

電磁界の生体に及ぼす作用についての研究

Research on the biological effects of the electromagnetic fields

- 代表研究者 友愛クリニック医科学研究部研究員・医師 仙頭 正四郎
Res. Fellow, Dept. of Medical Sci. Res., Yuai Clinic
Seishiro SENTO
- 協同研究者 東京医科歯科大学医学部公衆衛生学教室教授 高野 健人
Prof., Dept. of Public Health & Environmental Sci., Tokyo Medical and
Dental Univ.
Takehito TAKANO
- 農林水産省森林総合研究所生物機能開発部主任研究員 宮崎 良文
Senior Res., Laboratory of Biological Activity, Forestry and Forest
Products Res. Inst.
Yoshifumi MIYAZAKI

In a modern life, the usage of the electromagnetic fields (EMF) is more and more increasing in various fields including daily lives. Therefore, the biological effects of EMF and its safety are becoming important questions from the aspects of the occupational health as well as public health. Although the growing number of studies on the effects of EMF are providing various findings both epidemiologically and experimentally, our knowledge is still too few to answer these questions satisfactorily. In this report, the effects of EMF (940 MHz, 26-14 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$) were experimentally examined on 1) the rabbit renal tubules cell suspension, 2) the frog sartorial muscle, and 3) the perfused rat liver.

As for rabbit renal tubules cell; the oxygen consumption rate reversibly increased after 20-40 minute exposure to EMF (26 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$). The content of calcium tended to decrease after 40 minute exposure, however the contents of potassium was not affected. With microscopy and electron microscopy, no apparent morphological changes were observed after exposure to EMF for 40 minutes. As for frog sartorial muscle; resting membrane potential showed hyperpolarization after 40 minute exposure to EMF although it's difference was mostly not statistically significant. In the 2 typical cases which showed statistically significant difference, the hyperpolarized membrane potential was recovered after an period of non-exposure and repeatedly hyper-polarized after re-exposure. As for perfused rat liver; there was no apparent change in oxygen consumption monitored as the concentration of oxygen in the effluents during exposure to EMF for up to 40 minutes.

Oxygen consumption rate represents the condition of an overall cellular function. The change in the oxygen consumption rate in the renal tubules cells is, therefore, indicating that EMF exposure affects any part/s of the cellular functions. The most likely site of the action is suggested as an ion transport mechanism of the membrane although we could not confirm that in this study. The change in the resting membrane potential of the frog muscle fiber can be also taken as an example of EMF effects on the ion movement through the membrane. As a conclusion, the results in this study provided other evidences that the exposure to EMF affects the cellular functions in some way, however, more studies are necessary to elucidate mechanism of the effects and it's functional meaning to a living body.

研究目的

電磁界は環境中に存在する物理的要因として近年特にその重要性を増している。電磁界の発生源として例を挙げれば、古くからよく知られている電波通信は、近年の衛星通信やパーソナル無線の普及によりさらに急増し、新たなものとしては、家庭における電子レンジのほか、オフィスや一般家庭に急速に普及したワープロ、パソコンなどのテレビ型表示装置 (VDT) などのほか、リニアモーターカーの開発、診断治療機器等、電磁界発生の源はもはや枚挙に暇がないほど溢れている。このように、現代社会における電磁環境の意義は、その場所や領域を問わず普遍的に増大しているといわざるをえない。

電磁界の生体影響については、従来から、神経・筋などへの刺激作用、ジュール熱による熱作用の二つに大きく分けて扱われることが多いが、そこで扱われる現象と電磁気的作用との因果関係、また生体に及ぼす直接作用と間接作用との関連などについては必ずしも明確にされてはいない。

疫学的調査によると、電磁環境と悪性腫瘍、ことに神経腫瘍、骨髄性白血病などとの関連が示唆されているが、電磁界への曝露を定量的に把握することがむずかしく、直接の因果関係を立証するには至っていない (D. A. Savitz and E. E. Calle, *J. Occup. Med.* 29, 1987)。日常生活の場における特定の対象として、電子レンジや VDT が取り上げられることが多い。電子レンジではマイクロ波の照射強度と致死影響の関係などが明らかにされつつあるが (安齊, 日衛誌, 42, 昭 62 年), 詳細なメカニズムの報告はない。VDT は疫学的に盛んにデータが採られているが、報告者により結果の傾向はまちまちである。実験的手法による研究では、特に超低周波のもつ治療的効果が骨組織 (S. E. Kold *et al.*, *Equine Vet. J.* 19, 1987), 再生肝組織 (V. Ottani *et al.*, *J. Anat.* 139, 1984) などで知られている。そのほか、DNA 合成 (K. Takahashi *et al.*, *Experimentia*, 43, 1987) 培養腫瘍細胞 (J. L. Phillips *et al.*, *Internat. J. Rad. Biol.*, 49, 1986) 等に対する *in vitro* での研究や、動物の行動に及ぼ

す影響の研究 (K. Rudolph *et al.*, *Physiol. Behav.*, 35, 1985) など、種々のレベルにおける報告があり、何らかの作用を有することが強く示唆されているが、本態の解明には至っていない。

