 μT	直線	連続的	頭部円形コイル	9分間	心拍数	変化なし
A.W.Wood, et al. (M.L.Sait)	Australia	1999	50 Hz 磁界	28 μT	円形	連続的	2m四方コイル	100-150秒間	心拍数 心拍変動	減少 P(LF)低下 P(HF)増加
今回の実験			60 Hz 磁界	20 μT ~ 100 μT	円形	連続的、または間欠的	曝露室	2分間	心拍数 心拍変動	変化なし
			50 Hz 磁界	20 μT	円形	連続的	曝露室	55分間	心拍数 心拍変動	変化なし
			50 Hz + ノイズ 磁界	20 μT ~ 100 μT	直線	連続的	曝露室	20:00-8:00	心拍数 心拍変動	変化なし

Grahamら以外でのこれまでの実験報告例は2つあり、Whittingtonらの実験(Bioelectromagnetics, '96)では心拍数に変化は認められなかったが、Woodらの実験(Medical Engineering & Physics, '99)では一部の実験条件下で磁界ONのタイミングに一致して心拍数低下、LF成分のパワーの低下、HF成分のパワーの上昇が認められている。ただしWoodらの観察した心拍数の低下は、同じ被験者に対して磁界ON、OFFの順序の場合に認められ、逆の順序では認められなかった。全体的にWoodらの実験は、実験条件の統制や統計学的検定に関して議論の余地が多く、参考程度にとどめるべき報告と考えられる。

②認知・反応試験の成績に与える影響

報告例が多数ある。しかしながら、評価項目や手技の標準化がなされておらず、また報告者による評価方法のばらつきが大きい。評価手法がよく定まっているのは最も単純な反応試験であり、表5に示した報告例があるが、

それらの結果のほとんどは磁界暴露の影響を認めていない。今回の実験結果も同様に磁界暴露の影響を認めなかった。

③メラトニン分泌に与える影響

メラトニンを指標とした一日(一夜)のヒト暴露実験に関しては、表6に示したいくつかの研究報告がある。それぞれ暴露条件は完全に一致していないが、Woodらの報告(J.Pineal Res., '98)を除いて設定した実験条件のばらつきは小さく、かつそれらの実験結果はすべて影響を認めていない。Woodらの実験デザインは他のグループのそれとかなり異なっており、彼らは、30名の被験者を3グループに分け、各グループに対して異なったタイミングで数時間の磁界暴露を試みている。すなわち、あらかじめ被験者ごとに一晩の変化を調べておき、その夜間分泌上昇の開始点およびピーク点を基準として、実験当日に、開始前/開始中/ピーク後のいずれかのタイミングで暴露するという3グループ実験を行った。結果は、

表5 単純反応試験への影響をヒト暴露実験で調べた報告例

報告者(筆頭著者)	国	年	電磁界暴露の方法		極性	連続性	暴露装置	暴露時間	結果	
			磁界 + 電界	強度					評価項目	結果
C.Graham, et al. (M.R.Cook)	USA	1992	60 Hz 磁界 + 60 Hz 電界	20 μ T 9 kV/m	直線	連続的	暴露室	10:00-16:00	単純反応試験	変化なし
C.Graham, et al.	USA	1994	60 Hz 磁界 + 60 Hz 電界	①10 μ T 6 kV/m ②20 μ T 9 kV/m ③30 μ T 12 kV/m	直線	連続的	暴露室	9:00-16:00	単純反応試験	①反応時間の延長 ②変化なし ③変化なし
E.B.Lyskov, et al.	Finland	1993	45 Hz 磁界	1260 μ T	直線	連続的、または間欠的	頭部円形コイル	1時間	単純反応試験	変化なし
C.J.Whittington, et al. (J.V.Podd)	NewZealand	1995	0.2 Hz 磁界	1100 μ T	直線	連続的	頭部円形コイル	5分間	単純反応試験	変化なし
今回の実験			50 Hz 磁界	20 μ T	円形	連続的	暴露室	55分間	単純反応試験	変化なし

表6 メラトニンへの影響をヒト暴露実験で調べた報告例

報告者(筆頭著者)	国	年	電磁界暴露の方法		極性	連続性	暴露装置	暴露時間	結果	
			磁界	強度					評価項目	結果
C.Graham, et al.	USA	1996	60 Hz 磁界	28.3 μ T	円形	連続的	暴露室	23:00-7:00	血中メラトニン	変化なし
C.Graham, et al.	USA	1996	60 Hz 磁界	28.3 μ T	円形	間欠的 (15秒ごとON/OFF, 1時間ごとON/OFF)	暴露室	23:00-7:00	血中メラトニン	変化なし
B.Selmaoui, et al.	France	1996	50 Hz 磁界	20 μ T	直線	連続的、間欠的	1m四方コイル (ベッドに固定)	23:00-8:00	血中メラトニン 尿中メラトニン	変化なし 変化なし
A.W.Wood, et al.	Australia	1998	50 Hz 磁界	20 μ T	円形	間欠的	2m四方コイル	3種類の タイミング	血中メラトニン	上昇前の曝露 で位相後退
T.Akerstedt, et al.	Sweden	1999	50 Hz 磁界	1 μ T	直線	連続的	2*3mコイル	23:00-8:00	血中メラトニン	変化なし
今回の実験			50 Hz + ノイズ 磁界	20 μ T ~ 100 μ T	直線	連続的	暴露室	20:00-8:00	血中メラトニン	変化なし

分泌上昇の開始前に暴露したグループにおいて、その実験当日のメラトニンの分泌上昇が有意に遅れた。このメラトニンリズムの時相の遅れ幅は27.0分であり、彼らのメラトニン計測のサンプリング間隔(20~30分)から考えられる検出限界ぎりぎりの変化である。またその場合に、ピークの高さの変化は伴っていない。さらに、彼らの結果では、1名のデータを省くと有意性が消失している。すなわちメラトニンに磁界が影響を与えたとする彼らの結果は弱い証拠と考えるべきである。以上のことから、一日(一夜)暴露のメラトニンへの影響はヒトにおいては極めて認めにくいと考えられる。

これとは別に、電気毛布・敷布の数週間の連夜使用実験でメラトニンを観察した報告が二つある。一つは42名の男女を対象に8週間の電気毛布使用を実施したもの(Wood et al., J.Pineal Res., '90)で、全被験者をまとめた検定では陰性であったものの、被験者個別の検定を行うと、28名中7名の被験者において使用期間中に尿中メラトニンの有意な変化が見られたと報告している。もう一つは我々が本研究の予備研究として実施した実験(Hong et al., Bioelectromagnetics, 2000)である。この実験では、熱を発することなく本来の市販の敷布と同じに電磁界を発生する電気敷布を特別に作製し、8名の男子に11週間の夜間連続使用を依頼し、その間の数日に一日5回の尿採取を試みてもらった。8名の結果を統計的に解析すると暴露期間に一致した尿中メラトニンの

変化は認められなかった。この2報告をまとめて解釈すると、磁界暴露の影響はみられないと考えるのが適切である。すなわち、数週間のオーダーの反復暴露によってもメラトニンへの影響は考えにくい。

④メラトニン以外のホルモン分泌に与える影響

表7に示したとおり、我々の研究を含めて3つの報告がある。調べたホルモンは三者で完全には一致しないが、すべて陰性である。特にコルチゾールは、三者すべてで影響を認めなかった。

⑤血液中の赤血球・白血球・血小板に与える影響

表8に示したとおり、我々の研究を含めて2つのヒト暴露実験の報告がある。これらいずれも影響を認めなかった。

⑥8-OH-dG生成の変化

ヒトを対象とした実験で8-OH-dGを測定した報告はこれまでにない。動物実験では、ラットを用いた磁界暴露実験で脳および肝臓組織中の同指標が変化しなかったとする学会発表があるのみである(Reiter et al., 20th BEMS Meeting at Florida, '98)。今回の実験でも尿中濃度に変化は認められなかった。

2.1.3 結論

以上から、本研究の課題3で示されているような通常の生活環境で暴露されているレベル、もしくはその数十倍~数百倍のレベルの磁界に暴露されることによって、

表7 メラトニン以外のホルモンへの影響をヒト暴露実験で調べた報告例

報告 著者(筆頭著者)	電磁界曝露の方法			強度	極性	連続性	曝露装置	曝露時間	結果	
	国	年	周波数						評価項目	結果
B.Selmaoui, et al.	France	1997	50 Hz 磁界	20 μ T	直線	連続的、間欠的	1m四方コイル (ベッドに固定)	23:00-8:00	コルチゾール 性腺刺激ホルモン 甲状腺刺激ホルモン 甲状腺ホルモン	変化なし
T.Akerstedt, et al.	USA	1999	50 Hz 磁界	1 μ T	直線	連続的	2*3mコイル	23:00-8:00	コルチゾール 成長ホルモン プロラクチン 副腎皮質刺激ホルモン テストステロン	変化なし
今回の実験			50 Hz + ノイズ 磁界	20 μ T ~ 100 μ T	直線磁界	連続的	暴露室	20:00-8:00	コルチゾール 成長ホルモン プロラクチン	変化なし

表8 血球検査所見への影響をヒト暴露実験で調べた報告例

報告 著者(筆頭著者)	電磁界曝露の方法			強度	極性	連続性	曝露装置	曝露時間	結果	
	国	年	周波数						評価項目	結果
B.Selmaoui, et al.	France	1996	50 Hz 磁界	20 μ T	直線	連続的、間欠的	1m四方コイル (ベッドに固定)	23:00-8:00	赤血球 白血球 血小板	変化なし
今回の実験			50 Hz + ノイズ 磁界	20 μ T ~ 100 μ T	直線	連続的	暴露室	20:00-8:00	赤血球 白血球 血小板	変化なし

大脳機能や自律神経機能，内分泌機能，免疫機能を含めたヒトの各種身体機能に急性影響が現れることは確認できなかった。特に，メラトニン分泌への急性影響は認められなかった。

2.2 動物および培養細胞系を用いた低～高レベル電磁界暴露実験

2.2.1 電磁界感受性 MCF-7 を用いた磁界負荷実験

本課題は，「メラトニン仮説」にかかわる研究成果の一つである Liburdy らの報告 (① Liburdy et al. J. Pineal Res., '93; ② Harland & Liburdy. Bioelectromagnetics, '97) をもとに計画されたものである。彼らはヒト乳がん細胞の MCF-7 を用いて 50 ヘルツ磁界の暴露実験を行い，メラトニンの存在下で認められる細胞増殖の抑制作用が磁界暴露によって消失することを見いだした。この Liburdy らの実験結果は，本研究開始時点では 3 つの研究機関がその追試に成功しており，それまでに細胞を用いた電磁界負荷実験を通して数多くの研究機関・研究者によって公表された陽性所見のなかで，高い確度で再現性が保証された数少ないうちのひとつであった。また，Liburdy らの実験では，メラトニンによる細胞増殖抑制が磁界によって阻害される場合の，細胞培養液中のメラトニン濃度 (10^{-10} ~ 10^{-9} M) は夜間 (暗期) におけるヒトの血液中濃度とほぼ同レベルであり，またその作用の消失をもたらした磁界強度 ($1.2 \mu\text{T}$) は，我々の生活環境で比較的頻繁に遭遇するレベルである。すなわち彼らの実験結果は，生理的条件の範囲内で，メラトニン共存下での乳がん細胞の増殖が磁界により促進されるということを示唆するものであった。

本課題では第 1 段階として Liburdy らの研究の追試を行い，第 2 段階として，追試の成功を受けてその作用機序の解明のため分子生物学的検討を行った。第 2 段階では，細胞の膜表面に存在する「メラトニン受容体」が電磁界の標的になるという仮説をたて，その受容体分子に焦点をあてた研究を行った。

現在のところ，メラトニンの受容体として確認されているものは細胞膜受容体のみである。細胞膜上のメラトニン受容体は，そのアゴニストに対する親和性により，1 型と 2 型に大別される。同受容体の一次構造は長らく不明であったが，1994 年に Reppert らにより 1 型受容体がクローニングされ，続いて同族の 2 つの受容体が相次いで単離され，それぞれ 1a, 1b, 1c と命名された。そ

れらの一次構造は，1a~1c の 3 タイプともに，細胞膜 7 回貫通型 (heptahelical) であった。メラトニン 2 型受容体に関しては，その一次構造及び生理作用は依然不明のままである。1 型受容体の場合，ヒトでは少なくとも 1a 受容体と 1b 受容体の 2 つの存在が確認されている。1a 受容体は主に視交叉上核や下垂体隆起部 (pars tuberalis) に発現しており，メラトニンが持つ生体時計の調節作用や季節性生殖活動に対する効果を仲介していると考えられている。1b 受容体は網膜に多く発現しており，網膜単独でも機能する生体時計をメラトニンがコントロールしている可能性が指摘されている。1c 受容体は，アフリカツメガエル，ゼブラフィッシュや鳥類でその存在が報告されているが，ヒトでは確認されていない。

メラトニンは水溶性と脂溶性の性質を兼ね備えており，細胞膜を容易に通過することから，かねてより細胞内・核内受容体の存在が推測されていた。1985 年にグルココルチコイド受容体の cDNA がクローニングされて以来，核内受容体が次々にクローニングされ，それらのなかの一部についてメラトニンの核内受容体ではないかという報告がなされたが，結論は出ていない。

一般にホルモンの細胞内情報伝達機構は，その窓口になる受容体の一次構造により，ある程度まで推測することができる。メラトニンの 1 型受容体は古典的 heptahelical 受容体に属するため，この受容体は，細胞膜に存在する三量体 G タンパク，およびアデニレートサイクレース (AC) と連結 (カップリング) してメラトニンの

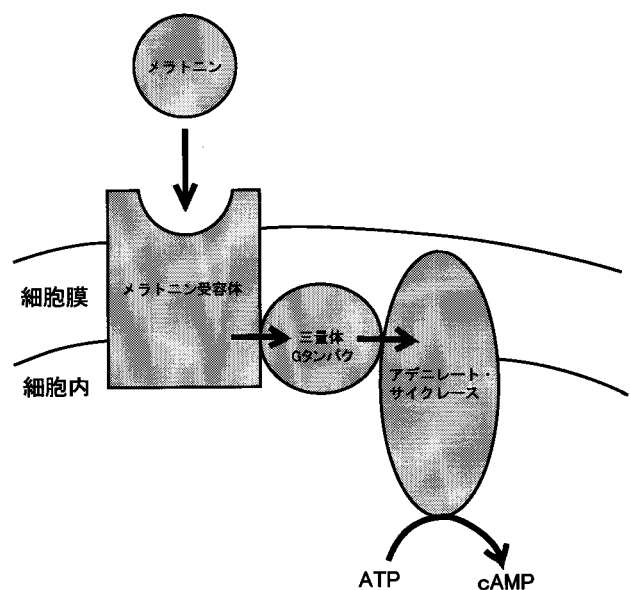


図13 細胞膜を介したメラトニン情報の伝達

情報をアデニレートサイクレスへと受け渡し、cAMPの細胞内濃度変化量へと情報の伝達をはかっているものと推測されている(図13)。

本実験ではLiburdyらの実験の追試に用いたMCF-7について、その細胞膜上にメラトニン受容体が存在するか否かをまず検証し、それを受けて、細胞膜上に存在する複合体(受容体-三量体Gタンパク-Ac)の各ユニット別の機能を磁界負荷の環境下で評価することにより、磁界がどの部分に作用しているかを調べた。

(1) 実験方法

1) 追試実験

MCF-7はLiburdyより直接譲り受けるとともに、培養細胞用の磁界負荷システムおよび培養条件は、可能な限りLiburdyらのそれに近いものになるよう設計・設定した。

①磁界負荷システムの作製

磁界負荷用のコイルは、一辺31cmの立方体のアクリル製枠組に直径0.8mmのペア銅線を巻き付けることによって作成した。コイルの配線は前述のヒト暴露実験用のものと同じ「メリット式」を採用し、1軸(鉛直方向)の磁界発生用として水平面のコイルのみを配備した。このコイルを外部からの磁界の遮へいのためにミュウメタル(ニッケル75%、銅5%、クロム2%、鉄18%の合金)製のボックス(一辺38cm)の中に入れ、ボックスごと

