

ELF 電界曝露のヒト血液性状変化に関する基礎的研究Ⅱ －人体および *in vitro* 曝露に伴う凝集性変化の検出－

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

- Detection of aggregability change in human and *in vitro* exposure -

清水 久恵* 印牧 美紀** 北間 正崇* 山下 政司*
三浦 寛子*** 渡邊 翔太郎***

Hisae O. SHIMIZU, Miki KANEMAKI, Masataka KITAMA, Masaji YAMASHITA
Hiroko MIURA and Shotaro WATANABE

Abstract

We have studied the human physiological change in the exposure of the extremely low frequency (ELF) electric field. In this study, the change in the human peripheral blood flow in the field exposure has been found. To elucidate the mechanism of this phenomenon, we investigated the possibility of the blood property change in experiments. First, we exposed an electric field to a human subject, then examined the aggregation of the red blood cells (RBC's) in the blood sample under a microscope. It was found that the aggregability of the RBC's increased due to the field exposure. In the analysis of the dose-response, the aggregability was found to be strongly dependent on the magnitude of the applied electric field. To investigate this mechanism further, we exposed an electric field directly to the blood itself on the slide glass under a microscope. The similar change in the aggregability was observed as in the case of the human body exposure. Through these analyses, the following possibilities were confirmed. The property change of the blood can be one of the causes of the blood flow change in the field exposure. This change can be caused by not only the physiological change in the human body but also the physical change of the blood itself in electric field exposure.

1. はじめに

近年科学技術の発展に伴い、我々の身の回りには数多くの電気・電子機器が存在するようになった。これら電磁エネルギーの活用により、我々の生活が豊かになった一方で、それらの生体影響も懸念されている。しかし、日常環境では、電磁界に曝されることなく生活することは極めて困難である。例えば、送配電に係る電力設備や鉄道、高出力電気機器の周囲には、極低周波電磁界（Extremely Low Frequency：ELF, 0 - 300 Hz）が発生している⁽¹⁾。

電磁界の生体影響については、これまで多くの研究が行われ、国際的なガイドラインも示されている。しかしその生体作用については、完全に解明されたわけではなく、未だ統一した見解が確立されてはいない⁽²⁾。

我々は、電磁界の中でもとくに ELF 電界に着目

し、生体への作用機序解明に向けた研究を継続的に行ってきた⁽³⁻⁷⁾。これまでの研究により、電界の人体曝露に伴う末梢血流量変化を見出してきた⁽³⁾。この血流量変化の原因としては、末梢血管の収縮などの血管性変化、および血液の粘性変化や血球凝集などの血液性状変化の二つの要因が考えられる。

本研究では、電界曝露に伴う末梢血流量変化の機序解明をめざし、電界曝露に伴う血液性状変化の可能性について実験的検討を行った。

2. 人体曝露における血液変化

人体に電界を曝露し、その前後に採血を行う。この血液試料を顕微鏡下で観察撮影し、赤血球の凝集状態を調べた。

2-1. 実験方法

実験装置の概略を Fig.1 に示す。電界曝露には、

* 北海道科学大学大学院工学研究科医療工学専攻

** 社会医療法人孝仁会北海道大野記念病院（北海道科学大学大学院工学研究科医療工学専攻修了）

*** 北海道科学大学保健医療学部臨床工学科

市販の理学診療用高圧交流電界装置（ヘルストロン HES-30 最大電圧値 30 kV 白寿生科学研究所 厚生労働省許可機器）を用いた。この装置は、頭上の電極板と足裏に接触した表面絶縁電極板の間に高電圧を印加することにより、全身に電界が曝露される。被験者は、健康成人男性 15 名であり、実験日前日より 8 時間の睡眠時間を含む 10 時間絶飲絶食に統一した。また、電界曝露に伴う体毛の動きを抑制しないよう、スポーツ用ランニングパンツを着用してもらい、他の部位は露出させた。実験室環境は、室温 25～27 °C、湿度 70～80 % と一定に保った。

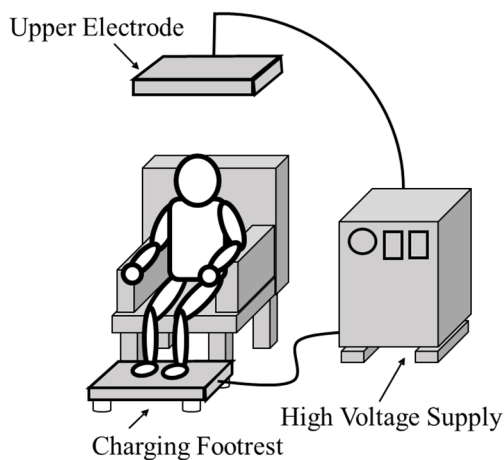


Fig.1 Experimental system for electric field exposure to human body.

