

免疫細胞及び神経膠細胞を対象とした マイクロ波照射影響に関する実験評価

京都大学
首都大学東京

宮越順二、成田英二郎、櫻井智徳
多氣昌生、鈴木敏久

日：平成23年7月22日（金）

場所：総務省第1特別会議室

研究目的

1. 電波ばく露による免疫細胞への影響に関する研究

我々の体には、恒常性を保つために、生体内に侵入した異物を生体外に排除する、免疫と呼ばれる防御システムが存在する。免疫力の低下は感染を引き起こしやすくなり、健康を損ないやすくなる。そこで、2、10W/kgのSARで電波ばく露を行い、免疫細胞の基本的な機能であるサイトカイン分泌特性に対してELISA法を実施し、電波が影響を与えないかどうかについて検討する。

2. 神経膠細胞に及ぼす電波の影響に関する研究

脳内免疫細胞として重要な役割を果たすことが知られている神経膠細胞に対して、電波が影響を及ぼしていないか検索するために、2.45GHz、2および10W/kgのSARで電波ばく露を行い、神経膠細胞の基本的な機能であるIFN- γ に対する応答への影響について検討し、電波ばく露影響の有無を検討する



細胞ばく露用マイクロ波発生装置



2.45 GHz (連続波)
SAR: 2, 10 W/kg
37°C 5% CO₂ + 95% 飽和湿度空気

首都大学東京・多氣研究室
設計・製作



電波ばく露による免疫細胞への 影響に関する研究



実験条件

細胞：U937(ヒトリンパ腫由来単芽球様細胞)

培養液：RPMI1640培地(10%牛胎児血清)

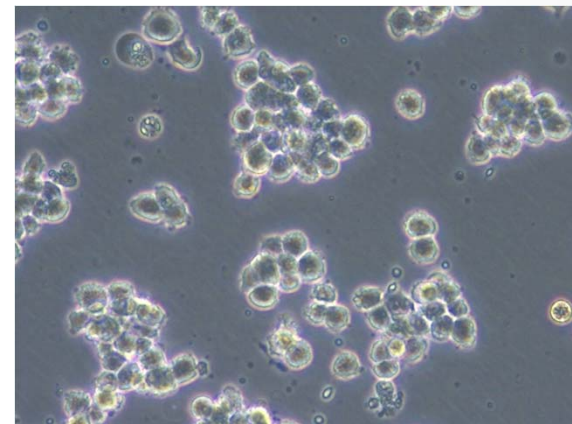
培養条件：37°C、5%二酸化炭素、飽和湿度

電波ばく露条件

周波数：2.45GHz

ばく露処理条件：SAR 2および10W/kg

ばく露時間：4および24時間



U937細胞



ばく露中のサイトカイン産生への 影響評価実験方法

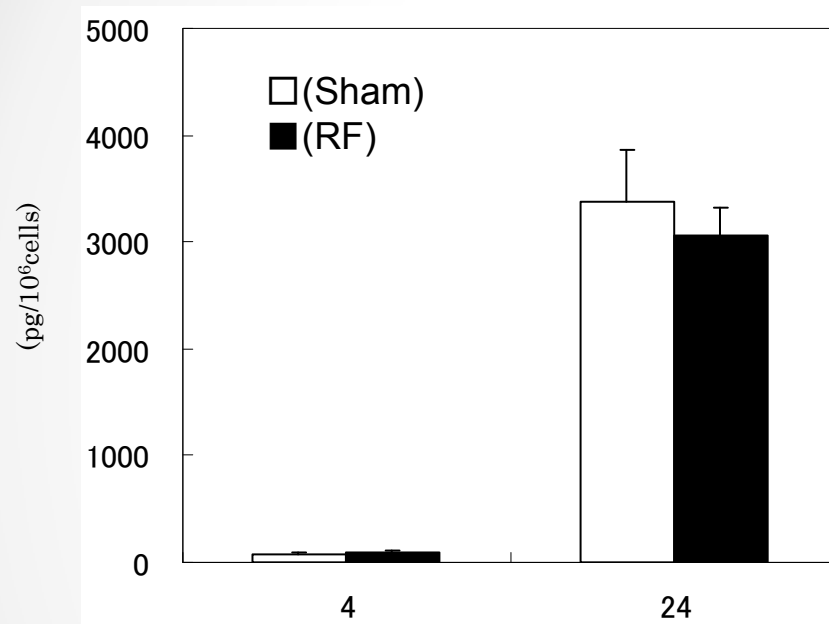


ELISA法による解析

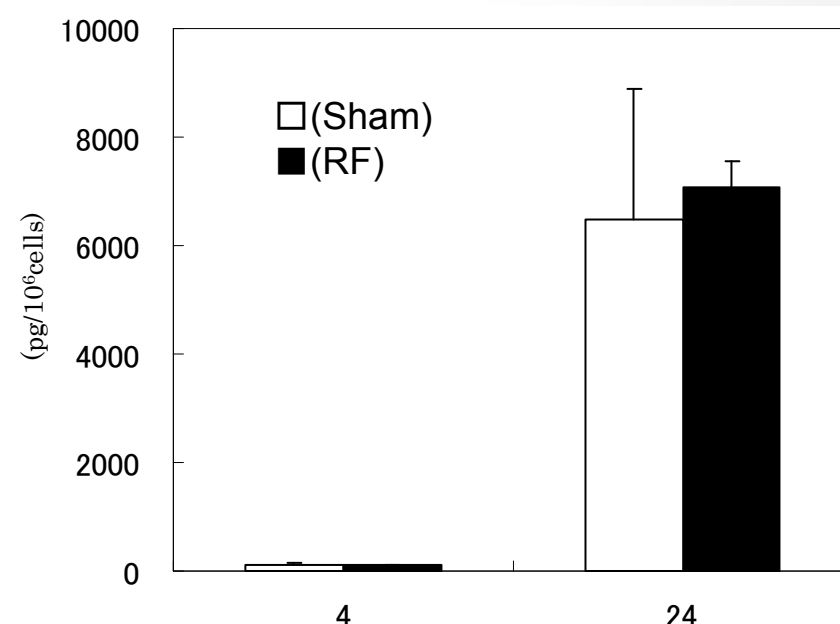
R&D Systems製 Quantikine® Human IL-1 β 、Human IL-6、
Human IL-8、Human IL-10および Human TNF- α



ばく露中のサイトカイン産生への影響評価 (IL-1 β)



電波ばく露(2W/kg)およびLPS刺激時間(h)



電波ばく露(10W/kg)およびLPS刺激時間(h)

