

# Biomagnetic Effects Stimulated by High Magnetic Fields: Magnetic Field Environment and in vitro Experiments under High Magnetic Fields

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/48644">http://hdl.handle.net/2297/48644</a>

## 高磁界の生体影響について

—環境磁界と高磁界における実験的結果—

山田外史<sup>\*1</sup>, Andrew NAFALSKI<sup>\*2</sup>, 山本 博<sup>\*3</sup>

(1997年2月10日受付)

Biomagnetic Effects Stimulated by High Magnetic Fields  
—Magnetic Field Environment and *in vitro* Experiments under High Magnetic Fields—

Sotoshi YAMADA,<sup>\*1</sup> Andrew NAFALSKI<sup>\*2</sup> and Hiroshi YAMAMOTO<sup>\*3</sup>

Electromagnetic devices such as superconducting magnets, magnetically levitated vehicles and magnetic resonance imaging (MRI) create high magnetic fields within their immediate vicinity. This has generated some concerns over the effects that these fields may have on the outside environment and in particular on living organisms. 50/60 Hz magnetic fields are of special concern because living organisms are exposed to them on our environment. The measurement of low frequency magnetic field on our environment is important to find out a possible relationship between magnetic field and health hazards. The low frequency magnetic field measurements in urban locations are presented. We investigated the influence of a strong 60 Hz AC magnetic field of about 1.0 T on organisms. The high AC magnetic field is generated by using a multilayer eddy-current type AC magnetic generator developed in our laboratory. In this paper, the generation of heat shock protein by magnetic stimulus is discussed in nematode, and *in vitro* experiments were performed with biochemical reactions, enzyme and DNA synthesis.

KEY WORDS : alternating current magnetic fields, extra-low frequency (ELF), high magnetic fields, environment, magnetic exposure, heat shock protein, enzyme, DNA synthesis

### 1. まえがき

近年の技術革新, 特に超伝導技術の進展によって, 従来にない強い磁界が比較的簡単に得られるようになって

きた。このため人体がこれまでに経験しなかったような強い磁界にさらされる機会が増大すると予測される<sup>1)</sup>。また, レベルとしては小さいが送電線, 家庭電器製品等からの電磁界と生体影響との関連が話題となっている。疫学的研究からは相関関係を示す報告もなされているが, 磁界が生体に与える影響は未だ科学的に確立した結果は出ていないのが実状である。

我々は独自の理論により開発した交流強磁場発生装置<sup>2)</sup>を用いて, 特に低周波の交流高磁界の影響についての系統的な調査を行ってきた。これまでの線虫 *C. elegans* を用いた生体実験において,  $f=60$  Hz の低周波数交流強磁界はその発生, 生殖や行動に影響を及ぼすこ

\*1 金沢大学工学部附属電磁場制御実験施設; 金沢市小立野 2-40-20 (〒920)

Laboratory of Magnetic Field Control and Applications, Faculty of Engineering, Kanazawa University; Kodatsuno 2-40-20, Kanazawa 920, Japan.

\*2 School of Electrical Engineering, University of South Australia; Warrendi Road, The Levels, South Australia 5095, Australia.

\*3 金沢大学医学部生化学第2; 金沢市宝町13-1 (〒920)  
Department of Biochemistry, School of Medicine, Kanazawa University; 13-1 Takara-machi, Kanazawa 920, Japan.

とを観察している<sup>3,4)</sup>。さらに、交流磁界による生体への生化学的な影響を調べるため、*in vitro* (試験管内)での低周波交流の高磁界が生化学反応に与える影響、特に酵素反応、制限酵素反応、さらにDNA合成に与える影響等について検討してきた<sup>5-7)</sup>。

以下、我々の都市環境においてに発生する磁界の一般的な考え方、都市生活において人体が曝される磁界の状況、レベルについての測定結果を述べ、低周波高磁界下における個体～DNAレベルでの実験結果の一部について報告する。

## 2. 環境磁界

### 2.1 環境磁界の発生

電磁界は、周波数によりさまざまな利用用途、様相を呈する。Fig. 1は、周波数に対する用途ならびに状態を示したもので、周波数  $f=1\text{ Hz}\sim 1\text{ MHz}$  にまでは主に高電力の用途であり、電力半導体素子ならびに磁性体の発展とともにいっそうその範囲がより高周波側へと拡大している。商用電源周波数 ( $f=50/60\text{ Hz}$ ) を含む周波数  $f=1\text{ Hz}\sim 1\text{ kHz}$  の間はELF (Extra-low Frequency) と呼ばれ、電気エネルギーのほとんどはこの中に含まれる。周波数  $f=1\text{ MHz}$  から数  $10\text{ GHz}$  の周波数範囲は電子レンジにおける  $f=2.45\text{ GHz}$  等の加熱として利用されるのを除けば多くは通信手段として使用されている。近年の携帯電話では  $f=800/900\text{ MHz}$ ,  $1.5/1.9\text{ GHz}$  の周波数が用いられる。それ以上の周波数は、遠赤外線、可視光、紫外線、X線等と続く。

電磁界は、電界と磁界の両面を持ち、お互いに結合しMAXWELLの式により表される。高周波数  $f=100\text{ kHz}$

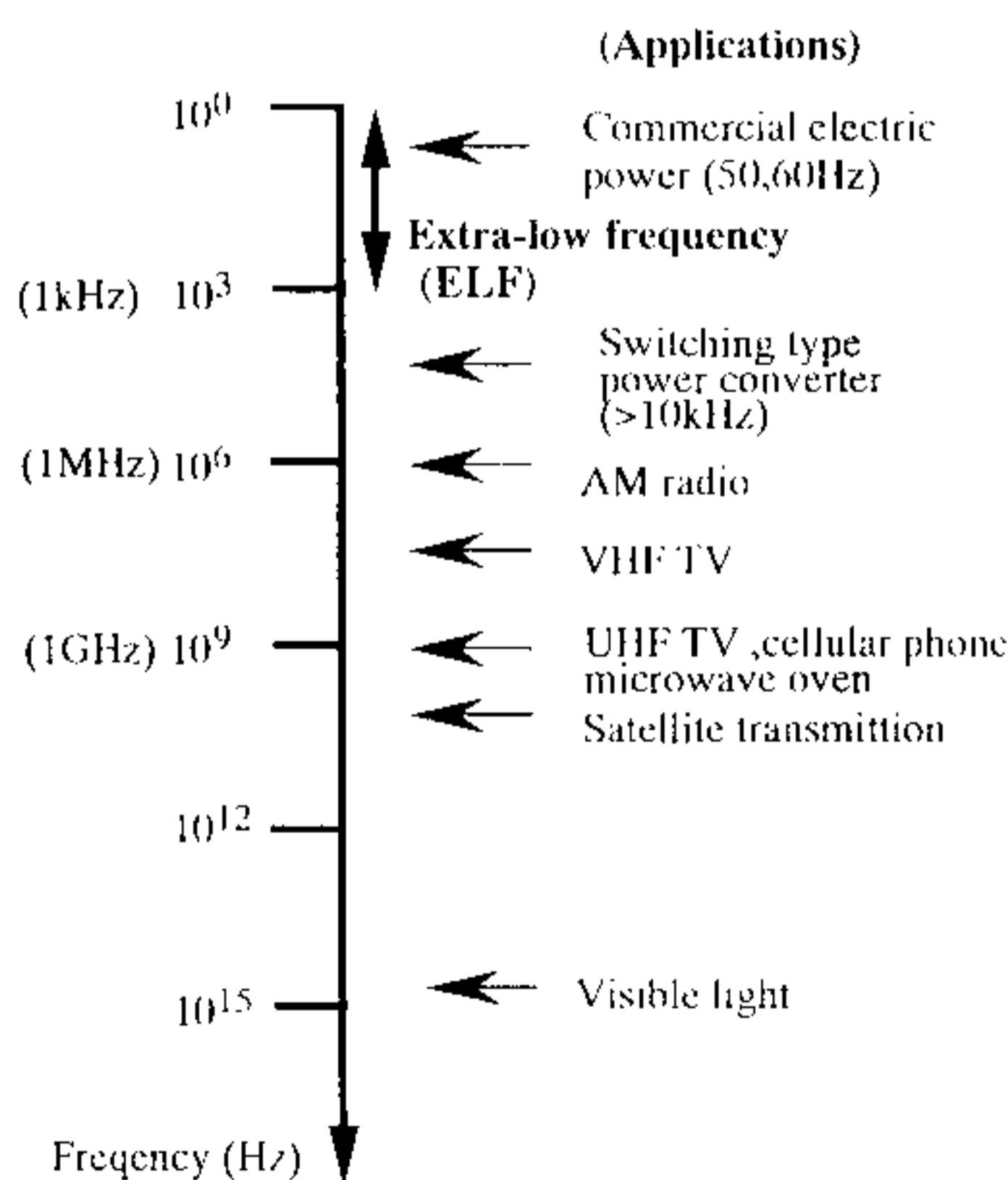


Fig. 1 Electromagnetic spectrum.

以上では、電界・磁界は一体と作用すると考えることが必要であり、低周波特に本稿で対象とするELF領域の周波数帯域では、電界と磁界間の結合が弱くなり、工学的にはそれぞれ個々に作用すると考えられる場合が多い。すなわち、電界は電圧源を考慮することにより、磁界は電流源から一意的に定まる。よって、生体的作用も個々に考慮することができる。本稿では、ELF電流源からの磁界についてのみ対象とする。

### 2.2 居住環境での磁界計測

都市環境でのELFの磁界環境については、電磁界生体影響問題が話題となるに従い、多くの資料で測定値が明かにされている<sup>1,8)</sup>。電流による磁界作用はFig. 2に示すように電流  $I$  から距離  $r$  の位置での観測点  $O$  での磁束密度  $B$  がBIOT-SAVARTの法則により、

$$B = \frac{\mu I}{4\pi r^3} \int_C |dl \cdot r| \quad (1)$$

にて得られる。Eq. (1) で表される磁束密度  $B$  は以下の

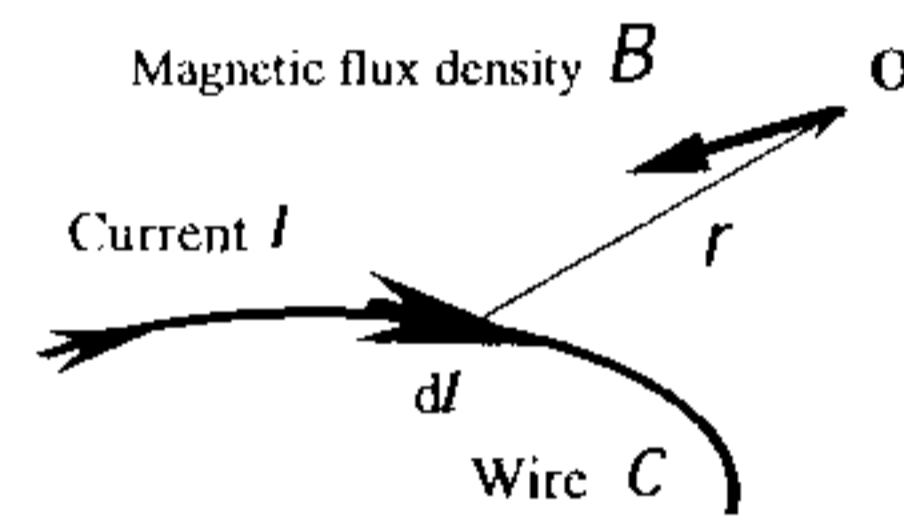


Fig. 2 BIOT-SAVART equation.

Table 1 Relationship between magnetic flux density, distance, and electric source.

(a) Toroidal current source

$$B \propto r^{-3}$$

example : transformer, motor, house electric equipments

(b) Line current source

$$B \propto r^{-2}$$

example : transmission line, distribution line

(c) Surface current source

$$B \propto r^{-2}$$

example : electric blanket, electric road heater

(d) Line current source (unbalanced)

$$B \propto r^{-1}$$

example : unbalanced transmission line, over-head wire (trolley)

where  $B$ , magnitude of magnetic flux density ;  $r$ , distance.

