Etretinate の毒性学的検索
血液ならびに組織に及ぼす影響

油井 美子

昭和大学医学部・第一薬理学教室

(主任：坂本浩二教授)

A TOXICOLOGICAL STUDY OF ETRETINATE
AND ITS EFFECT ON BLOOD AND TISSUE

Yoshiko YUI

Department of pharmacology, School of medicine,

Showa University

(Director : Prof. Koji SAKAMOTO)

Abstract.....10 mg/kg of etretinate was administered orally for 4 weeks to a Sprague-Dawley rat (male, approx. 140 g in weight) and its toxicity was checked at 2 and 4 weeks after the start of administration. Recovery was checked 2 and 4 weeks after end of administration.

Three weeks after administration of etretinate, a decline in the increase of body weight and a decline in movement due to abnormality in the lower half of the body was seen. Two weeks after administration, the thigh bone was observed to thin and to have fragility; 4 weeks after administration the changes in the thigh bone became more eminent and the forearm was seen to thin 4 weeks after administration of etretinate, the hematological test showed an increase of leukocytes and the biochemical test showed an increase of triglycerides and phospholipides. The calcium in the thigh bone showed a notable decrease 2 and 4 weeks after administration. The decline in the increase of body weight; the increase of leukocytes, triglycerides and phospholipids; and the decrease of calcium in the thigh bone recovered to normal 2 weeks after the end of administration. Blood retinol decreased and a decrease in retinyl palmitate and retinol in the liver was induced by the administration of etretinate.

the toxicity of etretinate was seen to be comparatively lower than that of retinoid. A more detailed study is thought to be needed concerning the changes in bone.

連絡先：〒142 東京都品川区旗の台 1-5-8 昭和大学医学部・第一薬理学教室 油井 美子

緒 言

Vitamin A (Vit. A) や retinoic acid とその誘導体 (retinoid と総称) は, 各種皮膚疾患や皮膚の悪性腫瘍に有効とされてきたが, 臨床治療量と副作用発現量との間が非常に接近しており, 臨床上的適用に問題があった (Ballag, 1974) (遠藤, 1979)。これに対して etretinate は Darier's 病, 魚鱗癬や先天性手掌足底角化腫などの角化病において著明な治療効果を示し, 副作用は比較的弱いという従来の retinoid の欠点を補う特性を有している (倉員ら, 1980)。さらに retinoid は上皮性悪性腫瘍に対して chemopreventor として作用する可能性も示唆されており, etretinate が従来の retinoic acid や retinoid に比し低毒性であることは, これらの薬物の長期連続投与と安全性との関連から注目されている (遠藤, 1979)。

Etretinate によってみられる臨床的副作用は口唇の乾燥, 亀裂, 口唇炎, 肝機能障害, 脱毛などで, いずれも投薬中止により消失している。また動物実験では骨の異常や催奇形性の報告があり臨床使用上注意を要することが示唆されているが, いまだ etretinate の毒性が充分解明されているとはいえない。

Vit. A や retinoid の各種皮膚疾患に対する有効性が認められているにもかかわらず, その毒性ゆえに, 臨床使用上, 大きな制限を受けている現在, 従来の retinoid に比して低毒性である etretinate は, 幅広い臨床適用が可能とされている。

そこで, etretinate は临床上比較的長期投与が必要とされることを考慮し, ラットを用い亜急性毒性試験を行い, etretinate の毒性について詳細な検討を加えるとともに, これまでの毒性報告との関連について検索したので報告する。

実験材料ならびに方法

動物は体重 140 g 前後の Sprague-Dawley 系雄性ラットを用いた。各実験群とも 1 群 7 匹で実験を行った。

Etretinate は化学名 ethyl all-trans-9-(4-methoxy-2, 3, 6-trimethylphenyl)-3, 7-dimethyl-2, 4, 6, 8-nonatetraenoate, 分子式 $C_{23}H_{30}O_3$, 分子量 354.49 の天然には存在しない Vit. A の同族体で日本ロシュ社より提供を受けた。