このように、電磁界が環境中に急増し、疫学的調査などにより生体に対する悪影響を示唆するデータも報告されるなどの状況下において、電磁気的生体作用や安全性について種々の実験、研究が行われているが、正確な生体影響やその機序について、今のところ統一された確かな見解は得られておらず、労働衛生や環境衛生の立場から関心や懸念が高まっている。

本研究では、環境保全と近代技術共存の立場から、電磁界の安全基準策定などに資するために、実験的手法を用いて生体の種々のレベルにおける電磁界の影響を明らかにし、電磁界の安全性あるいはリスクの評価のための基礎的な情報を提供することを目的としている。

研究経過と成果

助成期間中に、下記の方法に従い、(A) 白色家兎遊離腎尿細管細胞における電磁界曝露の影響、(B) カエル縫工筋静止電位に及ぼす影響、(C) ラット灌流肝臓の酸素消費における影響の基礎実験、の各項目について実験を行い、結果を得た。以上の標本は、異なる臓器における影響を見ることの意義の他に、(A) は細胞レベル、(C) は組織レベル、(B) は両者の中間の立場にある標本として位置づけることもできる。以下、方法に続き、各項目の結果について述べる。

方 法

A. 家兎腎尿細管細胞浮遊液標本

1. 腎尿細管細胞の調製

実験動物として、体重 3~4 kg の家兎 (日本白色種) を用いる。以下に記述する方法の概略図を Fig. 1 に、また、solutions A~D の組成を Table 1 に示す。

耳静脈よりヘパリンナトリウム塩 (2000 IU), 20 分後にペントバルビタール (10 mg/kg b. w.) を投与し、麻酔を行った。麻酔の維持は経気道的に与えたジエチルエーテルによる。仰臥位に固定し、腹部正中線で開腹し、腎臓、下行大動脈、下

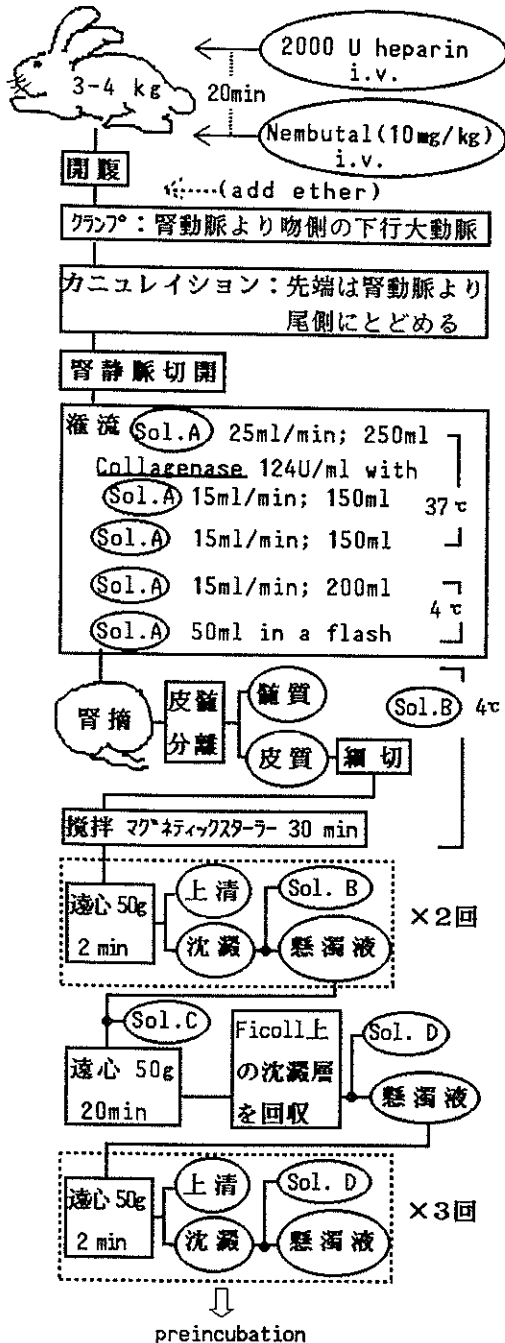


Fig. 1. 腎尿管細胞浮遊液調製法

Table I. Experimental solution. (mM unless otherwise noted)

	Sol. A	Sol. B	Sol. C	Sol. D
Osmolarity (mOsm)	325	295	295	295
PH	7.4	7.4	7.4	7.4
NaCl	115	140	136	115
NaHCO ₃	2	—	—	15
NaH ₂ PO ₄	2	2	2	2
KCl	5	5	5	5
CaCl ₂	1	—	1	1
BaCl ₂	—	1	—	—
MgCl ₂	—	1	—	—
MgSO ₄	1	—	1	1
Glucose	5	—	5	5
Lactate	4	—	4	4
Alanine	1	—	1	1
Dextran T-40	0.6%	—	0.6%	0.6%
Na-Glutamate	—	—	—	5
Na-Malate	—	—	—	5
Valerate	—	—	—	1
Na-HEPES	—	10	4	10
Mannitol	25	—	—	—
Ficoll	—	—	25%	—

大静脈を直視下に置く。右腎動脈と左腎動脈の間の位置で下行大動脈を、下大静脈とともにペアンでクランプする。先端が左腎動脈の分岐部よりも尾側に留まるように下行大動脈からカニューレを挿入、固定し、左腎静脈と下大静脈に切開を入れ、灌流を開始する。局所灌流が確保されればペントバルビタールを耳静脈よりワンショットで投与し、安楽死させる。

