

特集：電磁環境と公衆衛生

<総説>

高周波電磁界による細胞応答研究の動向

小山眞, 宮越順二

京大大学生存圏研究所

Recent research regarding the cellular response to radiofrequency radiation

Shin KOYAMA, Junji MIYAKOSHI

Division of Creative Research and Development of Humanosphere, Research Institute for Sustainable Humanosphere,
Kyoto University

抄録

近年、携帯電話は生活必需品となり、日本における携帯電話・スマートフォンの所有台数の総数は1億台をはるかに超えている。およそ一人が1台を所有している計算となり、日常での携帯電話・スマートフォン使用による電磁界ばく露は不可避な状態である。電磁界ばく露により、健康への悪影響が見られるのではないかという懸念は1970年代より議論されているが、携帯電話・スマートフォンの使用頻度上昇により、それらから発信される高周波電磁界ばく露に注目が集まっている。

そこで、この章では、我々の研究室で行われている、培養細胞に高周波電磁界をばく露した実験結果とともに、最近発表された主な論文の紹介を通して、高周波電磁界ばく露による健康へのリスクについて記述する。

現在までのところ、ほとんどの細胞研究において、高周波ばく露の影響は見られていないが、いくつかは影響を及ぼすという結果が得られており、さらなる研究の必要性がある。

キーワード：高周波電磁界, 培養細胞, 遺伝毒性, 非遺伝毒性

Abstract

In recent years, mobile phones have become increasingly prevalent in daily life, with the total number of mobile and smart phones in Japan soaring to more than 100 million, or approximately one device for every adult. Due to widespread use of mobile telecommunication devices, inevitable exposure to radiofrequency (RF) electromagnetic fields is occurring, and as a result, public concern regarding associated health risks of RF radiation, particularly that produced by mobile phones, has been increasing. In this review, we summarize results from recent studies on the cellular response and potential risks of exposure to RF radiation. Although most studies have reported no significant effects at the cellular or genetic level due to exposure to RF radiation, a consensus has yet to be reached. Therefore, the cellular response to RF radiation requires further investigation.

keywords: radiofrequency (RF) electromagnetic fields, cultured cells, genotoxicity, non-genotoxicity
(accepted for publication, 4th November 2015)

連絡先：小山眞
〒611-0011 京都府宇治市五ヶ庄
Gokasyo, Uji, Kyoto 611-0011, Japan.
Tel: 0774-38-4954
E-mail: shin_koyama@rish.kyoto-u.ac.jp
[平成27年11月4日受理]

I. はじめに

電磁界による健康影響を懸念する端緒となった研究は、1979年に発表された論文で、極低周波電磁界による小児白血病の増加という疫学結果によるものであるが、電磁界ばく露により、健康を害するような生物学的影響が明確に表れるという確証は得られていない。それ以降も研究は進められているが、1990年代以降、携帯電話の世界的な普及に伴い、新たに非常に多くの人間が電磁界にばく露されるようになった。特に、携帯電話・スマートフォン等は頭部に近接する部位での使用が常となるため、脳腫瘍などの発生につながるのではないかという不安が広がっている。携帯電話等で使用されている電磁界は、送電線や家庭の電化製品に使用されている極低周波電磁界とは異なり、高周波帯が使用されている。電磁界による生物学的影響では、周波数帯が100 kHz以下での刺激作用と100 kHz以上の熱作用に分類されるが、この章では、主にMHzおよびGHz帯域の高周波の非熱効果の動向をメインに論ずる。また、生物学的影響の研究では、疫学、動物実験、細胞研究などがあるが、過去の報告および近年の注目すべき発表を含め、細胞における高周波電磁界研究の動向を概観する。

II. 細胞基本動態研究

1. 細胞増殖および細胞周期

基本的な細胞の活動である細胞増殖は、通常、一定の割合で進行するが、細胞周期の変化やDNA合成の進行具合に影響を受ける。細胞周期は、大きく4つの期間に分類され、1) 細胞分裂の始まりから終了までの分裂期(M期)、2) 細胞分裂終了からDNA合成までのDNA合成準備期(G1期)、3) DNAを合成する始まりから終わりまでのDNA合成期(S期)、4) DNA合成の終了から細胞分裂が始まるまでの分裂準備期(G2期)に分けられる。高周波ばく露の増加に伴い、細胞増殖が抑制され、細胞周期に影響を与えるという報告が少数なされており[1, 2]、 γ 線照射前に高周波ばく露を行った細胞で、細胞増殖抑制効果が増感されるという結果もある[3]。しかしながら、ほとんどの論文では影響がないとしている[4-6]。しかも、影響があるとしている報告においては、ばく露条件以外の様々な環境要因や温度上昇などを完全に排除できず、高周波ばく露が細胞増殖や細胞周期に影響を与えているかの明確な証拠は得られていない。

III. 遺伝毒性研究

1. 小核形成試験

細胞内でのDNA損傷や細胞分裂の際、染色体分離に異常が起きると核から分離した小核が形成される場合がある。この小核を顕微鏡下で観察する小核形成試験は電磁界ばく露による遺伝毒性を研究する手法として、頻繁