Etretinate は peanut oil に溶解し, 10 mg/5 ml/kg を 1 日 1 回 4 週間連続経口投与し, 投与 2, 4 週間後と投与終了後 2, 4 週間目に採血, 各臓器を摘出し, 検査に供した。血液は一部を血液学的検査に用い, 一部は血清を分取し生化学的検査を行った。血液学的検査では赤血球数, 白血球数 (自動血球計数器), hemoglobin (Hb, cyanmethemoglobin 法), hematocrit (Ht, 毛細管法) の項目について検査した。血清生化学的検査では total protein (TP), A/G 比, GOT, GPT, LDH, alkaline phosphatase (ALP), TTT, ZTT, total bilirubin (TBL), creatinine, uric acid, blood urea nitrogen (BUN), total cholesterol (TC) は自動分析計 (日立 716) で, triglyceride (TG), phospholipid (PL) は自動分析計 (clinalizer 6 ch: 日本電子) で, 遊離脂肪酸 (NEFA) は酵素法で測定した。血清の Ca, P は Ca-Test wako, P-Test wako

(和光純薬)にて測定した。大腿骨の Ca, P は大腿骨を電気炉にて灰化後、血清におけると同様に測定した。血清ならびに肝における etretinate およびその主代謝物の定量は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用い測定を行なった (Hänni ら, 1979)。装置は日本分光 UVIDECE100 型を用い、分析は遮光下で行った。

1) 血清中の retinoids の測定

血清 0.5 ml を取りクエン酸 buffer 4.5 ml, 酢酸エチル 10 ml を加え 10 分間振とうする。振とう後 3000 rpm 10 分間遠心分離する。上清 9 ml を分取し、40°C にて慎重に N₂ 気流下乾固し、クロホルム適量に溶解し HPLC に注入し、測定した。

2) 肝臓中の retinoids の測定

肝臓にエタノール、酢酸エチル混液 2.5 ml を加え Potter 型ホモジナイザーでホモジネイトする。ガラスロートにて濾過後、濾液 50 ml を分取し、ロータリーエバポレーターにて濃縮する。残渣に酢酸 buffer 5 ml, 酢酸エチル 10 ml を振とう遠心分離する。上清を乾固し、クロロホルム適量に溶解し HPLC に注入し、測定した。

摘出した各臓器は重量測定後 10% formalin 固定、hematoxylin-eosin 重染色を施し、組織化学的検索を行った。

実験結果

1. 一般症状ならびに体重、臓器重量の変化

Etretinate 投与によって 3 週間目より 21 例中 16 例に左右どちらか一方の下肢異常による歩行困難を認め、4 週目には 18 例に下肢異常がみられ、うち 4 例は両側下肢に異常を認め、腰部が床に接したままで歩行不能の状態を呈した。大腿骨は投与 2 週目より細化、脆弱化がみられ、4 週目には大腿骨異常はさらに著明となり、投与終了後 4 週間の回復期間後にも、下肢異常、大腿骨の変化は回復しなかった。

体重ならびに各臓器重量の変化は Table 1 に示した。体重は etretinate 投与 3～4 週に増加抑制の傾向を認めたが、投与終了後の回復試験においては正常な増加率を示した。各臓器重量では投与 4 週目において脾重量が peanut oil 投与に比し有意な増加を示し、副腎重量の増加傾向を示したが、肝、腎、精巣では変化を認めなかった。

2. 血液学的所見

血液学的検査の結果は Table 2 に示した。Etretinate 投与 4 週目において白血球数は有意に増加し、赤血球数の減少傾向を認めたが、投与終了後 2 週においては正常に回復した。Hb, Ht その他の血液学的所見では etretinate 投与による影響を認めなかった。