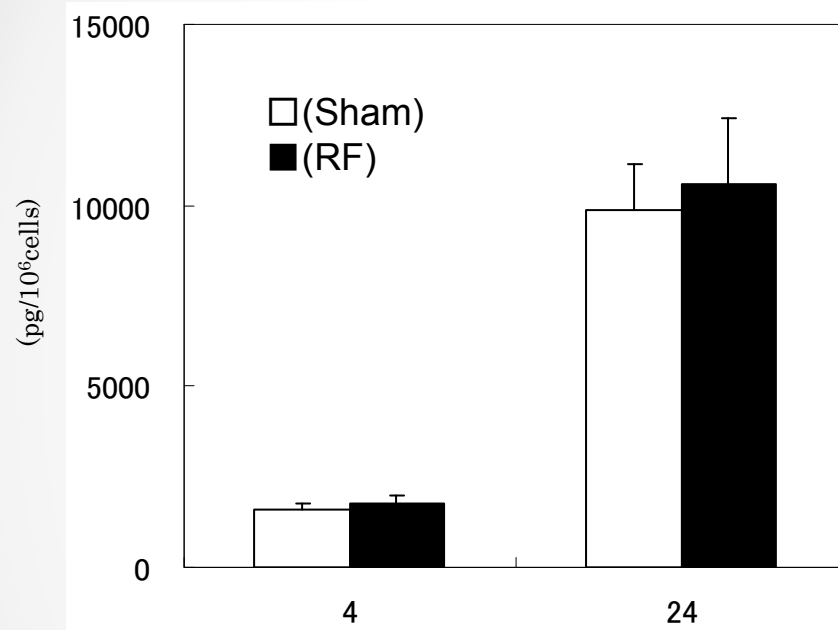
U937細胞によるIL-1 β 分泌量

U937細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4、24時間の電波ばく露は、サイトカイン分泌量に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

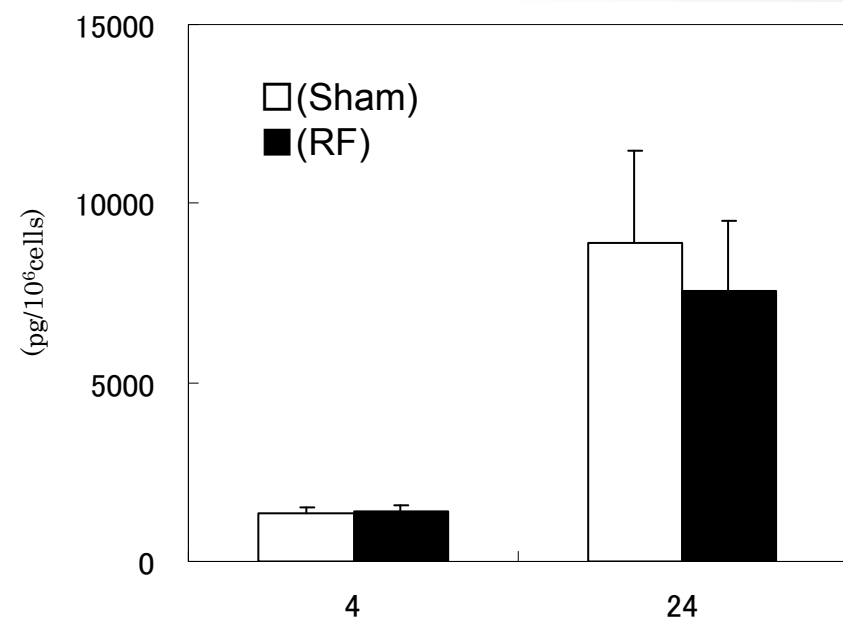


ばく露中のサイトカイン産生への影響評価

(IL-6)



電波ばく露(2W/kg)およびLPS刺激時間(h)



電波ばく露(10W/kg)およびLPS刺激時間(h)

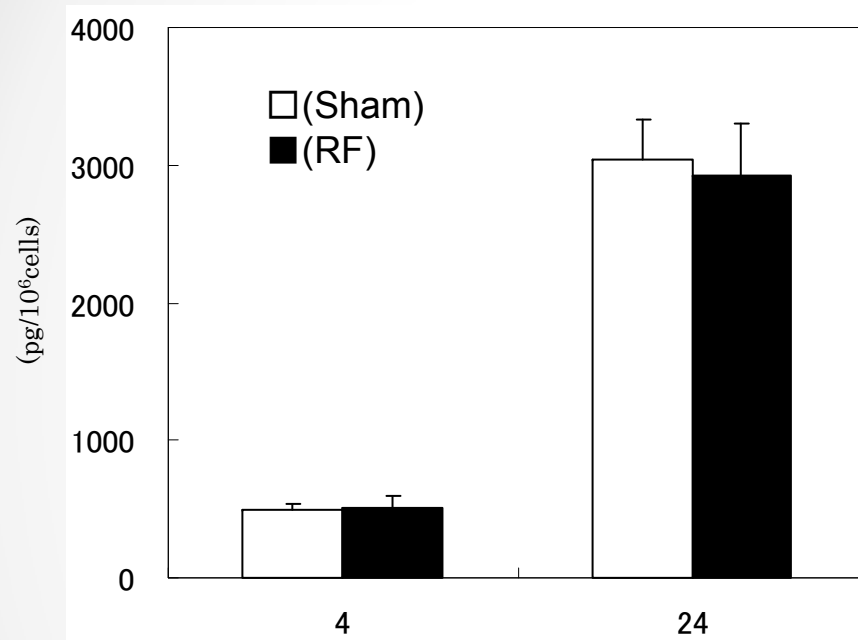
U937細胞によるIL-6分泌量

U937細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4、24時間の電波ばく露は、サイトカイン分泌量に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

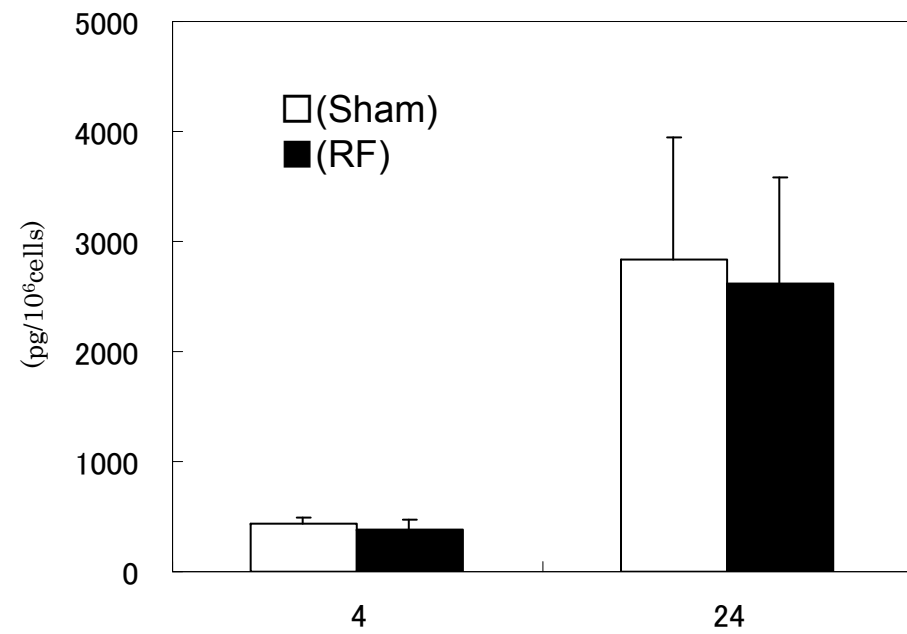


ばく露中のサイトカイン産生への影響評価

(IL-8)



電波ばく露(2W/kg)およびLPS刺激時間(h)



電波ばく露(10W/kg)およびLPS刺激時間(h)

