

眼部への電波ばく露の定量的 調査に関する研究

金沢医科大学総合医学研究所

佐々木 洋(研究者代表)

佐々木 一之、小島 正美、Tsai Cheng-Yu

首都大学東京

多氣 昌生、鈴木 敬久、笠井 陽子

京都大学

宮越 順二、小山 眞、成田英二郎

研究体制の概要

ドシメトリ(首都大)

- ばく露装置開発
- 数値的(首都大)
- 実験的(金医大)

眼障害の閾値検索

- ばく露装置開発(首都大)
- 動物実験(金沢医大)

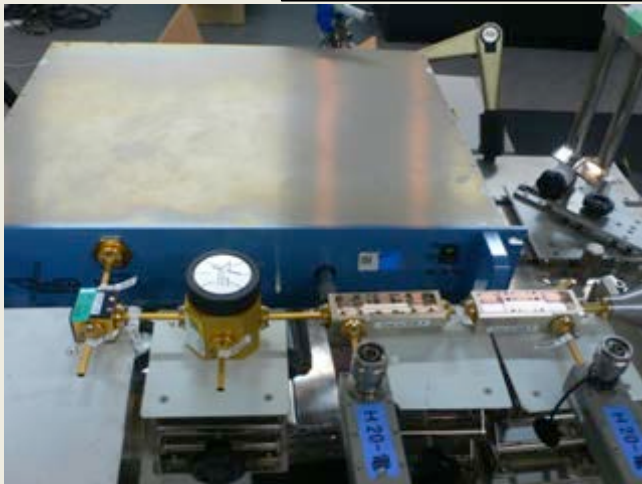
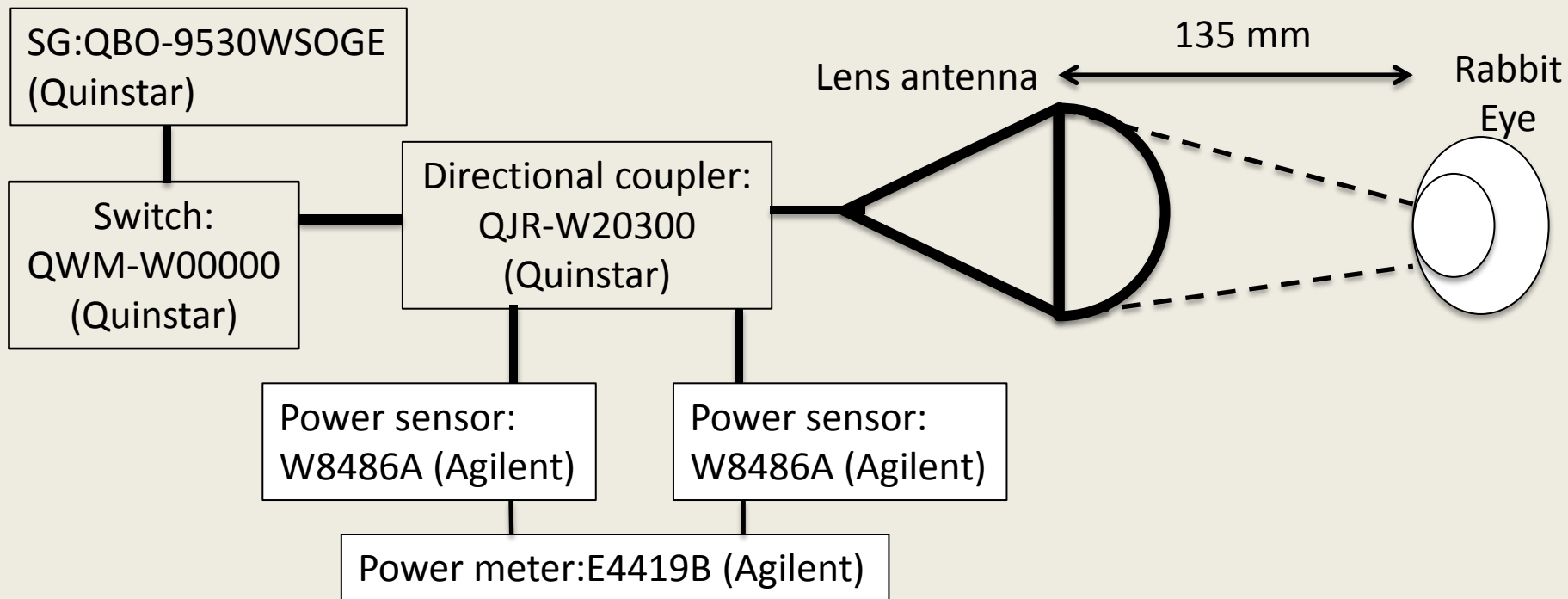
非熱作用の検討

- ばく露装置の開発(首都大)
- 細胞実験(京大)

定量的・一貫性
のある人体防護
ガイドライン
の検証

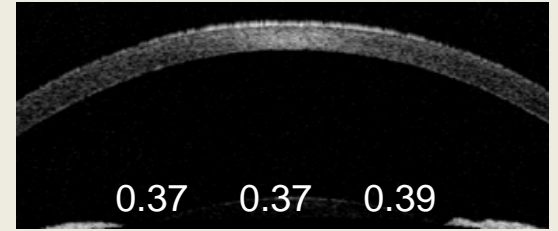
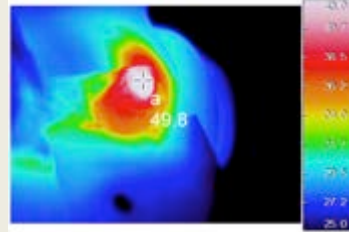
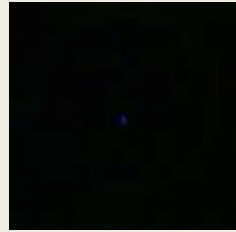
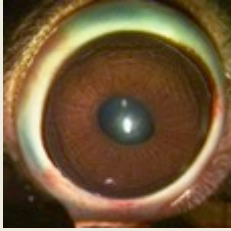
国際防護指針への提言

眼障害のばく露閾値、時間依存性検討

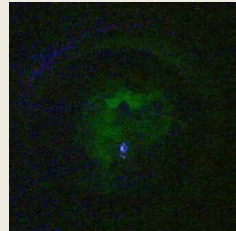
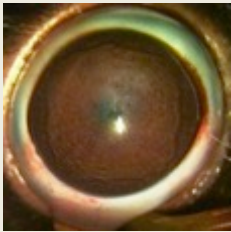


75 GHz, 200 mW/cm² 30分ばく露

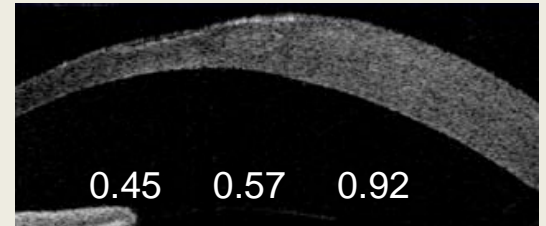
ばく露前



ばく露10分後



角膜表面の平均温度(ばく露中)
49.2±1.5°C



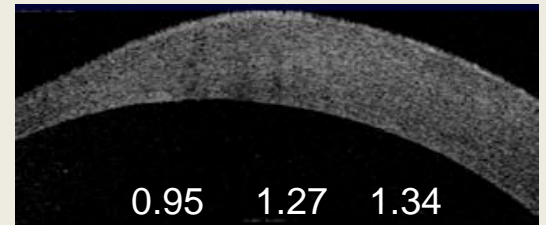
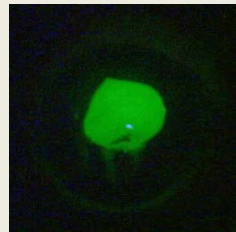
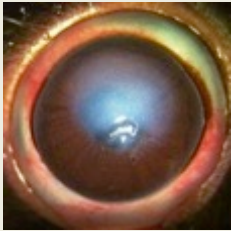
縮瞳

角膜実質障害 (眼炎症)

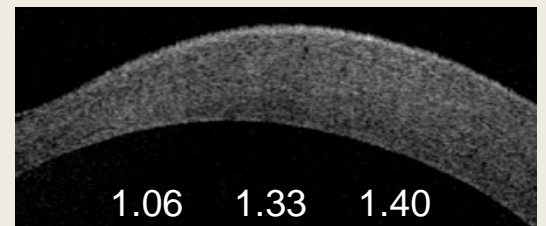
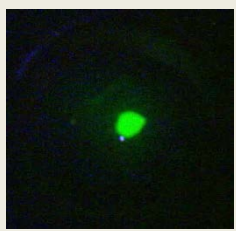
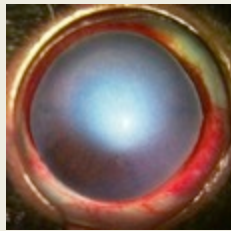
角膜上皮障害 (眼表面)

角膜実質障害 (浮腫)

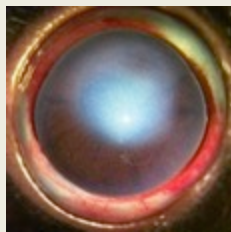
ばく露1日後



ばく露2日後



ばく露3日後

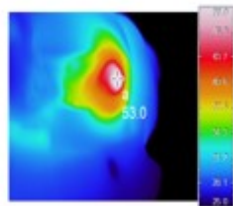


虹彩炎

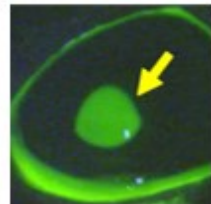
虹彩炎

75 GHz
ばく露直後

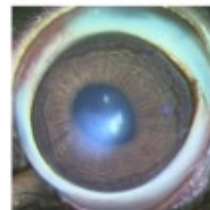
角膜表面温度(°C)