ことを考慮することが必要である。すなわち、

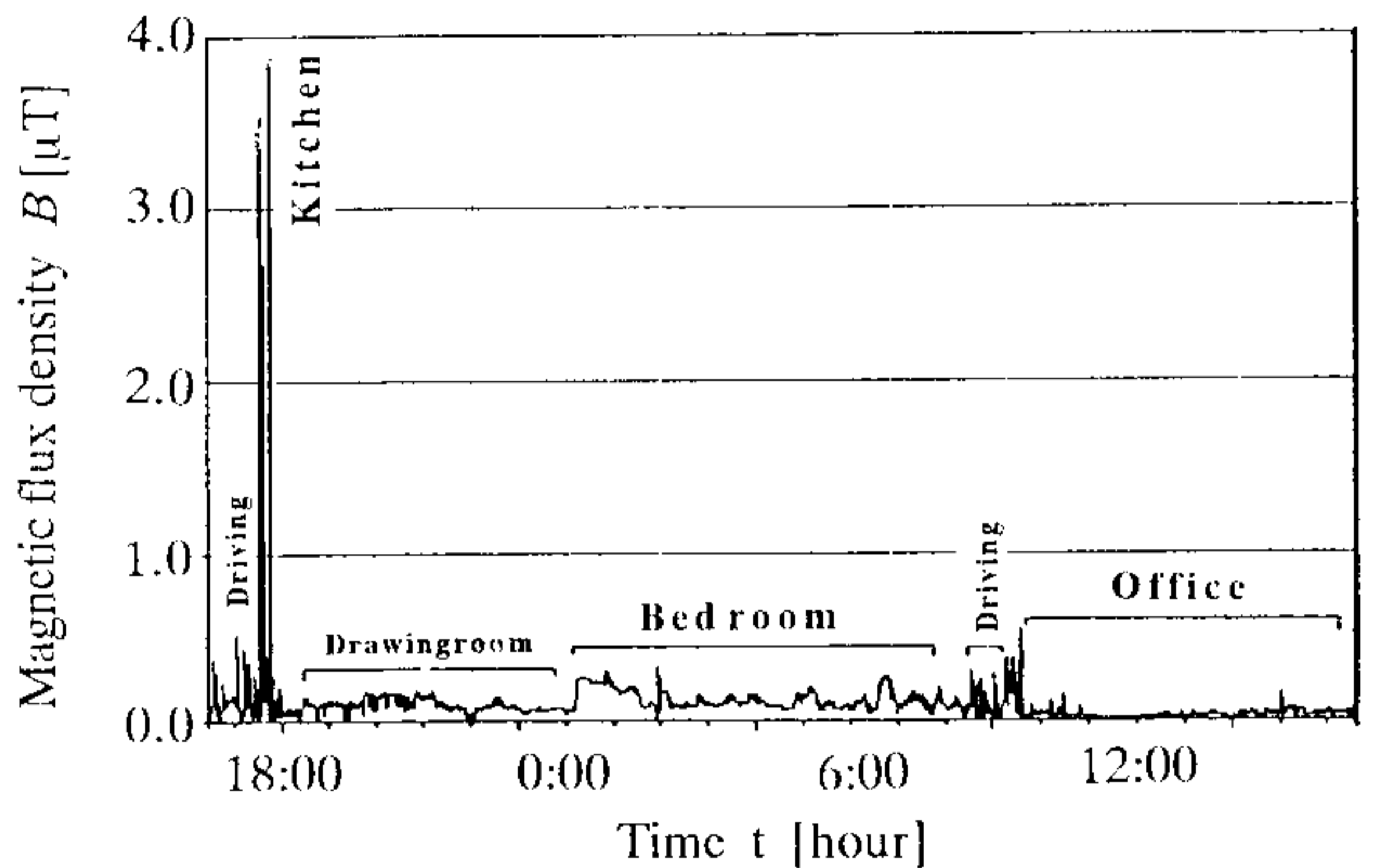
- (1) 電流源との距離  $r$  に依存
- (2) 電流源  $I$  の強さに依存
- (3) 周回積分で表される電流源の形状に依存
- (4) 磁束密度  $B$  はベクトル量で観測点での方向により磁界の大きさが異なる

となり、電気機器からの環境磁界はその状況により様々であり、一概に磁界は大電流が流れる送電線近傍で大きく、家庭の電気製品は小さいとは断定できない。

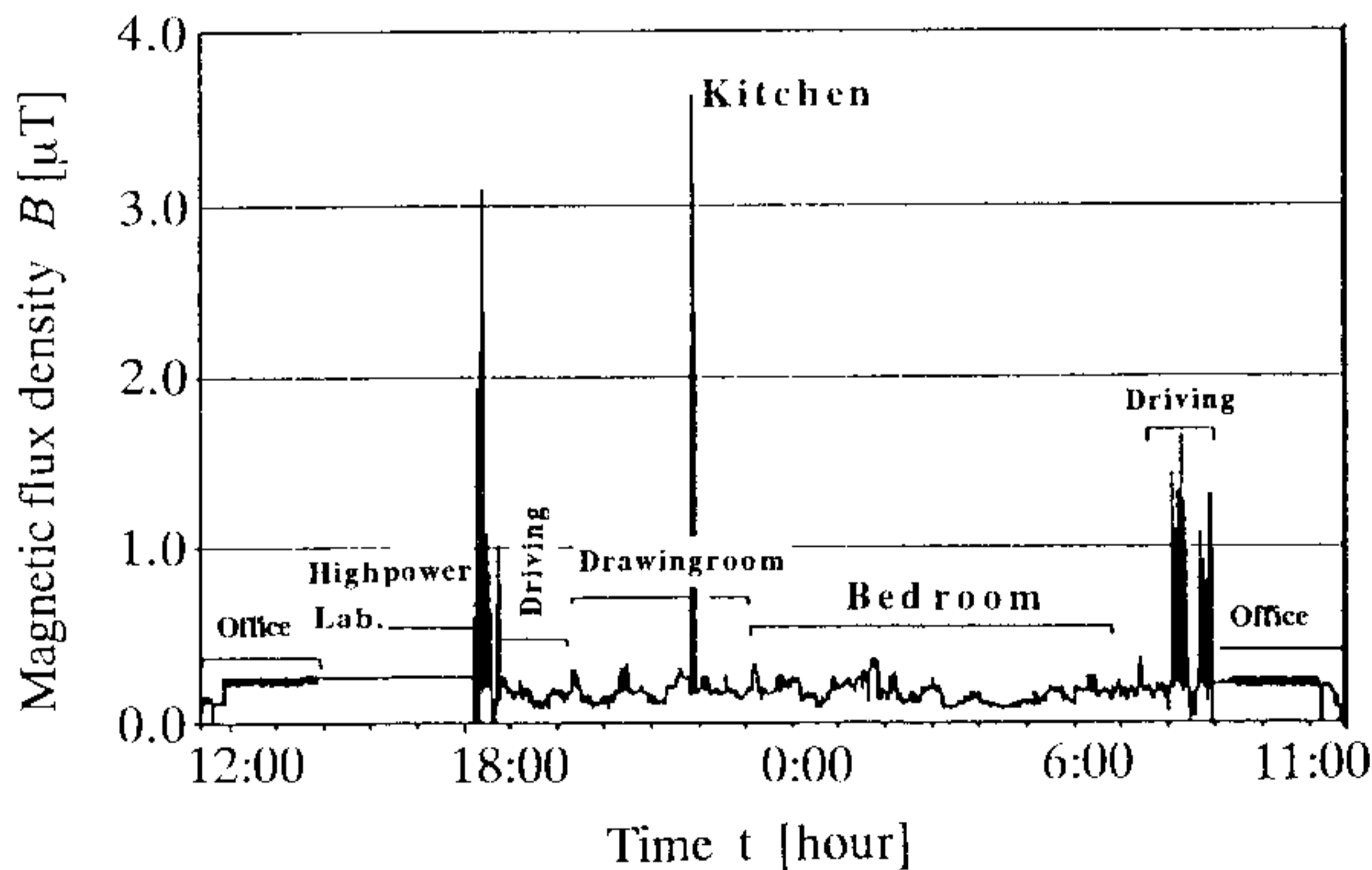
概略的な定義ではあるが、電流源の距離  $r$  とその形状による磁束密度の大きさの関係をまとめると **Table 1** のように表すことができる。多く電気機器、製品におい

ては、コイル状の磁界源からなり、機器から一定距離離れると磁界は(距離)<sup>-3</sup>に比例し急速に減衰する。次に送電線等の長い線状の電流源においては、家庭に引き込まれる单相、多くの送電線における3相においては必ず往復電流により電流の和は零となる。このような状態においては、磁界は(距離)<sup>-2</sup>に比例し減衰する。また、特殊なコイル形状の機器としての電気毛布、床電気暖房等のように面状のコイルを持つ機器においても同様に磁界は(距離)<sup>-2</sup>に比例する。

特殊な場合ではあるが、送電線系統の事故等により送電線の電流の和が零とはならない場合、また電気鉄道のトロリー線のように単一電流が流れる場合、磁界は(距



(a)



(b)

**Fig. 3** One-day exposure to magnetic field.  
(a) Academic teacher. (b) Technical officer.

離)<sup>-1</sup>に比例し減衰が劣る。以上のように、磁界発生源の形状により大まかではあるが観測点における磁界は(距離)<sup>-1</sup>と大きく異なる。また、磁束密度はベクトルであるので、磁界にさらされる対象の形状、方向にも密接な関係があり単純に定義できないことに注意したい。

実際に一般環境下で人体がどのレベルの磁束密度にさらされるのか、この値は対象者の生活環境、仕事、場所、季節等様々に変化することは当然である。Fig. 3は、著者らがオーストラリアにおいて、ポータブル形3軸ガウスメータにて30秒ごとのサンプリングにて測定した24

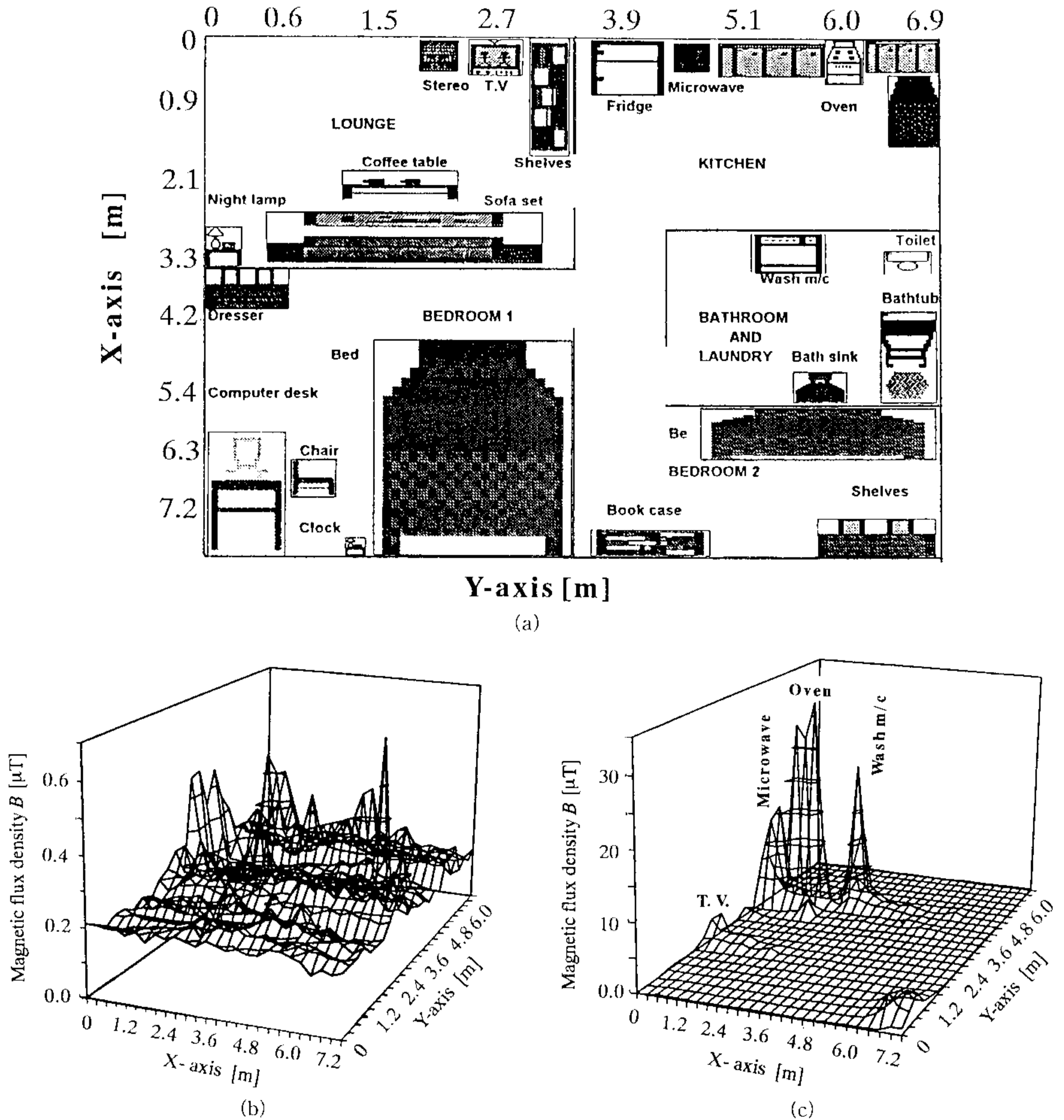
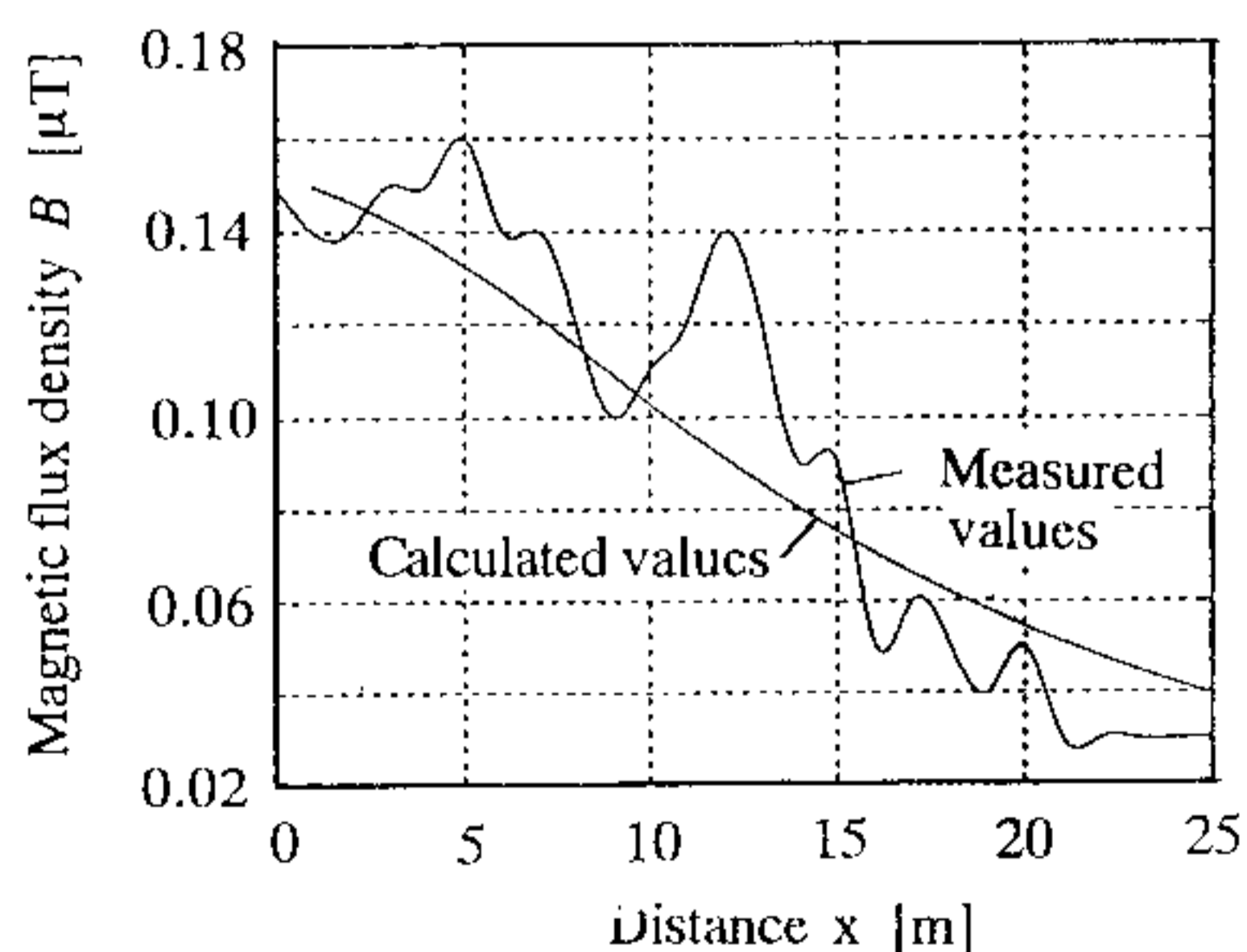


Fig. 4 Spot measurements in a household.  
 (a) The floor arrangement of a household.  
 (b) Magnetic field distribution with electric equipment switched off.  
 (c) Magnetic field distribution with switched on.

