

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 30 日現在

機関番号：82658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K12796

研究課題名(和文) 高強度THz帯電磁波の非熱的および熱的生体作用の解明

研究課題名(英文) A study of thermal and athermal biological effect by exposure to high intensity Terahertz electromagnetic field

研究代表者

池畑 政輝 (Masateru, Ikehata)

公益財団法人鉄道総合技術研究所・人間科学研究部・上席研究員GL

研究者番号：40426143

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：室温での高電力密度(0.16THz, 1.2kW発振)のTHz帯電磁波のばく露による生物試料への影響について、大腸菌とヒト3次元組織モデルを用いて連続波およびパルス波によりばく露実験を行った。その結果、温度上昇に伴う大腸菌およびヒト3次元組織モデルに関して、致死とその閾値に関する知見を得た。さらに、大腸菌において、熱による致死閾値およびそれ以下の強度のばく露条件では、遺伝子上の突然変異(点変異)が増加しないことを見出した。これらの結果からTHz帯電磁波ばく露により熱が生じるばく露条件では熱作用が主な生物作用の要因であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで細胞での研究例がない高電力密度(0.16THz, 1.2kW発振)を出力可能なジャイロトロンでの生物試料ばく露装置を構築し、電力を制御し、再現性の高いばく露実験が可能であることを示すと同時に、生物への作用として、熱による細胞死の閾値と、遺伝子変異(点突然変異)がどのようなばく露電力密度でも生じないことから、生物試料へのTHz波の吸収による熱作用が主であることを示した。これらは、今後、超高強度極短時間パルスによる非熱的作用を検討する基礎的な知見であるとともに、社会的にTHz波が健康に対する未知の影響を持たないことを示し、今後の活用を円滑にする根拠の一つとなると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The effects of exposure to high power density (0.16 THz, 1.2 kW oscillation) THz-band electromagnetic waves at room temperature on biological samples were investigated using continuous wave and pulsed wave exposure experiments on Escherichia coli and a human 3D tissue model. As a result, lethality and its threshold were found in Escherichia coli and a human 3D tissue model upon temperature increase. Furthermore, it was found that the genetic mutation (point mutation) in E. coli did not increase under the thermal lethal threshold and lower intensity exposure conditions. These results suggest that thermal effects are the dominant cause of biological effects under exposure conditions in which heat is produced by exposure to THz-band electromagnetic radiation.

研究分野：毒性、遺伝毒性、生体電磁環境

キーワード：テラヘルツ波 生体作用 遺伝子変異 電磁界ばく露 開放導波路 Escherichia coli ヒト3次元再構築皮膚モデル

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

THz 帯電磁波は、電波と光波の中間領域であり、開発が進んでいる大容量データ無線高速通信やセキュリティ、非破壊検査などへの応用は将来的に鉄道を始めとした公共交通網の安全と安心の維持、サービスの向上に用いられると考えられる。このため、今後一般および作業従事者の身の回りに THz 帯電磁波の波源が増加していくと予測され、かつ高強度な波源の出現も十分に想定される。一方、生命科学への応用として、分光やイメージングの医療への応用、更には THz 帯電磁波そのものの生体への作用の探索も始まっている。しかし、これまでは生体作用を明らかにするに足る強度での検討が行われていないため、本質的なばく露の作用やその特徴は未知である。また、THz 帯電磁波は、波長が  $\mu\text{m}$ ~ $\text{mm}$  であり、タンパク質や遺伝子等と比較すれば長い。しかし、細胞膜と共鳴する可能性や汗腺構造との結合が仮説として提案されており、これが確認できれば、 $\text{nm}$ ~ $\mu\text{m}$  オーダーの生体物質とエネルギー的に結合することになる。このような仮説からは、細胞膜以外にもタンパク質や DNA のらせん構造等とも共鳴する可能性も考えられる。実際、理研などの研究では、THz 帯電磁波を高分子溶液にばく露することで、配向性を持たせることに成功した例がある。一方で、THz 帯電磁波は水に良く吸収される特徴をもつ。これにより水の誘電損失で生じる熱が発生するため、生体物質との結合を観察する場合は、ばく露の方法や強度・時間が重要なパラメーターとなる。研究開始時点までに報告されている研究では、この熱的作用と非熱的作用の境界線が曖昧な研究が多く、また低エネルギー波源を用いた研究がほとんどであるため、THz 帯電磁波の生物作用という問いに対して、熱的作用についても、非熱的作用についても、その作用の有無や程度、メカニズムなど、明らかにすべきことの理解は進んでいない現状があった。