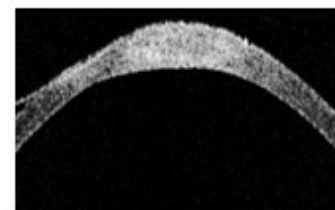
角膜上皮障害



角膜混濁



角膜浮腫



300 mW/cm²_6分

50.7 ± 1.9

障害 + (3/3)

障害 + (2/3)

障害 + (2/3)

200 mW/cm²_6分

46.2 ± 2.0

障害 + (5/5)

障害 - (0/5)

障害 - (0/5)

ばく露時間6分と30分では、30分ばく露が若干強い眼障害を示したが、我が国の防護指針に影響なし。

眼障害のばく露閾値及び時間依存性検討



目標達成

50 mW/cm²_30分

37.1 ± 0.8

障害 + (3/5)

障害 - (0/5)

障害 - (0/5)

10 mW/cm²_30分

33.8 ± 0.8

障害 - (0/3)

障害 - (0/3)

障害 - (0/3)

眼障害閾値検索の体系化

10,000

6 minutes

1550 nm

眼障害閾値検索の体系化



目標達成

眼障害閾値がICNIRPガイドラインに抵触するため、
今後、国際ガイドラインに提言をして行く。

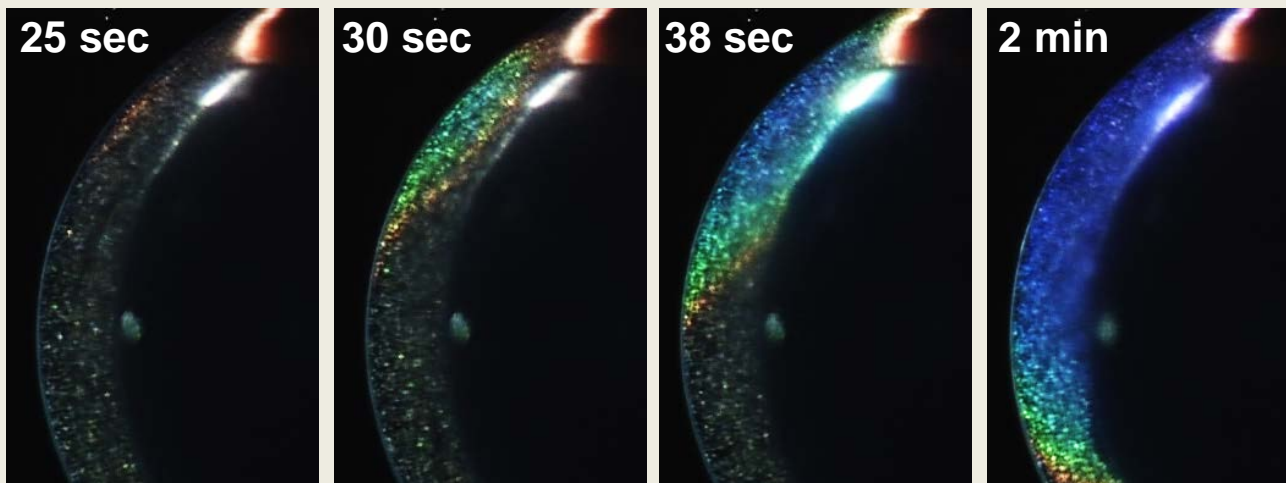
RRPG: General

1

国際ガイドライン関連 (ICNIRP, IEEE) の専門家を招き、
金沢で国際シンポジウムを開催し、概要は説明済み。

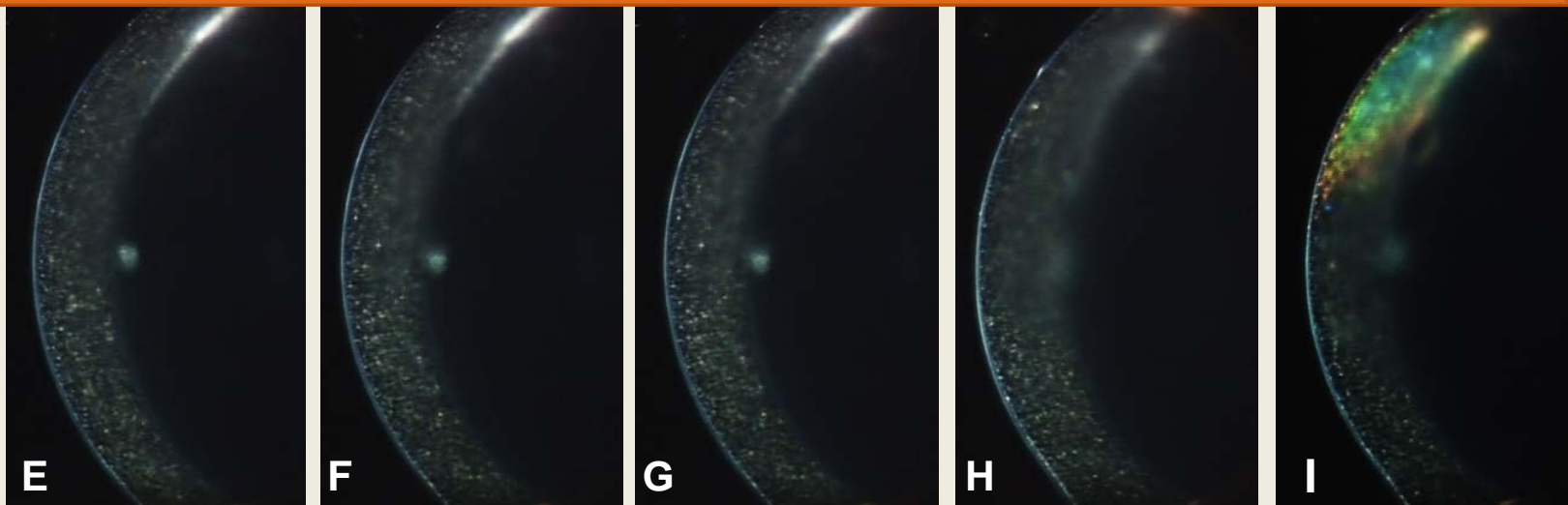
気流(0.5 m/s)と眼障害発生に関連 (75 GHz 200 mW/cm²)

気流
なし

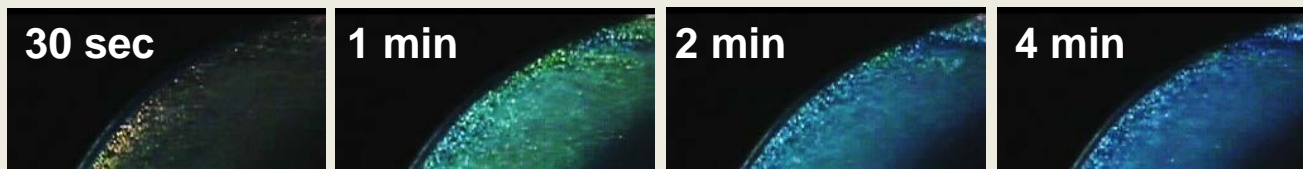


眼障害発生閾値以下のばく露では気流による障害発生軽減作用を認めた。

0.5m/s
気流



40 GHz 200 mW/cm² ばく露



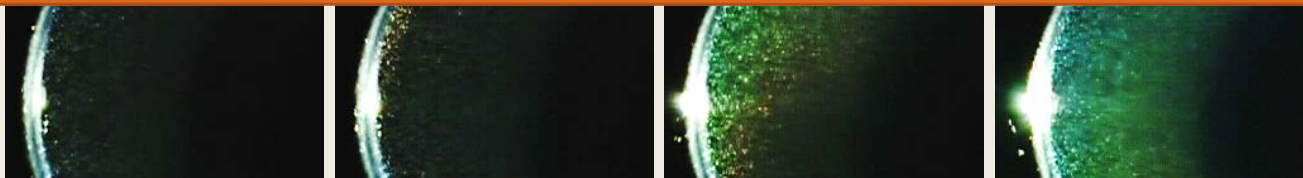
40 GHzでは湿度による眼内温度の差（高湿度＞低湿度）を認めしたが、75, 95 GHzでは明らかな差を認めなかった。

環境湿度、気流と眼障害発生に関連



目標達成

低湿度
30%



100 GHz以上の超高周波では、外眼部への熱の放散を検討する必要があることが示唆された。

～生体電磁環境研究終了評価資料(細胞実験)～

1. 60, 40GHzミリ波帯電波ばく露装置の培養環境の検証

京都大学に設置された、首都大学東京作製による60, 40GHzミリ波帯電波細胞ばく露装置を用いて、アーチファクトのない正常培養環境を保持しているかについて、細胞基本動態試験を行う。具体的には細胞の基本動態である、増殖能、コロニー形成能、細胞周期分布などについて調べる。対照として、同じ指標の細胞試験を通常のCO₂インキュベータを用いて、同時に行う。

2. 60, 40GHzミリ波帯電波ばく露による細胞影響評価

60, 40GHzミリ波帯電波細胞ばく露装置を用いて、遺伝毒性に関して細胞実験を行う。具体的には、細胞を用いた電波ばく露の発がん性影響評価研究として、小核形成およびDNA切断に関する細胞遺伝毒性について検討を行う。さらに、生理的影響評価として、電波の影響で注目されているストレスタンパクを中心として遺伝子発現への影響を検索する。