3. 生化学的所見

Etretinate 投与による血清生化学的検査の結果は Table 3, 4 に示した。Etretinate 投与 4 週目に TG の有意な増加がみられ、2, 4 週目に PL の増加傾向を認めた。その他の検査項目においては etretinate 投与の影響は認められなかった。

4. 血清ならびに大腿骨の Ca, P 量の変化

Ca, P 量の結果は Table 5 に示した。血清の Ca, P 含量は etretinate 投与で変化を認めなかった。大腿骨の Ca 含量は投与 2, 4 週目に peanut oil 投与群に比し有意な低下を示したが, P 含量には etretinate 投与の影響は認められなかった。

5. 血清ならびに肝における etretinate の代謝

Peanut oil 投与群の血清にみられる Vit. A 代謝物は retinol のみで, 肝では retinol と retinyl palmitate が認められた。

Etretinate 投与群の血清では未変化の etretinate はみられず, 代謝物の Ro 10-1670 が認められ, retinol は投与 2 週目から peanut oil 投与群に比し減少傾向を示し, 4 週目において有意な減少を認めた。Etretinate の投与終了後には retinol のみが検出され, etretinate 投与期間中み

Table 1. Changes in body and various organ weight of male rats treated with etretinate for two and four weeks.

Drugs	Body (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Kidney (g)		Adrenal (mg)		Testis (g)	
				Right	Left	Right	Left	Right	Left
Treatment for 2 weeks									
Peanut oil	257± 5	7.44±0.35	0.79±0.05	0.97±0.03	0.96±0.05	27.0±3.4	29.0±3.7	1.30±0.02	1.29±0.05
Etretinate	212±14*	6.26±0.52	0.68±0.06	0.91±0.04	0.90±0.04	28.0±1.7	31.3±2.6	1.25±0.03	1.23±0.05
Treatment for 4 weeks									
Control (Saline)	256±25	6.73±0.55	0.52±0.08	0.95±0.08	0.95±0.07	29.7±2.3	31.9±2.2	1.35±0.16	1.38±0.14
Peanut oil	300±11	7.53±0.35	0.57±0.04	1.13±0.05	1.12±0.05	32.0±2.6	32.2±4.5	1.59±0.06	1.59±0.07
Etretinate	293± 9	8.08±0.34	0.78±0.05*	1.08±0.04	1.08±0.04	36.9±3.1	42.1±2.5	1.48±0.06	1.48±0.04
Recovery for 2 weeks									
Etretinate	312± 9	7.95±0.38	0.64±0.06	1.10±0.03	1.07±0.03	27.1±1.5	28.8±2.4	1.33±0.04	1.40±0.04
Recovery for 4 weeks									
Etretinate	328±20	8.02±0.48	0.54±0.03	1.11±0.04	1.13±0.04	33.0±3.5	33.2±2.3	1.34±0.06	1.36±0.06

Etretinate was dissolved in peanut oil and administered by gavage to the rats in dose of 10 mg/5 ml/kg daily for 4 weeks. Saline and peanut oil were administered by gavage to the rats in volume of 5 ml/kg daily for 4 weeks. Each value represents the mean±S. E. of five rats.

*; Significantly different from the peanut oil administered group ($p<0.05$).

Table 2. Hematological findings of male rats treated with etretinate for two and four weeks.

Drugs	WBC ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	RBC ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (%)
Treatment for 2 weeks							
Peanut oil	10.4±0.8	6.56±0.08	13.3±0.3	37.1±0.6	56.3±0.9	20.2±0.4	35.6±0.2
Etretinate	10.1±1.8	7.23±0.14	14.4±0.2	39.8±1.1	54.8±0.8	19.8±0.2	36.0±0.5
Treatment for 4 weeks							
Control (Saline)	9.8±1.3	8.04±0.03	16.0±0.3	44.2±0.8	54.8±0.9	19.7±0.3	36.0±0.1
Peanut oil	7.7±0.2	7.66±0.04	15.2±0.1	42.0±0.4	54.8±0.5	19.7±0.1	36.0±0.2
Etretinate	13.8±0.3*	7.24±0.09	15.1±0.4	41.9±0.8	57.8±1.4	20.8±0.6	35.9±0.3
Recovery for 2 weeks							
Etretinate	7.4±0.3	7.26±0.07	14.8±0.1	40.5±0.2	55.8±0.7	20.3±0.1	36.3±0.2
Recovery for 4 weeks							
Etretinate	7.3±0.6	7.27±0.23	15.1±0.2	42.7±0.6	59.0±1.7	20.7±0.5	35.2±0.3