## 2. 研究の目的

数十から数百  $\text{W}/\text{cm}^2$  と、これまでの生物実験では実現できなかった高出力（これまでの研究よりも 1000 倍以上）のばく露装置を用いて、高エネルギーばく露を実現するとともに、ばく露の精緻な制御を行うことで、投入エネルギーを等価にした低出力・長時間ばく露から高出力・短時間ばく露を検討し、THz 帯の電磁波の生体に対する非熱的~熱的作用の双方を検討し、本質的な作用を明らかにすることを大目標とする。そのための基礎的な取り組みとして、本研究においては、生物試料のばく露装置の構築と、THz 帯の電磁波ばく露による細胞の活性や遺伝子の変異という生物学的に保存される指標でその作用を検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### 3.1 THz 帯電磁波の生物試料ばく露装置の構築

ばく露装置の波源には、福井大学遠赤外領域開発研究センターが独自に開発したジャイロトロン(FU CW GV) (Tatematsu et al., *J. Infrared, Milli. Terahz Waves* 36, 697-708, 2015.) を用いる。ジャイロトロンの発振可能周波数は、0.16THz から 0.27THz である。本研究では、ジャイロトロンから発振する THz 帯電磁波を開放導波路によって誘導し、生物試料にばく露するばく露装置を構築し、0.162THz の THz 帯電磁波ばく露による実験を行った。

本研究で開発した微生物用 0.16THz 帯ばく露装置は、ジャイロトロンから放射された電磁波が開放導波路を経てばく露部へと誘導される。ばく露位置の調整は、ジャイロトロンから放射される THz 電磁波の焦点を感熱紙等を用いて確認し、その焦点の空間的基準をレーザー水準器 1 台とレーザーポインタ 2 台を用いて決め、そこにばく露用試料の中心を合わせることにした。入射電力密度の分布は焦点中心が最も高く、同心円状の分布をもつことは、ファントムを用いた

ばく露による温度上昇確認時の熱画像より明らかとなった。

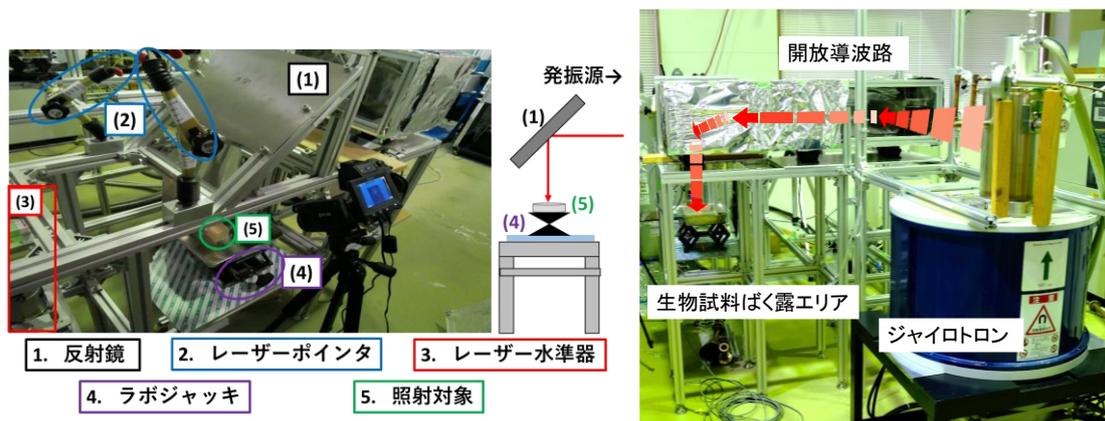


図 3.1 生物試料用 THz 電磁波ばく露装置の写真と試料位置調整状況

### 3.2 微生物を用いたばく露実験

エイムス試験の試験菌株である大腸菌 *Escherichia coli* WP2uvrA (以降 大腸菌 WP2uvrA 株) を実験に用いた。この菌株は、DNA 修復酵素の一部が機能しなくなっており、紫外線やその他のストレスに対して感受性が高く (例: 昼間の太陽光をばく露すると数秒で死滅) また、トリプトファン合成遺伝子を指標として点突然変異型の遺伝子変異の検出が可能である。

