ELF 磁界, ELF 電界の生物発生過程に及ぼす影響

Embryonic Development of Frogs under EFL Magnetic or Electric Fields

上野照剛・北原隆宏・原田耕介・塩川光一郎*

九州大学工学部電子工学科, 福岡市東区箱崎 6-10-1 (〒812)

*九州大学理学部生物学科

S. Ueno, T. Kitahara, K. Harada and K. Shiokawa

Dept. of Electronics and Biology, Kyushu Univ.,

10-1, Hakozaki 6-chome, Higashi-ku, Fukuoka, 812, Japan

Possible influence of ELF (extremely low frequency) magnetic fields or electric fields on the early embryonic development of frogs was studied. African clawed toads, *Xenopus laevis*, were used. Embryos were exposed to 10-15 mT alternating magnetic fields at different frequencies (20 Hz, 2.0 kHz, and 20 kHz) either during cleavage to neurula stage or the neurula to tail bud stage. During field exposures, the embryos were bred in a cylindrical chamber filled with 1/5 diluted saline solution so that the eddy currents could be induced in the solution. The estimated current densities induced by the ELF magnetic fields were 0.01-10.5 $\mu\text{A}/\text{mm}^2$. The results show that the magnetic fields exert no harmful or modifying effects on the embryonic development.

In order to obtain the critical current density which gives rise to teratogenic effects, electrical currents were directly applied to the embryos. When the cleavage-stage embryos were exposed to 20Hz electric fields for 8 hrs, the current density of 100 $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ gave lethal value or 100% malformation. When the embryos were exposed to an alternating current of 100 $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ at 20Hz for 15 min in each stage, the cleavage-brastra-stage embryos were those mostly damaged by the field (91% malformation).

1. はじめに

変動磁界の中に生体がさらされると電磁誘導により生体の内部に渦電流が流れ得る。しかし、生体は金属導体に比べて桁違いに電気抵抗が大きいため、通常の磁界に対して誘起される渦電流の値は小さく、これが生体に対して何らかの作用や危険を及ぼすかどうかというような論議はあまり重要ではなかった。ところが、最近、環境磁気の問題として、磁気閃光など低周波 ELF (Extremely Low Frequency) 磁界の生体へ及ぼす影響が注目されてきた¹⁾。

本研究では、ELF 磁界および ELF 電界が生物発生過程にどのような影響を及ぼすかについて実験的考察を行った。すなわち、アフリカツメガエルの初期発生過程にこれら磁界または電界を印加した場合、どの程度の周波数と電流密度であれば奇形発生率やふ化率に決定的影響を及ぼすか、その閾値を探った。

2. 実 験

アフリカツメガエル *Xenopus laevis* の雄および雌に

それぞれ150単位のコナトロピンを注射した。およそ16時間後に産卵された卵を2.5% チオグリコール酸ソーダ pH 8.2 で処理し、ゼリーコートを溶解して卵蓋膜のみにつまれた胚を Brown-Caston のリンガー液中で飼育した。

Fig. 1 に示すように胚の初期発生期の幾つかの期間に ELF 磁界または ELF 電界を印加し、その後の発生過程を観察した。

磁界または電界を印加している間、胚は0.9%の生理食塩水をリンガー液で1/5に希釈した水溶液中で飼育した。その理由は、リンガー液のままではリンガー液の電気抵抗が高すぎて、実験装置の制約から実験に必要な十分な電流密度を得ることができないため、また、生理食塩水を混入することによりリンガー液中を流れる電流密度の推定をより正確に行うためである。

なお、1/5希釈の水溶液(0.18% NaCl リンガー液)での胚の発生は生理食塩水を加えないリンガー液に比べて何の変化も認められないことが確認された。

ELF 磁界の実験では、20Hz, 2 kHz および 20kHz の交流磁界を用い、磁束密度はいずれの場合も 10mT~

Fig. 1 The embryonic development of *Xenopus laevis* and periods of ELF magnetic or electric field exposures.