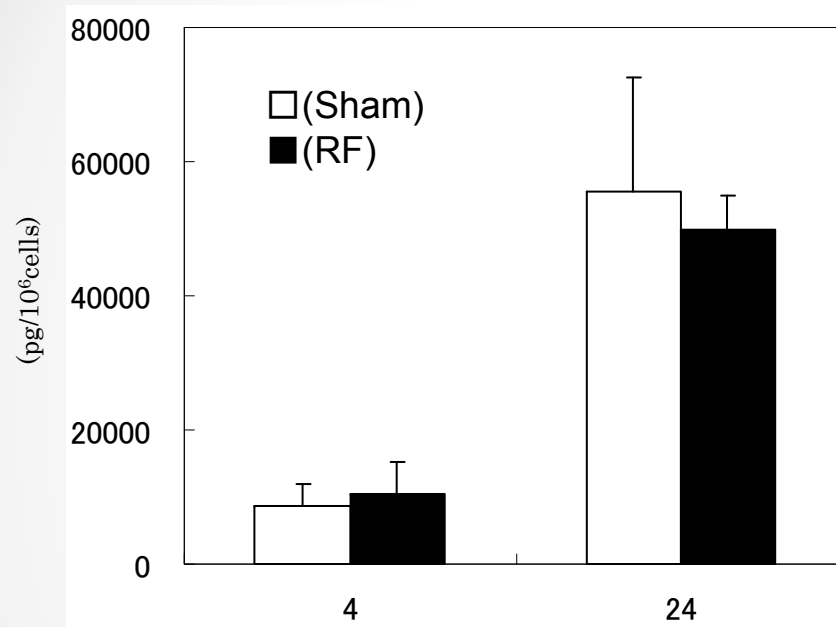
U937細胞によるIL-8分泌量

U937細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4、24時間の電波ばく露は、サイトカイン分泌量に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

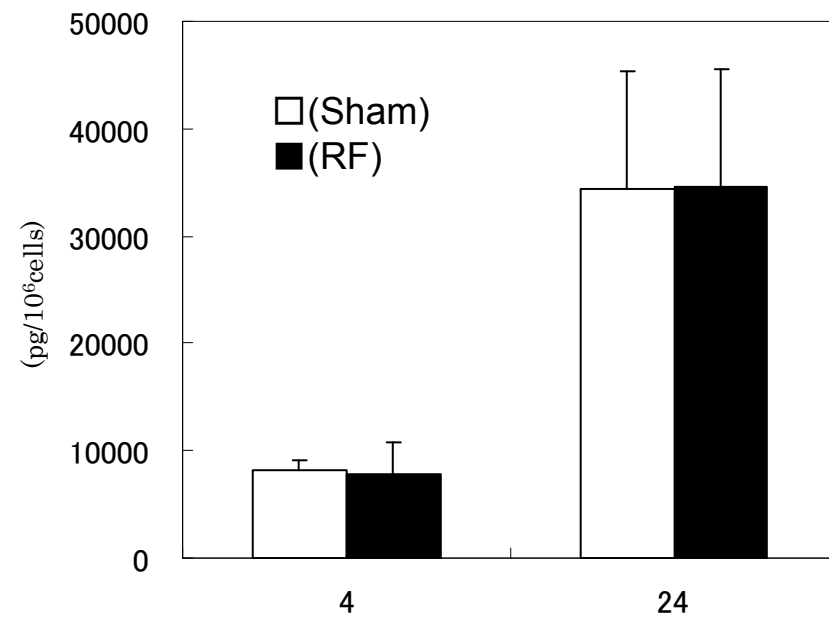


ばく露中のサイトカイン産生への影響評価

(IL-10)



電波ばく露(2W/kg)およびLPS刺激時間(h)



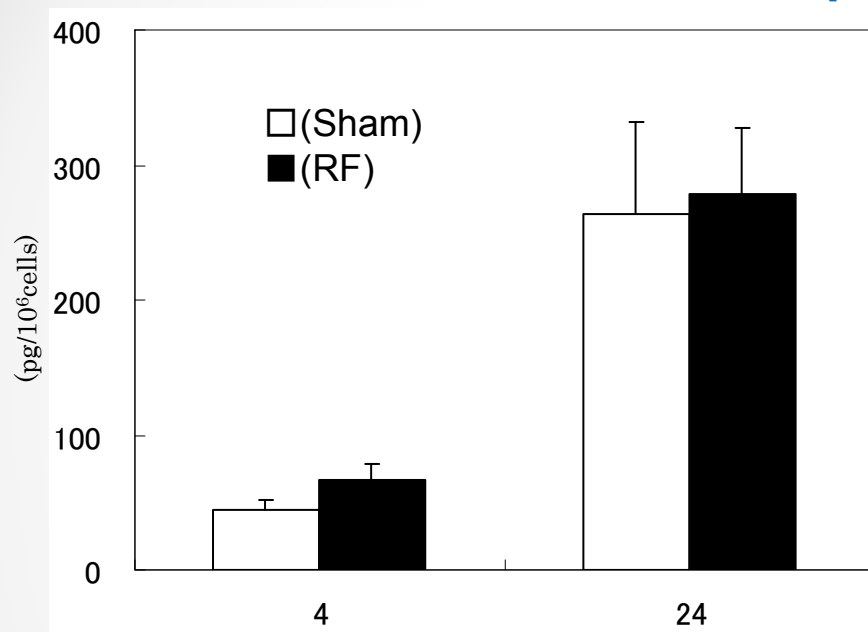
電波ばく露(10W/kg)およびLPS刺激時間(h)

U937細胞によるIL-10分泌量

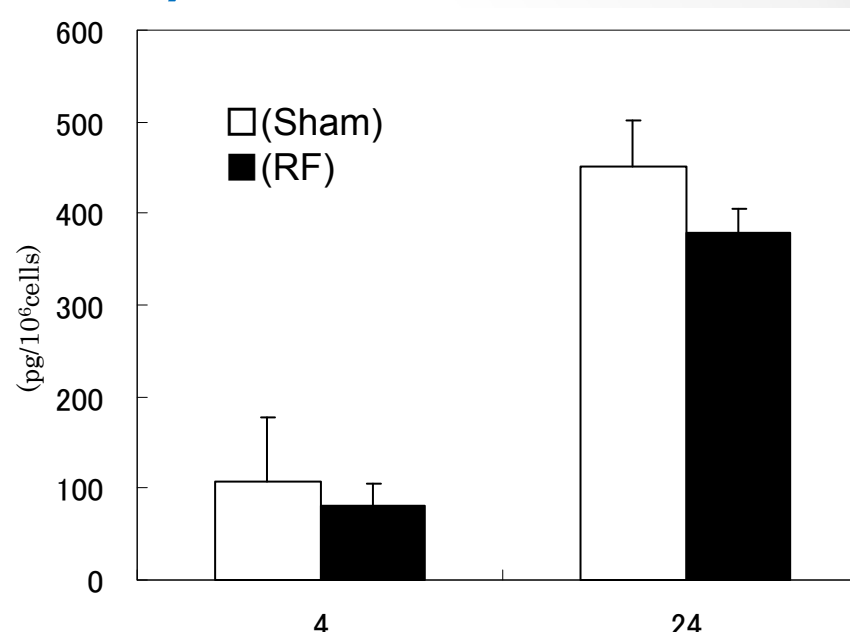
U937細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4、24時間の電波ばく露は、サイトカイン分泌量に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