被験プレートに播種した菌液が固化した後、アクリルケース (一片 20cm の立方体で上面が開口) の中心に被験プレートを設置し、被験プレートの蓋を取り、ばく露位置にアクリルケースごと設置した。ばく露位置調整用の緑色および赤色レーザーの交点が被験プレートの中心表面になるように目視で調整し、最終的なばく露位置とした。ばく露 1 分前よりサーモカメラで被験プレートの熱画像取得を開始し、5 分間あるいは 10 分間の THz 帯電磁波をばく露、ばく露停止後 1 分間静置を一回のばく露実験とした。実験終了までサーモカメラにより試料表面の熱画像を取得した。THz 帯電磁波ばく露の条件は、連続発振条件 (連続波) では、① 6 W, 5 分間ばく露, ② 4 W, 5 分間ばく露, またパルス発振条件 (パルス波) では、③ 1 kW, パルス幅 6ms, 周期 1 Hz, 300 パルス (平均電力 6 W, ばく露時間 5 分間) および④ 1 kW, パルス幅 3ms, 周期 1 Hz, 600 パルス (平均電力 3 W, ばく露時間 10 分間) とした。各条件で 3 回以上の実験を行った。

ばく露後の被験プレートは 37°C で 24 時間以上培養し、細菌の生死および突然変異体の発生の有無を目視にて確認した。

### 3.3 正常ヒト細胞を用いた 3 次元再構築組織モデルにおける生体作用に関する実験

正常ヒト細胞 3 次元再構築組織モデルとして、表皮モデルである Epi-12 (JTEC 株式会社) を実験に用いた。大腸菌同様、アクリルケース (一片 20cm の立方体で上面が開口) を用い、中心に被験プレートを配置することとした。被験プレートは 90 mm のプラスチックシャーレに 5ml の培地を分注し、その中心に皮膚モデルが培養されたカップ (φ 11 mm) を配置した。ばく露位置調整用の緑色および赤色レーザーの交点が皮膚モデルのカップの中心表面になるように目視で調整し、最終的なばく露位置とした。ばく露 1 分前よりサーモカメラで被験プレートの熱画像取得を開始し、6 分間の THz 帯電磁波をばく露、その後 1 分間静置を一回のばく露実験とし、実験の間は熱画像を取得した。なお、ばく露時間 6 分間は、我が国の電磁波の規制において局所ばく露の際の評価時間が 6 分間であるため、その時間を考慮したものである。

THz 帯電磁波ばく露の条件は、連続波では、① 1 W, 6 分ばく露, ② 0.5 W, 12 分ばく露, ③ 2 W,

6分ばく露であり、パルス波では、④1kW、パルス幅0.5ms、600パルス（平均電力0.5W、12分ばく露）とした。

ばく露後の細胞は翌々日まで炭酸ガス培養器中にて培養し、MTTアッセイにより細胞の活性を測定した。常法に従い、MTTを含む培養液を作成し、これを細胞の培養液と入れ替え、さらに3時間炭酸ガス培養器中で培養して細胞とMTTを反応させた後、MTTを含む培養液をPBS緩衝液で置換し、反応を停止させた。この時の細胞表面の状態を撮影するとともに、生成したフォルマザンをイソプロパノールで抽出し570nmの吸光度を測定した。

