

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

日本医学放射線学会雑誌 (1999.08) 59巻9号:467~469.

高定常磁場及びパルスラジオ波暴露環境下における細菌変異の有無

峯田昌之、片田竜司、山田有則、長沢研一、高橋康二、油野民雄、吉田逸朗

# 高定常磁場およびパルスラジオ波暴露環境下における 細菌変異の有無

峯田 昌之<sup>1)</sup> 片田 竜司<sup>1)</sup> 山田 有則<sup>1)</sup> 長沢 研一<sup>1)</sup>  
高橋 康二<sup>1)</sup> 油野 民雄<sup>1)</sup> 吉田 逸朗<sup>2)</sup>

1) 旭川医科大学放射線医学講座 2) 同細菌学講座

## Bacterial Mutation in High Magnetic Fields and Radiofrequency Radiation

Masayuki Mineta<sup>1)</sup>, Ryuji Katada<sup>1)</sup>,  
Tomonori Yamada<sup>1)</sup>, Kenichi Nagasawa<sup>1)</sup>,  
Koji Takahashi<sup>1)</sup>, Tamio Aburano<sup>1)</sup>  
and Itsuroh Yoshida<sup>2)</sup>

Epidemiological studies recently have indicated that magnetic fields and radiofrequency (RF) radiation have an adverse influence on the living body. The purpose of this study was to examine the safety of magnetic resonance imaging (MRI) by observing whether bacterial mutation occurs in an approximate MRI environment. We employed a GX-270 FT-NMR unit (JEOL, Ltd.) with a magnetic field strength of 6.3 Tesla. The *Salmonella typhimurium* tester strains used in the AMES test were exposed, and the incidence of point and frameshift mutations was evaluated. TA98 and TA7001-7006 mixed strains were used to detect frameshift and point mutations, respectively. Tester strains were exposed to the 6.3 Tesla magnetic field with RF radiation (90° and 180° refocusing pulses were repeated using the hydrogen Larmor frequency at 2-second intervals) for 15, 30, 45, and 60 minutes. After each exposure, the rate of revertant mutation was counted. The rates of revertant mutation in mixed strains and the TA98 strain were not statistically significant. Therefore, it was concluded that bacterial mutation is not increased by RF radiation under a 6.3 Tesla magnetic field.

Research Code No. : 499

Key words : Magnetic resonance imaging, Mutation,  
Safety, Bacteria, AMES test

Received Feb. 8, 1999; revision accepted May 11, 1999

1) Department of Radiology, Asahikawa Medical College

2) Department of Microbiology, Asahikawa Medical College

## はじめに

電磁場や電磁波は生体に悪影響を及ぼしているという疫学調査が報告<sup>1)-4)</sup>され、社会的関心が高まっている。一方、画像診断領域では核磁気共鳴を利用したMRI装置が開発され、現在では一般病院に普及しているのが現状である。しかし、MRIで利用される電磁場や電磁波が催奇形性を有しているかに関しては明確に確立されておらず、3カ月未満の妊婦は検査の際、十分な注意が必要とされている<sup>5)</sup>。

今回、MRI近似環境を作成し高定常磁場およびパルスラジオ波環境下で細菌に変異が生じるかの検討を *in vitro* で行ったので報告する。

## 方 法

実験の概要：使用機器はパルスフーリエ変換NMR装置(日本電子 GX-270 FT-NMR)であり、磁場強度は6.3Tである。使用した細菌はAMES法で用いられる、*Salmonella typhimurium*変異株であり、検討した変異パターンは同菌で検出できる点突然変異およびフレームシフト型突然変異である。増殖期の細菌を6.3Tの高定常磁場と同磁場環境における水素のラーモア周波数(270MHz、90度パルスと180度パルスが2秒間隔に繰り返されるパルスラジオ波環境)で一定時間(15分、30分、45分、60分)暴露し、培養後、復帰変異の有無を検討するのが一連の流れである。

