

生体インピーダンス法によるラット及びマウスの 総体液量と細胞外液量の推定

高橋 則人

明治鍼灸大学大学院 鍼灸基礎医学

要旨 : 非侵襲的な体組成推定法である生体インピーダンス法 (Bioelectrical impedance analysis : BIA) を, ラット及びマウスに適用し, それらの総体液量と細胞外液量の推定値を求め, かつ総体液量に関しては乾燥法による総体液量測定値と比較検討した. さらにラットにおいて, 脱水負荷による総体液量の変動を経時的に検討した. これらの実験結果より, ラット及びマウス双方で良好な総体液量推定式を得た. また同法は同一個体における総体液量の変化測定に有効であることが示唆された.

緒 言

ヒトおよび動物の体組成 (Body composition) で最も大きい分画は体液 (Fluid) であり, ヒトでは体重の約60%を占める. この体液量およびその変化を知ることは, 生体内における諸現象解析の基礎である. 体組成および体液量の測定法には, 破壊的方法として乾燥重量法がある. しかしこの方法ではヒトを対象とする事, また動物を同一個体で経時的に測定することができないため, 非破壊的な体組成および体液量の測定法が必要である. 非破壊的な体組成測定法で古くから使用されている方法は, 空気中の体重を体容積で除す体比重から人体の体脂肪量を推定する密度法である. この体比重の個体間の差が個体間の体脂肪量の差であることが1942年に Behnke によって証明された. この密度法は体組成推定法の基準として用いられている. その後ヒトにおいて, 皮脂厚計で肩甲骨下角部と上腕後面中央部の皮膚をつまみ上げた厚さ (cm) を合計した値が, 全身の脂肪量と相関が良い事実を利用した皮脂厚法, 微量の重水やラジ

オアイソトープ (RI) を人体に投与し, その分散状況より体液量や除脂肪体重を推定する希釈法, 人体に含まれるカリウムの約62%が筋肉中に含まれ, 脂肪組織には存在しないことを利用したカリウム法, その他X線CT法, MRI法, X線法, 超音波法, 近赤外線分光法など様々な非破壊的かつ非侵襲的な体組成測定法が報告されている¹⁾.

ヒトの非侵襲的な体組成測定法として生体インピーダンス法 (Bioelectrical Impedance Analysis, BIA) が1969年に Hoffer らによって初めて報告された²⁾. 同法はX線CT法, MRI法, X線法のような大がかりな設備を必要とせず, 皮脂厚法よりも再現性が良く, 希釈法のように外来物質の投与を必要としないなど多くの利点を持っている. それらの利点に加え, 近年電極の改良により精度の高い測定が可能になり, 有用性を示す報告が多い³⁾.

BIA の測定原理は生体組織の水分含有量が高いと電気抵抗が低くなる現象を利用している⁴⁾. 図1に示すように人体を円柱形の伝導体と仮定する

Key Words : 生体インピーダンス法 Bioelectrical impedance analysis (BIA), 総体液量 total body water (TBW), 細胞外液量 extracellular water (ECW), ラット rats, マウス mice.

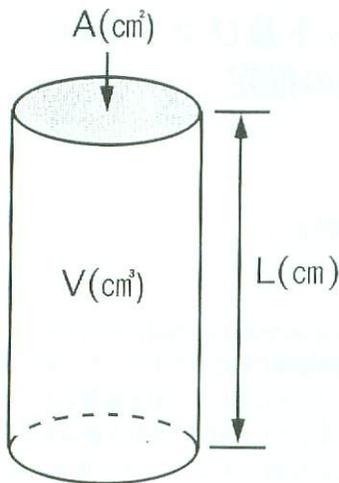


図1 生体インピーダンス法の測定原理

図に示すように測定対象物（本実験ではラットおよびマウス）を円柱形の伝導体と仮定する。高さ L (cm)は測定対象物では電極間距離を示す。この伝導体に一定の周波数を持った微小電流を負荷すると、インピーダンス Z (Ω)は高さ L (cm)に比例し、断面積 A (cm^2)に反比例する。

と、この伝導体のインピーダンス (Z , Ω)はその断面積 (A , cm^2)、長さ (L , cm) および負荷する微小交流電流の周波数により決定される。つまり一定の周波数の微小交流電流を伝導体に負荷するとインピーダンスは伝導体の容積 ($V = AL$, cm^3)に反比例する。すなわち V , L , Z の間には以下の式が成立する。

$$V = \rho L^2 / Z$$

ただし、係数 ρ は単位距離あたりの電気抵抗 (Ω / cm)で、伝導体の性状に依存する。

BIAの周波数依存性については、細胞膜は電気的にコンデンサーの役割をすることが知られており、Jeninらは1 KHz以下の低い周波数の電流は膜の電気抵抗のため主に細胞外液分画を通過し、一方100 KHzから1000 KHzの高い周波数の電流は細胞外液分画と同時に細胞内液分画も通過すると報告した⁵⁾。すなわち低い周波数でのインピーダンスは細胞外液分画の電気特性を反映し、高い周波数でのインピーダンスは細胞内液と細胞外液の