See explanation in Table 1. *; Significantly different from the peanut oil administered group ($p<0.001$).

Etretinate の毒性学的検索 血液ならびに組織に及ぼす影響

られた retinol の減少は回復を示した。肝では未変化の etretinate が投与 2, 4 週間目にみられ、4 週目には 2 週目の約 3 倍の濃度を示した。Etretinate の代謝物である Ro 10-1670 は検出されず、retinol ならびに retinyl palmitate は etretinate 投与 2 週目には減少の傾向を示し、4 週目には peanut oil 投与群に比し有意な減少を認めた。Etretinate 投与終了後 2 週間では etretinate は検出されず、retinol と retinyl palmitate の減少は正常に復していた。

6. 組織学的所見

肝：peanut oil 投与で 2 週目にび慢性の脂肪変性が小葉全体にみられ、一部中心静脈周囲に大滴性の脂肪滴を認めた。4 週目では脂肪変性はさらに著明となり、び慢性の脂肪変性に加えて、観察されうるすべての中心静脈周囲に大滴性の脂肪滴を認めた。Etretinate 投与による肝の変化は peanut oil 投与のそれと同様で、投与終了 2 週後では脂肪変性が残存していたが、4 週後では対照と変らない組織像をあらわした。

Table 3. Biochemical values in serum of male rats treated with etretinate for two and four weeks.

Drugs	TP (g/dl)	A/G ratio	GOT (K. U.)	GPT (K. U.)	LDH (IU/l)	ALP (B-L U.)	TTT (U)	ZTT (U)
Treatment for 2 weeks								
Peanut oil	5.33±0.13	1.73±0.12	128.7±25.2	13.3±1.2	3006±1088	9.63±0.79	0.23±0.09	0.67±0.19
Etretinate	5.53±0.14	1.53±0.13	117.5± 9.2	13.0±2.0	1645± 376	8.93±0.40	0.18±0.05	0.65±0.12
Treatment for 4 weeks								
Control (Saline)	6.20±0.21	1.30±0.12	93.0± 6.1	15.3±1.4	1436± 208	6.75±0.49	0.30±0.04	1.98±0.48
Peanut oil	5.55±0.03	1.58±0.05	72.5± 3.6	11.8±2.2	1016± 194	6.98±0.31	0.18±0.03	0.88±0.16
Etretinate	5.28±0.09	1.65±0.06	89.8± 8.1	13.0±0.6	1235± 257	6.50±0.40	0.20±0.01	0.73±0.06
Recovery for 2 weeks								
Etretinate	5.70±0.10	1.70±0.09	83.8± 4.9	17.4±1.4	975± 127	5.60±0.58	0.20±0.03	0.60±0.08
Recovery for 4 weeks								
Etretinate	6.00±0.10	1.42±0.05	93.5±11.4	13.0±1.2	1793± 468	4.41±0.38	0.23±0.03	1.03±0.08

See explanation in Table 1.

Table 4. Biochemical values in serum of male rats treated with etretinate for two and four weeks.