1. 細胞増殖能

2. コロニー形成能

3. 細胞周期分布

4. 小核形成試験

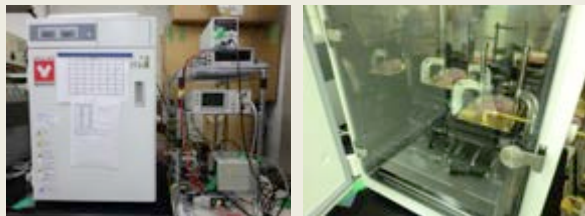
5. コメットアッセイ

6. ストレスタンパクの発現

60, 40GHzばく露用インキュベータの検証

60, 40GHzばく露実験

～60, 40GHzばく露装置 および通常インキュベータ～



60GHzばく露用インキュベータ
(37°C、5% CO₂、湿度100%)

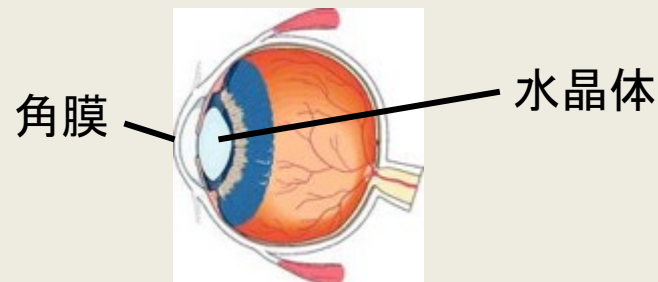


40GHzばく露用インキュベータ
(37°C、5% CO₂、湿度100%)

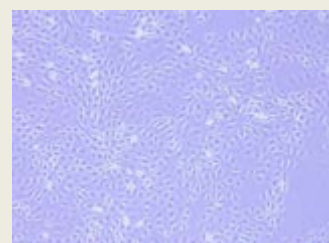


通常インキュベータ
(37°C、5% CO₂、湿度100%)

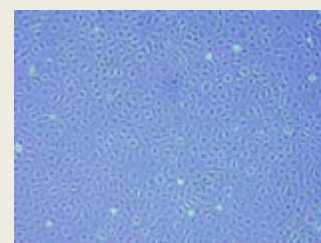
～実験に用いた細胞～



<http://www.fotosearch.jp/illustration/眼球.html>



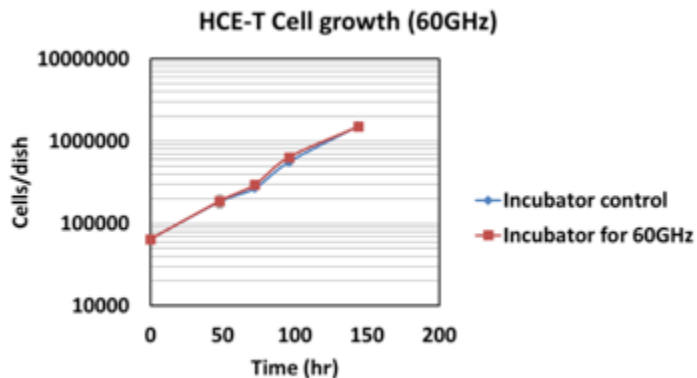
HCE-T 細胞
(ヒト角膜由来上皮細胞)
首都大学東京より分与



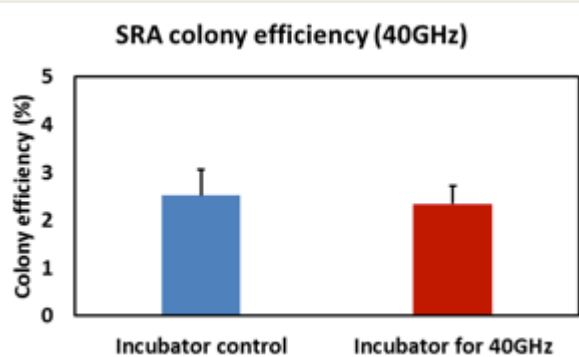
SRA 01/04細胞
(ヒト水晶体由来上皮細胞)
以下、SRA細胞と略記する
金沢医科大学より分与

～細胞動態試験(各試験1例ずつ)～

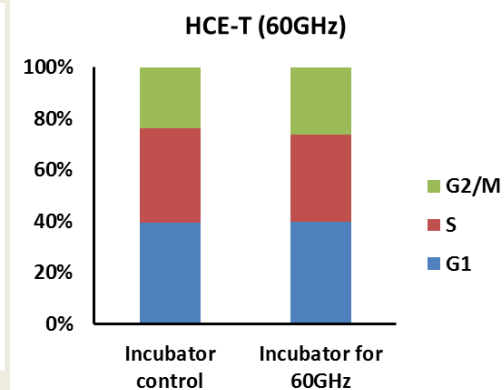
細胞増殖能



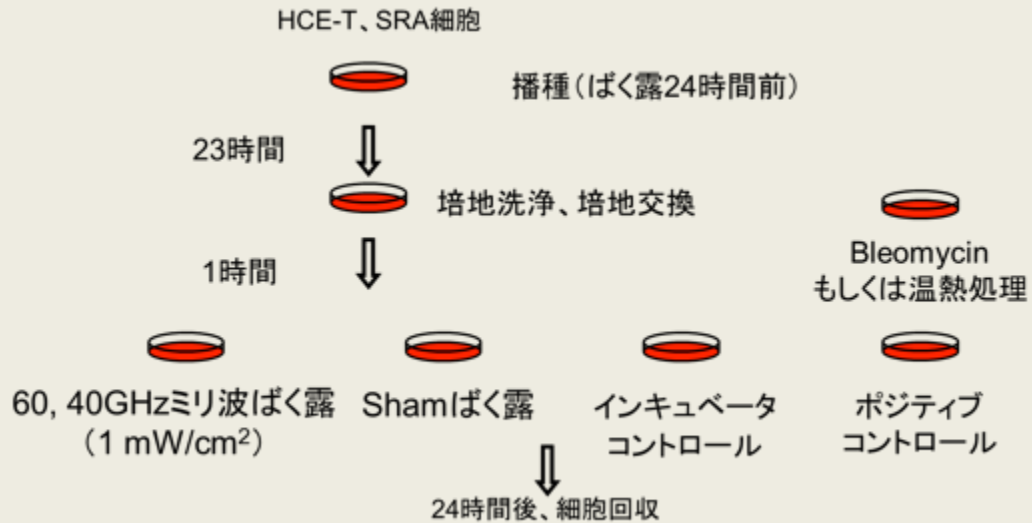
コロニー形成能



細胞周期分布



～60, 40GHzばく露条件および各試験方法～

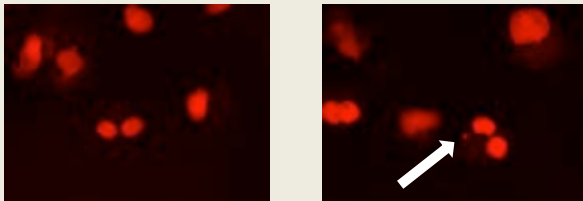


ばく露条件

- ・周波数: 60および40GHz
- ・ばく露時間: 24時間
- ・電力密度: 1mW/cm²

HCE-T, SRA細胞を用いて、電波ばく露(60, 40GHz、1mW/cm²、24時間)することによって、細胞の遺伝毒性(小核形成試験、コメットアッセイ)、生理的影響評価(ストレスタンパクの発現(Hsp70, Hsp90 α , Hsp27))を評価した。

小核形成試験結果の一例



小核形成試験は、細胞分裂の際、細胞質分裂を阻害し、核分裂を起こした細胞(二核細胞)内で、核に組み込まれなかった小核形成の有無を観察することにより、細胞への障害を判断する手法で、遺伝毒性の判別に頻繁に用いられる。障害が多いほど小核が形成される。

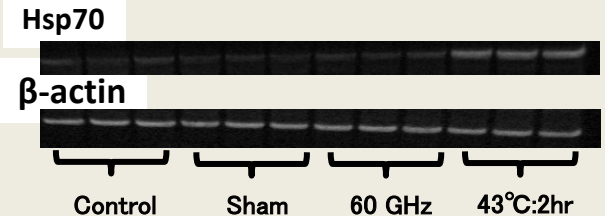
コメットアッセイの一例



コメットアッセイは、アルカリ条件下でコイル状DNAをほどこき、電気泳動を行うことで、個々の細胞レベルでDNA損傷を検出する細胞障害検査である。この試験では、単鎖切断および二重鎖切断を検出できる。障害が多いほど、Tailが延びる。

ストレスタンパク

ウエスタンブロッック結果の一例

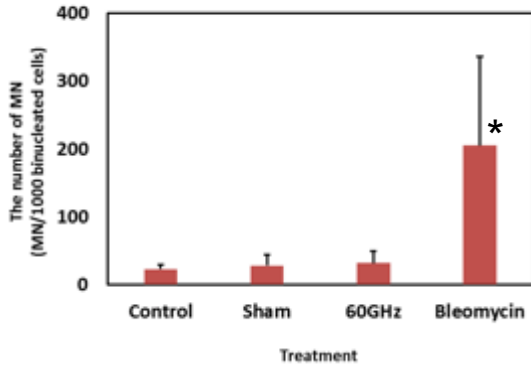


Heat Shock Protein (Hsp) は、熱・酸アルカリなどのストレスにより発現が上昇し、細胞を保護しようとするタンパク質で、分子量により分類されており、働きが異なる。今回は、Hsp70, 90 α , 27の3種類のHspの検出を行った。影響が大きいほど発現量が変化する。