灌流液は 95% O₂, 5% CO₂ 混合ガスで飽和され、定流量ポンプより、カニューレを通して腎動脈に送られる。Fig. 1のごとく、まず 37°C で一連の灌流を行い、collagenase で結合織を分解する。次に、以後の分離の過程の低酸素状態による細胞の機能障害を抑えるために、4°C の灌流液で cooling を行う。

腎臓を周りの組織より取り出し、氷冷した solution B (Barium solution) の中で、皮質と髄質とを分離させる。Solution B はカルシウムを含まない。分離した皮質組織をさらに細切し、4°C で 30 分間攪拌する。3 層のガーゼで濾過したのち遠心機にかけ (50 g, 2 min)、上清を除き、沈殿に

solution B を加え懸濁液とする。遠心以下の操作をもう一度行う。次に Ficoll (25 %W/V) を含む solution C を用いて、50 g, 20 min で、密度勾配遠心を行い健常な細胞のみを取り出す。これに solution D (normal solution) を加え懸濁液とする。この懸濁液を1層のガーゼで濾過した後、遠心 (50 g, 2 min), 洗浄を3回行い、氷水温度で保存する。使用前に 95% O₂, 5% CO₂ を供給しながら 37°C で 10-20 分間 preincubation を行って実験に供する。

2. 蛋白質の測定

蛋白質の測定には、ビュレット法 (A. G. Gornall *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 177: 751, 1949) を用いた。試料溶液 1 ml にビュレット試薬 4 ml を加え、よく混合し、室温 (25°C) に 30 分間放置後 540 nm で吸光度を測定した。盲検には試料溶液のかわりに水 1 ml をビュレット試薬に加え同様の操作を行ったものを用いた。

3. 酸素消費率の測定

37°C に保たれた約 2 ml 容量の閉鎖型キュベット内の酸素分圧を、クラーク型複合電極 (O₂ モニタープローブ: YSI-5331) を用いて経時的に測定し、ペンレコーダによって描いた酸素分圧曲線から酸素消費率を算出し、溶液の蛋白質測定値で除し、QO₂ (nmol O₂/min/mg protein) を求めた。

4. 細胞内カルシウム含量の測定

1~2 ml のサンプルを 20 ml の Barium solution (腎尿細管細胞調製法の solution B と同じ) にいれ、38 g で遠心する。沈殿に 1 ml の Barium solution を加え、懸濁液としたのち、フタル酸混合液 (2:1=di-*n*-butyl:di-octyl phthalate) 400 μ l 上に注ぎ 10000~14000 g で遠心にかける。フタル酸と共に上清を吸い取り、14% 過塩素酸 (含 1 mM EDTA-Na) 150 μ l を加えて沈殿をよくかき混ぜて再度遠沈し、上清を塩化ストロンチウム溶液で適度に希釈の後、原子吸光光度計 (島津製作所 AA-625-01) にて濃度を測定した。沈殿の蛋白質を測定し、カルシウム含量 (ml/mg prot.) を算出した。

5. 細胞内カリウム濃度の測定

サンプルをフタル酸混合液 (2:1=di-*n*-butyl:

di-octyl phthalate) 400 μ l 上に注ぎ 10000~14000 g で遠心にかける。フタル酸を吸い取り、14% 過塩素酸 (含 1 mM EDTA-Na) 100 μ l を加えて沈殿をよくかき混ぜて再度遠沈し、上清を適度に希釈の後、原子吸光光度計 (島津製作所 AA-625-01) にて濃度を測定した。沈殿から蛋白質を測定し、カリウム含量 (nmol/mg prot.) を算出した。

6. 組織学的観察

生標本をメチルブルーで染色し、細胞の健全性を調べた。通常の方法にて、固定標本にヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施して光学顕微鏡で、また EPON 包埋標本を電子顕微鏡にて、それぞれ形態の観察を行った。

B. カエル縫工筋摘出標本

実験にはトノサマガエル及びウツガエルを用いた。材料とした筋肉には、電磁界の指向性に対する考慮から、筋線維が筋の全長にわたって並行に配列している縫工筋を用いた。通常の方法で摘出した縫工筋資料を、外液組成による静止電位への影響を除くため、リンガー液 (NaCl: 102.6 mM, KCl: 1.01 mM, CaCl₂: 0.91 mM, NaHCO₃: 1.19 mM) に 1~2 hrs 浸してから実験に供した。細胞内記録には、3 M KCl を満たしたガラス管微小電極を用いた (電極抵抗 10 M Ω ~50 M Ω)。

C. ラット灌流肝臓

ラット灌流肝臓の調製法については、高野ら、日本衛生学雑誌, 38: 649-656, 1983 に詳しく述べられている。酸素電極により、灌流液 (effluent) 中の酸素分圧を経時的に記録し、電磁界曝露による影響を観察した。

D. 電磁界曝露

磁界発生装置としては独自に開発されたものを使用した。これは LC 発振回路により L 成分から発生する磁気を利用し、このような素子 5 個の組合せによる収束的な (いわゆる N 極性の) 合成磁界を取り出せるように工夫されたものである。曝露に用いた電磁界は 940 MHz で、強度は曝露部位で 26 μ W/cm² であり、一部 14 μ W/cm² も用いた。各実験で用いた曝露の様式は、結果の各項で述べる。

