

ELF 電界曝露のヒト血液性状変化に関する基礎的研究

Fundamental study for effect of ELF electric field exposure on human blood property

清水 久恵* 静谷 裕介** 北間 正崇* 山下 政司* 有澤 準二*

Hisae O.SHIMIZU* Yusuke SHIZUYA** Masataka KITAMA*
Masaji YAMASHITA* and Junji ARISAWA*

Abstract

We have found the change of the blood flow in ELF (Extremely Low Frequency) electric field exposure to a human body. To investigate the mechanism of this change, the separability of red blood cells (RBC's) was analyzed in the microscopic image of RBC's. The proportion of the aggregated RBC's increased and that of the separated RBC's decreased after the ELF electric exposure to a whole human body. To further investigate the mechanism of this phenomenon, RBC's were exposed to the electric field, in vitro. The same tendency as in the in vivo exposure was observed. This result suggested the possibility that the electric field exposure directly changes the blood property and causes the blood flow change.

1. はじめに

我々の日常生活において、電磁エネルギーは必要不可欠なものとなっており、電磁界の生体作用が注目されている。中でも、ELF (Extremely Low Frequency, 0 -300 Hz) 電磁界が人体に照射された場合の影響について、早くから調査・研究が行われてきた⁽¹⁾。しかしその生体影響については、国内外で様々な見解があり、それらに準じて設けられた安全基準も未だ不統一なのが現状である⁽²⁾。

このような状況に対し、我々は ELF 電界の生体作用機序の一端を明らかにすることを目的とし、電界曝露に伴うヒトの生理的変化に関する研究を行ってきた。これまで、電界曝露に伴い末梢血流が変化する現象などを見出してきた⁽³⁻⁷⁾。末梢血流量変化の原因として、血液性状変化と血管性変化が考えられる。前者には血液の粘性変化、血球の表面荷電状態変化などがあり、後者には血管の拡張、収縮などがある。

そこで今回、これらのうち前者の可能性について実験的検討を行った。

血液性状を調べる方法として、血球顕微鏡像解析⁽⁸⁾がある。この方法は、全血を顕微鏡下に観察し、赤血球の分離度を評価する方法である。この方法を用いて、血球の分散・凝集状態を定量的に評価

し、ELF 電界曝露に伴う血液性状変化の可能性を調べた。

2. 赤血球状態に関する検討

これまで、ELF 電界をヒト体表の局所部位に曝露した場合、局所血流量が増加することを見出してきた⁽³⁻⁶⁾。また最近、電界の全身曝露においても、同様の血流量増加が報告されている⁽⁷⁾。高圧送電線下や高出力電気機器周辺では、電界が全身に曝露されることが多い。そこで本研究では、電界の全身曝露時における血液性状変化を調べた。

2-1 実験システム

電界曝露装置の概略を Fig.1 に示す。電界曝露には、市販の理学診療用高圧交流電界装置(白寿生科学研究所, ヘルストロン HES-30 最大電圧値 30 kV)を用いた。血液を採取する手指部の電界値は約 93 kV/m である。健常成人男性 14 名(21~24 歳)を被験者とし、事前に、書面によりインフォームドコンセントを得た。実験室内環境は、温度 25~27 °C、湿度 70~80 %に設定した。

2-2 実験手順

被験者には、前日の夕食より 8 時間の睡眠時間

* 北海道科学大学大学院工学研究科医療工学専攻

* * 日本光電工業株式会社(北海道工業大学大学院工学研究科医療工学専攻修了)

を含む10時間の絶飲絶食を課した。被験者を電界曝露装置の椅子に着座させ、まず環境順化のため5分間安静状態を保った後、血液採取を含む実験を開始した。

実験過程の概略をFig. 2に示す。14名の被験者それぞれに対し、図に示す3種の実験過程を、1日1過程、合計3日間行った。実験は、本手法の感度を確かめる水分摂取と、目的の電界曝露を組み合わせたものである。つまり、(1)水分非摂取時の擬似電界曝露、(2)水分摂取時の擬似電界曝露、(3)水分非摂取時の電界曝露である。

水分は、スポーツドリンク500mlを20分かけて飲むことにより摂取させた。血液採取は、Fig. 2中の矢印で示すタイミングで行った。

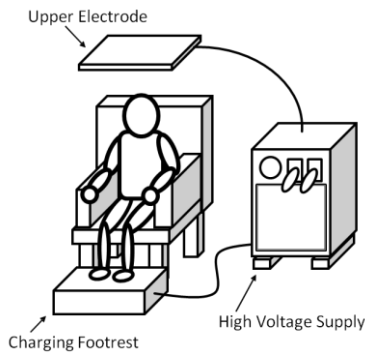


Fig.1 Outline of electric field exposure system.