に用いられている。小核形成は、自然発生的に生じる頻度が極めて少ないことから、遺伝毒性の指標としてわかりやすく、近年、がんとの関連も示唆され重要な実験手法としてあらためて注目されている[7]。

現在までのところ、多くの研究から、比吸収率(SAR: specific absorption rate)が10 W/kg以下の高周波ばく露による細胞への小核形成への影響は見られない[8, 9]。最近の結果においても、900~2450 MHz帯などの高周波ばく露による細胞への影響は見られないとする報告が多数存在する[10-12]。我々の研究室で行った2.45 GHz高周波電磁界を培養細胞にばく露した実験においても、50 W/kg以下では小核の形成頻度はコントロールと差が見られなかった[13, 14]。SARが78 W/kg以上の時には、コントロールに比べ、有意に小核形成頻度が上昇したが、この条件での温度上昇による小核形成頻度とほぼ同様であったことから、この際の有意差は、温度上昇に伴う熱効果により現れた結果と考えられる。しかしながら、過去の論文では、低いSARで小核形成の頻度が上昇したという結果[15]もあり、近年の報告においても、Schwarzら[16]は、1950 MHz高周波電磁界、0.05~0.1 W/kgのSARばく露により、線維芽細胞における小核頻度が上昇したと発表している。しかし、リンパ球ではその影響は見られないなどの結果も同時に発表しており、さらなる研究が求められる。およそ低SARでは、小核形成に影響を及ぼさないという結果が多数であるが、影響なしとしていたグループから、X線を照射した後の高周波ばく露による適応応答により、小核形成が減少するという複合ばく露の結果も最近報告された[17]。ここでも、Caoら[3]の研究のように、電離放射線と高周波の複合ばく露により増幅効果が見られる結果が得られていることから、高周波単独では見られない微小な生物学的効果がある可能性を排除できない。携帯電話で使用されている出力で、直ちに健康への影響が見られるとは考えにくい、複合ばく露の結果などを考慮すると、何らかの生物学的作用が働いている可能性は否定できない。

2. 染色体異常

染色体異常は、遺伝毒性の典型的な指標として古くから用いられている。培養細胞においては、染色体異常は自然発生的に起きうるが非常にまれである。電離放射線によるDNA鎖の切断はよく知られており、この結果、染色体異常が引き起こされる。

染色体異常および染色分体異常には、*ctg* (染色分体ギャップ)、*ctb* (染色分体切断)、*cte* (染色分体交換)、*frag* (断片化)、*min* (微小染色体)、*dic* (二動原体)等があり顕微鏡下で観察者が判断する。初期の研究で、高周波ばく露が染色体異常に影響を及ぼすという結果[18]が発表され、近年においても白血球への高周波ばく露により、若干の陽性反応があったとする結果が報告されている[19]。しかしながら、多くの結果では影響は見られないとしている[20-22]。また、染色分体異常について

も影響なしとの結果が発表されている [23, 24]. 小核形成試験と並行して行われている実験が多く、いずれにも影響がないとしている報告が多数を占めているが、一部陽性反応が出ていることは注意を要する。観察に熟練した技術が必要な試験でもあるため、同様の結果がもう少し簡便に検出できる方法を模索する必要もあるかと考える。

3. DNA鎖切断 (コメットアッセイ)

DNA鎖切断は、細胞に対する毒性により直接的にDNA鎖が破壊されたかどうかを判断する指標となり、コメットアッセイ法がよく用いられる。

一部陽性の結果として、MOLT-4リンパ芽球を用いて、高周波ばく露を行ったところ、DNA鎖切断が見られるとの報告 [25] や、携帯電話からの高周波ばく露により毛根の細胞でDNA1本鎖切断が見られるとする報告がされている [26]。特に、間欠ばく露により大きな影響を及ぼしているという報告 [27] があり、非熱効果の影響があるとしている。また、DNAのアルキル化剤であるマイトマイシンCと高周波ばく露による複合ばく露において、高周波単独ばく露より、DNA鎖切断がより増加するとの報告がされている [28]。これら高周波ばく露によるDNA鎖切断の陽性結果がある一方で、我々の研究室で行った実験を含め、高周波ばく露によるDNA鎖切断はないとする多数の論文が報告されている [29-31]。一般的な解釈としては、高周波ばく露によりDNA鎖を切断することはないとの意見で一致している。圧倒的に強力な証拠が見つからない限り、高周波ばく露によるエネルギーでDNA鎖が切れることはないというのが現在までの見解である。

4. 突然変異

突然変異は小核形成、染色体異常、DNA鎖切断等の実験方法では検出できない遺伝的影響である。ヒトの細胞はおよそ30,000個の遺伝子を持っているが、非常に多数であることから、すべての遺伝子における突然変異を調べ上げることは困難である。一つの遺伝子は数千から数万の塩基で構成されており、すべての塩基配列中から突然変異を見つけ出すことは難しい。そこで、あらゆる変異を検索するのではなく、マーカーとして用いられる特定の遺伝子に注目し、その遺伝子が突然変異を起こしているかを判別する方法が確立されている。化学物質や物理的障害によって、この特定の突然変異の頻度が上昇した場合、同様に他の遺伝子の突然変異も上昇すると考えられる。DNA鎖を構成している塩基に変異が起こると遺伝子の機能にも影響を及ぼし、細胞に致命的な影響を及ぼす場合がある。