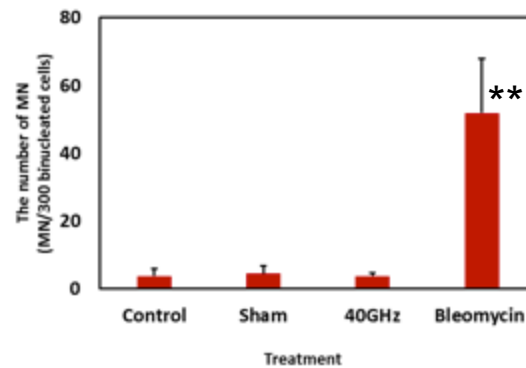
～評価結果～

小核形成試験、コメットアッセイ、ストレスタンパクの発現結果の一例

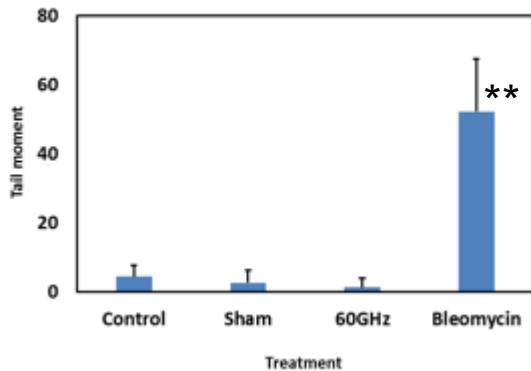
HCE-T MN (60GHz)



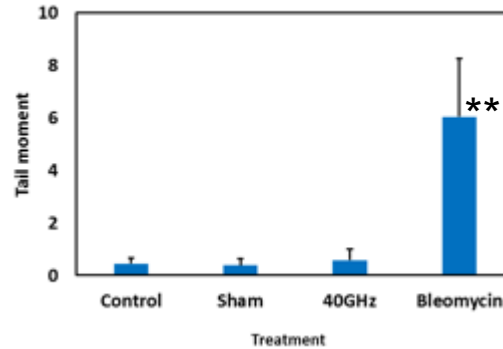
HCE-T MN (40GHz)



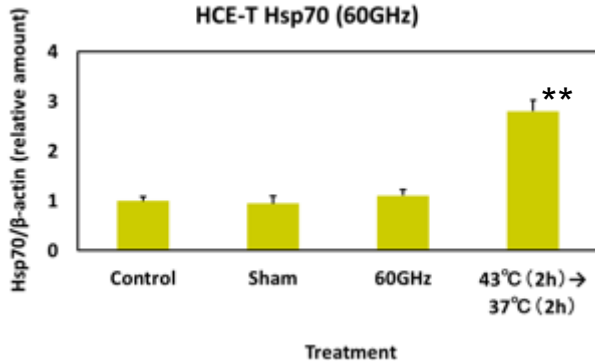
SRA Tail moment (60GHz)



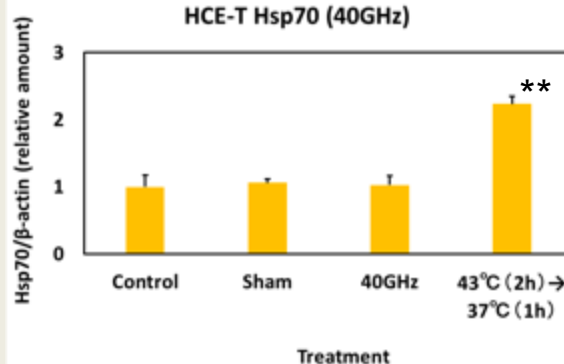
SRA Tail moment (40GHz)



HCE-T Hsp70 (60GHz)



HCE-T Hsp70 (40GHz)



(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)

小核形成試験

HCE-T、SRA細胞を用いて、非熱的長時間電波ばく露（60および40GHz、1mW/cm²、24時間）を行うことによって、小核形成への影響の有無を評価した。電波ばく露による小核形成試験の結果、60および40GHzばく露は、用いた条件下では統計学的に有意な影響は及ぼさなかった。

コメットアッセイ

HCE-T、SRA細胞を用いて、非熱的長時間電波ばく露（60および40GHz、1mW/cm²、24時間）を行うことによって、DNA切断への影響の有無を評価した。具体的な実験方法として、コメットアッセイを行った。電波ばく露によるコメットアッセイの結果、DNA切断について、60および40GHzばく露は、用いた条件下では統計学的に有意な影響は及ぼさなかった。

ストレスタンパクの発現

HCE-T、SRA細胞を用いて、非熱的長時間電波ばく露（60および40GHz、1mW/cm²、24時間）を行うことによって、ストレスタンパクへの影響の有無を評価した。Hsp70、90α、27の3種類のHspの検出を行った。電波ばく露によるストレスタンパクの発現量を比較した結果、60および40GHzばく露は、用いた条件下では統計学的に有意な影響は及ぼさなかった。

～細胞実験研究まとめと考察～

- 60、40GHzミリ波細胞ばく露装置用インキュベータの基本動態を調べた。60、40GHzミリ波細胞ばく露装置において、細胞増殖、コロニー形成能、細胞周期分布評価のいずれにおいても、コントロールのインキュベータと比較して有意な差はなかった。このことから60、40GHzミリ波ばく露用ばく露装置は、細胞生物学的にアーチファクトのない正常培養環境を保持していると考えられる。
- 60、40GHzミリ波ばく露による遺伝毒性の有無および生理的影響の有無を検索するため、ヒト角膜由来上皮細胞(HCE-T)およびヒト水晶体上皮細胞(SAR)における小核形成、コメットアッセイならびに、ストレスタンパクの発現を検索した。全ての実験において、コントロール、Shamばく露、60、40GHzミリ波ばく露において、有意な差は観察されなかった。このことから1mW/cm²、24時間の条件では、60、40GHzミリ波ばく露により細胞に遺伝毒性は誘発されなかった。また、生理的影響の指標であるストレスタンパクの発現(3種類:Hsp70,Hsp90α,Hsp27)も増加しなかった。従って、60、40GHzミリ波ばく露の非熱的長期ばく露は細胞の小核形成、コメットアッセイおよびストレスタンパクの発現に影響を及ぼさないと考えられる。**以上の結果から、当初計画した研究目標は達成できたと考える。**

工学的アプローチ体系図

ドシメトリ

ドシメトリによる眼障害閾値の考察
(動物実験)

- ・電磁界解析(-100GHz(~300GHz))
- ・熱輸送解析

細胞ばく露のドシメトリ

- ・電磁界解析(40,60GHz)
- ・熱輸送解析

実験

動物実験

- ・ばく露管理、ばく露評価
- ・データのとりまとめ

細胞実験

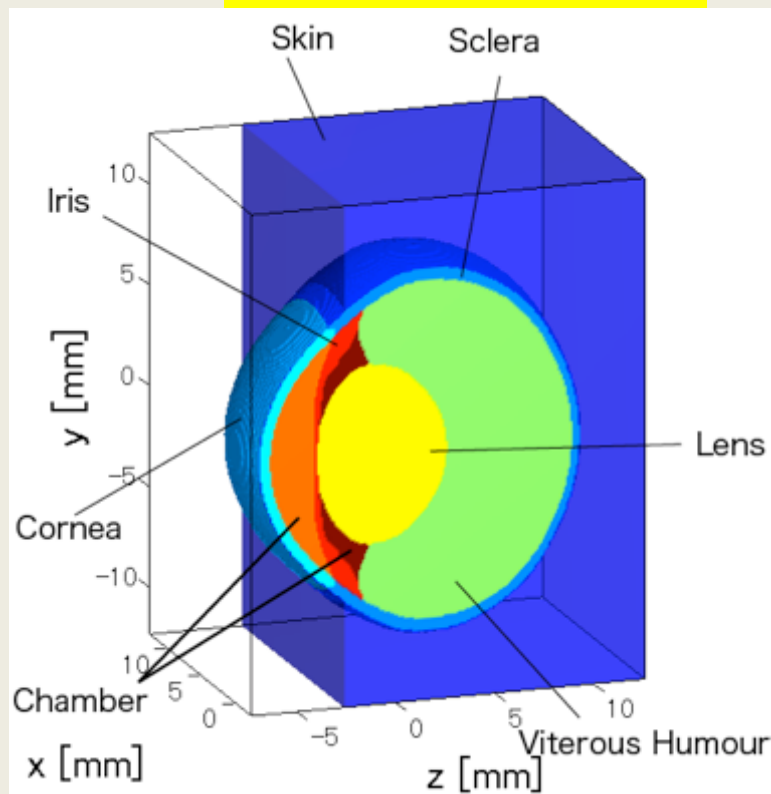
- ・ばく露管理、ばく露評価
- ・データのとりまとめ

・眼障害予測のための数理モデル構築
(・ヒトへの外挿など。。。)

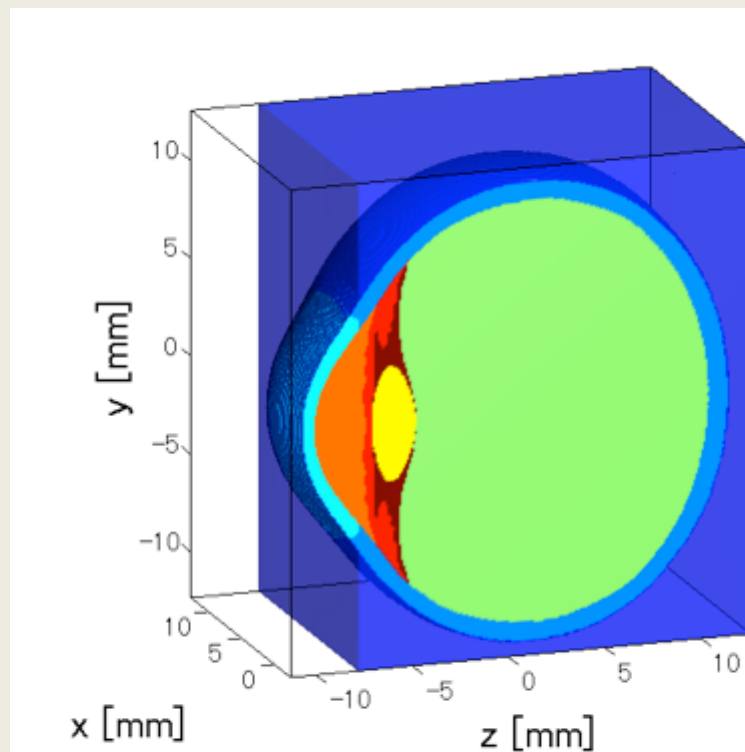
・眼障害閾値検索の体系化

家兎およびヒトの高解像度モデルの開発

家兎眼球モデル



ヒト眼球モデル



○解像度 : 50 μ m.