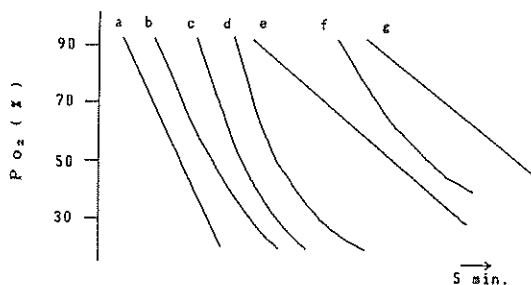


Fig. 2. An example of P_{O_2} monitoring curves after serial exposures to the electromagnetic fields (EMF) under various conditions in the renal tubules cell suspension. a: pre-exposure (after 15 min. pre-incubation), b: after 15 min. exposure to EMF, c: after 20 min. exposure, d: after 30 min. exposure, e: after 5 min. incubation without EMF, f: after 20 min. exposure to EMF, g: after 15 min. incubation without EMF.

結果と考察

A. 白色家兎遊離腎尿管細胞における電磁界曝露の影響

a. 酸素消費率

20 分間の preincubation に続き、 $26 \mu W/cm^2$ の強度で電磁界曝露を行った。曝露中、浮遊液は酸素の供給を受けながら $37^\circ C$ に保たれた。pre-incubation 後、および一定時間の曝露後、既述のキュベットに移し、電磁界の非存在下でキュベット内の酸素分圧の変化を経時的にモニターした。Fig. 2 にその一例を示す。一連の測定は、95% 酸素の飽和を繰り返すことにより単一標本を用いて行われた。グラフの傾きが酸素消費率に相当するが、曝露前 (a) はほぼ一定の安定した消費率を示している。同一標本に対し曝露を 15 分間行った後 (b) には著明な変化はないが、さらに行った 20 分間の曝露後 (c) には、曝露前と比較して、酸素消費率の増加が認められた。さらに行った 30 分曝露後 (d) でも、同様の高い消費率が認められているが、この変化は可逆的で、曝露を行わずに 5 分間のインキュベーションのみを行った後 (e) では、酸素消費率は低下した。さらに繰り返された、曝露 (f)、非曝露 (g) により、同様の変化が再現された。以上のことから、電磁界曝露によって腎尿管細胞の酸素消費率が増加する傾向にあり、そ

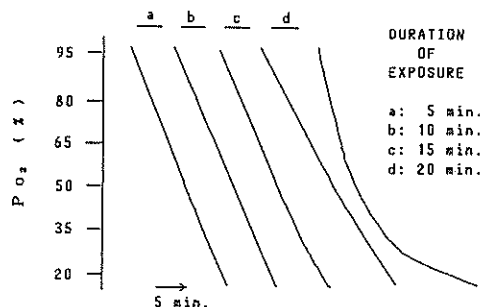


Fig. 3. An example of serial P_{O_2} monitoring curves after various duration times of exposure to the electromagnetic fields in the renal tuules cell suspension.

の影響は、可逆的で、かつ反復して認められることが示された。Fig. 2 における酸素分圧曲線を詳細に観察すると、曝露後の酸素消費の増加はモニター開始後 (すなわち曝露解除後) 徐々に鈍化し、やがて消費率はむしろ曝露前値よりも低くなるのがわかる。このような変化、特に、後半にみられる変化が電磁気的作用を直接反映しているのか、電磁気の影響から離脱して行く過程での変化を反映しているのかという疑問を明らかにすることはできなかったが、この特徴的な変化は電磁界曝露を中止することより、最終的には通常の直線的な酸素消費状態に戻ることが確認された。

次に、この酸素消費率増加は、曝露時間に依存することを示唆する結果が観察された。Fig. 3 にその一例を示した。5 分間から 15 分間までの曝露では酸素消費率の増加は認められず、むしろわずかに低下を示す傾向にあった。この低下傾向は、対照として、曝露を行わずにインキュベーションのみを繰り返した時にも同様に観察される現象であり、健常細胞の減少や、繰り返しインキュベーションを行う際の溶液の若干の希釈による影響と考えられる。これに引き続く 20 分間の曝露後、上述のような特徴的な変化が顕著に認められた。

曝露時間と作用の関係をさらに詳しく観察する目的で、次のようなデザインで実験を行った。15 ml の浮遊液標本を、95% 酸素を供給しながら $37^\circ C$ に保ち、 $26 \mu W/cm^2$, $14 \mu W/cm^2$ の各曝露

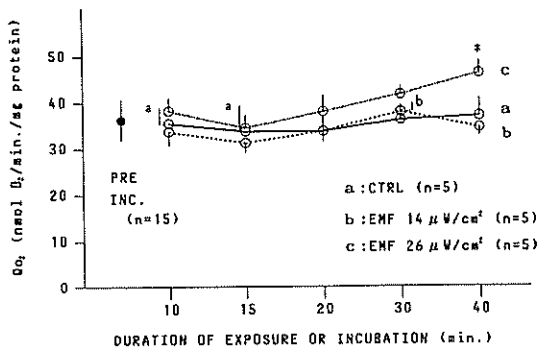


Fig. 4. A line graph illustrating the oxygen consumption (Q_{O_2}) under various durations of exposure to EMF and control incubation in the renal tubules cell suspension. Bar lines on symbols represent standard deviation. Asterisk indicates a statistically significant difference ($p < 0.05$, Student's t test) from the control value (a).