機器設定および暴露条件：MRI装置と近似のpulse sequenceを想定し90度パルスと180度パルスの条件を決定した。同機器では90度パルスは375 $\mu$ sec、180度パルスは750 $\mu$ secのパルスラジオ波暴露により設定することができ、90度パルス終了後、50msec後に180度パルスが暴露され、その後1950msecの間を置いて90度パルスが再度繰り返されるpulse sequenceを決定した(Fig. 1)。調整された菌液は15分、30分、45分、60分、室温下で暴露された。なお、陰性対照群として非暴露群を設定した。同環境での1時間暴露では水温上昇は認めなかった。

細菌の調整：点突然変異は*Salmonella typhimurium*のヒスチジンオペロンで生じ、細菌はヒスチジン要求性となる。これらの単塩基の置換はヒスチジン遺伝子の特定の部位に生じることがわかっており、ヒスチジンが外部から供給されない限り細菌増殖は生じない。変異原に暴露され復帰変

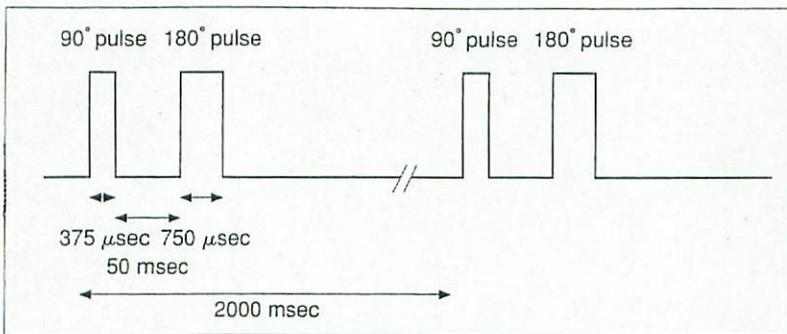


Fig. 1 Pulse sequence (6.3 Tesla, 270 MHz).

異が生じれば、ヒスチジン非依存性に菌は変化し、再度増殖能を獲得することとなる。

フレームシフト型突然変異は遺伝子DNAへのヌクレオチドの欠失、付加により遺伝暗号の読みとりにミスが生じ、ヒスチジン合成ができなくなっている変異パターンである。変異原暴露により復帰変異することが知られている。

点突然変異の検討には *Salmonella typhimurium* TA7001-7006 混合株 (混合株)、フレームシフト型突然変異の検討には *Salmonella typhimurium* TA98 株 (TA98) を使用した。混合株は 6 種の菌が等量ずつ含まれており、ターゲットとなるヌクレオチドはいずれも異なっている。菌の詳細は Table 1 に示した。

実際の AMES 試験には Xenometrix 社製 AMAX manual system を用いた。このシステムは使用する菌の自然復帰変異がきわめて少なく、また培地に菌を蒔いてコロニーをカウントするのではなく、変異原に暴露された菌を 48 wells プレートに分配し、その well の色調変化で復帰変異数をみるのが特徴<sup>6)</sup> となっている。

混合株、TA98 は 12 時間培養し、暴露を受ける菌を約  $10^7$  個に調整した。1 回の分裂が可能な濃度に調整されたヒスチジンを含む液体培地内で菌は室温下に高定常磁場、パルスラジオ波暴露を受けた。暴露時間は 15, 30, 45, 60 分であるが暴露時間以外は同じ環境を保つために室温下に置いた。暴露された菌液は、90 分培養の後 PH indicator (bromocresol purple) が加えられ、各群毎に 48 wells プレートに分配し 48 時

間培養された。2 日後、各 well の色調変化 (青→黄) を調べ、変化のあった well 数をカウントすることにより復帰変異を検討した。なお、陽性対照群としては 2-nitrofluorene (2-NF: 250 ng/ml) と 4-nitroquinoline N-oxide (4-NQO: 62.5 ng/ml) 混合液の 90 分暴露を用いた。暴露群、陽性対照群の検体数は 9 検体であり、陰性対照群は 18 検体である。

統計解析: 統計解析には one-way analysis of variance (ANOVA) および non-parametric Kruskal-Wallis test を用いた。