実験手順を Fig.2 に示す。まず被験者が実験室環境に適應するよう 5 分間の安静期間（rest 1）を設け、その後 15 分間を曝露期間（sham exposure, exposure）とした。曝露終了後には、15 分間の事後観察期間（rest 2）を設けた。印加電圧は、擬似曝露として 0 kV、電界曝露として、本装置の最大値である 30 kV（手指部約 100kV/m）とした。図中矢印で示すタイミング（rest 1 あるいは曝露期間直後）で採血を行い、顕微鏡下にて画像観察を行った。採血は、被験者本人に指尖穿刺を行ってもらい、1 μ l の血液を採取した。

観察試料部の概略を Fig.3 に示す。スライドガラスには、図のようなパターンのクロム薄膜（5 μ m 厚）が蒸着されている。中央部の液体試料は、四方の逃げ道により常に一定の厚さに維持される。このスライドガラス中央に被験者より採取した血液 1 μ l を滴下し、カバーガラスを被せて観察試料とした。

顕微鏡下の観察試料を撮影し、画像解析ソフト

（MITANI WINROOF Ver. 5.6）により赤血球の凝集性を評価した。画像の評価では、各赤血球像の円形度と面積を計測し、それぞれ分散、凝集、小球化、巨球化、変性の各状態に自動分類した。今回の検討では、これらのうち血液の流動性に関連の深い、分散赤血球と凝集赤血球の割合に注目した。分散赤血球は、面積 28.21～63.60 μ m²、円形度 60～100 %、凝集赤血球は面積 63.61～127.20 μ m²、円形度 0～100 %（ただし巨球化赤血球を除く）として分類した。

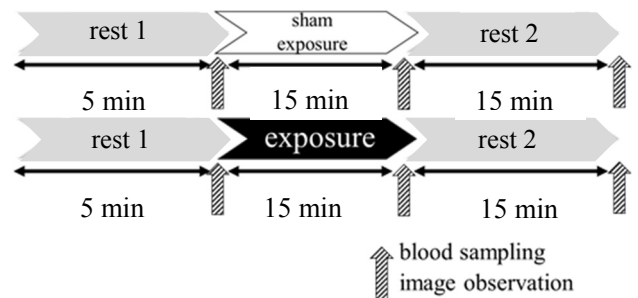


Fig.2 Time chart of measurement process for human body exposure.

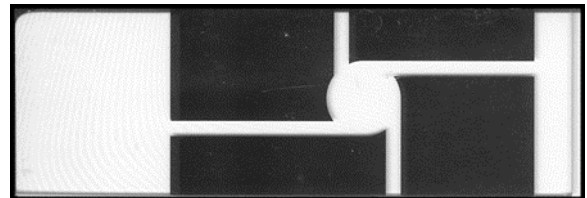


Fig.3 Appearance of slide glass for blood sample observation.

2-2. 実験結果

実験結果を Figs.4 - 5 に示す。Fig.4 は、擬似電界曝露、すなわち印加電圧 0 kV の結果である。分散赤血球、凝集赤血球の割合に変化は見られなかった。この結果から、本計測の安定性を確かめることができた。

Fig.5 は、印加電圧 30 kV の電界を曝露した場合の結果である。統計的有意差（ $p < 0.01$ ）をもって血液性状が変化することがわかる。つまり電界曝露により、分散赤血球が減少、凝集赤血球が増加し、曝露終了後には元の状態に戻ることが確認できた。

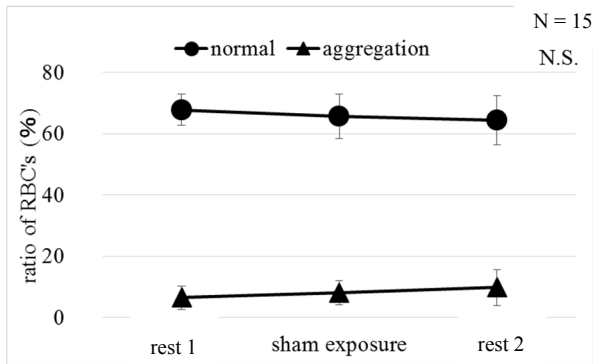


Fig.4 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in sham exposure of human body.

