

超低周波電磁場への曝露時間と雄マウス生殖器官への影響

畑中恒夫¹⁾ 須藤有希²⁾

¹⁾千葉大学・教育学部 ²⁾千葉大学・教育学部・学部生

Effects of Exposure Periods to Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields on Male Mice Fertility

HATANAKA Tsuneo¹⁾ SUDOU Yuki²⁾

¹⁾Faculty of Education, Chiba University ²⁾Faculty of Education, Chiba University : Undergraduate Student

電化生活が発達するにつれ人を含め動物たちは人工的な電磁波にさらされるようになり、それらの悪影響について研究が進んでいる。我々は以前、ネズミ駆除器からの超低周波電磁場曝露により、雄マウスの精子数が減少することを報告している。我々は、ミツバチでの実験に基づいて、超低周波電磁場が磁気受容器で受容され、感覚ストレスによりマウスの精子数が減少する可能性を考えている。それを確認するために、麻酔で感覚麻痺をさせて電磁場曝露を計画しているが、適正な麻酔時間を決定するため、電磁波強度、曝露時間、曝露期間と影響の程度の間関係を調べる必要がある。そこで電磁波強度を測ると共に、1日当たり8時間と16時間で、1月間と2月間の間の電磁場曝露の影響を調べた。その結果、ナノテスラオーダーの弱い電磁場で効果があり、1日当たりの曝露時間を長くしたほうが、曝露期間を長くするより強い影響が表れ、また8時間より短い曝露時間で、影響が表れることが示された。

Since the number of electromagnetic device have increased and electromagnetic radiation is present in ever increasing amount in our environment, there is a growing interest in potential effect of electromagnetic fields on both human and animal health.

We reported that continuous exposure of male mice to extremely low-frequency electromagnetic fields (ELF-EMFs) generated by an electronic rodent control device resulted a significant reduction in sperm counts. We postulated that the ELF-EMFs were received by a magnetoreceptors and this sensory stress affected fertility of male mice. To verify this hypothesis, we plan that anesthetized animals are received the ELF-EMFs exposure. The intensity of ELF-EMFs from the device was measured and male mice were exposed to ELF-EMFs for 8hr/day during 1month, 8hr/day during 2months, 16hr/day during 1month or 16hr/day during 2months. The results showed that nanotesla order week ELF-EMFs were able to affect to fertility, and an exposure period per day was more definitive to the amount of sperm reduction. But even the shorter period exposure of 8hr per day had a recognizable damaging effect.

キーワード：超低周波電磁場 (extremely low frequency electromagnetic field) 曝露時間 (exposure period) 生殖機能 (fertility) 精子数 (sperm count) 雄マウス (male mice)

近年、電化が進み、様々な家庭電気製品に囲まれるようになると、それらの器具から放出される商用周波数を含む低周波の電磁波の影響が心配されるようになった。送電線と幼児白血病の関係は古くから注目されてきたし (Feychting et al. 1995)、変電所などの電磁場曝露の多い職場での腫瘍性疾患や退行性疾患の関係も調べられている。また、最近のミツバチの減少と結びつける人も出てきている。このような電磁波の生態に及ぼす作用について、電場のイオン流に及ぼす作用や磁気で生じる誘導電流による発熱など様々なものが考えられ、様々な動物でDNA合成などの分子機構・細胞レベルの研究から学習行動レベルまで多くの研究がされているが、用いる電磁波の波長、強度、曝露時間など様々であり、その結果も異なっている (Brent 1999)。