高周波ばく露による細胞への影響において、突然変異をターゲットとした実験は多くはないが、我々の研究結果も含め、いくつかの報告では影響がないという結果が出ている [32, 33]。高周波ばく露による突然変異を検出する試験があまり多くないことから、一概に結論を出し

にくい場合、さらなる研究が必要であると考えられる。

IV. 非遺伝毒性研究

1. アポトーシス

プログラム細胞死とも呼ばれるアポトーシスは、障害を受けた細胞を守るための防御機構と考えられる。アポトーシスは、細胞が積極的に死ぬことにより、自身を普段の状態に保つ機構である。深刻なダメージを受けたり、好ましくない細胞環境に置かれた結果起こる細胞死は、ネクローシスと呼ばれ、アポトーシスと対局をなす。化学物質や放射線によるDNA障害に呼応して起こるアポトーシスは、p53遺伝子やCaspase 3を介したシグナル伝達による。我々の研究室における結果も含め、高周波ばく露によるアポトーシスへの影響はほとんど見られないという報告が多数を占めている [34, 35]。しかしながら、近年、Caspase 3を介したアポトーシスや後述の活性酸素種によるアポトーシスの増加を示した論文が数本報告されている [36, 37]。一貫した高周波ばく露によるアポトーシスへの影響は見られていないが、最近の陽性結果は注目すべき点が多く、さらなる研究が必要である。

2. 遺伝子発現

遺伝子発現は、DNAの塩基配列 (遺伝子情報) がm-RNAに転写され、タンパク質が合成される細胞内の代謝過程である。遺伝子発現における高周波ばく露の影響研究は、熱ショックタンパク (HSP) に焦点が当てられ、HSP70やHSP27を含むHSPの増加は、熱や細胞毒性のある化学物質のストレス反応として見られる。様々な研究室で高周波ばく露によるHSPへの影響が調べられており、20 W/kg以上の高SARによる温度上昇に伴い、HSPの増加が見られるとする報告がされている。また、温度上昇がないレベルの低SARによる、いわゆる非熱効果によりHSPが増加したという報告も見られる [38-40]。特に、HSPの増加がシグナル伝達に影響を及ぼしているという注目すべき報告 [38, 41] や細胞の生存率に影響を与えず、HSP27やCaspase 3の変化も見られないが、HSP20やHSP70が増加するという報告 [42] もある一方、多くの論文では、高周波ばく露によるHSPの増加に否定的である [43-45]。これらの論文では、ばく露システム、細胞種、周波数、SARやばく露時間等が異なっており、確定的な結論に至ることは難しい。高周波ばく露による細胞影響を研究する分野として、遺伝子発現は非常に興味深く、再現性も含め今後のさらなる研究がまたれる。

細胞増殖の際、初期に反応する遺伝子*c-myc*、*c-fos*、*c-jun*などのがん原遺伝子に焦点を当てた研究報告がなされており、ノーザンブロット法による高周波ばく露後の*c-jun*、*c-fos*遺伝子の発現が報告されている [46]。この報告では、*c-fos*の変化はなかったものの*c-jun*のm-RNA発現が疑似ばく露コントロールに比べ減少したという結果が得られている。しかしながら、ばく露時間

が長くなることによって*c-jun*の発現がコントロールレベルまで減少した。これらの結果は、高周波ばく露による*c-jun*遺伝子の一時的な阻害影響を示唆しているが、RT-PCR法によりC3H 10T 1/2細胞において、高周波ばく露後の*c-myc*, *c-fos*, *c-jun*のタンパク質発現レベルに変化はないとの報告もある [47]。しかし、FMCWやCDMAをばく露した細胞において、*c-fos*のm-RNAレベルが増加したとも述べている。一方、HSP27, HSP70, FOS, JUN, MYCタンパクに高周波ばく露が影響を及ぼさないとの報告も見られる [48]。現時点では、高周波による遺伝子発現の結果は一致しておらず、さらなる研究成果がまたれる。

3. マイクロアレイ

ヒトゲノム計画が完了し、DNAチップを用いたマイクロアレイ解析などの遺伝子解析方法が飛躍的に発展したことにより、m-RNAの発現レベルを網羅的に調べることが可能になった。この方法による高周波ばく露の影響も調べられているが、現在のマイクロアレイ分析では、反応した遺伝子を常に正確に把握することは難しく、疑陽性の遺伝子を検出する可能性もあるので、候補となった遺伝子をRT-PCRにより確認する必要がある。

