

電波のラット神経細胞成長への影響*

成田 英二郎**、西垣 裕美**、三谷友彦**、篠原 直毅**、
鈴木敬久***、多氣昌生***、宮越 順二**

Influence of a radiofrequency electromagnetic field at 2.45 GHz on neurite outgrowth in rat PC12VG cells

Eijiro Narita¹, Hiromi Nishigaki¹, Tomohiko Mitani¹, Naoki Shionohara¹,
Yukihisa Suzuki², Masao Taki², and Junji Miyakoshi^{1*}

概要

現代社会は、生活環境で目には見えない電磁波があふれている。身の回りの電磁波の発生源としては、高圧送電線、家電製品、携帯電話とその基地局、医療の電磁波機器などがある。さらに近未来に実用化される無線送電も大きな電磁波環境因子となる。多種多様な電磁環境は、ますます増加の一途をたどることが予想される。本研究では、電波（2.45GHz）による細胞（ラット由来のPC12-VG細胞）の神経突起伸長への影響を評価した。電波の比吸収率（Specific Absorption Rate: SAR）を1W/kgまたは10W/kgで、4時間ばく露後、細胞を分化誘導し、細胞の神経突起平均長、最長神経突起長、ならびに神経突起保有細胞割合を7日目まで測定した。その結果、電波ばく露群と非ばく露群（シャムばく露群）との間には、それぞれ検討した神経突起に関する影響に有意な変化は観察されなかった。

1. 研究の背景と目的

近年、人々は様々な電化製品や通信機器の使用により、電磁波を受ける機会が増えている。特に携帯電話の急速な普及に伴って、電磁波のばく露による人体への影響が懸念されてきた。電磁波による健康のリスクについて関心が高まるに連れて、多くの疫学的研究がなされてきたが、人体や哺乳動物細胞へどのような影響を及ぼしているのかについては、未だ議論の余地がある。これらのうち、ラット褐色種由来細胞(PC12)の神経突起伸長への影響について、いくつかの実験が行われてきた⁽¹⁾⁻⁽³⁾。

* 2012年11月1日受理

** 〒611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学生存圏研究所

*** 〒192-0397 東京都八王子市 首都大学東京 都市教養学部

*E-mail: miyakoshi@rish.kyoto-u.ac.jp

本研究では、2.45GHz の高周波電磁波による PC12-VG 細胞の神経突起伸長への影響を調べた。

2. 研究の結果および考察

2-1 材料と方法

2-1.1 細胞培養条件

PC12-VG 細胞はラット褐色種に由来するもので、2.5%の FBS（牛胎児血清）（BioWest）と 15%の HS（馬血清）（Mediatech）を添加した Ham's F-12 培地（日研）で、37℃、5%CO₂、飽和湿度の中で培養した。

2-1.2 高周波ばく露装置

高周波ばく露装置は、2.45GHz 連続波発振装置(Agilent E4421B)で発生させた電磁波を増幅器(R&K A2450 4747R)で増幅し、通常 CO₂ インキュベーターの内部に設置した筒状導波管とで構成されている。SAR は 1W/kg、10W/kg である。導波管の終端にばく露用ディッシュが設置できるように設計されており、ばく露中の SAR はパワーメーター(Rohde & Schwarz)でモニターされている。導波管内はペルチェ温度制御装置(Cell TDC-1550)を用いて 37℃、5%CO₂、飽和湿度の条件に保持されている⁽⁴⁾。

2-1.3 実験方法

38.1ml の培地中に 1×10^5 個の細胞を播種し、通常培養装置内で一晩置く。2.45GHz、SAR が 1W/kg または 10W/kg で 4 時間ばく露を行った後、一旦細胞を回収し、5ml の培地中に 500 個の細胞をコラーゲン塗布ディッシュに播種する。ばく露、シャムばく露した細胞をそれぞれ 2 群に分け、神経成長因子(NGF)を 50ng/ml 添加、もしくは無添加のコントロール群とする。通常インキュベーターで培養し、1、4、7 日後にそれぞれの神経突起伸張を位相差顕微鏡下で観察する。

