エイコサペンタエン酸エチル (EPA-E) のラット およびイヌにおける生体内動態

石黒淳三, 多田俊人, 荻原琢男, 村上仁啓, 国広靖之
持田製薬株式会社富士中央研究所 〒412 御殿場市神場字上ノ原722

Key words: EPA-E, absorption, distribution, excretion, foeto-placental transfer, excretion into milk, protein binding, rat, dog

Studies on the metabolic disposition of ethyl eicosapentaenoate (EPA-E) in rats and dogs

Junzo ISHIGURO, Toshito TADA, Takuo OGIHARA,

Kimihiro MURAKAMI and Yasuyuki KUNIHIRO

Fuji Central Research Laboratory, Mochida Pharmaceutical Co., Ltd.,
Gotemba, Shizuoka 412, Japan

Summary

Plasma level, tissue distribution and excretion of ethyl eicosapentaenoate(EPA-E) were studied after oral administration of ^{14}C -uniformly labelled EPA-E to rats and dogs and the following results were obtained.

1. The maximum concentration of radioactivity in plasma was obtained at 6-9 hr and at 24 hr after dosing in rats and dogs, respectively. The elimination of radioactivity from plasma was biphasic.
2. The radioactivity administered to rats was mainly excreted in expired air.
3. The cumulative biliary excretion of radioactivity was 2.9% of the dose within 24 hr.
4. The concentration of radioactivity in each tissue reached maximum at 9-24hr after dosing except for brain, fat, skin, muscle and aorta in which the concentration reached maximum at 1 week and subsequently decreased gradually. The elimination rate of radioactivity from each tissue was almost as same as that from plasma or a little slower.
5. Foeto-placental transfer of radioactivity in the pregnant rats at 12 and 19 days of gestation was observed but its extent was low.
6. The milk level of radioactivity in the lactating rats reached maximum at 24 hr and was 6-14 times higher than that in the maternal blood after 24 hr.
7. Radioactive substances in plasma were mainly bound to plasma protein in rats and dogs.
8. During daily repeated administration to rats, the concentration of radioactivity in plasma at 24 hr after every dosing reached plateau level within the 12 days but that in each tissue increased with increase in the number of doses.

No remarkable difference in elimination half-lives of radioactivity in each tissue between the single and repeated dosing was observed.

緒言

エイコサペンタエン酸エチル (EPA-E) は血栓形成抑制作用や末梢壊疽抑制作用を有する多価不飽和脂肪酸である¹⁾。EPA-E の消化管からの吸収についてはすでに検討し、小腸から主として吸収されること、その吸収には胆汁が影響すること、また、体循環への移行には主としてリンパ系が関与していることなどを明らかにした²⁾。

そこで、今回さらにラットおよびイヌにおける吸収、分布および排泄について詳細に検討したので報告する。

実験材料および方法

1. EPA-E および ^{14}C -EPA-E

EPA-E は日本水産物より供与されたもので、純度は90.5%であり、不純物として18:4, 20:4 (ω -3) および20:4 (ω -6) を、抗酸化剤として0.2%の Tocopherol を含む。 ^{14}C -EPA-E は Fig. 1 に示したように、 ^{14}C で uniform label したもので、第一化学薬品株より購入した。比放射能は 463.4 mCi/mmole、放射化学的純度は97%以上であった。放射化学的純度の測定は、前報²⁾に準じて薄層クロマトグラフィー (TLC) で行った。

2. 実験動物

Wistar 系雄 (体重170~230 g)、雌 (体重140~220 g)、妊娠12日 (体重180~200 g) および19日 (体重200~240 g) の雌、分娩14日の授乳中雌 (体重180~200 g) および乳仔ラット、および雄ビーグル犬 (体重10~12 kg) を静岡県実験動物農業協同組合より購入し、全身オートラジオグラフィの実験を除き1群3~5匹として使用した。

3. 投与方法

^{14}C -EPA-E に EPA-E を加え所定の比放射能

Fig. 1. Chemical structure of ^{14}C (U)-ethyl eicosapentaenoate

とした後、窒素気流下にて、ボルテックスミキサー (Yamato, TOUCH-MIXER/MT-11) を用いて5%アラビアゴム水溶液に乳濁 (乳濁粒子の直径 ϕ は $1.0\ \mu\text{m} < \phi < 2.5\ \mu\text{m}$) し、ゾンデまたはカテーテルを用いて胃内に投与した。単回投与試験においては、一夜絶食後、ラットに 30~1000 mg/50~100 μCi /3 ml/kg, イヌに 30 mg/10 μCi /3 ml/kg を投与し、投与6時間後より給餌した。反復投与試験においては、絶食せず、毎日1回、所定時刻に 30 mg/20 もしくは 50 μCi /3 ml/day/kg を投与した。

4. 血中濃度の測定

^{14}C -EPA-E を投与後、ラットでは頸静脈より、イヌでは橈側静脈より経時的にヘパリン処理した注射筒を用いて採血し、血液中および遠心分離して得た血漿中の放射能を測定した。

5. 尿、糞および呼気中排泄率の測定

^{14}C -EPA-E を投与したラットを密閉型代謝ケージ内で飼育し、尿および糞を24時間ごとに分別採取した。また、ケージ内にソーダ石灰を通した空気を供給し、排気をモノエタノールアミンに通して呼気中の ^{14}C -CO₂ を捕集した。イヌは代謝ケージ内で飼育し、尿および糞を24時間ごとに分別採取して放射能を測定した。

6. 胆汁中排泄率の測定

エーテル麻酔下、雄ラットの総胆管にポリエチレンチューブ (夏目製作所, SP 45) を挿入し、同時に別のラットより持続的に十二指腸内に胆汁が流入するように施し、麻酔覚醒後、 ^{14}C -EPA-E を投与した。経時的に胆汁を採取し放射能を測定した。

7. 組織内濃度および組織内分布率の測定

^{14}C -EPA-E を投与したラットを所定の時間に頸動脈切断により放血屠殺後、各組織を摘出し、その一部または全部の放射能を測定した。

8. 血漿蛋白結合率の測定

^{14}C -EPA-E を投与したラットおよびイヌの血漿を遠心限外濾過 (Amicon, MPS 1) し、濾液の放射能を測定して蛋白結合率を求めた。

9. 乳汁中濃度の測定

授乳中のラットから乳仔を離し、1時間後に母獣に ^{14}C -EPA-E を投与した。 ^{14}C -EPA-E を投与していない母獣と同居させておいた乳仔を2時

間離乳させた後、 ^{14}C -EPA-E を投与した母獣と同居させ20分間授乳させた。乳仔を屠殺し胃内の乳塊を採取するとともに、母獣の尾静脈よりヘパリン処理したマイクロピペットを用いて採血し、それぞれ放射能を測定した。

10. 全身オートラジオグラフィー

^{14}C -EPA-E を投与したラットをエーテル麻酔下、 -70°C のドライアイス-ヘキサンで凍結死させ、クライオミクロトーム (PMV, 450 MP 型) を用いて $35\ \mu\text{m}$ の全身切片を作製した。乾燥後、室温で30または50日間、X線フィルム (フジ、工業用 Ix 150) と密着させ全身オートラジオグラム (WARG) を得た。

11. 反復投与後の血中濃度の測定

1日1回、所定時刻に ^{14}C -EPA-E を12日間連続して雄ラットに反復投与し、各投与24時間後に頸静脈より採血して、血液および血漿中の放射能を測定した。

12. 反復投与後の組織内濃度の測定

1日1回、所定時刻に ^{14}C -EPA-E を4, 8および12日間連続して雄ラットに反復投与し、最終投与24時間後に屠殺して各組織内の放射能を測定した。また、12日間投与では最終投与1および3週間後についても同様に測定した。

13. 反復投与時の組織内濃度の定常状態到達時間予測

1, 4, 8および12回投与24時間後の各組織内濃度から、2次式を用いて、各組織内濃度が定常状態に到達する日数およびその時の濃度を算出した。なお、投与開始後 n 日における濃度を y_n 、 $n+1$ 日における濃度を y_{n+1} としたとき、 $y_{n+1} - y_n < y_n \times 0.01$ となる n を定常状態到達日と仮定した。

14. 放射能の測定

組織、血液、糞および乳塊については室温で一晩乾燥後、試料燃焼装置 (アロカ, ASC-113) を用いて燃焼し、シンチレーター (NEN, Oxiprep II, Oxisorb) に溶解して液体シンチレーションシステム (アロカ, LSC-703) により測定した。その他の試料については直接シンチレーター (NEN, Aquazol II) を加えて測定した。なお、投与した ^{14}C -EPA-E の比放射能より測定値を EPA-E に換算し、濃度を $\mu\text{g eq./ml}$ (g) として、分布率および排泄率を % of dose としてそれぞれ表示した。

15. ファルマコキネティックパラメータの算出

血中および血漿中濃度は、2-コンパートメントモデルに従うものとし、非線形最小二乗法プログラム³⁾を用いて解析を行った。

結果

1. 血中濃度

^{14}C -EPA-E 30 mg/kg を経口投与した雄および雌ラットの血中濃度を測定した。

Fig. 2. Blood and plasma concentrations of radioactivity in male and female rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose: 30 mg/kg).