間欠の高周波ばく露が、様々な細胞機能（細胞骨格、シグナル伝達、代謝）を含む遺伝子発現に影響を与えるとする報告がある [49]。また、細胞種に依存した高周波ばく露による遺伝子発現への影響 [50] や、細胞種の違いによってリボソームタンパクをコードする遺伝子の発現が異なるという報告も見られる [51]。一方、高周波ばく露による遺伝子発現への影響が、マイクロアレイ分析では見られないとする報告もされている [34, 52]。これらの報告から、さらなる技術革新により分析方法が改善されなければ、マイクロアレイでの高周波ばく露影響の検出は難しいことを示している。他の研究結果から、もし高周波ばく露による生物学的効果があったとしても、非常に微細な影響である可能性が高いため、精度がそこまで高くない網羅的な解析には、この方法が最適とはいえないかもしれない。マイクロアレイのさらなる技術革新の日が望まれる。

4. 免疫システム

免疫機構は、感染やがんから宿主を防御するシステムである。外部から体内に細菌等が侵入した場合、自己防御のために免疫細胞がそれらを攻撃する。サイトカインなどの自己防御を行う物質生産もこの免疫システムによる。免疫細胞は非常に重要な役割を担っており、高周波ばく露の影響が多く研究されている。パルス高周波にばく露された白血球の免疫活動が影響を受けるという報告 [53] や分裂促進因子や免疫原性活動を高めるという報告 [54] がある一方、携帯電話からの高周波ばく露により、インターロイキン1, 2, 4やインターフェロン(INF) γ , INF- α の免疫システムには影響を及ぼさない

とする結果も報告されている [55]。また、ミクログリア細胞に高周波をばく露した結果においても、免疫関連のTNF- α やインターロイキンの量に変化はなかったと報告されており [56]、同様の結果が他のグループからも得られている [57]。さらに、我々の研究室においても、高周波ばく露により、好中球の移動や貪食能に影響を及ぼさないという結果が得られている [58]。高周波ばく露による免疫機構の応答についてもさらなる研究が必要である。

5. 活性酸素種 (ROS)

加齢、運動、紫外線などによるストレスは活性酸素種(ROS)の生産を増加させる。ROSには、酸素イオン、フリーラジカル、有機・無機過酸化物があ、一般的にスーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシルラジカル、過酸化水素、一重項酸素の4種類をいう。細胞内DNAやリボタンパク質は、ROSの反応により細胞機能に変異をもたらす。高周波電磁界ばく露によるROSの産生を調べた報告はあまり多くないが、高周波ばく露後、フリーラジカルの生成に影響はなく、PMAとの複合ばく露によるスーパーオキシドの増加も見られなかったとする報告がある [59]。また、飲料水の塩素処理の際、生成される3クロロ-4(ジクロロメチル)-5-ヒドロキシ-2(5H)-フラノンの存在・非存在下で高周波ばく露を行ったところ、調べられたすべての環境下でROSの生成はなかった [60]。しかしながら、近年、高周波ばく露によりROSの生成増加がみられ、DNAに障害をもたらすという結果がいくつか報告されており [37, 61]、増幅効果が見られるとする報告もある [62]。また、ROSとともにCa⁺の流入に影響を与えるという最近の結果が、注目すべき報告として挙げられている [63]。一方で、ROSの生成や増幅効果は見られないとする論文も報告されている [64, 65]。高周波ばく露によるROSの生成についてもいまだ確定したメカニズムは解明されていないため、今後の研究結果がまたれる。

V. まとめ

以上の結果を、それぞれの研究の性質ごとにまとめると、これまでの細胞に対する高周波ばく露の影響は、以下の4点に要約できる。1) 高周波ばく露によるエネルギーによって、直接細胞内のDNAが切断されることはない。2) 温熱効果をもたらす高SARでない限り、高周波ばく露による遺伝毒性への影響は見られない。3) HSP等の産生に関わる遺伝子発現の変化は、高周波ばく露による細胞内反応として非常に興味深い、一貫した結果が得られておらず、細胞種、ばく露システム、周波数、SARやばく露時間の違いによるものと考えられる。4) マイクロアレイ解析による研究では、アポトーシス、免疫反応やROS生成を含めた細胞機能において、高周波ばく露の明確な影響は証明されていない。

現在までのところ、携帯電話で使用されている周波数

帯・低SARの高周波ばく露による細胞への影響を調べる研究においてはネガティブなものが多数を占める。影響があるとする論文も、SARが20 W/kgを超える数件の論文のように、高SARでの温度上昇による影響とみられる研究が多く、それ以外の低SARでの論文は極端に少ない。このことから高周波ばく露による細胞への直接的な影響は熱作用を除くとほとんどないか、あるとしても極微細な影響にとどまると考えられる。しかしながら、近年においても陽性反応があるとする研究報告もあり、メカニズム解明も容易でないことから、明確に断言できない状況であることも確かである。

2011年の国際がん研究機関の発表によると、高周波電磁界の発がん性は、「ヒトに対する発がん性があるかもしれない」とする2Bのグループに分類されている [66, 67]。細胞レベルにおける全体的な結論では、定性的評価として「弱い証拠」があるが、定量的評価としてはないと言える。小核形成、DNA鎖切断、染色体異常などの遺伝毒性に対しては弱い証拠があり、変異原性、免疫機能、遺伝子およびタンパク質、細胞内シグナル伝達、活性酸素種に対しては十分な証拠が揃っていないというのが、それぞれの評価基準に対する最終的な結論である。現在までのところ、国際非電離放射線防護委員会のガイドラインおよびIEEEの評価基準であるSARレベルでの高周波ばく露が、細胞内の遺伝毒性または非遺伝毒性に影響を与える明確な証拠はないが、決定的な証拠が得られるようさらなる研究が必要とされている。