電気特性を反映すると考えられる。現在ヒト用に使われているインピーダンス測定器の測定周波数は50 KHzのみを用いているものがほとんどであるが、最適の測定周波数についての検討が必要である⁶⁾。

BIAの実験動物への応用に関する報告は少ない^{7,8,9)}。動物実験においても加齢や経時的な体組成を検討するには、非破壊的かつ非侵襲的な測定法であるBIAの応用は不可欠と考える。

そこで本論文では同法を実験動物として多用されているラットおよびマウスに適用し、最適測定周波数および総体液量と細胞外液量の推定値を求め、その妥当性を乾燥法による測定値と比較し検討する。さらにラットで同一個体における体液量経時的測定と脱水負荷による体液量の変動を同法を用いて検討した。

実験動物および方法

実験動物としてラット (Wistar系, 雄, 9~10週齢) とマウス (ddy系, 雄, 6~7週齢) を用いた。実験動物は表1に示すように総体液量推定式を作成するための推定式作成群、その推定式による推定値の妥当性を検討する妥当性検討群の2群に分けた。全実験動物は自由摂食とした。ただし測定2時間前より絶食させた。飲水に関しては自由飲水とし、飼育環境はlight-dark cycle 12:12であった。

2時間の絶食後、実験動物をペントバルビタール (30mg/kg, 腹腔内投与) で麻酔し、台に腹臥位で固定した。この台は実験動物の体表からの電気伝導を防ぐため紙で覆った木製の自家製のものを使用した。動物の状態をモニターするため心電計と直腸用の熱電対温度計を装着した。

自家製のインピーダンス測定電極はラット用とマウス用の2種類を用意した。図2の挿入図に示すようにラット用の電極は留置針 (八光電機社製, エラスターF, 20ゲージ) を針先より5.6cmで針体を切断し、針先0.6cmを直角に曲げてL字型に形成した。マウス用の電極は注射針 (テルモ社製, ネオラス注射針, 27ゲージ) を針先より1.8cmで

表1

ラットはWistar系の雄, マウスはddy系の雄を用いた. 例数は推定式を作成するための推定式作成群がそれぞれ21匹, 推定式から求めた総体液量推定値と乾燥法による総体液量測定値を比較するための妥当性検討群がそれぞれ7匹であった. 週齢はラットでは重量が250~300gに達する時期, つまり9~10週齢, マウスでは30~35gに達する時期, つまり6~7週齢とした.

	ラット		マウス	
	推定式作成群	妥当性検討群	推定式作成群	妥当性検討群
系統	Wistar系		ddy系	
週齢	9~10週齢	9週齢	6~7週齢	6週齢
例数	21 (♂)	7 (♂)	21 (♂)	7 (♂)

