

氏名	こ やま しん 山 眞
学位(専攻分野)	博士 (人間・環境学)
学位記番号	人博第372号
学位授与の日付	平成19年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	人間・環境学研究科 関連環境学専攻
学位論文題目	Genotoxic Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields and Radiofrequency Radiation (極低周波電磁場および高周波曝露による遺伝毒性への影響)
論文調査委員	(主査) 教授 小松賢志 教授 倉橋和義 助教授 三浦智行

### 論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、現代の文明社会において、我々が常に曝露されている極低周波電磁場 (ELF-EMF) および高周波電磁場 (RF) の生体影響をプラスミド DNA, 細菌, 培養細胞を用いた実験系により検証したものである。

第1章では、電化製品や送電線から発生している ELF-EMF, または携帯電話や電磁調理器で使用されている RF がどのような影響を及ぼしているかの報告をまとめている。ELF-EMF については、生活環境の磁束レベルが  $0.4\mu\text{T}$  を超えると小児白血病が2倍に増加することが多くの疫学研究で認められている。また、RF は携帯電話などの通信手段、電磁調理器や医療などに日常的に用いられており、一部の疫学研究で脳腫瘍などを発生させるリスクが高まるとの報告もあるが、まだデータが少なくこれからの研究報告が待たれるところである。このように、電磁場による生体への影響が危惧されており、まだ研究が充分進んでいないこの分野での遺伝的影響評価を調べる必要性を示した。

第2章の ELF-EMF に関する実験では、曝露により DNA にどのような影響が見られるかを検証した。プラスミド DNA に磁束密度  $5\text{mT}$  の ELF-EMF を曝露した後、大腸菌に導入した DNA 塩基の変異を解析した。ELF-EMF 単独の曝露では変異は検出できなかったが、X線を照射した後、ELF-EMF を曝露したプラスミド DNA の突然変異頻度は、X線単独照射での突然変異頻度に比べ有意に増加する結果が得られた。同様に、過酸化水素水 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) を加え、ELF-EMF を曝露したところ、過酸化水素水単独で処理したプラスミド DNA に比べ、突然変異頻度が有意に増加する結果が得られた。次に、培養細胞を用いてゲノム DNA の AP サイト (apurinic/apyrimidinic sites; 脱塩基部位) の量的変化を調べたが、ELF-EMF 単独曝露では、擬似曝露コントロールと差は見られなかった。しかし、メタンスルホン酸メチル (MMS) および過酸化水素水との複合曝露において、それらの単独処理に比べ、有意に好サイトの量が増加する結果を得た。これらのことから、 $5\text{mT}$  の ELF-EMF 単独曝露においては、突然変異を誘発する可能性は少ないものの、電離放射線や突然変異誘発物質との複合曝露によって、突然変異の頻度が増加する効果が確認できた。

RF に関する実験については、第3章において、曝露による基本的な毒性を調べる目的で、Ames 試験と中国ハムスター卵巣由来 CHO-K1 細胞の *HPRT* 遺伝子の突然変異頻度の測定を行った。RF の効果を評価する指標には比吸収率 (SAR) を用いており、 $\text{SAR}5\sim 200\text{W/kg}$  の範囲で行った。Ames 試験においては、 $\text{SAR}200\text{W/kg}$  の RF を曝露しても突然変異頻度の増加は見られなかったが、*HPRT* 遺伝子に起こる突然変異頻度は  $200\text{W/kg}$  の SAR で増加が見られた。*HPRT* 遺伝子変異試験では、曝露による温度上昇と等しい温度で処理した場合にも同様の変化が見られたため、RF 曝露による突然変異頻度の増加は、温度効果によるものであることが示唆された。次に、プレオマイシン (BLM) との複合効果も調べ、 $100$  および  $200\text{W/kg}$  の SAR で突然変異頻度の有意な増加が見られた。ここでも、曝露による温度上昇と等しい温度で処理した場合にも同様の増加が見られた。一方、RF による CHO-K1 細胞での小核形成頻度を測定した結果、SAR の上昇に伴い、小核形成頻度が増加する結果が得られた。さらに、BLM との複合曝露の場合に、 $\text{SAR}200\text{W/kg}$  で BLM 単独処理に比べ、小核形成頻度の増加を確認した。RF 曝露に伴う温度上昇と等しい温度での処理でも小核形成の頻度が増加し、RF

曝露による頻度と強い相関が見られた。以上のことから、高い SAR の場合には、DNA 鎖切断もしくは染色体異常を引き起こすことが確認され、この原因として RF 曝露がもたらす高温による可能性が高いことが示された。

第 4 章では、パルス波高周波電磁場による実験を行った。実験系は第 3 章と同様であり、CHO-K1 細胞にパルス波 RF を曝露し、SAR 100W/kg までの曝露で *HPRT* 遺伝子の突然変異頻度と小核形成頻度に変化は見られなかった。また、BLM との複合曝露においても単独曝露に比べ差は見られなかった。以上、ELF-EMF に関しては、単独曝露によって突然変異を誘発する可能性は低いものの、電離放射線や突然変異誘発物質との複合曝露によって、それらの効果を増加する可能性が示唆された。また、RF に関しては、高い SAR では、小核形成頻度や *HPRT* 遺伝子突然変異頻度の増加が見られた。しかし、曝露による温度上昇と等しい温度で処理した場合、同様の変異頻度が観察されたことから、これらの変異は温度上昇によるものと推測できる。これらの結果から、非常に高い SAR の高周波電磁場の曝露によって突然変異や DNA 鎖切断の可能性が示されるものの、普段の日常生活で使用される範囲内の SAR の高周波電磁場曝露での危険性は非常に低い事が確認出来た。