電磁波の作用を積極的に利用する商品もあり、ネズミ駆除器もその一つである。これは、ネズミの嫌う電磁波を発生してネズミを追い払うというものである。したがって、この器具から発生する電磁波はネズミになんらかの不快な感覚を生じさせることになり、白血病などとは電磁波の作用機序が異なる可能性がある。我々はネズミ駆除器 (ラットリペラー) からの電磁場曝露で、雄マウスの精巣で精子数が減少することを見てきた (畑中・中野2009)。同じようなネズミ駆除器で超音波を発生してネズミを忌避させるものがある。マウスは超音波をコミュニケーションに利用しており、聴覚系で受容可能である。妊娠雌マウスの超音波曝露により胎児の発達が遅れることが知られており、母マウスの麻酔で聴覚を麻痺させると超音波曝露しても発達阻害が起こらないことから、超音波刺激のストレスが胎児に悪影響を与えたためと考えられている (Haque et al. 2004)。雄マウスの精子数減少や妊娠雌マウスの胎児への悪影響などの生殖系

連絡著者：
Corresponding Author：

への影響は、超音波受容によるストレス反応と同様に、電磁波を受容してストレスで生じた可能性がある。その確認のためには、超音波曝露実験同様に、麻酔下で電磁場曝露を行うことが考えられる。以前の試験で、精子数減少を確認した時は連続して電磁場曝露を行った。日常活動を行なわせながら、麻酔の効果を見るには、麻酔下に置く時間に限度がある。超音波は1日4時間曝露で影響が出たが、確認できる精子数減少を引き起こすために必要な超低周波電磁場曝露の時間は不明である。そこで、最低必要な曝露時間を探るために電磁波強度や曝露時間の関係を得る目的で、1日当たり曝露時間を変え、また曝露期間を変えて影響を調べた。

材料と方法

6週齢（実験開始時）のddY系統のオスマウスを30匹使用した。マウスは $23 \pm 1^\circ\text{C}$ に保たれた部屋で12時間ごとの明暗周期下で、水と餌（日本クリアCE-2）は任意に摂取できるようにして飼育された。マウスは無作為に5匹ずつ6つのケージにわけ、2群はコントロール群で、それぞれ1月および2月飼育した。残りは超低周波電磁場曝露群でケージのすぐ横にラットリベラーPAC-1C（Global Instrument Ltd.）を置き、1月あるいは2月間その装置から出る電磁波に曝露した。1日当たりの曝露時間を8時間（6:00~14:00）と16時間（6:00~22:00）の2種類、曝露期間を1月と2月の2種類を組み合わせた4群とした。電磁波の有効距離は1.5mとわたれているので、コントロール群は実験群からケージを2m以上はなして電磁波の影響がないようにして飼育した。装置の説明書には長時間の電磁場曝露によりネズミは水や餌の摂取量が減少し、衰弱するとなっているが、以前の試験ではそのような変化が見られなかったが、念のため実験期間中体重を測定した。

電磁場曝露を1月あるいは2月続けた後、実験群及びコントロール群のマウスはクロロホルム吸引で絶命させた後、精巣、精嚢、包皮腺を摘出し、右側の精巣と、左右の包皮腺及び精嚢の重量を測定した。その後、それらの器官は乾燥機に入れ1週間以上乾燥させ、再度乾燥重量を測定した。

左側精巣は精子数の測定に使用した。Amman and Lambiase (1969)の方法に従って、脂肪の乳化を防ぐと共に粒状化を減らすために0.05%のトリトンXと100ppmの抗生物質Thimerosalを加えた0.9%NaCl溶液5ml中で精巣をホモジェナイズし、簡易ミキサーにかけた後再び、ホモジェナイズして、冷蔵庫で保存し、計数を行った。試料は数日間保存可能であった。計数には血球計算盤を用い、1標本から4つのサンプルをとり、血球と同様に計測した。

データは平均値±標準誤差で表した。生殖器官の重量及び精子数の比較にはt検定を用いた。

電磁波強度はDigital Electrostress Analyser ME 3840Bを用いて測定した。基本50Hzの上に小さな357Hzの波が特有のリズムで重なるので、50Hz感度での強度を測定した。

結果

(1) 体重

図1にはコントロール群、1日当たり8時間曝露群、16時間曝露群の曝露初日と曝露終了日の平均体重を示しているが、1月間（図1a）あるいは2月間（図1b）の超低周波電磁波曝露により体重に変化は現れなかった（t検定、 $p > 0.05$ ）。