CO₂インキュベータ(RKI 10-0211, 池田理化)の中央に置いた(図14)。

磁界用の電流波形は任意波形発生器(1930 A, エヌエフ回路設計ブロック社)を用いて作成し、精密アンプ(4502, エヌエフ回路設計ブロック社)によって増幅してコイルに導入した。磁界の安定化のため、アンプは定電流モードで連続運転させた。アンプとコイルの間には、ノイズ除去用のフィルタトランス(NT-1000 C, エヌエフ回路設計ブロック社)を設置した。コイル、メタルボックス、CO₂インキュベータは同一の仕様で2式用意し、2つのシステムの間を、システム同士が直列につながるように、しかも一方のコイルのペア銅線には同じ向きの電流、もう一方には対向流が流れるように交差させて配線した。この方式により、磁界発生の有無以外の条件を同一にした暴露・対照実験を同時に行えるようにした(図15)。コイル内の磁界は、1軸変動磁界用プローブ(HM-150, エムティーアイ社)を用いて連続的にモニターした。なお、CO₂インキュベータにおいては、そのコントロール部にガス注入用のポンプやヒーターなどを装備しているため、細胞を置く場所によっては1μTを越える50Hz磁界が発生していた。ミュウメタルで囲まれた我々のシステムの中央部、すなわち細胞培養プレートの位置する部位では、0.2±0.02μTの磁界が発生していた。このレベル以下に外部からの磁界を遮へいすることは現実的には不可能であったため、このレベルを対照

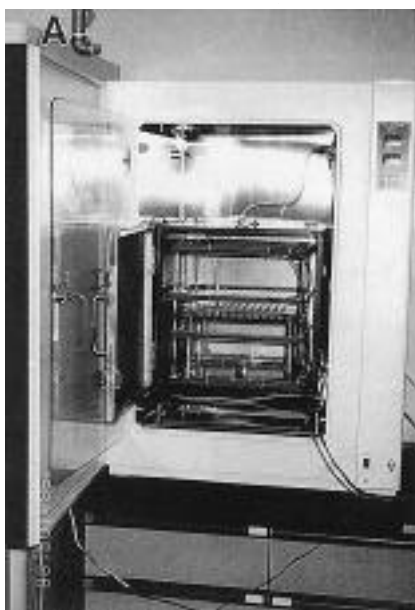


図14 培養細胞用の磁界負荷システム

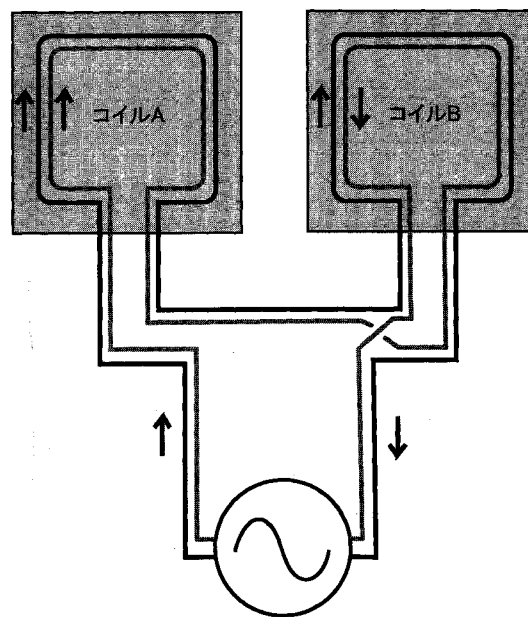


図15 磁界負荷/コントロール同時実験のための配線図

実験の条件と定めた。

②細胞への磁界負荷

96 ウェル・プレートを用いて10%牛胎児血清入りDMEM中でMCF-7を培養し、培養の全期間に磁界を連続的に負荷した。磁界の周波数は50 Hz, 変動軸は鉛直方向であり、強度(実効値)としてLiburdyらの用いたものと同じ $1.2 \mu\text{T}$ と $100 \mu\text{T}$ の2種類を設定した。

③細胞増殖能の評価

3~7日間の培養の後にMCF-7の増殖能を評価した。増殖能は、BrdUアッセイ用のELISAキット(ベリンガー・マンハイム社, No. 1444611)を用いて、培養期間の最後3時間でのDNA合成能を計測することにより評価した。

2) メラトニン受容体の同定および機能評価

①受容体の同定

メラトニン受容体をサブタイプ別に認識する受容体アンタゴニストを用いて、サブタイプの同定を行った。1型受容体の認識には、Luzindole, 2型受容体の認識にはGR 135531を用いた。MCF-7を24ウェル・プレート上で1ウェルあたり 0.75×10^5 の細胞数で培養し、培養期間の最後2時間に放射性ヨード(^{125}I)で標識したメラトニン(2200 Ci/mmol)およびアンタゴニストを添加し、プレート洗浄後の細胞溶解液の ^{125}I をカウントした。

メラトニン受容体遺伝子の発現の有無をPCR法で検討した。MCF-7細胞を1週間培養した後に細胞内容よりmRNAを単離し、逆転写によりcDNAを作製した。これらのcDNAに対して、メラトニン受容体サブタイプ1a及び1bに特異的なプライマーを用いてPCRを行い、そのPCR産物のアガロース電気泳動により、受容体に特異的なバンドの検出を行った。

②受容体, 受容体複合体の機能評価

さらに、電磁界を負荷した細胞, 負荷しない細胞の両者について、以下の項目を測定した。

a) フォルスコリンによる細胞内cAMP蓄積に対する、メラトニンの抑制能: フォルスコリンは複合体(受容体-Gタンパク-AC)のACを直接に活性化させる物質であるが、メラトニン受容体-GタンパクはACとカップリングしてAC抑制的に作用する。すなわち、この抑制の程度は複合体のトータルな活性を表している。具体的には、 $10 \mu\text{M}$ のフォルスコリンを添加して15分後にフォルスコリンの反応を停止させ、細胞内のcAMP含量をcAMP定量用RIAキット(ヤマサ醤油)により計

測した。メラトニン添加実験の場合は、フォルスコリン添加と同じタイミングでメラトニンを培養液中に加えた。なお、磁界負荷群の細胞においても、コントロール群と同様、フォルスコリンとの反応の過程では磁界なしの条件にした。

b) ADPリボシル化活性: 百日咳毒素は細胞内の NAD^+ を基質としてそのADPリボース部分をGタンパクの α サブユニットに転移させる(ADPリボシル化)ことにより、Gタンパクの機能を特異的に阻害させることが知られている。細胞のホモジネートに ^{32}P で標識した NAD^+ と百日咳毒素の溶液を添加し、電気泳動後のオートラジオグラフィーにより、標識ADPでリボシル化されたGタンパクi/oサブユニットを検出した。このバンドの放射活性を三量体GタンパクのADPリボシル化活性として評価した。

c) GTPase活性: それぞれの細胞の膜画分を調製し、 $\text{GTP} \rightarrow \text{GDP} + \text{Pi}$ 反応の遊離リン酸量を計測した。

d) アデニレートサイクラーゼ活性: ACの分子活性そのものを単独で調べたものである。c)と同様に膜画分を用い、ATPから生成されたcAMP量を計測した。

(2) 結果と考察

1) Liburdyらの研究の追試実験

$1.2 \mu\text{T}$, もしくは $100 \mu\text{T}$ の磁界暴露のみでは10%牛胎児血清存在下のMCF-7の細胞増殖に影響を与えなかった。一方、MCF-7の増殖に対して $10^{-11} \sim 10^{-9} \text{ M}$ 濃度のメラトニンは20~25%の増殖阻害を示した。このメラトニン添加の培養条件に磁界暴露を組み合わせると、メラトニンの増殖阻害が0~15%に減少した。図16は $100 \mu\text{T}$ 磁界負荷での結果を示したものである。これらの結果は、Liburdyらの実験結果とほとんど一致するもの

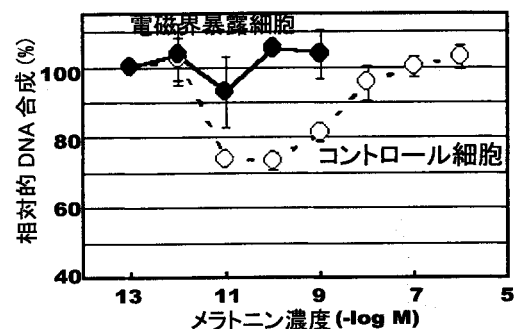


図16 メラトニン濃度と細胞の増殖能の関係
●: 磁界暴露, ○: コントロール

であった。

2) MCF-7細胞のメラトニン受容体の同定

受容体を識別する2種の受容体アンタゴニストを用いて、受容体の同定を行った。1型受容体を認識するLuzindole、および2型受容体を認識するGR 135531を添加したうえで¹²⁵I標識メラトニンの受容体への結合活性を測定したところ、Luzindoleの存在下でメラトニンの細胞膜への結合が阻害され、GR 135531の存在下では阻害はみられなかった(図17)。また、MCF-7より作製したcDNAを用いて、メラトニン受容体サブタイプ1aおよび1bに特異的なプライマーによるPCRを行ったところ、1a受容体に対する特異的プライマーにより受容体cDNAの増幅が見られ、1b受容体のプライマーでは増幅が認められなかった(図18)。以上の結果より、電磁界感受性MCF-7における細胞膜メラトニン受容体はその大部分がタイプ1a受容体であることが明らかとなった。

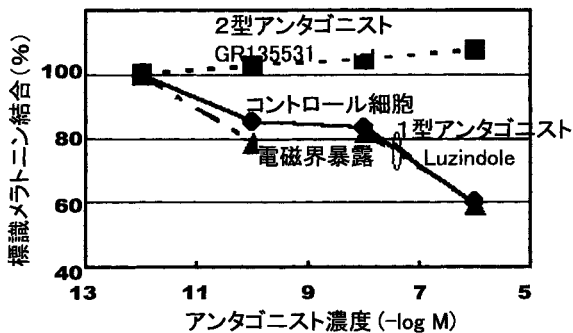


図17 メラトニン受容体のアンタゴニストの濃度とメラトニン結合能との関係

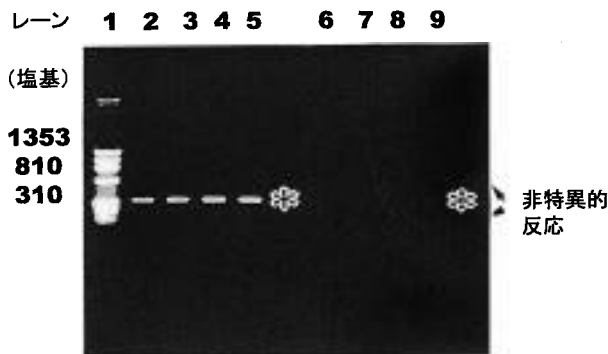


図18 メラトニン受容体に特異的なプライマーによるRT-PCR産物の電気泳動像
 レーン2~5: 1a受容体特異的プライマーでの結果、
 レーン6~9: 1b受容体特異的プライマーでの結果。

3) 磁界がメラトニン受容体の機能に与える影響

続いて、フォルスコリン刺激によるアデニレートサイクラーゼ (AC) の活性化、すなわち細胞内cAMPの蓄積を指標として、メラトニンの作用と電磁界暴露との関係をみたところ、メラトニンによる抑制作用が電磁界(100 μ T, 50 Hz)負荷により阻害されることが確認された。さらに、その阻害率と暴露日数との関係は極めて良好な直線性を示すことが明らかとなった(図19)。すなわち、MCF-7における電磁界の作用部位として細胞膜メラトニン受容体が含まれることが確実になった。

そこで、その作用が受容体-Gタンパク-AC複合体のどの部分を標的としているのかを調べた。まず、¹²⁵I標識メラトニンの受容体への結合親和性の解析を行った結果では、電磁界負荷細胞とコントロール細胞との間に差は認められなかった。続いて、コントロールと電磁界負荷の細胞において、Gタンパクの活性の指標であるGTPase活性とADPリボシル化活性を測定したところ、いずれの活性も電磁界負荷のあるなしで有意な差はなかった。また同様にして膜面分でAC自身の活性を調べたところ、電磁界負荷のあるなしで有意な差は認められなかった(表9)。

以上のことから、電磁界は上記の複合体を構成する分子群の各分子単独の活性には影響を及ぼさないことが示され、電磁界が同分子群の連結部に作用して刺激のリリースを阻害(アンカップリング)する可能性が示唆された。

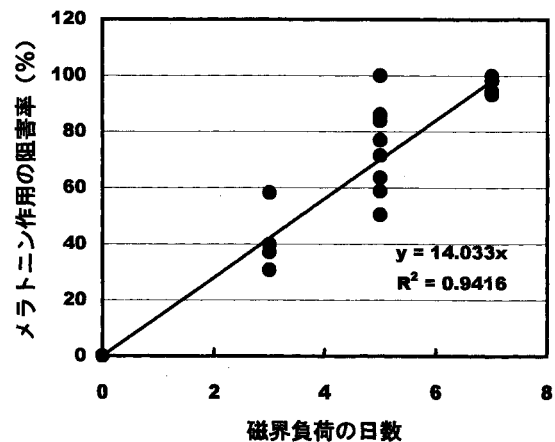


図19 磁界暴露によるメラトニン作用の阻害率と暴露日数との関係

表9 磁界暴露によるGTPaseおよびアデニレートサイクレス活性の変化

	酵素活性	
	GTPase活性	アデニレートサイクレス活性
	pmol Pi /min/mg of proteins	pmol cAMP/min/mg of proteins
コントロール細胞 (n=4)	49.03 ± 1.71	39.25 ± 6.69
電磁界暴露細胞 (100 μT; 1週間) (n=4)	56.63 ± 2.88	46.25 ± 8.68

2.2.2 ヒト白血球を用いた磁界負荷実験

本実験で観測の対象とした細胞機能、すなわち顆粒球によるスーパーオキシド産生は、顆粒球の細胞膜上のNADPHオキシダーゼによって遂行されることがわかっている。NADPHオキシダーゼは、細胞内でのNADPHの脱水素反応とリンクさせて、細胞外において、細胞周囲に存在する酸素分子に電子を与え、フリーラジカルであるスーパーオキシド(O₂⁻)を生成させる酵素である。上記の乳がん細胞の実験で示唆されたように、もし仮に細胞膜上の膜タンパクが電磁界の標的となりやすいのであれば、このO₂⁻産生系は、反応の出力をモニターしやすいという点から実験に適していると考えられた。

カリフォルニア大学のRoyらは、50 Hz/100 μTの磁界負荷によってラット腹腔由来好中球のO₂⁻産生が*in vitro*実験で12%程度亢進することを報告した(FEBS Letters, '95)。またヒト末梢血由来の好中球での*in vitro*実験で、60 Hz・22 mTの磁界負荷により、やはりO₂⁻産生の27%の亢進が認められている(Khadir et al., Biochim. Biophys. Acta, '99)。ただし、上記の2つの実験はいずれも、浮遊白血球をPMAによって刺激した状態での細胞浮遊液全体の活性計測であって、その実験条件は、白血球が実際にO₂⁻を産生する生理的・病理的な状況とは大きく異なる。本実験では、生体内での炎症組織におけるO₂⁻産生の状況によりいっそう近い、「付着」状態における計測を試み、その実験系に磁界負荷を組み合わせた。

(1) 研究の方法

- 1) 付着顆粒球によるスーパーオキシド産生のリアルタイム・アッセイ

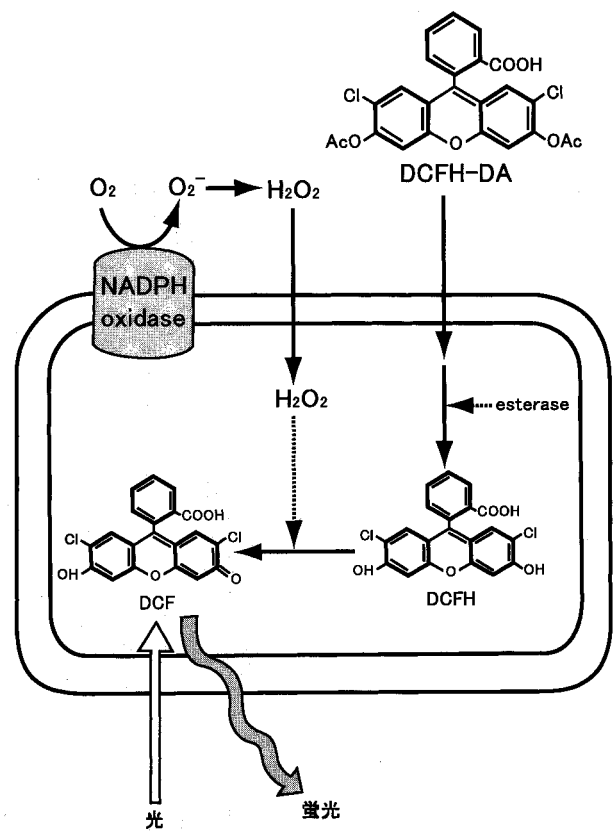


図20 顆粒球のスーパーオキシド産生を検出する原理

Bassらによって開発された手法(J. Immunol., 1983)を用いた。原法はフローサイトメトリーに適用されているが、本実験では付着細胞の解析に用いた。測定原理は以下のとおりである(図20)。顆粒球によって細胞外空間に生成されたO₂⁻は、自らの反応ですみやかにH₂O₂に変化して拡散し、O₂⁻を産生した細胞自身の胞体内にも侵入する。H₂O₂自体も比較的すみやかに分解されるた