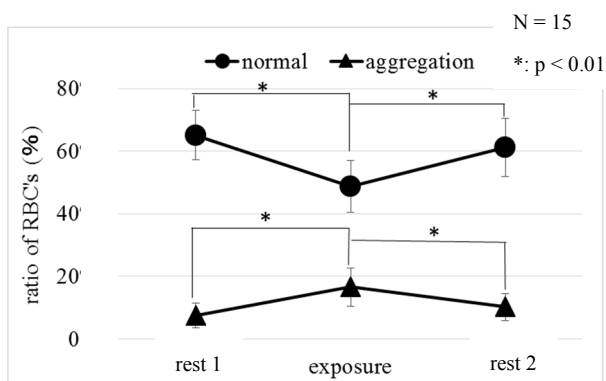


Fig.5 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in human exposure with 30 kV field-generating voltage.

3. 曝露量－反応特性の解析

電界曝露時に見られた血液性状変化の主因が、真に電界曝露によるものかどうかを調べるため、曝露量－反応特性 (dose-response) の解析を行った。実験では、電界発生のための印加電圧値を 20 kV, 10 kV に変化させ、血液性状変化の程度を調べた。印加電圧値以外の条件は、すべて前節と同様である。

実験結果を Figs.6 - 8 に示す。Fig.6 は、20 kV 印加の場合、曝露前後における分散および凝集赤血球の割合の変化である。Fig.7 は、10 kV 印加の場合の結果である。また Fig.8 は、これらをまとめたもので、人体に電界を曝露した場合の dose-response 特性を示す。

これらの結果より、電界発生の印加電圧値が 10 kV を越えると赤血球の凝集が認められ、印加電圧 30 kV にかけてその効果が増大することがわかる。また、増大の程度は徐々に低下し、いずれ飽和する傾向もうかがわれる。このように、他の実験条件は同一な中で、電界値に依存して血液性状の変化が認

められた。この結果は、本研究で見出された血球凝集性変化の主因が、電界曝露であることを強く示唆するものである。

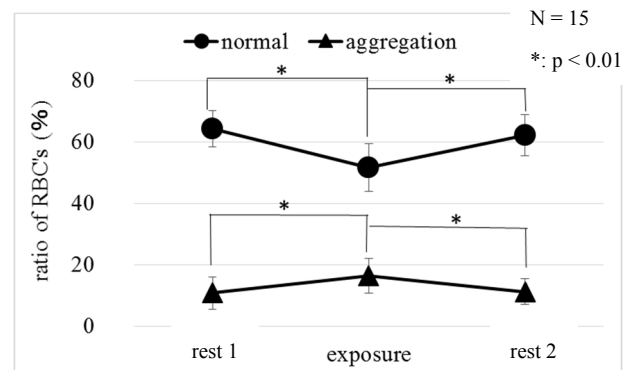


Fig.6 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in human exposure with 20 kV field-generating voltage.

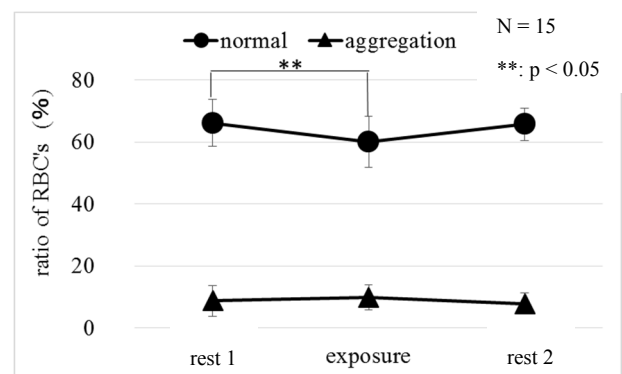


Fig.7 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in human exposure with 10 kV field-generating voltage.