Table I. Pharmacokinetic parameters of ^{14}C -EPA-E in plasma of rats and dogs.

Species	Sex	Dose	Pharmacokinetic parameter					
		mg/kg	C_{max} $\mu\text{g/ml}$	T_{max} hr	$T_{1/2\alpha}$ hr	$T_{1/2\beta}$ hr	AUC $\mu\text{g}\cdot\text{hr/ml}$	K_e hr^{-1}
rat	male	30	12.9	9	11.7	33.6	499.4	0.04
		100	43.8	6	4.4	35.5	1478.3	0.09
		1000	204.0	6	4.3	30.5	7628.6	0.07
	female	30	14.8	9	6.9	24.7	504.9	0.05
dog	male	30	15.1	24	16.1	81.6	1210.3	0.02

Fig. 3. Plasma concentration of radioactivity in male rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

び雌ラットの血漿中放射能濃度は、投与後緩やかに上昇して9時間後にそれぞれ最高値12.9および14.8 $\mu\text{g eq.}/\text{ml}$ に達し、以後緩やかに低下した。 α 相および β 相の消失半減期は、それぞれ雄が11.7および33.6時間、雌が6.9および24.7時間であった。血液中濃度も同様に投与後9時間に最高値、雄7.3および雌8.6 $\mu\text{g eq.}/\text{ml}$ を示し、以後二相性で低下した。雄および雌の血漿中濃度—時間曲線下面積 (AUC) は499.4および504.9 $\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$ であった (Fig. 2, Table I).

Fig. 4. Blood and plasma concentrations of radioactivity in male dogs after oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose: 30 mg/kg).

雄ラットに100または1000 mg/kg を投与したとき、血漿中濃度はいずれも6時間後に最高値43.8および204 $\mu\text{g eq.}/\text{ml}$ を示し、以後30 mg/kg 投与時とはほぼ同様の推移を示した。 α 相および β 相の消失半減期はそれぞれ100 mg/kg が4.4および35.5時間、1000 mg/kg が4.3および30.5時間であった。各投与量におけるAUCは1478.3および7628.6 $\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{ml}$ であった (Fig. 3, Table I).

イヌに30 mg/kg を投与したとき、血液および

Table II. Urinary, fecal and respiratory excretion of radioactivity in male and female rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Collection period (day)	Male				Female			
	Urine	Feces	Expired air	Total	Urine	Feces	Expired air	Total
0—1	2.0 $\pm$ 0.1	14.8 $\pm$ 0.9	39.6 $\pm$ 2.7	56.4 $\pm$ 3.3	2.5 $\pm$ 0.2	13.5 $\pm$ 3.1	42.7 $\pm$ 2.0	58.7 $\pm$ 4.9
—2	2.3 $\pm$ 0.1	16.0 $\pm$ 1.0	41.6 $\pm$ 2.8	59.8 $\pm$ 3.5	2.8 $\pm$ 0.2	15.2 $\pm$ 3.3	46.6 $\pm$ 1.7	64.1 $\pm$ 3.9
—3	2.4 $\pm$ 0.1	16.2 $\pm$ 1.0	42.6 $\pm$ 2.8	61.2 $\pm$ 3.5	3.0 $\pm$ 0.2	15.7 $\pm$ 3.4	48.1 $\pm$ 1.7	66.8 $\pm$ 4.3
—4	2.5 $\pm$ 0.1	16.4 $\pm$ 1.0	43.1 $\pm$ 2.8	62.1 $\pm$ 3.5	3.1 $\pm$ 0.2	15.9 $\pm$ 3.5	49.2 $\pm$ 1.9	68.3 $\pm$ 4.5
—5	2.6 $\pm$ 0.1	16.5 $\pm$ 1.0	43.5 $\pm$ 2.8	62.6 $\pm$ 3.5	3.2 $\pm$ 0.2	18.0 $\pm$ 1.8	50.4 $\pm$ 2.3	71.6 $\pm$ 3.8
—6	2.7 $\pm$ 0.1	16.6 $\pm$ 1.0	43.9 $\pm$ 2.9	63.2 $\pm$ 3.5	3.3 $\pm$ 0.2	18.2 $\pm$ 1.8	50.9 $\pm$ 2.2	72.3 $\pm$ 3.8
—7	2.7 $\pm$ 0.1	16.7 $\pm$ 1.0	44.4 $\pm$ 3.0	63.8 $\pm$ 3.5	3.3 $\pm$ 0.2	18.3 $\pm$ 1.8	51.4 $\pm$ 2.1	73.0 $\pm$ 3.7

Results are given as the means (% of administered radioactivity) $\pm$ s.e. of three animals.

Table III. Urinary and fecal excretion of radioactivity in male dogs after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Collection period (day)	Urine	Feces	Total
0—1	0.7 ± 0.1	16.8 ± 3.4	17.5 ± 3.3
—2	0.8 ± 0.1	18.1 ± 3.3	18.9 ± 3.2
—3	0.9 ± 0.2	18.8 ± 3.3	19.8 ± 3.2
—4	0.9 ± 0.2	18.9 ± 3.3	20.0 ± 3.2
—5	1.0 ± 0.2	19.1 ± 3.3	20.0 ± 3.2
—6	1.0 ± 0.2	19.1 ± 3.3	20.1 ± 3.2
—7	1.0 ± 0.2	19.2 ± 3.3	20.2 ± 3.2

Results are given as the means (% of administered radioactivity) $\pm$ s.e. of three animals.

血漿中濃度は24時間後に最高値9.0および15.1 μg eq./mlを示した. 血漿中濃度は以後消失半減期16.1および81.6時間の二相性で低下した. AUCは1210.3 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{ml}$ であった (Fig.4, Table I).

Table IV. Biliary excretion of radioactivity in male rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Collection period (hr)	
0—3	1.4 ± 0.1
—6	1.9 ± 0.2
—9	2.3 ± 0.2
—24	2.9 ± 0.2

Results are given as the means (% of administered radioactivity) $\pm$ s.e. of three animals.

2. 尿, 糞および呼気中排泄率

^{14}C -EPA-E 30 mg/kg を投与した雄ラットの24時間までの尿中に投与放射能の2.0%, 糞中に14.8%および呼気中に39.6%が排泄され, 168時間までにはそれぞれ2.7, 16.7および44.4%が排泄された. 雌ラットでは24時間までにそれぞれ2.5, 13.5および42.7%が, 168時間までにはそれぞれ3.3, 18.3および51.4%が排泄された. 168時間までの尿, 糞および呼気中への総排泄率は雄が

Table VI. Percent distribution of radioactivity in male rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Tissue	Tissue content (% of dose)				
	1 hr	9 hr	24 hr	1 w	3 w
Brain	—	—	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—
Hypophysis	—	—	—	—	—
Thyroid	—	—	—	—	—
Thymus	—	—	—	—	—
Lung	—	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—
Heart	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—
Liver	1.5 ± 0.2	4.7 ± 0.8	7.0 ± 0.6	1.1 ± 0.1	0.2 ± 0.0
Spleen	—	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—	—
Pancreas	—	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—
Adrenal	—	—	0.1 ± 0.0	—	—
Kidney	—	0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—
Urinary bladder	—	—	—	—	—
Prostate	—	—	—	—	—
Testis	—	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—
Stomach	2.2 ± 1.0	1.7 ± 0.5	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	—
Small intestine	4.6 ± 0.7	1.0 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.2 ± 0.0	—
Large intestine	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	—
Muscle	0.5 ± 0.1	2.1 ± 0.2	3.2 ± 0.3	2.5 ± 0.2	1.4 ± 0.1
Fat	0.1 ± 0.0	0.4 ± 0.0	2.9 ± 0.9	5.1 ± 1.0	1.3 ± 0.1
Skin	1.0 ± 0.5	3.5 ± 0.6	6.9 ± 0.6	8.8 ± 0.9	1.4 ± 0.2
Blood	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.1 ± 0.0