## 結果

点突然変異 (混合株) およびフレームシフト型突然変異 (TA98) の結果を Table 2 に示す。混合株群の変異 well 数は 48 wells 当たり 15 分暴露群  $0.44 \pm 0.53$  well, 30 分暴露群  $1.00 \pm 0.71$  well, 45 分暴露群  $1.33 \pm 1.87$  well, 60 分暴露群  $0.78 \pm 0.97$  well であり、TA98 群は 15 分暴露群  $1.67 \pm 2.12$  well, 30 分暴露群  $1.11 \pm 1.05$  well, 45 分暴露群  $0.89 \pm 1.05$  well, 60 分暴露群  $0.56 \pm 0.53$  well であった。また、高定常磁場とパルスラジオ波暴露のない陰性対照群の変異 well 数は混合株群  $0.89 \pm 0.90$  well であり、TA98 群  $0.94 \pm 1.10$  well であった。2-NF, 4NQO 混合液を用いた陽性対照群の変異 well 数は、混合株群  $16.67 \pm 6.47$  well であり、TA98 群は  $12.51 \pm 4.37$  well であった。暴露された混合株 ( $p = 0.496$ ; ANOVA,  $0.7 < p < 0.8$ ; Kruskal-Wallis) および TA98 ( $p = 0.258$ ; ANOVA,  $0.5 < p < 0.7$ ; Kruskal-Wallis) は有意に復帰変異は生じなかった。陽性対照群とはいずれも有意の差が認められた ( $p < 0.001$ ; ANOVA,  $0.005 > p > 0.001$ ; Kruskal-Wallis)。

## 考察

1979 年、Wertheimer らが高圧送電線下の居住者に白血病が有意に高いと報告<sup>4)</sup> して以来、電磁場や電磁波に発癌性があるのではないかと疫学調査が相次いで報告<sup>1-3)</sup> されている。一方、画像診断の領域では、磁場とパルスラジオ波

Table 1 Genotypes of mixed strains and TA98 *Salmonella typhimurium*

Strain	Mutation	Type	Target	Cell wall*	Repair**	pKM101***
Mixed						
TA7001	hisG1775	point mutation	A:T > G:C	rfa	uvrB	yes
TA7002	hisC9138	point mutation	T:A > A:T	rfa	uvrB	yes
TA7003	hisG9074	point mutation	T:A > G:C	rfa	uvrB	yes
TA7004	hisG9133	point mutation	G:C > A:T	rfa	uvrB	yes
TA7005	hisG9130	point mutation	C:G > A:T	rfa	uvrB	yes
TA7006	hisC9070	point mutation	C:G > G:C	rfa	uvrB	yes
TA98	hisD3052	frameshift	GC	rfa	uvrB	yes

\*These mutations affect the lipopolysaccharide component of the cell envelope. These strains have increased permeability for bulky molecules.

\*\*Strains carrying the uvrB mutation are deficient in excision repair of bulky lesions as measured by their lack of survival following UV254 irradiation.

\*\*\*Plasmid pKM101 acts to increase the activity of the antibiotic ampicillin.

Table 2 Number of revertant mutations in Salmonella typhimurium exposed to high magnetic field and RF radiation

Tester strains	Exposure time				Control	
	15 min	30 min	45 min	60 min	Negative	Positive
Mixed strains (per 48 wells) (48 wells × n)	0.44 ± 0.53 (9)	1.00 ± 0.71 (9)	1.33 ± 1.87 (9)	0.78 ± 0.97 (9)	0.89 ± 0.90 (18)	16.67 ± 6.47* (9)
TA98 (per 48 wells) (48 wells × n)	1.67 ± 2.12 (9)	1.11 ± 1.05 (9)	0.89 ± 1.05 (9)	0.56 ± 0.53 (9)	0.94 ± 1.10 (18)	12.51 ± 4.37* (9)

\*p < 0.001 ANOVA, \*0.005 > p > 0.001 Kruskal-Wallis.