Drugs	T-BL (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Uric acid (mg/dl)	BUN (mg/dl)	TC (mg/dl)	TG (mg/dl)	PL (mg/dl)	NEFA (mEq/l)
Treatment for 2 weeks								
Peanut oil	0.17±0.03	0.53±0.03	1.60±0.25	10.23±0.24	35.0±5.0	31.7±3.3	71.7± 0.9	0.50±0.05
Etretinate	0.13±0.03	0.53±0.03	1.40±0.11	12.43±0.53	43.3±2.6	25.5±2.8	81.0± 4.7	0.43±0.07
Treatment for 4 weeks								
Control (Saline)	0.25±0.03	0.45±0.03	1.80±0.08	11.90±2.60	45.0±3.9	21.8±2.5	89.0± 6.8	0.49±0.09
Peanut oil	0.23±0.03	0.43±0.03	1.50±0.07	12.20±0.40	36.0±4.8	18.3±1.2	69.3± 9.2	0.40±0.04
Etretinate	0.28±0.03	0.40±0.04	1.68±0.09	11.13±0.70	47.5±3.7	29.3±3.6*	98.0± 2.0	0.45±0.03
Recovery for 2 weeks								
Etretinate	0.30±0.03	0.58±0.02	1.38±0.15	13.70±0.50	43.2±3.4	34.6±5.1	91.0± 9.3	0.49±0.05
Recovery for 4 weeks								
Etretinate	0.30±0.00	0.63±0.03	1.55±0.17	14.70±0.90	52.0±4.8	34.5±4.3	94.8±14.7	0.54±0.08

See explanation in Table 1. *; Significantly different from the peanut oil administered group (p<0.05).

脾：peanut oil ならびに etretinate 投与のいずれの時期においても変化は認めなかった。

腎：peanut oil ならびに etretinate 投与 2, 4 週目に腎小体に脂肪滴を認めたが, etretinate 投与終了後 2 週目には脂肪変性はみられず対照と同様の組織像を示した。

副腎：peanut oil ならびに etretinate 投与のいずれの時期においても異常所見を認めなかった。

精巣：peanut oil ならびに etretinate 投与で変化はみられず, 精巣内精子数, 精子の形態も正常像を示し, 精子形成能異常は認めなかった。

Table 5. Changes in calcium and phosphorus contents of serum and thigh bone of male rats treated with etretinate for two and four weeks.

Drugs	Serum (mg/dl)		Thigh bone (mg/100 mg)	
	Ca	P	Ca	P
Treatment for 2 weeks				
Peanut oil	8.69±0.26	9.26±0.50	21.37±2.96	10.89±0.60
Etretinate	8.85±0.16	9.43±0.39	8.39±1.78*	12.18±0.32
Treatment for 4 weeks				
Control (Saline)	8.85±0.29	9.18±0.24	17.50±2.48	12.57±0.28
Peanut oil	8.60±0.49	8.82±0.35	20.03±1.90	12.43±0.82
Etretinate	8.43±0.23	9.28±0.31	13.26±3.50	13.18±0.41
Recovery for 2 weeks				
Etretinate	8.23±0.24	8.14±0.39	19.72±1.41	11.57±0.20
Recovery for 4 weeks				
Etretinate	8.46±0.21	8.34±0.34	25.88±3.61	13.66±0.47

See explanation in Table 1. *; Significantly different from the peanut oil administered group ($p<0.05$).

Table 6. Changes in etretinate and its metabolite contents of serum and liver of male rats treated with etretinate for two and four weeks.

Drugs	Serum (μg/ml)				Liver (μg/g)			
	Etretinate	Ro10-1670	Retinol	Retinyl palmitate	Etretinate	Ro10-1670	Retinol	Retinyl palmitate
Treatment for 2 weeks								
Peanut oil	—	—	0.23±0.02	—	—	—	9.69±2.31	288.00±16.85
Etretinate	—	0.027±0.003	0.16±0.02	—	0.05±0.03	—	3.63±1.09	229.50±18.04
Treatment for 4 weeks								
Control (Saline)	—	—	0.32±0.05	—	—	—	12.25±2.02	330.75±16.16
Peanut oil	—	—	0.27±0.01	—	—	—	5.58±0.60	293.40±17.15
Etretinate	—	0.047±0.012	0.17±0.01**	—	0.16±0.01	—	3.08±0.34*	204.15± 7.77**
Recovery for 2 weeks								
Etretinate	—	—	0.32±0.02	—	—	—	11.18±1.83	254.55± 6.75
Recovery for 4 weeks								
Etretinate	—	—	0.40±0.04	—	—	—	11.49±1.41	344.10± 2.70

See explanation in Table 1. * and **; Significantly different from the peanut oil administered group ($p<0.05$ and $p<0.01$).