Results are given as the means $\pm$ s.e. of three animals. Muscle, skin, fat and blood weight were assumed to be 40, 22, 5 and 6.4 % of body weight, respectively. — : Less than 0.05 %

Table V. Tissue concentration of radioactivity in male rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Tissue	Concentration (μg eq. EPA-E/g or ml)				
	1 hr	9 hr	24 hr	1 w	3 w
Brain	0.3 ± 0.0 (0.1)	2.0 ± 0.2 (0.3)	2.1 ± 0.2 (0.5)	2.8 ± 0.3 (4.7)	2.0 ± 0.1 (21.3)
Hypophysis	2.9 ± 1.2 (0.8)	8.1 ± 1.1 (1.1)	7.8 ± 0.5 (1.7)	4.3 ± 1.1 (7.2)	1.1 ± 0.2 (11.4)
Thyroid	1.6 ± 0.4 (0.4)	8.9 ± 1.6 (1.2)	8.4 ± 0.8 (1.8)	4.3 ± 0.6 (7.2)	0.6 ± 0.0 (6.5)
Thymus	0.5 ± 0.1 (0.1)	6.4 ± 0.7 (0.9)	6.6 ± 0.7 (1.4)	2.4 ± 0.4 (4.0)	0.3 ± 0.0 (3.5)
Lung	1.6 ± 0.2 (0.4)	12.6 ± 1.9 (1.7)	11.1 ± 1.1 (2.4)	4.7 ± 0.6 (7.8)	0.8 ± 0.1 (8.4)
Heart	5.1 ± 0.5 (1.2)	8.0 ± 0.9 (1.1)	8.3 ± 0.5 (1.8)	5.3 ± 0.4 (8.8)	1.7 ± 0.2 (17.5)
Liver	12.8 ± 1.8 (3.1)	40.8 ± 7.9 (5.3)	43.0 ± 3.1 (9.3)	6.6 ± 0.9 (11.0)	1.0 ± 0.1 (10.3)
Spleen	1.8 ± 0.1 (0.4)	12.1 ± 1.7 (1.6)	12.8 ± 1.2 (2.8)	3.2 ± 0.5 (5.3)	0.5 ± 0.0 (5.5)
Pancreas	2.8 ± 0.3 (0.7)	23.3 ± 3.3 (3.1)	21.6 ± 2.7 (4.7)	9.5 ± 0.6 (15.8)	1.4 ± 0.1 (14.8)
Adrenal	3.2 ± 0.3 (0.8)	70.3 ± 10.2 (9.3)	88.1 ± 6.6 (19.1)	23.4 ± 4.4 (39.0)	2.0 ± 0.1 (20.9)
Kidney	1.5 ± 0.1 (0.4)	10.5 ± 1.3 (1.4)	12.1 ± 1.2 (2.6)	4.1 ± 0.4 (6.8)	0.7 ± 0.1 (6.8)
Urinary bladder	0.8 ± 0.3 (0.2)	3.9 ± 0.1 (0.5)	3.4 ± 0.5 (0.7)	2.8 ± 0.3 (4.7)	1.3 ± 0.2 (13.6)
Prostate	0.4 ± 0.1 (0.1)	6.4 ± 0.7 (0.9)	5.1 ± 1.1 (1.1)	2.4 ± 0.2 (4.0)	0.6 ± 0.1 (6.6)
Testis	0.2 ± 0.0 (0.0)	1.9 ± 0.2 (0.3)	1.8 ± 0.2 (0.4)	1.3 ± 0.1 (2.2)	0.5 ± 0.0 (5.6)
Stomach	141.8 ± 63.8 (31.4)	109.5 ± 28.9 (14.1)	15.3 ± 3.5 (3.3)	3.6 ± 0.3 (6.0)	0.7 ± 0.0 (7.2)
Small intestine	126.9 ± 20.9 (28.7)	26.3 ± 3.5 (3.5)	18.5 ± 1.7 (4.0)	4.7 ± 0.9 (7.8)	0.6 ± 0.1 (6.3)
Large intestine	3.7 ± 1.1 (0.9)	9.9 ± 2.3 (1.3)	7.3 ± 0.8 (1.6)	3.9 ± 0.8 (6.5)	0.6 ± 0.0 (6.2)
Muscle	0.3 ± 0.1 (0.1)	1.6 ± 0.2 (0.2)	2.4 ± 0.2 (0.5)	1.9 ± 0.1 (3.2)	1.1 ± 0.1 (11.4)
Fat	0.5 ± 0.1 (0.1)	2.1 ± 0.2 (0.3)	17.6 ± 5.3 (3.8)	30.3 ± 6.2 (50.5)	7.5 ± 0.6 (78.6)
Brown fat	0.6 ± 0.1 (0.1)	15.4 ± 2.5 (2.1)	120.9 ± 26.6 (26.3)	43.3 ± 13.4 (72.2)	4.3 ± 0.5 (44.6)
Skin	1.3 ± 0.7 (0.4)	4.8 ± 0.8 (0.6)	9.4 ± 0.8 (2.0)	12.0 ± 1.2 (20.0)	1.8 ± 0.3 (19.3)
Bone marrow	3.4 ± 2.1 (0.6)	15.7 ± 1.4 (2.1)	24.3 ± 0.8 (5.3)	11.8 ± 2.9 (19.7)	3.5 ± 0.6 (37.6)
Aorta	1.0 ± 0.2 (0.2)	1.9 ± 0.4 (0.2)	3.0 ± 0.8 (0.6)	3.2 ± 0.1 (5.3)	1.2 ± 0.1 (12.6)
Blood	2.3 ± 0.4 (0.5)	4.1 ± 0.6 (0.5)	2.9 ± 0.2 (0.6)	1.0 ± 0.1 (1.7)	0.7 ± 0.1 (7.0)
Plasma	4.5 ± 0.9 (1.0)	7.5 ± 0.7 (1.0)	4.6 ± 0.2 (1.0)	0.6 ± 0.1 (1.0)	0.1 ± 0.0 (1.0)

Results are given as the means $\pm$ s.e. of three animals.

Figures in parentheses denote the ratio of tissue concentration to plasma concentration.