我々もこれまでに多数の高周波ばく露実験を行っており、温熱作用による陽性結果は得られたものの、低SARでの高周波ばく露が、直ちに細胞に悪影響をもたらす結果は得ていない。しかしながら、他の研究室において、ほぼ同様の実験を行っているにもかかわらず、相反する矛盾した結果が報告されている例も多数存在する。こういった実験事例を考えるうえでは、非常に多岐にわたる交絡要因が関わっていることに注意しなければならない。例えば、培養環境において、血清や培地の選択、培養温度、湿度、CO₂濃度などは、実験を通して常に一定に保たなければならない。ばく露環境についても、温度コントロールがなされ、機械的な振動は抑え、細胞の設置位置における正確なSARの測定が必要となる。さらに、同じ細胞種においても、細胞数や継代数の違いも考慮に入れるべきである。ただし、ばく露システムや細胞種の違いなど、完全に同一の条件で行うことはできないので、結果の比較には細心の注意を要する。特に、影響があったとする報告に対しては、異なった研究室において、異なった研究者が正確に同一の環境下で、同じ結果が得られるか実験を行うべきである。こういった面から、生物学における細胞研究は、非常に繊細な特徴を有しており、工学技術者との密接な連携が重要である。

高周波ばく露による細胞研究は、世界的に進行している最中ではあるが、影響があると発表されている証拠は弱く、細胞レベルでの明確な結論には至っていない。急

激なバイオテクノロジーの発展に伴い、細胞や遺伝子における微小な反応を検出する技術が進んでいる。将来の高周波ばく露による細胞影響の研究においても、新しい手法を用いて研究される日が来ると考えられる。これらの手法により、詳細なメカニズム解明につながる可能性があるであろう。

科学技術の革新により、通信分野やエネルギーの無線伝送においても使用できる周波数帯が広がっている。ますます便利さが拡大しているが、便利が不便を生み出しているという側面も否定できない。特に、その技術が健康面や環境面に影響を与える可能性があることを考慮しなければならない場合、広く普及する前にそのリスクの度合いを見積もる必要性があろう。その中でも、今後、高周波電磁界による影響評価の重要性はさらに高まっていると考える。

参考文献

- [1] Velizarov S, Raskmark P, Kwee S. The effects of radiofrequency fields on cell proliferation are non-thermal. *Bioelectrochem Bioenerg.* 1999;48:177-180.
- [2] Marinelli F, La Sala D, Ciccio G, Cattini L, Trimarchi C, Putti S, et al. Exposure to 900 MHz electromagnetic field induces an unbalance between pro-apoptotic and pro-survival signals in T-lymphoblastoid leukemia CCRF-CEM cells. *J Cell Physiol.* 2004;198:324-332.
- [3] Cao Y, Zhang W, Lu MX, Xu Q, Meng QQ, Nie JH, et al. 900-MHz microwave radiation enhances gamma-ray adverse effects on SHG44 cells. *J Toxicol Environ Health A.* 2009;72:727-732.
- [4] Antonopoulos A, Esisenbrandt H, Obe G. Effects of high-frequency electromagnetic fields on human lymphocytes in vitro. *Mutat Res.* 1997;395:209-214.
- [5] Sanchez S, Milochau A, Ruffie G, Poullietier de Gannes F, Lagroye I, Haro E, et al. Human skin cell stress response to GSM-900 mobile phone signals. In vitro study on isolated primary cells and reconstructed epidermis. *FEBS J.* 2006;273:5491-5507.
- [6] Scarfi MR, Fresegna AM, Villani P, Pinto R, Marino C, Sarti M, et al. Exposure to radiofrequency radiation (900 MHz, GSM signal) does not affect micronucleus frequency and cell proliferation in human peripheral blood lymphocytes: an interlaboratory study. *Radiat Res.* 2006;165:655-663.
- [7] Crasta K, Ganem NJ, Dagher R, Lantermann AB, Ivanova EV, Pan Y, et al. DNA breaks and chromosome pulverization from errors in mitosis. *Nature.* 2012;482:53-58.
- [8] Bisht KS, Moros EG, Straube WL, Baty JD, Roti Roti JL. The effect of 835.62 MHz FDMA or 847.74 MHz CDMA modulated radiofrequency radiation on the