Fig. 1. Histological change in rat liver. H. E. stain ; $\times 160$ a ; control, b ; administration of peanut oil for 4 weeks, c ; administration of etretinate for 4 weeks, d ; recovery for 2 weeks after the end of etretinate administration.

Fig. 2. Histological change in rat spleen. H. E. stain ; $\times 80$ a ; administration of etretinate for 2 weeks, b ; administration of etretinate for 4 weeks.

Fig. 3. Histological change in rat kidney. H. E. stain; $\times 160$ a; administration of peanut oil for 4 weeks, b; administration of etretinate for 4 weeks, c; recovery for 2 weeks after the end of etretinate administration.

Fig. 4. Histological change in rat adrenal. H. E. stain; $\times 160$ a; administration of etretinate for 2 weeks, b; administration of etretinate for 4 weeks.

Fig. 5. Histological change in rat testis. H. E. stain, $\times 80$ a ; administration of etretinate for 2 weeks, b ; administration of etretinate for 4 weeks.

考 察

Etretinate は retinoic acid の炭化水素環を二重結合の芳香環に、末端基の carboxyl group を ethylester に置換した天然には存在しない合成の retinoid である。Retinoic acid と retinyl acetate や retinyl palmitate のような天然の retinoid は血中濃度が投与量に応じて増加せず、肝に貯蔵されやすいため血中濃度が治療有効量に達する以前に毒性が発現することから臨床使用上、問題点が多かった (Hänni ら, 1979)。これに対して etretinate は抗腫瘍作用と Vit. A 過剰症 (hypervitaminosis A) とが分離されたとして注目されている retinoid である (松浦ら, 1980)。

Retinoic acid のマウスでの LD_{50} 値は経口投与で 1,100 mg/kg, 腹腔内投与で 31 mg/kg であり (Hixson ら, 1978), ラットでの天然 retinoid の LD_{50} 値は経口投与で 4,000~5,000 mg/kg とされており, McLaren ら (1971) によると retinol 50 mg/100 g の腹腔内投与で 20 例中 2 例の死亡を認めている。Etretinate のラットでの LD_{50} 値は 4,000 mg/kg p. o. 以上で retinoic acid よりも急性毒性は弱く, 天然の retinoid と同等か, それ以下の結果が示されている。しかし, これら retinoid において問題とされる毒作用は, 急性毒性よりも hypervitaminosis A であろう。

Vit. A 過剰や retinoid の投与によってみられる hypervitaminosis A は骨変化を主症状とし, 自発運動の低下, 流涙, 脱毛などである (Leelaprute ら, 1973)。Etretinate 10 mg/kg の経口投与によって投与 3 週目から下肢異常による運動量の低下を認め, 体重増加の抑制がみられ, 臓器重量では脾, 副腎の重量増加を認めた。骨変化は etretinate 投与 2 週目において, 大腿骨の細化, 菲薄化, 脆弱化を認め, 4 週目には大腿骨の変化はさらに著明となり, 前腕骨においても細化, 脆弱化を認めた。そして, この時期の大腿骨中の Ca 含量が低下する結果を得た。投与終了後の回復試験において, etretinate 投与による骨変化は回復を認められなかった。