ばく露中のサイトカイン産生への影響評価

(TNF- α)



電波ばく露(2W/kg)およびLPS刺激時間(h)



電波ばく露(10W/kg)およびLPS刺激時間(h)

U937細胞によるTNF- α 分泌量

U937細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4、24時間の電波ばく露は、サイトカイン分泌量に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。



まとめ

免疫細胞に対するマイクロ波照射の影響

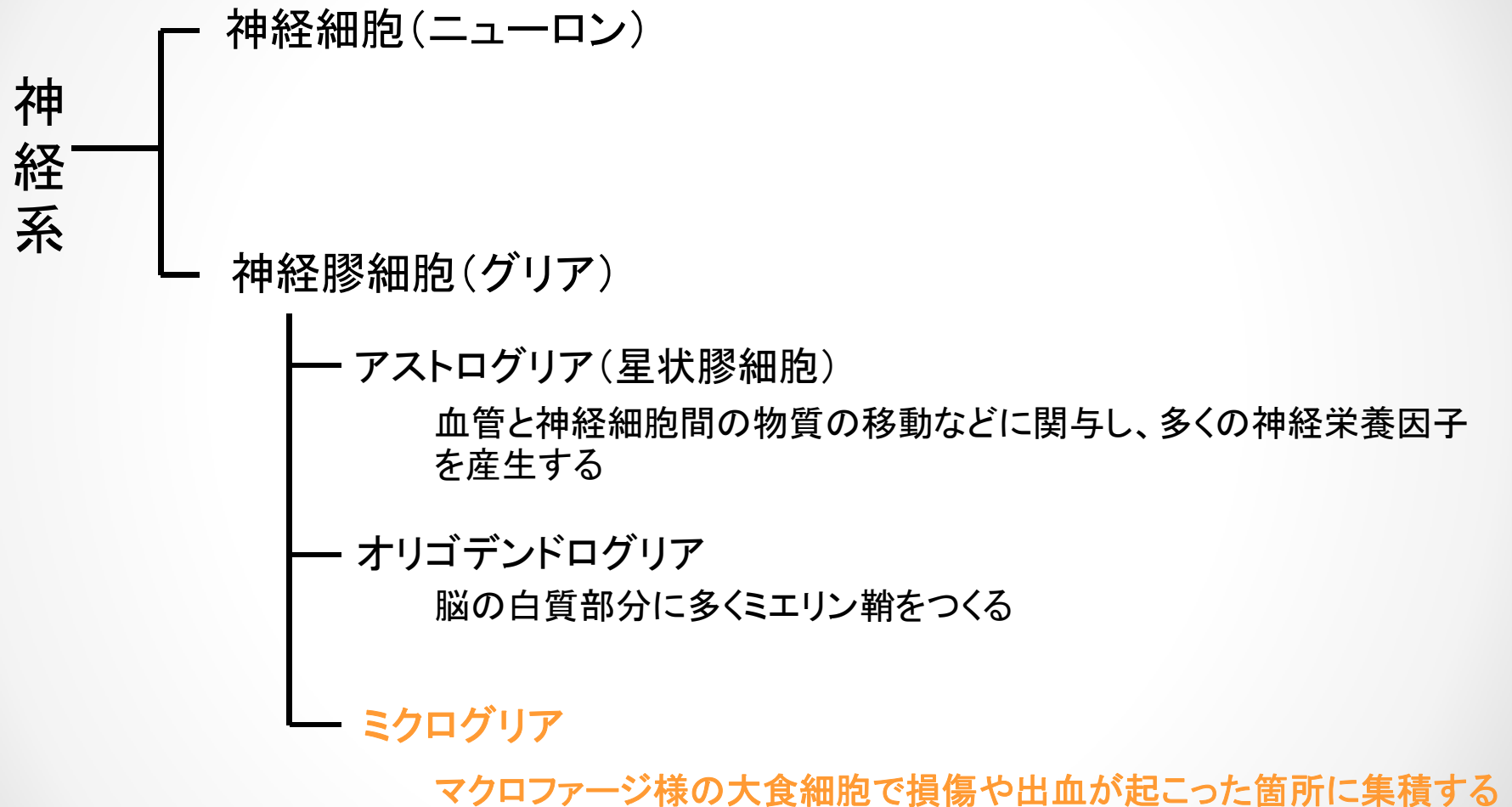
ヒトリンパ腫由来単芽球様細胞(U937細胞)を用いて、マクロファージ分化誘導後、LPS刺激とともに電波ばく露(SAR 2、10W/kg、4、24時間)することによって、U937細胞のLPS刺激に対する応答機能への影響の有無を評価した。U937細胞がLPS刺激に応答してIL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10およびTNF- α のサイトカインを分泌することが確認された。これらのサイトカイン分泌量に2.45GHz、SAR2、10W/kg、4、24時間のマイクロ波ばく露は統計学的に有意な影響を及ぼさなかった。



神経膠細胞に及ぼす電波の 影響に関する研究



神経膠細胞



実験条件

細胞: EOC20 (マウス由来マイクログリア細胞)

培養液: ダルベッコ改変イーグル培地 + 10% 牛胎児血清 + 20% マウス骨髄由来細胞株 LADMAC 培養上清)