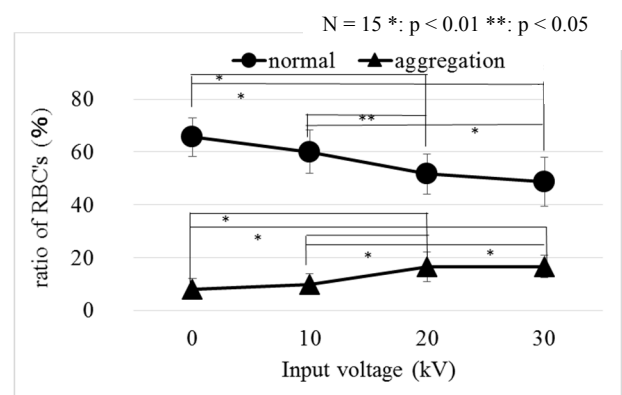


Fig.8 Dependence of normal and aggregated RBC's ratios on field-generating voltage in human exposure.

4. 血液曝露における性状変化

前節までの結果は、被験者の全身に電界を曝露したことにより生じたものである。したがってこのような血液性状変化の要因として、体内の生理的变化によるものと、血液の物理的变化によるものが考えられる。そこで、これら二要因のどちらによるものか、区別を試みた。つまり、電界曝露をしていない人体から採血し、体外に取り出した血液自体に電界を曝露して、その性状変化を調べた。こうすることにより、体内の生理的变化の影響を受けず、血液の物理的变化を見ることができる。

血液曝露の模式図を Fig.9 に示す。実験では、顕微鏡用スライドガラス上に板状の銅板電極を配置し、その間に血液を滴下したものを試料とした。二電極に交流電圧を印加すると、電極間に電流が流れる（これは変位電流であるが、生体電磁環境分野の慣例に倣い、誘導電流と呼ぶ）。血液曝露の電極間電圧は、血液内の誘導電流密度が人体曝露時の体内誘導電流密度と同等になるよう調整した。つまり、30 kV 印加の人体曝露では、体内には $0.005 \sim 0.1 \text{ A/m}^2$ の電流密度が生じていると考えられる⁽⁸⁾。Fig.9 の構造において同様の電流密度を実現するには、10～20 Vpp の電圧印加が必要であった。血液試料に流れる電流は、印加電圧に線形には比例せず、200 Vpp を印加した場合、電流および電流密度は 20 Vpp の場合の約 4 倍であった。

電源には、信号発生器（Wave Factory WF1943 最大 20 Vpp エヌエフ回路設計ブロック）を用い、低ノイズ正弦波を発生させた。また、本実験では血液を長時間体外に取り出すため、自家調整した抗凝固剤（0.2% EDTA-2Na）を使用した。まず、抗凝固剤をスライドガラス中央に $0.5 \mu\text{l}$ 滴下して乾燥させた後、被験者より採取した血液 $1.0 \mu\text{l}$ をその上に滴下し、観察試料とした。被験者は、前節と同じ健康成人男性 15 名である。

実験手順を Fig.10 に示す。曝露時間（sham exposure, exposure）は 10 分間とし、曝露前後に 10 分ずつ観察期間（rest 1, rest 2）を設けた。また、画像観察はそれぞれの期間において、5 分毎に行い、計 7 回行った。

実験結果を Figs.11 - 13 に示す。Fig.11 は、擬似電界曝露時すなわち印加電圧 0 Vpp の結果である。

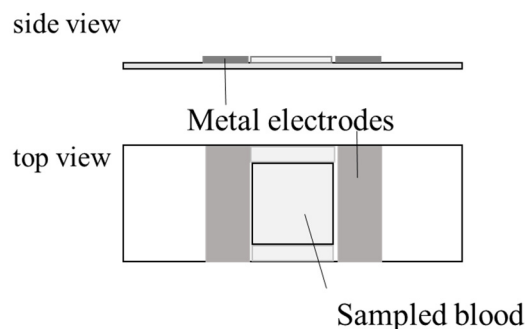


Fig.9 Appearance of slide glass to expose electric field to sampled blood under microscope.

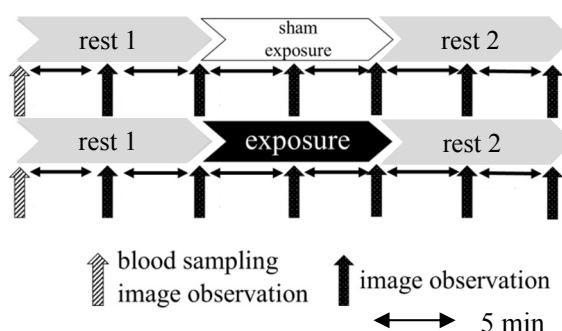


Fig.10 Time chart of measurement process for blood sample exposure.