#### 4. 研究成果

##### 4.1 大腸菌ばく露実験の結果と考察

今回のばく露条件では、いずれも試料中心部表面の温度は、ばく露の経過とともに上昇し、その度合いはばく露開始2分後程度からゆるやかな上昇へと移行しばく露終了時まで上がり続けた。各ばく露条件にてばく露した実験プレートの48時間培養後の典型例を図4.1に示す。電力6Wの連続波への5分間のばく露では、試料中心での温度上昇が最大37°C程度であり、試料表面の最高温度が60°Cを超えたことから、大腸菌が中心から同心円状に死滅した。この作用は、同じエネルギーを同じ時間でばく露するパルス波の条件（波高値1kW、パルス幅6ms、周期1Hz、300回（平均電力6W））でもほぼ同様であり、最大35°Cの温度上昇が観察され、試料表面の最高温度が60°Cを超えたことから、連続波と同様に中心から同心円状の死滅が確認された。一方、1パルスごとの電力を半分とし、時間を倍にする条件（波高値1kW、パルス幅3ms、周期1Hz、600回（平均電力3W））でばく露した場合は、中心の最高温度は50°C程度となり、細菌の死滅は見られなかった。また、連続波で4W、5分間ばく露した際は中心の最高温度は55°C程度になったが細菌の死滅は観察されなかった。これらの結果より、THz波へのばく露による細菌の死滅作用は、ばく露した電磁波が直接細菌の分子等にエネルギー的に結合するのではなく、電磁波が水に吸収されて生じた熱に依存して作用し、55°C~60°Cの間に死滅する閾値があると考えられた。一般的にたんぱく質の変性や細胞膜を構成するリン脂質の相転移は43°C程度で生じるとされるが、今回のばく露は5分間であり、最大温度に達する時間はばく露時間のほぼ最後の1分程度であったため、比較的死滅に関しての閾値が高くなったと考えられる。

また、この時6Wで死滅が認められた境界付近はもっとも生きている細菌にストレスが付与された環境であると考えられるが、他のばく露条件も含め、必須アミノ酸の欠乏した実験プレートで増殖し、白色コロニーを形成するような突然変異体の出現は見られなかった。

これらの実験結果から、THz帯電磁波へのばく露により細菌が死滅に至る作用は主として熱であり、熱で死滅する閾値より低いばく露領域で遺伝子の突然変異誘発などの有害な作用ない可能性が示唆された。

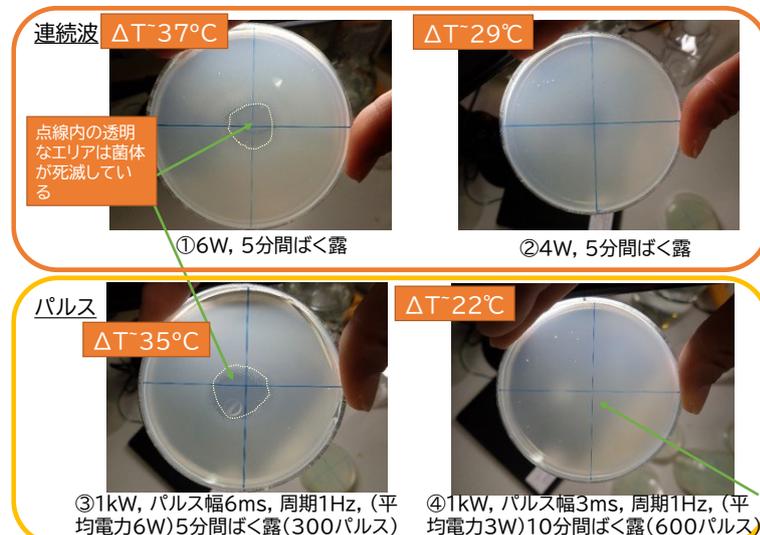


図 4.1 大腸菌への 0.16THz 波ばく露結果の典型例

#### 4.2 ヒト3次元皮膚モデルばく露実験の結果と考察

本研究のばく露条件では、大腸菌での実験と同様、いずれも試料中心部表面の温度は、ばく露の経過とともに上昇し、その度合いは、ばく露開始後1分間は急激な温度上昇がみられ、その後ゆるやかな上昇へと移行し、ばく露終了時まで上がり続けた。各ばく露条件でばく露実験後、MTTで処理した皮膚モデルの表面の状態を図4.2に示す。電力2Wの連続波への6分間のばく露では、試料中心での最大40°C以上の温度上昇が観察され、試料表面の最高温度が60°Cを超えたことから、MTTアッセイの際に中心から同心円状に死滅している様子が観察された。一方、1Wの連続波への6分間のばく露では細胞の死滅は認められず、この条件と同じエネルギーの投入となる0.5Wの連続波への12分ばく露、あるいはパルス波（波高値1kW、パルス幅0.5ms、周期1Hz、600回（平均電力0.5W））へのばく露では、細胞の死滅は見られなかった。したがって、ヒト細胞をカップ型の容器で培養してTHz電磁波に直接ばく露した際の死滅の閾値は投入エネルギーが1Wから2Wの間にあることがわかった。