時間の磁束密度の値である<sup>9)</sup>。値は、磁束密度の振幅を表す。**Fig. 3**は、被験者として大学の教官(オフィス仕事)と技官(技術業務)の場合である。**Fig. 3(a)**においては、最大値は台所における $4\mu\text{T}$ である。約8時間の睡眠中の平均磁束密度は $0.1\mu\text{T}$ であり、24時間中では $0.2\mu\text{T}$ 以下である。また、24時間の磁束密度の時間積は $2.4\mu\text{T}\cdot\text{h}$ である。**Fig. 3(b)**の大学技官の場合、台所と車での通勤中に高い値を示している。24時間中の97%において磁束密度の値は $0.2\mu\text{T}$ 以下であり、時間積の値は $2.63\mu\text{T}\cdot\text{h}$ となり、教官に比べわずかに大きな値である。

オーストラリアの一般家庭内での磁束密度分布を測定した結果を**Fig. 4**に示す。**Fig. 4(a)**に部屋、電気製品、家具等の配置を示す。室内の30cmのます目交点において磁束密度を計測した結果を**Fig. 4(b), (c)**に示す。**Fig. 4(b)**においては、すべての電気器具のコンセントは接続されているがそのスイッチをoffとした時の結果である。このような場合でも、電気製品においては表示ランプ、時計等が動作しており、わずかな電流が流れている。その結果は、多くの場所において $0.2\mu\text{T}$ 以下の値であり、最大値でも $0.65\mu\text{T}$ である。一方、電気製品の電源をすべてONとした場合の**Fig. 4(c)**においては、テレビ、洗濯機、電子レンジの場所において $5\sim 10\mu\text{T}$ の値を示し、最大の $32\mu\text{T}$ の値はオーブンの近傍にて観測される。しかし、電気製品から離れると、背景の磁束密度は $0.20\mu\text{T}$ 以下の値である。以上、通電中の高出力の電気製品の近傍ではスポット的に磁束密度の値は高くなるが、多くの電気製品からの磁界は(距離)<sup>-3</sup>に比例して減衰し、平均的な磁界は小さい。

住居地区における11kV配電線(日本では6.6kV)の近傍において磁束密度を測定した値を**Fig. 5**に示す。こ



**Fig. 5** Magnetic field distribution near a power transmission line.

の値は、電線直下から1mごとに測定した値であり、計算値も同時に示す。送電線直下における磁束密度の値は $0.15\mu\text{T}$ であり、その値は家庭内の背景磁束密度と大差はない。参考までに、地球磁界の値は日本において約 $40\mu\text{T}$ である。

### 2.3 環境磁界のガイドライン

電気関係職業者のみならず一般の人でも通常環境において、一定値の地球磁界に加え前節に述べた商用周波数の磁界に曝されている。このような環境磁界に対するその生化学的なメカニズムからの安全基準は現在明らかにはされていないが、各機関から環境磁界に対するガイドラインが示されている。WHOのEnvironmental Health DivisionとUNEP(United Nation Environment Programme)の援助によるIRPA/INIRC(International Nonionizing Radiation Committee of the International Radiation Protection Association)ならびにACGIH(American Conference of Governmental Industrial Hygienists)による商用周波数(60 Hz)に対する暫定的な基準を**Table 2**に示す<sup>8)</sup>。これらの基準は、電磁誘導からの神経刺激による生体影響に基づくものであり、近年の多くの疫学研究により指摘されている癌等の関連に対する安全基準ではない。これらの値は、前節に示した一般環境下における値からは極めて大きい値である。

**Table 2** Limits of exposure to 60 Hz magnetic fields.

(a) IRPA/INIRC guidelines.

Exposure	Magnetic flux density (rms) ( $\mu\text{T}$ )
Occupational :	
Whole working day	500
Short term	5000
For limbs	25000
General public :	
Up to 24 hours per day :	100
Few hours per day	1000

(b) ACGIH guidelines.

Exposure	Magnetic flux density (rms) ( $\mu\text{T}$ )
Occupational exposure should not exceed	1000

3. 高磁界と生体影響

3.1 高磁界での実験項目

我々の研究室では、このような状況において低周波商用交流の高磁界 ( $B = 0.5 \sim 2 \text{ T}$  レベル) における磁界影響を実験的に調査し、加速試験的な目的と明確な因果関係を示す系を得ることを目指し、個体レベル、生体内化学反応、ならびに DNA レベルの影響について検討を行ってきた。1 T を超える磁界は、通常環境ではさらされる機会は極めてまれであり、一般的環境に比較すれば  $10^4 \sim 10^7$  倍に相当する値である。

これまでに行った実験項目を列記すると、

- (1) 個体レベル (線虫)<sup>3,4,13)</sup>
  - ①発生, 分化への影響 ○
  - ②行動への影響 ○
  - ③熱ショックタンパクの発現 ○
- (2) 生体内化学反応<sup>5)</sup>
  - ④酵素  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性 ×
  - ⑤酵素カタラーゼ活性 ○
  - ⑥制限酵素による DNA の切断 ×
- (3) DNA レベル<sup>6,7)</sup>
  - ⑦大腸菌による酵素の誘導 ×
  - ⑧トランスフォーメーション ×
  - ⑨ DNA 合成速度 ×
  - ⑩ DNA 取り込みエラー ×
  - ⑪ mismatches 修復 ×

となる。生体実験において何らかの影響があると観測された項目に○印を示した。これらの中から、下線を施した実験結果について4章以降においてその詳細を述べる。

3.2 生体実験用高磁場発生装置

実験結果について述べる前に、生体実験に用いた2種類の磁場発生装置について述べる。Fig. 6(a) に示す装置が筆者らが開発し、本実験で用いた交流強磁場発生装置である<sup>9)</sup>。図の斜線部は導体棒であり、耐熱性の特殊銅合金を使用し、その周辺部は3層構造となっている。上下6個の励磁コイルが同心円状に配置されている。導体棒には中央のホールから半径方向にスリットが設けてあり、導体棒の外側を継鉄を形成する成層鉄心で放射状に取り囲んだ構造となっている。本実験装置は、うず電流による作用に基づくため導体棒にはジュール損を発生する。そのため、Fig. 6(b) に示すように導体棒には水を循環させ冷却すると共に、生体実験を行う空間の温度を設定するために2重構造の冷却管を設置し、内部には一定温度の冷却水が循環している。冷却管内の実験空間(内径 20 mm, 軸方向 + 10 mm 内) においては、 $T = 20 \sim$

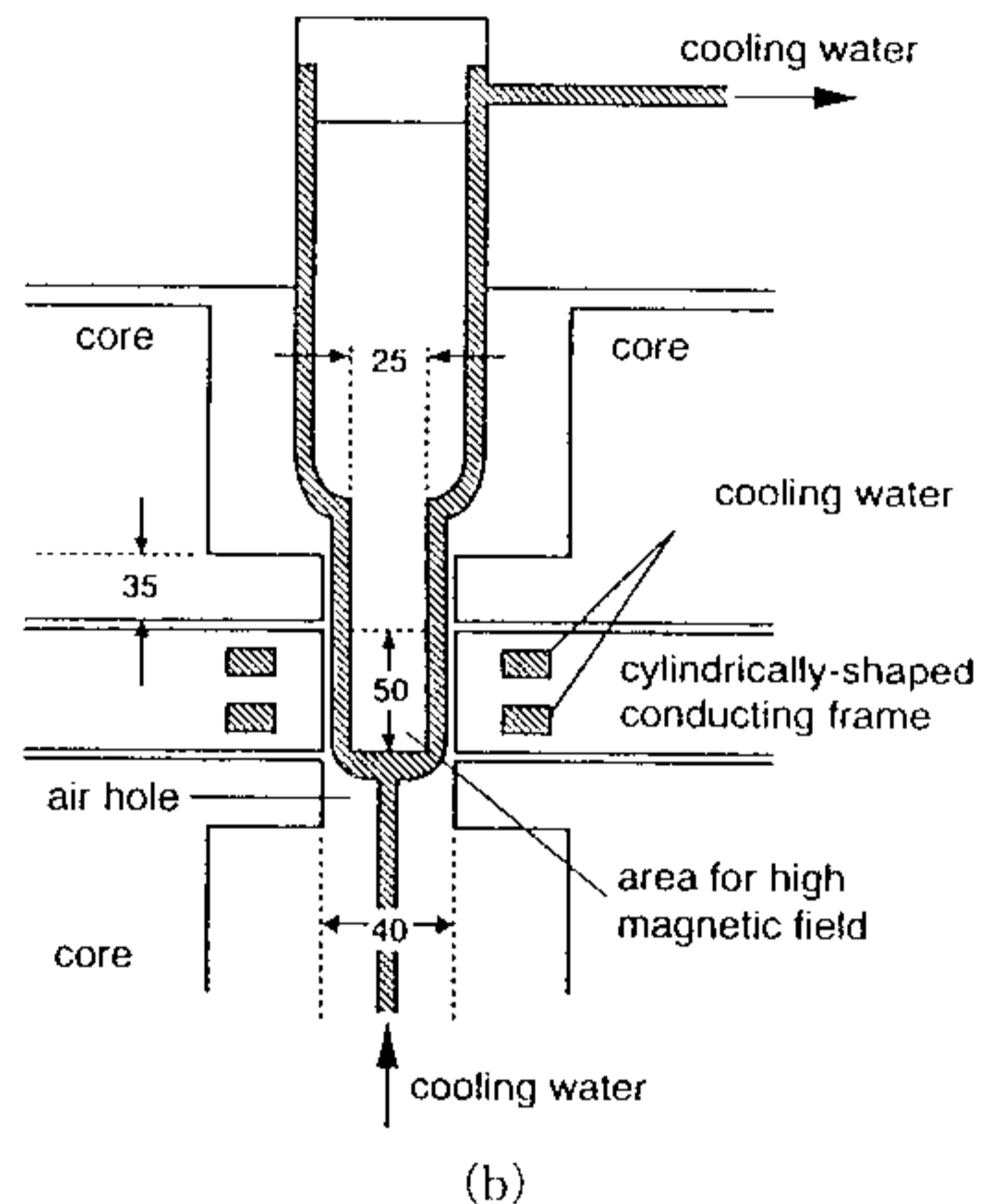
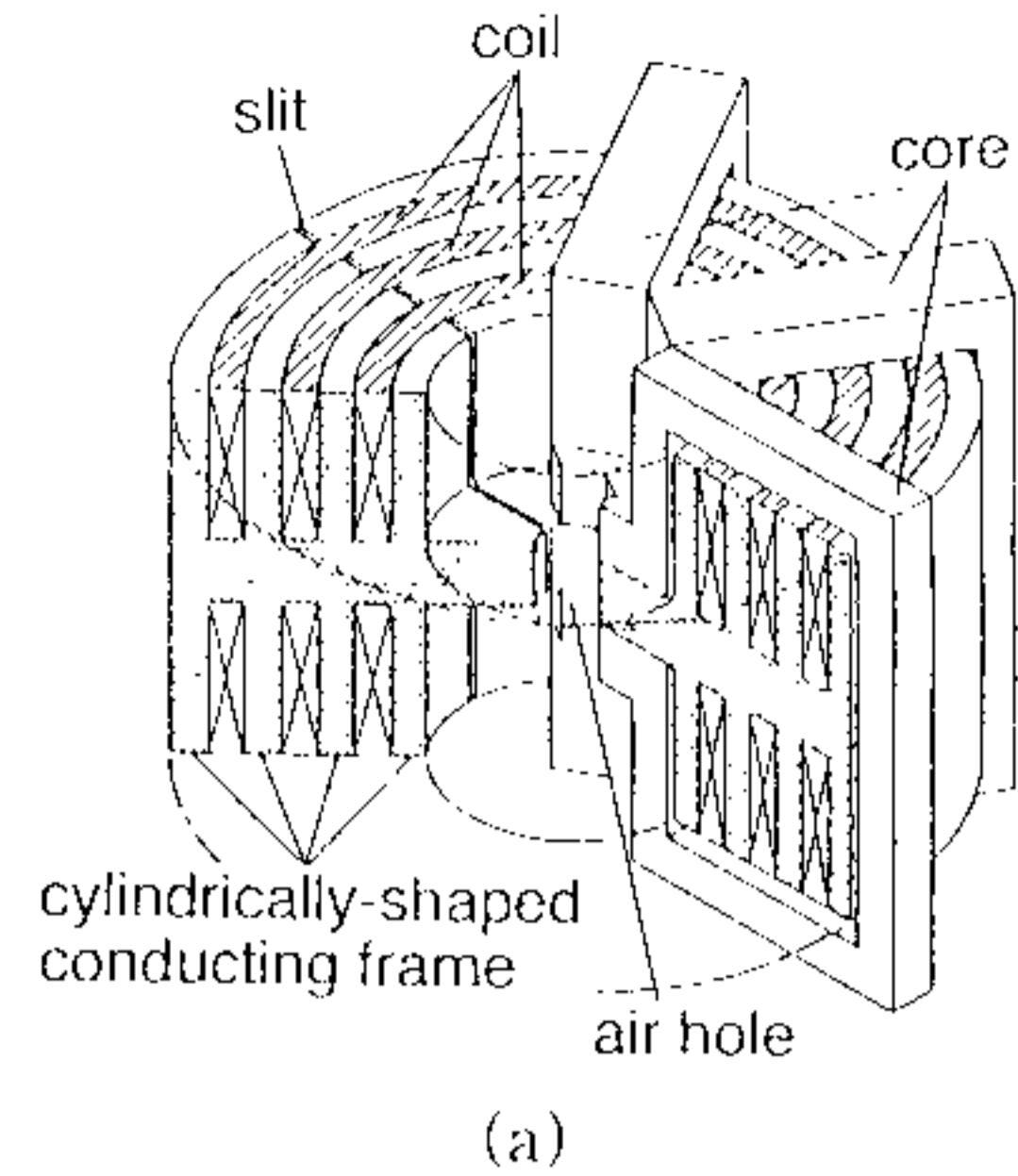


Fig. 6 AC high magnetic field generator. (a) Configuration. (b) Biological test area with cooling system.