分散赤血球、凝集赤血球ともに変化は見られず、本計測の安定性を確認した。

次に、血液試料に対し 10 Vpp および 20 Vpp の 50Hz 交流電圧を印加した場合の結果を、それぞれ Figs.12,13 に示す。10 Vpp の場合には結果が不明瞭であるが、20 Vpp になると人体曝露時と同様の傾向が観察される。つまり、統計的有意差には至らないが、電界曝露に伴い分散赤血球の割合は減少し、凝集赤血球の割合が増加する傾向である。

この傾向の有効性を確認するため、新たな電源装置（定周波定電圧電源 CVFT1 - 200H 東京精電株式会社）を用い、200 Vpp の電圧を印加した。画像観察は、曝露期間前、中、後 3 回とした。結果を Fig.14 に示す。まだ被験者数が少なく、統計的有意差には至らないが、計測平均値は上記傾向が強調されたものとなっている。

これらの結果を Fig.15 にまとめる。この結果を dose-response として見ると、観測した血液性状変化の主因が電界曝露による物理的变化にあると考えられる。

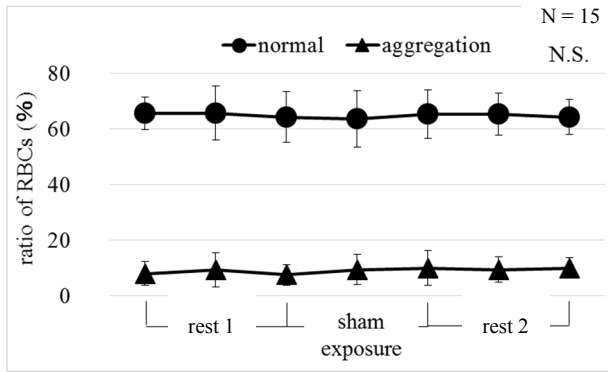


Fig.11 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in sham exposure of blood sample.

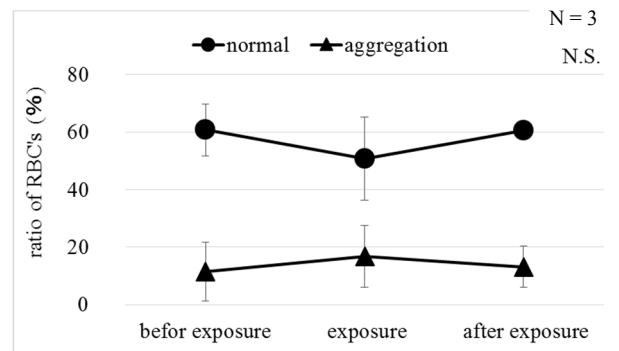


Fig.14 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in blood-sample exposure with 200 Vpp field-generating voltage.

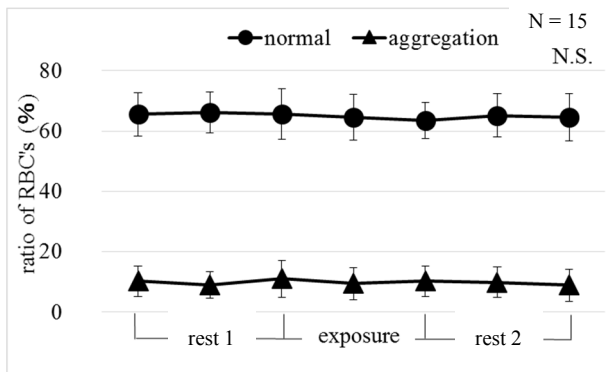


Fig.12 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in blood-sample exposure with 10 Vpp field-generating voltage.

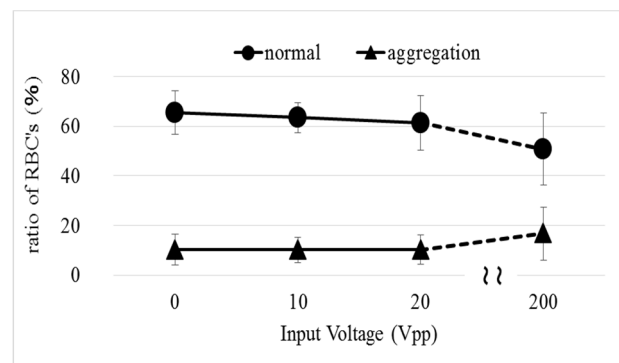


Fig.15 Dependence of normal and aggregated RBC's ratios on field-generating voltage in blood-sample exposure.