第 5 章では、今までに報告されている ELF-EMF および RF に関する細胞や DNA レベルでの論文を本実験と比較検証し、本実験結果の妥当性ならびに将来の安全研究の展望を論じた。特に日常的に曝露される範囲の RF の安全性を指摘する一方で、ELF-EMF と電離放射線や突然変異誘発物質との複合曝露研究の更なる必要性を示した。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、プラスミド DNA、細菌、培養細胞を用いた実験系による極低周波電磁場 (ELF-EMF) および高周波電磁場 (RF) による遺伝毒性への影響研究を論述したものである。本論文では、生活環境に溢れている電磁場が生体に与える影響を検証しており、人間の生活範囲内での電磁場環境を考察している。全体は 5 章からなり、第 1 章では先行研究をまとめている。

第 2 章では、ELF-EMP の実験についてまとめている。プラスミド DNA に ELF-EMP がどのように影響しているかを調べた結果、X 線単独で照射したときと比べ ELF-EMP と組み合わせた時のプラスミド DNA の変異が増加することを示した。続いて、活性酸素を発生する過酸化水素水 ( $H_2O_2$ ) で処理したプラスミド DNA を用い、過酸化水素水と ELF-EMP の複合曝露で有意に変異が増加することを示した。更に、メタンスルホン酸メチル (MMS) および過酸化水素水で処理した細胞に ELF-EMP を曝露し、AP サイト (apurinic/aprimidinic sites; 脱塩基部位) の量を指標に ELF-EMP 曝露の影響を調べたところ、化学物質と ELF-EMP を複合曝露した細胞の方で AP サイトの量が多く検出された。以上のことから、X 線や化学物質と高磁束密度 ELF-EMP との複合曝露により DNA 損傷が増加する事を示した。本論文の X 線および化学物質との複合曝露実験の組み立ては極めて慎重であり、その結果の解釈は妥当である。

第 3 章では、連続波高周波電磁場曝露による細胞研究が行われている。サルモネラ菌および大腸菌に高い比吸収率 (SAR) の RF を曝露し、突然変異頻度を測定したが、変異の増加は見られなかった。一方、ヒト培養細胞の *HPRT* 遺伝子の変異については、高 SAR で増加したが、曝露による温度上昇と等しい温度で処理した場合にも同様の変化が見られた。このため、RF 曝露による突然変異頻度の増加は、温度効果によることが示唆された。続いて、中国ハムスター細胞に RF 曝露を行い、細胞核分裂後の二核細胞で小核形成頻度にどのように影響するかを調べた。DNA 切断を誘発する薬剤ブレオマイシンとの複合曝露による小核形成頻度を測定して、高い SAR での小核形成頻度の増加を確認した。また、RF 曝露に伴う温度上昇と等しい温度での処理でも小核形成頻度の増加が見られ、RF 曝露による頻度と高い相関があった。以上のことから、本実験では高等真核細胞への高周波曝露では、DNA 鎖切断もしくは細胞分裂の異常が確認され、これは高周波曝露による温度上昇が原因である可能性を指摘した。

第 4 章では、パルス波高周波電磁場による細胞研究を行った。中国ハムスター細胞にパルス波 RF を曝露し、小核形成頻度と *HPRT* 遺伝子の突然変異頻度を測定したところ、SAR100W/kg までの曝露で変化は見られなかった。このことから、パルス波 RF 曝露は、生活環境レベルの低い SAR では影響を及ぼさないと考えた。

以上、第 3、4 章での結果から、環境中の高周波電磁場曝露では、生体に影響を及ぼすほどの危険性はないものの、高 SAR 曝露では、温度上昇による遺伝子変異がもたらされる事を示した。このように連続波高周波電磁場 (RF) 曝露での生

体影響を温度上昇によると結論づけた事は、温度測定の実測とさらに温度上昇が少ないパルス波高周波電磁場による確認実験と照らし合わせて合理的であると判断される。

第5章では、特に、遺伝子に対する ELF-EMF および RF 曝露による影響を報告した論文を本実験と比較しており、本論文の妥当性を考察している。また、将来の展望として、複合曝露で影響を及ぼす ELF-EMF の更なる研究の必要性を示している。科学技術が急速に発展している現代社会の中で、今後、益々増加するであろう電磁場環境の生体影響を扱った本論文は、地球環境の保全を意識したものであり、現在使われている範囲内での ELF-EMP および RF の安全性を確認するためにも重要な知見を提供している。本論文の第2章第1, 2節, 第3章第1, 2節はすでに国際学術雑誌に掲載されており、特に、第2章第2節の実験結果をまとめた論文は、世界保健機関（WHO）の環境保健基準（EHC）でも参考文献として紹介されている。

本申請者が所属する相関環境学専攻の目的は、自然と人間の調和的な共生を可能にする新しい科学・技術のあり方および社会システムのあり方を探求することであるが、本研究は、この目的に沿った基礎的研究として高く評価でき、今後の電磁場生命科学の関連分野での貢献が期待できる。

よって、本論文は博士（人間・環境学）の論文として価値あるものと認める。また、平成19年1月26日の公聴会において、論文内容とそれに関する事項について諮問を行った結果、合格と認めた。