群、および非曝露群について、15分間の pre-incubation 後、曝露 10 分、15 分、20 分、30 分、40 分後に各々 2 ml ずつサンプルを採り、酸素分圧の変化を観察した。一度観察に用いたサンプルは元の浮遊液には戻さず、蛋白量を測定して、蛋白 mg 当たりの酸素消費率を算出した。pre-incubation 後の遊離腎尿細管細胞の平均酸素消費率は、 36.3 ± 4.3 nmol O_2 /min/mg prot. であった。Fig. 4 に示したように、非曝露群 (a: CTRL) ではこの値はほぼ変動なく、40 分後では、 36.9 ± 3.6 nmol O_2 /min/mg prot. であった。 $14 \mu W/cm^2$ の曝露 (b) では、非曝露群とほぼ同様の変化を示し、40 分後の値は 34.6 ± 1.5 nmol O_2 /min/mg prot. であった。 $26 \mu W/cm^2$ の曝露を受けた場合は (c)、20 分後から徐々に増加の傾向を示し、40 分後には 45.9 ± 2.7 nmol O_2 /min/mg prot. となり、非曝露群の値に対し統計学的に有意 ($p < 0.05$) な増加を示すに至った。

以上のように、 $26 \mu W/cm^2$ の強度の曝露を 20 分ないし 40 分続けた場合、酸素消費率が可逆的に増加する傾向のあることがわかった。酸素消費率は、細胞の全体的な機能を反映する指標と考えられ、電磁界の影響で細胞機能に何等かの影響を及ぼし、その結果として、酸素消費率に変化を来

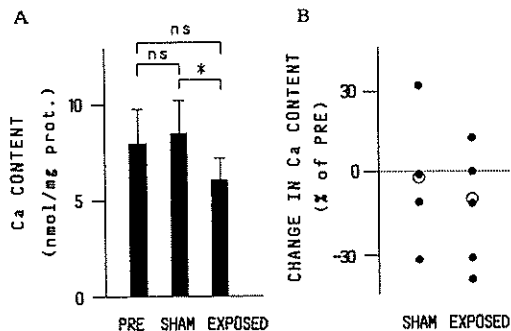


Fig. 5. Calcium content (A) and its change (B) by exposure to the electromagnetic fields in the renal tubules cell suspension. A: Lines on bars in A represent SD. The asterisk is indicating a statistically significant difference between sham and exposed ($p < 0.05$). B: The open circles in B represent the mean of samples indicated with dots. There is no statistically significant difference between the two groups.

していると考えられる。腎尿細管細胞においては、そのエネルギー代謝の大部分は、膜の能動輸送に費やされていると考えられており、さらに、荷電粒子にモーメントを与えるという電磁界の持つ物理的性質からいっても、電磁界の作用の詳細を解明する上で、イオン動態について検討することが重要であると考えられ、以下の実験を行った。

b. 細胞内イオン含量

腎尿細管細胞浮遊液を、95% 酸素を供給しながら $37^\circ C$ に保ち、まず 15 分後に 2 ml のサンプルを採り前値 (PRE) とし、曝露開始後 40 分後に再び 2 ml のサンプルを採り曝露後値 (EXPOSED) とした。非曝露標本 (SHAM) は、曝露の有無を除き、曝露標本と同様に、同時に実験を行った。

b-1. 細胞内カルシウム含量

曝露前 (PRE) の全サンプルの細胞内 Ca 含量の平均値は、 8.1 ± 1.7 nmol/mg prot. (mean \pm SD) であり、40 分後の非曝露群 (SHAM) と曝露群 (EXPOSED) ではそれぞれ 8.7 ± 1.5 , 6.2 ± 1.0 nmol/mg prot. であった (Fig. 5, A)。SHAM, EXPOSED とも、PRE の平均値との比較では統

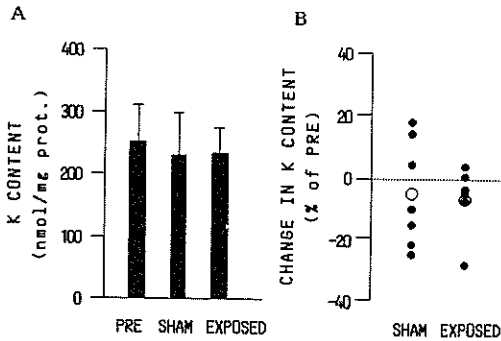


Fig. 6. Potassium content (A) and its change (B) by exposure to the electromagnetic fields in the renal tubules cell suspension. A: Lines on bars in A represent SD. B: Open circles in B represent the mean of samples indicated with dots.

