

氏 名 ( 本 籍 )	原 川 信 二 (愛知県)
学 位 の 種 類	博士 (獣医)
学 位 記 番 号	獣医博乙第72号
学位授与年月日	平成18年3月13日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学 位 論 文 題 目	Study for Biological Reaction Induced by Exposure to Extremely Low Frequency Electric Field (超低周波電界暴露によって惹起される生体反応に関する研究)
審 査 委 員	主査 帯広畜産大学 教 授 鈴 木 宏 志 副査 帯広畜産大学 教 授 斎 藤 篤 志 副査 岩 手 大 学 教 授 橋 爪 一 善 副査 東京農工大学 教 授 田 谷 一 善 副査 岐 阜 大 学 教 授 武 脇 義

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

電界は地球上に自然に存在しているが、20世紀に入り、人工電界源が急激に増加したことから、電界の健康への影響が注目されるようになった。しかしながら、現在のところ電界曝露が生体に悪影響を及ぼすという明確な証拠は無い。一方、厚生労働省から認可を得ている電界治療器は、頭痛・肩こり・不眠・便秘・腰痛・筋肉痛等に一定の効果があるとされているが、適用する電界の強度・周波数・曝露時間・適応症・作用機序などに関する一貫性のある科学的根拠はほとんど示されていない。電界は言わば「実体を伴わない場」であることから、非侵襲性および簡便性に優れ、薬物を用いた治療法と比較して副作用が少ない方法になる可能性がある。そこで本研究では、電界治療器で汎用される超低周波電界がどのような生体反応を惹起するのかを明らかにする目的で以下の調査・研究を行なった。

電界曝露がどのような疾患・症状に有効であるのかを明らかにする目的で、電界曝露療法を受けた患者の主訴の緩解率に関する聞き取り調査を行なった結果、電界曝露療法は筋骨格系に由来する疼痛の改善に効果的であることが明らかとなった。次に、腫瘍あるいは脊椎損傷のイヌにおける副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)およびβ-エンドルフィンの血中濃度を指標とした内分泌系への電界曝露の影響を検討した。その結果、超低周波電界曝露は、血中 ACTH 濃度を減じ、β-エンドルフィン濃度を増加させる成績を得た。ことから、「電界曝露療法による疼痛の改善は、電界曝露が何らかの生体応答を惹起し、原疾患に起因する疼痛に伴う身体的および精神的ストレスを軽減させた結果である」と仮定し、ストレスに対する電界の影響をより詳細に解析した。閉所拘束を負荷したラットにおける血中の ACTH、グルコース、乳酸およびピルビン酸濃度と、酸化剤である

2,2'-azobis(2-aminopropane) dihydrochloride (AAPH)を投与したラットにおける血中の過酸化脂質濃度量および抗酸化活性への電界曝露の影響を解析した。その結果、電界曝露は、拘束時に認められる ACTH と乳酸の血中濃度の上昇を共に抑制した。また、電界曝露は抗酸化活性には影響を及ぼさなかったものの、過酸化脂質濃度を減少させた。以上の結果から、電界は生体のストレス応答に関連する内分泌系および代謝系に明らかに影響を及ぼすと考えられる。また、閉所拘束ストレスを負荷されたラットで認めた電界による乳酸値への影響を再検討するため、下肢虚血を処置により誘導した乳酸の上昇への電界の影響を検討した結果、電界は血中乳酸値の一過性の上昇には影響を及ぼさないが脂質代謝に影響を及ぼす可能性を示した。次に、電界曝露によって惹起される生体反応のメカニズムを細胞レベルで明らかにすることを目的として、レクチン刺激時のマウス脾細胞内のカルシウムイオン濃度の変化に対する電界の影響を解析した。その結果、レクチン刺激された脾細胞における細胞外からの流入による細胞内カルシウム濃度の上昇は電界曝露によって促進される事が示された。さらに、電界の細胞内標的分子を探索する目的で、細胞外カルシウムイオン濃度のセンサーとして知られているヒト副甲状腺カルシウムレセプターを発現させたヒト胎児腎細胞における細胞内カルシウムイオン濃度に対する電界の影響を検討した。その結果、カルシウムレセプターを発現した細胞のカルシウムイオン濃度は電界曝露後増加したが、カルシウムレセプターを発現しない細胞は電界の影響を受けなかった。これらの成績は、カルシウムレセプターが電界影響の標的分子である可能性を示すものと考えられた。

