

## 学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	峯田昌之
<p><b>高定常磁場およびパルスRF電磁場環境における細菌変異の有無に関する研究</b>                      高橋康二, 油野民雄, 吉田逸朗と共著                      日本磁気共鳴医学会誌 第21巻3号101頁—108頁 平成13年5月</p>			
<p><b>【研究目的】</b>                      MRIは磁気共鳴現象を利用しているが、使用する定常磁場、パルスラジオ波、傾斜磁場の安全性は十分に確立されていない。胎児や妊娠初期の使用には注意が喚起されており、変異作用の有無に関して確立しなくてはならない課題である。本研究はMRIの安全性確認を目的とした。MRI近似環境を作成し、増殖期細菌が変異を受けるか検討した。</p>			
<p><b>【材料, 方法】</b></p>			
<p>1. 環境設定                      機器はパルスフーリエ変換NMR装置(日本電子製 GX-270 FT-NMR)であり、定常磁場強度は6.3Tである。スピンエコー法によるパルスラジオ波を想定し、90, 180度パルスのパルス系列を作成した。暴露条件は定常磁場単独と定常磁場+パルスラジオ波の2条件である。</p>			
<p>2. 材料                      変異の種類として point mutation, frameshift type mutation, SOS 反応を対象とした。</p>			
<p>① point mutation, frameshift type mutation の検出に用いた菌は <i>Salmonella typhimurium</i> 変異株である。point mutation 検討には TA7001-7006 混合株 (混合株), frameshift type mutation 検討には TA98 株 (TA98 株) を使用した。試験は Xenometrix 社製 AMAX manual system を用いた。</p>			
<p>② SOS 反応検出に用いた菌は SOS レギュロンの一つである umu オペロンの umu C' 遺伝子とラクトースオペロンの一つである lac Z' 遺伝子を結合させた umu C'-lac Z' 融合遺伝子を持つプラスミド pSK1002 を <i>Salmonella typhimurium</i> TA1535 に導入した菌である。試験は日本抗体研究所製ウムラックキットを用いた。</p>			
<p>3. 方法</p>			
<p>① point mutation, frameshift type mutation.                      混合株, TA98 株は培地内で 37℃, 12 時間, 培養し適度な菌数に調節された。1 回分裂可能なヒストジンを含む培地内に菌は移され、定常磁場単独, 定常磁場+パルスラジオ波に暴露されることになる。時間は 15, 30, 45, 60 分である。その後 PH indicator を加え, 48wells plate に分配し, 培養され, 2 日後, 変化があった well をカウントし変異数を検討した。陰性対照群として非暴露群を設定し, 陽性対照群として 2-nitrofluorene (250ng/ml) と 4-nitroquinoline N-oxide (62.5ng/ml) 混合液が用いられた。</p>			
<p>② SOS 反応.                      TA1535/pSK1002 株を培地で 37℃, 3 時間培養した。菌液は 100μl 毎に室温下で定常磁場単独, 定常磁場+パルスラジオ波に暴露された。時間は 10 分, 20 分, 30 分である。その後, 発色液が加えられ培養し, 反応停止液を加え, 620nm で吸光度を測定しβガラクトシダーゼ活性を検討する事で SOS 反応を判定した。陰性対照群として非暴露群を設定し, 陽性対象群としては furylfuramide 0.033 μg/ml 溶液 10μl が用いられた。</p>			
<p><b>【結果】</b></p>			
<p>① 定常磁場単独の point mutation, frameshift type mutation.                      混合株群の変異数は 48 wells あたり 15 分暴露 1.01±1.48, 30 分暴露 0.81±1.02, 45 分暴露 0.72±1.04, 60 分暴露 1.09±0.97 であり, TA98 群は 15 分暴露 0.89±1.28, 30 分暴露 0.81±1.19, 45 分暴露 1.29±1.51, 60 分暴露 0.82±1.20 であった。また, 非暴露群の変異数は混合株群 1.22±1.32 であり, TA98 群 1.29±1.01 であった。陽性対照群の変異数は混合株群 22.21±2.87 であり, TA98 群は 33.80±6.57 であった。暴露された混合株および TA98 は有意に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&lt;0.001; ANOVA)。</p>			
<p>② 定常磁場+パルスラジオ波における point mutation, frameshift type mutation.                      混合株群の変異数は 48 wells あたり, 15 分暴露 0.44±0.53, 30 分暴露 1.00±0.71, 45 分暴露 1.33</p>			

±1.87, 60分暴露 0.78±0.97 であり, TA98 群は 15分暴露 1.67±2.12, 30分暴露 1.11±1.05, 45分暴露 0.89±1.05, 60分暴露 0.56±0.53 であった. また, 非暴露群の変異数は混合株群 0.89±0.90 であり, TA98 群 0.94±1.10 であった. 陽性対照群の変異数は混合株群 16.67±6.47 であり, TA98 群は 12.51±4.37 であった. 暴露された混合株および TA98 株は有意に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).

③定常磁場単独の SOS 反応.

暴露群の吸光度は 10分暴露 0.342±0.025, 20分暴露 0.328±0.041, 30分暴露 0.339±0.031 であった. 非暴露群は 0.335±0.049 であり, 陽性対象群は 0.878±0.068 であった. 非暴露群と暴露群間に有意差は指摘できなかった. 陽性対照群とは有意差が認められた (P<0.001; ANOVA).

④定常磁場+パルスラジオ波における SOS 反応.