15mT となるように選定した。

20Hz の交流磁界は磁気閃光の実験用に試作した電磁石を用いて発生させた²⁾。すなわち、Fig. 2 に示すような形状のけい素鋼板製の磁心に2,500回の巻線を施し、この巻線に低周波電流を流して、15.5cmの空隙に交流磁界を発生させた。空隙に頭部を挿入すると20Hz近傍で最もよく光を知覚することができる。このときの光を知覚し得る最小の磁束密度は眼球付近で約10mTである³⁾。磁心を縦に起こして、眼球に位置する部分にシャーレを置き、この中で胚を一定期間飼育した。

2kHzおよび20kHzの交流磁界は空心のヘルムホルツコイルを用いて発生させた。

導体中に誘起される渦電流は交流磁界の周波数に比例して増大するので、この空心コイルによる実験は磁気閃光用磁心の場合に達成できない電流密度を得るために行ったものである。

胚の近傍を流れる渦電流密度の推定値は、(20Hz, 10mT), (2kHz, 10mT) および (20kHz, 15mT) の場合、半径1cmの点でそれぞれ、 $0.01 \mu\text{A}/\text{Am}^2$, $0.1 \mu\text{A}/\text{mm}^2$, および $1.5 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ であった。

さらに高い電流密度を必要とする実験では、胚に直接交流電流を印加した。すなわち、断面積の異なる幾つかの直方体の容器を用意し、この中に0.18%の生理食塩水を入れ、容器中央部付近に張った網の上に胚を置いた。容器の両端につけた電極板に20Hzの電圧をかけ通電した。

3. 結果および考察

ELF 磁界下ではほとんどの胚が正常に孵化した。卵割期胚に磁界を8~12時間印加した場合、対照と同じ

Fig. 2 Magnetic core which produces magnetophosphenes. Embryos were exposed to alternating magnetic fields generated by the magnetic core.

ように神経胚が形成された。このことから、初期発生において重要な形態形成運動である囊胚形成や神経胚形成などは本実験範囲の ELF 磁界には影響を受けないものと考えられる。

なお、磁場にさらさなかった対照群にも、磁場にさらしたサンプル群にも、孵化したオタマジャクシには、それぞれ、一定の頻度で奇形が出現した。奇形の種類として、(1)体色がうすいものや白っぽくなるもの (Albino), (2)尾の先端が曲がるなどの中軸構造異常をもつもの (Axial anomaly), (3)浮腫を伴うもの (Edema), および (4)小頭の個体 (Microcephaly) などに分類できるが、Fig. 3 に示すように、これらの奇形は単一に現れる場合もあるが、一つの個体が二つ以上の奇形を兼ねている場合が多かった。ここでは、これらの奇形を分類せずに、全部まとめて奇形の個体を数えた。

磁気閃光用磁心を用いて胚を卵割期から8時間20Hzの交流磁界にさらした場合の実験結果をFig. 4に示す。

A はシャーレ中心から半径1cm付近に配置したサンプル、B は2.5cm、C は4cm、および、D は6cmの部分のサンプルである。Cont は対照群である。A の場合、磁束密度は10mTで胚の近傍を通過する渦電流密

Fig. 3 Types of abnormality in hatched tadpoles.

Fig. 4 The embryonic development under alternating magnetic fields (20 Hz, 10 mT). The embryos were exposed to the fields during cleavage-gastrula stage for 8 hrs. Groups A-D correspond to those shown in Fig. 2. Samples A: 61, B: 27, C: 40, D: 71, Cont: 50

度の推定値は $0.001 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ である。

図中、左から右へ、孵化しなかった割合、孵化後の死亡率、泳いでいるオタマジャクシの中の奇形率、および孵化後の死亡率と奇形率を合計した全体の奇形率である。なお、ここでの、孵化しなかった割合とは、胚が尾芽胚まで進行しなかった割合を言い、また、孵化後の死亡率とは、胚がいったん尾芽胚をすぎて体動運動を始めた後に死亡したサンプルの割合をいう⁴⁾。

対照群と比べて、孵化率も奇形率も 20 Hz の交流磁界によって何ら変化を受けていない。磁束密度を 15 mT に増加して同様の実験を行ったが、特筆すべき影響は見られなかった。

空心コイルを用いて胚を卵割期から 8 時間 2 kHz, 10 mT の交流磁界にさらした場合の実験結果を Fig. 5 に示す。ここに、A, B, C, および D は、直径 15 cm のシャーレの中を内側から四のグループに分けて胚を配置したものであって、A: 中心～半径 2 cm, B: 半径 2 cm～4 cm, C: 半径 4 cm～6 cm, D: 半径 6 cm～7.5 cm におけるサンプルである。

シャーレが均一の磁界にさらされている場合、シャーレ内のリンガー液に誘起される渦電流密度は半径に比例するので⁵⁾, Fig. 5 の場合は Fig. 4 の場合と違って、D における胚が最も高い電流密度で刺激されたことになる。

グループ D の場合、半径 7 cm の点での電流密度は $0.7 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ である。