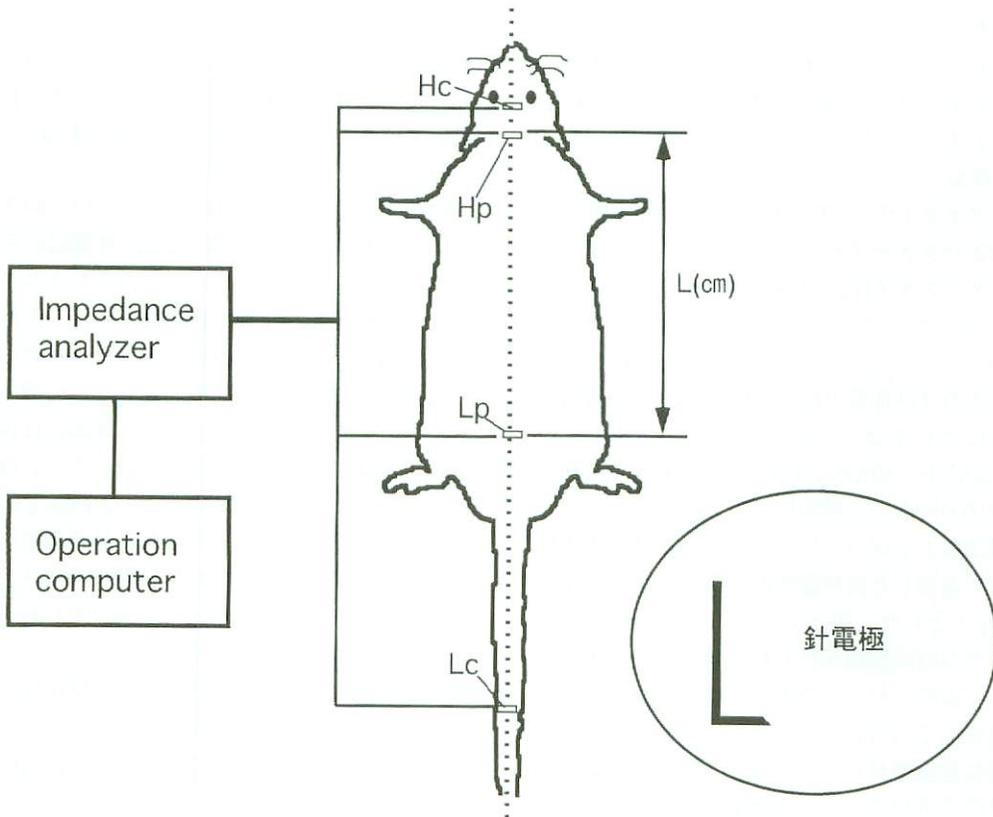


図2 電極配置

図中の点線は正中線を示す. 電極は挿入図に示すように市販の留置針または注射針をL字形に形成し, 先端0.6cmを皮下に沿わせるように刺入し装着した. Hc, Lcは微小交流電流負荷用電極, Hp, Lpはインピーダンス測定用電極である. 図に示すように測定電極間(HpとLpポイント間)をL(cm)として推定式に使用した.

切断し、針先0.6cmを直角に曲げてL字型に形成した。電極の装着は、L字型に曲げた針先0.6cmの部分を図2に示した正中線に対し90°右方向に皮下に沿わせるように刺入した。電極装着部位は図2に示すように、両眼窩後縁を結んだ正中線との交点をHcポイント、両耳翼根を結んだ線と正中線との交点をHpポイント、両腸骨窩の中央の点を結んだ線と正中線との交点をLpポイント、尾根部より遠位方向にラットでは4cm、マウスでは2cmの部位をLcポイントとし、全部で4ヶ所とした。HcとLcは微小交流電流負荷用電極、HpとLpはインピーダンス測定用電極である。電極装着後HpポイントとLpポイント間の距離L (cm)を求めた。

インピーダンス測定はインピーダンスアナライザー (YHP社製, 4192A) を用い、4端子対法にて測定した。またマイクロコンピューター (NEC社製, PC-H98 model 80) によりインピーダンスアナライザーの制御およびデータ収集を行った。測定パラメーターはレジスタンスR (Ω)、リアクタンスX (Ω)、およびインピーダンスZ (Ω)であった。これらのパラメーターの測定にはAVERAGE測定モード (測定間隔0.1秒×10回の平均値の3回加算平均) を使用した。最適測定周波数については0.5KHz, 1KHz, 5KHz, 10KHz, 30KHz, 50KHz, 80KHz, 100KHz, 500KH, および1000KHzの10種類について検討した。

乾燥法による総体液量測定に関しては、まず頸椎脱臼で屠殺した実験動物の重量を測定し乾燥前重量 (g) とした。次にディープフリーザー (-40°C) で24時間凍結保存した実験動物を出来るだけ細かく破碎した。その後、100°Cに設定した通風式乾燥器で24時間乾燥させた⁸⁾。乾燥終了時の重量を乾燥後重量 (g) とした。そして乾燥前重量と乾燥後重量の差を総体液量測定値 (Vd, g) とした。

次に各周波数における L^2/Z を計算した。これらの数値を説明変数、Vdを目的変数として、各周波数別に単回帰分析を行った。その中で最も決定係数 (R^2) の高い回帰関数を総体液量推定式と

して、またその時の測定周波数を最適測定周波数とした。得られた総体液量推定式の妥当性を妥当性検討群で検討した。

妥当性検討群も推定式作成群と同様の手法でインピーダンス測定および乾燥法によるVdを求めた。妥当性検討群においては、測定されたインピーダンスとLを総体液量推定に代入して総体液量を計算し、この値を総体液量推定値 (V_e, g) とした。またこの時、最適測定周波数以外の周波数でも、各周波数での回帰関数を使い総体液量を算出した。

細胞外液については、Cornishら⁷⁾の報告している細胞外液量推定式

$$\text{細胞外液量 (g)} = 108.3 \times L^2 / R_0 + 13.8$$

を用いて求めた。ただしCornishら⁷⁾は R_0 に計算して求めた直流状態でのレジスタンス (Ω) を用いているが、本実験では測定周波数が0.5KHzの時のインピーダンス測定値を用いる。