Hixson ら (1978) は, マウスに retinoic acid の 100 mg/kg を 21 日間経口投与した時の X 線

写真で、大腿骨、膝関節、前腕骨の骨折を認めている。ラットを用いた実験では、Lee laprute ら (1973) が Vit. A palmitate と Vit. A alcohol を経口ならびに腹腔内投与し骨変化を観察、血清と尿中の Ca 含量を測定している。それによると大腿骨では繊維吸収、腰部骨や肩甲骨では繊維吸収像に加えて骨多孔症を認め、この変化は Vit. A alcohol の腹腔内投与で最も著明と報告している。血清ならびに尿中 Ca は Vit. A palmitate の腹腔内投与では変化がなく、経口投与で血清 Ca 量が減少し、尿中 Ca 量が増加するのを認めている。Vit. A alcohol 投与例では、溶血や尿採取不能などにより測定例がない群もあり、一定の傾向が得られていない。しかしながら、retinoid の経口投与による骨変化は Ca 排泄増加による Ca 欠乏が関与すると考えられ、etretinate 経口投与においてみられた大腿骨の変化と Ca の減少も Ca 排泄増加によるものと推察される。

Hypervitaminosis A における血液学的、生化学的变化は、マウスでは retinoic acid の 30 mg/kg 以上 13-cis-retinoic acid では 100 mg/kg 以上 21 日間腹腔内投与で hemoglobin の減少、alkaline phosphatase の上昇がみられ (Hixson ら, 1978)、ラットでは retinoic acid 5.0 mg/kg、8 週間経口投与で hemoglobin の減少、albumin の低下、ALP の上昇が報告されている (Hixson ら, 1979)。Etretinate 投与における血液学的所見では投与 4 週目に白血球数の増加がみられ、生化学的検査においては TG, PL の増加を認めたが、transaminase をはじめとする酵素類、その他の検査項目において変化はみられなかった。白血球増加は骨変化が著明にみられた時期と相関し、骨の異常と炎症性の病態との関連が想定された。TG, PL の増加は hypervitaminosis A においてみられる変化で、肝の palmityl-Co A synthetase が活性化され、PL の合成亢進が起こる。TG の増加はこの PL 合成亢進に伴う変化と考えられる (Ballag, 1974)。

一方、Mahadevan ら (1964) は、ラットに種々の retinyl ester を心臓内投与し、血中からの消失と臓器分布をみている。それによると、投与された retinyl palmitate, retinyl stearate などの大部分の retinyl ester や retinol は投与後 15~30 分で血中より消失する。Retinyl palmitate 投与 15 分および 30 分後の臓器分布を retinyl ester と free retinol としてみると、いずれの時間においても retinyl ester は血中、肝、肺に大部分が分布し、肝では血中ならびに肺の約 2 倍の濃度を示し、free retinol は肝に殆どが集積する結果を認めている。心臓内投与を行った場合の肝における retinyl ester, retinol, retinal の動態をみると、stearate, laurate, myristate, linoleate などの retinyl ester は投与 5~30 分の初期には投与型そのものも比較的多くみられるが、retinyl acetate や retinol はこれらに比し、投与後直ちに代謝される結果が示されている。そして、殆どの retinyl ester と retinol は投与 1~4 時間には retinyl palmitate と retinol となり、それ以降では retinol 投与群においても retinyl palmitate の型が大部分となり、その含有量は 24 時間後には retinyl palmitate 投与群も含めてすべての投与群で最大値を示したことを報告している。

今回の実験における代謝物の測定は etretinate 投与 24 時間後に採血した血清、肝について行ったものであるが、血清ではいずれの測定時期においても etretinate 本体は検出されず、retinol 濃度は減少を認めた。肝においては最初の測定時である投与 2 週間後で etretinate 本体を認め、投与 4 週間後には 2 週間の約 3 倍の値を示し蓄積の傾向を示したが回復試験の 2 週間後には検

