

微生物を用いた中間周波磁界の変異原性評価

池畑 政輝* 中園 聡** 和氣 加奈子***
鈴木 敬久# 吉江 幸子* 早川 敏雄*

Evaluation of Mutagenicity by Exposure to Intermediate Frequency Magnetic Fields in *in Vitro*

Masateru IKEHATA Satoshi NAKASONO Kanako WAKE
Yukihisa SUZUKI Sachiko YOSHIE Toshio HAYAKAWA

In this study, we have investigated the mutagenic potential of intermediate frequency (IF; from 300Hz to 10MHz) magnetic fields (MFs), because the biological effects of IF MFs have not been studied sufficiently, although several technologies and equipments that generate IF MFs have already used at home and in industry field. We employed bacterial mutation assay (Ames' assay) and mouse lymphoma assay (MLA) as a battery of mutagenicity tests. Mutagenicity of exposure to IF MFs for 48 hours was examined in 2 and 20 kHz, up to 1.1mT that is over one hundred times higher than the ICNIRP international guideline. No mutagenic potential was visible in both mutagenicity tests under every test condition. These results suggest that IF MFs are unlikely to have mutagenicity.

キーワード：電磁界，安全性，遺伝毒性，中間周波，生物影響，発がん性

1. はじめに

環境中に発生している種々の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、特に極低周波域（主に商用周波数 50/60Hz）および高周波域（主に携帯電話使用帯域）に関しては、様々な研究がなされており、国際保健機関（WHO）も科学的知見の収集と評価を進めている。一方、中間周波帯（300Hz～10MHz）の電磁界については、鉄道車両用主変換器からの基本波由来の電磁界や、一般環境における電磁調理器、非接触ICカード、盗難防止装置、RF-IDなど、種々の機器・装置由来からの電磁界など、日常的に電磁界に曝露する機会が増加している。しかしながら、この周波帯に関しては、現状では人体防護を考慮した生物影響評価を行うために十分な実験データは蓄積されていない。そのため、中間周波数帯の電磁場について、実際に生物材料を用いた実験的な影響評価を進めることは、喫緊の課題であるといえる。本報告では、鉄道に関連した電磁界の生物作用と安全性評価研究の一環として、この中間周波数帯の電磁界の変異原性（発がん要因の一種）を評価した結果を述べる。

2. 電磁界の生物作用に関するこれまでの知見

1970年代後半の疫学調査による、微弱な商用周波変動電磁界への慢性的な曝露と小児白血症罹患リスクの上昇の相関関係の報告に端を発した電磁界の健康影響に対する社会の懸念は、各国の国家プロジェクトレベルで大規模に安全性を検証する研究が進められるに至った。更に、これに加えて1990年以降の携帯電話の爆発的な普及により、携帯電話利用時に携帯電話から発する電波（高周波電磁界）と脳腫瘍発症の関係などの健康影響が懸念されはじめた。これらの状況に鑑みて、WHOは1996年に0～300GHzの周波数帯の電磁界の健康への影響を評価するための国際電磁界プロジェクトを発足させた¹⁾。WHOのプロジェクト以前の研究も合わせると、低周波電磁界（0～300Hz）の中の商用周波磁界（50/60Hz）や、高周波電磁界（10MHz～300GHz）の中の携帯電話使用周波数帯（0.8～3GHz）の健康影響に関しては、日本、米国、欧州を中心に様々な規模での研究が進められ、多くの生物学的知見が蓄積されてきた。しかし、現在までのところ、生活環境での曝露強度の電磁界が健康に悪影響を及ぼすという科学的証拠は得られていない。これらの科学的な研究結果に基づき、電磁界の健康影響に関する知見を集約・評価するとともに、今後行うべき施策や研究に対する見解を示すために、WHOは電磁界に関する2つの環境保健クライテリア（静電界・静磁界；2006年²⁾、100kHz以下の変動電磁界；2007年³⁾）を発表している。

* 環境工学研究部（生物工学）
** （財）電力中央研究所
*** （独）情報通信研究機構
首都大学東京

特集：環境技術

一方、近年、RFIDタグ、非接触ICカードや電磁調理器等の新しい電気機器の普及が進み、それらの機器の利用が顕著に増加している。その結果、これまで注目されていなかった中間周波数帯の電磁界（300Hz～10MHz）の生物影響について、社会的関心が高まりつつある。しかし、この周波数帯の電磁界の生物影響、特に安全性についての実験的な科学的知見は、現在までほとんど報告されていない。