- induction of micronuclei in C 3 H 10T(1/2) cells. *Radiat Res.* 2002;157:506-515.
- [9] McNamee JP, Bellier PV, Gajda GB, Miller SM, Lemay EP, Lavallée BF, et al. DNA damage and micronucleus induction in human leukocytes after acute in vitro exposure to a 1.9 GHz continuous-wave radiofrequency field. *Radiat Res.* 2002;158:523-533.
- [10] Speit G, Schütz P, Hoffmann H. Genotoxic effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) in cultured mammalian cells are not independently reproducible. *Mutat Res.* 2007;626:42-47.
- [11] Sannino A, Di Costanzo G, Brescia F, Sarti M, Zeni O, Juutilainen J, et al. Human fibroblasts and 900 MHz radiofrequency radiation: evaluation of DNA damage after exposure and co-exposure to 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5h)-furanone (MX). *Radiat Res.* 2009;171:743-751.
- [12] Vijayalaxmi, Reddy AB, McKenzie RJ, McIntosh RL, Prihoda TJ, Wood AW. Incidence of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes exposed to modulated and unmodulated 2450MHz radiofrequency fields. *Bioelectromagnetics.* 2013;34:542-548.
- [13] Koyama S, Nakahara T, Wake K, Taki M, Isozumi Y, Miyakoshi J. Effects of high frequency electromagnetic fields on micronucleus formation in CHO-K1 cells. *Mutat Res.* 2003;541:81-89.
- [14] Koyama S, Isozumi Y, Suzuki Y, Taki M, Miyakoshi J, Effects of 2.45-GHz electromagnetic fields with a wide range of SARs on micronucleus formation in CHO-K1 cells *Sci. World J.* 2004; 4 :29-40.
- [15] Garaj-Vrhovac, Fucić VA, Horvat D. The correlation between the frequency of micronuclei and specific chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to microwave radiation in vitro. *Mutat Res.* 1992;281:181-186.
- [16] Schwarz C, Kratochvil E, Pilger A, Kuster N, Adlkofer F, Rüdiger HW. Radiofrequency electromagnetic fields (UMTS, 1,950 MHz) induce genotoxic effects in vitro in human fibroblasts but not in lymphocytes. *Int Arch Occup Environ Health.* 2008;81:755-767.
- [17] Sannino A, Zeni O, Romeo S, Massa R, Gialanella G, Grossi G, et al. Adaptive response in human blood lymphocytes exposed to non-ionizing radiofrequency fields: resistance to ionizing radiation-induced damage. *J Radiat Res.* 2014;55:210-217.
- [18] Garaj-Vrhovac V, Horvat D, Koren Z, The relationship between colony-forming ability, chromosome aberrations and incidence of micronuclei in V79 Chinese hamster cells exposed to microwave radiation. *Mutat Res.* 1991;263:143-149.
- [19] Mazor R, Korenstein-Ilan A, Barbul A, Eshet Y, Shahadi A, Jerby E, et al. Increased levels of numerical chromosome aberrations after in vitro exposure of human peripheral blood lymphocytes to radiofrequency electromagnetic fields for 72 hours. *Radiat Res.* 2008; 169:28-37.
- [20] Mashevich M, Folkman D, Kesar A, Barbul A, Korenstein R, Jerby E, et al. Exposure of human peripheral blood lymphocytes to electromagnetic fields associated with cellular phones leads to chromosomal instability. *Bioelectromagnetics.* 2003;24:82-90.
- [21] Stronati L, Testa A, Moquet J, Edwards A, Cordelli E, Villani P, et al. 935 MHz cellular phone radiation. An in vitro study of genotoxicity in human lymphocytes. *Int J Radiat Biol.* 2006;82:339-346.
- [22] Bourthoumieu S, Joubert V, Marin B, Collin A, Leveque P, Terro F, et al. Cytogenetic studies in human cells exposed in vitro to GSM-900 MHz radiofrequency radiation using R-banded karyotyping. *Radiat Res.* 2010;174:712-718.
- [23] Antonopolus A, Eisenbrandt H. Obe G. Effects of high-frequency electromagnetic fields on human lymphocytes in vitro. *Mutat Res.* 1997;395:209-215.
- [24] Maes A, Collier M, Verschaeve L. Cytogenetic effects of 900 MHz (GSM) microwaves on human lymphocytes. *Bioelectromagnetics.* 2001;22:91-96.
- [25] Phillips JL, Ivaschuk O, Ishida-Jones T, Jones RA, Campbell-Beachler M, Haggren W. DNA damage in Molt-4 T-lymphoblastoid cells exposed to cellular telephone radiofrequency fields in vitro. *Bioelectrochem. Bioenergetics.* 1998;45:103-110.
- [26] Cam ST, Seyhan N. Single-strand DNA breaks in human hair root cells exposed to mobile phone radiation. *Int J Radiat Biol.* 2012;88:420-424.
- [27] Diem E, Schwarz C, Adlkofer F, Jahn O, Rüdiger H. Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800 MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells in vitro. *Mutat Res.* 2005;583:178-183.
- [28] Zhang MB, He JL, Jin LF, Lu DQ. Study of low-intensity 2450-MHz microwave exposure enhancing the genotoxic effects of mitomycin C using micronucleus test and comet assay in vitro. *Biomed Environ Sci.* 2002;15:283-290.
- [29] Miyakoshi J, Yoshida M, Tarusawa Y, Nojima T, Wake K, Taki M. Effects of high-frequency electromagnetic fields on DNA strand breaks using comet assay method. *Electr. Eng. Jpn.* 2002;141:9-15.
- [30] Tice RR, Hook GG, Donner M, McRee DI, Guy AW. Genotoxicity of radiofrequency signals. I. Investigation