○7つの組織から構成(角膜、前房・後房水、虹彩、水晶体、硝子体、強膜、皮膚)

電磁界-熱輸送連成解析システム

【電磁界-熱輸送】連成解析システム



解法

連続の式

$$\nabla \cdot \vec{V} = 0$$

Navier-stokes方程式

$$\frac{\partial \vec{V}}{\partial t} + (\vec{V} \cdot \nabla) \vec{V} = -\frac{1}{\rho} \nabla p + \nu \Delta \vec{V} + \vec{g}$$

生体熱輸送方程式

$$\rho c_p \left(\frac{\partial T}{\partial t} + (\vec{V} \cdot \nabla) T \right) = \kappa \Delta T + A_s - h(T - T_{amb}) + Q$$

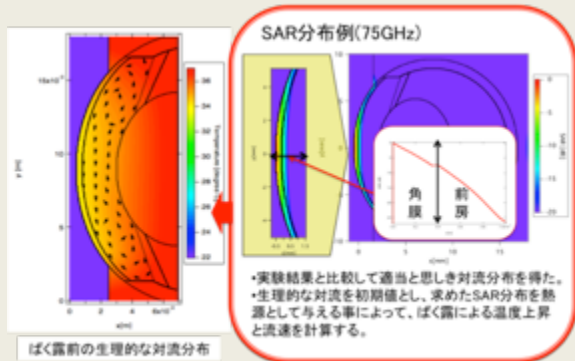
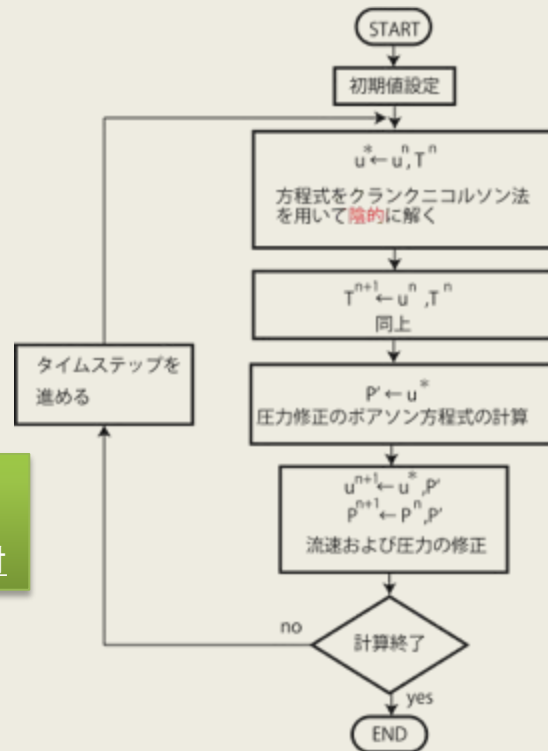
解法

圧力計算

$$Q = \rho SAR$$

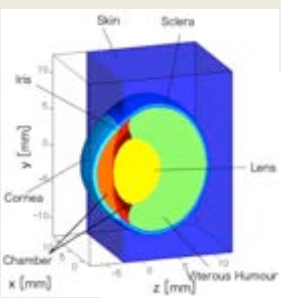
$$\Delta p = \frac{\rho}{dt} \nabla \vec{V} \cdot$$

熱輸送シミュレータとして
 SMAC(Simplified marker and cell) 法を用いたシステムを検討

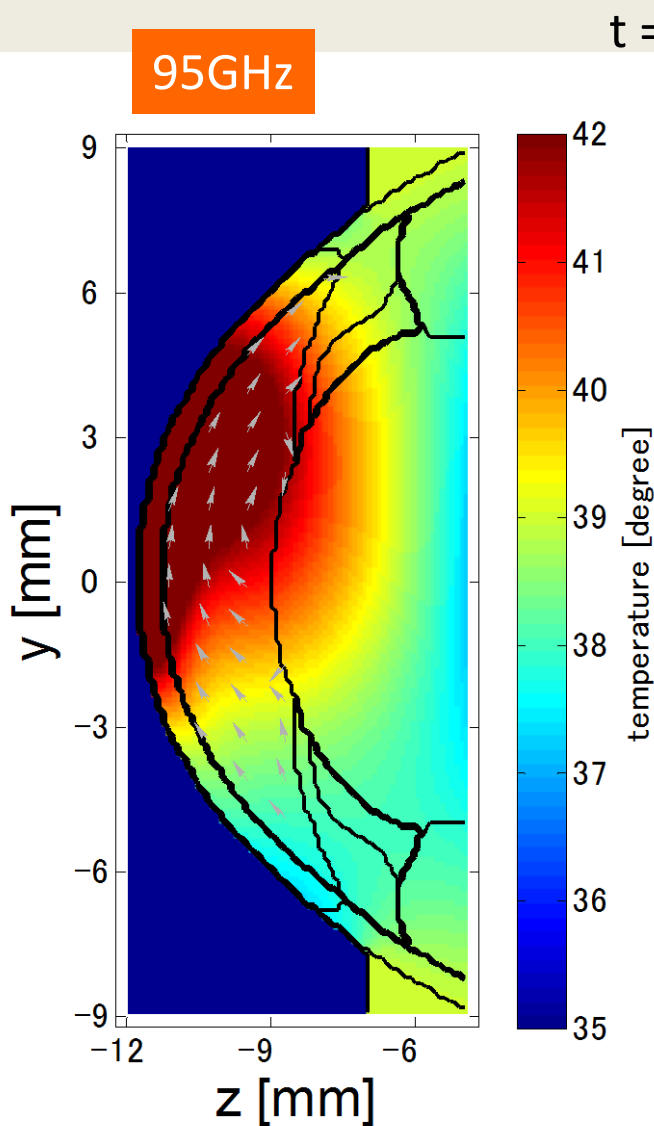
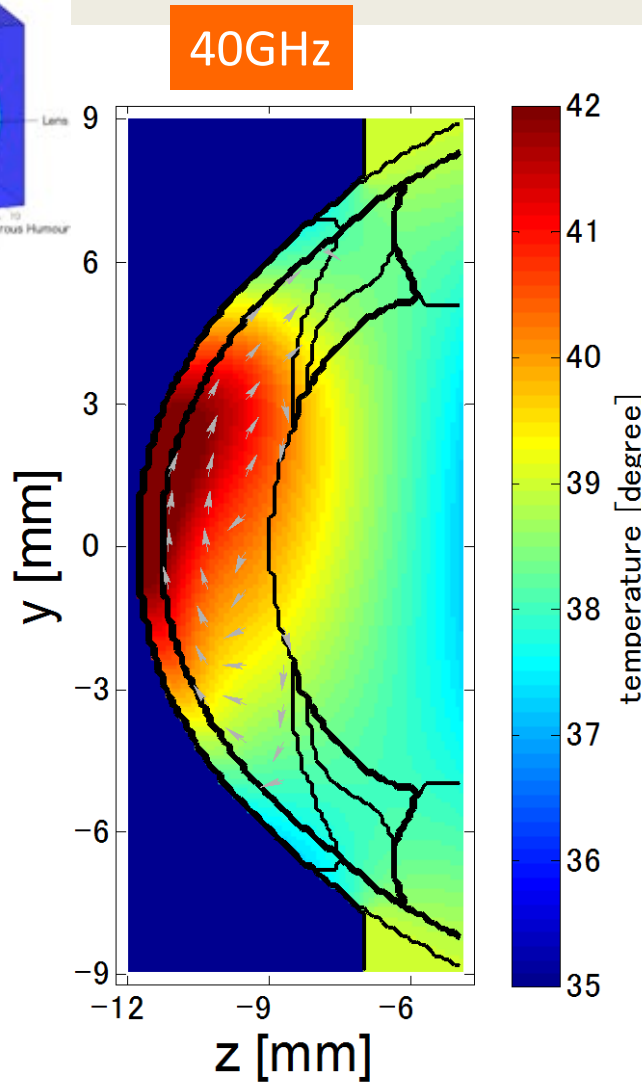


・前年度まで開発した、ミリ波ばく露時の温度上昇を高精度に計算できる計算コードシステムを使用。(熱伝導・対流熱伝達の双方を考慮)
 ・100GHz以上のシミュレーションまで実施

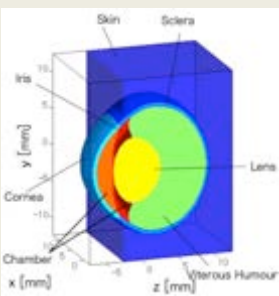
周波数依存の計算例 (200mW/cm²)



重力の方向
↓



入射電力依存の計算例(95GHz)