磁界の周波数をさらに上げて 20 kHz とし、磁束密度を 15 mT に増加して同様の実験を行ったが、やはり、特筆すべき影響は見られなかった。この場合、半径 7 cm の点での渦電流密度は $10.5 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ であるが、これが本実験の ELF 磁界で得られる最大の電流密度であった。

Fig. 5 The embryonic development under alternating magnetic fields (2 kHz, 10 mT). The embryos were exposed to the fields during cleavage-gastrula stage for 8 hrs. The samples A-D were exposed to the same uniform field generated by a Helmholtz coil, and the induced current density was maximum at D. Samples A: 13, B: 49, C: 60, D: 56, Cont: 50

Fig. 6 The effect of ELF electric fields on the embryonic development. Embryos were exposed to alternating currents of different current densities at 20 Hz for 8 hrs. ○: Cleavage-Gastrula Stage, ×: Gastrual-Neurula Stage, △: Neurual-Tail bud Stage.

そこで、初期発生のいくつかの期間に、胚に直接 20 Hz の交流電流を 8 時間印加してその後の発生過程を観察した。電流密度を変えていった場合の結果を Fig. 6 に示す。たて軸は、孵化しなかった割合と孵化後の死亡率と生存中の奇形の割合全部を合計した割合、すなわち、正常に育たなかった胚の割合を示している。

図中○印は卵割期～囊胚期、×印は囊胚期～神経胚期、△印は神経胚期～尾芽胚期に電流を印加したサンプルである。

このように、初期発生の胚に 20 Hz の交流電流を 8 時間流した場合、電流密度が $100 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ を越えると胚発生は壊滅的影響を受けることがわかる。

次に、Fig. 7 に示すように、20 Hz, $100 \mu\text{A}/\text{mm}^2$ の交流電流を胚発生の種々の段階で 15 分間ずつ印加した。

Fig. 7 The embryonic development of *Xenopus laevis* and periods of ELF electric field exposures for 15 min.

結果を Fig. 8 に示す。A；卵割期，B；卵割期～胞胚前期，C；胞胚期～囊胚期前，D；神経胚期，E；尾芽胚期である。B の場合，mRNA（メッセンジャーRNA）の合成が開始される 期間に 胚発生が妨害されており，その後の正常な胚発生が保証されていない。したがって，卵割期後半での電磁界の印加は胚発生に重大な影響を及ぼすと考えられる。

なお，胚に直接作用する電流密度の評価においては，胚のまわりのリンガー液の導電率と胚の細胞膜の導電率との比を考慮に入れる必要がある。例えば，リンガー液と膜との導電率の比が 1000：1 であれば，リンガー液の電流密度が $100\mu\text{A}/\text{mm}^2$ のとき，胚の細胞膜を貫通する電流密度は $0.1\mu\text{A}/\text{mm}^2$ のオーダーとなる。

4. む す び

以上，20Hz～20kHz の低周波磁界および 20Hz の交流電流が生物発生過程にどのように影響を及ぼすかについて，アフリカツメガエルを用いて実験を行い，初期発

Fig. 8 The effect of ELF electric fields on the embryonic development. Embryos were exposed to alternating currents of $100\mu\text{A}/\text{mm}^2$ at 20 Hz for 15 min in each stage (A: Cleavage Stage, B: Cleavage-Brastra Stage, C: Brastra-Gastrula Stage, D: Neurula Stage, E: Tail bud Stage).

生過程の胚に奇形や致死を生じさせる電流密度を求めた。

また，この種の研究においては，磁界や電界を印加するタイミングが重要な要因であり，特に，卵割期～胞胚期の胚が外界からの作用に対して影響を受けやすいことが明らかとなった。

文 献

- 1) A.R. Sheppard and M. Eisenbud: Biological Effects of Electric and Magnetic Fields of Extremely Low Frequency, New York University Press, New York (1977).
- 2) 上野，松本，原田：電気四学会九州支部連合大会講演論文集，p. 244 (1978年10月)。
- 3) P. Lövsund, P.Å. Öberg and S.E.G. Nilsson: Med. Biol. Eng. Comp., 18, 758-764 (1980).
- 4) S. Ueno, K. Harada and K. Shiokawa: IEEE Trans. Magn., MAG-20(5), 1663-1665 (Sept. 1984).
- 5) 上野照剛：電気学会マグネティックス研究会資料，MAG-82-9 (1982年1月)。

1986年1月13日受理，1986年1月28日採録