- of DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells. *Bioelectromagnetics*. 2002;23:113-126.
- [31] Lagroye I, Hook GJ, Wettring BA, Baty JD, Moros EG, Straube WL, et al. Measurements of alkali-labile DNA damage and protein-DNA crosslinks after 2450 MHz microwave and low-dose gamma irradiation in vitro. *Radiat Res*. 2004;161:201-214.
- [32] Meltz ML, Eagan P, Erwin DN. Proflavin and microwave radiation: absence of a mutagenic interaction. *Bioelectromagnetics*. 1990;11:149-157.
- [33] Koyama S, Takashima Y, Sakurai T, Suzuki Y, Taki M, Miyakoshi J. Effects of 2.45 GHz electromagnetic fields with a wide range of SARs on bacterial and HPRT gene mutations. *J Radiat Res*. 2007;48:69-75.
- [34] Hirose H, Sakuma N, Kaji N, Suhara T, Sekijima M, Nojima T, et al. Phosphorylation and gene expression of p53 are not affected in human cells exposed to 2.1425 GHz band CW or W-CDMA modulated radiation allocated to mobile radio base stations. *Bioelectromagnetics*. 2006;27:494-504.
- [35] Palumbo R, Brescia F, Capasso D, Sannino A, Sarti M, Capri M, et al. Exposure to 900 MHz radiofrequency radiation induces caspase 3 activation in proliferating human lymphocytes. *Radiat Res*. 2008;170:327-334.
- [36] Liu YX, Tai JL, Li GQ, Zhang ZW, Xue JH, Liu HS, et al. Exposure to 1950-MHz TD-SCDMA electromagnetic fields affects the apoptosis of astrocytes via caspase-3-dependent pathway. *PLoS One*. 2012;7(8):e42332. doi: 10.1371/journal.pone.0042332.
- [37] Çiğ B, Nazıroğlu M. Investigation of the effects of distance from sources on apoptosis, oxidative stress and cytosolic calcium accumulation via TRPV1 channels induced by mobile phones and Wi-Fi in breast cancer cells. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1848:2756-2765.
- [38] Leszczynski D, Joenväärä S, Reivinen J, Kuokka R. Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects. *Differentiation*. 2002;70:120-129.
- [39] Miyakoshi J, Takemasa K, Takashima Y, Ding GR, Hirose H, Koyama S. Effects of exposure to a 1950 MHz radio frequency field on expression of Hsp70 and Hsp27 in human glioma cells. *Bioelectromagnetics*. 2005;26:251-257.
- [40] Sanchez S, Milochau A, Ruffie G, Poullétier de Gannes F, Lagroye I, Haro E, et al. Human skin cell stress response to GSM-900 mobile phone signals. In vitro study on isolated primary cells and reconstructed epidermis. *FEBS J*. 2006;273:5491-5507.
- [41] Buttiglione M, Roca L, Montemurno E, Vitiello F, Capozzi V, Cibelli G. Radiofrequency radiation (900 MHz) induces Egr-1 gene expression and affects cell-cycle control in human neuroblastoma cells. *J Cell Physiol*. 2007;213:759-767.
- [42] Calabrò E, Condello S, Currò M, Ferlazzo N, Caccamo D, Magazù S. Modulation of heat shock protein response in SH-SY5Y by mobile phone microwaves. *World J Biol Chem*. 2012;3:34-40.
- [43] Cotgreave IA. Biological stress responses to radio frequency electromagnetic radiation: are mobile phones really so (heat) shocking? *Arch Biochem Biophys*. 2005;435:227-240.
- [44] Simko M, Hartwig C, Lantow M, Lupke M, Mattsson MO, Rahman Q, et al. Hsp70 expression and free radical release after exposure to non-thermal radio-frequency electromagnetic fields and ultrafine particles in human Mono Mac 6 cells. *Toxicol Lett*. 2006;161:73-82.
- [45] Hirose H, Sakuma N, Kaji N, Nakayama K, Inoue K, Sekijima M. Mobile phone base station-emitted radiation does not induce phosphorylation of Hsp27. *Bioelectromagnetics*. 2007;28:99-108.
- [46] Ivaschuk OI, Jones RA, Ishida-Jones T, Haggren W, Adey WR, Phillips JL. Exposure of nerve growth factor-treated PC12 rat pheochromocytoma cells to a modulated radiofrequency field at 836.55 MHz: effects on c-jun and c-fos expression. *Bioelectromagnetics*. 1997;18:223-229.
- [47] Goswami PC, Albee LD, Parsian AJ, Baty JD, Moros EG, Pickard WF, Proto-oncogene mRNA levels and activities of multiple transcription factors in C3H 10T 1/2 murine embryonic fibroblasts exposed to 835.62 and 847.74 MHz cellular phone communication frequency radiation. *Radiat Res*. 1999;151:300-309.
- [48] Chauhan V, Mariampillai A, Bellier PV, Qutob SS, Gajda GB, Lemay E, et al. Gene expression analysis of a human lymphoblastoma cell line exposed in vitro to an intermittent 1.9 GHz pulse-modulated radiofrequency field. *Radiat Res*. 2006;165:424-429.
- [49] Zhao R, Zhang S, Xu Z, Ju L, Lu D, Yao G. Studying gene expression profile of rat neuron exposed to 1800MHz radiofrequency electromagnetic fields with cDNA microassay. *Toxicology*. 2007;235:167-175.
- [50] Nylund R, Leszczynski D. Mobile phone radiation causes changes in gene and protein expression in human endothelial cell lines and the response seems to be genome- and proteome-dependent. *Proteomics*. 2006;6:4769-4780.
- [51] Remondini D, Nylund R, Reivinen J, Poullétier de