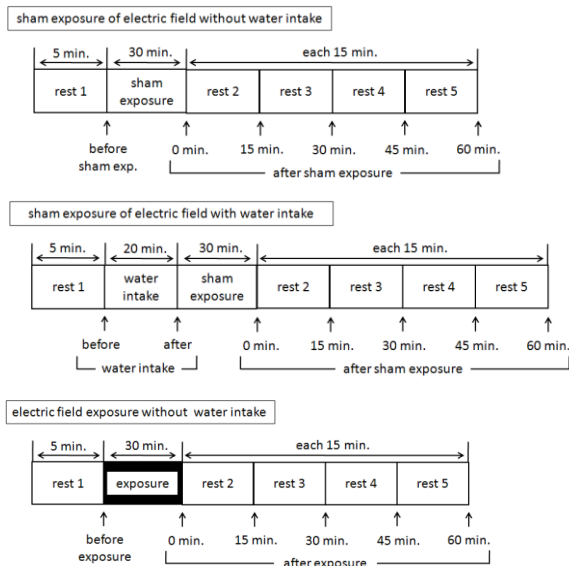


Fig.2 Time courses of experiment: Arrows indicate timing of blood sampling.

2-3 血液試料の作製

血液試料は、被験者本人から、穿刺具 (TERUMO,

メディセーフ®ファインタッチ®)を用いて左手薬指先端部より自ら採取したものの提供を受けた。血球顕微鏡像の客観的比較を行うためには、顕微鏡下で血液層の厚みを一定に保つ必要がある。そこで、血液の厚みを一定に保つ特殊なスライドガラスに、マイクロシリンジにより定量(1.0 μl)の血液を滴下し、血液試料を作成した。用いたスライドガラスの構造をFig. 3に示す。これは、図のようなパターン of クロム薄膜(厚さ 5.0 μm)をガラス上に蒸着したものである。血液を滴下後、カバーガラスをかけることにより、観測域の血液層の厚みを一定に保つことができる。

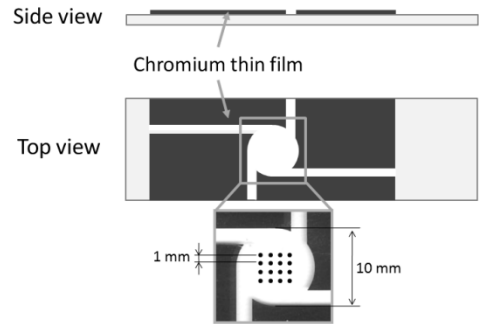


Fig.3 Structure of slide glass for microscopic observation of liquid sample with constant thickness : Black dots indicate the position of image analysis.

2-4 血液試料の観察・解析

光学顕微鏡(Nikon ECLIPSE80i)の血液画像をPCに取り込み、赤血球の分離・凝集状態を画像解析ソフトウェア(MITANI WinROOF Ver. 5. 6)により評価した。評価の客観性を確保するため、どの試料においても、解析領域はFig. 3に示す同一の16領域に統一した。

解析では、まず赤血球形状(円形度)と血球像の面積に基づき、各血球を次の5種に分類した。つまり、正常赤血球、小球化赤血球、変性赤血球、巨球化赤血球、凝集・連鎖赤血球の5種である。これらのうち赤血球の分散・凝集状態を直接反映するものとして、正常赤血球と凝集・連鎖赤血球に着目し、全赤血球数に対するそれぞれの割合を計測パラメータとした。

2-5 結果および考察

Fig. 4に sham 実験の結果を示す。つまり水分非

摂取/擬似電界曝露の場合である。図は、正常赤血球および凝集・連鎖赤血球の割合の平均値と標準偏差の経時変化を示したものである。どちらの割合にも、時間経過に伴う変化は認められなかった。これは、水分摂取や電界曝露を行わない場合、赤血球の状態は安定していることを示している。この結果はまた、本計測の安定性を示すものともなっている。