本研究のばく露条件で得られたヒト3次元組織モデルの細胞死滅に関する閾値は、大腸菌で観察された4~6Wと比べると低い。この要因として、培養容器とTHz電磁波の干渉など、電磁波のばく露環境が大きく異なっている可能性が考えられるため、FDTD法による電磁界解析を行った。その結果、大腸菌の実験でほぼ平面に電磁波がばく露する条件と異なり、3次元組織モデルでは細胞組織面を囲むようにカップがある状態では、カップの底面中心に強い電界の集中が見られ、中心部のカップの構造により定在波が生じている可能性が示唆された。

いずれにしろ、細胞の場合も死滅の直接的な要因は電磁波の吸収による温度上昇との相関が見られるのみであり、パルスで強い電磁波を瞬時にばく露しても、連続波と異なる変化は観察されなかった。したがって、この実験系においても、THz帯超高周波の電磁界の生体作用は熱作用が主であることが示唆されたと考えられる。

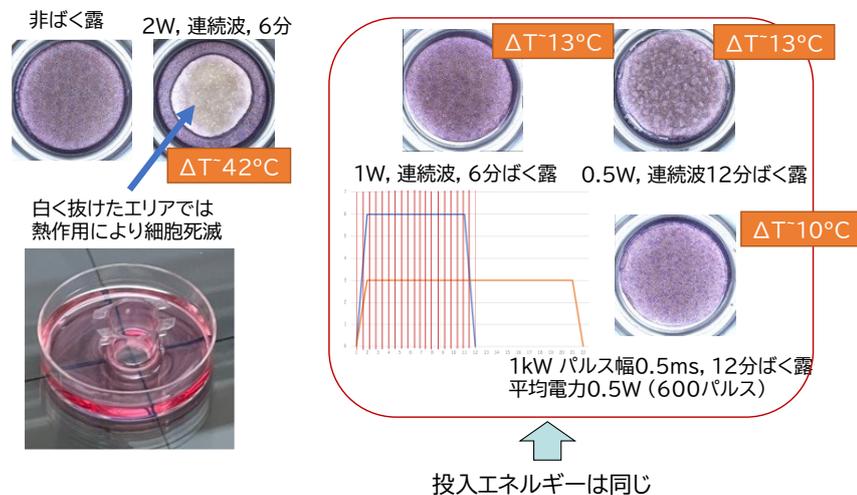


図 4.2 皮膚モデルでのばく露実験結果典型例

#### 4.3 結論

室温での高電力密度（0.16THz、1.2kW発振）のTHz帯電磁波のばく露による生

物試料への影響について、大腸菌とヒト3次元組織モデルを用いて連続波およびパルス波によりばく露実験を行った。その結果、温度上昇に伴う大腸菌およびヒト3次元組織モデルに関して、致死とその閾値に関しての知見を得た。さらに、大腸菌において、熱による致死閾値およびそれ以下の強度のばく露条件では、遺伝子上の突然変異（点変異）が増加しないことを見出した。

本研究で検討した微生物あるいはヒト細胞での実験結果が熱作用による死滅という同傾向の結果のみを示していることから、本研究で検討した数分~10分間程度のTHz帯電磁波ばく露時間で試料に熱が生じる条件では、連続波であってもパルス波であっても、その主要な生体作用は、ばく露によって吸収されたエネルギーによって生じる熱による作用であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 池畑政輝, 鈴木敬久, 水田瑛土, 児山諒, 福成雅史, 立松芳典
2. 発表標題 高強度ミリ波ばく露の生体作用の基礎的検討
3. 学会等名 令和5年電気学会全国大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 敬久  (Suzuki Yukihiisa)  (30336515)	東京都立大学・システムデザイン研究科・教授   (22604)	
研究分担者	立松 芳典  (Tatematsu Yoshinori)  (50261756)	福井大学・遠赤外領域開発研究センター・教授   (13401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------