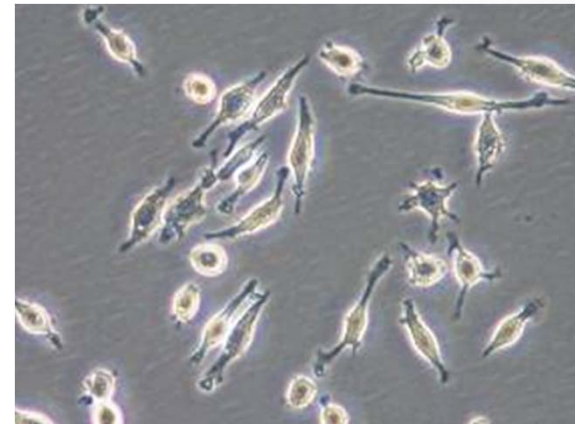
培養条件: 37°C、5% 二酸化炭素、飽和湿度

電波ばく露条件

周波数: 2.45GHz

ばく露処理条件: SAR 2 および 10W/kg

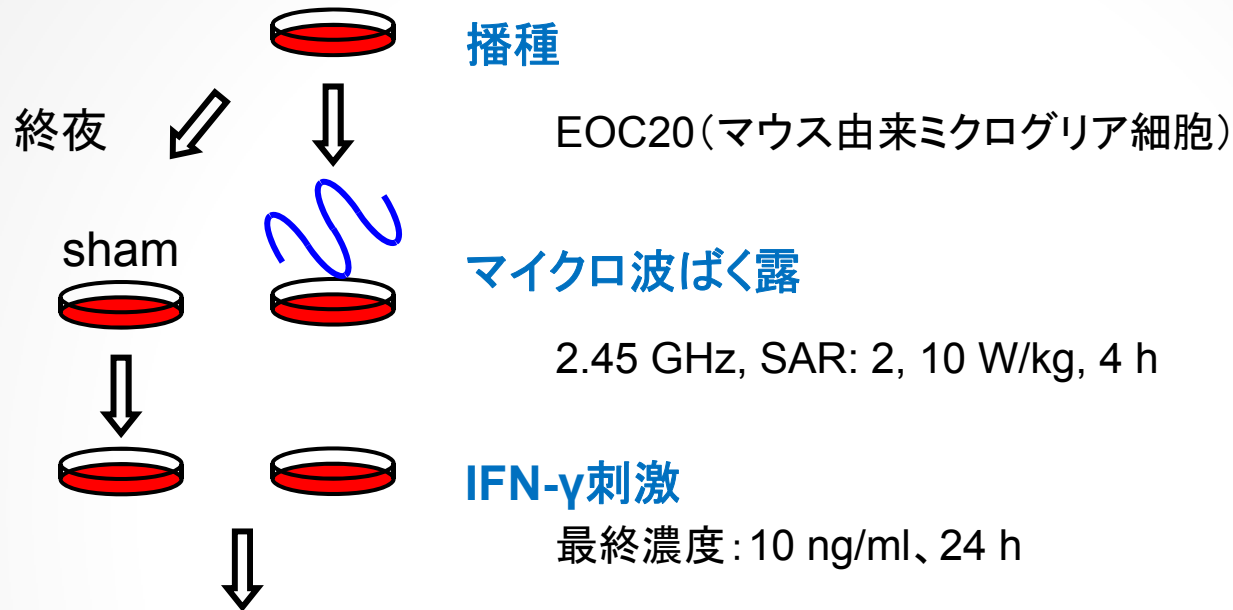
ばく露時間: 4時間



EOC20細胞



IFN- γ 刺激に対する応答への影響 評価実験方法



RT-PCRによる解析

MHC class II transactivator (CIITA)、nitric oxide synthase 2 (NOS2)、
lymphocyte antigen 6 complex locus C1 (Ly6c1)

cDNAテンプレート標準化(ハウスキーピング)遺伝子:

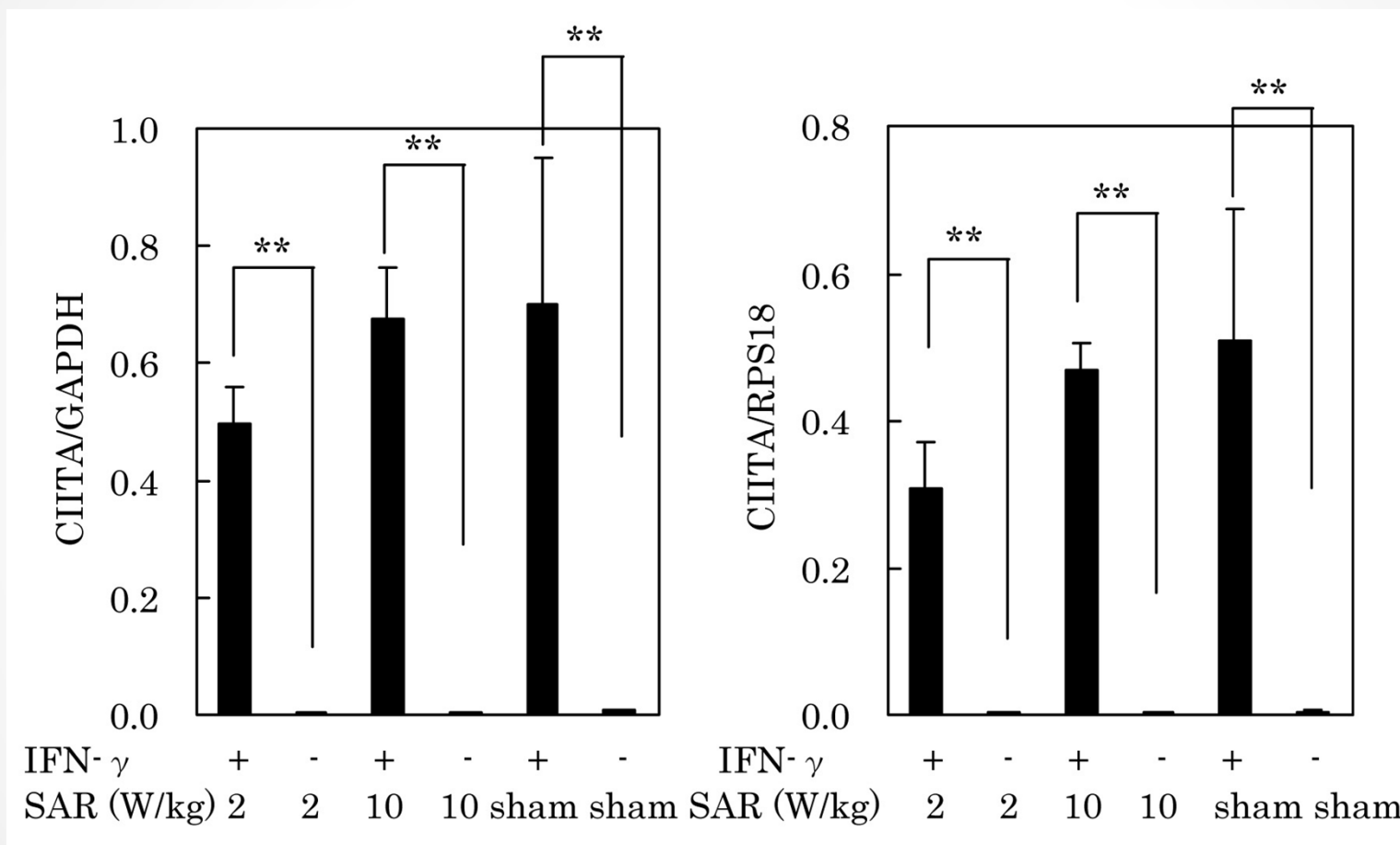
グリセルアルデヒド3リン酸脱水素酵素 (GAPDH)

リボソーマルタンパクS18 (RPS18)