水分摂取時の結果を Fig. 5 に示す。つまり水分摂取/擬似電界曝露の場合である。水分摂取開始から 20 分後には正常赤血球数の割合が上昇し始め、摂取終了から 45 分後には摂取前に比べ有意な増加が認められた。この有意な増加はさらに 30 分程度維持され、その後ゆるやかな下降に転じた。凝集・連鎖赤血球の割合は、これとは対照的に、水分摂取開始 20 分後には下降し始めた。その後、摂取終了 45 分程度まで低下状態を維持した後、ゆるやかに元の状態に戻って行った。これらの変化は、水分摂取により血中水分量が増加し、血球の分離性が増加した結果と考えられる。またこの結果は、本実験の計測感度を示すものともなっている。

電界曝露時の結果を Fig. 6 に示す。つまり水分非摂取/電界曝露の場合である。正常赤血球の割合は、電界曝露終了直後には減少するが、その後徐々に上昇傾向を示し元に戻っていることがわかる。凝集・連鎖赤血球の割合は、曝露直後には上昇するが、その後緩やかに元に戻る傾向が見られた。このように、電界曝露に伴う変化は、水分摂取の場合に比べ即応的なことが特徴である。この結果は、電界曝露に伴う血球の変化が、生理的というより物理的な原因による可能性を示唆するものとも考えられる。

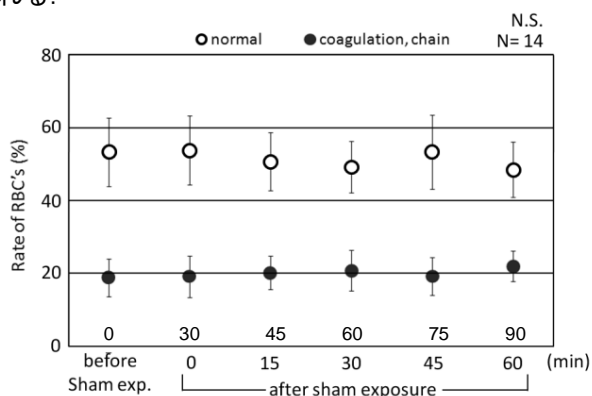


Fig.4 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in sham exposure of electric field without water intake.

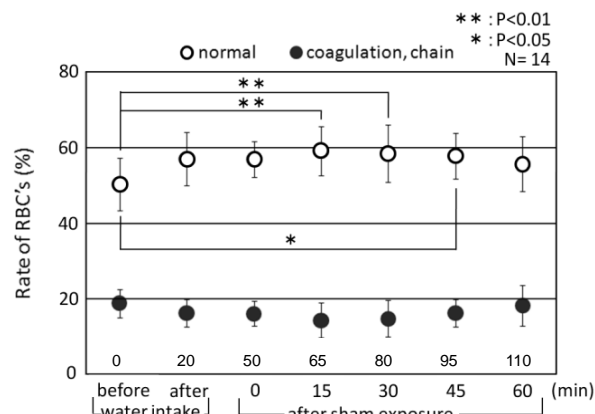


Fig.5 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in sham exposure of electric field with water intake.

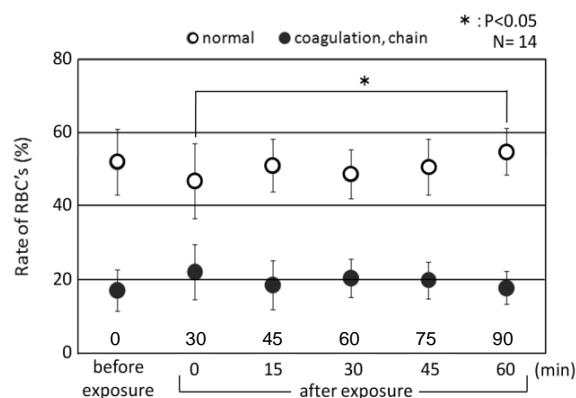


Fig.6 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in electric field exposure without water intake.

3. 赤血球濃度に関する検討

前章で述べたように、電界曝露により赤血球の分離性が減少する可能性が認められた。その原因として、赤血球濃度の増加または赤血球の凝集性の増加が考えられる。まず前者の原因を確かめるため、赤血球濃度をよく反映するヘマトクリット (Ht) 値の計測を行った。

3-1 実験方法

電界システムと手順は、前章と同様である。被験者は、健康成人男性 8 名 (21~24 歳) であり、事前に書面にてインフォームドコンセントを得た。

血液試料は、被験者本人から、穿刺具を用いて左手薬指先端部より自ら採取した十数 μl の提供を受けた。血液を、Ht 計測用毛細管 (長さ 75 mm,

外径 1.55 mm, 内径 0.89 mm, ヘパリン処理済み)に封入し, Ht 計測用遠心分離機(11000-12000 rpm)にて 5 分間の遠心分離を行い, Ht 値を計測した.