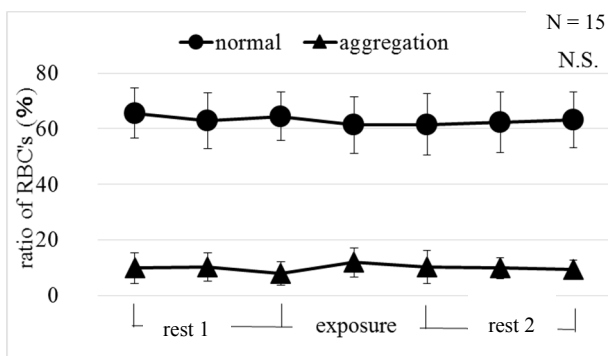


Fig.13 Temporal change of normal and aggregated RBC's ratios in blood-sample exposure with 20 Vpp field-generating voltage.

5. おわりに

ELF 電界曝露の生体へ作用機序解明を目指し、電界曝露に伴う末梢血流量変化について研究を進めた。血流量変化の原因として、血液性状変化に着目し、実験的検討を行った。まず、人体への全身電界曝露に伴う血液性状の変化を調べた。その結果、擬似曝露時の安定した無変化状態に対し、電界曝露時には、統計的有意差をもって変化が認められた。つまり、電界曝露に伴い、分散赤血球の割合は減少し、凝集赤血球の割合は増加した。この変化の主因を調べるため、他の条件は変えず、曝露電界強度のみを変化させ、dose-response を解析した。その結果、印加電界値に伴う単調変化が認められ、電界曝露が主因である可能性が確かめられた。

次に、この変化の原因として考えられる生理的変化と物理的変化の区別を試みた。生理的変化の影響を除くため、体外へ取り出した血液自体に電界を曝

露し、その凝集性の変化を調べた。その結果、人体曝露時ほど顕著ではないが、血球の凝集性が同様に变化する傾向が認められた。この結果は、電界曝露に伴う血球凝集性変化の原因として、体内の生理的变化だけではなく、血液の物理的变化もその要因として無視できないことを示唆するものである。これらの結果は、ELF 電界曝露に伴うヒトの生理的变化の機序解明に重要な情報を提供するものと考えられる。

本研究における実験は、北海道科学大学倫理委員会の承認(第 101 号)のもと、被験者には事前にインフォームドコンセントにて承諾を得て行われた。また、本研究における開示すべき COI 関係にある企業などはない事を追記する。

参考文献

- (1) 環境省 環境保健部 環境安全課:身の回りの電磁界について, 2016.
- (2) ICNIRP:Guidelines for limiting exposure to time-varying electric and magnetic fields (1 Hz to 100 kHz), Health Physics, Vol.99, No.6, pp.818-836, 2010.
- (3) 清水(小田切)久恵 他: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, EMCJ99-97, pp.49-53, 1999.
- (4) 坂井田 壮真 他:ELF 電界曝露に伴うヒト血液量変化の基礎的研究, 電子情報通信学会技術研究報告, EMCJ2013-135, pp.17-21, 2014.
- (5) 静谷 裕介 他:ELF 電界曝露がヒトの血液性状に及ぼす影響に関する基礎的検討, 電子情報通信学会技術研究報告, EMCJ2013-136, pp.23-28, 2014.
- (6) 石河 貴之 他:ELF 電界曝露に伴うヒト血流量変化に関する基礎的検討Ⅱ－電界・振動刺激による血流量変化の可能性－, 電子情報通信学会技術研究報告, MBE2014-11, pp.111-116, 2015.
- (7) Miki Kanemaki et al.:Biological effect of ELF electric field in blood aggregability, The 37th Progress in Electromagnetic Research Symposium (PIERS), pp.1115-1118, 2016.
- (8) 仲田 至 他:人体への ELF 電界曝露量の解析－高電位人体における曝露量の数値解析と計測－, 電気情報通信学会, EMCJ97-106, pp.47-54, 1998.