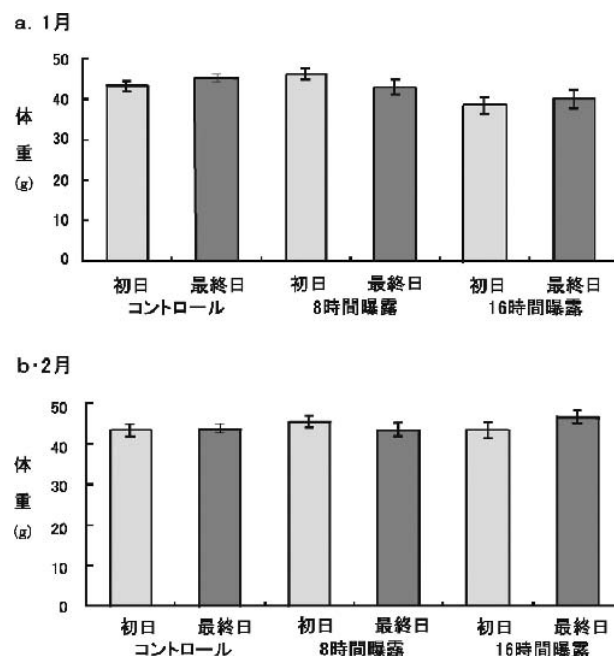


図1 体重への電磁波曝露の影響

a. 1月曝露の場合、b. 2月曝露の場合。それぞれ、コントロール群、1日8時間曝露群、1日16時間曝露群のマウスの、曝露初日と曝露最終日の平均体重。グラフの棒の先端の線は標準誤差を表す。

(2) 生殖器官の重量

生殖器官の重量は、精巣は右側のみであるが、精嚢、包皮腺は左右を合わせて測定した。摘出後の精嚢の平均重量は図2aに示してあるが、1月と2月のコントロール群、1月と2月の1日8時間曝露群、1月と2月の1日16時間曝露群それぞれの各群の間に有意差はなかった（t検定、 $p > 0.05$ ）。包皮腺の平均重量は図2bに示してある。どういうわけか2月曝露のコントロール群の重量が少なかったため、1月のコントロール群、1月の16時間曝露群、2月の16時間曝露群との間に有意差を生じた（t検定、それぞれ $p < 0.005$ ）。精巣の平均重量は図2cに示してある。これも精嚢の平均重量と同様に、1月と2月のコントロール群、1月と2月の1日8時間曝露群、1月と2月の1日16時間曝露群それぞれの各群の間に有意差はなかった（t検定、 $p > 0.05$ ）。

(3) 精子数

1月後、コントロールマウスの精子数は $174.1 \pm 4.1 (\times 10^6)$ 個/ml、8時間曝露マウスでは $127.9 \pm 7.3 (\times 10^6)$ 個/ml、16時間曝露マウスでは $67.8 \pm 9.6 (\times 10^6)$ 個/mlであり、2月後のコントロールマウスは $175.3 \pm 2.3 (\times 10^6)$ 個/ml、8時間曝露マウスは $111.6 \pm 3.3 (\times 10^6)$