経時的測定はラット、雄5匹について図3に示すように実験期間を5週間とし、9週齢から13週齢の期間について検討した。このうち3匹をコントロール群、2匹を脱水負荷群とした。脱水負荷群は4週目から5週目の期間すなわち12週齢から13週齢の期間を脱水負荷期間とし、この期間中に水の供給を断った。インピーダンス測定は各週で推定式作成群と同様の手法で行い、ラット総体液量推定式により V_e を計算した。なお測定周波数は、推定式作成群により得られた最適測定周波数を用いた。乾燥法による総体液量測定値Vdは、推定式作成群と同様の手法で5週目すなわち13週齢目のインピーダンス測定後に行った。

統計解析に関しては、乾燥法での重量変動およびインピーダンス測定結果をTukey法 (View Flex社製, STAT FLEX) にて検定し、推定式作成には単回帰分析 (Abacus Concepts社製, Stat View) を用いた。

結 果

ラットおよびマウスの推定式作成群における乾燥法での総体液量測定値Vdは表2-Aに示すよ



図3 経時的測定の時系列

経時的測定は5週間、ラットの週齢では9週齢から13週齢にあたる期間で行った。各週でBIAによる総体液量推定値 V_e を求め、最終の5週目(13週齢)でインピーダンス測定後、乾燥法による総体液量測定値 V_d を求めた。脱水負荷群では4週目から5週目、ラットの週齢では12週齢から13週齢の間で脱水負荷を行った。

表2 ラットとマウスの乾燥法測定結果(A)およびラットにおける細胞外液量推定値(B)

A : 総体液量測定値 V_d は乾燥前重量と乾燥後重量との差である。また%は乾燥前重量に占める総体液量測定値の割合を示す。

B : 細胞外液量推定値は Cornish ら⁷⁾ によって報告された推定式

$$\text{細胞外液量 (g)} = 108.3 \times L^2 / R_o + 13.8$$

(R_o = 計算された直流状態でのレジタンス)

を用い、本実験で測定した0.5KHzでのインピーダンス測定値を R_o に代入して計算した。

A

		ラット n=21	マウス n=21
乾燥前重量	(g)	284.7 ± 43.3	34.2 ± 1.3
乾燥後重量	(g)	97.2 ± 17.3	11.8 ± 0.6
総体液量測定値(V_d)	(g)	187.6 ± 26.9	22.4 ± 1.2
	(%)	65.9 ± 1.6	65.5 ± 1.7

mean ± S.D.

B

細胞外液量推定値 {	(g)	85.8 ± 25.4
	(%)	47.5 ± 4.4
細胞内液量/細胞外液量比		1.122 ± 0.198

mean ± S.D.

うに、ラットで 187.6 ± 26.9 g、マウスで 22.4 ± 1.2 gで、体重に占める割合(%)はラットで $65.9 \pm 1.6\%$ 、マウスで $65.5 \pm 1.7\%$ であった。

インピーダンスの測定結果は表3に示すように、ラットおよびマウスの双方で、周波数が1KHzより高くなるに従ってインピーダンスは低くなり、ラットとマウス双方で1KHzと80KHz、100KHz、500KHzおよび1000KHzの測定値の間に有意差を認められた($P < 0.05$)。同一周波数でのインピーダンス測定値はラットよりもマウスの方が大きい値を示した($P < 0.05$)。妥当性検討群でもこれらと同様の傾向を示した。これらインピーダンスおよび電極間距離Lで求めた L^2/Z とVdとの回帰分析結果では、いずれの測定周波数における回帰直線も、直線のあてはまりの指標である決定係数(R^2)は、表4に示すように高い値を示した。ことにラットでは1000KHz、マウスでは100KHzでの R^2 が最も高く、ラットでは $R^2 = 0.793$ 、マウスでは $R^2 = 0.787$ であった。これらの結果より、図4に示すように、ラットの総体液量推定式を

表3 ラットとマウスのインピーダンス測定結果

同一測定周波数におけるラットとマウスの測定値の間に有意差($P < 0.05$)を認め、マウスの方が高いインピーダンスを示した。またラット、マウス双方で1KHzと80KHz、100KHz、500KHz、および1000KHzの間に有意差(*: $P < 0.05$)を認め、周波数が高くなるにつれてインピーダンスは減少した。

	ラット n=21	マウス n=21
0.5KHz	247.7±24.5	358.9±38.5
1KHz	249.6±26.3	384.7±44.8
5KHz	243.7±25.7	384.6±43.4
10KHz	236.3±25.7	373.2±43.1
30KHz	220.3±23.7	343.0±39.9
50KHz	210.3±22.6	325.0±37.7
80KHz	200.6±21.5*	306.0±35.4*
100KHz	195.3±21.1*	296.5±34.2*
500KHz	152.6±16.9*	219.8±24.5*
1000KHz	129.3±15.1*	179.1±20.0*

mean±S.D.