め、細胞内 H_2O_2 量は、その細胞自体のその時点での O_2^- 産生量をほぼタイムラグなしに反映していると考えられる。以下に示す検出系は、この細胞内 H_2O_2 量に応じた緑色蛍光を細胞に与えるため、蛍光の2次元分布を経時的にモニターできるシステムを用いて、個々の付着細胞単位での O_2^- 産生のリアルタイム・アッセイが可能になる。

H_2O_2 検出の反応系は以下のとおりである。

①細胞浮遊液に DCFH-DA (Dichlorofluorescein Diacetate) を添加すると、この物質は容易に細胞膜を通過し、細胞内に分布する。

②その DCFH-DA は細胞内のエステラーゼによって酢酸基を失い、DCFH となる。

③DCFH は細胞膜を通過することができないので、細胞内にトラップされる。

④細胞が O_2^- を産生すると、DCFH は細胞内で H_2O_2 と反応して DCF (Dichlorofluorescein) に変化する。

⑤DCF は波長 490 nm 付近の光線で励起されて、530 nm に波長のピークを持つ緑色蛍光を放つ。

蛍光計測には、付着細胞用のレーザー・サイトメーター (ACAS 570, MERIDIAN 社) を用いた (図 21)。この装置では、ステージ上の付着細胞にアルゴン・イオン・レーザーのビームをあて、ステージの小刻みな移動 (3~5 μm 刻み) により、ある一定の大きさの視野における蛍光の2次元分布を経時的にモニターすることができる。本実験では、90~150 μm 四方の細胞付着領域を 30×30 分割してスキャンさせ、5 秒間隔でその平面スキャンを反復させた。



図21 レーザー・サイトメーター

2) 磁界負荷システム

プラスチック製のディッシュの上に直径 5 mm、高さ 5 mm のプラスチック製円筒を固着させ、その円筒の中に細胞浮遊液を注入し、ディッシュごと蛍光計測システムのステージに固定した。円筒の底にあたるディッシュ面は、あらかじめ 0.01~0.1% Poly-L-Lysine 溶液に浸してコーティングしておき、Poly-L-Lysine に由来する正負電荷間の引力によって白血球を底面に付着させるようにした。内径 7 mm/長さ 10 mm のシヌソイド・コイルを磁界発生用に作成し、これをステージ上の円筒の上からかぶせた。コイルには、小型低周波発振器 (EX-711, エスケイ電子) によって生成したサイン波形をオーディオ用アンプ (SONY) で増幅させて送り込み、コイルの底部で 100 μT の磁束密度に相当する 50 ヘルツ磁界を発生させた。

反応はすべて室温環境で行った。磁界発生時のコイル内の温度上昇は特に認められなかった。また、磁界を発生させていない状態でのステージ上の磁束密度は約 0.1 μT であった。

3) 白血球 (顆粒球) の分離・調製

1 回 (1 日) の実験ごとに 1 名の被験者の血液検体を用いた。計 20 日間の実験を通して、30~40 代健康男子 3 名の末梢血液を用いた。検体の調製は以下のとおりに行った。

①肘静脈より 2 ml のヘパリン加採血を行い、

②その全血を顆粒球分離剤 (Polymorphprep, Nycomed 社) に重層し、遠心操作 (室温, 1000 回転/分, 20 分間) を加えて顆粒球に富んだ画分を採取し、

③1/5 濃度の PBS を用いて 30 秒間の浸透圧ショックを加え、赤血球を破壊して最終的な顆粒球画分を得た。この操作で得た細胞の 99% 以上が顆粒球であり、また全血から開始しての顆粒球の回収率は 60~70% であった。

④続いて、5 μM の DCFH-DA 溶液 (0.1% エタノール/PBS) 中に顆粒球浮遊液を加え、37°C, 20 分間のインキュベーションにより顆粒球内に DCFH を取り込ませた。

⑤PBS で洗浄して、最終的な顆粒球浮遊液 (PBS) を調製した。

⑥この 2~5 までの手技に要する時間は、2~2.5 時間であった。

作製した顆粒球浮遊液を、①そのままの状態②白血球刺激剤である PMA を添加した状態 (最終濃度: 1 $\mu\text{g}/$

m) ③同じく白血球刺激剤である ConA を添加した状態(最終濃度: 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$), の3通りで蛍光検出システムに持ち込み, 10分~20分間のアッセイの経過中に5~10分目の時点で磁界を負荷した。

(2) 結果と考察

磁界による影響を検証する以前の, 顆粒球の O_2^- 産生に関する基本的所見として, 以下の2点が確認できた。

1) PMA の添加, ConA の添加によっても, 付着状態の顆粒球の O_2^- 産生が変化することは確認できなかった。顆粒球の浮遊状態では PMA や ConA の添加で明確な O_2^- 産生亢進が見られることから, Poly-L-Lysine を介した機械的な付着によって細胞状態が大きく変化することが示された。

2) 付着状態での O_2^- 産生に関して, ヒト末梢血液中の顆粒球は明らかに不均一な集団であることが見て取れた。

以上の所見を踏まえて, O_2^- 産生パターンを複数の細胞で個別にモニターし, それらのデータを磁界負荷の前

後で比較したところ, 両者に差異は認められなかった(図22)。

2.3 ヒト集団における暴露レベルと生理影響評価

磁界暴露の実態についてこれまで得られているデータは不十分といわざるを得ない。本課題では, 一般住民の磁界への暴露を規定する要因を明らかにすると同時に, 暴露レベルの分布情報を得ることにより, 課題1の人の暴露実験において暴露レベル等の実験条件を決定するための資料を得ることを目的とした。そのために, 二種類の調査を実施した。①一般家庭における磁界レベルを規定する要因と考えられるもののうち, 季節変動等の長期的変動を明らかにするために1年間にわたる測定を実施した。②調査は高圧送電線沿線において複数回の調査を実施し, 送電線による磁界レベル変動と他の要因による変動の大きさを見積もるとともに個人暴露レベルに与える影響について検討を加えた。

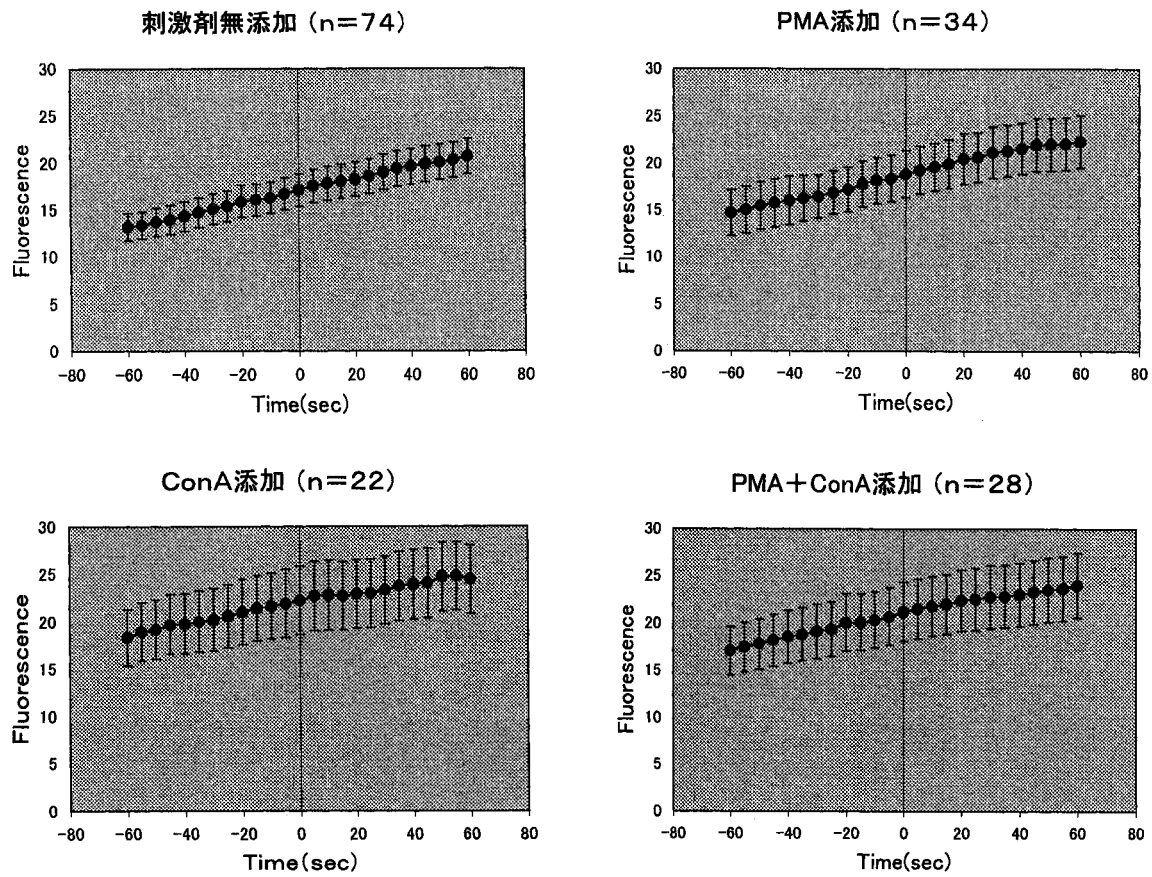


図22 スーパーオキシド由来の蛍光の経時変化
Time=0で磁界を負荷した。各点は, それぞれに示した個数の顆粒球における平均 \pm SEMを表す。

2.3.1 一般家庭における長期測定

(1) 調査方法

平成9年10月から平成10年10月まで東京都葛飾区の近接する6世帯を対象として実施した。この6世帯のうち最も近い家で約150mの距離を154kVの送電線が通過している。測定には携帯型磁界測定器(Enertech社, EMDEX Lite)を用いた。測定間隔は1分とした。本測定器は測定間隔ごとに空間軸のX, Y, Zの3方向の磁界を1秒ずつ計測し、その実効値(RMS, root mean squares)として表示するとともにメモリーに記憶するものである。また、測定レンジは0~70 μ T, 周波数応答特性は図23に示すとおりである。各世帯での測定位置は寝室内のテーブルないしタンスの上とした。測定器の1メートル以内には電気器具のないところを選定し、またその近傍で大きな磁界変動がないことをあらかじめ確認した。また、家庭電気製品の所有・使用状況、ならびに測定期間ごと(はじめの2カ月間は1週間, その後は2週間)の電力消費量の記録を依頼した。最終週には対象世帯の主婦を対象として個人暴露レベルの測定も併せて行った。

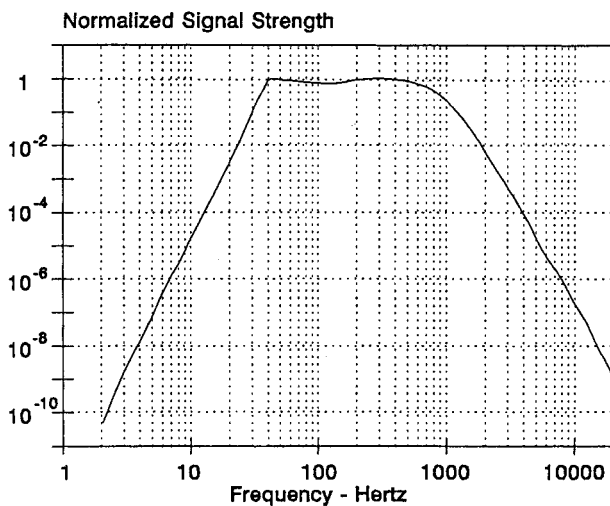


図23 磁界レベル測定器 (EMDEX lite) の周波数応答特性

(2) 結果と考察

対象世帯の居住家屋の属性を表10に示した。家屋構造についてみると、対象世帯のうちA, B, C, Dが一戸建て住宅, EとFが集合住宅であった。各世帯で日常的に使用している電気製品はテレビ, 冷蔵庫, 洗濯機など20種類以上であり, 世帯別の特徴はみられなかった。調査期間中の電力使用量は世帯によって大きく異なり, おおむね契約用量と対応していた。

1年間の磁界レベルの測定値の基本統計量を表11に, 度数分布を図24に示した。測定期間全体の算術平均値については最も高い家屋で0.08 μ T, 最も低い家屋で0.011 μ Tであり, 8倍の差が認められた。平均値と標準偏差とは必ずしも相関しておらず, 各世帯の特性の違いを示していた。例えば, 世帯Cと世帯Dの平均値はほぼ同じであるが, 度数分布からも明らかのように, 世帯Cが一峰性の分布を示しているのに対して, 世帯Dでは二峰性となっていた(図24)。短期・長期の測定値の変動傾向を図25~27に示した。時刻別の算術平均値をみると(図25), 世帯Aで典型的にみられるように, 昼から夕方が高く, 深夜から早朝に低い傾向が見られていた。曜日による違い(図26)はいずれの世帯でも明確ではなかった。月別の変動(図27)をみると冬季および夏季に高い傾向がみられていた。磁界レベルの度数分布が二峰性を示していた世帯Dについて季節別にその分布をみると, いずれの季節でも二峰性がみられていた。

電力消費量の月別傾向は冬季に高い傾向を示していた(図28)。年間電力消費量と磁界レベル平均値との関連

表10 長期測定対象世帯の属性

対象世帯	家屋構造	電力使用量(kWh)	契約用量
A	木造一戸建て	2228	30A
B	鉄骨一戸建て	5782	50A
C	木造一戸建て	2012	30A
D	木造一戸建て	4721	50A
E	鉄筋集合住宅	2829	30A
F	鉄筋集合住宅	2435	30A

表11 長期測定結果の概要

対象世帯	有効測定時間	算術平均値	標準偏差	パーセンタイル			
				25%	50%	75%	95%
A	7644	0.017	0.009	0.010	0.020	0.020	0.030
B	7445	0.017	0.007	0.010	0.020	0.020	0.030
C	7747	0.029	0.011	0.020	0.030	0.030	0.040
D	7746	0.028	0.026	0.010	0.020	0.050	0.060
E	6672	0.080	0.031	0.060	0.080	0.100	0.140
F	7239	0.011	0.004	0.010	0.010	0.010	0.020

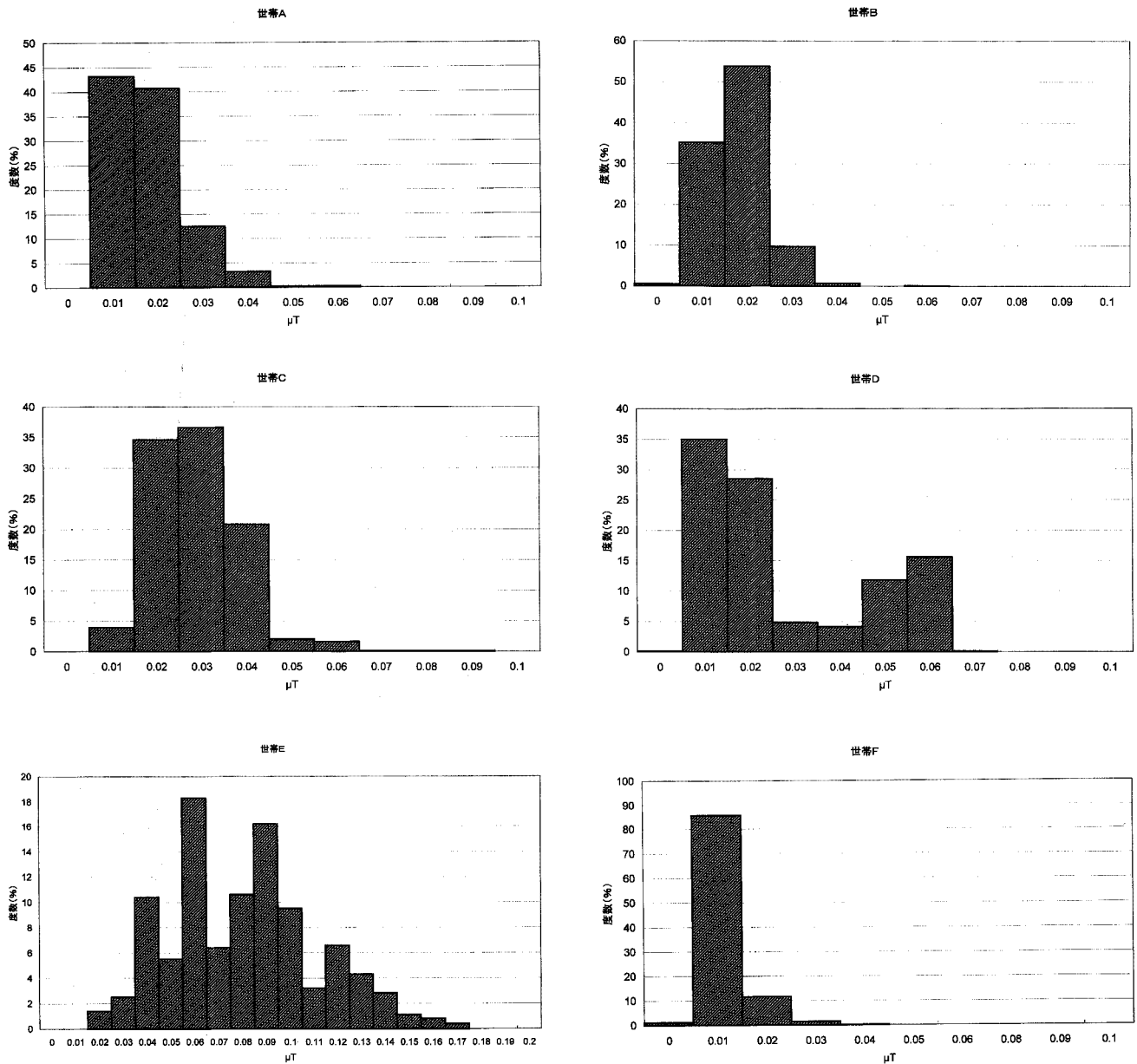


図24 各対象世帯（長期測定）の磁界レベル分布

性はみられなかった。世帯ごとに測定週単位の電力消費量と磁界レベル平均値の相関をみると(図 29)，相関係数は $-0.14\sim 0.55$ であり，世帯 B, C, F では比較的高い正の相関がみられていた。一方，回帰係数については世帯ごとに大きく異なっていた。