を組み合わせたMRI装置が臨床ではルーチン化されて用いられているが、teratogenic potentialもあるのではないかとする報告<sup>7)</sup>も認められる。FDA<sup>8)</sup>やNRPB<sup>5)</sup>では、根拠はないものの胎児や妊娠初期妊婦に対する使用は十分な注意を喚起しており、未だに安全性は正確に確定されていない。

このような背景の上でわれわれはMRI近似の条件をNMR装置を用いて再現し、AMES法で用いられる細菌により検討したが、明らかな点突然変異、フレームシフト型突然変異は生じないという結果になった。使用したNMR装置は実際のMRI装置と異なり磁場の強度は6.3Tであるが、MRI装置では暴露部位の磁場が十分に均一になる条件設定は難しく、菌液に対して定常磁場、パルスラジオ波暴露が均一になることを考慮したためである。また、今回選んだpulse sequenceは実際のスピニング法のT<sub>2</sub>強調撮像の際と類似して作成されたが、T<sub>2</sub>強調撮像はTR時間が長くT<sub>1</sub>強調撮像を得る時間より、定常磁場、パルスラジオ波に暴露される時間が長いと考えたためである。

微生物を用いるAMES法は、動物の発癌試験結果と変異原性試験との相関が最も高いことよりしばしば用いられる検査法である。AMES法を用いた磁場、電磁波の変異原性試験の報告としては11.3Tの磁場のみに暴露した実験<sup>9)</sup>、0.3mT

磁場単独、60、600、6000Hz電磁波単独、同条件の磁場に電磁波を加えての暴露実験<sup>10)</sup>が報告されているが、いずれも変異原性は検出できていない。一方、0.2T磁場、60Hz電磁波の48時間暴露では、azide-induced TA100は有意に変異を生じたとの報告<sup>11)</sup>や、27MHzと2.45GHzの電磁波暴露にて菌は有意に増加したとの報告<sup>12)</sup>もある。しかし、いずれの報告もMRI装置のpulse sequenceをターゲットとしたものではない。

細菌に変異を生じさせなかったという結果のみで人体に対して催奇形性、癌原性がないと結論できないが、今回の実験では明らかな変異原性は指摘できず、MRI近似条件内で細菌の変異は生じないことが確認された。

### 結 論

6.3Tの高定常磁場環境下で90度パルス、180度パルスラジオ波が加えられても、細菌の変異は有意に増加しなかった。

### 謝辞

実験機器設定に多大な御協力をいただいた、旭川医科大学機器センター、田中邦雄先生、日下部光俊先生に深謝致します。

### 文 献

- 1) Feychting M, Ahlbom A: Magnetic fields and cancer in children residing near Swedish high-voltage power lines. *Am J Epidemiol* 138: 467-481, 1993
- 2) Savitz DA, Wachtel H, Barnes FA, et al: Case control study of childhood cancer and exposure to 60-Hz magnetic fields. *Am J Epidemiol* 128: 21-38, 1988.
- 3) Milham S Jr: Mortality from leukemia in workers exposed to electrical and magnetic fields. *N Engl J Med* 307: 249, 1982
- 4) Wertheimer N, Leeper E: Electrical wiring configuration and childhood cancer. *Am J Epidemiol* 109: 273-284, 1979
- 5) National Radiological Protection Board: Revised guidance on acceptable limits of exposure during nuclear magnetic clinical imaging. *Br J Radiol* 56: 974-977, 1983
- 6) AMAX<sup>TM</sup> manual system user's manual version 1.5. Xenometrix, Inc.
- 7) Heinrichs WL, Fong P, Flanary M, et al: Midgestational exposure of pregnant balb/c mice to magnetic resonance imaging. *Magn Reson Imaging* 6: 305-313, 1988
- 8) U. S. Food and Drug Administration: Magnetic resonance diagnostic device: Panel recommendation and report on petitions for MR reclassification. *Federal Register* 53: 7575-7579, 1988
- 9) 清水英佑, 鈴木勇司: 変異原性に関する研究. *癌の臨床* 44: 1464-1468, 1998
- 10) Morandi MA, Pak CM, Caren RP, et al: Lack of an EMF-induced genotoxic effect in the Ames assay. *Life Sci* 159: 263-271, 1996
- 11) Tabrah FL, Mower HF, Baskin S, et al: Enhanced mutagenic effect of 60Hz time-varying magnetic field on numbers of azide-induced TA100 revertant colonies. *Bioelectromagnetics* 15: 85-93, 1994
- 12) Hamnerius Y, Rasmuson A, Rasmuson B: Biological effect of high-frequency electromagnetic fields on Salmonella typhimurium and Drosophila melanogaster. *Bioelectromagnetics* 6: 405-414, 1985