表4 回帰分析結果およびVdとVeの比較

本実験で用いた各周波数での L^2/Z と乾燥法による総体液量測定値Vdの回帰分析結果の決定係数(R^2)を示す。Vd/Veは、妥当性検討群における乾燥法による総体液量測定値VdをBIAによって推定された総体液量推定値Veで除した値の平均値と標準偏差を示す。

	ラット		マウス	
	決定係数 R^2	Vd/Ve	決定係数 R^2	Vd/Ve
	n=21	n=7	n=21	n=7
0.5KHz	0.773	1.012±0.050	0.659	0.983±0.024
1KHz	0.755	1.013±0.048	0.615	0.988±0.029
5KHz	0.749	1.009±0.044	0.669	0.985±0.023
10KHz	0.748	1.013±0.042	0.716	0.985±0.023
30KHz	0.764	1.012±0.040	0.752	0.986±0.021
50KHz	0.769	1.010±0.039	0.760	0.987±0.020
80KHz	0.773	1.010±0.037	0.772	0.989±0.020
100KHz	0.774	1.008±0.036	0.787	0.989±0.018
500KHz	0.779	0.995±0.030	0.740	0.985±0.023
1000KHz	0.793	0.995±0.024	0.712	0.985±0.026

mean±S.D.

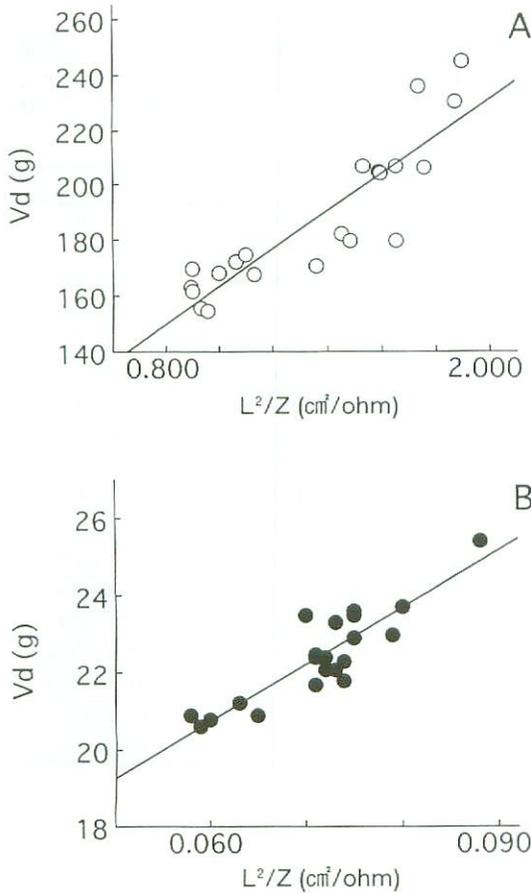


図4 ラットとマウスの L^2/Z と乾燥法による総体液量推定値 V_d との回帰分析結果

A, ラット：測定周波数=1000KHz. $n=21$ で得られた推定式

$$\text{総体液量 (g)} = 67.5 \times L^2 / Z + 96.1 \quad (R^2 = 0.793)$$

B, マウス：測定周波数=100KHz. $n=21$ で得られた推定式

$$\text{総体液量 (g)} = 147.3 \times L^2 / Z + 11.9 \quad (R^2 = 0.787)$$

$$\text{総体液量 (Ve, g)} = 67.5 \times L^2 / Z + 96.1$$

最適周波数を1000KHzとした。一方マウスでは総体液量推定式を

$$\text{総体液量 (Ve, g)} = 147.3 \times L^2 / Z + 11.9$$

最適周波数を100KHzとした。

細胞外液量については、Cornishらの報告した

推定式⁷⁾に、本研究での測定周波数0.5KHzのインピーダンス測定値と電極間距離Lを代入して計算した。その結果、表2-Bに示すように細胞外液量の推定値は 85.8 ± 25.4 gとなり、これを V_e に占める割合(%)で表すと $47.5 \pm 4.4\%$ で、細胞内液量 (V_e -細胞外液量推定値)と細胞外液量との比(細胞内液量/細胞外液量)は 1.122 ± 0.198 となった。

妥当性検討群での乾燥法による総体液量測定値 V_d と BIA による総体液量推定値 V_e を比較すると、表4に示すように V_d と V_e の比は、ラットでは1000KHzで、マウスでは100KHzで最も V_d に近い値を推定することが出来た(ラット： 0.995 ± 0.024 ，マウス： 0.989 ± 0.018)。