最終週に実施した個人暴露レベルの平均値は居住世帯の寝室レベルよりもやや高い傾向がみられた(表 12)。個人暴露レベルの時間変動は寝室レベルの変動と比較すると大きく，時々ピーク的なレベル変動がみられていた。例えば，世帯 D の主婦の個人暴露レベルの平均値は $0.032\ \mu\text{T}$ あったが，図 30 に示すようにピーク的な暴露

レベルの上昇がみられ，最高値は $40\ \mu\text{T}$ を越えていた。

約 1 年間にわたる家庭内での磁界レベルの測定結果から，いくつかの関連因子が明らかとなった。今回の調査では各世帯での電力消費量の連続測定ができなかったため，直接的な関連性を示すことはできなかったが，磁界レベルの日内変動傾向は一般的な電力消費の日内変動傾向と類似していた。一方で，各世帯での週ごとの平均磁界レベルと電力消費量とが相関する世帯としない世帯があり，両者の関連性は明確ではなかった。また，今回の対象世帯では冬季の電力消費量が高い傾向がみられており，夏季に電力消費が増大する関東地方の平均的な傾向

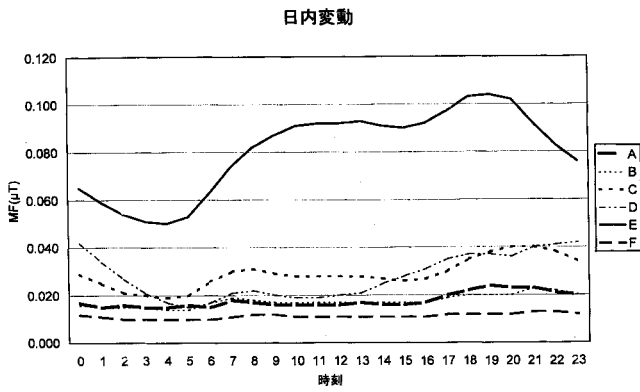


図25 磁界レベルの時刻別平均値

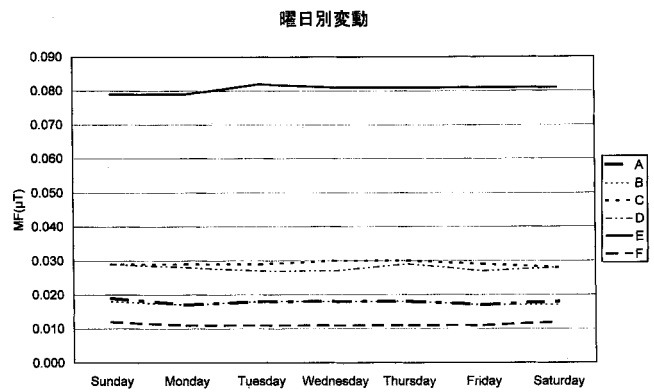


図26 磁界レベルの曜日別平均値

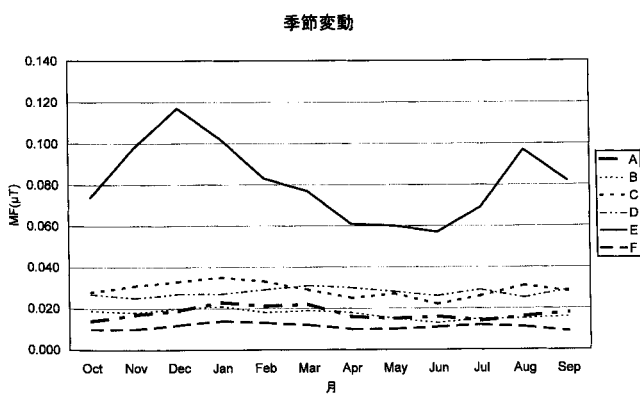


図27 磁界レベルの月別平均値

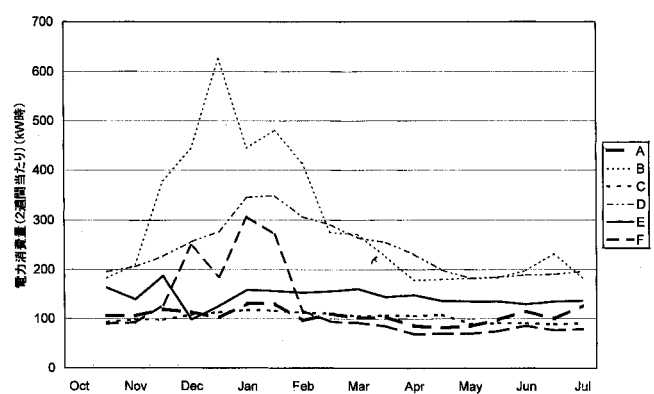


図28 電力消費量の月別変動

とは異なっていた。

磁界レベルの分布からも明らかなように世帯間変動が最も大きかった。この世帯間の差は、使用している電気器具の種類・数、電力消費量、家屋構造などでは説明することは困難である。また、送電線からの距離とも関連性がみられなかった。一方、磁界レベルの日内変動や季節変動の傾向は各世帯で類似しており、今回の結果は1日以上測定を季節別に実施することにより、家庭内での長期的な平均レベルを推計できる可能性を示すものであると考えられる。

2.3.2 送電線沿線の住民を対象とした暴露レベル測定

(1) 調査方法

千葉県北部の高圧送電線（500 kV）周辺で、送電線の中心線から水平距離 50 m 以内と 50～100 m の家屋、計 27 世帯で磁界レベルの測定を実施した。送電線からの距離は住宅地図（縮尺 1500 分の 1）上で求めた。調査は平成 11 年冬、春、秋、平成 12 年冬の 4 回行った（表 13）。

第 1 回と第 2 回については各世帯の寝室において、第 3 回と第 4 回については各世帯の寝室、居間の 2 カ所と対象世帯の成人家族 1 名の個人暴露レベルを 30 秒間隔で 1 週間測定した。第 3 回については測定器の台数の制限のために 2 度にわけて実施した。測定には携帯型磁界測定器（Eneritech 社、EMDEX Lite）を用いた。測定期間中の家庭内での電気製品の使用状況および第 3 回と第 4 回調査では対象者の行動時間調査（30 分単位）も併せて実施した。また、世帯 1 は調査時点で居住者がおらず、家庭内での電気器具の使用がほとんどない状況で調査を実施した。原則として、第 1 回調査と第 2 回調査、第 3 回調査と第 4 回調査については同一対象世帯で実施した。第 1 回および第 2 回調査に参加したのは 20 世帯、第 3 回調査に参加したのは 19 世帯、第 4 回調査に参加したのは 17 世帯であった。対象世帯のうち一戸建ては 8 世帯、集合住宅は 19 世帯であった。

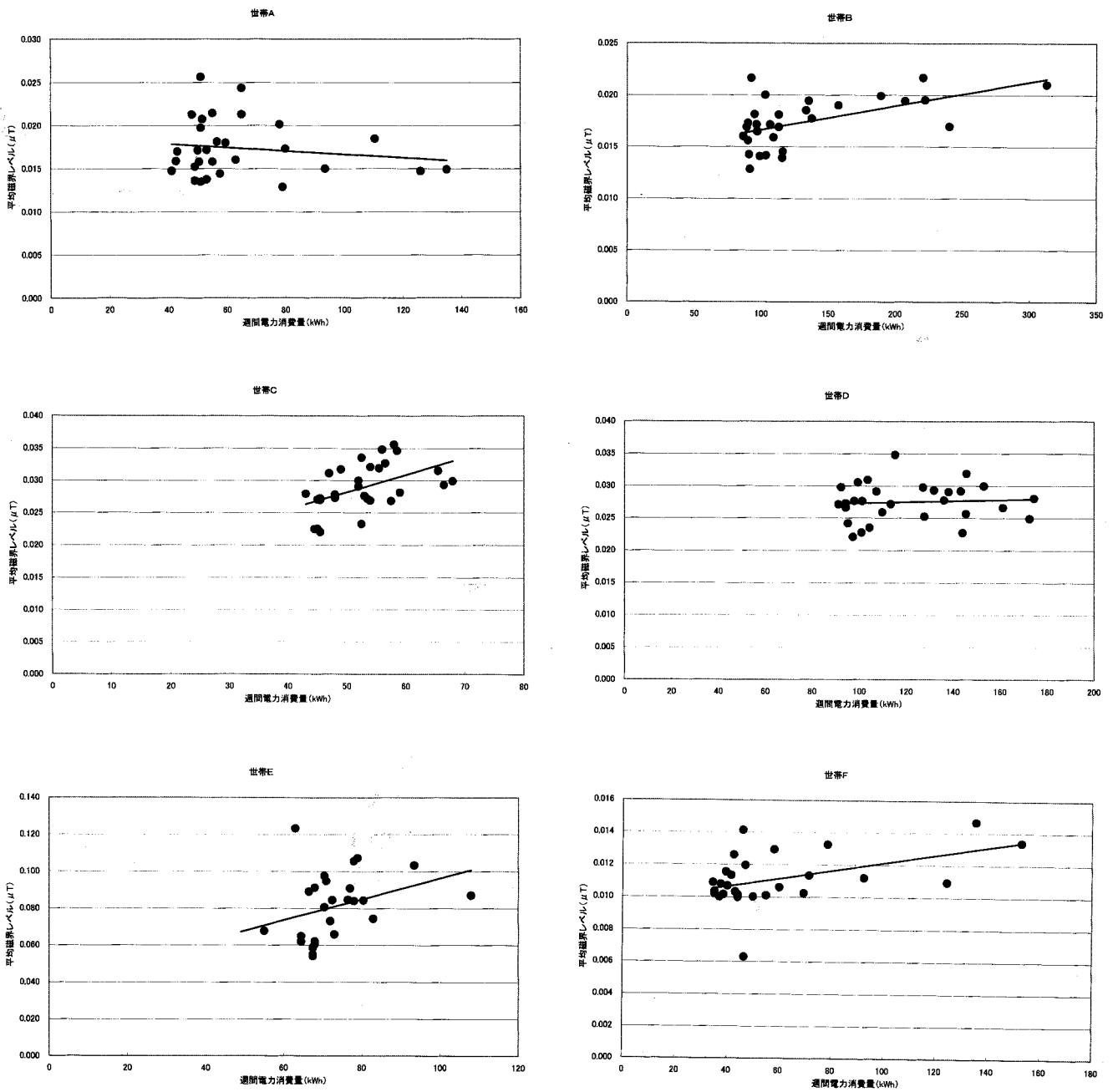


図29 各対象世帯の電力消費量と磁界レベル平均値の相関

表12 個人暴露レベルの測定結果（最終測定週）

対象世帯	算術平均	標準偏差	パーセンタイル				寝室レベル平均値
			25%	50%	75%	95%	
A	0.034	0.139	0.010	0.020	0.030	0.080	0.016
B	0.047	0.164	0.010	0.020	0.040	0.170	0.020
C	0.033	0.048	0.020	0.030	0.040	0.060	0.028
D	0.032	0.142	0.010	0.020	0.030	0.090	0.022
E	-	-	-	-	-	-	-
F	0.049	0.102	0.010	0.020	0.060	0.160	-

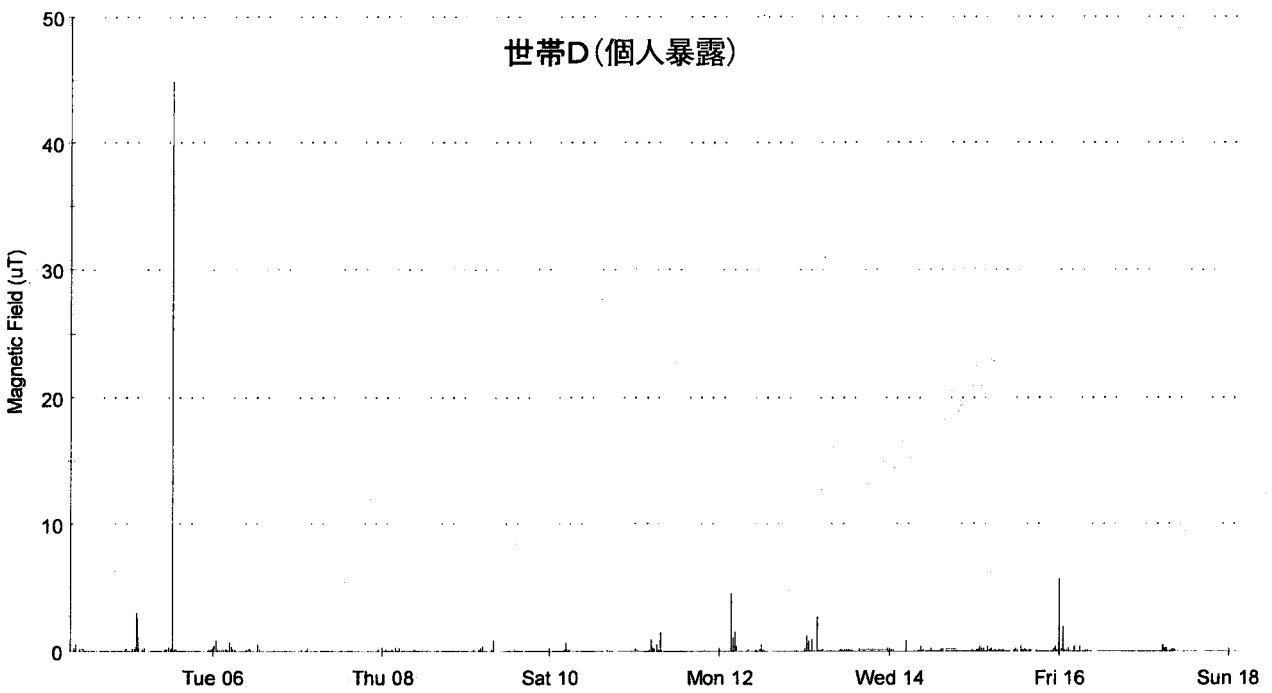
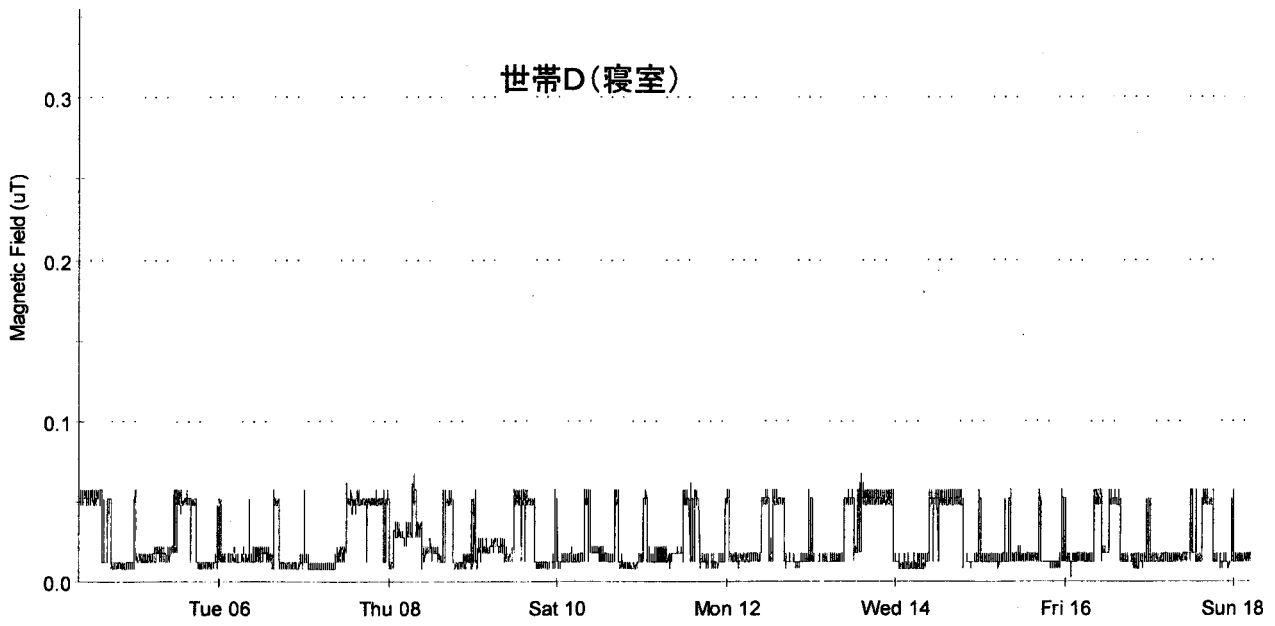