計学的に有意な差はなかったが、SHAMとEXPOSEDの両者間には、有意差が認められ ($p < 0.05$)、曝露を受けた方が平均値として、カルシウム含量が低いことが観察された。サンプルによるばらつきを考慮して、個々のサンプルの各曝露前値を基準として、曝露後の変化率をみてみた (Fig. 5, B)。統計学的に有意な差ではないが、曝露を受けた方が、減少率が大きい傾向にあることが分かった (平均, SHAM: $-2.4 \pm 20\%$, EXPOSED: $-11.0 \pm 17\%$)。

b-2. 細胞内カリウム含量

細胞内カリウム含量は、PRE, SHAM, EXPOSED それぞれ、 250.5 ± 61.3 , 232.3 ± 66.9 , 234.4 ± 43.3 nmol/mg prot. で、どの群の間にも統計学的に有意な差は認められなかった (Fig. 6, A)。個々の曝露前値に対する各サンプルの変化率においても、SHAM, EXPOSED 間で有意な差は認められなかった (SHAM: $-5.1 \pm 16\%$, EXPOSED: $-6.7 \pm 10\%$, Fig. 6, B)。

以上のことから、本実験条件下における電磁界曝露の影響として、細胞内カルシウム含量は減少傾向を示すこと、細胞内カリウム含量には変化が認められないことが示された。Blackmanら (1985) は、電磁界によって脳組織からのカルシウムの流出が増強されることを報告しており、この影響が出現するためには、磁界の振動性 (oscilla-

tion) が必要であることを確かめている。本実験で用いた電磁界も、振動性の電磁界であり、この細胞内 Ca 含量の減少傾向は、この種の電磁界の生体影響を検討する上で、示唆に富む現象と考えられた。また、カリウムのほとんどが細胞質内にイオンの形で存在しているのに対し、カルシウムの大半が、ミトコンドリア内に蛋白と結合した形で存在しているという細胞内分布形態の差異を考えると、電磁界曝露に対するカルシウムとカリウムの動態の違いは、電磁界の作用を考察する上で今後さらなる検討に値する、興味ある点であると考えられた。

c. 光学・電子顕微鏡による組織学的形態

Preincubation 後、および、対照群・曝露群の各種時間後における生標本の観察では、メチルブルーに染色された細胞核は認められず、細胞膜に障害がなく実験条件の悪くないことが示された。Fig. 7, A に曝露後の一例を示した。尿細管の断端が溶液中に開口していることが分かる。対照群と比較して、曝露による顕著な変化は認められなかった。Fig. 7, B に、対照群の HE 染色によるパラフィン包埋切片の一例を示した。近位尿管の組織像に特に異常な所見はみられず、曝露群にも明らかな変化は認められなかった。同様に、電子顕微鏡レベルにおいても (Fig. 7, C)、40 分間までの曝露では、曝露、非曝露で異なる所見を認めることはできなかった。これらの結果から、今回の実験条件下での 40 分間程度の曝露においては、器質的な変化を来すほどの影響はなかったと結論づけられると同時に、上述のように、機能的に認められた変化が可逆的であることとも一致する所見である。電磁界の作用としていかなる場合でも可逆的であるのか、強度、曝露時間の増加により器質的な変化を生じるのかは今後の検討を要する課題である。いずれにしても今回の条件下では、細胞内器官、絨毛など、正常な形態が保存されており、適切な条件下で実験が遂行されたことを裏づける材料となると考えられた。