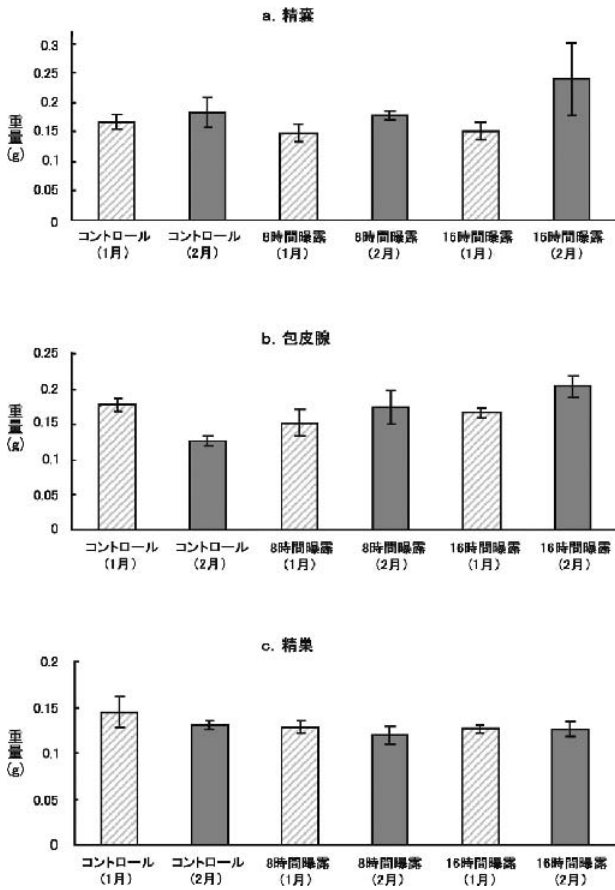


図2 生殖器官(精囊・包皮腺・精巣)の重量への電磁波曝露の影響

a. 精囊, b. 包皮腺, c. 精巣。それぞれ, 1月および2月のコントロール群, 1日8時間曝露群, 1日16時間曝露群のマウスの, 曝露後の臓器の平均重量。グラフの棒の先端の線は標準誤差を表す。

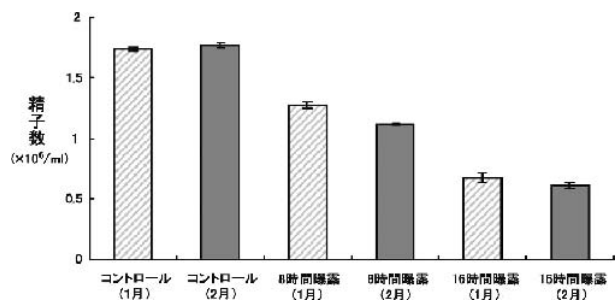


図3 精子数への電磁波曝露の影響

1月および2月のコントロール群, 1日8時間曝露群, 1日16時間曝露群のマウスの, 曝露後の精巣中の平均精子数。グラフの棒の先端の線は標準誤差を表す。

個/ml, 16時間曝露マウスでは $61.8 \pm 1.2 (\times 10^6)$ 個/mlとなった(図3)。どちらもコントロールに比べ8時間曝露マウスで約7割, 16時間曝露マウスで4割に減少した。曝露時間が同じ一日当たり8時間の場合, 1月曝露群より2月曝露群のほうが精子数が減少した(t検定, $p < 0.05$)が, 一日当たり16時間の場合, 1月曝露群と2月曝露群で有意差はなかった。

(4) 電磁波強度

このネズミ駆除装置から発生する電磁波は, 一定の周波数の電磁波が発生し続けるのではなく, 基本の商用周波数(50Hz)の上に大きさ1/5の357Hzの波が乗った波が2分24秒間持続した後, 2倍の大きさの50Hzの波と357Hzの波が乗った波が1.2秒毎に交互に4分48秒間持続するものが繰り返し生じている(畑中ら2005)。357Hzが持続的に加算するときは(定常波)50Hzの波形は小さくなり, 357Hzが断続的に発生しているときは(変動波)50Hz波形が大きくなるので, 電磁波の強度も2段階に変化する。駆除器から5cm離れたところ(ケージの駆除器側)で変動波が出ているとき2,200nT, 30cm離れたところ(ケージの駆除器と反対側)で26nTの強度であった(図4)。コードはシールド線を用いたので, 配線コード部分から電磁波は検出されなかった。