3-2 結果および考察

Sham 実験, つまり Fig. 2 における水分非摂取/擬似電界曝露の場合の実験結果を Fig. 7 に示す. これは, 計測した Ht 値の経時変化を, 平均値と標準偏差で示したものである. 図に見られるように, 時間経過に伴う変化は認められなかった. これにより, 本計測の安定性を確認した.

水分摂取実験, つまり Fig. 2 における水分摂取/擬似電界曝露の場合の実験結果を Fig. 8 に示す. 水分摂取後 30 分で Ht 値の低下が見られ, 45 分後まで低下を続けた後, ゆるやかに元に戻って行く傾向が見られた. これは, 水分摂取によって血中水分量が増加し, 赤血球濃度が低下したためと考えられる. ただし, Ht 値は被験者間の個体差が大きく, 統計的有意差は得られなかった. これにより, 不十分ながらも, 本計測により赤血球濃度変化の傾向をとらえる可能性が確認された.

電界曝露時の計測結果を Fig. 9 に示す. sham 実験の場合と同様, Ht 値に有意な変化は認められなかった. つまり, 電界曝露により赤血球濃度は, 水分摂取ほどは変化しないと考えられる.

これらの結果を総合すると, 前章の実験で見られた電界曝露時の血液性状変化は, 赤血球濃度の変化が原因ではなかったと考えられる.

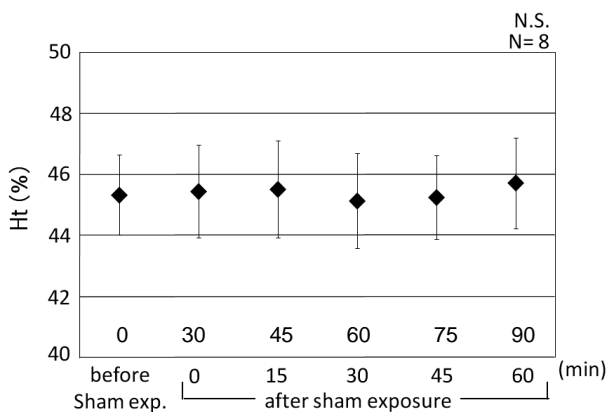


Fig.7 Temporal change of measured Ht in sham exposure of electric field without water intake.

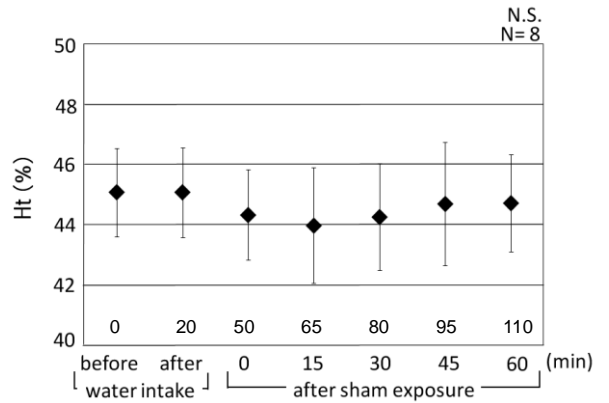


Fig.8 Temporal change of measured Ht in sham exposure of electric field with water intake.

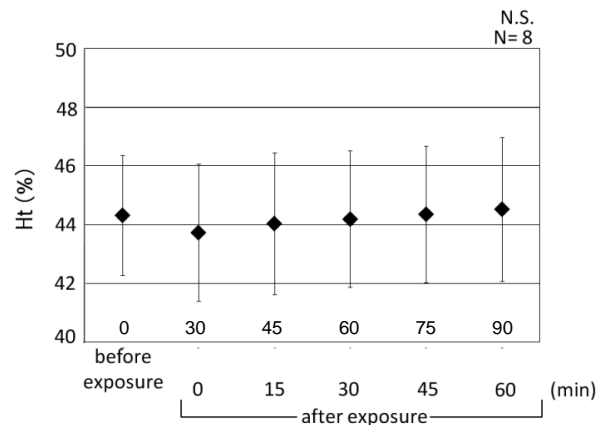


Fig.9 Temporal change of measured Ht in electric field exposure without water intake.