本研究の結果を総括すると、電界の作用機序を「電界がカルシウムレセプターを介して細胞内カルシウム動態を変化させる結果、ストレス応答に関連した内分泌系および代謝系の変化が惹起される」と説明できることから、電界曝露による身体的および精神的ストレス軽減が疼痛改善効果を示すとの仮定は妥当性を有するものと思われる。これまで臨床的には一定の成果が得られながら作用機序が全く不明であった電界治療も、本研究で明らかとなった作用機序によって部分的に理解することができ、今後の電界治療の臨床応用において、電界強度、曝露時間あるいは適応症などを決定する上で有用な情報であると考えられる。さらに、本研究の成果は電界の作用機序を細胞レベルから個体レベルまで包括的に説明した点においても意義深いと考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究では、電界治療器で汎用される超低周波電界が、どのような生体反応を惹起し、効果を発揮するのかを明らかにする目的で以下の調査・研究を行なった。

はじめに電界曝露がどのような疾患・症状に有効であるのかを明らかにする目的で、電界曝露療法を受けた患者の主訴の緩解率に関する聞き取り調査を行なったところ、電界曝露は筋骨格系に由来する疼痛の改善に効果的であるとの結果を得た。次に、腫瘍あるいは脊椎損傷のイヌにおける副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) およびβ-エンドルフィン<sup>1)</sup>の血中濃度を指標とした内分泌系への電界曝露の影響を検討した結果、超低周波電界曝露は、血中 ACTH 濃度を減じ、β-エンドルフィン濃度を増加させる成績を得た事から、「電界曝露療法による疼痛の改善は、電界曝露が何らかの生体応答を

惹起し、原疾患に起因する疼痛に伴う身体的および精神的ストレスを軽減させた結果である」と仮定し、ストレスに対する電界の影響をより詳細に解析した。そこで、閉所拘束を負荷したラットにおける血中の ACTH、グルコース、乳酸およびビリルビン酸濃度と、酸化剤である 2,2'-azobis(2-aminopropane) dihydrochloride (AAPH) を投与したラットにおける血中の過酸化脂質濃度量および抗酸化活性への電界曝露の影響を解析した結果、電界曝露は拘束時に認められる ACTH と乳酸の血中濃度の上昇を抑制した。また、電界曝露は抗酸化活性には影響を及ぼさなかったものの、過酸化脂質濃度を減少させた。以上の成績は、電界が生体のストレス応答に関連する内分泌系および代謝系に明らかに影響を及ぼすことを示していると考えられる。また、閉所拘束ストレスを負荷されたラットで認めた電界による乳酸値への影響を再検討するため、下肢虚血を処置により誘導した乳酸の上昇への電界の影響を検討した結果、電界は血中乳酸値の一過性の上昇には影響を及ぼさないが、脂質代謝に影響を及ぼす可能性を示した。さらに、電界曝露によって惹起される生体反応を細胞レベルで明らかにすることを目的として、レクチン刺激時のマウス脾細胞内のカルシウムイオン濃度の変化に対する電界の影響を解析した。その結果、電界曝露によって細胞外からの流入による細胞内カルシウム濃度が上昇する事が示された。また、電界の細胞内標的分子を探索する目的で、細胞外カルシウムイオン濃度のセンサーとして知られているヒト副甲状腺カルシウムレセプターを発現させたヒト胎児腎細胞における細胞内カルシウムイオン濃度に対する電界の影響を検討した。その結果、カルシウムレセプターを発現した細胞のカルシウムイオン濃度は電界曝露後増加したが、カルシウムレセプターを発現しない細胞は電界の影響を受けなかった。これらの成績は、カルシウムレセプターが電界影響の標的分子である可能性を示すものと考えられた。

本研究の結果を総括すると、電界の作用機序を「電界がカルシウムレセプターを介して細胞内カルシウム動態を変化させる結果、ストレス応答に関連した内分泌系および代謝系の変化が惹起される」と説明できることから、電界曝露による身体的および精神的ストレス軽減が疼痛改善効果を示すと考えられる。これまで臨床的には一定の成果が得られながら作用機序が全く不明であった電界治療も、本研究で明らかとなった作用機序によって部分的に理解することができ、今後の電界治療の臨床応用において、電界強度、曝露時間あるいは適応症などを決定する上で有用な情報であると考えられる。さらに、本研究の成果は電界の作用機序を細胞レベルから個体レベルまで包括的に説明した点においても意義深いと考えられる。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