フローサイトメリーによる解析

F4/80抗原抗体、MHC class II抗体

IFN- γ 刺激によるCIITA遺伝子発現の 変化と電波ばく露の影響

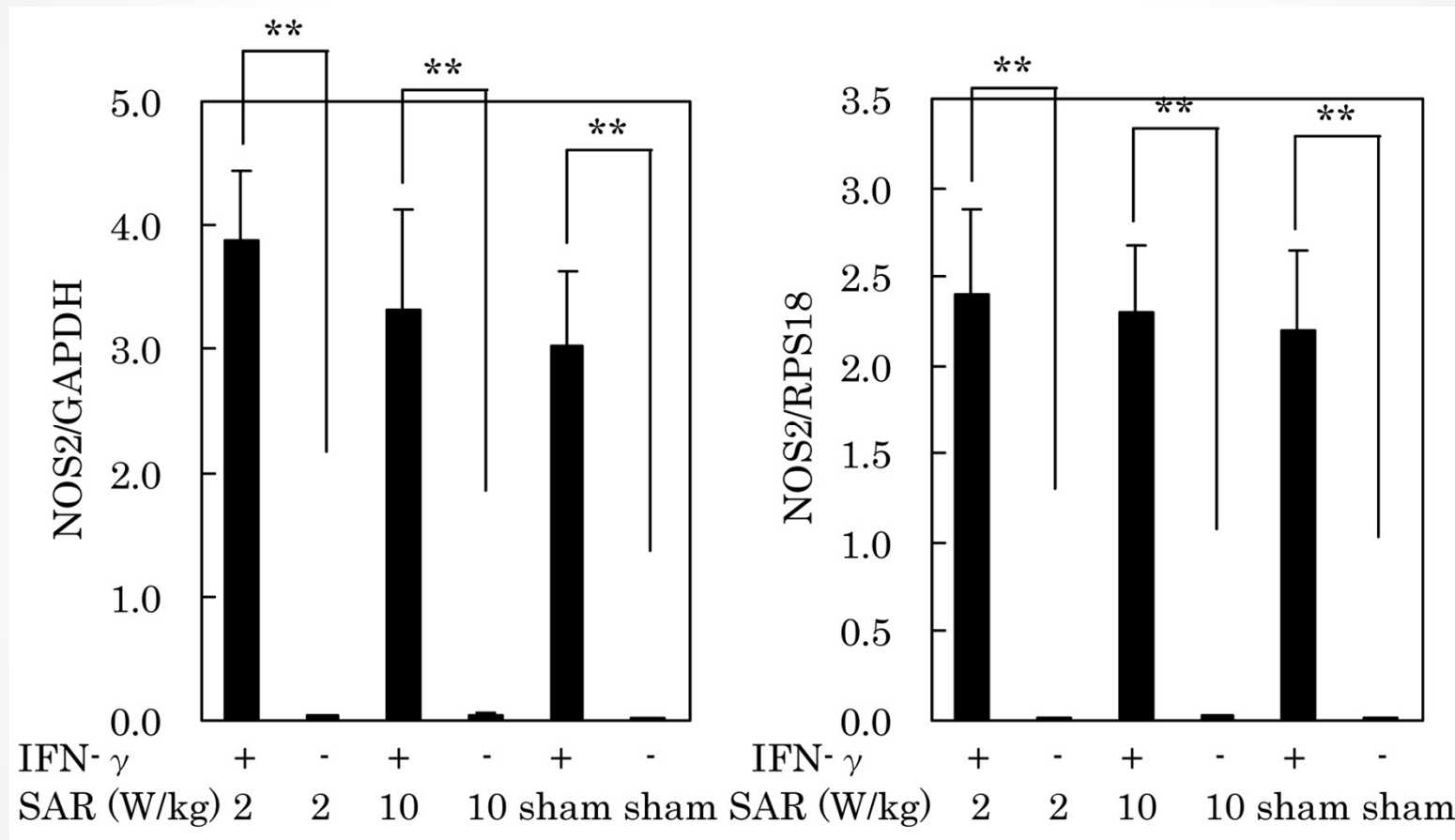


EOC20細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4時間の電波ばく露は、IFN- γ 刺激によるCIITA遺伝子の発現増加に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

(** $p < 0.01$)



IFN- γ 刺激によるNOS2遺伝子発現 の変化と電波ばく露の影響

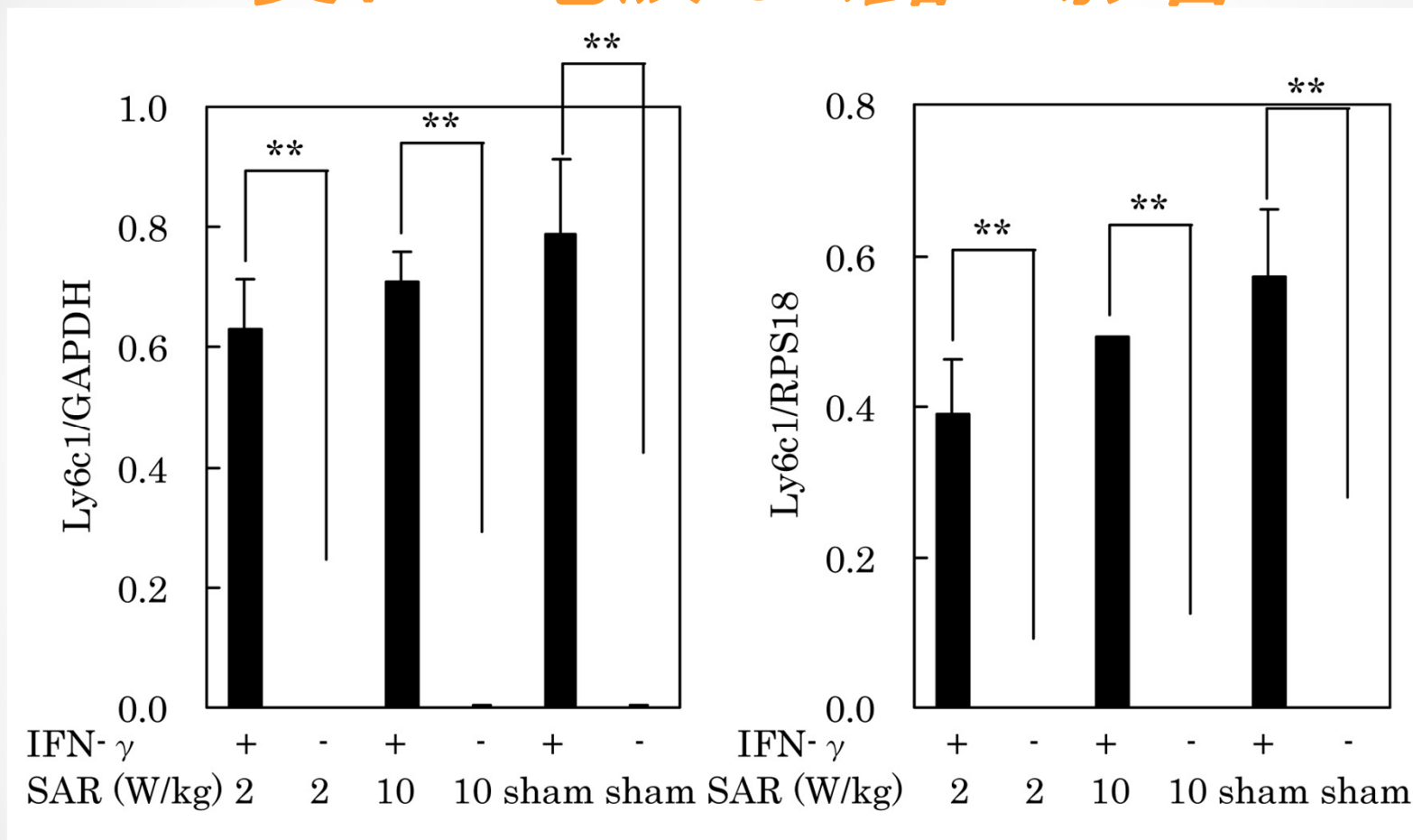


EOC20細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4時間の電波ばく露は、IFN- γ 刺激によるNOS2遺伝子の発現増加に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

(** $p < 0.01$)