4. 血球凝集性の検討

電界曝露に伴う分離赤血球比率減少のもう一つの原因として, 血球表面荷電などによる血球凝集性の変化が考えられる. これを明らかにするため, 外部条件の制御が可能な in vitro 実験により, 血球凝集性の変化を調べた.

4-1 実験方法

血液に対する電界曝露装置を Fig. 10 に示す. 前節で用いた血液観察用スライドガラスを使用した. スライドガラスのクロム薄膜(厚さ 5 μm)に板電極を装着し, 観察領域の血液に電界を印加する. 電極間隔は, カバーガラスの幅(24 mm)とした. 前述の全身電界曝露実験において腕や手に流れる誘導電流と近いオーダーの電流密度が血液中に流れるよう, 印加電圧を調整した. 健康成人男性 15 名(21~22 歳)から血液試料を得, 実験を行った.

4.2. 実験手順

採取した血液の凝固を防ぐため、抗凝固剤を使用した。抗凝固剤には、EDTA-2Na(同仁化学研究所製)を蒸留水にて 10 %に希釈した溶液を用いた。この溶液をスライドガラスに 0.5 μl 滴下して乾燥させた後に、血液を滴下した。

実験過程の概略を Fig. 11 に示す。計測は、Fig. 11 中の矢印に示すタイミングで行った。

4-3 結果および考察

sham 計測の結果を Fig. 12 に示す。図のように、正常赤血球、凝集・連鎖赤血球共に、経時変化は認められなかった。これにより、計測の安定性も確認した。

印加電圧 20V の時の電界曝露の結果を Fig. 13 に示す。正常赤血球の割合は、電界曝露直後から上昇傾向を示し、凝集・連鎖赤血球の割合は減少傾向を示した。つまり体外においても、電界曝露に伴い、血液の分離性が増加し凝集性が減少することを示している。この結果は、電界の全身曝露時に見られた血液性状変化の原因として、生理的变化というより血球凝集性のような物理的变化の可能性が大きいことを示唆するものと考えられる。第 2 節の結果に見られるように、水分摂取に比べ電界曝露の影響は即時に現れることも、この推論に矛盾しない。

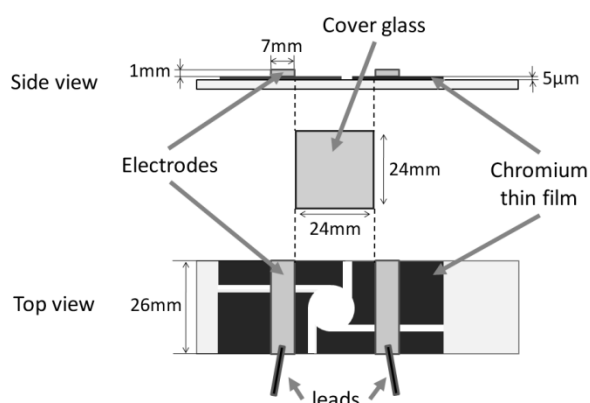


Fig.10 Structure of slide glass device for electric field exposure to human blood, *in vitro*.

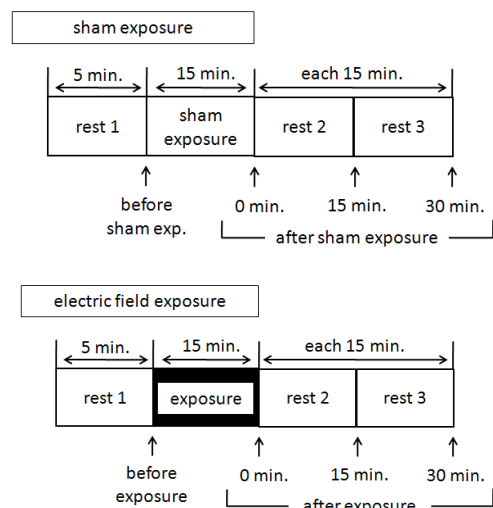


Fig.11 Time courses of experiment: Arrows indicate timing of measuring.