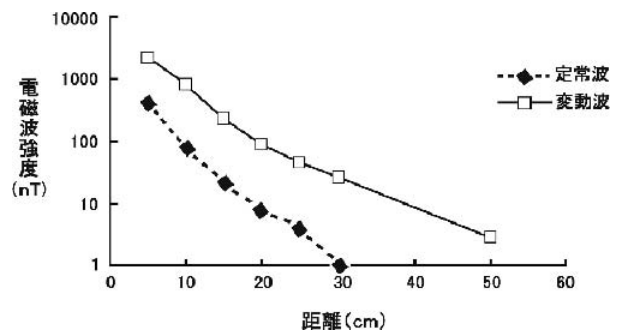


図4 電磁波強度

マウス駆除器から出る電磁波の, 駆除器から距離による強度の違い。50Hzに357Hzが定常に加算されているとき(定常波), 大きな50Hzに367Hzが律動的に加算される時(変動波)の2段階の強度を測定。

考 察

今回電磁場曝露に用いた装置は, 他の実験者が用いているような一定の周波数の電磁波が発生し続けるのではなく, 基本の商用周波数(50Hz)の上に357Hzや短い電磁波が, ネズミや小動物が嫌うというリズムで加算されている(畑中ら 2005)。ネズミはこの嫌いな電磁場への曝露により, 摂食や飲水が低下し衰弱するとされているが, 今回も前回同様衰弱の兆候を現す体重減少も見られなかった。

ラットに対する低周波変動磁場の影響で生殖器官の萎縮が報告されている(Al-Akhras et al. 2006)が, 本実験のマウスでは前回同様, 精囊, 精巣の大きさに萎縮は見られなかったが, 精子数の減少が見られた。包皮腺は2月16時間曝露のマウスで, 曝露後むしろ増加したようにみえるが, 2月のコントロール群が逆に平均して他より小さかったためこのような差が出たと思われる。包皮腺は臓器そのものに個体差が大きいのもかもしれないし, 精巣や精囊のように独立しているのではなく, 下腹部の腹膜に付着しているため, 摘出時に正確さを欠いた可能性もある。

(1) 電磁波強度

駆除器からの電磁波に曝露されているとき, マウスは

ケージ内で駆除器の傍によると、2,000nT、ケージの反対側にいると最低でも1nTの電磁波を浴びる。この駆除器の作動時間の半分は強い電磁波が出ており、その時はケージ反対側の一番弱いところにおいても約26nTの電磁波を浴びる。50Hz前後の超低周波電磁場曝露の実験では25~30 μ Tの強度がよく用いられる。50Hz、25 μ Tの電磁波に対する90日間曝露で、ラットは雄の受精能力の低下や雌の着床率の低下が見られたのに (Al-Akhras et al. 2001)、マウスでは影響が見られない (Elbetiehs et al. 2002)。また、同じ強度で18日間曝露した雄ラットの、黄体形成ホルモンやテストステロンの増加が見られた (Al-Akhras et al. 2006)。50Hz、13 μ Tの電磁波に18日間曝露された妊娠マウスの着床率や胎児の発達には影響が見られない (Huuskonen et al. 1998)。あるいは350 μ Tの強度でも妊娠ラットの胎児発達などには影響が見られない (Negishi et al. 2002) など、矛盾する報告もある。われわれは装置では、マウスの位置により強度が変化し、26nT~20 μ Tの電磁場に曝露されているが、多くの場所ではnTオーダーの強さであり、その強度で雄の精子数の減少のほか、妊娠マウスの着床率の低下や出生仔の異常、発育の遅れや母親の子育て放棄の増加など様々な影響が見られた (畑中ら 2005)。人に対する電磁波の安全基準は、電磁波により生じる誘導電流の発熱作用をもとに計算されている。周波数が高いほど誘導電流が多くなるので、周波数帯によって許容強度が変わってくる。50Hzで1.3mTとなっているが、マウスではその1/1,000以下で様々な影響が出ており、許容基準が体の大きさに比例できるか作用機序を含めて考える必要がある。しかし、発熱にいたるまでの誘導電流を起こせそうもない超低周期の変動磁場の作用機序にいくつかの説が提案されているが (Engeström and Fitzsimmons 1999)、よく分かっていない。