2-1.4 神経突起長の解析

倒立型位相差顕微鏡(Olympus CKX-41)を用いて観察した神経突起をデジタルカメラ(Olympus DP-20)で撮影し、画像を距離測定ソフト(Simple Digitizer)に転送し突起長を数値化する。それぞれのディッシュ底面には 1mm 方眼のステッカーが約 9cm² あり、その上で観測されるすべての細胞について画像解析を行った（図 1）。

神経突起長が細胞直径よりも大きい細胞を有突起細胞としてカウントし、観測した細胞総数との割合を算出する。すべての神経突起長の平均値、ならびに有突起細胞の中から最も長い神経突起 10 本の平均値を最長突起長として算出する。

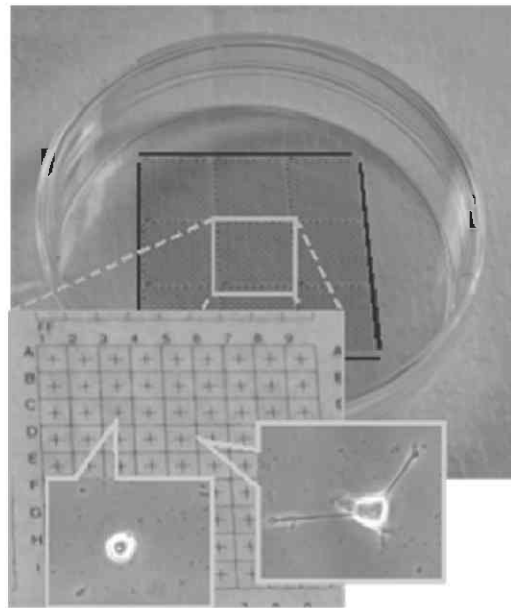
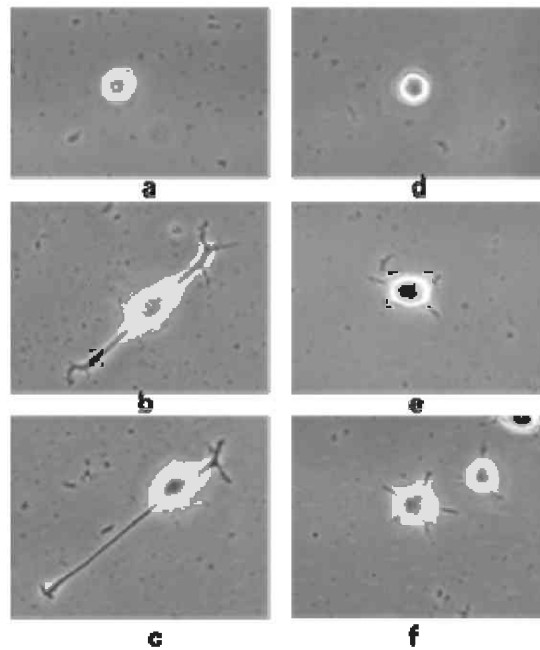


図 1：コラーゲン塗布ディッシュと PC12VG 細胞

2-2 有突起細胞数の割合

図 2 に代表的な神経突起の携帯変化を示す。

有突起細胞数の割合について、SAR1W/kg のばく露ではほとんど差がなく（図 3）、SAR10W/kg のばく露では 7 日間でやや抑えられた傾向がみられたが、有意な差はなかった（図 4）。



(a)1day, (b)4days,
(c)7days after adding NGF
(d)1day, (e)4days,
(f)7days without NGF

図 2 : PC12VG 細胞への NGF 添加後 7 日間の神経成長過程(SAR、1W/kg)(代表例)