図30 個人暴露レベルと寝室の磁界レベルの変動

表13 送電線沿線住民調査の実施状況

世帯番号	送電線 距離(m)	家屋構造	第一回	第二回	第三回	第四回	第3, 4回個人暴露 レベル測定対象者
			H11.1.25~2.4	H11.3.13~3.23	①H11.9.18~ 9.28 ②H11.10.24~ 11.1	H12.2.19~2.26	
1	85	木造一戸建て	○	○			
2	40	木造一戸建て	○	○			
3	35	鉄筋集合住宅	○	○	①		主婦
4	80	鉄筋集合住宅	○	○			
5	30	鉄筋集合住宅	○	○	①	○	主婦
6	80	鉄筋集合住宅	○	○	②	○	主婦
7	30	鉄筋集合住宅	○	○			
8	40	鉄筋集合住宅	○	○			
9	60	鉄筋集合住宅	○	○	①	○	勤め人
10	45	鉄筋集合住宅	○	○			
11	65	鉄筋集合住宅	○	○			
12	65	鉄筋集合住宅	○	○			
13	20	鉄筋集合住宅	○	○	①	○	勤め人
14	85	鉄筋集合住宅	○	○	①	○	主婦
15	35	鉄筋集合住宅	○	-	②	○	大学生
16	60	鉄筋集合住宅	○	○	①	○	主婦
17	50	鉄筋集合住宅	○	○	①	○	主婦
18	90	鉄筋集合住宅	○	○	②	○	パートタイム
19	20	木造一戸建て	○	○	②	○	勤め人
20	20	木造一戸建て	○	○	①	○	勤め人
21	20	鉄筋集合住宅			②	○	主婦
22	20	鉄筋集合住宅			②	○	主婦
23	25	鉄筋集合住宅			②	○	勤め人
24	25	木造一戸建て			②	○	主婦
25	25	木造一戸建て			②	○	主婦
26	25	木造一戸建て			②		主婦
27	25	木造一戸建て			②	○	主婦

(2) 結果と考察

各測定回別に対象世帯での測定結果を表14~17に示した。一部の世帯では測定器の不調でデータの読み出しができなかった。第1回調査の寝室での測定では、各世帯の平均値は0.12~1.2 μ Tの範囲であり、世帯7では最高値2.68 μ Tを示していた。第2回調査の寝室での測定では、各世帯の平均値は0.09~1.02 μ Tの範囲であり、最高値は世帯5の1.59 μ Tであった。第2回測定は第1回測定よりも全体として低値であった。

第3回調査の寝室での測定では、各世帯の平均値は0.09~0.87 μ Tの範囲であり、世帯5は最高値2.40 μ Tを示していた。居間の測定では平均値は寝室と類似していた。個人暴露レベルの平均値は寝室や居間の平均値よりも高い値を示す世帯もあったが、中央値についてはほとんどの世帯で低値ないし同程度の値であった。個人暴露レベルの最高値は寝室や居間の最高値に比べて高い値を示しているものが多く、10 μ Tを越えるものもあった。第4回調査の寝室での測定では、各世帯の平均値は

表14 第1回調査の測定結果概要

世帯番号	平均値	中央値	75%	95%	最高値
1	0.29	0.31	0.37	0.42	0.48
2	1.20	1.31	1.46	1.56	1.79
3	0.95	1.03	1.34	1.59	1.77
4	0.24	0.27	0.33	0.39	0.46
5	1.11	1.22	1.54	1.84	2.03
6	0.22	0.23	0.29	0.35	0.40
7	1.00	1.09	1.39	1.16	2.68
8	0.74	0.76	1.04	1.29	1.44
9	0.43	0.46	0.58	0.69	0.78
10	0.39	0.41	0.53	0.62	0.75
11	0.35	0.38	0.44	0.49	0.80
12	0.34	0.35	0.40	0.44	0.51
13	0.47	0.50	0.69	0.83	1.53
14	0.13	0.14	0.20	0.24	0.28
15	0.47	0.51	0.68	0.81	0.93
16	0.22	0.23	0.32	0.38	0.44
17	0.33	0.34	0.47	0.61	0.98
18	0.18	0.19	0.26	0.30	1.83
19	0.38	0.42	0.55	0.65	0.93
20	0.12	0.12	0.17	0.21	0.25

表15 第2回調査の測定結果概要

世帯番号	平均値	中央値	75%	95%	最高値
1	0.25	0.26	0.32	0.37	0.42
2	0.97	1.02	1.12	1.25	1.37
3	0.50	0.43	0.82	1.15	1.44
4	0.17	0.18	0.22	0.28	0.87
5	0.58	0.52	0.96	1.33	1.59
6	0.15	0.14	0.18	0.23	0.65
7	0.55	0.56	0.87	1.16	1.44
8	0.45	0.45	0.7	0.94	1.18
9	0.24	0.25	0.35	0.47	0.61
10	0.22	0.23	0.33	0.46	0.53
11	0.25	0.26	0.32	0.4	0.46
12	0.27	0.28	0.31	0.35	0.63
13	0.30	0.27	0.45	0.63	0.77
14	0.10	0.08	0.13	0.19	0.25
15	-	-	-	-	-
16	0.15	0.13	0.22	0.3	0.37
17	0.19	0.14	0.3	0.43	0.54
18	0.12	0.09	0.17	0.23	0.63
19	0.19	0.14	0.32	0.45	0.58
20	0.09	0.07	0.12	0.17	0.3

0.12~0.91 μT の範囲であり、世帯 15 は最高値 2.72 μT を示していた。居間の測定では世帯 25 を除いて平均値は寝室と類似していた。個人暴露レベルの平均値は寝室や居間の平均値よりも高い値を示す世帯もあったが、第3回調査と同様に中央値についてはほとんどの世帯で低値ないし同程度の値であった。個人暴露レベルの最高値は寝室や居間の最高値に比べて高い値を示しているものが多く、30 μT を越えるものもあった。

各測定回での送電線からの距離別の寝室での磁界レベルを図 31 に示した。いずれの調査でも距離が近くなるにつれて寝室の磁界レベルが上昇する傾向がみられた。最も磁界レベルが高いのは送電線の中心線からの距離が約 30~40 m の範囲の対象世帯であり、それよりも送電線に近い世帯では逆に磁界レベルが低下する傾向がみられ

表16 第3回調査の測定結果概要

世帯番号		平均値	中央値	75%	95%	最高値
3	寝室	0.79	0.70	1.27	1.84	2.18
	居間	0.76	0.67	1.21	1.77	2.11
	個人	0.55	0.42	0.79	1.47	2.51
5	寝室	0.87	0.78	1.32	1.98	2.40
	居間	0.70	0.63	1.06	1.61	1.98
	個人	0.68	0.55	0.99	1.77	6.35
6	寝室	0.14	0.13	0.20	0.25	0.31
	居間	0.16	0.14	0.21	0.27	0.51
	個人	0.17	0.13	0.22	0.32	4.17
9	寝室	0.32	0.28	0.47	0.71	0.87
	居間	0.35	0.31	0.52	0.77	0.96
	個人	0.28	0.17	0.32	0.74	6.01
13	寝室	-	-	-	-	-
	居間	0.37	0.31	0.57	0.90	1.10
	個人	0.24	0.13	0.37	0.81	7.69
14	寝室	0.10	0.07	0.14	0.23	0.29
	居間	0.10	0.08	0.15	0.25	0.32
	個人	0.12	0.08	0.16	0.27	7.99
15	寝室	0.36	0.36	0.53	0.67	0.78
	居間	0.30	0.31	0.44	0.55	0.65
	個人	0.30	0.19	0.37	1.38	5.56
16	寝室	-	-	-	-	-
	居間	0.15	0.12	0.23	0.38	1.41
	個人	0.16	0.12	0.24	0.43	2.90
17	寝室	0.24	0.19	0.37	0.59	0.73
	居間	0.22	0.17	0.35	0.56	0.69
	個人	0.22	0.16	0.36	0.54	2.10
18	寝室	0.15	0.16	0.20	0.24	3.30
	居間	0.15	0.14	0.21	0.25	5.88
	個人	-	-	-	-	-
19	寝室	0.25	0.25	0.36	0.46	0.56
	居間	0.27	0.26	0.38	0.49	0.87
	個人	0.15	0.13	0.23	0.38	1.63
20	寝室	0.09	0.07	0.13	0.21	0.27
	居間	0.09	0.07	0.13	0.20	0.25
	個人	0.14	0.08	0.16	0.35	10.30
21	寝室	0.18	0.19	0.25	0.31	0.36
	居間	0.19	0.21	0.27	0.33	0.39
	個人	0.16	0.12	0.23	0.29	1.40
22	寝室	0.25	0.25	0.36	0.45	0.53
	居間	0.21	0.21	0.31	0.39	0.46
	個人	0.23	0.18	0.30	0.45	5.85
23	寝室	0.23	0.25	0.33	0.44	1.24
	居間	0.18	0.18	0.27	0.34	1.47
	個人	0.18	0.08	0.17	0.63	10.01
24	寝室	0.37	0.36	0.54	0.70	0.83
	居間	0.35	0.34	0.51	0.65	0.77
	個人	0.31	0.26	0.47	0.64	8.00
25	寝室	0.26	0.25	0.38	0.49	0.59
	居間	0.27	0.26	0.39	0.51	0.73
	個人	0.28	0.21	0.40	0.54	9.45
26	寝室	0.30	0.27	0.44	0.56	0.68
	居間	0.30	0.27	0.45	0.57	0.69
	個人	0.27	0.24	0.39	0.53	2.11
27	寝室	0.11	0.11	0.16	0.21	0.26
	居間	0.12	0.12	0.16	0.21	0.27
	個人	0.17	0.11	0.18	0.38	5.61

た。50 m 以内の世帯の算術平均は 0.42~0.70 μT 、中央値は 0.32~0.61 μT 、50~100 m の世帯の算術平均は 0.17~0.25 μT 、中央値は 0.15~0.23 μT であり、約 2 倍の違いがみられた (図 32)。

各調査間での寝室の平均レベルの相関を図 33 に示した。いずれの調査間でも比較的高い相関を示していた。第3回調査と第4回調査での、寝室、居間、および個人暴露レベル1週間平均値の相関をそれぞれ図 34 と図 35

表17 第4回調査の測定結果概要

世帯番号		平均値	中央値	75%	95%	最高値
3	寝室	測定実施せず				
	居間					
	個人					
5	寝室	0.81	0.95	1.24	1.44	1.67
	居間	0.70	0.82	1.02	1.18	1.43
	個人	0.68	0.71	1.05	1.34	2.76
6	寝室	0.18	0.19	0.25	0.29	0.34
	居間	0.19	0.21	0.25	0.29	0.36
	個人	0.23	0.20	0.26	0.49	8.46
9	寝室	0.31	0.36	0.45	0.53	0.63
	居間	0.33	0.39	0.48	0.56	0.66
	個人	0.28	0.26	0.41	0.51	4.06
13	寝室	0.46	0.52	0.67	0.78	0.90
	居間	0.39	0.44	0.57	0.68	0.76
	個人	0.22	0.12	0.33	0.62	7.38
14	寝室	0.12	0.12	0.18	0.21	0.25
	居間	0.13	0.13	0.18	0.21	0.23
	個人	0.16	0.13	0.19	0.64	5.14
15	寝室	0.41	0.46	0.60	0.71	2.72
	居間	0.34	0.38	0.49	0.58	0.64
	個人	0.42	0.19	0.51	1.25	18.82
16	寝室	0.19	0.20	0.27	0.33	0.37
	居間	0.18	0.19	0.25	0.30	0.35
	個人	0.48	0.20	0.32	2.24	17.38
17	寝室	0.28	0.31	0.40	0.49	1.09
	居間	0.37	0.28	0.37	1.81	2.35
	個人	0.27	0.23	0.35	0.74	6.04
18	寝室	0.13	0.13	0.18	0.21	0.23
	居間	0.15	0.16	0.22	0.25	0.29
	個人	0.15	0.13	0.21	0.25	2.81
19	寝室	0.28	0.33	0.40	0.47	0.58
	居間	0.30	0.35	0.43	0.50	0.59
	個人	0.17	0.10	0.31	0.42	2.66
20	寝室	0.12	0.12	0.16	0.19	0.21
	居間	0.11	0.11	0.15	0.18	0.29
	個人	0.20	0.11	0.15	0.82	11.36
21	寝室	0.20	0.22	0.28	0.31	0.71
	居間	0.22	0.24	0.30	0.34	2.96
	個人	0.18	0.16	0.25	0.31	7.35
22	寝室	0.29	0.32	0.41	0.50	0.55
	居間	0.23	0.26	0.34	0.41	0.46
	個人	0.37	0.27	0.37	0.76	20.66
23	寝室	0.24	0.26	0.34	0.41	0.45
	居間	0.19	0.21	0.28	0.33	0.38
	個人	0.19	0.10	0.24	0.56	8.98
24	寝室	0.40	0.47	0.60	0.68	0.81
	居間	0.41	0.48	0.60	0.71	0.83
	個人	0.37	0.37	0.54	0.73	12.42
25	寝室	0.91	1.14	1.24	1.36	1.78
	居間	0.29	0.35	0.43	0.50	0.64
	個人	0.32	0.37	0.47	0.55	2.28
26	寝室	測定実施せず				
	居間					
	個人					
27	寝室	0.14	0.16	0.19	0.23	0.27
	居間	0.15	0.17	0.21	0.24	0.35
	個人	0.64	0.20	0.36	2.40	33.10

に示した。第3回調査では寝室、居間、および個人暴露レベル1週間平均値の相互の相関は高かったが、第4回調査では高い相関はみられなかった。第4回調査の寝室と居間の相関は寝室の平均レベルのみ高かった世帯25を除けば、高い相関を示していた。