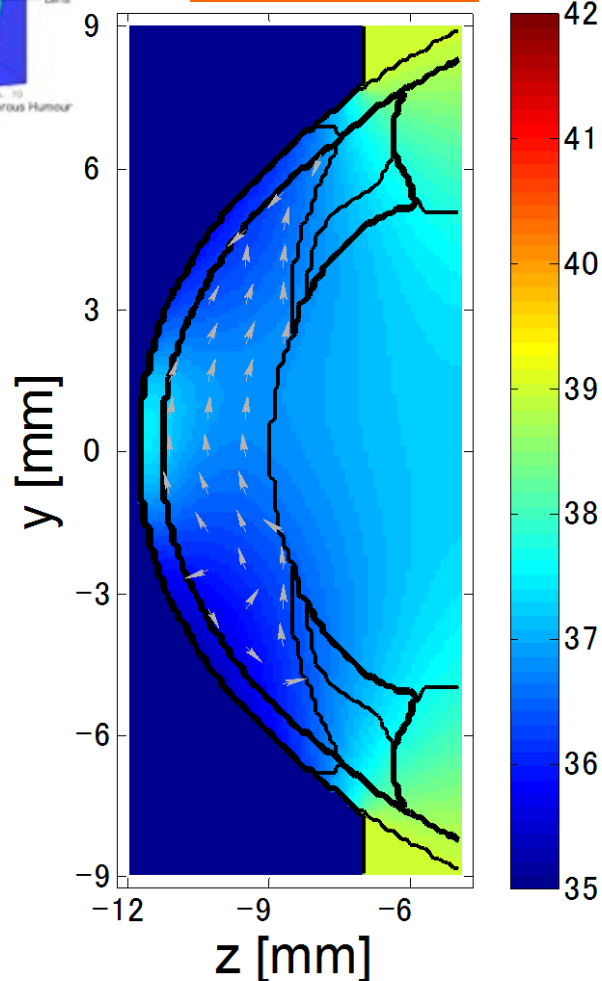


t = 360s

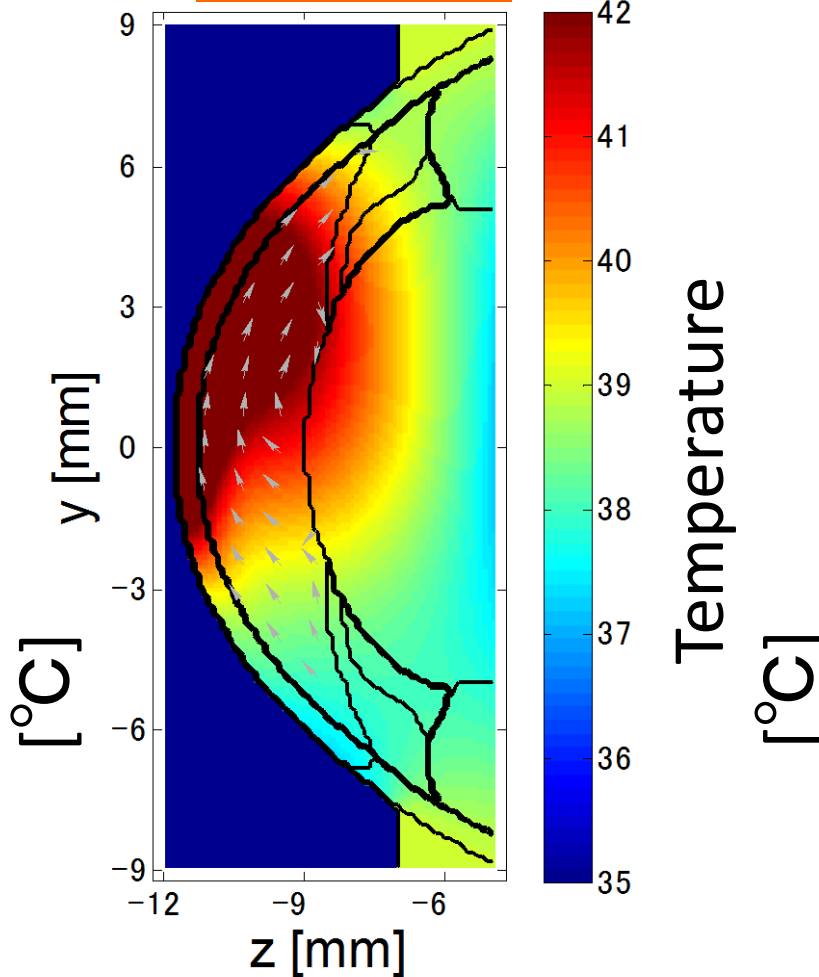
Gravity direction



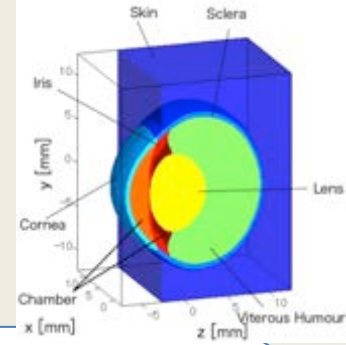
50mW/cm²



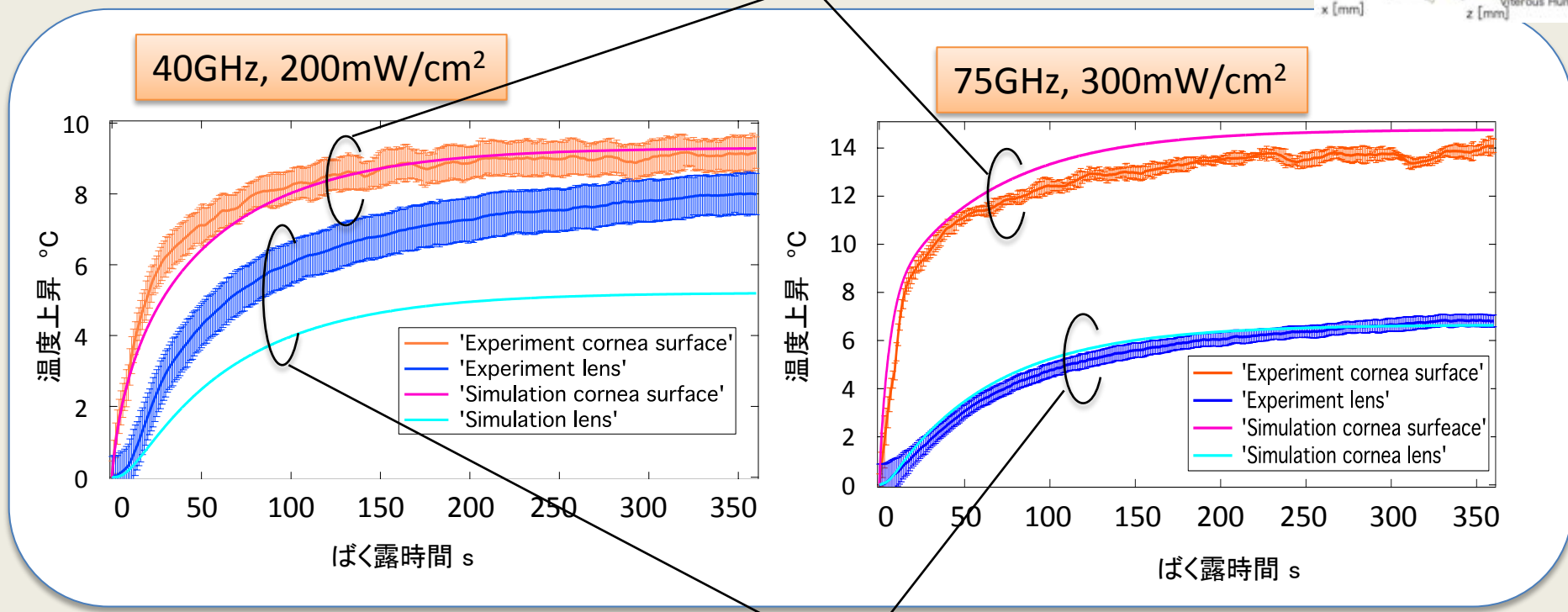
200mW/cm²



実験とシミュレーションの比較の例



角膜の温度上昇(実験:オレンジ、数値解:赤)



水晶体の温度上昇(実験:青、数値解:水色)

- ・角膜の温度上昇に関して、実験とシミュレーションは比較的良い一致が見られた。
- ・対流熱伝達モデルは角膜の温度上昇の推測に重要な役割を果たしている。

CEM43°C指標^[1-3]の導入

- 等価的な熱ドーズの指標として導入
 - 組織が43度の温度に何分間ばく露されたかに等価変換

$$CEM43^{\circ}C = tR^{(43-T)}$$

- CEM 43°C:等価的に43°Cに曝された時間
- t: 時間 (min)
- T: 平均温度t分間の
- R:等価な時間への変換係数
- 角膜組織において
 - $21 < CEM43^{\circ}C < 40$ min: 軽度障害
 - $41 < CEM43^{\circ}C < 22000$ min: 中程度の障害
 - $22000 < CEM43^{\circ}C$: 重度障害

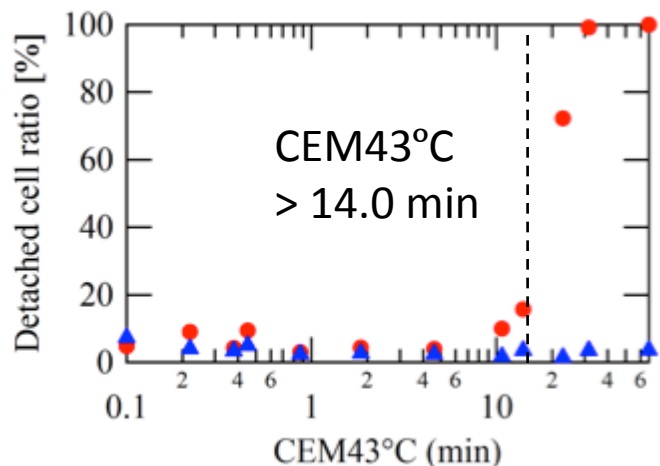
[1]Sapareto SA, Dewey WC. Thermal dose determination in cancer therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1984; 10: 787–800.