(2) 曝露時間

今までの様々な電磁波の影響を見た報告で、電磁波の強度と曝露時間を合わせて、影響量を比較した報告はあまり無い。本実験では、1日あたりの曝露時間や曝露期間を変えて、影響量を計測した。

1日当たりの曝露時間が長いほど、それに比例するように精子数が減少した。しかし、期間を倍にしても抑制作用は倍にはならなかった。1日8時間、2月間と、1日16時間1月間の電磁場曝露は、総曝露時間が同じであるが、1日当たり16時間曝露のほうが影響が大きかった。放射線は総被曝量と作用が比例すると考えられているが、電磁場曝露で総曝露時間と対応しないことは、放射線が組織に及ぼす作用とは仕組みが違う可能性を示唆している。

以前の実験で毎日24時間、2月間の連続曝露で精子量数はコントロールの43%まで減少していた (畑中ら, 2009)。今回の実験でも1日16時間、2月間の曝露でコントロールの35%、1月の曝露で39%まで低下し、1月と2月で有意差がなかったことから、40%余りの減少が飽和状態であり、1日16時間、1月曝露で十分飽和に達することが示された。逆にいえば1日8時間では2月曝露し続けても、最大の影響は現れないということである

が、刺激効果が総曝露時間に相関するならば、1日4時間の曝露でも十分検知しうる影響が表れると思われる。それならば、麻酔下の電磁場曝露実験を行い、感覚性ストレスの可能性を調べることができ、超低周波電磁波の作用機序の解明な役立つ可能性が示された。

(3) 電磁波受容の可能性

多くの動物は地磁気を感じし、定位に利用しているといわれており、様々な動物で実験的に確かめられているが、磁気受容器そのものはほとんど分かっていない。数種の動物から得られた神経応答は磁気の強度変化に対応するものが殆どである。ミツバチは磁気受容能力を持ち、地磁気を定位に利用していることが知られている。その磁気感度は26nTであり (Kirschvink and Gould 1981) 変動磁場の頻度が60Hzになるとかなり感度は低下するとの報告がある (Kirschvink et al. 1997)。我々は磁気刺激と吻伸展反射の連合学習をさせたり、花香—吻伸展反射連合学習に対する超低周波変動磁場及び超低周波電磁波の阻害作用を調べることで、ミツバチの磁気受容器は200Hzまでの変動磁場を受容可能であり、超低周波電磁波を磁気受容器で受容できる可能性を示唆してきた (畑中ら2008: 藤田・畑中 2009, 2010)。我々はまた、マウスでも磁気受容能力を持つことを報告した (畑中・吉田 2010)。マウスの磁気受容器は不明であるが、ミツバチ程度の磁気受容器を持つならば、この駆除器の商用周波数の電磁波は受容可能と思われる。鳥類の持つ化学受容機構を持った磁気受容器 (眼) はかなり周波数の高い変動磁場を受容可能で、コマドリでは7MHzという数値が出ている (Johnsen and Lohmann 2005)。マウスが、このような光受容媒介型の磁気受容器を持っているならこの駆除器から放出されるサブの375Hzの電磁波も十分受容可能と思われる。このネズミ駆除器を確かにマウスは避ける傾向にあり、避けるという体性運動を引き起こすには、電磁波に対するなんらかの不快感を生じる必要がある。おそらく、磁気受容器からこのような超低周波電磁波の感覚を生じ、それにより逃避行動が引き起こされたり、感覚ストレスから生殖生理などに影響が出ると考えている。本研究から電磁波強度や曝露時間と雄マウス精子数減少量の関係がつかめたので、麻酔可能な曝露時間を操作することで、感覚ストレスの可能性を調査できるようになった。

参考文献

- Al-Akhras M, Elbetieha A, Hasan M, Al-Omari I, Darmani H, and Albiss B (2001) Effects of extremely low frequency magnetic field on fertility of adult male and female rats. *Bioelectromagnetics*, 22: 340-344.
- Al-Akhras M, Darmani H and Elbetieha A (2006) Influence of 50 Hz magnetic field on sex hormones and other fertility parameters of adult male rats. *Bioelectromagnetics*, 27: 127-131.
- Amann RP and Lambiase JT (1969) The male rabbit III: Determination of daily sperm production by