35°C 設定することが可能である。このような構造で励磁コイルに交流電圧を印加すると、導体棒中の流れるうず電流の磁束収束効果により交流磁束がホール内に収束され、軸方向の交流高磁界が発生する。Fig. 7 にホール中に発生する磁束密度の値を示す。磁界分布の均一度は軸方向 10 mm 内では 3% 以内、半径方向では中心部直径 20 mm 内においては 5% 以下である。

主に DNA 反応の実験に用いた交流強磁場発生装置は、Fig. 8(a) に示すような概観で E 字型鉄心を対向させ、中央の脚部に 13 mm のギャップをもうけ実験空間としたものである。また、電磁石のギャップに Fig. 8(b) に示すように冷却装置を設け  $T = 37^\circ\text{C}$  水を循環させることで、DNA 合成反応中に試料が一定温度に保たれるようにした。

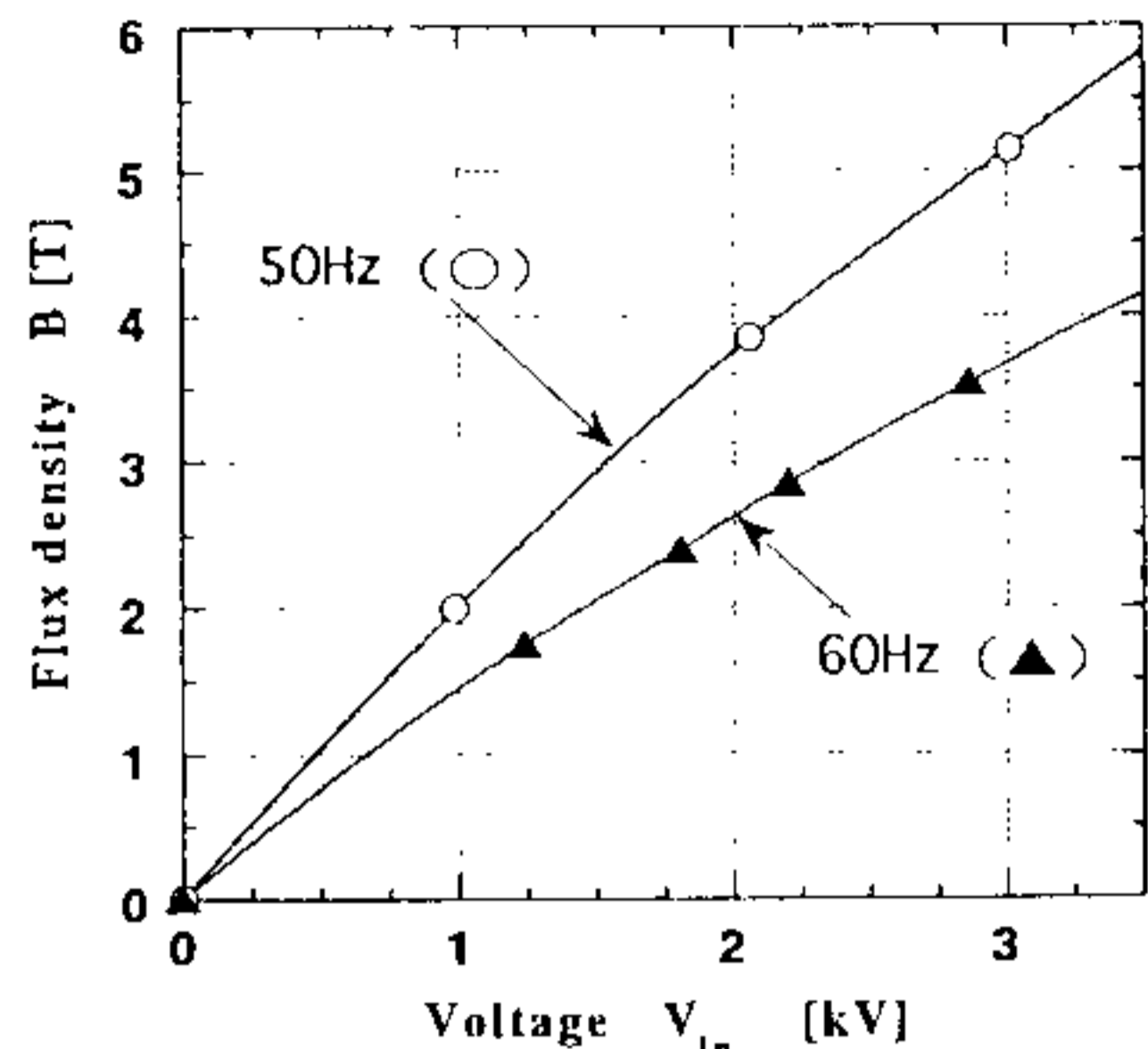


Fig. 7 Generation of AC magnetic field.

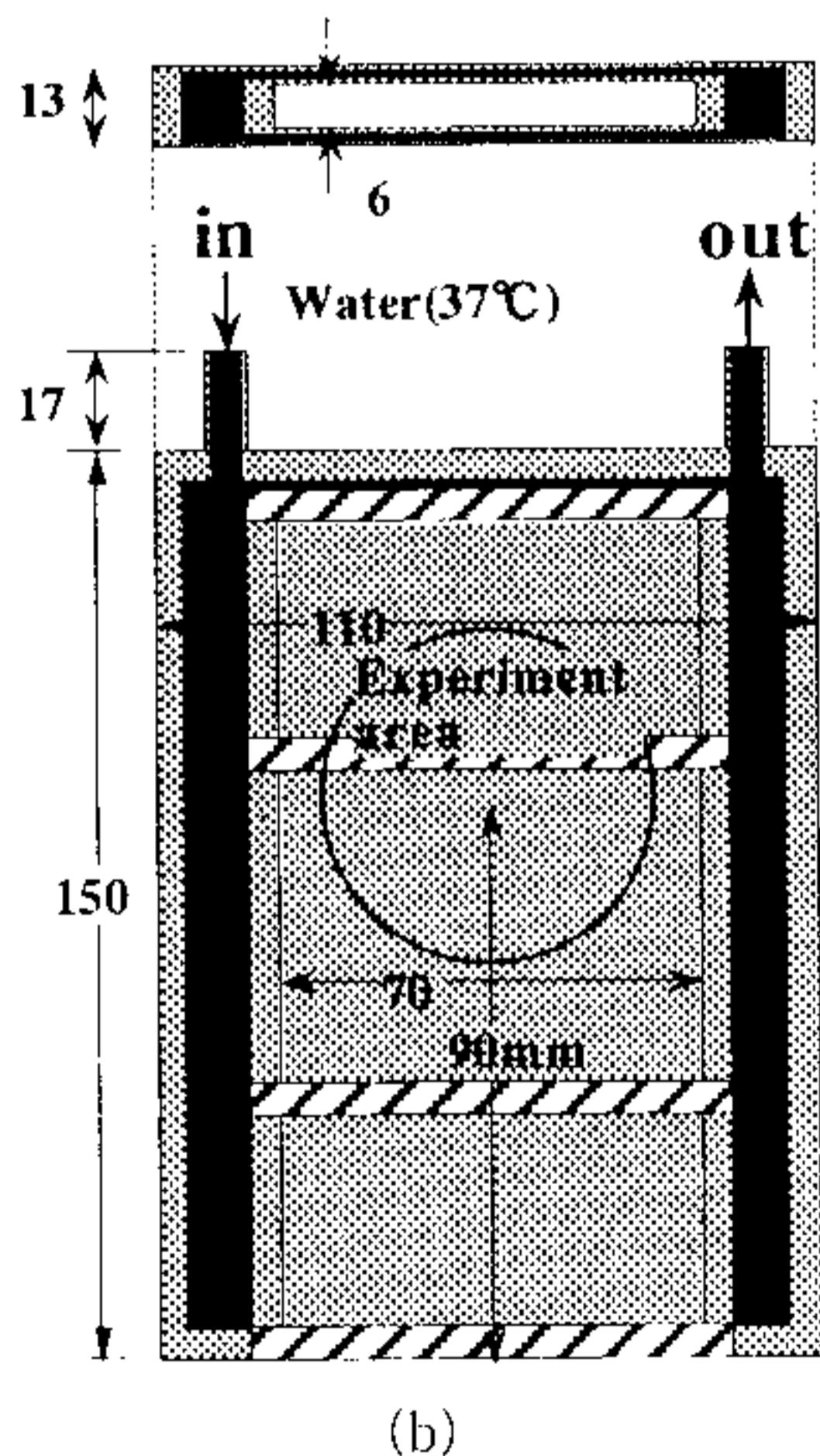
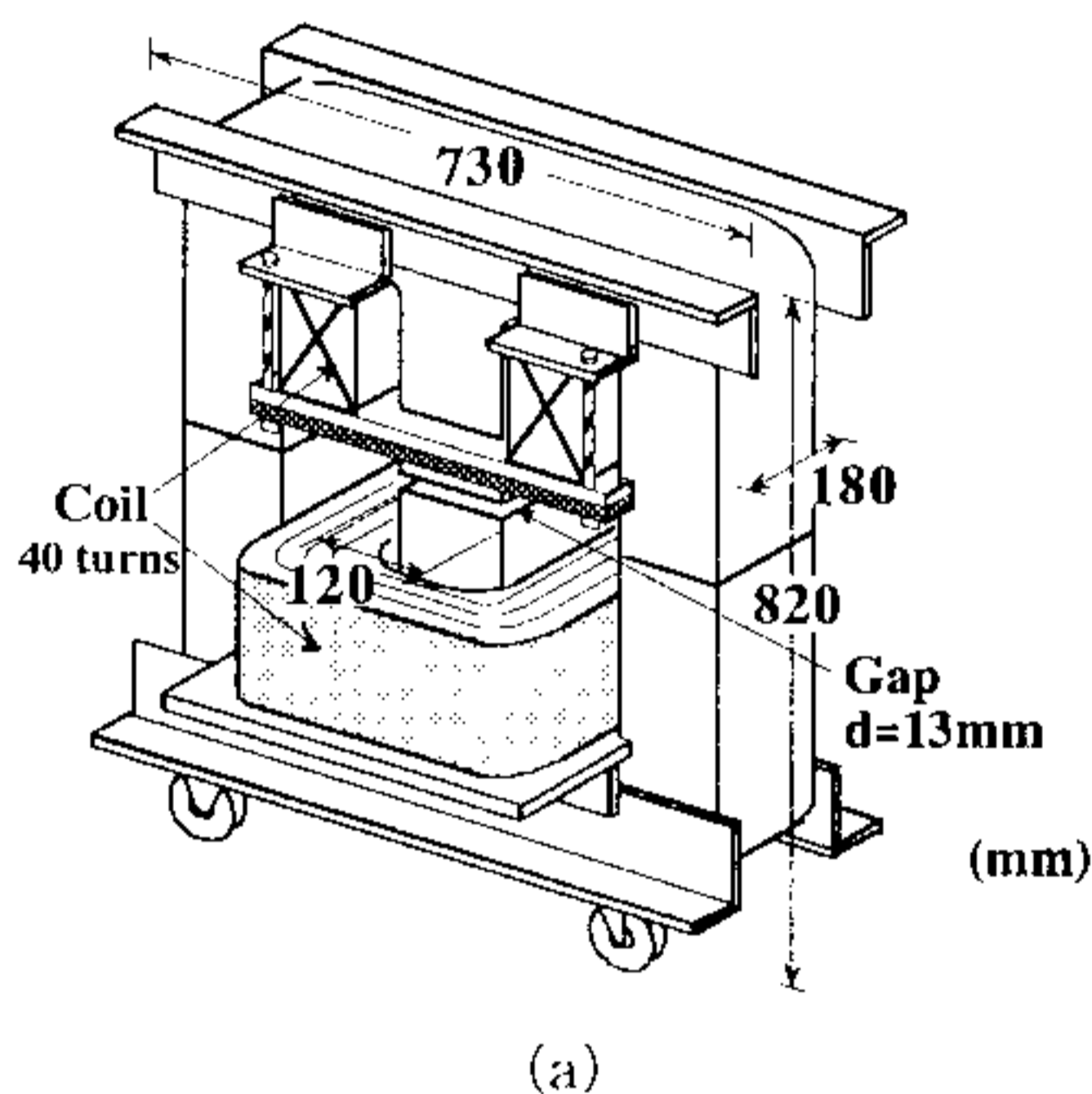


Fig. 8 AC magnetic field generator for DNA synthesis.  
(a) Configuration. (b) Incubator.