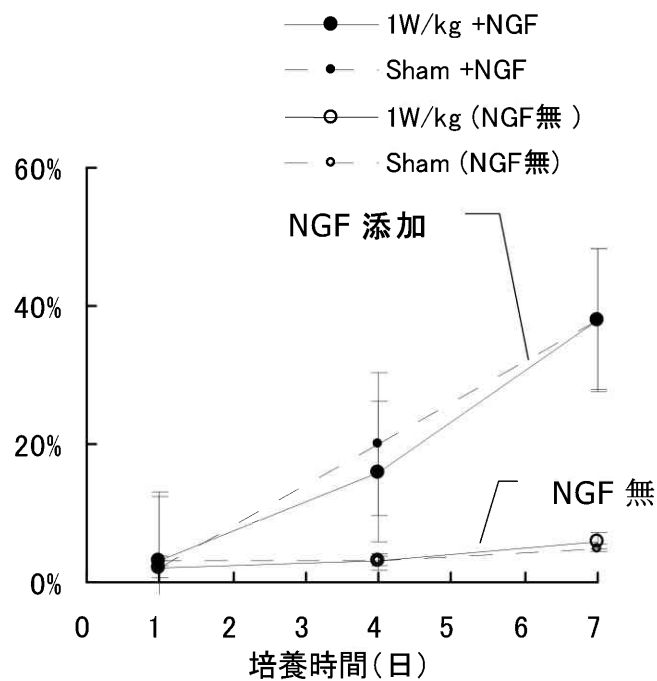


図 3 : 有突起細胞数の割合(SAR 1W/kg,4h)

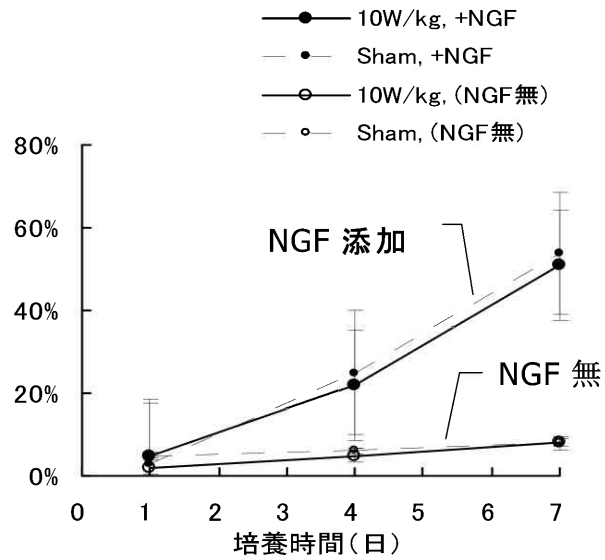


図 4：有突起細胞数の割合(SAR 10W/kg, 4h)

2-3 神経突起長

有突起細胞の神経突起平均長と最長突起長について、ばく露から7日後、SAR 1 W/kg ではやや抑えられたのに対して (図 5)、10W/kg ではやや促進される傾向がみられた (図 6)。しかし、どちらの場合においても有意な差は見られなかった。

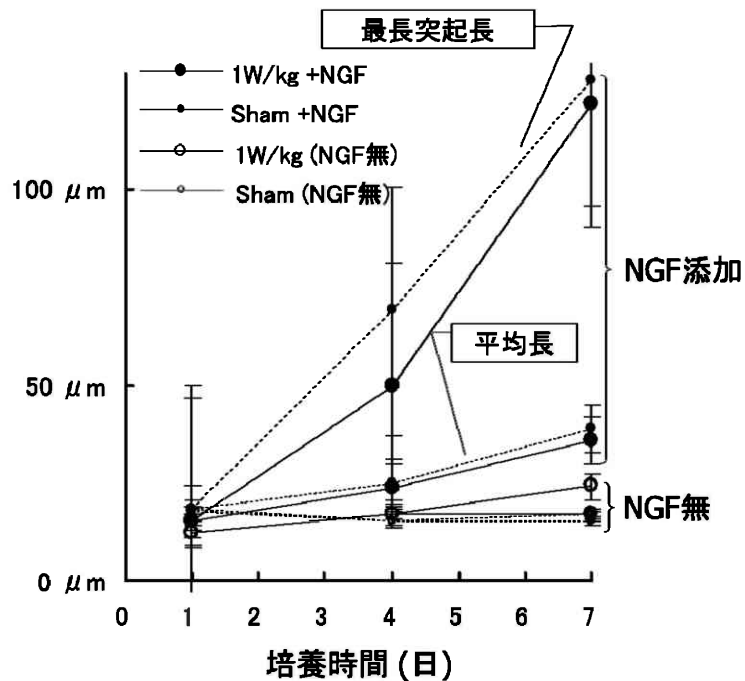


図 5：平均長および最長突起長(SAR 1W/kg, 4h)