- Gannes F, Veyret B, Lagroye I, et al. Gene expression changes in human cells after exposure to mobile phone microwaves. *Proteomics*. 2006;6:4745-4754.
- [52] Sakurai T, Kiyokawa T, Narita E, Suzuki Y, Taki M, Miyakoshi J. Analysis of gene expression in a human-derived glial cell line exposed to 2.45 GHz continuous radiofrequency electromagnetic fields. *J Radiat Res*. 2011;52:185-192.
- [53] Dabrowski MP, Stankiewicz W, Kubacki R, Sobiczewska E, Szmigielski S. Immunotropic effects in cultured human blood mononuclear cells pre-exposed to low-level 1300 MHz pulse-modulated microwave field. *Electromagn Biol Med*. 2003;22:1-13.
- [54] Stankiewicz W, Dabrowski MP, Kubacki R, Sobiczewska E, Szmigielski S. Immunotropic influence of 900 MHz microwave GSM signal on human blood immune cells activated in vitro. *Electromagn Biol Med*. 2006;25:45-51.
- [55] Tuschl H, Novak W, Molla-Djafari H. In vitro effects of GSM modulated radiofrequency fields on human immune cells. *Bioelectromagnetics*. 2006;27:188-196.
- [56] Hirose H, Sasaki A, Ishii N, Sekijima M, Iyama T, Nojima T, et al. 1950 MHz IMT-2000 field does not activate microglial cells in vitro. *Bioelectromagnetics*. 2010;31:104-112.
- [57] Thorlin T, Rouquette JM, Hamnerius Y, Hansson E, Persson M, Björklund U. Exposure of cultured astroglial and microglial brain cells to 900 MHz microwave radiation. *Radiat Res*. 2006;166:409-421.
- [58] Koyama S, Narita E, Suzuki Y, Taki M, Shinohara N, Miyakoshi J. Effect of a 2.45-GHz radiofrequency electromagnetic field on neutrophil chemotaxis and phagocytosis in differentiated human HL-60 cells. *J Radiat Res*. 2015;56:30-36.
- [59] Lantow M, Lupke M, Frahm J, Mattsson MO, Kuster N, Simko M. ROS release and Hsp70 expression after exposure to 1,800 MHz radiofrequency electromagnetic fields in primary human monocytes and lymphocytes. *Radiat Environ Biophys*. 2006;45:55-62.
- [60] Zeni O, Di Pietro R, d'Ambrosio G, Massa R, Capri M, Naarala J, et al. Formation of reactive oxygen species in L929 cells after exposure to 900 MHz RF radiation with and without co-exposure to 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone. *Radiat Res*. 2007;167:306-311.
- [61] Liu K, Zhang G, Wang Z, Liu Y, Dong J, Dong X, et al. The protective effect of autophagy on mouse spermatocyte derived cells exposure to 1800MHz radiofrequency electromagnetic radiation. *Toxicol Lett*. 2014;228:216-224.
- [62] Luukkonen J, Hakulinen P, Mäki-Paakkanen J, Juutilainen J, Naarala J. Enhancement of chemically induced reactive oxygen species production and DNA damage in human SH-SY5Y neuroblastoma cells by 872 MHz radiofrequency radiation. *Mutat Res*. 2009;662:54-58.
- [63] Nazıroğlu M, Cığ B, Doğan S, Uğuz AC, Dilek S, Faouzi D. 2.45-Gz wireless devices induce oxidative stress and proliferation through cytosolic Ca²⁺ influx in human leukemia cancer cells. *Int J Radiat Biol*. 2012;88(6):449-456.
- [64] Brescia F, Sarti M, Massa R, Calabrese ML, Sannino A, Scarfi MR. Reactive oxygen species formation is not enhanced by exposure to UMTS 1950 MHz radiation and co-exposure to ferrous ions in Jurkat cells. *Bioelectromagnetics*. 2009;30:525-535.
- [65] Luukkonen J, Juutilainen J, Naarala J. Combined effects of 872 MHz radiofrequency radiation and ferrous chloride on reactive oxygen species production and DNA damage in human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Bioelectromagnetics*. 2010;31:417-424.
- [66] Baan R, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, et al. Carcinogenicity of radiofrequency electromagnetic fields. *Lancet Oncol*. 2011;12:624-626.
- [67] International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, "Guidelines for limiting exposure to time-varying electric and magnetic fields (1 Hz-100 kHz). *Health Phys*. 2010;99:818-836. <http://www.icnirp.de/documents/LFgdl.pdf>