Table VII. Tissue concentration of radioactivity in female rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Tissue	Concentration (μg eq. EPA-E/g or mL)		
	9 hr	24 hr	1 w
Brain	1.9 $\pm$ 0.1 (0.3)	1.5 $\pm$ 0.2 (0.5)	3.0 $\pm$ 0.4 (5.0)
Hypophysis	7.9 $\pm$ 0.5 (1.1)	6.0 $\pm$ 0.2 (1.9)	5.7 $\pm$ 0.8 (9.5)
Thyroid	11.0 $\pm$ 1.9 (1.5)	10.0 $\pm$ 2.5 (2.9)	3.8 $\pm$ 0.4 (6.3)
Thymus	5.7 $\pm$ 0.4 (0.8)	5.4 $\pm$ 0.9 (1.6)	2.3 $\pm$ 0.5 (3.8)
Lung	11.6 $\pm$ 0.7 (1.6)	9.7 $\pm$ 1.8 (2.9)	4.4 $\pm$ 0.9 (7.3)
Heart	6.5 $\pm$ 1.2 (0.9)	6.6 $\pm$ 1.1 (2.0)	6.1 $\pm$ 0.6 (10.2)
Liver	41.3 $\pm$ 4.7 (5.6)	36.2 $\pm$ 8.8 (10.5)	4.9 $\pm$ 0.8 (8.2)
Spleen	11.0 $\pm$ 0.8 (1.5)	9.6 $\pm$ 1.8 (2.8)	3.0 $\pm$ 0.6 (5.0)
Pancreas	18.9 $\pm$ 1.7 (2.6)	18.1 $\pm$ 3.6 (5.3)	9.8 $\pm$ 2.3 (16.3)
Adrenal	83.9 $\pm$ 1.0 (11.6)	84.9 $\pm$ 16.8 (25.1)	24.1 $\pm$ 7.8 (40.2)
Kidney	9.6 $\pm$ 0.6 (1.3)	8.9 $\pm$ 1.5 (2.7)	3.7 $\pm$ 0.7 (6.2)
Urinary bladder	1.8 $\pm$ 0.2 (0.2)	2.2 $\pm$ 0.2 (0.7)	1.9 $\pm$ 0.5 (3.2)
Uterus	4.2 $\pm$ 0.5 (0.6)	4.2 $\pm$ 0.7 (1.3)	2.5 $\pm$ 0.5 (4.2)
Ovary	13.7 $\pm$ 1.0 (1.9)	21.2 $\pm$ 4.6 (6.2)	8.8 $\pm$ 2.2 (14.7)
Stomach	49.2 $\pm$ 14.9 (7.3)	23.6 $\pm$ 13.1 (6.9)	3.5 $\pm$ 0.8 (5.8)
Small intestine	25.9 $\pm$ 2.0 (3.6)	15.4 $\pm$ 2.9 (4.6)	3.0 $\pm$ 0.5 (5.0)
Large intestine	8.8 $\pm$ 0.8 (1.2)	5.4 $\pm$ 0.8 (1.6)	2.7 $\pm$ 0.6 (4.5)
Muscle	1.4 $\pm$ 0.1 (0.2)	1.5 $\pm$ 0.2 (0.4)	1.9 $\pm$ 0.3 (3.2)
Fat	1.6 $\pm$ 0.2 (0.2)	11.7 $\pm$ 2.4 (3.5)	18.0 $\pm$ 0.7 (30.0)
Brown fat	69.2 $\pm$ 11.9 (9.5)	88.4 $\pm$ 15.1 (27.1)	16.3 $\pm$ 2.2 (27.2)
Skin	1.8 $\pm$ 0.1 (0.2)	3.9 $\pm$ 0.8 (1.1)	7.4 $\pm$ 2.4 (12.3)
Bone marrow	18.8 $\pm$ 1.3 (2.6)	21.4 $\pm$ 5.3 (6.3)	17.4 $\pm$ 5.2 (29.0)
Aorta	2.2 $\pm$ 0.4 (0.3)	2.3 $\pm$ 0.6 (0.7)	2.3 $\pm$ 0.4 (3.8)
Blood	4.0 $\pm$ 0.4 (0.5)	2.0 $\pm$ 0.4 (0.6)	1.0 $\pm$ 0.2 (1.7)
Plasma	7.4 $\pm$ 0.8 (1.0)	3.4 $\pm$ 0.6 (1.0)	0.6 $\pm$ 0.1 (1.0)

Results are given as the means $\pm$ s.e. of three or five animals. Figures in parentheses denote the ratio of tissue concentration to plasma concentration.

63.8%, 雌が73.0%であった (Table II).

イヌでは24時間までに尿中に0.7%, 糞中に16.8%が, 168時間までにそれぞれ1.0および19.2%が排泄された (Table III).

3. 胆汁中排泄率

EPA-E の消化管吸収には胆汁が影響することが明らかとなっている²⁾ので, 別のラットより持続的に十二指腸内に胆汁が流入するよう処置したラットを用いて検討した. ^{14}C -EPA-E 30 mg/kg を投与した雄ラットの胆汁中には, 24時間までに投与放射能の2.9%が排泄された (Table IV).

4. 組織内濃度および組織内分布率

^{14}C -EPA-E 30 mg/kg を投与した雄ラットの組織内濃度および組織内分布率を Table V および Table VI に, WARG を Fig. 5a および Fig.

5b に示す. また, 雌ラットについては, 同様に, Table VII, Table VIII, Fig. 6a および Fig. 6b に示す.

雄ラットは, 投与1週間後に最高値を示した脳, 白色脂肪, 皮膚および動脈を除き, 各組織内濃度は9~24時間後に最高値を示し, 以後緩やかに低下した. 各組織からの放射能の消失速度は血漿のそれとほぼ同様かやや遅かった.

投与1時間後では, 消化管を除き, 肝の濃度が最も高く, 血漿中濃度の3.1倍の濃度を示した. 次いで心が1.2倍であった. 他の組織はいずれも血漿中濃度より低値であった. WARG では胃内容物が最も高濃度で, 次いで小腸が高かった. 放射能の組織内分布率は, 消化管を除き, 肝1.5%および皮膚1.0%で, 他の組織はいずれも0.5%以

Table VIII. Percent distribution of radioactivity in female rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Tissue	Tissue content (% of dose)		
	9 hr	24 hr	1 w
Brain	—	0.1±0.0	0.1±0.0
Hypophysis	—	—	—
Thyroid	—	—	—
Thymus	—	—	—
Lung	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
Heart	—	0.1±0.0	0.1±0.0
Liver	3.4±0.4	5.4±1.3	0.7±0.1
Spleen	0.1±0.0	0.1±0.0	—
Pancreas	0.2±0.0	0.3±0.0	0.1±0.0
Adrenal	0.1±0.0	0.1±0.0	—
Kidney	0.2±0.0	0.3±0.0	0.1±0.0
Urinary bladder	—	—	—
Uterus	—	—	—
Ovary	—	—	—
Stomach	0.6±0.2	0.4±0.2	0.1±0.0
Small intestine	0.7±0.1	0.7±0.1	0.1±0.0
Large intestine	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0
Muscle	1.9±0.1	1.9±0.3	2.6±0.4
Fat	0.3±0.0	2.0±0.4	3.0±0.1
Skin	1.3±0.1	2.8±0.6	5.4±1.7
Blood	0.9±0.1	0.4±0.1	0.2±0.0

Results are given as the means±s.e. of three or five animals.

Muscle, skin, fat and blood weight were assumed to be 40, 22, 5 and 6.4% of body weight, respectively.

—: Less than 0.05%

下であった。

9時間後では、消化管を除き副腎が最も高く血漿中濃度の9.3倍であった。次いで肝、脾、骨髄および褐色脂肪が血漿中濃度の2倍以上の濃度を示した。脳、胸腺、膀胱、前立腺、睾丸、筋肉、白色脂肪、皮膚、動脈および血液は血漿中濃度より低値であった。WARGでは胃および大腸内容物が高濃度で、次いで肝、小腸、脾、副腎、褐色脂肪、ハーダー腺、脾および腎が高く、肺、心、骨髄および脳は低濃度であった。組織内分布率は、消化管を除き、肝4.7%、皮膚3.5%および筋肉2.1%で、他の組織は0.4%以下であった。

24時間後では褐色脂肪が最も高く、血漿中濃度の26.3倍であり、次いで副腎の19.1倍、肝の9.3

倍および骨髄の5.3倍であった。脳、膀胱、睾丸、筋肉および動脈の濃度は血漿中濃度より低値であった。WARGでも肝、胃、褐色脂肪が高濃度で、次いで副腎、小腸、骨髄、脾、腎、脾、白色脂肪およびハーダー腺が高かったが、肺、心および脳は低かった。組織内分布率は、消化管を除き、肝7.0%、皮膚6.9%、筋肉3.2%および白色脂肪2.9%が高く、他の組織は0.3%以下であった。

1週間後では褐色脂肪が最も高く、血漿中濃度の72.2倍であった。脳、白色脂肪、皮膚および動脈の濃度は24時間後の濃度より上昇し、それぞれ血漿中濃度の4.7、50.5、20.0および5.3倍を示した。また、血液中濃度は血漿中濃度より高値を示した。WARGでも脂肪に放射能が認められた。組織内分布率は皮膚8.8%、白色脂肪5.1%、筋肉2.5%および肝1.1%で、他の組織は0.3%以下であった。

3週間後ではいずれの組織においても1週間後の濃度より低下したが、脳からの放射能の消失は遅かった。

雌ラットにおいては、脳、筋肉、白色脂肪および皮膚は1週間後に、心、副腎、膀胱、卵巣、褐色脂肪および骨髄は24時間後に、また子宮は9～24時間後に、動脈は24時間～1週間後にそれぞれ最高値を示した。他の組織はいずれも9時間後が最高であった。

9時間後では、副腎、褐色脂肪および肝の濃度が高く、それぞれ血漿中濃度の11.6、9.5および5.6倍の濃度を示した。また、下垂体、甲状腺、肺、脾、脾、腎、卵巣および骨髄も血漿中濃度より高値であった。一方、脳、胸腺、心、膀胱、子宮、筋肉、白色脂肪、皮膚、動脈および血液の濃度は血漿中濃度より低値であった。WARGでは、胃および腸内容物が高濃度であり、次いで肝、褐色脂肪、副腎、ハーダー腺、脾、脾、胃および卵巣が高く、肺、心および脳は低濃度であった。組織内分布率は肝3.4、筋肉1.9および皮膚1.3%であった。

24時間後では、褐色脂肪、副腎、肝、骨髄、卵巣および脾が高濃度で、血漿中濃度の2.7～5.3倍であった。下垂体、甲状腺、胸腺、肺、心、脾、腎、子宮、白色脂肪および皮膚は血漿中濃度より高値であった。一方、脳、膀胱、筋肉および動脈

Fig. 5 a. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in male rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose : 30 mg/kg)

1 : Stomach 2 : Heart 3 : Liver 4 : Intestinal contents 5 : Brain 6 : Lung 7 : Spleen
8 : Kidney 9 : Pancreas 10 : Adrenal 11 : Bone marrow 12 : Salivary gland 13 :
Thymus 14 : Intestine

Fig. 5 b. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in male rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose : 30 mg/kg).