ラットの経時的測定の結果を表5に示した。各週でのインピーダンス測定値は、コントロールでは週齢が進むにつれて一方向的に低下した。一方脱水負荷群では、脱水期間中にインピーダンスの上昇傾向が見られた。体重はコントロール群では各週で増加し、5週間で体重は $53.1 \pm 4.8\%$ 増加した。一方脱水負荷群では、9週齢から12週齢までは体重は増加したが、脱水負荷を行った12週齢から13週齢の間で減少し、脱水期間中の体重増加率は $-4.8 \pm 0.4\%$ となり、5週間で体重は $40.2 \pm 8.5\%$ 増加した。 V_e も体重と同様の傾向を示し、コントロール群では、週齢が進むにつれて V_e は増加し、5週間で V_e は $57.1 \pm 4.2\%$ 増加した。各週での体重に占める V_e の割合は表5の $V_e(\%)$ に示し、それらの平均は $64.6 \pm 0.6\%$ であった。一方脱水負荷群では、脱水負荷期間中の12週齢から13週齢での V_e 増加率は $-7.7 \pm 0.3\%$ となり、5週間で V_e は $34.3 \pm 8.0\%$ 増加した。各週での体重に占める V_e の割合は表5の $V_e(\%)$ に示し、それらの平均は $64.7 \pm 0.1\%$ であった。13週齢目に求めた乾燥法による V_d と、同じく13週齢目に求めたBIAによる V_e を比較すると、コントロール群は V_d は 280.8 ± 9.6 g, V_e が 280.9 ± 9.0 gとなり、両者の値がほぼ一致した。一方脱水負荷群では、 V_d が 246.3 ± 29.9 g, V_e が 229.5 ± 15.4 gとなり、両者に差が認められた。

表5 経時的測定結果

各項目で上段の数値はコントロール群 (n = 3) の平均値および標準偏差, 下段は脱水負荷群 (n = 3) の平均値および標準偏差を示す。Ve (%) は体重に占める BIA で測定した総体液量推定値の割合, Vd (%) は体重に占める乾燥法で求めた総体液量推定値の割合を示す。また体重増加率 (%) と Ve 増加率 (%) は前の週の測定値からの体重増加および Ve の増加を%で表したものである。

週齢	9	10	11	12	13
インピーダンス測定値 Z (ohm)	117.0±6.0	90.2±8.5	76.6±5.4	69.8±7.6	66.5±8.5
	110.3±0.5	98.7±3.2	74.3±5.6	68.6±9.4	79.6±9.2
電極間距離 L (cm)	12.0±0.4	12.1±0.7	12.4±0.5	12.9±0.6	13.5±0.9
	11.1±0.1	11.5±0.3	11.8±0.1	12.4±0.1	12.5±0.1
体重 (g)	278.4±2.5	323.0± 6.9	360.1± 7.4	397.7±10.7	426.3±13.6
	259.3±1.0	286.8±11.9	345.5±17.1	381.6±25.9	363.6±23.4
体重増加率 (%)	—	16.0±1.5	11.5± 1.3	10.5±5.1	7.2±1.2
	—	10.7±5.0	20.7±11.0	10.4±2.0	-4.8±0.4
Ve (g)	178.8±4.2	205.2±3.0	231.8± 2.5	257.5± 4.0	280.9± 9.0
	170.9±1.3	186.8±7.4	222.1±11.0	248.8±17.5	229.5±15.4
Ve (%)	64.2±1.9	63.6±1.0	64.4±0.7	64.8±1.0	65.9±0.3
	65.9±0.2	65.1±0.1	64.3±0.1	65.2±0.2	63.1±0.2
Ve 増加率 (%)	—	14.8±3.4	13.0± 2.2	11.1±2.9	9.1±2.9
	—	9.3±5.1	19.1±10.6	12.0±2.3	-7.7±0.3
Vd (g)	—	—	—	—	280.8± 9.6
	—	—	—	—	246.3±29.9
Vd (%)	—	—	—	—	65.9±0.6
	—	—	—	—	67.6±3.9

mean±S.D.

考 察

〈実験動物について〉

BIA の動物実験への応用の汎用性を検討するため、本実験では動物実験に多用されているものとし、ラットは雄の Wistar 系、マウスは雄の ddy 系とした。週齢に関しても多用されている体重の範囲を考慮し、ラットでは体重が250~300 gに達する9~10週齢、マウスでは30~35 gに達する6~7週齢を選択した。

〈BIA 電極と装着部位について〉

Hall⁹⁾らは測定周波数50KHzによるBIAをラットに適用する際、3種類の電極(針電極、表面電極、銀製の球形電極)を8つの電極装着部位(両眼窩後縁を結んだ線と正中線との交点、両耳翼根を結んだ線と正中線との交点、環椎後頭関節部位、両腸骨窩中央を結んだ線と正中線との交点、尾根