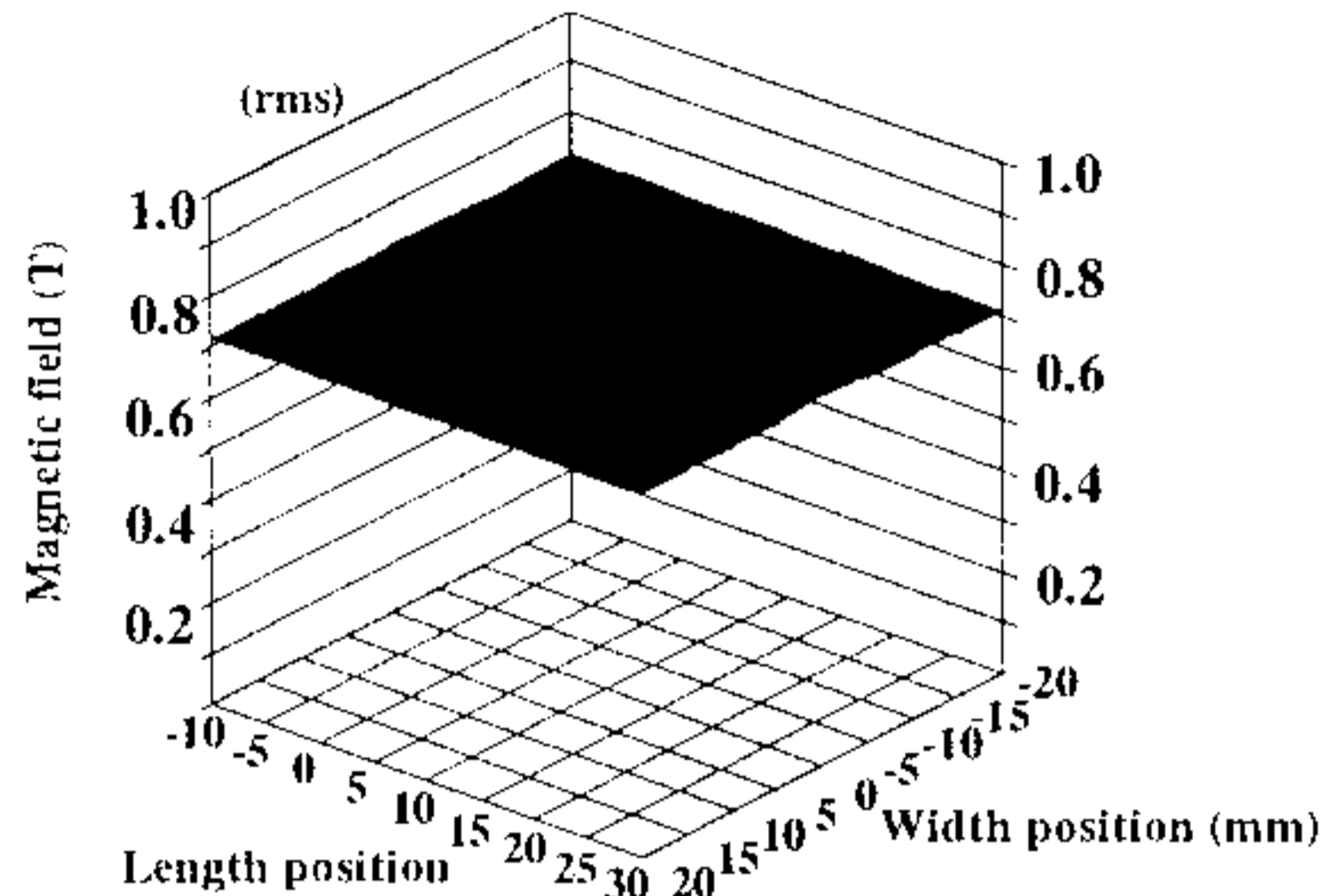


Fig. 9 Magnetic field distribution.

巻線 40 ターンとして周波数  $f=60$  Hz, 電流  $I=190$  A の通電により波高値  $B=1.0$  T の磁界が得られる。この領域における磁界分布をガウスメータにより測定した結果, Fig. 9 に示すような 2% 以内の勾配の均一な波高値  $B=1.0$  T の磁界が得られていることを確認した。また周波数  $f=60$  Hz の正弦波交流磁界が得られていることも併せて確認している。

4. 熱ショックタンパク発現

— 個体レベルに対する交流磁界 —

4.1 ストレス反応について

交流磁界を照射したときに線虫 *C. elegans* の細胞レベルでどのような変化が起こるのかを, ストレスタンパク質遺伝子を導入した線虫を用いてストレスタンパク質の発現から磁界の生体反応を調査した。線虫は, Fig. 10 に示すような体長約 1 mm, 体幅 0.1 mm ほどでそのほとんどは雌雄同体である。15~25 度の温度範囲で寿命 2 週間の短いライフサイクルで, 線虫が持つ遺伝情報がすべて明らかになっており生化学実験の対象に多く用いられている<sup>10)</sup>。

すべての細胞は, 熱や有毒な金属イオンによって周囲の環境が悪化すると, ある種のタンパク質を合成して身

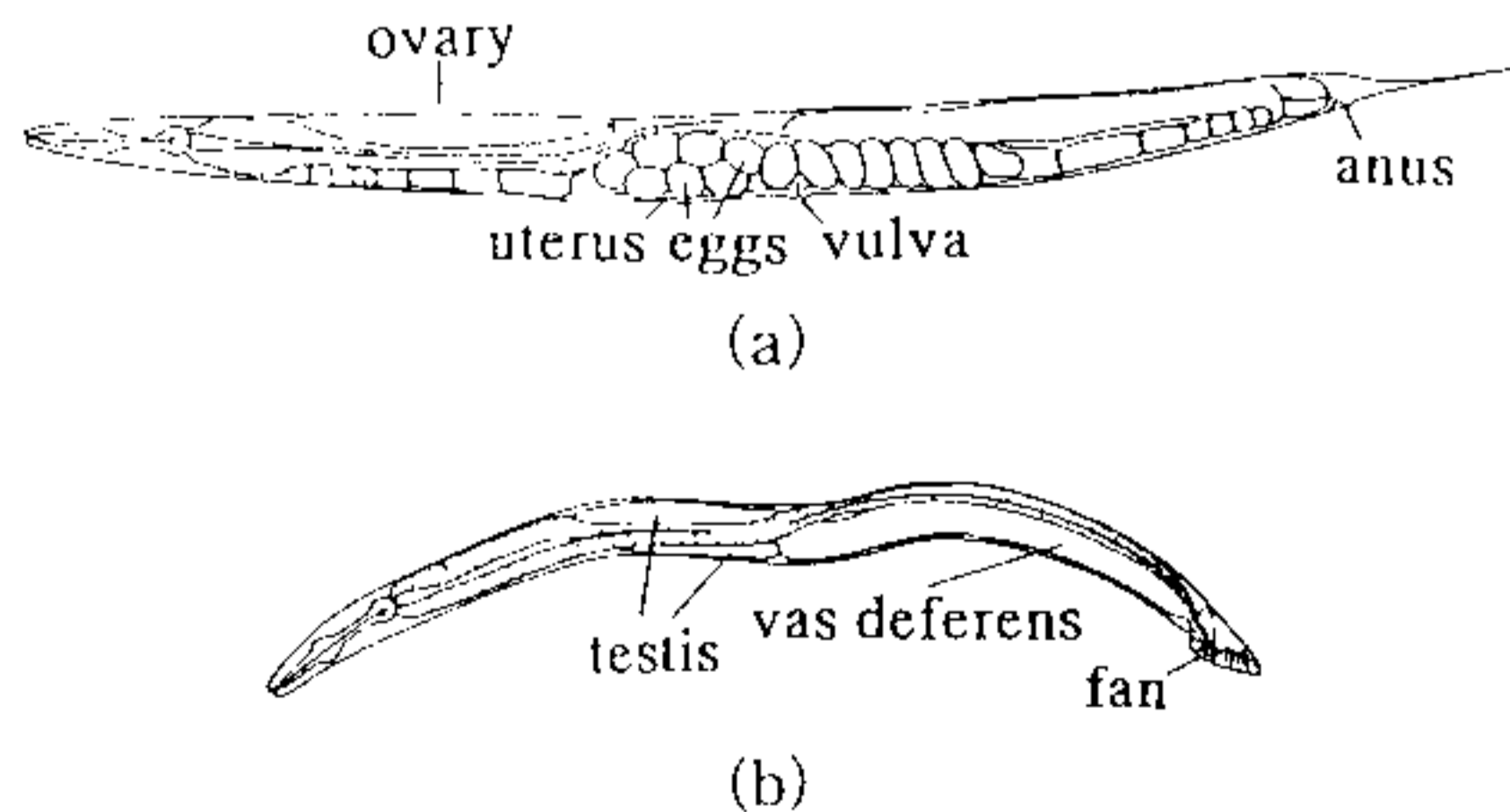


Fig. 10 Nematode (*C. elegans*).  
(a) Hermaphrodite. (b) Male.



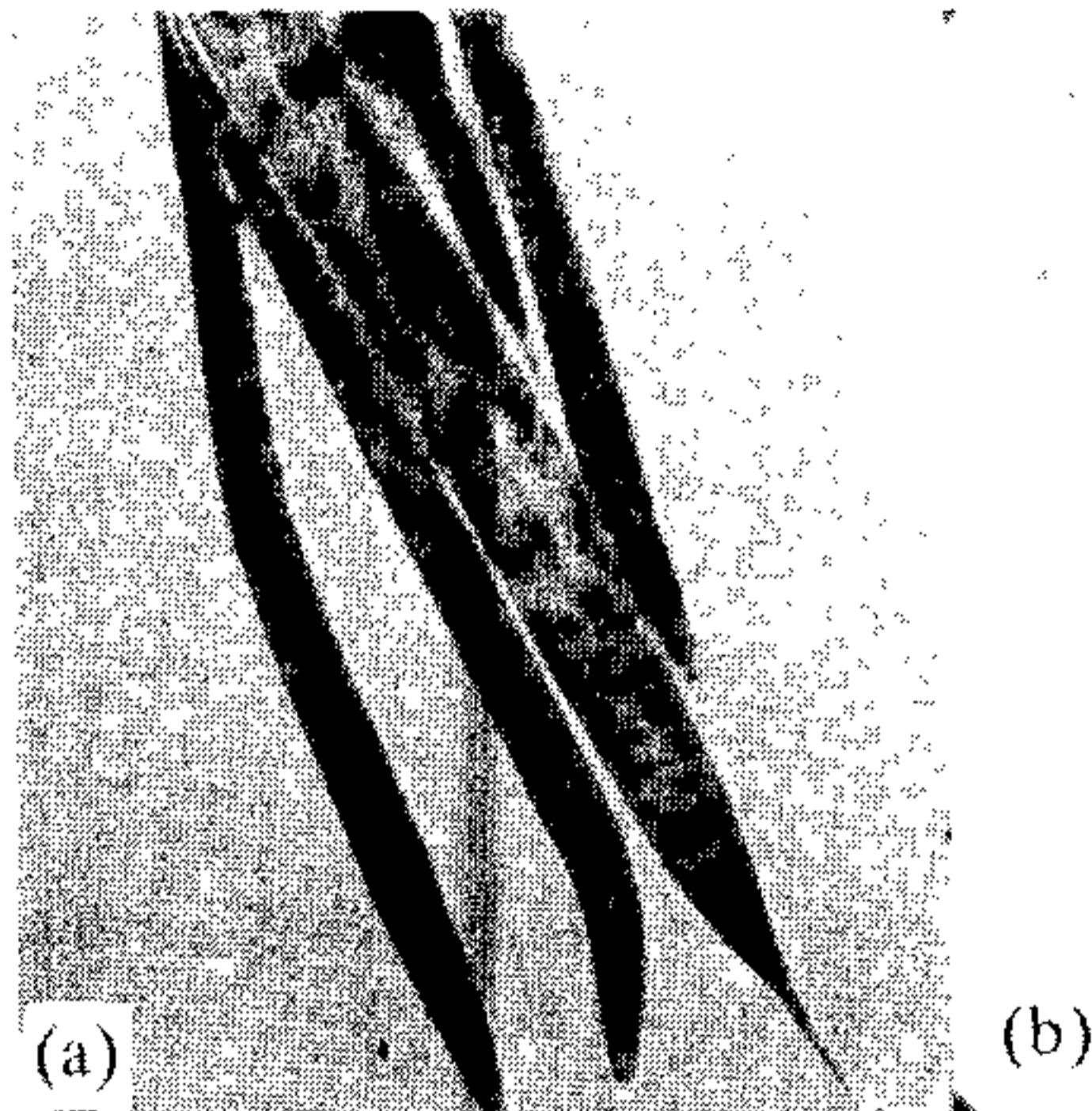


Fig. 11 Generation of heat shock protein.  
(a) 37°C heat stress (120 min). (b) 20°C environment (120 min).