1 : Harder's gland 2 : Stomach 3 : Spleen 4 : Kidney 5 : Fat 6 : Lung 7 : Liver
8 : Pancreas 9 : Intestine 10 : Bone marrow 11 : Brown fat 12 : Adrenal 13 : Heart

Fig. 6 a. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in female rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose : 30 mg/kg).

1 : Harder's gland 2 : Brain 3 : Ovary 4 : Spleen 5 : Bone marrow 6 : Kidney 7 : Lung 8 : Pancreas 9 : Intestine 10 : Brown fat 11 : Adrenal 12 : Salivary gland 13 : Heart 14 : Liver 15 : Stomach 16 : Intestinal contents

Fig. 6 b. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in female rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose : 30 mg/kg).

1 : Lung 2 : Ovary 3 : Brown fat 4 : Stomach 5 : Spleen 6 : Kidney 7 : Thymus
8 : Heart 9 : Liver 10 : Pancreas 11 : Intestinal contents 12 : Adrenal

Table IX. Tissue concentration of radioactivity in the pregnant rats at 12 days of gestation after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Tissue	Concentration ($\mu\text{g eq. EPA-E/g or mL}$)		
	1 hr	9 hr	24 hr
Maternal Uterus	$0.6 \pm 0.1(0.2)$	$5.3 \pm 0.7(0.6)$	$8.3 \pm 0.1(2.3)$
Ovary	$1.3 \pm 0.1(0.5)$	$13.8 \pm 1.6(1.7)$	$25.2 \pm 1.8(6.9)$
Blood	$1.5 \pm 0.4(0.6)$	$5.4 \pm 0.6(0.7)$	$2.7 \pm 0.1(0.8)$
Plasma	$2.5 \pm 0.2(1.0)$	$8.2 \pm 1.1(1.0)$	$3.6 \pm 0.2(1.0)$
Placenta	$0.6 \pm 0.1(0.2)$	$7.8 \pm 0.9(1.0)$	$13.1 \pm 0.9(3.6)$
Amniotic fluid	$0.2 \pm 0.0(0.1)$	$0.5 \pm 0.1(0.1)$	$0.4 \pm 0.0(0.1)$
Fetal whole body	$0.3 \pm 0.0(0.1)$	$4.3 \pm 0.5(0.5)$	$6.9 \pm 0.5(1.9)$

Results are given as the means $\pm$ s.e. of three animals.

Figures in parentheses denote the ratio of tissue concentration to plasma concentration.

Table X. Tissue concentration of radioactivity in the pregnant rats at 19 days of gestation after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Tissue	Concentration ($\mu\text{g eq. EPA-E/g or mL}$)			
	1 hr	9 hr	24 hr	48 hr
Maternal Brain	$0.2 \pm 0.0(0.0)$	$2.1 \pm 0.3(0.1)$	$2.0 \pm 0.1(0.4)$	$2.0 \pm 0.1(0.8)$
Lung	$0.6 \pm 0.2(0.1)$	$12.6 \pm 1.3(0.8)$	$12.2 \pm 1.5(2.3)$	$6.7 \pm 0.3(2.6)$
Heart	$1.5 \pm 0.1(0.4)$	$8.7 \pm 1.0(0.5)$	$10.1 \pm 1.5(1.9)$	$7.3 \pm 0.4(2.8)$
Liver	$3.2 \pm 0.3(0.8)$	$79.3 \pm 4.1(4.8)$	$49.1 \pm 7.1(9.0)$	$24.0 \pm 1.4(9.2)$
Kidney	$1.2 \pm 0.0(0.3)$	$15.0 \pm 1.6(0.9)$	$12.6 \pm 0.9(2.4)$	$6.9 \pm 0.5(2.7)$
Uterus	$0.2 \pm 0.0(0.1)$	$6.7 \pm 0.9(0.4)$	$6.6 \pm 0.6(1.2)$	$5.1 \pm 0.3(2.0)$
Ovary	$0.4 \pm 0.0(0.1)$	$22.5 \pm 3.3(1.4)$	$27.2 \pm 4.2(5.0)$	$26.1 \pm 1.6(10.0)$
Blood	$2.5 \pm 0.4(0.6)$	$10.3 \pm 0.3(0.6)$	$4.0 \pm 0.6(0.7)$	$2.1 \pm 0.2(0.8)$
Plasma	$4.4 \pm 0.7(1.0)$	$16.4 \pm 0.8(1.0)$	$5.4 \pm 0.8(1.0)$	$2.6 \pm 0.2(1.0)$
Placenta	$0.6 \pm 0.0(0.1)$	$11.3 \pm 1.3(0.7)$	$9.4 \pm 1.0(1.7)$	$7.0 \pm 0.5(2.7)$
Amniotic fluid	$0.0 \pm 0.0(0.0)$	$0.6 \pm 0.1(0.0)$	$0.4 \pm 0.0(0.1)$	$0.4 \pm 0.1(0.2)$
Fetal Whole body	$0.1 \pm 0.0(0.0)$	$7.6 \pm 1.2(0.5)$	$7.9 \pm 0.6(1.5)$	$5.9 \pm 0.4(2.3)$
Brain	$0.1 \pm 0.0(0.0)$	$3.9 \pm 0.5(0.2)$	$5.2 \pm 0.2(1.0)$	$5.1 \pm 0.1(2.0)$
Lung	$0.2 \pm 0.0(0.0)$	$9.3 \pm 1.3(0.6)$	$9.9 \pm 0.5(1.8)$	$8.8 \pm 0.5(3.4)$
Heart	$0.2 \pm 0.0(0.0)$	$8.1 \pm 0.8(0.5)$	$9.4 \pm 0.3(1.7)$	$7.3 \pm 0.4(2.8)$
Liver	$0.2 \pm 0.0(0.0)$	$20.6 \pm 2.9(1.2)$	$20.6 \pm 0.9(3.9)$	$12.9 \pm 1.1(5.0)$
Kidney	$0.2 \pm 0.0(0.0)$	$9.0 \pm 1.2(0.6)$	$9.6 \pm 0.3(1.8)$	$6.9 \pm 0.3(2.7)$

Results are given as the means $\pm$ s.e. of three or four animals.

Figures in parentheses denote the ratio of tissue concentration to plasma concentration.

は低濃度であった。WARG でも胃, 肝, 褐色脂肪および副腎が最も高濃度で, 次いで卵巣, 小腸, 腎, 脾, 脾および大腸内容物が高かった。組織内分布率は, 肝5.4, 皮膚2.8, 白色脂肪2.0および筋肉1.9%であった。

1週間後では, 脳, 筋肉, 白色脂肪および皮膚の濃度は24時間後より高濃度であったが, 甲状腺, 胸腺, 肺, 肝, 脾, 副腎, 腎, 卵巣および褐色脂

肪の濃度は最高濃度の1/2~1/7に低下し, 他の組織はいずれも最高濃度の1/2以下となった。組織内分布率は皮膚7.8, 筋肉および白色脂肪3.1および肝0.9%であった。

5. 胎仔への移行

^{14}C -EPA-E 30 mg/kg を投与した妊娠12日のラットにおいては, 投与1時間後の胎仔の濃度は母胎血漿中濃度の1/10であり, 胎盤および羊水の

Fig. 7. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in the pregnant rats at 19 days of gestation after oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose: 30 mg/kg).
1: Lung 2: Kidney 3: Ovary 4: Heart 5: Fetus 6: Placenta 7: Stomach 8: Spleen 9: Liver 10: Intestine 11: Intestinal contents

Fig. 8. Milk and blood concentrations of radioactivity in lactating rats after oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose: 30 mg/kg).