生活行動別個人暴露レベルを図36に示した。個人暴露レベルは居住家屋の送電線からの距離を調整した最小二乗平均値として示した。第3回調査では屋内（台所）と

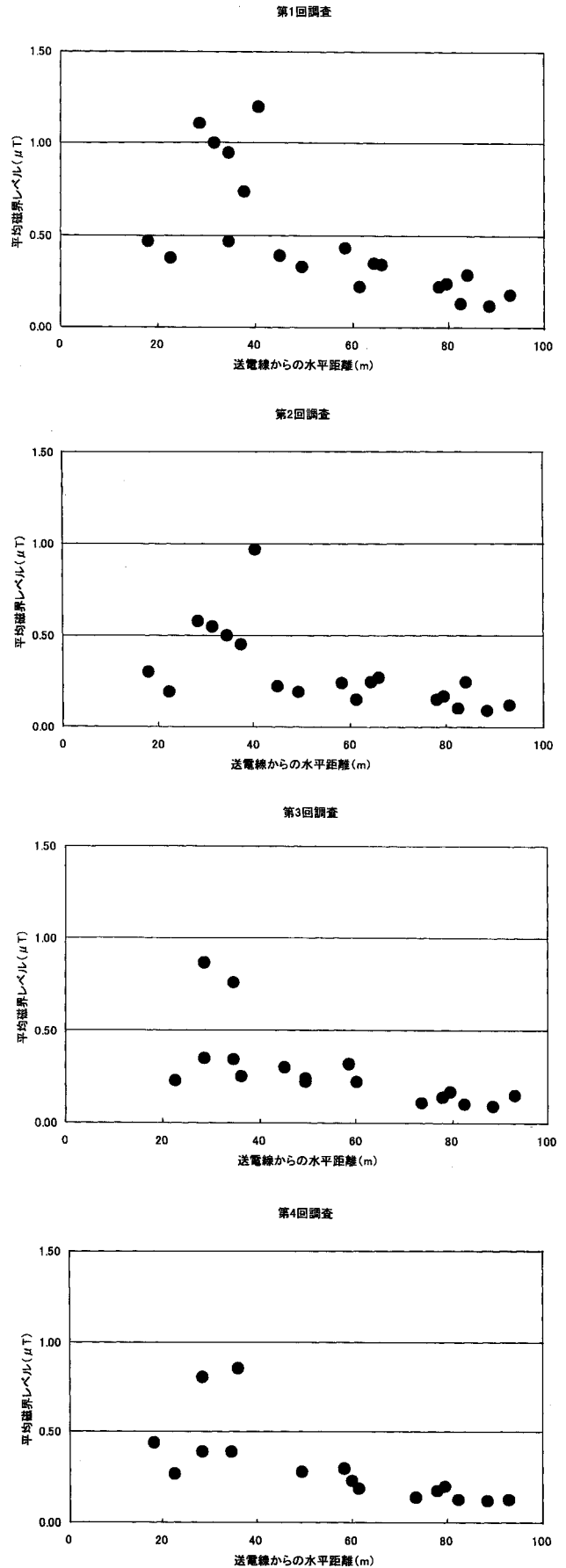


図31 送電線からの距離と磁界レベルの関係

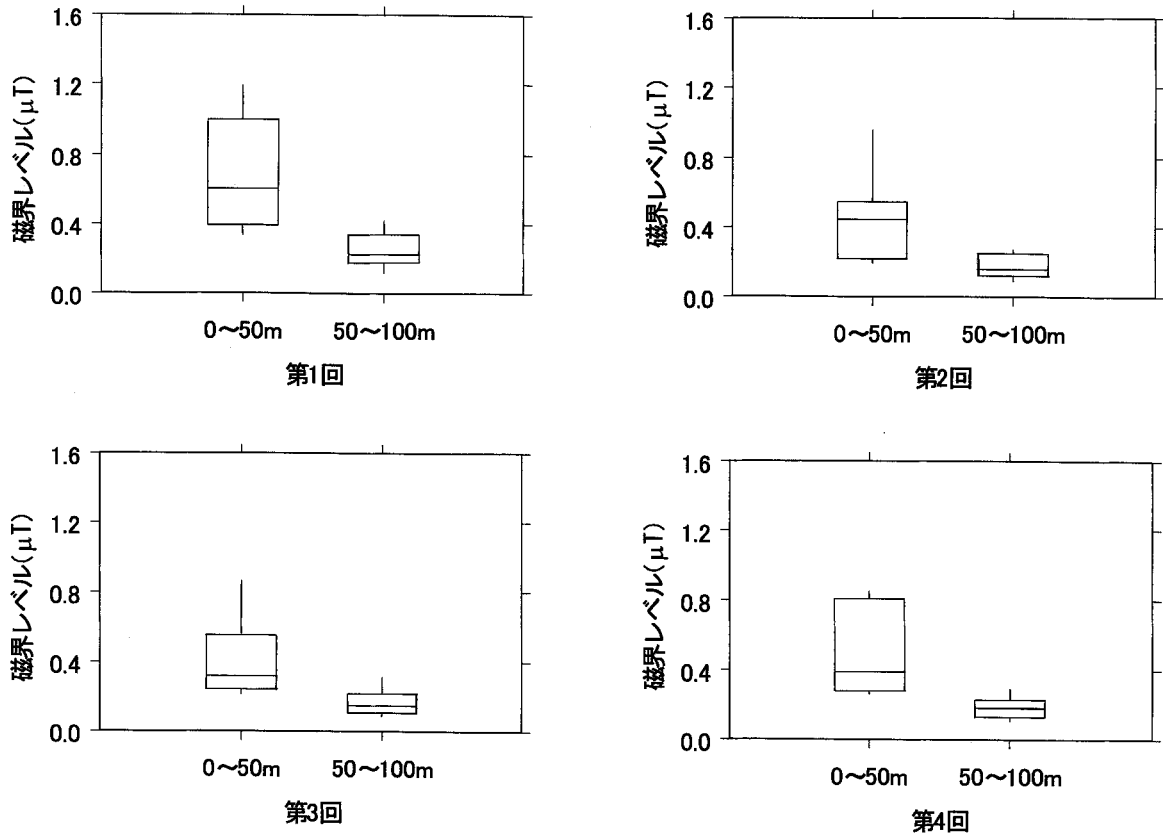


図32 送電線からの距離別磁界レベルの分布

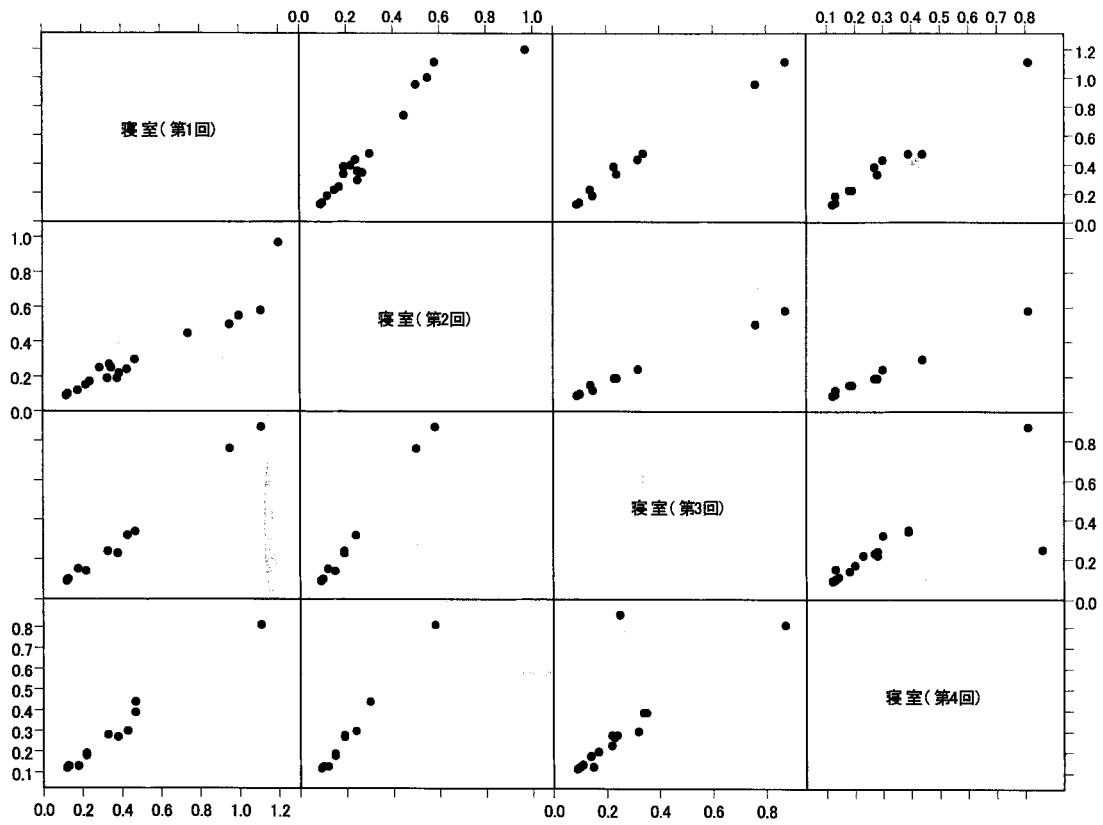


図33 各調査間での寝室レベルの相関

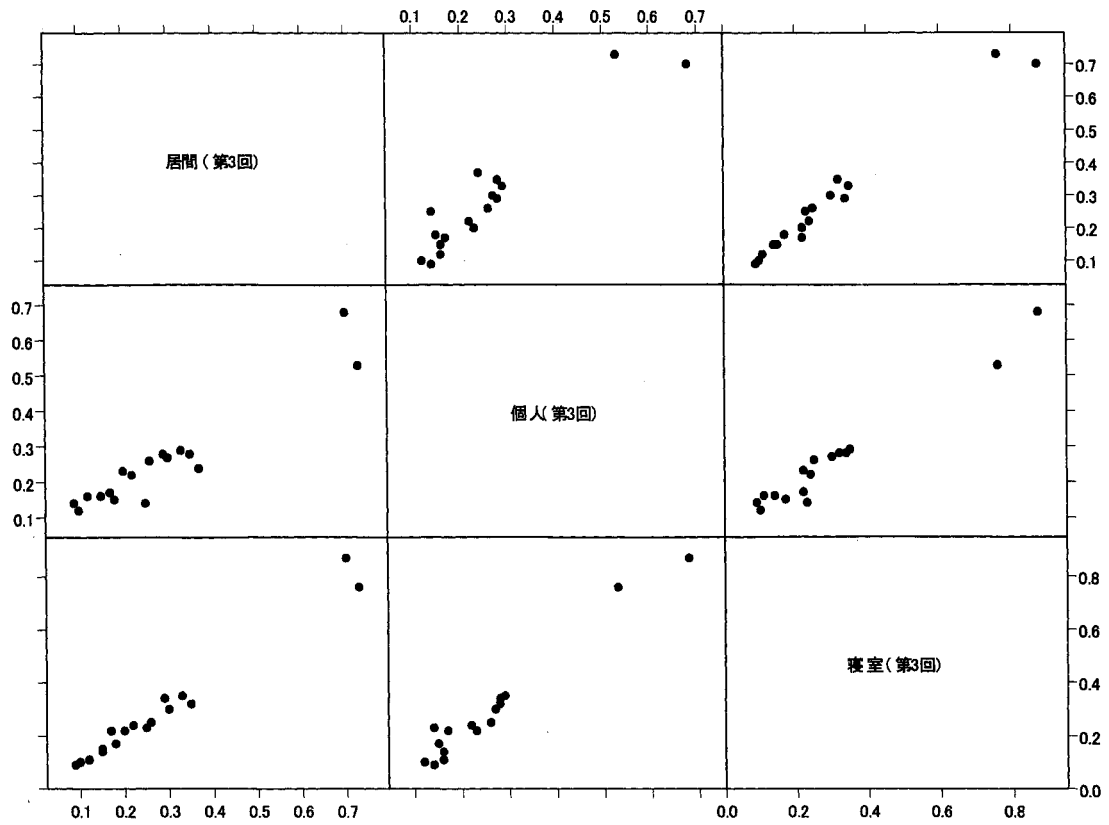


図34 寝室，居間，および個人暴露レベル1週間平均値の相関（第3回調査）

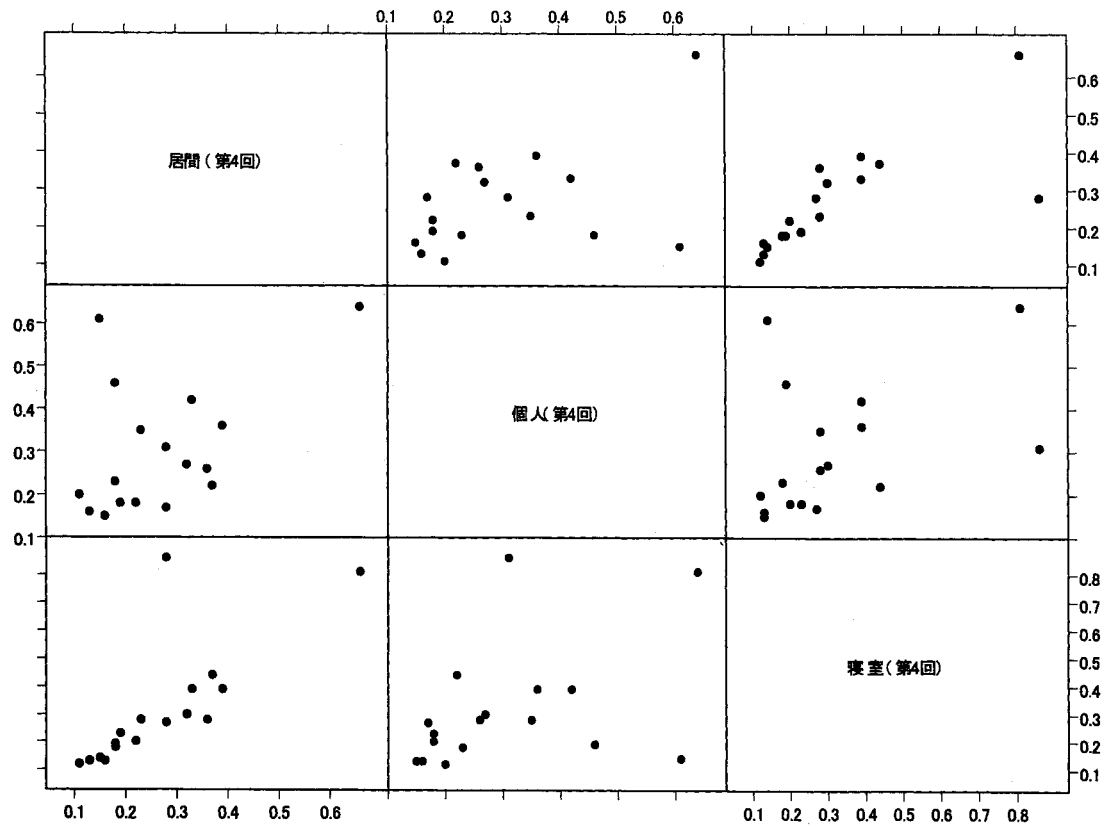


図35 寝室，居間，および個人暴露レベル1週間平均値の相関（第4回調査）

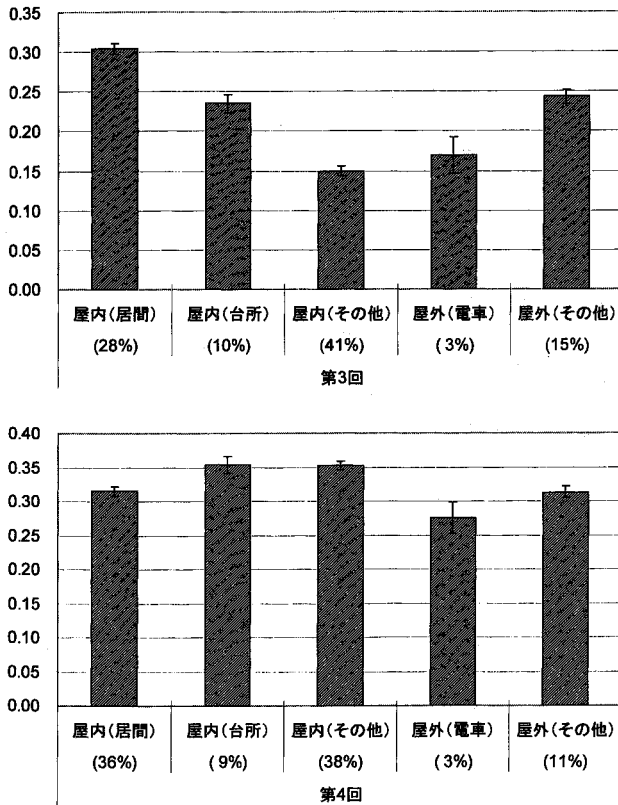


図36 生活行動別の磁界レベル (最小二乗平均値)

屋内（その他）では差がみられなかったが、それ以外の行動場所別にみると差が見られ、屋外での暴露レベルは屋内での暴露レベルよりも低くなっていた。第4回ではそれぞれの行動場所別の暴露レベルに差がほとんどみられず、第3回調査とは異なる傾向を示した。いずれの調査でも80%以上の時間を自宅の屋内で過ごしており、累積暴露に対する寄与は自宅屋内が大きくなっていた。

各世帯の30秒ごとの磁界測定値の変動をみると、寝室と居間は非常に類似した傾向を示した。例えば、世帯15の寝室と居間の磁界レベルを図37に示したが、変動傾向が類似していることが明らかである。一方、個人暴露レベルの平均値は寝室および居間のレベルよりも低い、時折、高いレベルを示すことがあった。さらに、異なる世帯でも寝室および居間の時間変動パターンは非常に類似していた。図38には世帯9と世帯17の寝室における測定値を示した。両世帯は送電線を隔てて約180m離れている。絶対値には差がみられるが、変動傾向は非常に類似していた。