B. カエル縫工筋静止電位に及ぼす影響

筋肉細胞に及ぼす電磁界の作用について、ガラス管微小電極による細胞内記録法によって、カエ

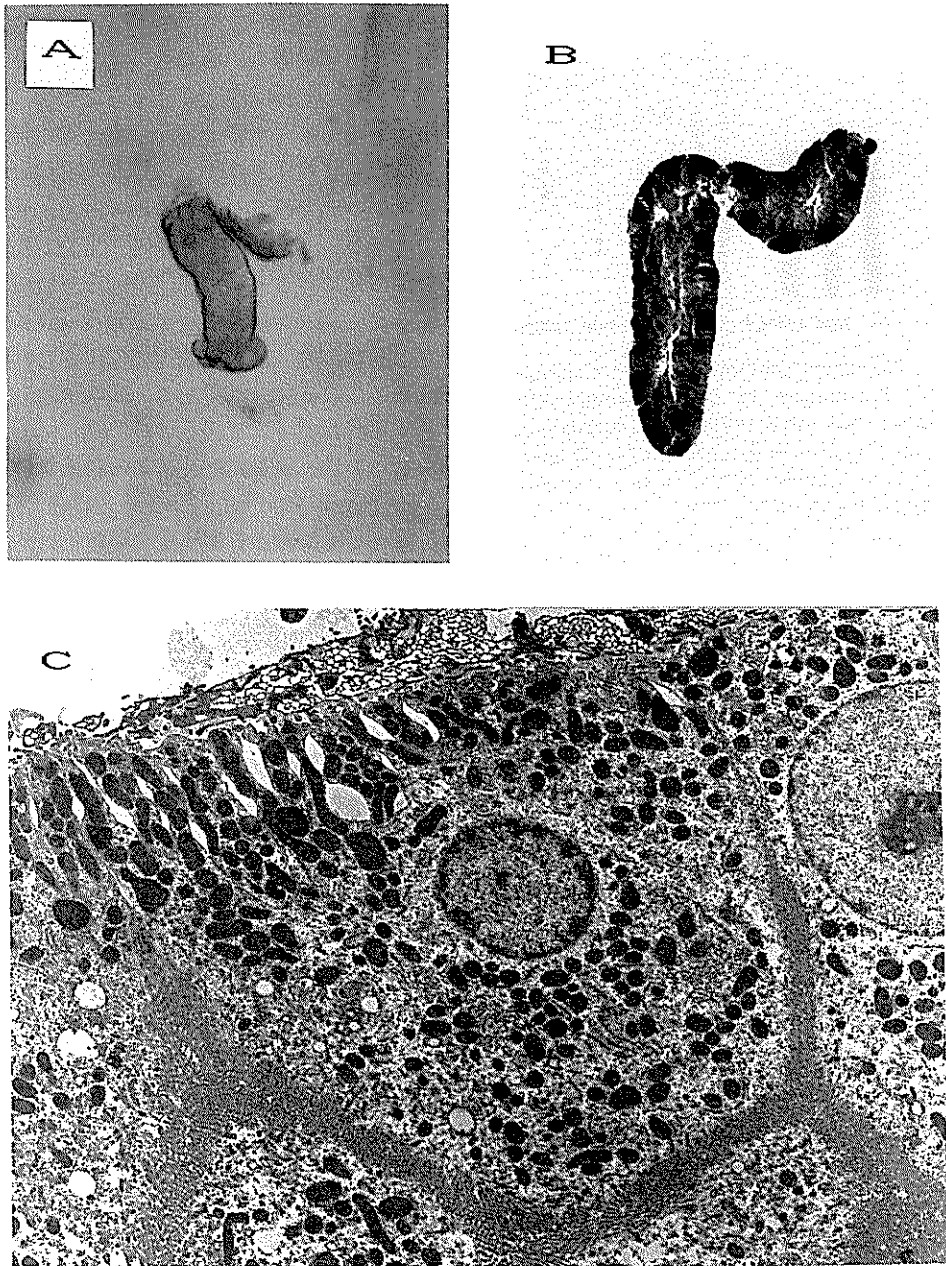


Fig. 7. Photomicrographs of a whole mount preparation (A) and a transverse section (B) and a electron micrograph of a cross section (C) of the renal tubules cells in the rabbit. A: A preparation exposed to EMF for 30 minutes. There was no cell stained with methyl blue. B: A control preparation fixed, sectioned, and stained with Hematoxylin-Eosin. C: A preparation exposed to EMF for 40 minutes. Any morphological changes were found between controls and preparations exposed to EMF.

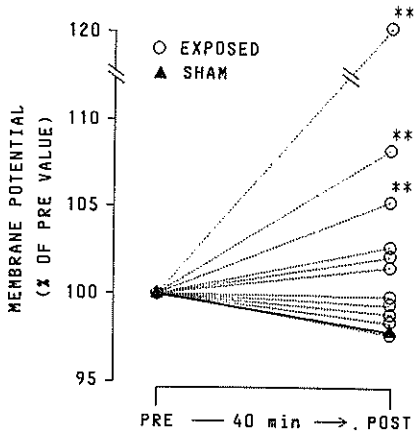


Fig. 8. A line graphs illustrating the change in resting membrane potential of frog muscles by an exposure to the electromagnetic fields. Each symbol represents an average DC recorded from more than 10 fibers in different muscle. ** is indicating difference of statistical significance ($p < 0.01$) tested with Student's *t* test.

ル筋細胞静止膜電位を測定した。曝露前後で各々10~12本の筋線維から測定を行い、平均値と標準偏差を求めた。40分間の曝露後の平均値を、曝露前の平均値に対する百分率で示したのがFig. 8である。11例の内8例は統計学的に有意な変化を示さなかったが、非曝露筋(▲で示した)に比べて過分極方向に向かう傾向を示した。有意な変化をみた3例では、過分極方向に約5%~20%の増加を示した($p < 0.01$)。この有意な変化を示した例のうち、非曝露時間において再び曝露を行った2例の膜電位変化をFig. 9に示した。40分間の曝露により、過分極方向に変化した膜電位は、曝露中止40分後には、有意に($p < 0.01$)低下してほぼ元の電位に近い値に戻り、再度の曝露により、再び3%~10%の増加を過分極方向に示した($p < 0.05$)。以上の結果から、全例に統計学的に有意にみられたわけではないが、電磁界により、カエル筋細胞静止膜電位は過分極方向に変化する傾向を示し、その影響は、可逆的であり、かつ回復して認められることが示された。理論的には、細胞膜静止電位が過分極した場合には、他の条件が変わらなければ、興奮閾値を上昇させることに

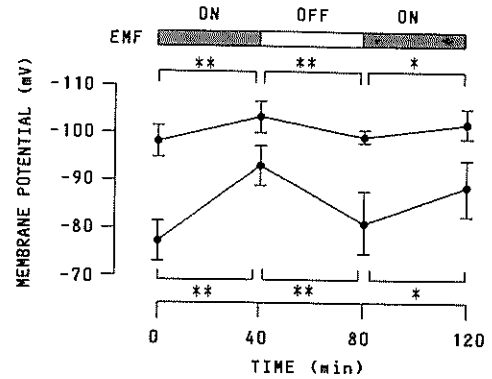


Fig. 9. Examples of changes in the mean resting membrane potential in frog muscles according to on-off of the electromagnetic fields. Bar line on each symbol is representing a standard deviation ($n=12$). Asterisks indicate statistically significant difference between the two values indicated by a bar tested with Student's *t* test (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$).