中間周波磁界の中間周波とは名前の通り極低周波帯と高周波帯の「中間」を意味しているが、その生物作用は、中間周波帯の中でも、周波数により大きく二つに分けられると考えられている。すなわち、100kHz未満の周波数帯は、低周波磁界と同様に刺激作用、100kHz以上の周波数帯は、高周波と同様に熱作用により生体に影響を及ぼすと考えられている。そして、ICNIRP（国際非電離放射線防護委員会）に代表される国際的なガイドライン⁴⁾が設定している中間周波帯の磁界の基準値は、実際のところ、上記低周波と高周波で得られている知見から「外挿」して、設定されたものであり、具体的な実験結果から設定されている訳ではない。これは、実際に中間周波数帯での生物実験がこれまで非常に少なく、参照すべきデータが不足していることに起因する。これらのことから、この「外挿」が適切であるか検証する上でも、中間周波電磁界の健康リスク評価に資する生物影響評価に関しての科学的知見の蓄積が望まれている。

3. 変異原性試験

3.1 変異原性試験の意義

本報告では、細菌・細胞を用いた試験管レベルでの変異原性（遺伝毒性）についての影響評価を取り上げるが、これは、健康リスク評価の様々なプロセスの最初に位置づけられる「有害性の確認」に寄与する。この「有害性」には致死作用を含めた明らかな毒性等が含まれるが、中でも遺伝毒性の有無の評価は特に重要である。遺伝毒性とは、物理化学的、もしくは生理的な要因等により細胞内の遺伝子やタンパク質が作用を受けた結果、本来その細胞が有する形質が変化する現象である。このような変化が起こった場合、個体レベルでは発がんや、遺伝病の原因、さらには発生異常（奇形発生）の原因となり得るため、慎重な評価が必要である。この遺伝毒性を評価するため、もっとも簡便な遺伝毒性の短期検索法として、遺伝子への作用の一つである突然変異を起こす能力（変異原性）を検出する「微生物を用いた復帰突然変異試験（エイムス試験）」や「マウスリンフォーマ試験（MLA試験）」が、広く用いられている。エイムス試験においては、塩基置換、フレームシフトなど、遺伝子の構成単位であるDNAの1～数個レベルでの損傷・変化により引き起こされるタイプの変異（点突然変異）を高感度で検出で

きる。一方、マウスリンフォーマ由来の培養細胞を用いるMLA試験では、点突然変異に加え数百～数万単位でのDNAの置き換えなどの染色体レベルの変異を高感度で検出することが可能である。この変異原性と発がん性の間には高い相関性があることが動物実験では確認されており、これらの試験は遺伝毒性を検査するための有用な方法として、医薬品や環境汚染物質、食品添加物の安全性評価に広く用いられている。

磁界の変異原性については、商用周波磁界（1mT以下）や高周波磁界の単独曝露ではこれまでに多くの研究が行われ、環境レベルの強度の磁界では明らかな変異原性は認められていない。一方、同様の方法で中間周波磁界の変異原性を検討した研究は殆ど無く、評価するためのデータが乏しいというのが現状である。

このような状況を踏まえ、本研究では、中間周波の電磁界の変異原性を評価した。



a.インキュベーター、b.曝露用平面コイル

図1 中間周波帯磁場曝露装置

3.2 材料と方法

中間周波帯の磁界を生物試料に曝露するため、非磁性の材料のみで構成した樹脂製の炭酸ガスインキュベーターを製作し、このインキュベーターと平面コイルを組み合わせた曝露装置（図1）およびヘルムホルツ型コイルを組み合わせた曝露装置を用いた⁵⁾。

変異原性の評価法として、上記のエイムス試験ならびにMLA試験を実施した。

エイムス試験は、厚生労働省の「化学物質の有害性調査制度」に基づき関係事業所等に義務づけられている制度の一つである「微生物を用いる変異原性試験」に準拠して実施した。試験法の詳細については、既報⁶⁾を参照

して頂きたい。試験菌株として、一般的に用いられているサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) 由来の TA1535, TA1537, 大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来の WP2 *uvrA* および、プラスミド pKM101 が導入されたサルモネラ菌 TA98, TA100 と大腸菌 WP2 *uvrA*/pKM101 を用いた。培養した菌液 (およそ 3000 万~1 億個の細菌) を変異原性選択用の寒天培地皿上に塗布し、磁界曝露群は曝露装置内に静置し中間周波磁界を曝露した。一方、対照群は磁界曝露群と同仕様で磁界を発生させない擬似曝露装置内に静置した。これらを 37°C にて 48 時間培養した後に、寒天培地皿上に出現した、突然変異を起こした菌体が増殖して可視化した塊 (変異体コロニー) を計数し、突然変異の出現頻度を求めた。中間周波磁界の曝露条件は、2kHz では 0.91mT, また 20kHz においては 1.1mT であった。これらは、現在、ICNIRP により、ガイドラインとして提案されている公衆の曝露制限値 (参考レベル) の 6.25 μ T と比較して、それぞれ、146 倍、176 倍であった。