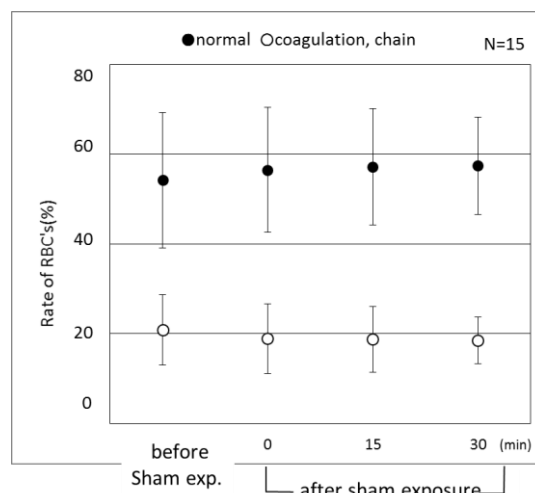


Fig.12 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in sham exposure, *in vitro*.

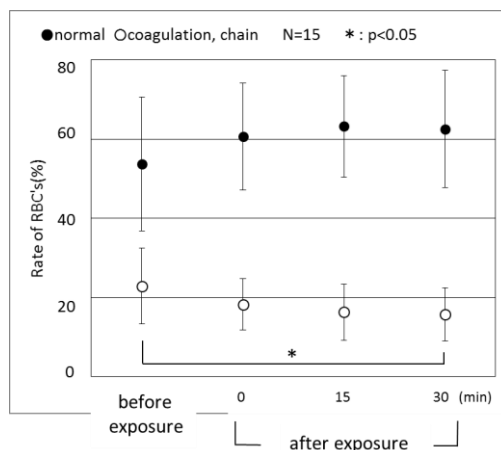


Fig.13 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in exposure of electric field with 20 V application, *in vitro*.

5. おわりに

電界曝露時の血流変化の原因として、血液性状変化の可能性につき、実験的検討を行った。ヒト全身の電界曝露に伴い、血球の分離性が増加し凝集性が減少する傾向が認められた。その原因として、血球濃度の増加と血球凝集性の変化が考えられた。ヘマトクリット値の計測結果から、前者が原因ではないことが推定された。血球に対して直接電界を曝露する in vitro 実験により、体外においても、電界曝露に伴い血球の分離性が増加し凝集性が減少することが確かめられた。

これらの結果より、ヒトに電界が曝露された場合、血球の荷電状態など血球の分離性/凝集性が変化し血液性状が変わることにより、血流変化をきたす可能性が示唆されたものとする。

本研究を進めるにあたり有益なご助言をいただいた北海道大学清水孝一教授に感謝の意を表す。

本研究は、北海道科学大学倫理委員会の承認に基づき行われた。

参考文献

- (1)E. L. Carstensen, Biological Effects of Transmission Line Fields, Elsevier, NewYork, 1987.
- (2)多氣昌生, “電磁界生体影響問題の経緯と最近の動向(総論)”, 電磁界生体影響問題の経緯と最近の動向, (社)電気学会, 2011, pp.1-2.
- (3)小田切久恵, 千葉薫, 清水孝一, 松本伍良, “強電界の生体作用機序に関する基礎的検討(その2)-ヒトの電界感知の計測と解析-”, 電子情報通信学会技術報告, EMCJ93-4, 1993, pp.25-30.
- (4)坂本将樹, 小田切久恵, 三澤顕次, 有澤準二, 清水孝一, “強電界の生体作用機序に関する基礎的検討(その3)-諸種パラメータに関する電界感知閾値変化の可能性-”, 電子情報通信学会技術報告, EMCJ96-52, 1996, pp.29-36.
- (5)清水(小田切)久恵, 有澤準二, 清水孝一, “ELF電界曝露に伴う生理的变化に関する基礎的検討-ヒト体表における血流変化の可能性-”, 電子情報通信学会技術報告, EMCJ99-97, 1999, pp.49-53.
- (6)小山有基, 清水久恵, 山下政司, 三澤顕次, 清水孝一, “ELF電界曝露の生体作用機序に関する基礎的検討Ⅱ-血流変化の特性解析-”, 電子情報通信学会技術報告, MBE2006-125, 2007, pp.29-32.
- (7)坂井田壮真, 清水久恵, 守田憲崇, 北間正崇, 山下政司, 有澤準二, 清水孝一, “ELF電界曝露に伴うヒト血流量変化の基礎的研究”, 電子情報通信学会技術報告, EMCJ2013-135, 2014, pp.17-21.
- (8)佐藤圭一, 清水孝一, “血球顕微鏡像解析における定量評価の試み”, 電子情報通信学会技術報告, MBE2003-132, 2004, pp.25-30.