[2]Dewhirst MW, Viglianti BL, Lora-Michiels M, Hanson M, Hoopes PJ. Basic principles of thermal dosimetry and thermal thresholds for tissue damage from hyperthermia. Int J Hyperthermia. 2003; 19:267–294.

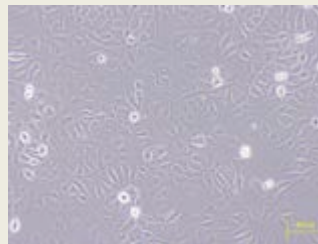
[3] Yarmolenko PS, Moon EJ, Landon C, Manzoor A, Hochman DW, Viglianti BL, Dewhirst MW, "Thresholds for thermal damage to normal tissues: an update", Int J Hyperthermia. 2011;27(4):320-43.

細胞実験によるCEM43°C指標の確認

例: 付着していない細胞の率
→CEM43°Cが14分以上で付着率の低下



HCE-T細胞



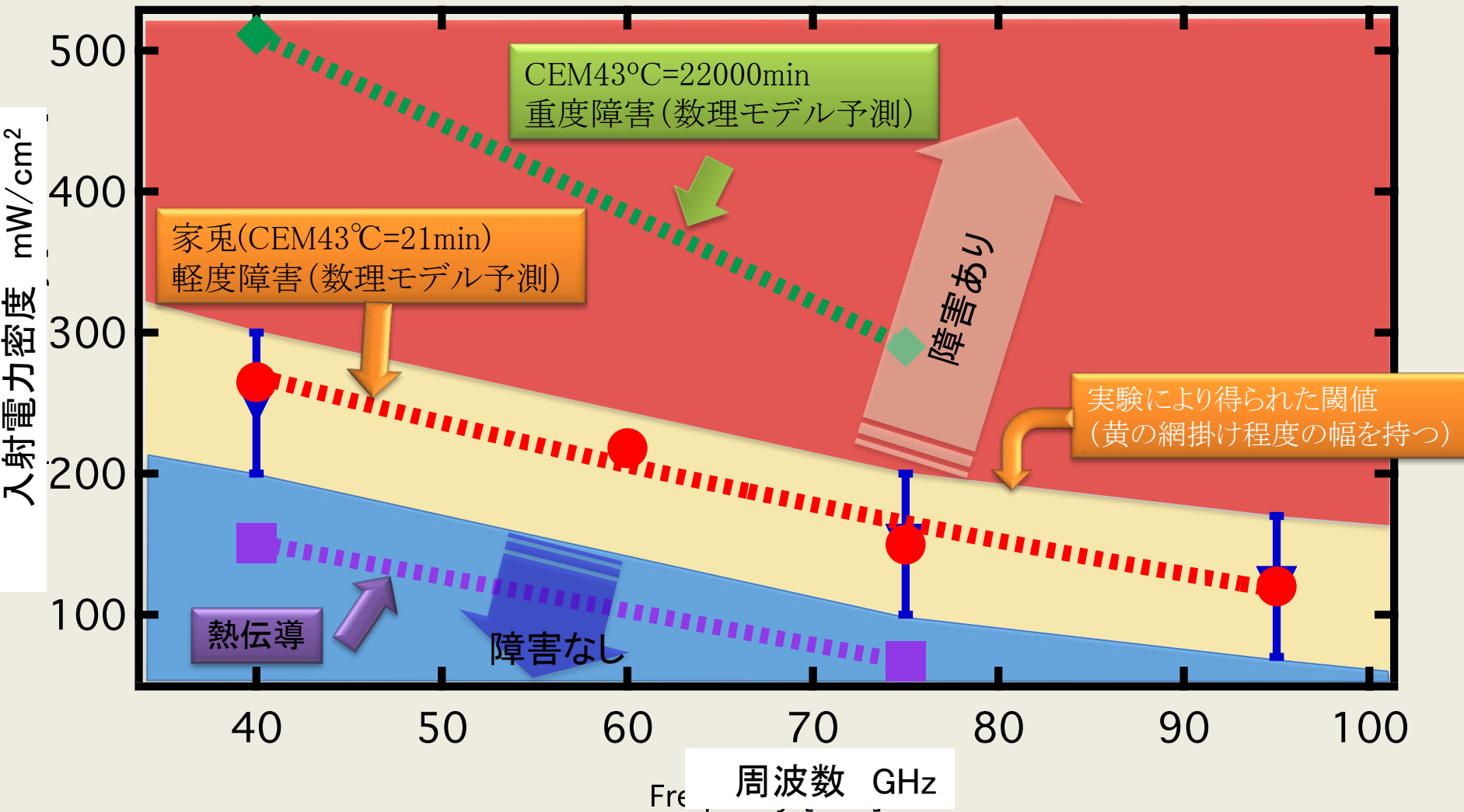
	増殖率の低下	細胞分裂の抑制	付着の阻害	細胞死
CEM43°C (min)	0.45	10.7	14.0	22.9



Fatal damages

- HCE-T細胞で温度ばく露を実施。
- 細胞死、増殖率、細胞周期、付着率で評価。
- CEM43°C=15~20min程度で細胞に重大な障害が起こると考えられる。
- 上述から本家研究では、CEM43°C=21minの軽度障害の指標が角膜障害の閾値を与えると仮定した。

閾値予測モデル: 6分ばく露(実験結果との比較)



- ・CEM43°C指標に基づく数理障害予測モデルと実験より得られる閾値は良い一致を示している。(ただし角膜の障害に限る)
- ・提案したモデルは閾値の予測において有望であると考えられる。

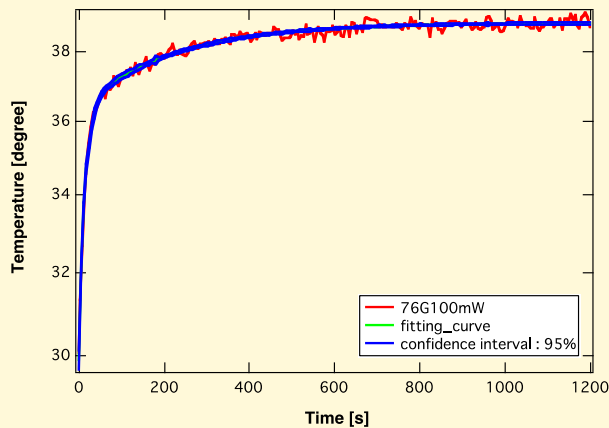
工学的アプローチのまとめ

- 前眼部の温度上昇は熱伝導および対流熱伝達の両方を考慮する必要があることがわかった。
- 6分間ばく露の条件において実験結果から得られる閾値および数理モデルから予測される閾値は良い一致を示した。
 - 障害予測モデルの指標として、CEM43°Cは有望であると考えられる。
 - 数理モデルに基づいて、ばく露時間の変化、環境要因の変化などに依存した閾値を予測可能なシステムを構築した。
 - 入射電力密度の平均化の方法は慎重に検討する必要がある。
- ミリ波帯ばく露の眼球組織の温度上昇に関して、数百秒程度の時定数が支配的であると考えられる。
- 精密な障害予測モデルの構築には実験とシミュレーション双方のデータが不可欠である。
 - 今後、高精度化、拡張を検討する時、お互いのフィードバックが重要である。
- 上述の結論の一部は防護指針の在り方への提言となると考えられる。
- 以上より、本プロジェクトの目標は達成できたと考えられる。

補足資料

温度上昇時定数の推定

75GHz, 100mW/cm²



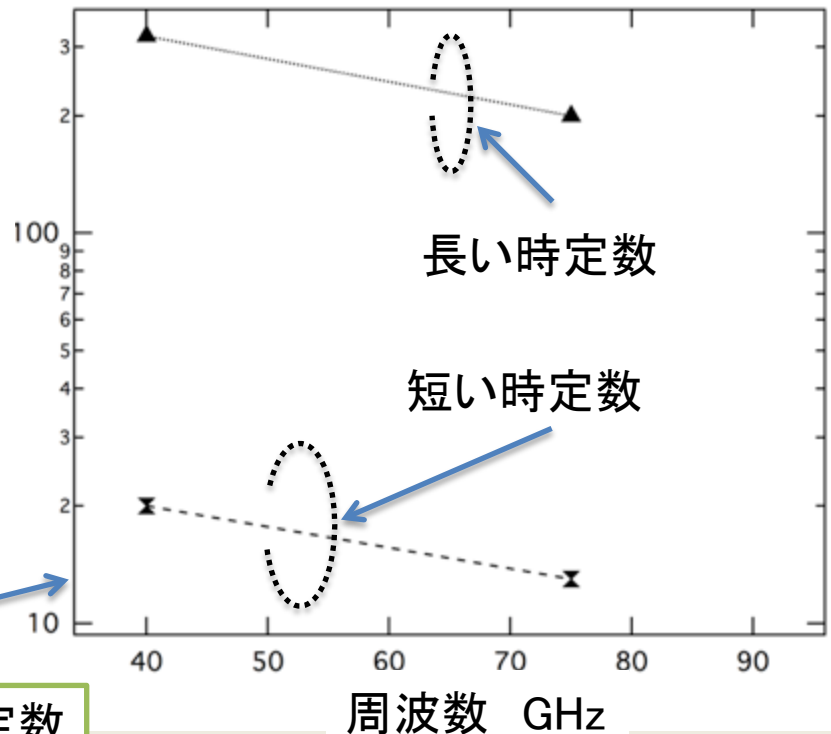
角膜の温度上昇の実験データ

$$f(t) = T_{sat} - A_1 e^{-\frac{1}{\tau_1}(t-t_1)} - A_2 e^{-\frac{1}{\tau_2}(t-t_2)}$$