濃度はそれぞれ 1/5 および 1/10 であった。9 時間後には胎仔の濃度は母獣血漿中濃度とほぼ同様であった。24 時間後では胎仔および胎盤の濃度は最高値を示し、それぞれ母獣血漿中濃度の 1.9 および 3.6 倍となった。羊水の濃度は 1/10 であった。24 時間後に胎仔 1 匹あたりに残存する放射能は投与放射能の 0.008% であった (Table IX)。

妊娠 19 日のラットにおいては、1 時間後の胎仔の濃度は母獣血漿中濃度の 1/50 であり、胎盤の濃度は 1/10 であった。胎仔の各組織内濃度は母獣血漿中濃度の 1/20 以下であった。9 時間後の胎仔の濃度は母獣血漿中濃度の 1/2 となり、羊水のそれは 1/25 であった。胎仔の組織では肝が最も高値で、母獣血漿中濃度の 1.2 倍を示し、胎盤の濃度

Table XI. Binding of radioactive substances to plasma protein in male rats and dogs after oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Time(hr)	% of binding		
	rat		dog
	30mg/kg	1000 mg/kg	30 mg/kg
1	95.1 $\pm$ 0.4	86.7 $\pm$ 1.6	—
9	96.5 $\pm$ 0.3	93.8 $\pm$ 0.4	96.7 $\pm$ 0.6
24	98.5 $\pm$ 0.1	98.8 $\pm$ 0.4	98.7 $\pm$ 0.1

Results are given as the means $\pm$ s.e. of three animals.

Table XII. Tissue concentration of radioactivity in male rats after daily oral administration of ^{14}C -EPA-E.

Tissue	Concentration ($\mu\text{g eq. EPA-E/g or ml}$)					
	24 hr after the last administration				1 w	3 w
	1 day	4 day	8 day	12 day	12 day	12 day
Brain	1.7 $\pm$ 0.1	7.8 $\pm$ 0.2	22.8 $\pm$ 0.5	36.4 $\pm$ 0.7	40.4 $\pm$ 0.9	34.7 $\pm$ 0.3
Hypophysis	10.7 $\pm$ 0.3	28.3 $\pm$ 7.9	68.4 $\pm$ 2.0	86.7 $\pm$ 3.5	44.8 $\pm$ 2.0	13.4 $\pm$ 0.3
Thyroid	17.0 $\pm$ 0.6	32.1 $\pm$ 0.3	59.3 $\pm$ 2.6	63.7 $\pm$ 1.6	23.6 $\pm$ 0.9	7.3 $\pm$ 0.9
Thymus	5.6 $\pm$ 0.4	17.5 $\pm$ 0.1	37.2 $\pm$ 2.3	48.4 $\pm$ 8.3	18.7 $\pm$ 0.4	3.7 $\pm$ 0.5
Lung	14.1 $\pm$ 0.4	48.3 $\pm$ 2.0	86.0 $\pm$ 5.2	100.5 $\pm$ 7.4	43.9 $\pm$ 1.3	8.2 $\pm$ 1.1
Heart	12.3 $\pm$ 0.2	49.0 $\pm$ 2.1	98.0 $\pm$ 3.3	140.0 $\pm$ 3.3	87.3 $\pm$ 0.8	23.0 $\pm$ 0.7
Liver	31.2 $\pm$ 9.5	100.2 $\pm$ 3.8	112.3 $\pm$ 1.1	157.4 $\pm$ 3.1	38.8 $\pm$ 0.7	8.7 $\pm$ 0.6
Spleen	14.3 $\pm$ 0.5	41.8 $\pm$ 0.3	54.1 $\pm$ 11.1	75.0 $\pm$ 1.5	23.4 $\pm$ 1.0	5.8 $\pm$ 0.2
pancreas	19.7 $\pm$ 0.4	79.9 $\pm$ 1.5	129.8 $\pm$ 4.4	149.9 $\pm$ 1.5	61.8 $\pm$ 0.9	11.2 $\pm$ 2.8
Adrenal	52.1 $\pm$ 4.1	154.5 $\pm$ 6.4	269.8 $\pm$ 17.3	601.0 $\pm$ 104.6	106.0 $\pm$ 7.4	24.6 $\pm$ 2.4
Kidney	11.1 $\pm$ 0.7	38.5 $\pm$ 0.6	59.3 $\pm$ 1.3	75.7 $\pm$ 0.8	30.4 $\pm$ 0.3	7.6 $\pm$ 0.4
Urinary bladder	4.2 $\pm$ 0.1	19.5 $\pm$ 2.3	42.0 $\pm$ 5.4	56.9 $\pm$ 5.4	39.5 $\pm$ 4.4	14.9 $\pm$ 1.1
Prostate	5.7 $\pm$ 0.6	19.2 $\pm$ 0.8	42.4 $\pm$ 2.6	56.8 $\pm$ 3.0	32.3 $\pm$ 2.2	6.6 $\pm$ 0.3
Testis	1.8 $\pm$ 0.1	5.6 $\pm$ 0.4	11.1 $\pm$ 0.4	15.2 $\pm$ 0.4	11.0 $\pm$ 0.2	5.5 $\pm$ 0.1
Stomach	17.1 $\pm$ 1.4	111.7 $\pm$ 29.7	84.5 $\pm$ 10.7	88.3 $\pm$ 5.8	27.4 $\pm$ 2.2	9.1 $\pm$ 0.6
Small intestine	17.2 $\pm$ 0.2	44.9 $\pm$ 1.3	71.3 $\pm$ 2.3	83.2 $\pm$ 0.2	29.9 $\pm$ 1.2	7.7 $\pm$ 0.4
Large intestine	7.2 $\pm$ 0.2	25.1 $\pm$ 0.3	53.4 $\pm$ 2.5	53.6 $\pm$ 4.3	26.1 $\pm$ 0.5	8.2 $\pm$ 0.8
Muscle	3.4 $\pm$ 0.1	13.0 $\pm$ 1.0	27.6 $\pm$ 0.6	43.1 $\pm$ 2.0	38.3 $\pm$ 2.0	20.1 $\pm$ 1.1
Fat	22.7 $\pm$ 3.6	121.4 $\pm$ 26.0	302.2 $\pm$ 11.5	422.6 $\pm$ 33.2	250.1 $\pm$ 40.1	111.0 $\pm$ 9.8
Brown fat	138.2 $\pm$ 14.8	356.1 $\pm$ 50.5	666.5 $\pm$ 56.5	790.0 $\pm$ 122.2	345.0 $\pm$ 41.2	88.9 $\pm$ 6.4
Skin	4.9 $\pm$ 0.7	70.6 $\pm$ 21.3	161.5 $\pm$ 29.2	220.3 $\pm$ 19.8	146.3 $\pm$ 6.2	29.5 $\pm$ 4.4
Bone marrow	16.0 $\pm$ 0.7	80.2 $\pm$ 14.2	134.8 $\pm$ 15.2	160.5 $\pm$ 18.9	176.4 $\pm$ 19.6	20.4 $\pm$ 6.0
Aorta	4.4 $\pm$ 1.4	20.1 $\pm$ 5.8	27.3 $\pm$ 5.1	28.3 $\pm$ 3.0	16.5 $\pm$ 1.5	9.2 $\pm$ 1.1
Blood	2.8 $\pm$ 0.2	8.0 $\pm$ 0.3	13.0 $\pm$ 0.7	16.8 $\pm$ 0.4	10.6 $\pm$ 0.4	6.7 $\pm$ 0.1
Plasma	3.8 $\pm$ 0.3	9.1 $\pm$ 0.6	12.8 $\pm$ 0.7	13.2 $\pm$ 0.6	4.4 $\pm$ 0.1	0.8 $\pm$ 0.0

Results are given as the means $\pm$ s.e. of three animals.

Fig. 9. Blood and plasma concentrations of radioactivity in male rats at 24 hr after daily oral administration of ^{14}C -EPA-E (dose : 30 mg/kg).

Fig. 10. Autoradiograms showing the distribution of radioactivity in male rats after daily oral administration of ^{14}C -EPA-E for 12 days (dose : 30 mg/kg).