を守ろうとする。このような反応のことをストレス反応、このとき合成されるタンパク質をストレスタンパク質（熱ショックタンパク質：Heat Shock Protein, HSP）と呼ぶ<sup>11)</sup>。ストレスタンパク質はストレスに曝されると非常に大量に発現するが、外界からのストレスに曝されていない正常な細胞においてもある一定量の発現がみられる。これは他のタンパク質がその構造を決定する折りたたみの過程に、ストレスタンパク質が関与しているためと考えられている。細胞ではDNAからmRNAを介してアミノ酸の配列を決定し、種々のタンパク質はそのアミノ酸がつながってできた長い鎖状のポリペプチドが、特定の構造に折りたたまれてできあがる。ストレスタンパク質はこの折りたたみが正しく行われるように介添えする役割を持ち、また外部からのストレスにより変成してしまったタンパク質を、正常な構造に戻すために折りたたみ直す働きを持つ。熱などのストレスにより環境が悪化した際には変成したタンパクが増加するため、細胞はこの修復のために多量のストレスタンパク質を合成することによって対処していると考えられている。

実験に用いた線虫は、カナダ・ブリティッシュ・コロンビア大学 E. Peter M. CANDIDO らにより HSP 16 遺伝子を導入し作成された PC 72 ubIn 5 株である<sup>12)</sup>。線虫の野性株に microinjection を施して 16 kDa の分子量を持つストレスタンパク質 (HSP 16) の遺伝子とリポーターとして働く酵素  $\beta$  ガラクトシダーゼの遺伝子を結合したものを導入した。ストレスタンパク質発現の定量は染色により行なう。熱ショックなどによりストレスタンパク質の発現が起こると、同時に酵素  $\beta$  ガラクトシダーゼが発現し、染色試薬中に含まれる基質の X-gal (5-

bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -D-galactoside) を加水分解して青い沈着を引き起こす。このことにより線虫の体内にストレスタンパク質が誘起された場合、青い染色が起こり、その濃淡により発現量が確認できる。

#### 4.2 交流磁界に対する反応<sup>13)</sup>

線虫 PC 72 ubIn 5 株は、熱ショックを与えると体内にストレスタンパク質を合成する。温度とストレス反応の関係は、磁界の影響を調べる上でも重要な要因となる。そこで、まず熱ショックとストレス反応の関係について検討した。染色の結果を Fig. 11 に示す。線虫 *C. elegans* は通常 20°C で飼育しているが、20°C で育てた線虫をそのまま染色したところ Fig. 11(b) のように全く染色が見られず、ストレスタンパク質は確認できなかった。これより温度を徐々に上げていくと、27°C 付近で体細胞の核の一部（子宮内の胚など）が染色されはじめた。さらに温度を上げると、33°C、120 分の熱ショックに曝したとき、Fig. 11(a) のようにほぼ 100% の個体のほとんどの細胞核が染まりストレスタンパク質の発現が確認された。なお、33°C の熱ショックにおいて、線虫の行動は激

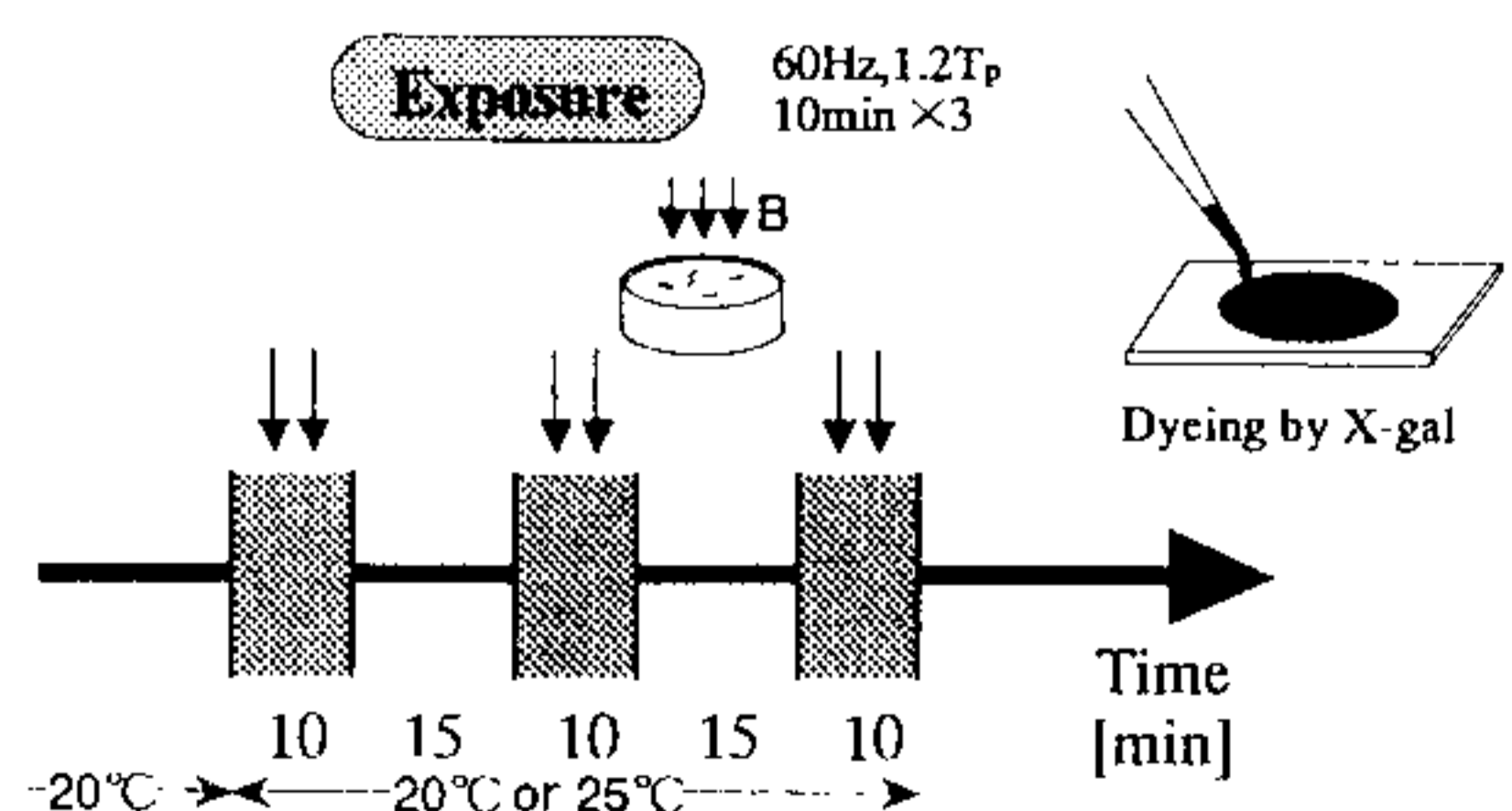
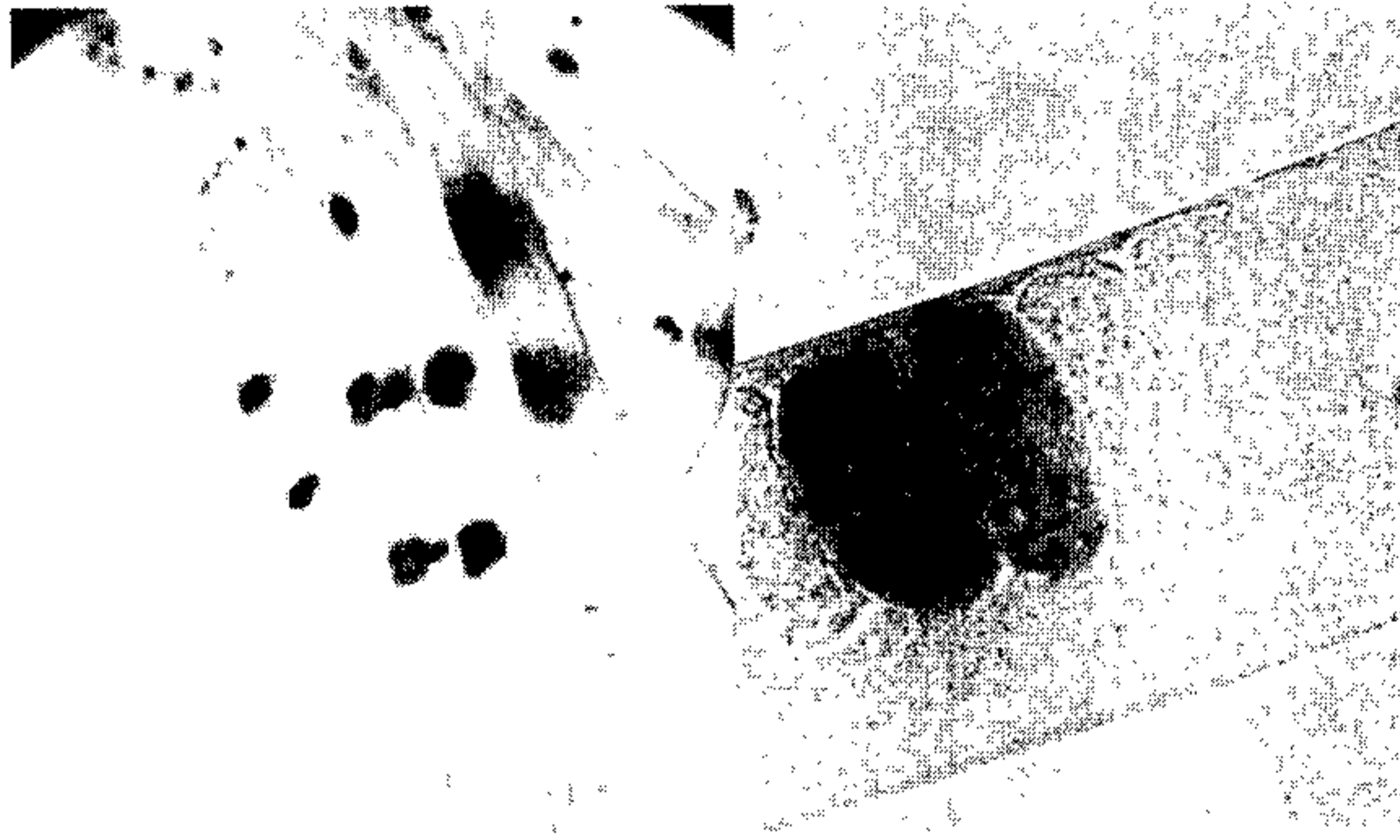


Fig. 12 Magnetic field exposure time schedule.



**Fig. 13** Generation of heat shock protein by coupled heat and magnetic field stress (magnetic flux density  $b = 0.8 \text{ Tp}$ , 40 min,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

しくなったが死に至るものはなかった。

磁界照射の過程は **Fig. 12** のタイムスケジュールに従う。寒天培地上で飼育している線虫に周波数 60 Hz, 波高値 1.2 Tp の交流磁界を 10 分ずつ, 15 分のインターバルをおいて照射した。温度は初め飼育温度と同じ  $20^\circ\text{C}$  に行ったが, このときストレスタンパク質の発現は見られなかった。また, 0.8 Tp, 40 分の磁界照射時も同様にストレスタンパク質は発現しなかった。そこで磁界照射中の 75 分間温度を  $20^\circ\text{C}$  から上げて, 熱により誘導を起こしやすいような条件に変えて実験を行った。温度ストレスの誘導される  $27^\circ\text{C}$  以下の温度条件を  $25^\circ\text{C}$  としたときの結果を **Fig. 13** に示す。成虫 (雌雄同体) の約 70% の個体において子宮内の胚および外胚葉細胞 (神経および下皮細胞) 核が薄く染色され, わずかにストレスタンパク質の発現が認められた。**Fig. 11** と比較すると, 交流磁界と温度上昇の相乗効果によるストレスタンパク質の発現は子宮内のある特定の卵細胞に偏っている。しかし, これは熱ショックにおいて徐々に温度を上げていった場合にも  $27^\circ\text{C}$  程度から同じ部位の染色が始まることから, 磁界による特異的な発現パターンではない。むしろ 1.2 Tp の交流磁界によるストレスは, 熱的なストレスの限界値に交流磁界を照射することによって, その発現がわかる程度の弱いものであるということであろう。この結果は, 温度と磁界の複合的なストレスによる微弱な影響と認識され, 追実験によりさらに明確にする予定である。

##### 5. カタラーゼ活性反応への影響

###### —酵素反応に対する交流磁界—

生体内で起こる化学反応の 1 つとして, 酵素活性反応に対する交流磁界の影響について検討した。酵素による基質の分解作用と交流磁界の関係について, カタラーゼ

を用いた実験を行った。カタラーゼはプロトヘムを含み常磁性を示すため, これまでにも磁場の効果が検証されている。静磁界の作用について,  $B = 6.0 \text{ T}$  の不均一磁界において活性の増加があったとするものや<sup>14)</sup>,  $B = 1.0 \text{ T}$  の均一磁界で効果が見られなかったとするものがある<sup>15)</sup>。交流高磁場中での報告はされていない。

カタラーゼはプロトヘム (1 分子当たり 4 個,  $\text{Fe}^{3+}$ ) を作用基とするヘムタンパクであり, 分子量は約 24 万で 0.09% の鉄を含む。自然界に広く分布し, 好気性微生物, 植物, 動物に広く存在するが哺乳類では組織によって活性が異なり, 肝臓, 腎臓, ヒト赤血球では活性が高い。体内で有害な過酸化水素を水と酸素とに分解する。

実験を行うにあたり, 感度を高めるため酵素カタラーゼや基質である過酸化水素の濃度を測定可能限界付近の値に決定し, この測定条件を **Table 3** に示す。磁界の印加等の実験の過程は, カタラーゼの反応速度は非常に速いため, **Fig. 14** に示すように反応時間を 10 分間, 反応

**Table 3** Measurement condition for catalase activity.

	Sample	Blank
50 mM Na · K phosphate buffer (pH 7.0)	20 $\mu\text{l}$	
catalase (3.2 u/ml)	40 $\mu\text{l}$	40 $\mu\text{l}$
50 mM $\text{H}_2\text{O}_2$		20 $\mu\text{l}$
	+ ( $20^\circ\text{C}$ , sampling 0, 1, 3, 5, 10 min)	
1 N HCl	12 $\mu\text{l}$	12 $\mu\text{l}$
Total	72 $\mu\text{l}$	72 $\mu\text{l}$