暴露群の吸光度は 10分暴露 0.359±0.037, 20分暴露 0.338±0.038, 30分暴露 0.352±0.027 であった. 非暴露群は 0.355±0.021 であり, 陽性対象群は 0.859±0.012 であった. 非暴露群と暴露群間に有意差は指摘できなかった. 陽性対照群とは有意差が認められた (P<0.001; ANOVA).

【考察】

MRI の変異原性に関する研究は開発当初から現在まで行われており, 変異作用が見られた報告, 見られなかった報告, 共に認められる. その際, 問題となる環境は, 定常磁場, パルスラジオ波, 傾斜磁場であり, 個々の環境およびこれらの複合した環境について検討をしなければならない.

変異作用が見られたとの報告としては定常磁場, 時間で変化する磁場, パルスラジオ波単独では変異作用が認めたとされ, 時間で変化する磁場と定常磁場との混合や実際の MRI を使用した実験でも何らかの変異作用が存在したとされている. しかし, 裏付けのための追試では再現性が乏しかったり, その機序に関しても明確に言及されていないなどの問題点を含んでいる.

今回, 変異原性試験に用いられる細菌を使用して検討した. その結果, 定常磁場単独, 定常磁場+パルスラジオ波暴露では point mutation, frameshift type mutation, SOS 反応は共に認めなかった. 今回の試みと従来の試みとの違いは, 高等な生物を対象としておらず, 単純な細菌を用いた事にある. 加えて, 変異が有った場合には機序が明白であるために, 作用点が指摘できる利点を持っている. 使用した機器は 1.5T の MRI 装置と異なり, 6.3T の NMR 装置であるが, MRI 装置では暴露部位の磁場を均一に保つ事が困難であると考えたためである. 傾斜磁場の影響は検討できていないが, 磁場固有のラーモア周波数が選択されており, 水素の陽子スピンの 90, 180 度倒される MRI 撮像時と類似した環境においても変異原性は無いと推測された.

【結論】

6.3T 定常磁場単独, 定常磁場に 90, 180 度パルスラジオ波を加えても細菌に point mutation, frameshift type mutation, SOS 反応は有意に生じず, 変異原性は明らかではないと考えられた.

【引用文献】

1. Lack of an EMF-induced genotoxic effect in the Ames assay.  
Morandi MA, Pak CM, Caren RP, et al. Life Sci 1996; 59:263-271.
2. Effects of MR exposure at 1.5T on early embryonic development of the chick.  
Yip YP, Capriotti C, Talagala SL, et al. J Magn Reson Imag 1994; 4:742-748.
3. Enhanced mutagenic effect of a 60 Hz time-varying magnetic field on numbers of azide-induced TA100 revertant colonies.  
Tabrah FL, Mower HF, Batkin S, et al. Bioelectromagnetics 1994; 15:85-93.

【参考論文】

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, 片田竜司, 山田有則ほか 4 名, 日本医学放射線学会誌 59 巻題 9 号 平成 11 年 9 月掲載

## 学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士 (医学)	氏 名	峯田 昌之
<p>審査委員長 若 宮 伸 隆 ㊟</p> <p>審査委員 田 中 達 也 ㊟</p> <p>審査委員 油 野 民 雄 ㊟</p>			
<p>学 位 論 文 題 目</p> <p>高定常磁場およびパルス R F 電磁場環境における細菌変異の有無</p>			
<p>画像診断領域では高定常磁場、電磁波、傾斜磁場を利用した、磁気共鳴現象による MRI 装置が開発され、一般的な画像診断機器として普及している。しかしながら、電磁場、電磁波の安全性面、特に遺伝子変異作用の有無に関しては、未だ明確な回答が得られていないのが現状である。そこで実際の MRI 検査に際しては、胎児や妊娠初期には十分な注意を要する必要があるとされている。</p> <p>本研究は、MRI 装置の遺伝子変異原性の有無を、細菌において、点突然変異、フレームシフト突然変異、突然変異誘導に関与する SOS 反応に的を絞って行われている。</p>			

実際の実験では、6.3Tの定常磁場強度のNMR装置を用いて、MRI近似環境を作成し、定常磁場単独および定常磁場にパルスラジオ波を加えた環境における*Salmonella typhimurium*の突然変異を検討し、以下の知見が得られた。

- 1) 点突然変異は定常磁場単独で生じなかった。
- 2) 点突然変異は定常磁場にパルスラジオ波を加えた環境で生じなかった。
- 3) フレームシフト突然変異は定常磁場単独で生じなかった。
- 4) フレームシフト突然変異は定常磁場にパルスラジオ波を加えた環境で生じなかった。
- 5) SOS反応は定常磁場単独で生じなかった。
- 6) SOS反応は定常磁場にパルスラジオ波を加えた環境で生じなかった。

以上の結果により、*Salmonella typhimurium*においては定常磁場単独および定常磁場にパルスラジオ波を加えた環境で突然変異や突然変異誘発に関するSOS遺伝子群の誘導は生じないことが明らかになった。

MRIに関する変異原作用を検討した報告は過去にも様々報告されているが、形質発現の有無に関しての報告が多数を占め、遺伝子の突然変異に的を絞って行われたものはない。本結論がすぐにMRIによる、真核細胞での突然変異の発生を否定するものではないが、MRIの変異原性の有無に関して、原核細胞であるが、突然変異を誘発しないとする非常に重要な知見を提供した研究であると考えられる。

論文提出者に対する試問審査においても、適切、且つ論理的な回答が得られ、関連領域に関する十分な知識を有していることが示された。

以上の審査結果から、本審査委員会は本論文が博士(医学)の学位に値するものであると判定した。