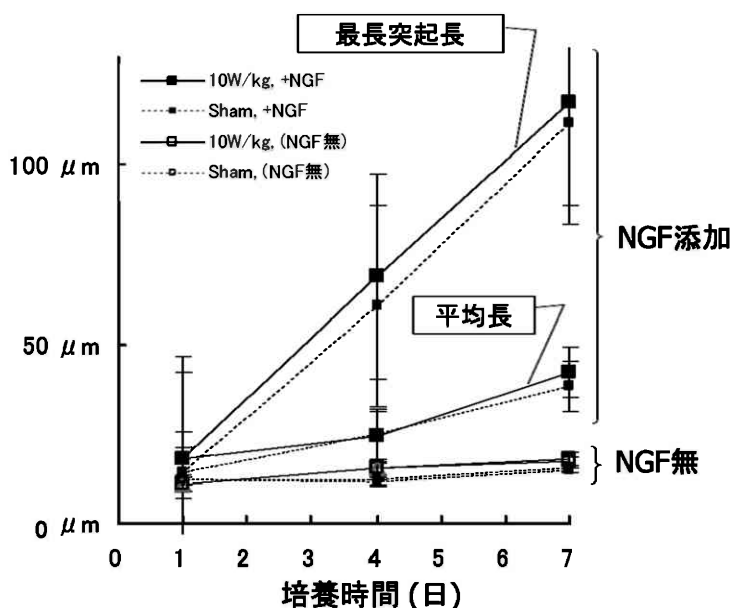


図 6：平均長および最長突起長(SAR 10W/kg, 4h)

3. 今後の展開

2.45GHz の高周波電磁波ばく露を 4 時間、PC12VG 細胞に行った結果、神経突起伸長に対する有意な影響は観察されなかった。50ng/ml の NGF を添加したものと、添加しないものとの比較においては、有突起細胞数の割合、平均突起長、最長突起長の全ての項目において神経突起伸長に顕著な違いがあった。

今後、ばく露時間を長期で行った場合の影響や異なる細胞系統への高周波電磁波の影響の可能性については、さらなる研究が必要である。

参考文献

- 1) Blackman CF, Benane SG, House DE, Pollock MM: "Action of 50Hz magnetic fields on neurite outgrowth in pheochromocytoma cells.", Bioelectromagnetics, Vol.14, No.3 p.273-86 (1993)
- 2) McFarlane EH, Dawe GS, Marks M, Campbell IC: "Changes in neurite outgrowth but not in cell division induced by low EMF exposure: influence of field strength and culture conditions on responses in rat PC12 pheochromocytoma cells.", Bioelectromagnetics, Vol.52, No.1 pp.23-8 (2000)
- 3) Zhang Y, Ding J, Duan W, Fan W: "Influence of pulsed electromagnetic field with different pulse duty cycles on neurite outgrowth in PC12 rat pheochromocytoma cells.", Bioelectromagnetics, Vol.26, No.5 pp.406-11 (2005)
- 4) Sakurai T, Kiyokawa T, Narita E, Suzuki Y, Taki M, Miyakoshi J: "Analysis of gene expression in a human-derived glial cell line exposed to 2.45 GHz continuous radiofrequency electromagnetic fields." J Radiat Res. Vol.52, No2, pp185-92 (2011)

謝辞

本研究は、生存圏研究所-学際萌芽/新領域 4 ならびに総務省の援助を受けて行われた。