1 : Brain 2 : Brown fat 3 : Stomach 4 : Kidney 5 : Heart 6 : Liver 7 : Intestine 8 : Adrenal 9 : Fat

より高値であった。胎仔の脳は母獣脳より高濃度であったが、他の胎仔組織内濃度は対応する母獣組織内濃度より低濃度であった。24時間後の胎仔および胎仔組織の濃度は脳を除き母獣血漿中濃度より高かったが、対応する母獣組織の濃度よりは低かった。胎仔および胎仔組織の濃度はいずれも9時間の濃度より高かった。48時間後では胎仔および胎仔組織はいずれも24時間後の濃度より低下したが、脳および肺は対応する母獣組織の濃度より高かった。胎仔1匹あたりに残存する放射能は投与放射能の0.44%であった(Table X)。WARGでは9時間で母獣の胃、肝および小腸の濃度が高く、肺、心、腎および卵巣は低かった。胎盤および胎仔は母獣肺とほぼ同様であった。24時間後では母獣大腸内容物が最も高く、次いで肝が高かっ

た。胎仔の濃度は低かった (Fig. 7)。

6. 乳汁中濃度

^{14}C -EPA-E 投与6時間後より乳汁中濃度は上昇し、24時間後に最高値を示した。96時間後には24時間後の濃度の1/5にまで低下した。24時間以後の乳汁中濃度は同時に測定した血液中濃度の6~14倍の濃度を示した (Fig. 8)。

7. 血漿蛋白結合

^{14}C -EPA-E 投与1, 9および24時間後の雄ラット血漿について限外濾過法により求めた放射能の蛋白結合率は、30 mg/kg 投与群ではそれぞれ95.1, 96.5および98.5%であり、1000 mg/kg 投与群ではそれぞれ86.7, 93.8および98.8%であった。イスでは投与9および24時間後で、それぞれ96.7および98.7%であった (Table XI)。

8. 反復投与後の血液および血漿中濃度

^{14}C -EPA-E を12日間にわたり反復投与したときの各回投与後24時間の血液中濃度および血漿中濃度は、7回投与以後ほぼ定常状態に達した。このときの濃度はそれぞれ11.8および12.9 $\mu\text{g eq./ml}$ で、1回投与の濃度の3.7および2.9倍であった (Fig. 9)。

9. 反復投与後の組織内濃度

^{14}C -EPA-E を反復投与したときの組織内濃度を Table XII に、WARG を Fig. 10 に示す。

^{14}C -EPA-E を4日間にわたり反復投与したときの最終投与24時間後の組織内濃度は単回投与時に比べ高く、皮膚が14.4倍の濃度を示したほか、白色脂肪が5.3倍で、他の組織は5倍以下であった。8日間反復投与したときの最終投与24時間後の組織内濃度は4日間投与時に比べ、脳、下垂体、胸腺、膀胱、前立腺、筋肉、白色脂肪および皮膚が2.9~2.1倍で、他の組織は2倍以下であった。12日間投与後では8日間投与時に比べると3.5~45倍となり、特に皮膚、脳、白色脂肪の濃度が高かった。12日間投与1週間後では24時間後に比べ脳および骨髄の濃度が上昇したが、他の組織の濃度は低下した。12日間投与3週間後では脳内濃度の低下は緩徐であったが、24時間後に比べ膀胱、睪丸および筋肉は1/2以下、下垂体、甲状腺、心、腎、前立腺、褐色脂肪、皮膚および骨髄は1/5以下、他の組織は1/10以下となった。WARG では

Fig. 11. Approximate time-concentration curve in lung (dose: 30 mg/kg).

○: Observed

●: Estimated point of steady-state

$$Y = -0.527X^2 + 14.784X - 0.435$$

Y: concentration ($\mu\text{g eq. EPA-E/g}$), X: time (day)

Table XIII. The time to reach the steady-state and the tissue concentration at that time estimated by the curve of secondary degree.

Tissue	Time (day)	Concentration ($\mu\text{g eq. EPA-E/g}$)	$C_{ss}/C_{SA}^{1)}$
Brain	36.2	88.9	52.3
Hypophysis	25.9	138.2	12.9
Thyroid	11.1	63.8	3.8
Thymus	23.2	69.8	12.5
Lung	12.6	102.1	7.2
Heart	42.6	355.6	28.9
Liver	11.7	150.7	4.8
Spleen	13.6	75.4	5.3
Pancreas	11.4	148.8	7.6
Adrenal	15.0	366.7	7.0
Kidney	13.4	77.2	7.0
Urinary bladder	30.9	105.8	25.2
Prostate	31.2	106.1	18.6
Testis	28.1	25.5	14.2
Muscle	14.0	28.9	8.5
Fat	89.1	2975.5	131.1
Brown fat	13.7	825.0	6.0
Skin	37.0	497.6	101.6
Bone marrow	12.4	161.9	10.1
Aorta	8.0	26.0	5.9
Blood	14.8	17.9	6.4
Plasma	9.0	13.5	3.6
Mean $\pm$ S.E.	23.0 $\pm$ 3.8	291.9 $\pm$ 134.2	21.8 $\pm$ 7.0

1): Concentration (steady-state)/Concentration (at 24 hr after single administration)

12日間投与後24時間で白色脂肪および褐色脂肪が最も高濃度で、次いで心、胃および肝が高かった。

各組織について、単回投与時および反復投与時の濃度より二次式 (Fig. 11) にあてはめて定常状態に到達する日数を推定した結果、8.0~89.1日、平均23.0日と算出された。また、そのときの濃度は単回投与時の3.6~131.1倍、平均21.8倍と算出された (Table XIII)。また、単回投与および12日間投与について1週間後および3週間後の濃度より求めた各組織からの放射能の消失半減期は脳および動脈を除き、単回投与時が3.9~27.2日、平均7.6日、12日間投与が4.5~21.1日、平均8.4日であり、ほぼ同様であった (Table XIV)。

Table XIV. Elimination half-lives of radioactivity in tissues of male rats after single oral administration and repeated oral administration of ^{14}C -EPA-E for 12 days.

Tissue	$T_{1/2}$ (day)	
	single	repeated
Brain	28.8	63.8
Hypophysis	7.1	8.0
Thyroid	4.9	8.3
Thymus	4.7	6.0
Lung	5.5	5.8
Heart	8.5	7.3
Liver	5.1	6.5
Spleen	5.2	7.0
Pancreas	5.1	5.7
Adrenal	3.9	6.6
Kidney	5.5	7.0
Urinary bladder	12.6	10.0
Prostate	7.0	6.1
Testis	10.2	14.0
Stomach	5.9	8.8
Small intestine	4.7	7.2
Large intestine	5.2	8.4
Muscle	17.8	15.0
Fat	6.9	11.9
Brown fat	4.2	7.2
Skin	5.1	6.1
Bone marrow	8.0	4.5
Aorta	9.9	16.6
Blood	27.2	21.1
Plasma	5.4	5.7

Each data was obtained from the tissue concentration on 1 week and 3 weeks after final administration.

考 察

EPA-E は魚油中に含まれる多価不飽和脂肪酸のエチルエステルであり、その薬理作用については Yamaguchi ら⁴⁾、溝田ら¹⁾によって検討され、脂質低下作用、抗血栓作用、末梢壊疽抑制作用が認められている。また、臨床的にも末梢動脈閉塞症に有効との報告がなされている⁵⁾。一方、EPA-E の体内動態を検討することは、本薬剤の薬理作用を考える上でも興味深い。すでに消化管からの吸収については詳細な検討を行い報告した²⁾が、今回は吸収後の動態について検討した。

ラットにおける ^{14}C -EPA-E 経口投与後の血液および血漿中濃度は9時間後に最高値に達したのに対し、脂肪や皮膚を含む約半数の組織では24時間後に最高値を示した。一般に長鎖脂肪酸は吸収されたのち、小腸上皮細胞においてトリグリセライドに組み込まれ、次いでアポ蛋白と結合し、カイロミクロンもしくは VLDL としてリンパに分泌され、さらに血中に移行したのち、組織へ移行すると言われている⁶⁾。すでに報告したように (J. Pharm. Dyn., 投稿中), ^{14}C -EPA-E 投与後の血漿中放射能は投与後の初期においては主としてカイロミクロンおよび VLDL にトリグリセライドとして存在し、経時的に VHDL などの高比重リポ蛋白へ移行した。組織の濃度が最高値に達するのが血液や血漿に比べ遅れるのは、吸収された EPA-E がこのような経路を辿ることに由来しているのかもしれない。また、脳、脂肪および皮膚においては投与1週間後に最高濃度に達したが、これは、これらの組織における放射能の消失速度が、血液や他の組織からのこれら組織への放射能の移行速度よりも遅いためと考えられる。