IFN- γ 刺激によるLy6c1遺伝子発現の 変化と電波ばく露の影響

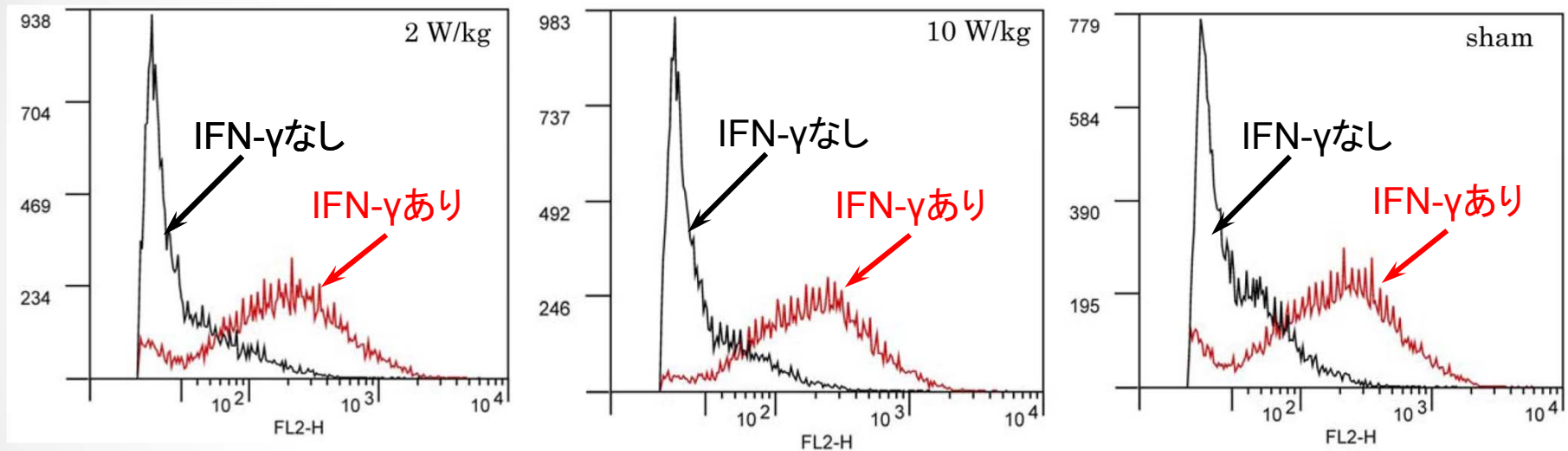


EOC20細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4時間の電波ばく露は、IFN- γ 刺激によるLy6c1遺伝子の発現増加に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

(** $p < 0.01$)



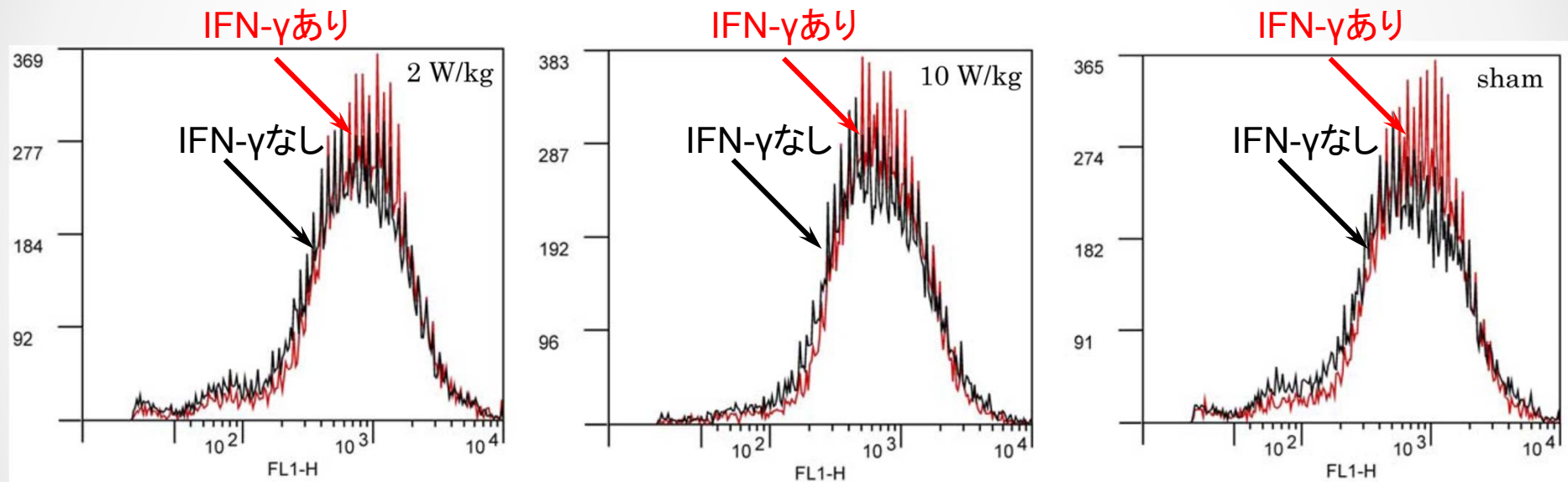
フローサイトメトリー解析の結果 (MHC class II抗体)



IFN- γ 刺激によってMHC class II抗体の発現量は増加する。

EOC20細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4時間の電波ばく露は、IFN- γ 刺激によるMHC class II抗体の発現増加に対して影響を及ぼさないと考えられる。

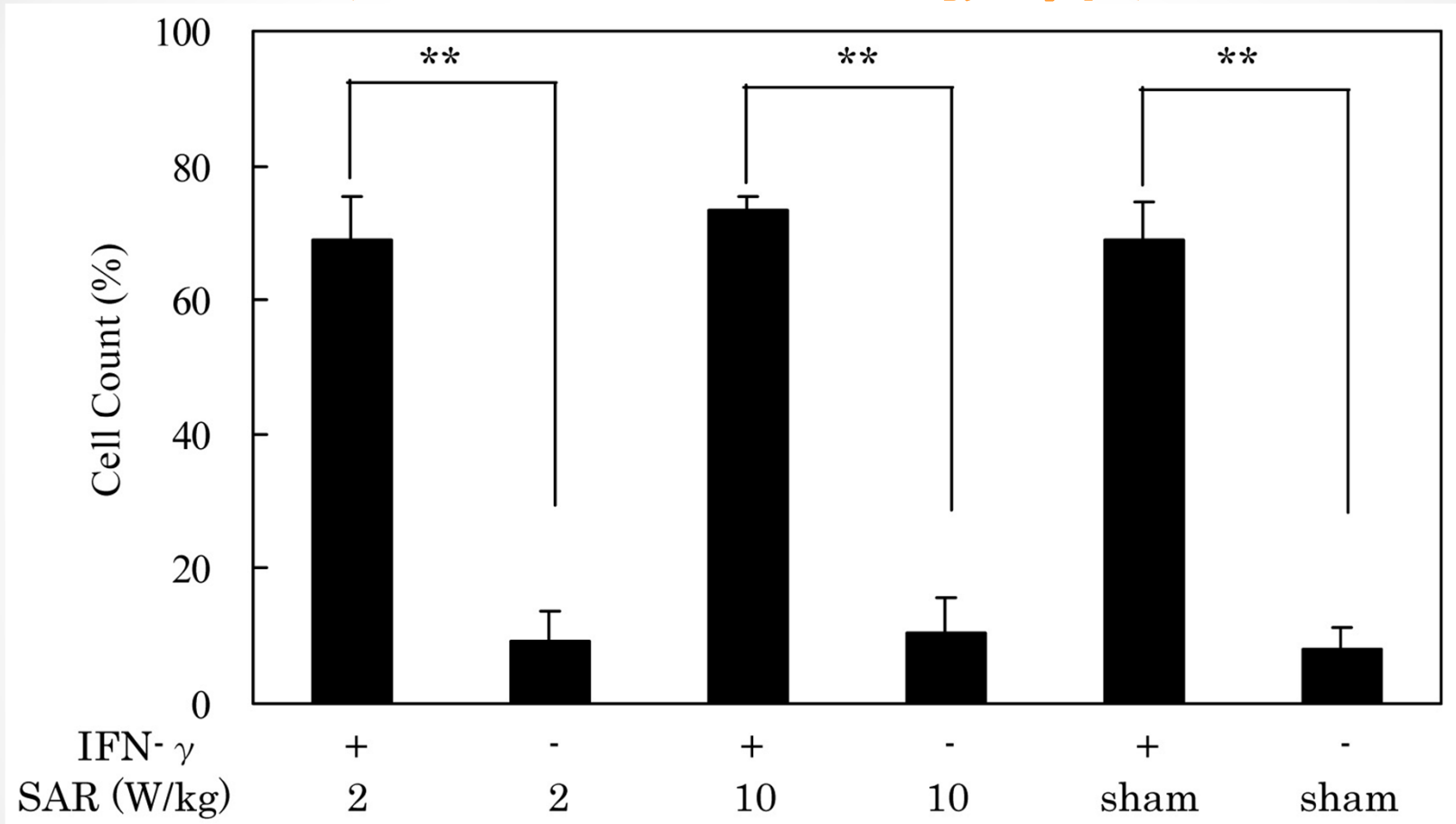
フローサイトメトリー解析の結果 (F4/80抗原)