学位論文の基礎となる学術論文

1. 題 目 60 Hz electric field upregulates cytosolic  $\text{Ca}^{2+}$  level in mouse splenocytes stimulated by lectin  
著 者 名 Harakawa, S., Inoue, N., Saito, A., Doge, F., Nagasawa, H., Suzuki, N., and Martin, DE.  
学術雑誌名 Bioelectromagnetics  
巻・号・頁・発行年 25 (3): 204-210, 2004
2. 題 目 Effect of a 50 Hz electric field on plasma ACTH, glucose, lactate, and pyruvate levels in stressed rats  
著 者 名 Harakawa, S., Takahashi, I., Doge, F., and Martin, DE.  
学術雑誌名 Bioelectromagnetics  
巻・号・頁・発行年 25 (5): 346-351, 2004
3. 題 目 Effects of a 50 Hz electric field on the plasma lipid peroxide level and antioxidant activity in rats  
著 者 名 Harakawa, S., Inoue, N., Hori, T., Tochio, K., Kariya, T., Takahashi, K., Doge, F., Suzuki, H., and Nagasawa, H.  
学術雑誌名 Bioelectromagnetics  
巻・号・頁・発行年 26 (7): 589-594, 2005
4. 題 目 Effects of exposure to a 50 Hz electric field on plasma levels of lactate, glucose, free fatty acids, triglycerides and creatine phosphokinase activity in hind-limb ischemic rats  
著 者 名 Harakawa, S., Inoue, N., Hori, T., Tochio, K., Kariya, T., Takahashi, K., Doge, F., Martin, DE., Saito, A., Suzuki, H., and Nagasawa, H.  
学術雑誌名 The Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年 67 (10): 969-974, 2005
5. 題 目 Effects of an electric field on plasma levels of ACTH and  $\beta$ -endorphin in dogs with tumors or spinal cord injuries  
著 者 名 Harakawa, S., Takagi, K., Yukawa, M., Inoue, N., Suzuki, H., and Nagasawa, H.  
学術雑誌名 Journal of Alternative and Complementary Medicine  
巻・号・頁・発行年 11 (5): 787-791, 2005

既発表学術論文

1. 題 目 Monoclonal antibody against bovine Lactoferricin and its epitopic site  
著 者 名 Shimazaki, K., Nam, MS., Harakawa, S., Tanaka, T., Omata, Y., Saito, A., Kumura, H., Mikawa, K., Igarashi, I., and Suzuki, N.  
学術雑誌名 The Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年 58 (12): 1227-1229, 1996
  
2. 題 目 Structural and immunochemical studies of bovine antimicrobial peptide 'lactoferricin'  
著 者 名 Shimazaki, K., Nam, MS., Harakawa, S., Tanaka, T., Omata, Y., Saito, A., Kumura, H., Mikawa K., Igarashi, I., and Suzuki, N.  
学術雑誌名 Peptide Chemistry  
巻・号・頁・発行年 1996: 197-200, 1997
  
3. 題 目 Structural and immunochemical studies on bovine lactoferrin fragments  
著 者 名 Shimazaki, K., Kamio, M., Nam, MS., Harakawa, S., Tanaka, T., Omata, Y., Saito, A., Kumura, H., Mikawa, K., Igarashi, I., and Suzuki, N.  
学術雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology  
巻・号・頁・発行年 443: 41-48, 1998
  
4. 題 目 Fine Structures of Epitopic Sites in Human and Bovine Lactoferrin Recognized by Anti-bovine Lactoferrin C-Lobe Monoclonal Antibody  
著 者 名 Nam, MS., Kamio, M., Shimazaki, K., Harakawa, S., Tanaka, T., Omata, Y., Saito, A., Kumura, H., Igarashi, I., and Suzuki, N.  
学術雑誌名 Food and Agricultural Immunology  
巻・号・頁・発行年 14 (2): 139-146, 2002
  
5. 題 目 Immunization with recombinant surface antigen P50 of *Babesia gibsoni* expressed in insect cells induced parasite growth inhibition in dogs  
著 者 名 Fukumoto, S., Tamaki, Y., Shirafuji, H., Harakawa, S., Suzuki, H., and Xuan, X.  
学術雑誌名 Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology  
巻・号・頁・発行年 12 (4): 557-559, 2005

6. 題 目 Exposure of C57BL/6J male mice to an electric field improves copulation rates with the superovulated female
- 著 者 名 Hori, T., Yamsaard, T., Yanagimoto, (Ueta) Y., Harakawa, S., Kaneko, E., Miyamoto, A., Xuan, X., Toyoda, Y., and Suzuki, H.
- 学術雑誌名 The Journal of Reproduction and Development
- 巻・号・頁・発行年 51 (3): 393-397, 2005

その他の論文

- 題 目 Exposure to electric field (EF): Its palliative effect on some clinical symptoms in human patients
- 著 者 名 Harakawa, S., Doge, F., and Saito, A.
- 学術雑誌名 Research Bulletin of Obihiro University, Natural Science
- 巻・号・頁・発行年 22 (4): 193-199, 2002