血漿中からの放射能の消失は比較的遅く、 β 相の半減期は24.7~81.6時間であった。これは血漿中放射能のおよそ90%以上が蛋白と結合していたことに由来するものと考えられ、この蛋白の種類については以下のように推察される。すなわち、一般に遊離脂肪酸はアルブミンと結合すると言われているが⁷⁾、 ^{14}C -EPA-E 投与後の血漿中放射能はその70%以上がカイロミクロンおよび VLDL 画分に認められ、これらの放射能はまた大部分トリグリセライド、リン脂質およびコレステロールエステル画分に認められたことから (J. Pharm. Dyn., 投稿中), ^{14}C -EPA-E 投与時の放射能は血漿中においては主としてリポ蛋白の構成脂肪酸として存在しているものと考えられる。

血中から組織への放射能の移行および組織からの消失は組織によってかなり異なっていた。特に脳では消失が遅く、反復投与時に濃度の上昇が著しく、投与終了後も濃度上昇が認められた。これは、食物中の長鎖多価不飽和脂肪酸は容易に脳へ取り込まれ、リン脂質の構成成分となること⁸⁾、EPA から生成される多価不飽和脂肪酸 DHA (J. Pharm. Dyn., 投稿中) が脳のリン脂質に高濃度

に取り込まれること⁹⁾, リン脂質に取り込まれた長鎖不飽和脂肪酸の脳における半減期は8~40日と¹⁰⁾長いこと, また, ¹⁴C-EPA-E 投与時に脳中においては主として代謝物 DHA がリン脂質中に存在すること (J. Pharm. Dyn., 投稿中) などによるものと推察される。

反復投与したとき, 組織中の濃度は投与回数の増加とともに上昇し, 12回投与後の組織内濃度は単回投与時の3.5~40倍に達した。しかしながら, 単回投与と4回投与の濃度比は1.9~14.4倍であったのに対し, 8回投与と12回投与の濃度比は1.0~2.2倍であり, 濃度の上昇率は徐々に低下した。各回投与24時間後の濃度を用い, 近似式として2次式に当てはめたところ, 実測値とシミュレーション曲線が比較的良い近似を示したので, この式により定常状態に到達する時間を算出したところ, 8.0~89.1日, 平均23.0日という値が得られた。定常状態到達時間が最も長いと算出されたのは脂肪であるが, 脂肪組織では後述するように他の組織と異なり, 貯蔵脂肪として蓄積されるためと考えられる。投与終了後の各組織からの消失半減期は脳および動脈を除き単回投与時が平均7.6日, 12回投与時が平均8.4日とほぼ同様であった。経口投与された脂肪, 特に長鎖脂肪酸は主としてトリグリセライドとして皮下, 腹腔内および結合組織などに貯蔵脂肪として蓄積され, その半減期は8日と言われている¹¹⁾。EPA も脂肪組織においては主としてトリグリセライドとして存在していた (J. Pharm. Dyn., 投稿中)。¹⁴C-EPA-E 投与後の組織からの放射能の消失半減期が7.6もしくは8.4日であり, 貯蔵脂肪の半減期8日とほぼ同様であったことから, EPA-E もしくはその代謝物は脂肪の代謝回転に従って消失しているものと推察される。

¹⁴C-EPA-E 投与後, 放射能は主として呼気中に排泄された。脂肪酸は主として肝ミトコンドリアおよびペルオキシゾームにおいて β 酸化を受けた後 TCA 回路によってさらに代謝され, 最終的に炭酸ガスおよび水となって体外に排泄されるため¹²⁾, EPA-E も同様の経路により代謝され, 排泄されたものと思われる。

要 約

¹⁴C-EPA-E をラットおよびイスに経口投与し, 吸収, 分布および排泄について検討し以下の結果を得た。

1. 血漿中濃度はラットでは投与6~9時間後に, イスでは24時間後にそれぞれ最高値を示し, 以後2相性で低下した。

2. ラットの尿, 糞および呼気中への7日間の排泄率は, 雄がそれぞれ2.7, 16.7および44.4%, 雌が3.3, 18.3および51.4%であった。イスでは尿および糞中排泄率はそれぞれ1.0および19.2%であった。

3. ラットの胆汁中には24時間までに2.9%が排泄された。

4. 雄ラットでは, 投与1週間後に最高値を示した脳, 白色脂肪, 皮膚および動脈を除き, 各組織内濃度は9~24時間後に最高値を示し, 以後緩やかに低下した。各組織からの放射能の消失速度は血漿のそれとはほぼ同様か, やや遅かった。雌ラットにおいては, 脳, 筋肉, 白色脂肪および皮膚は1週間後に, 心, 副腎, 膀胱, 卵巣, 褐色脂肪および骨髄は24時間後に, また, 子宮は9~24時間後に, 動脈は24時間~1週間後にそれぞれ最高値を示した。他の組織はいずれも9時間後が最高であった。

5. 妊娠12日および19日のラットにおいて, 胎仔に放射能の移行が認められたが, 移行率は低かった。

6. ラットの乳汁中濃度は投与12時間以後, 血漿中濃度より高くなり, 24時間後に最高値を示した。

7. ¹⁴C-EPA-E 投与後のラットおよびイスにおいて, 血漿中放射能の大部分は血漿蛋白と結合していた。

8. ラットに反復投与したとき, 毎回投与24時間後の血漿中濃度は12日間までに定常状態に達し, 各組織の濃度は投与回数の増加とともに上昇した。単回投与時と反復投与時の各組織の消失半減期には顕著な差は認められなかった。

謝 辞

本研究に際し, 有益なる御助言を賜った東京薬科大学須賀哲弥教授に深謝します。

文 献

- 1) 溝田雅洋, 甲木由紀夫, 水口 清, 遠藤彰二, 宮田治男, 小島正裕, 兼広秀生, 岡田美智子, 高瀬あつ子, 芹澤公子, 石黒淳三, 福武勝彦: エイコサペンタエン酸エチルエステル (EPA-E) の家兎血栓形成抑制作用およびラット末梢壊疽抑制作用. 日薬理, **91** (2) 印刷中.
- 2) 石黒淳三, 多田俊人, 萩原琢男, 中西 猛, 村上仁啓, 国広靖之: エイコサペンタエン酸エチル (EPA-E) の消化管吸収に関する研究, 薬物動態, **2**: 683-702 (1987).
- 3) 山岡 清: “マイコンによる薬物体内動態解析法”, 南江堂, 1984.
- 4) Yamaguchi, K., Mizota, M., Hashizume, H. and Kumagai, A.: Antiatherogenic Action of Eicosapentaenoic Acid (EPA) in Multiple Oral Dose. *Prostaglandins, Leukotriens and Medicine*, **28** (1): 35-45 (1987).
- 5) 阿部忠昭, 桜田 徹, 栗林良正, 金子兼良, 佐藤 譲, 小山田恵, 大内 博, 佐治公明, 季 好七: 末梢循環傷害に対する MND-21 の治療成績. 臨床医薬 **3**: (3) 351-360.
- 6) 奥田邦雄, 大槻俊夫: 脂質の消化と吸収. 日本臨床, **41**, (8), 17-22 (1983).
- 7) 飯尾利弘: 不飽和脂肪酸の生体内動態. 薬局, **34** (8): 1025-1030 (1983).
- 8) Sinclair, A.J.: Incorporation of Radioactive Polyunsaturated Fatty Acids into Liver and Brain of Developing Rat. *Lipids*, **10** (3): 175-184 (1975).
- 9) Onuma, Y., Masuzawa, Y., Ishima, Y. and Waku, K.: Selective Incorporation of Docosahexaenoic Acid in Rat Brain. *Biochem. Biophys. Acta.*, **793**: 80-85 (1984).
- 10) Sun, G.Y.: Essential Fatty Acid Deficiency: Metabolism of 20:3 (n-9) and 22:3 (n-9) of Major Phosphoglycerides in Subcellular Fractions of Developing and Mature Mouse Brain. *Lipids*, **10** (7): 365-373 (1975).
- 11) 吉川春寿, 阿部正和: “代謝—基礎と臨床—”, 朝倉書店, 43 (1978).
- 12) 今井 陽, 坂上利夫: 脂質の生化学: 173 (1978).