IFN- γ 刺激なしでもF4/80抗原はEOC20に発現しており、刺激によって発現量は変化しない。

EOC20細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4時間の電波ばく露は、IFN- γ 刺激の有無にかかわらず、F4/80抗原の発現量に影響を及ぼさないと考えられる。

フローサイトメトリー解析の定量 (MHC class II抗体)

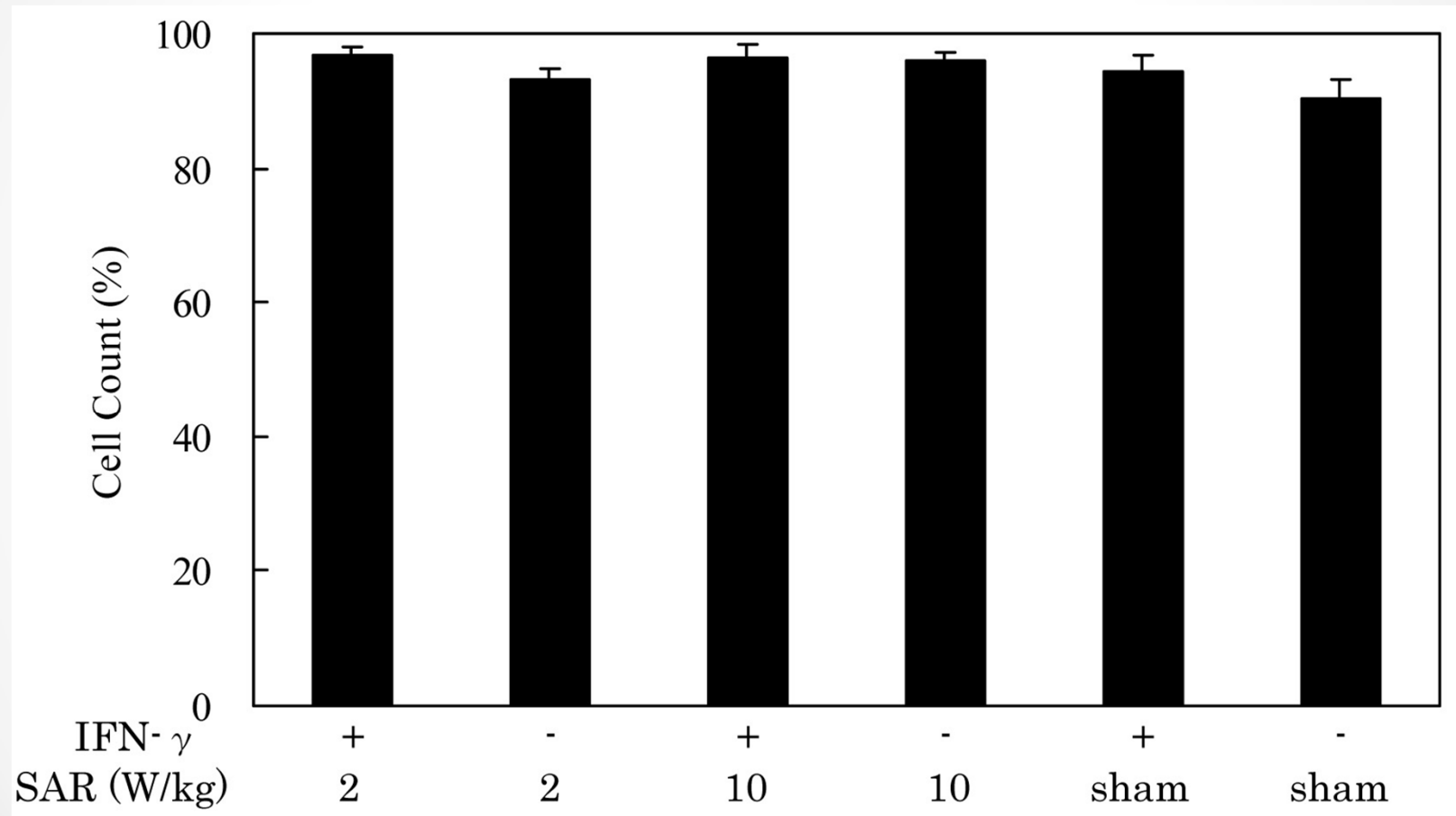


EOC20細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4時間の電波ばく露は、IFN- γ 刺激によるMHC class II抗体の発現増加に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

(** $p < 0.01$)



フローサイトメトリー解析の定量 (F4/80抗原)



EOC20細胞に対する2.45GHz、2および10W/kg、4時間の電波ばく露は、IFN- γ 刺激の有無によらず、F4/80抗原の発現量に対して統計学的に有意な影響を及ぼさないと考えられる。

まとめ

神経膠細胞に対するマイクロ波照射の影響

マウス由来ミクログリア細胞を用いて、マイクロ波ばく露後、IFN- γ 刺激に対する応答について、CIITA、NOS2、Ly6c1遺伝子の発現量変化を逆転写-PCRを用いて、MHC class II抗体とF4/80抗原の発現量をフローサイトメーターを用いて検討した。**2.45GHz、SAR2および10W/kg、4時間のマイクロ波ばく露は、EOC20細胞のIFN- γ 刺激に対する応答に、統計学的に有意な影響を及ぼさなかった。**