部、尾根部より遠位方向に2 cmの部位、尾根部より遠位方向に4 cmの部位、尾根部より遠位方向に8 cmの部位)で、乾燥法で求めた総体液量と最も相関が高い電極および電極装着部位および電極配置を21通り検討した結果、針電極を用いて、両眼窩後縁を結んだ線と正中線との交点、両耳翼根を結んだ線と正中線との交点、両腸骨窩中央を結んだ線と正中線との交点、尾根部より遠位方向に4 cmの部位を用いて得た L^2/Z が、乾燥法で求めた総体液量と最も相関がよい ($R=0.873$) ことを報告している。本実験では、この報告に基づき、電極、電極装着部位および電極配置を設定した。

〈測定周波数について〉

現在、市販されているヒト用のインピーダンス測定器の測定周波数は50KHzで、この周波数による測定値のみで総体液量、細胞外液量、除脂肪

体重および体脂肪量を計算している³⁾。一方Segalら⁶⁾はヒトにおいて5KHz, 50KHz, 100KHzの3つの測定周波数によるインピーダンス測定を行い、総体液量と細胞外液量を推定し、これらをアイソトープ希釈法によって求めた総体液量および細胞外液量と比較した。その結果、総体液量は測定周波数100KHz, 細胞外液量は5KHzで推定した値がアイソトープ希釈法によって求めた総体液量および細胞外液量と一番相関が良かったことを報告している(総体液量, $R=0.947$, $SEE=2.64$, 細胞外液量, $R=0.930$, $SEE=1.94$)。さらにKanaiら¹⁰⁾もヒトの各組織には固有の最適測定周波数があり、インピーダンスによる体組成成分の測定には、周波数を使い分けることが必要であると報告した。

Cornishら¹¹⁾はラットにおいて、測定周波数1KHzから100KHzの間でレジスタンスとリアクタンスを連続的に測定し、その測定値をCole-Cole plotし、インピーダンス軌跡よりリアクタンスが最大になるときのインピーダンスと、周波数がゼロの時、すなわち負荷電流が直流状態であるときのレジスタンスを計算した。そして前者から推定された総体液量と後者から推定された細胞外液量は、測定周波数を50KHz単一として推定したこれら(総体液量; $R=0.950$, 細胞外液量; $R=0.988$)よりも、乾燥法より求めた総体液量およびイヌリン希釈法より求めた細胞外液量に体する相関が良い(総体液量; $R=0.983$, 細胞外液量; $R=0.993$)ことを報告している。

本実験で得られた最適測定周波数は表3に示すようにラットで1000KHzであった。一方マウスでは100KHzで、両者の最適測定周波数に差異が見られた。このことから、測定対象が異なる場合は、各々に最適測定周波数を求める必要があると考えられる。ラットとマウスにおける最適測定周波数が異なる理由は今後の検討課題である。

〈実験動物の週齢および性差が推定式に及ぼす影響について〉

本実験で用いたラットは9週齢から10週齢(体重 284.7 ± 43.3 g, $n=21$)の雄を使用した、

Cornishら⁷⁾はより広い体重範囲(399.4 ± 158.2 g, $n=17$)の雄雌両方を含んだラットで推定式を求めた。一方ヒトにおいて体組成には年齢差、性差があることが一般的に知られており¹²⁾、ヒトの体組成推定法の一つである皮脂厚法においても、年齢別、性別の推定式が存在する¹³⁾。Cornishら⁷⁾の報告した総体液量推定式と本実験で得られた推定式は以下の通りである。

$$\text{総体液量 (g)} = 280.3 \times L^2 / Z - 22.8 \quad (\text{Cornishら}^7)$$

$$\text{総体液量 (g)} = 67.5 \times L^2 / Z + 96.1 \quad (\text{本実験})$$

この推定式の差異をもたらす因子として、体重範囲の差および性差が考えられる。

〈総体液量推定式について〉

本実験で推定式を求めた動物と同系統、同性、同週齢のラットおよびマウスでの V_b と最適周波数での V_e は表4に示すように良い一致を示した。このことからBIAを用いて、同系統、同週齢および同性の実験動物、すなわちラットは9週齢から10週齢のWistar系の雄、マウスは6週齢から7週齢のddy系の雄で、測定周波数をラットでは1000KHz、マウスでは100KHzとすれば、非侵襲的に総体液量を測定することが可能であることが示された。

〈細胞外液量の推定について〉

本実験ではCornishら⁷⁾の報告した細胞外液量推定式を用い、0.5KHzでのインピーダンス測定値を代入し推定値を得た。Cornishら⁷⁾の報告した体重当たりに占める細胞外液量は雄で 20.4 ± 2.1 %であった。一方本実験で得た推定値を体重に占める割合(%)に直すと 31.5 ± 4.1 %であった。この差をもたらす因子としては、Cornishら⁷⁾は推定式のパラメーターに、計算によって得られた直流状態でのレジスタンスを用いているが、本実験では0.5KHzでのインピーダンスを用いていることや、両実験で用いたラットの体重差等が考えられる。