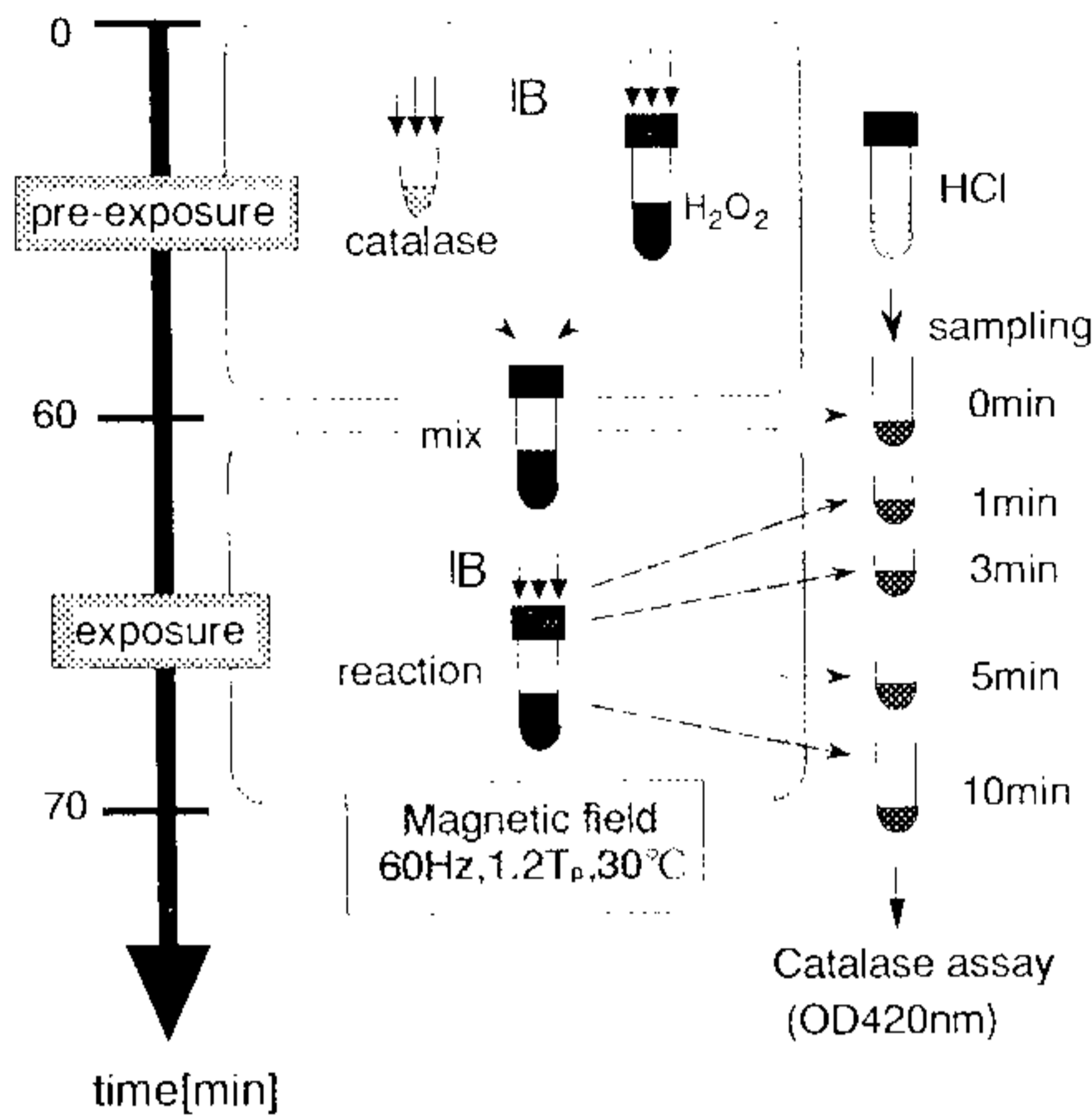


Fig. 14 Experimental process for catalase activity.

温度 20°C, 磁界強度は  $B = 1.2 \text{ Tp}$  (波高値) に設定した。まず, カタラーゼ (3.2 u/ml) と過酸化水素 (50 mM) を別々に分けて反応前に周波数  $f = 60 \text{ Hz}$ , 磁界  $B = 0.5 \text{ Tp}$  の交流磁界に 60 分照射する。その直後にすばやく混ぜ合わせて, さらに反応中の 10 分間は磁界 ( $B = 1.2 \text{ Tp}$ ) を照射した。反応の時間変化を取るために 0, 1, 3, 5, 10 分にサンプリングして, HCl で反応を止めた。これらの試料中の過酸化水素濃度を波長 420 nm の吸光度を測定することによって求め, カタラーゼの活性とした。

実験結果を Fig. 15 に示す。実験は 3 回行い, 平均値と分散値を表わす。なお, 過酸化水素の吸光度はほぼ 1 に

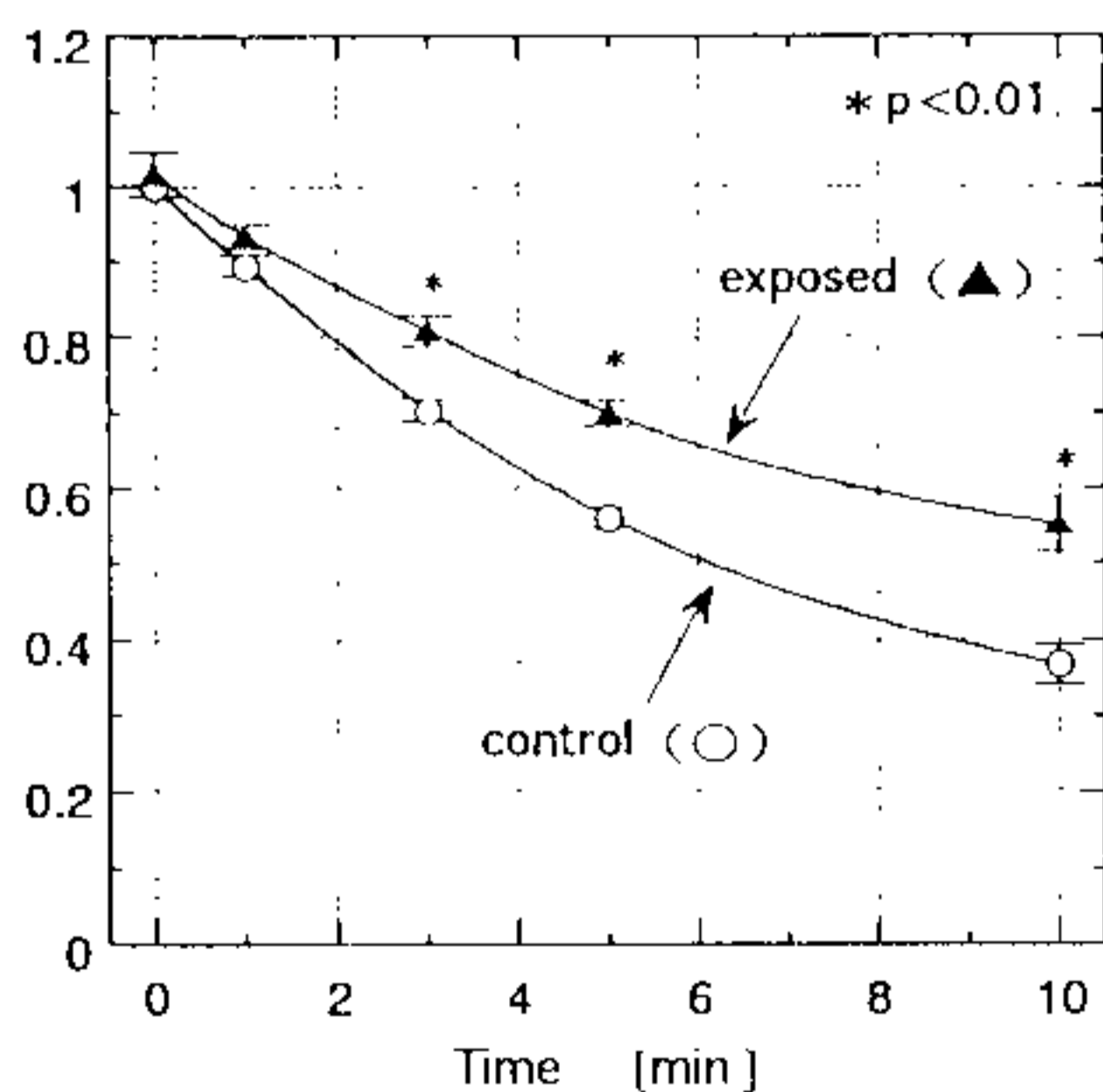


Fig. 15 Effect of catalase activity under magnetic fields.

なるように調整したが, 過酸化水素は不安定ゆえ毎日作り替えるため日によって濃度が微妙に異なり, 実験結果の値が少しずつ変わってしまう。そのため吸光度は control の 0 分での値を 1 とし, 規格化して表わした。Fig. 15 から, 時間とともに過酸化水素が分解されて吸光度が下がっていくが, exposed の活性が control に比べて若干弱く, 交流磁界によりカタラーゼ活性が阻害されていることが確認された。なお, 2 群間の母平均の差の検定を行ったところ, 3 分以降については有意水準が 1% 未満であり, 有意な差を認めた。

筆者らは, 酵素  $\beta$  ガラクトシダーゼ活性や制限酵素 (*EcoRI*) によるプラスミド DNA の切断に対する影響を検討したが同レベルの磁界では何ら変化は認めなかった<sup>5)</sup>。

## 6. DNA 合成速度に及ぼす影響

### —DNA 過程に対する交流磁界—

生命現象の基本的な DNA 合成過程において, 低周波交流高磁界が与える影響について検討した。実験の原理は, Fig. 16 に示すようにあらかじめアデニン (A) のみが 300~400 塩基連なった人工的に合成された単鎖の DNA を用意し, これを鋳型 DNA として合成を進める。DNA の相補性から合成に使われ取り込まれるのは, デオキシリボヌクレオチド三リン酸の一種でチミンを塩基として持つ dTTP のみとなる。このため, dTTP がどれだけ DNA 合成によって取り込まれたかを調べることで合成の速さが確認できる。

この際取り込まれる dTTP は水素の放射性同位元素である  $^3\text{H}$  で標識してあるため DNA 合成を行った後, DNA をフィルタにかけて濾し, DNA に取り込まれなかった余分な dTTP を洗い流す。その後, 液体シンチレーションカウンタで放出される放射線の強さを測定すること

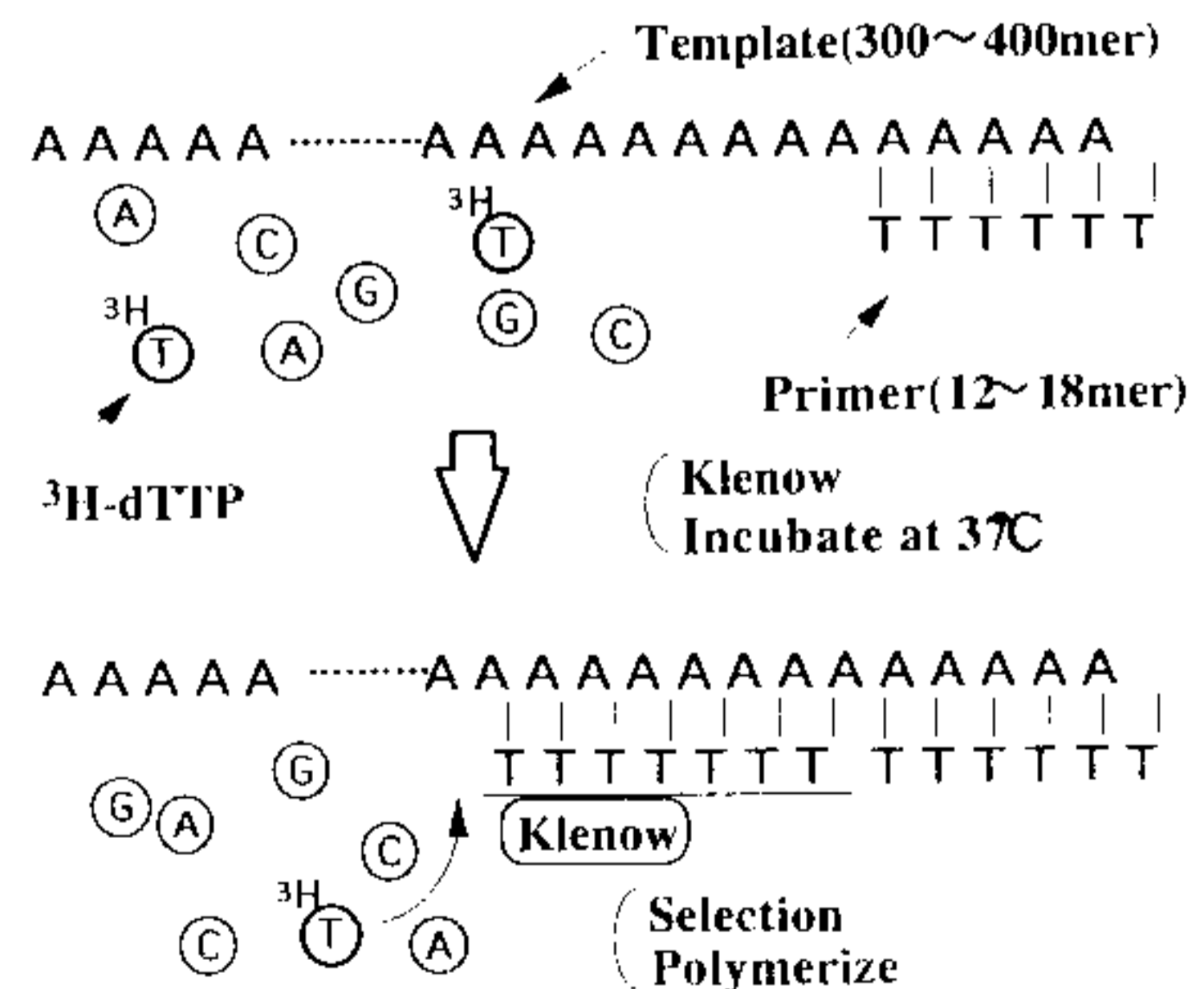
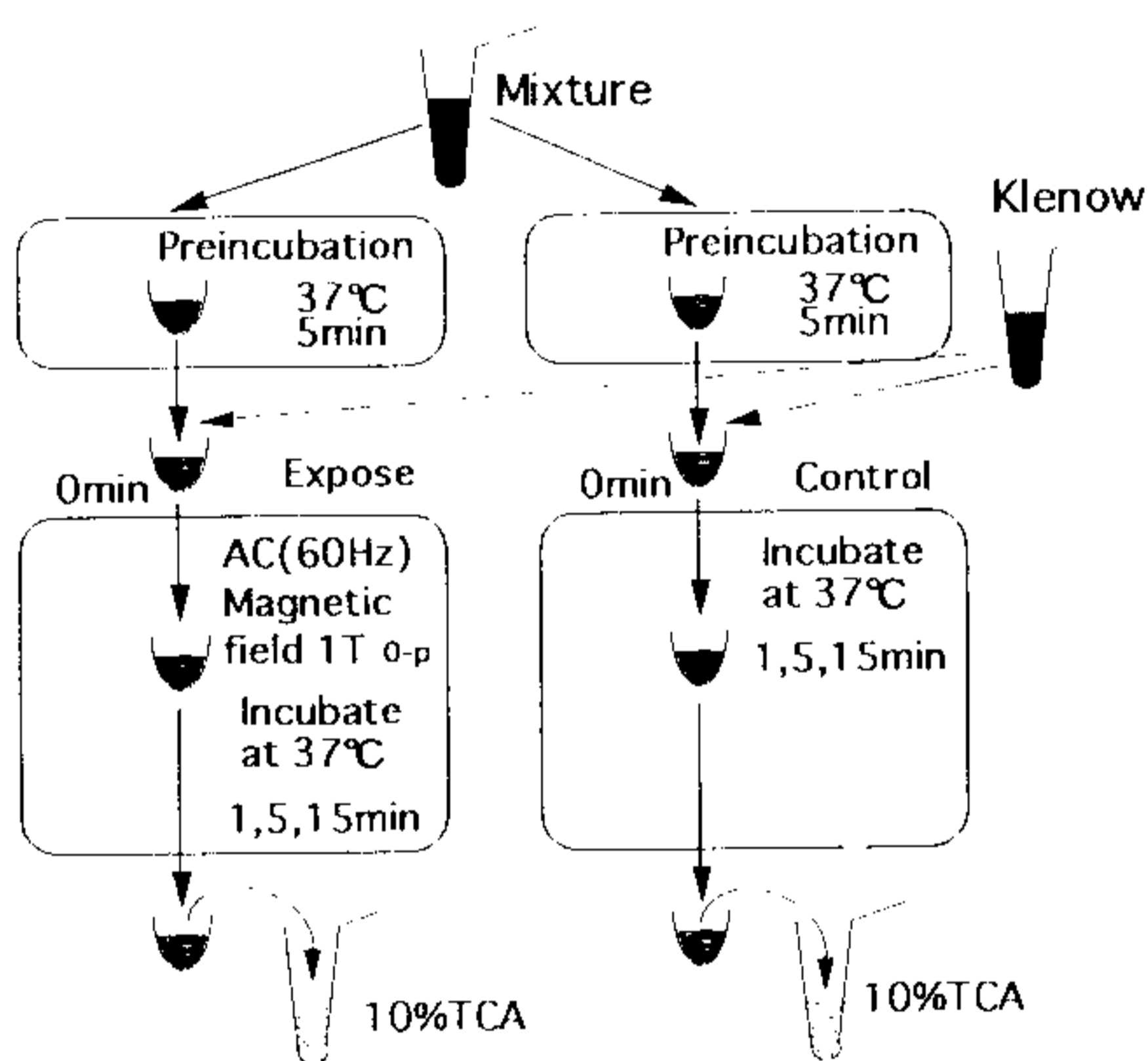