MLA 試験は、マイクロプレート法にて実施した⁷⁾。マウスリンパ腫由来細胞である L5178Y *tk^{+/+} 3.7.2c* 細胞を馬血清を含む RPMI1640 培地を用いて培養後、 1×10^5 細胞/ml の細胞浮遊液を 5ml ずつ 3 本の培養フラスコに調整し、磁界曝露群、対照群、陽性対照群 (メタンスルホン酸メチル (MMS: 発がん物質) 処理) の 3 群に分けた。磁界曝露群は曝露装置内に静置し中間周波磁界を曝露した。対照群および陽性対照群は汎用の炭酸ガス培養器中で培養した。培養条件は各々 37°C, 5% CO₂ であった。48 時間培養 (24 時間後に一度継代) した後、生細胞数測定用の培養皿および抗生物質 5-trifluorothymidine (TFT) への抵抗性を指標とした突然変異検出用の培養皿を 4 枚ずつ作製し、汎用炭酸ガス培養器中でさらに 2 週間培養した。培養後、生存率ならびに突然変異頻度を求めた。中間周波磁界の曝露条件は、インキュベーター底部に置いた培養用フラスコの底面で、周波数 2 および 20kHz, 磁界強度最大約 0.8mT とした。これは、ICNIRP ガイドラインと比較して、およそ 128 倍の強度である。また、フラスコ底面での磁界の強度分布は最大値に対して -10% 以内であった。磁界強度を最大とした時、フラスコ底面の細胞面に誘導される電界は、曝露に使用した細胞用培地 (RPMI1640) の実測による誘電率をもとに、最大 2.7V/m であると推定された。

4. 結果および考察

4.1 エイムス試験の結果

最高 1.1mT の強い磁界 (ICNIRP 参考レベルの約 180

表 1 2kHz, 0.91mT でのエイムス試験の結果

	変異体コロニー数				P 値
	対照群		磁界曝露群		
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	
サルモネラ菌					
TA98	14 ±	2	15 ±	1	0.786
TA100	64 ±	1	68 ±	2	0.647
TA1535	8 ±	1	8 ±	1	0.781
TA1537	6 ±	1	7 ±	0	0.705
大腸菌					
WP2 <i>uvrA</i>	33 ±	1	34 ±	3	0.794

倍; 20kHz) を用い、それぞれの菌株で独立した 3 回以上の試験を行った。2kHz, 0.91mT 曝露条件での試験結果を表 1 に示すが、対照群と曝露群のコロニー数に大きな差異は無く、また統計的な有意差も見られなかった。したがって、中間周波磁界の変異原性は確認できなかった。また、20kHz で 1.1mT の曝露条件でも、同様の試験を実施したが、2kHz と同様に変異原性は確認できなかった。したがって、本研究で検討した中間周波磁界は、エイムス試験で検出できる突然変異を誘発する能力を持たないことが示された。

4.2 MLA 試験の結果

磁界強度 0.8mT, 周波数 2 および 20kHz の条件で MLA の実験を各 6 回以上繰り返し行った。各群における生存率と TFT 耐性変異コロニーの出現頻度を比較したところ、対照群と磁界曝露群の間には生存率および TFT 耐性変異の出現頻度いずれも有意な差異は見られなかった。一方、陽性対照群では対照群と比較して、有意な生存率の低下と TFT 耐性変異の出現頻度上昇が観察された。典型例として、2kHz, 0.8mT での生存率を図 2 に、また突然変異の出現頻度を図 3 に示す。さらに、磁界強度を 0.4mT に下げて曝露した場合も、結果は 0.8mT と全く同様であり、対照群と磁界曝露群の間に生存率ならびに突然変異の出現頻度に差異は認められなかった。これらの結果から、本研究で検討した 2kHz ならびに 20kHz, 0.8mT までの中間周波磁界への曝露は、MLA で検出される種々の突然変異を誘発する能力を持たないことが示された。

4.3 考察

本研究で得られた結果は、20kHz までの中間周波磁界においては、ICNIRP ガイドラインの公衆の参考レベルと比較して 100 倍程度の磁界強度でも、明確な変異原性は無いことを示唆している。また、中間周波磁界による誘導電界を評価指標とした場合は、最大 2.7V/m 程度の誘導電界では、マウス培養細胞への変異原性は無いことが同様に示唆される。