なり、この過分極傾向は、日常経験的に知られる磁気の筋肉に及ぼす自覚的効果と矛盾しないものであると考えられた。

4例において、静止膜電位を磁界曝露中に経時的に観察したが、明らかな変化を認めなかった。これは、上述の結果と矛盾する結果ではあるが、これについては今後実験を重ねる必要がある。

C. ラット灌流肝臓の酸素消費における影響

ラット灌流肝臓を、最長50分まで $26 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の電磁界曝露を行いながら、灌流液(effluent)中の酸素分圧を経時的にモニターしたが、今回の実験条件下では、肝臓全体の酸素消費に、検出できるだけの変化は認められなかった。肝臓細胞の磁気に対する反応の特性により影響がでなかったと結論づけるまえに、灌流肝臓の場合、他の二標本に比べて、標本の形態上、組織が緻密で厚いために、磁気の吸収特性などの要因の意義が高くなり、実際に影響を受ける細胞の比率が肝臓全体に対して小さかったことなど、いくつかの可能性が推測できるが、これらを検証するためにはさらに実験・研究を重ねることが必要であると考えられた。

今後の課題と発展

以上、本実験条件下での電磁界曝露による影響の観察結果をまとめると次のようになる。家兎腎尿細管細胞においては、酸素消費率の増加を認め、細胞内カルシウム含量は減少傾向を示し、カリウム含量には変化のないことを観察した。光学顕微鏡および電子顕微鏡による観察では、正常な形態が保たれており、電磁界による変化は認められなかった。カエル縫工筋においては、静止膜電位の過分極傾向が観察された。ラット灌流肝臓の酸素消費率に関して、電磁界曝露による変化は認められなかった。

今回の報告に用いた、腎尿細管細胞の電磁界曝露の実験デザインでは、酸素分圧のモニターは磁界曝露中止後に開始されているため、あくまで一定時間の磁気曝露に引き続く曝露停止直後からしばらくの間の状態を見ているにすぎないという認識が必要である。したがって、モニター初期には磁気による作用が残存し、時間経過とともにその影響が薄れていくという仮説に基づいて、観察された現象を解釈したが、今回の実験ではこの仮説について実証することはできなかった。また、今回の結果の中で、傾向を示しながらも統計学的に有為な変化を示さなかったものについて、このデザイン上の事情が、原因の一つではないかとも考えられる。今回変化を認めなかった指標について確かに変化なしと確認するためには、また、器質的な変化を来たさないような比較的微弱な電磁界強度のもとでの機能的な変化を観察するためには、ことに、磁界強度や曝露時間と反応との間の dose-response 関係などの定量的な考察を行うためには、さまざまな指標を、曝露と同時に経時的に観察できる実験デザインを開発することが今後の課題として重要であると考えられる。

筋肉組織、肝臓における実験では、統計学的に有意差をもつだけの変化を示す例が、遊離腎尿細管細胞に比べてさらに少なかったが、これについては、結果の項にも述べたように、吸収特性などの電磁界の物理的特性に関する検討を行う一方、磁界強度および曝露時間を増加させて実験を行うことが必要であると考えられる。今回の研究で

は、外挿の対象とした現実の状況が、偶発的に発生するような大強度の電磁界への曝露ではなく、日常生活環境の中で受けるような微弱な曝露強度にあり、それゆえ、比較的微弱な強度を実験条件として選択したわけであるが、今回得られた結果をさらに発展させるためには、電磁界強度を強くして無変化の上限を見極めるとともに、慢性的な曝露を被った際の変化について検討することが今後の課題となる。上述の細胞レベルでの観察が、電磁界曝露の作用機序についての情報を提供する方向性をもつとすれば、この臓器レベルでの観察は、作用機序はもちろん、さらに、作用発現のための定量的性質に関する情報を提供するものであると考えられ、安全域などの研究に資する方向性をもつものとして、重要な課題の一つと考えられる。

今回の報告で扱った結果は、いわば生理的な定常状態下、言い換えれば、静止状態とも表現できるような条件下における観察の結果であるといえる。これに対して、上述のような点について考慮しながら定常状態での確かな記述を増やす一方、今後本研究をさらに進める上での可能性としては、定常状態から、負荷状態への移行が挙げられる。すなわち、細胞・組織レベルで生体に作用する各種の薬剤の存在下、外液の組成の変化など人工的負荷環境下での観察、肝臓・腎臓細胞においては代謝産物の測定や、筋細胞においては、神経刺激下における張力など生理機能の測定・シナプスにおける電気生理学的考察など生理的活動状態下での観察など、種々の条件下での電磁界曝露の影響を多角的に観察することが必要となるであろう。これらの研究の成果により、電磁界の生体影響の作用機序の解明という点、および、その作用の生体にとっての生理的意義についての理解という点での両方向に向けての発展が期待できる。

学会発表

- 1) 腎尿細管細胞に及ぼす電磁界の影響 (2), 第 59 回日本衛生学会総会, 1989 年 5 月.
- 2) カエル筋細胞静止膜電位に及ぼす電磁界の影響, 第 59 回日本衛生学会総会, 1989 年 5 月.