Fig. 16 Principle of the speed of DNA synthesis measurement.

**Table 4** Concentration of sample for DNA synthesis.

Ingredient	Final concentration
Template-Primer (Liq.)	100 $\mu$ M
KPO <sub>4</sub>	67 mM
MgCl <sub>2</sub>	6.7 mM
2-mercaptoethanol	1.0 mM
dATP	40 $\mu$ M
dCTP	40 $\mu$ M
dGTP	40 $\mu$ M
<sup>3</sup> H-dTTP+dTTP	40 $\mu$ M
Klenow	0.15 U

(M = mol/l)



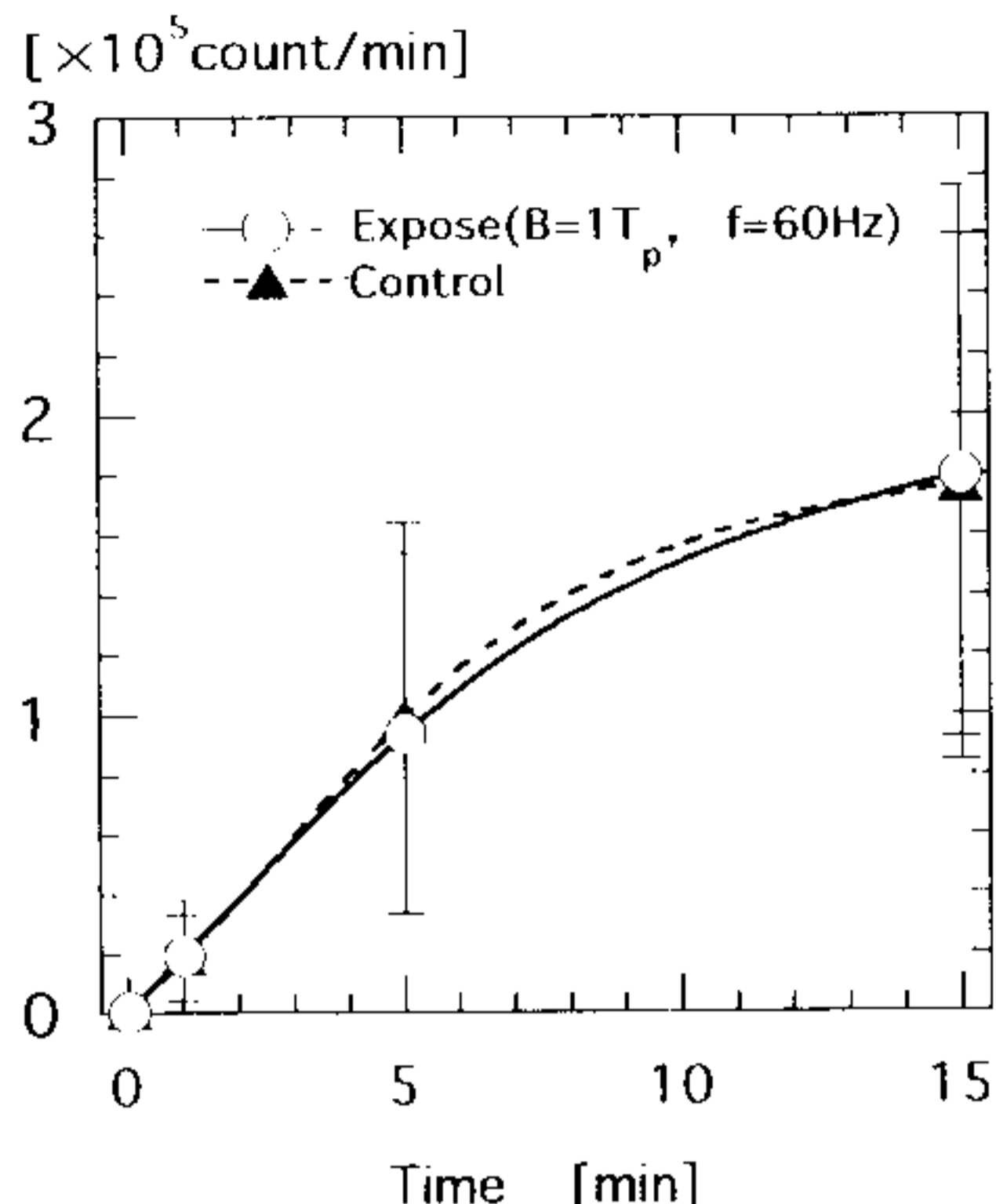
**Fig. 17** Experimental process for DNA synthesis.

とにより、どれだけ量の dTTP が DNA に取り込まれたのか知ることができる。

実験では DNA 合成酵素として klenow を用いた。klenow の働きは、液中に存在する 4 種類のデオキシリボヌクレオチド三リン酸の中から、塩基にチミンを有する dTTP を選びだし DNA 鎖を伸ばしていくというものである。

試料は、反応時の濃度が **Table 4** に示したように調整した。ここでは、DNA の原料となる 4 種類のデオキシリボヌクレオチド三リン酸は、等濃度になるよう調整してある。これは klenow がデオキシリボヌクレオチド三リン酸の選択が必要な状況下で実験するためである。

実験の過程を **Fig. 17** に示す。まず、klenow 以外の材料を混合した試料 (mixture) を作成する。これは、



**Fig. 18** Influences on the speed of DNA synthesis.

klenow を添加するとその時点から反応が始まってしまうためである。この mixture を調整した後、37°C で 5 分間予備保温を行う。この後、klenow を添加し、交流磁界を印加した状態と磁界が無い状態で 37°C で保温しながら反応を進める。このとき交流磁界は  $B = 1.0 T_p, f = 60$  Hz とし、反応時間は 1 分、5 分、および 15 分として実験を行った。

反応時間が経過後、速やかに濃度 10% の TCA (trichloroacetic acid) と混ぜ合わせ酵素を失活させ反応を止める。この後、それぞれのサンプルをフィルタにかけ、5% TCA により DNA に取り込まれなかった余分な dTTP を洗い流し、液体シンチレーションカウンタで放射線量をカウントし、合成された DNA 鎖の長さを調べた。

**Fig. 18** に実験結果を示す。横軸に反応させた時間、縦軸に液体シンチレーションカウンタでのカウント数をとっており、縦軸は合成された DNA 鎖の長さに対応している。この結果は、6 回の実験を行って平均をとったもので、エラーバーは標準偏差を表わしている。 $B = 1.0 T_p, f = 60$  Hz の交流磁界を印加した場合とそうでない場合とを比較すると、両者にほとんど差が見られないことがわかる。このことから、この状態の交流磁界による DNA 合成速度にあたる影響はないことが明らかとなった。

また、**Fig. 18** において時間が経つにつれ DNA 合成速度が鈍ってきているが、これは合成が進むに連れ dTTP が DNA 合成に使われ減ってゆき、合成開始時に比べ dTTP の濃度が下がってくるためである。

この他 DNA レベルにおいて、DNA 合成のエラー頻

度ならびに試験管内ミスマッチ修復系でのDNA修復反応に対する磁界効果を検討したがいずれも有意な差は検出されなかった。

## 7. ま と め

都市生活においては、あらゆる場所において磁界発生源が存在するが、電気製品の極めて近傍以外その値は $B=0.2\mu\text{T}$ 以下であり、被験者の24時間計測においても磁界の平均値は $B=0.2\mu\text{T}$ 以下であった。この値は、現在の一般人のガイドラインからしても1/500である。しかしながら、ガイドラインは磁界の安全基準を示すものではないので、疫学研究からの報告を軽視することはできない。よって、生物学的、生化学的研究による因果関係を明らかにする研究は重要であり、特に電気関係者にとって極めて関心をひく。

このような状況において、低周波交流高磁界 ( $f=60\text{ Hz}$ ,  $B=0.5\text{-}1.2\text{ T}$ )が個体、生化学反応、ならびにDNA合成に与える影響について *in vivo* (生体レベル) から *in vitro* (試験管) での実験から調査した。

実験結果によれば、一部の実験においてわずかに磁界の作用と思われる結果が得られている。しかし、これらの作用は決して生体に対する致命的なレベル、細胞への持続的な作用を与える程度ではない。

我々は、もし明確な磁界の生体への影響があるとするれば、それはどのような過程なのかを明確にしたい。今後同様な調査研究を行いその反応系を明らかにしたい。磁界の生体への作用は、正負の影響があり磁気医療等の応用面も考慮して研究を進める必要がある。

## 参 考 文 献

- 1) T. PERRY ; Today's view of magnetic fields, *IEEE Spectrum*, **31** (12), 14-23 (1994).
- 2) 別所一夫 ; 常温交流強磁場発生装置と生体磁気研究への応用, 電気学会マグネティックス研究会資料, MAG-92-90 (1992).
- 3) K. BESSHO, S. YAMADA, T. KUNITANI, T. NAKANURA, T. HASHIGUCHI, Y. TANIMOTO, S. HARADA, H. YAMAMOTO and R. HOSONO ; Biological responses in *Caenorhabditis elegans* to high magnetic fields, *Experientia*, **51**, 284-288 (1995).
- 4) 橋口 敬, 津山和信, 山田外史, 別所一夫, 細野隆次 ; 交流磁界が線虫の発生・行動に及ぼす影響について, 日本AEM学会誌, **2**(3), 40-43 (1994).
- 5) 山田外史, 橋口 敬, 細野隆次, 山田外史, 山本 博, 別所一夫, 上野照剛, 谷本能文 ; 低周波交流磁界による生体内化学反応への影響, 電気学会論文誌C, **116**, 187-192 (1996).
- 6) S. YAMADA, M. KAWASAKI, Y. GUNJI, S. HARADA and H. YAMAMOTO ; Effect of low frequency magnetic fields on DNA synthesis, *IEEE Trans. on Magnetics*, **MAG-32**, 5115-5117 (1996).
- 7) 郡司芳郎, 倉又 理, 山田外史, 原田真市, 米倉秀人, 山本 博 ; ミスマッチ修復に及ぼす低周波交流磁場の影響, 電気学会マグネティックス研究会資料, MAG-96-139, 67-72 (1996).
- 8) National Institute of Environmental Health Sciences and U.S. Department of Energy ; Questions and Answers about E.M.F. (1995).
- 9) A. NAFALSKI, N. ROY and S. YAMADA ; Measurement of magnetic field in urban environment, Proc. of Australian University Power Electronics Conference, 247-252 (1996).
- 10) 細野隆次 ; 線虫 *C. elegans* を用いた生物学の展開, 科学, **51** (9), 570-576 (1981).
- 11) W.J. WELCH ; How cells respond to stress, *Scientific American*, May, 34-41 (1993).
- 12) E.G. STRINGHAM, D.K. DIXON, D. JONES and E.P. M. CANDIDO ; Temporal and spatial expression patterns of the small heat shock (hsp16) genes in transgenic *Caenorhabditis elegans*, *Molecular Biology of the Cell*, **3**, 221-233 (1992).
- 13) 橋口 敬, 南 志郎, 山田外史, 岩原正吉, 別所一夫, 細野隆次 ; 低周波交流磁界の線虫への影響, 電気学会マグネティックス研究会資料, MAG-94-52, 131-137 (1994).
- 14) W. HABERDITZL ; Enzyme activity in high magnetic field, *Nature*, **213**, 72-73 (1969).
- 15) S. UENO and K. HARADA ; Experimental difficulties in observing the effects of magnetic fields on bio-logical and chemical processes, *IEEE Trans. on Magnetics*, **MAG-22**, 868-873 (1986).