2つの時定数を持つ関数

時定数
を推定

時定数
SEC



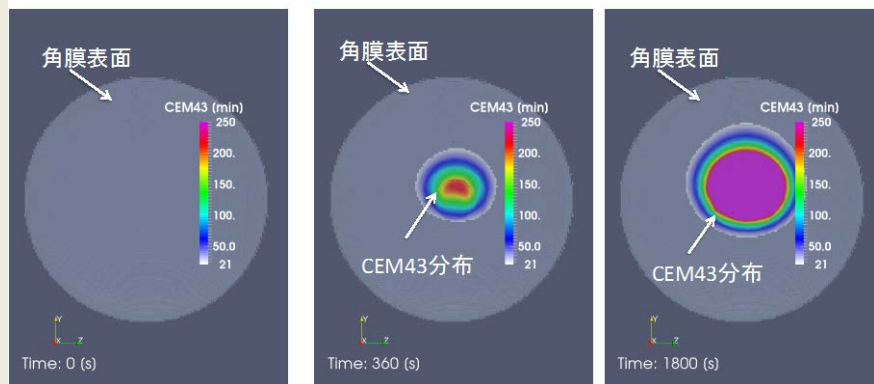
- ・2つの時定数を持つ関数でよいフィッティングの結果が得られることがわかった
→温度上昇には2つの時定数があると考えられる
- ・短い時定数: 数秒(熱伝導、対流熱輸送由来)
- ・長い時定数: 数百秒(眼球組織(水晶体、硝子体)の比較的大きな熱容量由来)

障害閾値の数理モデル構築

- 電磁界-熱輸送シミュレーションとCEM43°C指標を連携させるためCEM43°C指標を下記のように修正
 - CEM43°Cを位置と時間の関数として表現

$$CEM43^{\circ}C(\vec{r}, t) = \int_0^t R^{(43 - T(\vec{r}, t'))} dt' \text{ [min]}$$

75GHz@300mW/cm²



0 s

360 s

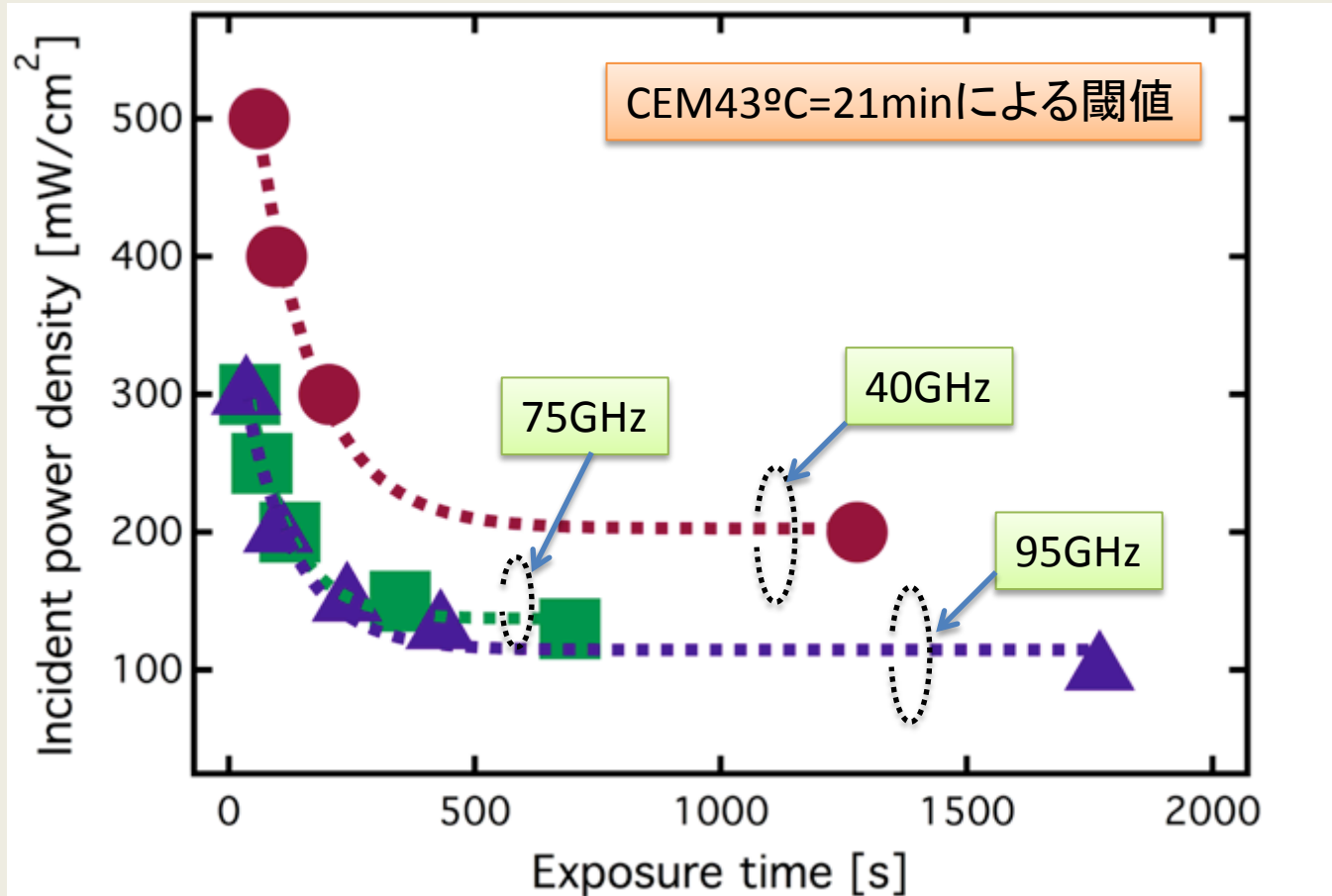
1800 s

この部分にシミュレーションデータを適用

左図の着色部分が障害予測される領域

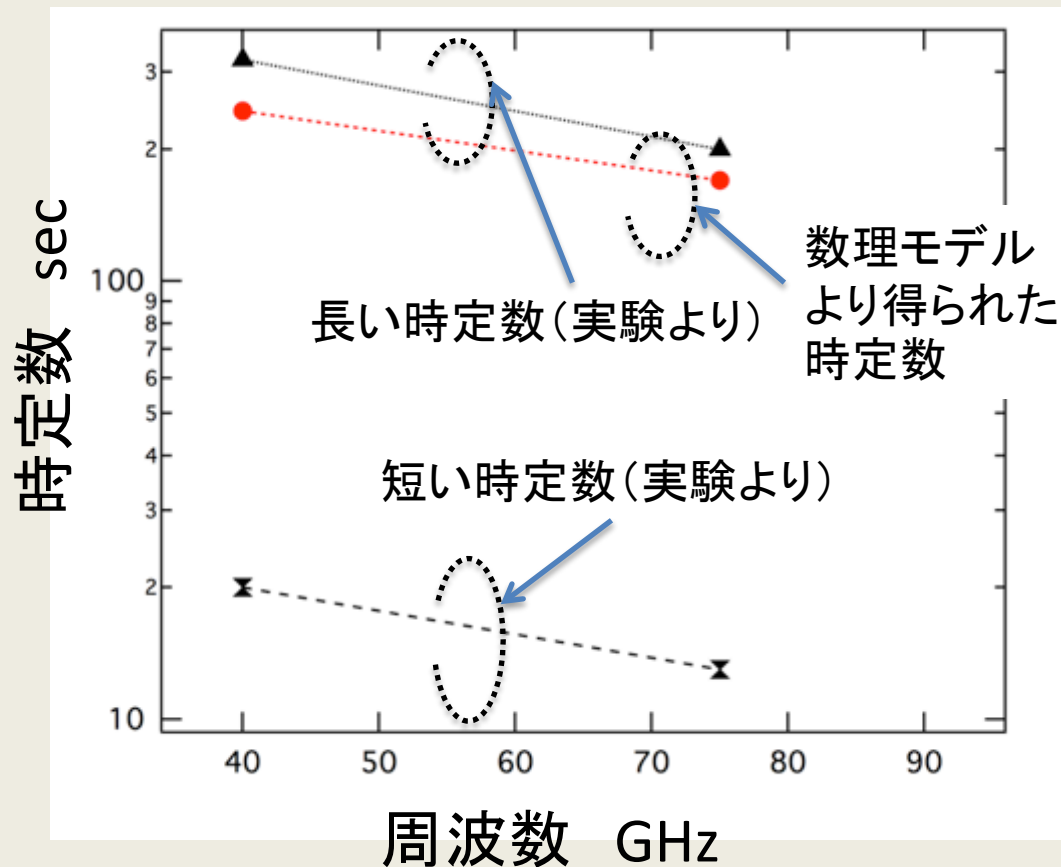
→組織のどの部位がばく露開始後何秒で障害の閾値を超えるかを追跡可能となる

眼障害閾値の照射時間・入射電力密度依存性



- ・実験より得られる眼障害閾値の照射時間・入射電力密度依存性(@40GHz)と比較的良好な相関が見られた。
- ・障害閾値の数理モデルより、各周波数での照射時間・入射電力密度と閾値の関係が予測可能となった。

温度上昇の時定数に関する考察



- 数理モデルより得られる角膜障害に関連する温度上昇の時定数は数百秒程度であり、実験より得られる長い時定数とほぼ一致
- 皮膚とは異なり、眼球組織を対象とする場合、数百秒程度の時定数を考慮する必要があると考えられる。