出されなかった。また、投与 2, 4 週間後の測定では retinyl palmitate や retinol は有意な減少を示した。

以上, etretinate 連続経口投与によってみられた骨変化を主とする症状は従来の retinoid 投与にみられる hypervitaminosis A と類似しており, 骨変化は詳細な検討を要すると思われるが, retinoic acid などと比較して高投与量であるにもかかわらず, 血液学的, 生化学的検査値の変化は少なく, 殆どの検査項目において生理学的変動の範囲内であった。retinoic acid や天然 retinoid に比して etretinate の hypervitaminosis A の症状が弱いのは etretinate の代謝が他の retinoid とは異なり retinyl palmitate として肝に蓄積されないことも関与すると思われる。

結 論

体重 140 g 前後の Sprague-Dawley 系雄性ラットに etretinate の 10 mg/kg を 4 週間経口投与し投与 2 週間および 4 週間後の毒性を検討し, 投与終了後 2 週間および 4 週間後の回復状況も調べた。

Etretinate 投与 3 週間後より下肢異常による運動量低下と体重増加率の低下を認めた。大腿骨の変化は投与 2 週間後には細化, 菲薄化, 脆弱化を示し, 4 週間後には大腿骨の変化はさらに著明となり前腕部の細化も認めた。血液学的検査では etretinate 投与 4 週間後に白血球の増加を認め, 生化学的検査では TG, PL の増加を認めた。大腿骨の Ca 量は投与 2, 4 週間後に有意な減少を示した。体重増加率の低下, 白血球, TG, PL の増加, 大腿骨の Ca 量の減少は投与終了後 2 週間後には正常に回復した。Etretinate 投与によって血中 retinol は減少し, 肝では retinyl palmitate と retinol の減少がみられた。

以上のように, etretinate 投与により血液学的, 生化学的变化を指標とする毒性は従来の retinoid に比べて弱いことが認められた。骨変化については, 今後なお詳細な検討を要すると考えられる。

文 献

- BALLAG, W. (1974): Antitumor effect of a new retinoic acid analog, *Experientia*. **30** II, 1198
遠藤英也 (1979): Vitamin A と癌, 癌と化学療法. **6**, 203.
HÄNNI, R., HERVOUET, D., and BUSSLINGER, A., (1979): Determination of an aromatic retinoid and its main metabolite by high-performance liquid chromatography, *Journal of chromatography*. **162**, 615-621.
HIXSON, E. J. and DENINE, E. P. (1978): Comparative subacute toxicity of all-trans-and 13-cis-retinoic acid in Swiss mice, *Toxicol. appl. Pharmacol.* **44**, 29.
HIXSON, E. J., BURDESHAW, J. A., DENINE, E. P. and HERRISON, S. D. Jr. (1979): Comparative subchronic toxicity of all-trans-and-13-cis-retinoic acid in Sprague-Dawley rats, *Toxicol. appl. Pharmacol.* **47**, 359.
倉員正俊, 占部治邦 (1980): Etretinate (Ro10-9 3 5 9) による角化症の治療, *西日皮膚*. **42**, 864.
LEELAPRUTE, V., BOONPUCKNAVIG, V., BHAMARAPRAVATI, N., WEERAPRADIST, W. and THAILAND, B. (1973): Hypervitaminosis A in rats: varying responses due to different

Yoshiko YUI

- forms, doses, and routes of administration, Arch. Pathol. **96**, 5.
- MAHADEVAN, S., DESHMAKH, D. S. and GANGULY, J. (1964): The fate of intracardially administered retinyl esters in the rat. Biochem. J. **93**, 499.
- 松浦正郎, 瀬戸暁一, 中村広一, 尾口仁志, 後藤哲哉, 佐藤保信, 三木葉子, 野村隆祥, 吉田紀照 (1980): Etretinate (Ro10-9359) により著明に改善した過角化病変の2例, 日口外誌. **26**, 232.
- McLAREN, D. S., ZEKIAN, B. and FARIS, R. (1971): Effects of parenteral retinol in the rats, Life Sci., **10**, I, 1117.
- SINGH, M. and SINGH, V. N. (1978): Fatty liver in hypervitaminosis A: Synthesis and release of hepatic triglycerides., Am. J. Physiol. **234**, E511.