高圧送電線に近接する世帯で実施した磁界の測定結果から、対象世帯の家屋内（寝室、ないし居間）の磁界レベルに家庭内の発生源よりも送電線が相対的に大きな寄

与をしていることが明らかとなった。居住者がいない家屋での測定結果もこのことを支持していた。3相2回線の500kV送電線の周辺の電磁界レベルについての理論的計算では、電流を2.2kAとすると地上1mでの磁界レベルは送電線の中心線下で約5μT、中心線から50m地点で約1μTであることが示されている。今回の調査対象となった送電線の調査期間中の送電量に関するデータは得られていないが、今回の調査対象世帯での測定結果は理論的推計とほぼ同等かやや低いレベルであると考えられる。また、送電線からの距離が20m付近の対象世帯の磁界レベルが30~40m付近の対象世帯よりも低値を示していたことも、この理論的推計からも示されることである。

同一世帯での各調査間の寝室ないし居間における磁界レベルの平均値は高い相関を示していた。また、第3回と第4回調査で実施した個人暴露レベルについてもそれぞれの居住家屋の寝室ないし居間の平均レベルと相関していた。特に、第3回については高い相関がみられた。第3回調査に比べて相関が低かった第4回調査においても、中央値間の相関については比較的高い相関が見られていた(図39)ことから、今回の対象者では生活行動の違いによる平均的な暴露レベルへの寄与はそれほど大きくないものと考えられた。しかしながら、寝室、居間および個人暴露レベルの中ではいずれの対象世帯でも個人暴露レベルで最高値が示されており、ピークレベルについては生活行動の影響を受けていることが示唆された。この点は、磁界レベルの経時測定データからも明らかであり、送電線に由来すると考えられる磁界変動に生活行動に伴うバースト状の磁界暴露が加わっていると考えられた。個人暴露レベル測定の対象が主婦の場合と勤め人の場合との間にも大きな違いは認められず、今回の対象者の場合には自宅における暴露の寄与が大きかったことを示唆している。また、生活行動時間調査に基づいた検討では、行動別の磁界レベルの差は明確ではなかった。屋内と屋外の大まかな場所に関する30分単位の調査であるため、精密な評価はむずかしいが、同一の人を対象としたにもかかわらず二つの調査間で結果に一貫性はみられなかった。したがって、このような生活時間調査に基づいて個人暴露レベルを推定することは困難であると考えられた。

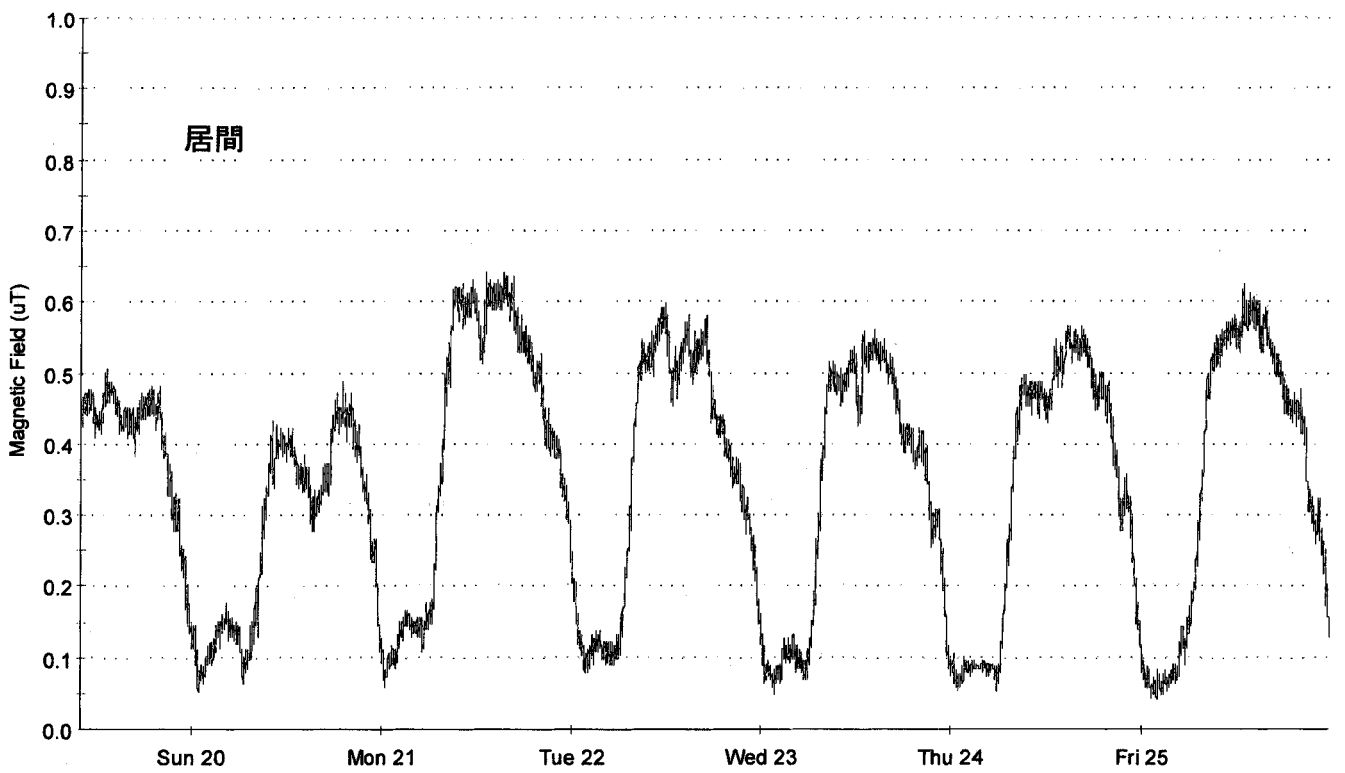
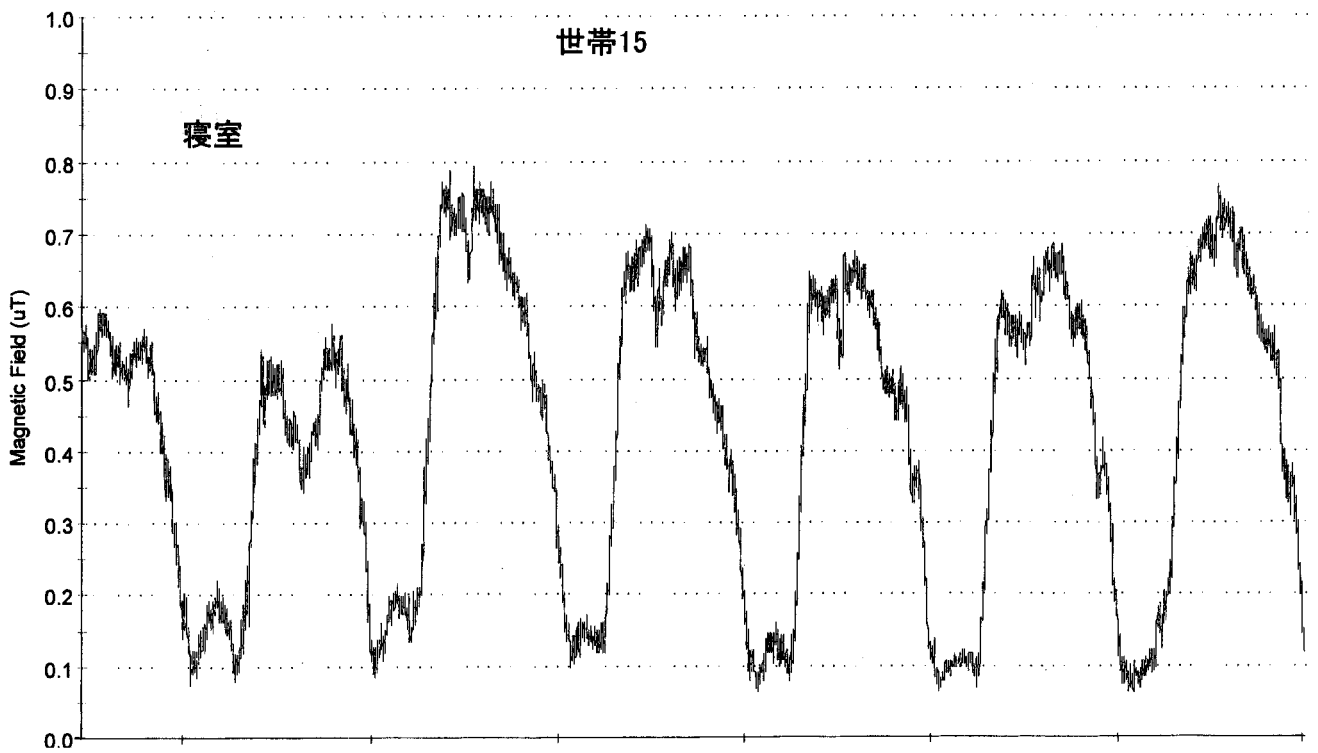


図37 同一世帯の寝室と居間の磁界レベルの比較

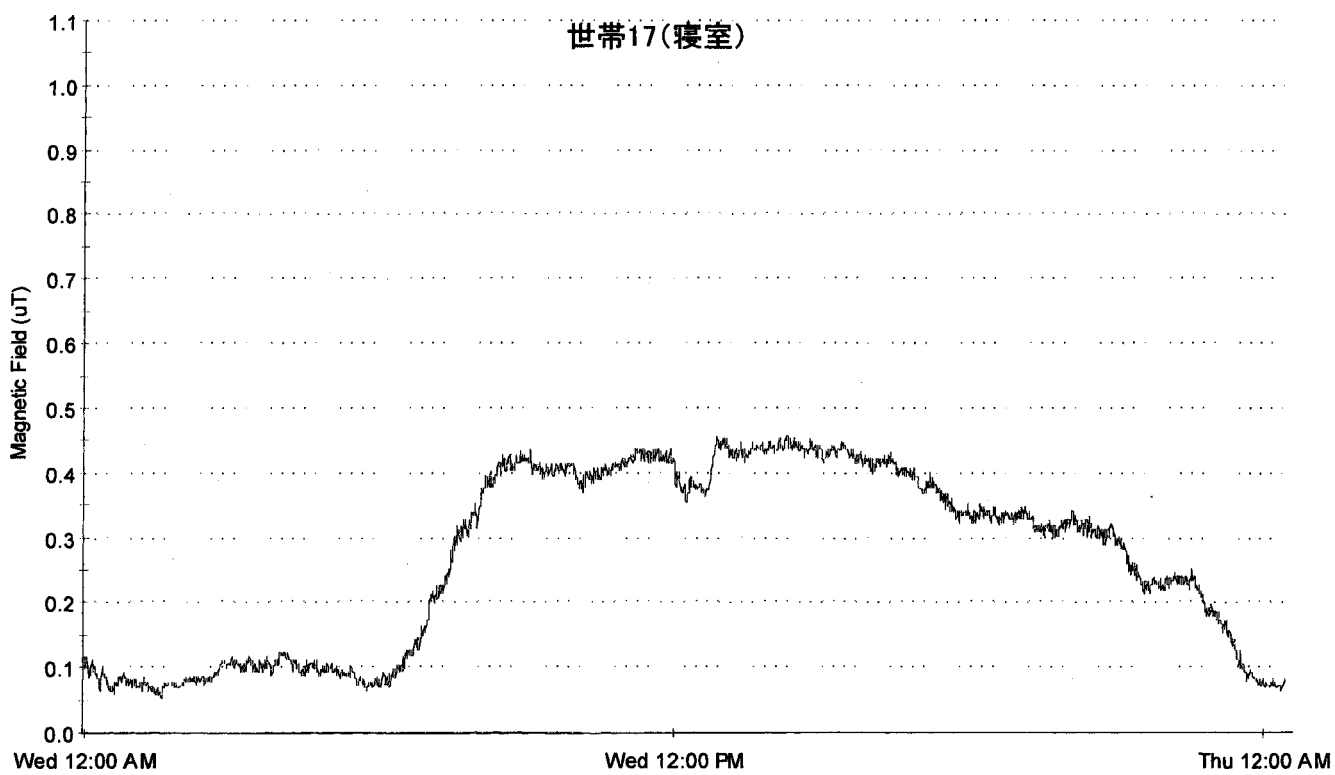
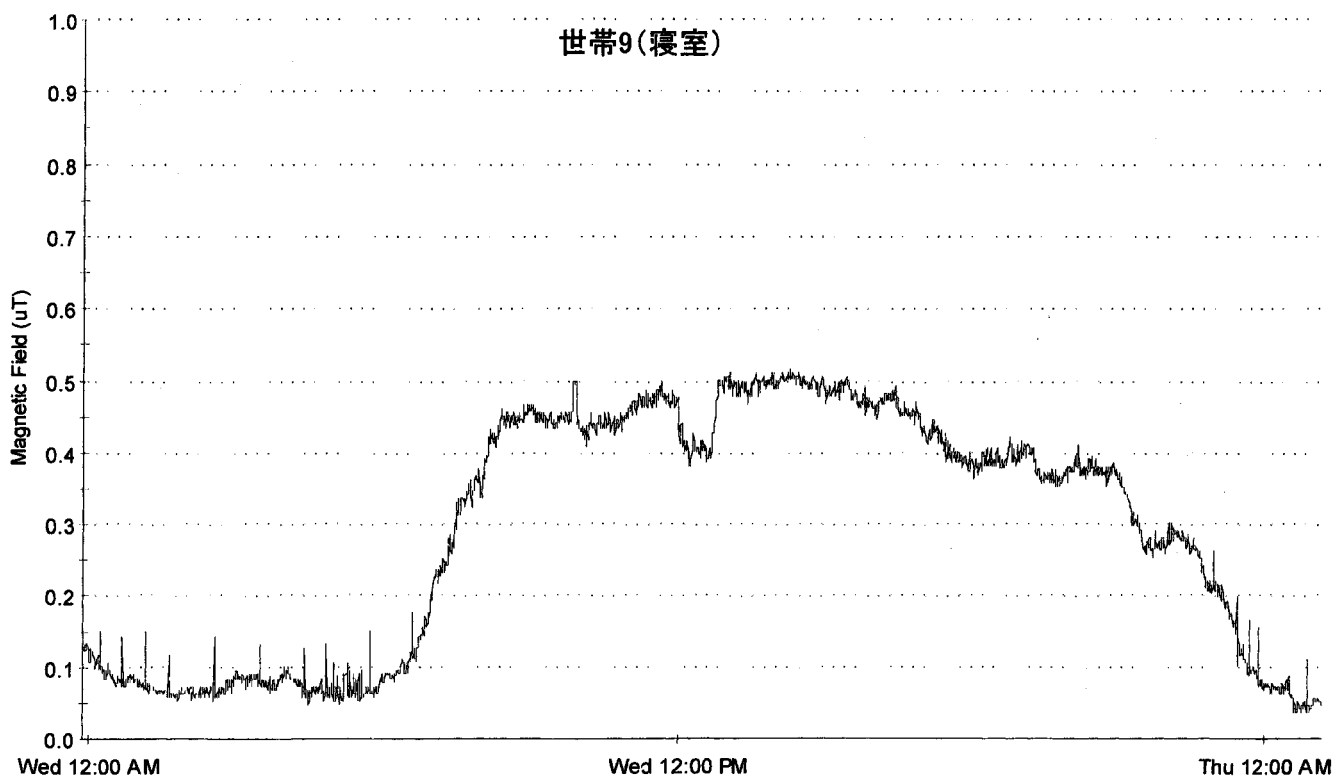