- means of testicular homogenates. *Journal of Animal Science*, 28: 369-374.
- Brent RL (1999) Reproductive and teratologic effects of low-frequency electromagnetic fields: A review of in vivo and in vitro studies using animal models. *Teratology*, 59: 261-286.
- Elbetieha A, Al-Akhras M and Darmani H (2002) Long term exposure of male and female mice to 50 Hz magnetic fields: Effects on fertility and reproduction. *Bioelectromagnetics*, 23: 168-172.
- Engeström S and Fitzsimmons R (1999) Five hypotheses to examine the nature of magnetic field transduction in biological systems. *Bioelectromagnetics*, 20: 423-430.
- Feychting M, Schulgen G, Olsen JH and Ahlbom A (1995) Magnetic fields and childhood cancer—a pooled analysis of two Scandinavian studies. *European Journal of Cancer*, 31A: 2035-2039.
- 藤田夏子・畑中恒夫 (2009) ミツバチの花香—吻伸展反射連合学習を利用した磁気受容器の推定, 日本味と匂学会誌, 16: 585-588
- 藤田夏子・畑中恒夫 (2010) ミツバチ吻伸展反射連合学習を利用した磁気受容器特性の推定, 日本味と匂学会誌, 17 (印刷中)
- Haque SF, Izumi S, Aikawa H, Suzuki T, Matsubayashi H, Murano T, Kika G, Ikeda M, Goya K and Makino T (2004) Anesthesia and acoustic stress-induced intra-uterine growth retardation in mice. *Journal of Reproduction and Development*, 50: 185-190.
- Hatanaka T (2005) Effects of electromagnetic fields radiated from a rodents control device on pregnant mice. *Zoological Science*, 22: 1514.
- 畑中恒夫・高石哲男 (2002) 情動に対する電磁波の影響—ワモンゴキブリの行動を通して—, 千葉大学教育学部研究紀要, 50Ⅲ: 449-456
- 畑中恒夫・田村暁良・浅村恵未 (2005) マウスの生育に伴うネズミ駆除器からの電磁波曝露に対する感受性の変化, 千葉大学教育学部研究紀要, 53: 309-316
- 畑中恒夫, 小林史尚, 宮崎隼人 (2008) ミツバチの連合学習に対する電磁波・変動磁場の影響, 千葉大学教育学部研究紀要, 56: 349-353
- 畑中恒夫・中野まゆみ (2009) 雄マウスの生殖系に及ぼす超低周波電磁波曝露の影響, 千葉大学教育学部研究紀要, 57: 335-338
- 畑中恒夫・吉田晴香 (2010) マウスの磁気異常に対する忌避条件付け学習, 千葉大学教育学部研究紀要, 58: 359-364
- Huuskonen H, Juutilainen J, Jukunen A, Mäki-Paakkanen J and Komulainen H (1998) Effects of low-frequency magnetic fields on fetal development in CBA/Ca mice. *Bioelectromagnetics* 19: 477-485.
- Johnsen S and Lohmann KJ (2005) The physics and neurobiology of magnetoreception. *Nature Review*, 6: 703-712.
- Kirschvink JL and Gould JL (1981) Biogenic magnetite as a basis for magnetic field sensitivity in animals. *Biosystems*, 13: 181-201.
- Kirschvink JL, Padmanabha S, Boyce CK and Oglesby J (1997) Measurement of the threshold sensitivity of honeybees to weak, extremely low-frequency magnetic fields. *Journal of experimental Biology*, 200: 1363-1368.
- Negishi T, Imai S, Itabashi M, Nishimura I and Sasano T (2002) Studies of 50 Hz circularly polarized magnetic field of up to 350 μ T on reproduction and embryo-fetal development in rats: exposure during organogenesis or during preimplantation. *Bioelectromagnetics*, 23: 369-389.