〈経時的測定および脱水負荷実験について〉

表5に示すようにラットで行った経時的測定実験においてコントロール群では、13週齢目の V_e

と、同じく13週齢目のVdを比で表すと 1.000 ± 0.013 で、VdとVeが良く一致した。一方脱水負荷群では前述した比率は 1.071 ± 0.058 となり、BIAによるVeは乾燥法によるVdより高い値となった。この原因として、一つは脱水負荷を加えたことにより、ラットの体液分画に変化が生じ、BIAによる測定に影響を及ぼしている可能性がある。Noseら¹⁴⁾はラットに熱脱水負荷を加え、脱水状態を起こさせた時の各組織からの水分減少量をRIを用いて検討した。それによると熱脱水により体重が10%減少した場合、ラットの総体液量は17%失われ、その内の14%が皮膚から失われると報告した。本実験では皮下に電極を刺入しているために、皮膚からの水分損失が測定値に何らかの影響を与えている可能性がある。一方週齢の差による影響については、本実験の妥当性検討群(9週齢)および経時的測定でのコントロール群(13週齢)において、VeとVdが良く一致していることから否定されると考える。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の御指導を頂きました明治鍼灸大学第一生理学教室西川弘恭教授、同大学第二東洋医学臨床教室池内隆治助教授に感謝いたします。

参考文献

- 1) Lukaski HC: Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *Am J Clin Nutr*, **46**: 537~556, 1987.
- 2) Hoffer EC, Meador CK, Simpson DC: Correlation of whole-body impedance with total body water volume. *J Appl Physiol*, **27**(4): 531~534, 1969.
- 3) Houtkooper LB, Going SB, Lohman GL, et al: Bioelectrical impedance estimation of fat-free body mass in children and youth: a cross-validation study. *J Appl Physiol*, **72**(1): 366~373, 1992.
- 4) Thomasset A: Bioelectrical properties of tissue impedance measurement. *Lyon Med*, **207**: 107~118, 1962.
- 5) Jenin P, Lenoir J, Rouillet C, et al: Determination of body fluid compartments by electrical impedance measurements. *Aviat Space Environ Med*, **46**(2): 152~155, 1975.
- 6) Segal KR, Burastero S, Chun A, et al: Estimation of extracellular and total body water by multiple-frequency bioelectrical impedance measurements. *Am J Clin Nutr*, **54**: 26~29, 1991.
- 7) Cornish BH, Ward LC, Thomas BJ: Measurement of extracellular and total body water of rats using multiple frequency bioelectrical impedance analysis. *Nutr Res*, **12**: 657~666, 1992.
- 8) Hall CB, Lukaski HC, Marchello MJ: Estimation of rat body composition using tetrapolar bioelectrical impedance analysis. *Nutr Rep Int*, **39**(3): 627~633, 1989.
- 9) Ilagan J, Bhutani V, Archer P, et al: Estimation of body composition changes during weight cycling by bioelectrical impedance analysis in rats. *J Appl Physiol*, **74**(5): 2092~2098, 1993.
- 10) Kanai H, Haeno M, Sakamoto K: Electrical measurement of fluid distribution in legs and arms. *Medical Progress through Technology*, **12**: 159~170, 1987.
- 11) Cornish BH, Thomas BJ, Ward LC: Improved prediction of extracellular and total body water using impedance loci generated by multiple frequency bioelectrical impedance analysis. *Phys Med Biol*, **38**: 337~346, 1993.
- 12) 小宮秀一: 体組成の科学, 佐藤方彦, 性と体組成, 朝倉書店, 東京, pp69~77, 1988.
- 13) 渡辺完児, 中塘二三生, 田中喜代次ら: 皮脂厚法による中学生の身体組成評価, 体力科学, **42**: 164~172, 1993.
- 14) Nose H, Morimoto T, Ogura K: Distribution of water losses among fluid compartments of tissues under thermal dehydration in the rat. *Jpn J Physiol*, **33**: 1019~1029, 1983.

Estimation of Total Body Water and Extracellular Water in Rats and Mice Using Bioelectrical Impedance Analysis

TAKAHASHI Norihito

Department of Physiology, Meiji College of Oriental Medicine.

Summary: Bioelectrical impedance analysis (BIA) method which is a non-invasive technique of body composition analysis, was applied to rats and mice to obtain their estimated total body water (TBW) and extracellular water (ECW). The values of their TBW were compared with those determined by a desiccation method. The time course of changes in the TBW value the occurred during dehydration was also investigated. These results show that the estimation-function of TBW had excellent validity, and that non-invasive BIA might be able to determine changes in TBW in individual subjects.