しかしながら、中間周波数帯の生物影響を総合的に評

特集：環境技術

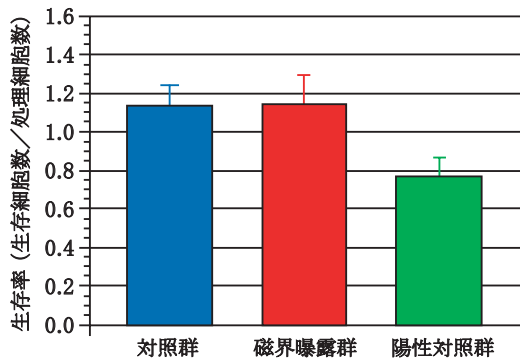


図2 2kHz, 0.8mT 磁界の MLA 試験における細胞の生存率

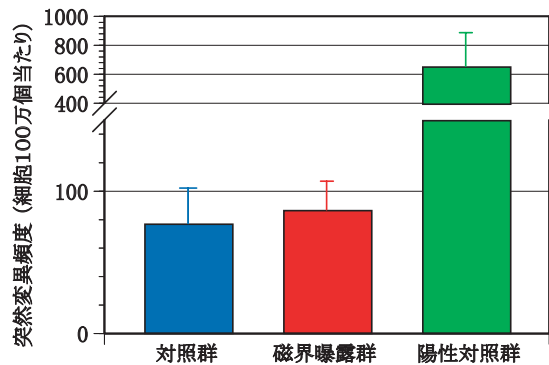


図3 2kHz, 0.8mT 磁界の MLA 試験による変異原性試験結果

価するためには、本報告で示したデータだけでは不足であることは否めない。総合的な安全性の評価に向け、基礎的な生物影響評価の試験による様々な角度からのデータ蓄積が重要である。

このことは、WHO が 2007 年に発刊した 100kHz 以下の変動電磁界に関する環境保健クライテリアの中でも勧告されており、なかでも中間周波帯電磁界など、安全性評価を行うためのデータが不十分な周波数帯域での電磁界の生体影響に関する研究の推進は、第 1 番目の項目として挙げられている⁸⁾。

今後、更なる技術の発展により、鉄道車両の走行性能の向上にもなる漏洩磁界や情報管理などのための電磁界利用などが進むにつれ、鉄道分野においても適切な電磁界の安全性評価がますます重要になると考えられる。

中間周波帯磁界の生物作用を解明することは、最終的には健康リスクの評価への寄与を目的としているが、本報告では、まず発がん性の評価として重要な変異原性に着目して基礎的な評価を行った。今後、安全性評価を行うための様々な変異原性評価試験ならびに生物影響評価試験を実施し、詳細な実験による評価を進めていきたい。

5. まとめ

2kHz で 0.91mT, 20kHz で 1.1mT の中間周波磁界について、細菌を用いた変異原性試験 (エイムス試験) により変異原性を調査したが、変異原性は認められなかった。更に、哺乳類培養細胞としてマウス由来細胞を用いた変異原性試験により 2 及び 20kHz, 0.8mT までの生物作用を検討したが、変異原性ならびに急性毒性は認められなかった。

これらの結果は、我々が実際に環境中で曝露する磁界は、本報告で対象とした磁界強度と比較して大変弱く、また曝露する時間も短時間であることを勘案するならば、中間周波帯磁界による健康リスク、特に遺伝子の変異などを起こす可能性は大変小さいことを示唆している。

しかしながら、国内では依然として電磁界の健康リスクが懸念されていることや、国外では作業環境の磁界による健康リスクの評価・低減に関する EU 指令など、具体的な施策への動きがあることを考慮すると、今後も様々な側面からの調査を継続する必要がある。そのため、我々は、鉄道で発生する種々の周波数帯の電磁界を対象として、本報告で紹介する生物学的な側面からの研究に加え、工学的側面から人体内の誘導電流量を詳細かつ定量的に推定する研究等を通して、磁界の安全性に関する総合的な評価を進めている。

文献

- 1) WHO INTERNATIONAL EMF PROJECT (<http://www.who.ch/peh-emf/>)
- 2) World Health Organization: Environmental Health Criteria 232 Static Fields, Geneva, WHO Press, 2006
- 3) World Health Organization: Environmental Health Criteria 238 Extremely Low Frequency Fields, Geneva, WHO Press, 2007
- 4) 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.*, Vol. 74, pp494-522, 1998
- 5) 中園聡, 池畑政輝, 西村泉, 根岸正, 重光司, 電力中央研究所報告, V04008, 2005
- 6) 池畑政輝, 小穴孝夫: 変動磁場の生体作用の研究, 鉄道総研報告, Vol. 15, No. 10, pp27-32, 2001
- 7) Honma M., Hayashi M., Shimada H., Tanaka N., Wakuri, S., Awogi, T., Yamamoto, K.I., Kodani, N., Nishi, Y., Nakadate, M., Sofuni, T., Evaluation of the mouse lymphoma tk assay (microwell method) as an alternative to the in vitro chromosomal aberration test, *Mutagenesis*, Vol. 14, pp. 5-22, 1999
- 8) World Health Organization: Electromagnetic fields and public health, Fact sheet No. 322, 2007 June