図38 異なる世帯での寝室の磁界レベルの比較

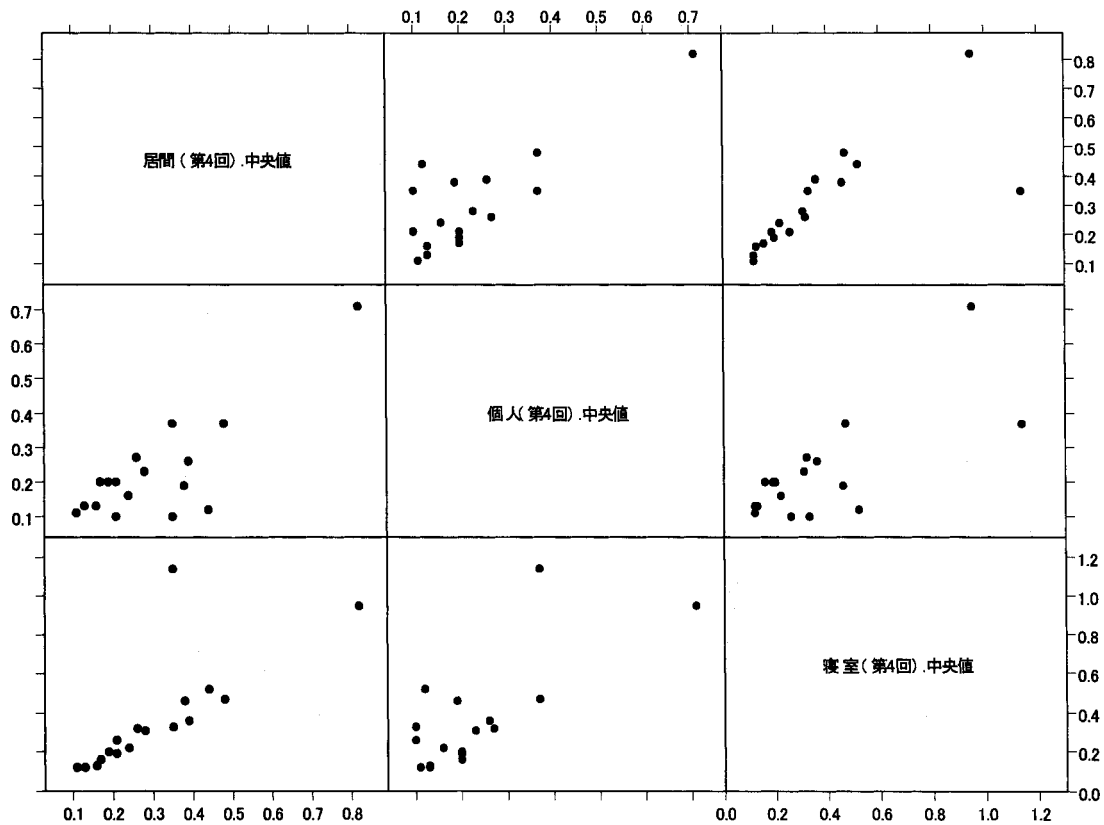


図39 寝室，居間，および個人暴露レベル1週間中央値の相関（第4回調査）

2.4 まとめ

超低周波電磁界の健康影響をはじめて疫学研究によって示唆したのは、1979年のWertheimerとLeeperによる米国デンバーでの研究報告であった。それは送電線の近くに住む子供では白血病発症リスクが増加しているのではないかというものであった。これは発表時点では大きな話題にはならなかったが、1988年にはSavitzらが、また1991年にはLondonらが同様の調査研究を報告した。さらに、1993年にスウェーデンのカロリンスカ研究所のFeychtingとAhlbomが大規模な疫学研究で同様の結果を報告したことから世界的な関心を持たれるようになった。この研究は従来安全と考えられていたレベルより数段低いレベルでの影響を示唆したものであった。これまで得られている知見のうち、ポジティブな結果を示しているものの多くは疫学研究によるものである。特に、送電線近傍の居住者への電磁界暴露および職業暴露における白血病などがんの増加に関する研究が最も多く、また議論を呼んでいるものである。

これらの議論のほとんどは、疫学自体の方法論上の問題と電磁界の疫学研究固有の問題に分けることができ

る。このうち、後者については、電磁界への暴露評価の妥当性、信頼性に関する問題が最も重要なものである。超低周波電磁界の健康影響に関する疫学研究では暴露評価のために、大きく分けて以下の4つの方法が採用されてきた。すなわち、1) wire codeと呼ばれる送電線、配電線、変圧器などからの距離によって、電磁界への暴露レベルをランク分けしたもの 2) 送電線等の発生源からの距離 3) モデルに基づく推計値 4) 実測（スポット計測）である。これらの暴露評価にしたがって、白血病等に関する相対リスクが示されている。wire codeで言えば、最も低い暴露ランクから最も高い暴露ランクに対応して白血病発症リスクが上昇するか否かが検討されている。先に紹介したFeychting and Ahlbomの報告のように wire code とスポット計測値とで結果に食い違いがみられるものがあり、大きな議論的となってきた。本研究での結果からみると、日内変動の大きさから考えて初期の疫学研究で採用されてきたような10分程度のスポット測定はほとんど意味がないことが明らかである。最近の研究では24時間程度の測定が実施されているが、これについても季節変動等を考慮して複数回の調査を実

施することが必要であると考えられた。Wertheimer と Leeper の最初の報告で採用された wire code については、送電線からの距離やモデル推計と同様に発生源からの距離が最も重要なパラメータとなっている。本研究でも送電線からの距離による磁界レベルの違いはかなり明確に示された。磁界レベルは調査ごとに変動していることから絶対的な比較については問題が残るが、疫学データの解析における相対的な比較には耐えるものと判断された。

生体まるごと電磁界を負荷する実験 (*in vivo* 実験) では、動物実験に関してはがんの発生率や神経学的・行動学的異常の発生率、内分泌機能の変化、生殖・次世代影響 (発生異常、奇形など) などがこれまで調べられている。ヒトの暴露実験では、暴露期間や暴露中の生体試料の採取に強い制限が課せられるため、自ずからその検証項目は限られ、大脳認知機能や電気生理学的指標 (脳波・心電図など)、内分泌機能などの急性変化を観察する研究にとどまっている。発がんのメカニズムに関して電磁界研究領域に特有の作業仮説である「メラトニン仮説」の検証は、*in vivo* 実験での重要な部分を占めている。現在までの *in vivo* 実験を総括すると、1) 動物においてがん (自然に発生するがん・他の発がん因子で誘発されるがん) の発生率に与える影響に関しては否定的なデータが優勢 2) 動物の生殖・次世代影響に関してはほぼ否定的 3) 動物およびヒトの電気生理学的データ、行動学的データに関して、再現性・一貫性・普遍性のある変化は認められない 4) 動物のメラトニン分泌に関しては、変化ありとする研究と変化なしとする研究が相半ばしており解釈困難 5) ヒトの血液中メラトニン濃度の変化はほとんど否定的、という結果である。メラトニン仮説に限って言うと、この仮説の2つの前提、すなわち生体内に分泌されているメラトニンが発がん抑制作用を発揮している可能性、および生活環境レベルの電磁界暴露で生体内のメラトニン作用が抑制される可能性のいずれについても、その状況証拠は現時点で希薄である。

本研究の結果についても、メラトニン仮説を支持する知見は得られなかった。心拍変動等の生理的指標に関しても本研究では影響を認めなかった。先行研究で影響を認めていた米国の研究グループも追試の結果を最近報告し、一部の結果を否定する報告を行っており、本研究での結果と一致していた。さらに、本研究では、WHO (国際保健機構) が電磁界の生体影響研究の優先課題として

いる高調波と呼ばれる倍数周波数成分やスイッチングなどによって発生するトランジェントと呼ばれる急激な変動成分の影響について検討を加えたが、これらの影響についても認めなかった。ただし、環境因子の健康影響に関して最も重要な問題、すなわち慢性暴露によって生体に変化が現れるかどうかについて、ヒト暴露実験で得られた短期暴露の結果はその直接の解答にはなりにくく、急性影響が現れることなく慢性的な暴露によって初めて影響が現れる可能性を本研究が否定するものではない。

細胞を用いた暴露実験 (*in vitro* 実験) では、多岐にわたる細胞機能の各側面から電磁界暴露の影響が検証されている。細胞の増殖・DNA 合成、あるいは染色体異常・DNA 鎖切断・突然変異の発生頻度に関しては、強い磁界暴露の場合に一部の研究で影響ありとする結果が得られているものの、通常の我々の生活環境レベルに近い強度の電磁界暴露の場合には否定的なデータがほとんどを占める。分子生物学的に見ても、各種がん遺伝子の発現や細胞内シグナル伝達の機能発現に電磁界暴露が影響を与えるというデータがいくつか存在するが、その観察された影響はほとんどの場合、再現性や一貫性 (暴露量・暴露時間・暴露因子の特性を変えたときの変化の向きがそろっていること)、普遍性 (細胞株・細胞種を変えた時の変化の性質がそろっていること) を認めにくい。

本研究ではある種の培養細胞で細胞増殖にかかわるメラトニンの作用に対して少なくとも $100 \mu\text{T}$ の磁界暴露が影響を与えることが明らかとなった。この実験については再現性もあり、我々の生活環境レベルに近い強度の電磁界暴露によって明らかに細胞増殖に影響がみられることを示した点で非常に重要な知見であると考えられる。しかし一方で、実験に用いた細胞株でのみで影響が見られているという特殊性があり、その生物学的機序が明らかになっていない現状では、超低周波電磁界の健康リスク評価の上で今回得られた知見も持つ意義は限定的であると考えられる。

我々は現在、多くの電気製品に囲まれ、電力を利用した生活をしている。言い換えれば、多様な電磁環境の中で生活している。このような電磁界への暴露をうけている人口は非常に多数にのぼり、示唆される健康影響が事実であれば、必要とされる対策が社会・経済に与える影響は計り知れない。本研究は超低周波電磁界の健康リスクに対して最終的結論を与えるものではないが、このような環境リスクの問題は単に影響のありなしというよう

な単純な見方ではなく、リスクの存在やその大きさをどのように人々に伝え、また人々がどのようにそれを受け入れて行くか、いわゆるリスクコミュニケーションやリスク認知などを含む広く環境リスク管理の問題として取り組む必要があると考えられる。

【謝 辞】

本研究にご協力いただきました皆様に感謝いたします。特に、ヒト暴露実験に参加していただきました被験者の皆様、ヒト暴露実験室の設計・製作に多大の貢献をいただいた C. Graham 博士および P. Doynov 氏

(Midwest Research Institute, 当時)、実験用細胞のご提供をいただきました R. Liburdy 博士 (Lawrence Berkeley National Laboratory, 当時)、ホルモンの測定にご協力をいただきました橋田誠先生 (宮崎医科大学生化学教室)、山田尚登先生および青木治亮先生 (滋賀医科大学精神医学教室)、統計解析に貴重なご助言をいただきました林邦彦先生 (群馬大学保健学部)、心拍変動解析をはじめとした各種プログラミングと御協力をいただいた黒河治久先生 (機械技術研究所)、長期間の暴露調査にご協力をいただきました対象者の皆様に深く御礼申し上げます。

I 研究の組織と研究課題の構成

1 研究の組織

[A 研究担当者]

地域環境研究グループ

上席研究官

兜 真徳

都市環境影響評価研究チーム

新田裕史・黒河佳香・今井秀樹・高橋慎司

水改善手法研究チーム

松橋啓介

バイオアッセイ環境リスク評価研究チーム

石堂正美

[B 客員研究員]

岡 敬三

(愛媛大学医学部)

(平成9～11年度)

定松 美幸

(滋賀医科大学医学部)

(平成9年度)

(聖路加国際病院)

(平成10～11年度)

古川 俊一

(東京大学医学部)

(平成11年度)

2 研究課題と担当者 (* 客員研究員)

2.1 ヒトを対象とした低レベル電磁界暴露実験

黒河佳香・今井秀樹・高橋慎司・新田裕史・岡 敬三*・古川俊一*・定松美幸*・兜 真徳

2.2 動物および培養細胞系を用いた低～高レベル電磁界暴露実験

石堂正美・黒河佳香・今井秀樹・岡 敬三*・兜 真徳

2.3 ヒト集団における暴露レベルと生理影響評価

新田裕史・松橋啓介・兜 真徳

II 研究成果発表一覧

1 誌上発表

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊行
兜 真徳	電磁界の健康影響を巡る研究動向について	生活と環境	42(3)	62-65	1997
兜 真徳	電磁波は健康に害をおよぼすか?	Newton	17(4)	62-67	1997
兜 真徳	超低周波電磁界はヒトのメラトニン代謝に影響するか	電磁環境工学情報	(106)	95~97	1997
兜 真徳	電磁界と健康 —「メラトニン仮説」を中心に—	NHS研ニューズレター	(5)	2-5	1997
兜 真徳	電磁波の人体への影響	栄養と健康のライフサイエンス	3(1)	68-72	1998
兜 真徳	電磁場の発がんリスクについて	癌の臨床	44(12)	1474-1478	1998
新田裕史	電磁界と健康	産業衛生学雑誌	40(4)	A 81	1998
新田裕史	電磁界・電磁波による健康影響	安全工学	38(1)	2-8	1999
兜 真徳	我が国も今年度から全国規模の疫学調査 電磁界の健康影響に関する疫学調査の展望と国際動向	月刊地球環境	30(9)	4-9	1999
兜 真徳	電磁波と小児がんと関連に関する疫学研究の動向	電磁環境工学情報 EMC	(141)	138-141	2000
黒河佳香, 新田裕史	超低周波電磁界と健康影響	土木学会誌	85(3)	38-40	2000
Ishido M., Kurokawa Y., Nitta H., Kabuto M	Magnetic fields of less than 100 μ T affect melatonin-induced inhibition of adenylyl cyclase pathway in human breast cancer cells	(投稿中)			
Kurokawa Y., Nitta H., Imai H., Kabuto M.	Acute Effects of 50 Hz Magnetic Field Superimposing Harmonics and Transient Components: Effects on Night-time Hormonal Secretion in Men.	(投稿中)			

2 口頭発表

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
Kurokawa Y., Imai H., Nitta H., Kabuto M.	Acute Effects of 50 Hz Magnetic Field on Heart Rate Variability in Humans at Awakening State	20th Annual Meeting of Bioelectromagnetics Society	Florida	10.6
Nitta H., Kurokawa Y., Imai H., Kabuto M.	Temporal Variability of Residential Magnetic Fields in Tokyo	10th Conference of The International Society for Environmental Epidemiology 8th Conference of The International Society of Exposure Analysis	Boston	10.8
新田裕史, 黒河佳香, 今井秀樹, 兜 真徳	居住環境中の超低周波電磁界レベルの長期測定結果について	第57回日本公衆衛生学会総会	岐 阜	10.10
黒河佳香, 今井秀樹, 新田裕史, 兜 真徳	電気敷布に由来する超低周波電磁場の生体影響	第69回日本衛生学会総会	千 葉	11.3
黒河佳香, 今井秀樹, 新田裕史, 兜 真徳	超低周波電磁場のヒトへの急性影響に関する暴露実験(その1)	第72回日本産業衛生学会	東 京	11.5
Kurokawa Y., Imai H., Nitta H., Kabuto M.	Acute Effects of 50 Hz Magnetic Field on Heart Rate and Cognition/Performance Tests in Humans	21th Annual Meeting of Bioelectromagnetics Society	Long Beach, California	11.6
Ishido M., Kurokawa Y., Nitta H., Kabuto M.	Characterization of subtypes of melatonin receptors in magnetic fields (MF)-sensitive MCF-7 human cultured breast cancer cells	21th Annual Meeting of Bioelectromagnetics Society	Long Beach, California	11.6
石堂正美, 新田裕史, 兜 真徳	メラトニンのヒト乳癌由来細胞に対する細胞増殖抑制効果とその情報伝達機構	第58回日本癌学会総会	広 島	11.9
新田裕史, 黒河佳香, 今井秀樹, 兜 真徳	送電線周辺家屋内の超低周波電磁界レベルの測定結果について	第58回日本公衆衛生学会総会	大 分	11.10
兜 真徳, 黒河佳香, 新田裕史	生活環境中電磁界への暴露実態—東京と沖縄の児童について	日本リスク研究学会第12回研究発表会	東 京	11.11
黒河佳香, 今井秀樹, 新田裕史, 兜 真徳	超低周波電磁場のヒトへの急性影響に関する暴露実験(その2)	第73回日本産業衛生学会	北九州	12.4
Kurokawa Y., Imai H., Nitta H., Kabuto M.	Acute effects of Low Frequency Magnetic Field on Nighttime Blood Hormones and Blood Cells in Humans	22th Annual Meeting of Bioelectromagnetics Society	Munich	12.6
Kurokawa Y., Imai H., Nitta H., Kabuto M.	Effects of 50 Hz Magnetic Fields (MF) on Melatonin 1A Receptor Signaling in MF-Sensitive MCF-7 Cells	22th Annual Meeting of Bioelectromagnetics Society	Munich	12.6

REPORT OF SPECIAL RESEARCH FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所特別研究報告

SR-35-2001

平成13年1月31日

編 集 国立環境研究所 編集委員会

発 行 環境庁 国立環境研究所

〒305-0053 茨城県つくば市小野川16番2

電話 0298-50-2343 (ダイヤルイン)

印 刷 前田印刷株式会社筑波支店

〒305-0033 茨城県つくば市東新井14-3

Published by the National Institute for Environmental Studies

16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-0053 Japan

January 2001

本報告書は再生紙を使用しています。