

原 著

## ラット胎児においてレチノイン酸により誘導される奇形の特徴

小 西 啓 悦

四條啜学園大学

リハビリテーション学部

### キーワード

レチノイン酸、胎生期投与、催奇性、ラット胎児

### 要 旨

器官形成期（妊娠8～11日）のラット胎児に母獣経由でレチノイン酸（RA）を曝露したところ種々の奇形が、RAの投与量と投与時期に応じて誘発されることを見出した<sup>1)</sup>。

本実験は前回の結果を基にして、投与時期を一定にして2投与量（60 mg/kgと40 mg/kg）の曝露によるRAの奇形発現を検討した。DAラットの妊娠10日に母獣体重当り60、40および0 mg/kgのRAを単回投与して、末期胎児の死亡率と奇形発現について分析した。60 mg/kg投与群では、死亡胎児数や平均胎児体重および奇形の型や発生率で前回の実験とよく似た結果が得られ、40 mg/kg投与群との比較では、奇形の発生率などで良好な用量効果関係が認められた。外表および骨格標本の調査により顔面頭蓋部と腰仙尾部の奇形が多発した。本研究で、ラット末期胎児に誘発される奇形の原因は、RAが胎生初期において神経管形成および神経堤細胞の正常な分化を妨げることによると推測される。

### はじめに

レチノイン酸（RA）は生体中に微量に存在し、全身の上皮組織や網膜の分化および生殖機能に不可欠な物質である。また古くから、細胞の分化や増殖を調節することが明らかにされ、臨床的に種々の皮膚疾患や腫瘍の治療に応用されるようになってきた<sup>2-5)</sup>。一方RAの過剰投与によって、種々の先天異常が発生することはマウス<sup>6-15)</sup>、ラット<sup>6・14・15)</sup>、ハムスター<sup>13)・16-19)</sup>などにおいて既に報告されている。前回の実験で、ラットを用いてその妊娠8日、9日、10日および11日に単回でRAを経口投与し、投与時期の違いによる末期胎児の奇形発生をみたところ<sup>1)</sup>、妊娠10日の投与が最も高い発生頻度を呈した。本実験は、その濃度差による影響について調べた。

### 方 法

#### 1. 使用動物

ラットの交雑系間の変異をできる限り少なくするため遺伝子の一定した近交系のDAラットを用いた。

体重160 g～180 gのDAラットをエスエルシーから6

週齢で購入した。雄は独居ゲージ、雌は1ゲージ内に4～5匹同居させ、飼料（OA-2、日本クレア、東京）と水は自由に摂取させた。8週齢になった発情雌を選択して雄ゲージ内に1：1で16時間（16：00～8：00）同居させ、翌朝膣スミアを鏡し、精子を認めたものを妊娠ラットとし妊娠0日と起算した。飼育条件は照明時間7：00～19：00で、温度23.4℃、湿度50±5%とした。

#### 2. 薬物投与

RAはall-trans型のretinoic acid（Sigma社）を用いオリーブ油に懸濁した。投与量は母獣体重kg当たり60 mg、40 mgとし、投与時期は前回の実験で最も奇形発生の多かった妊娠10日の午前9時とした。投与方法は胃ゾンデを用いて強制経口投与した。対照群にはオリーブ油を母体体重kg当たり10mlを同様に強制経口投与した。

#### 3. 剖 検

妊娠20日に母獣をエーテル麻酔下で頸椎脱臼により

屠殺し、開腹して子宮を取り出し、着床痕数、生存及び死亡胎児数を調べた。生児については体重を測定し、一腹平均胎児体重を求めた。更に個々の胎児について外表を実体顕微鏡下で観察した。死亡時期の判定については着床痕のみを示すものを早期死亡とし、胚塊を含むものは着床後の死亡とした。

#### 4. 標本の作製

生存胎児の約2/3を無作為に選び、99%エタノールに浸漬し、Inoue法<sup>20)</sup>によるアリザリンレッドSとアルシアンブルーの骨軟骨二重染色を行った。染色した骨格標本は50%グリセリン溶液下にて実体顕微鏡で観察した。また残り1/3の胎児はブアン液にて固定し、Barrowらの方法<sup>21)</sup>に基づいて内臓観察に供した。

骨格の異常は頭蓋顔面部では各骨の形成の程度や各骨間の癒合、体幹部では骨化数、形成異常、癒合を調べた。また脊椎裂を示した胎児も数えた。

#### 5. 統計処理

奇形を持つ胎児の頻度は生存胎児に対する割合で計算した。死亡胎児数(%)、奇形児を生じた母獣数、奇形児数(%)および外表奇形の頻度についてはすべてカイ二乗検定を行い、平均一腹児数、平均胎児体重および骨化数についてはStudentのt検定を、そしてそれ以外の奇形の発生率にはMann-WhitneyのU検定を用いた。

### 結 果

臨界期単回投与の投与量による影響

表1は、RAを妊娠10日に60 mg/kg, 40 mg/kg および0 mg/kg投与し、妊娠20日に着床数、死亡数、生存胎児数、胎児平均体重、奇形を生じた母獣数および奇形児

数を示す。平均同腹児数は60 mg/kg, 40 mg/kg投与群ともに対照群との間に有意な差は見られなかったが、死亡児数は60 mg/kg投与群で対照群と比べて有意に増加した。胎児平均体重は60 mg/kgと40 mg/kg投与群でそれぞれ2.53±0.12 g, 2.77±0.07であり、対照群の3.14±0.05と比べて有意に軽く、かつ用量効果関係が見られた。60 mg/kg投与群では全母獣からすべての胎児に奇形が認められ、40 mg/kg投与群では全ての母獣から少なくとも1例の奇形児が出現したが、胎児の約10%は正常形態を示した。奇形児の出現頻度は、両投与群共に対照群に比べて有意に高かった。

#### 外表奇形

表2は胎児に認められた外表奇形を示す。60 mg/kg投与群では頭部顔面部の奇形(眼球突出67.9%、小口64.2%、小顎58.7%、小耳46.8%、巨舌22.0%、口蓋裂21.1%)と体軸に沿った奇形(鎖肛83.5%、無尾64.2%、二分脊椎58.7%、曲尾16.5%)が特に目立った(図1 a)。それぞれの頻度はいずれも対照群と比べて有意に高い発生率であった。40 mg/kg投与群では頭部顔面部の奇形(小耳22.1%、眼球突出16.8%、口蓋裂13.7%)および体軸に沿った奇形(鎖肛35.8%、二分脊椎28.4%、曲尾27.4%、無尾21.7%)がみられ(図1 b)共に対照群と比べて有意に高かったが、60 mg/kg投与群と比べては低かった。曲尾を除いてこれらの出現率には用量効果関係が存在した。対照群でみられた異常は、頭部から背部にかけての皮下出血が2例(1.2%)であったが、その他の明らかな奇形は認められなかった(図1 c)。

#### 骨格の異常

図2に胎児の胸椎以下の骨格標本を示す。60および

表1 妊娠10日に投与されたレチノイン酸のラット胎児への影響

用量 (mg/kg)	妊娠母獣	着床数 (平均同腹児数±SD)	死亡児数(%) [初期/末期]	生 児		
				胎児数	平均胎児体重(g) (平均±SD)	奇形を持つ同腹児数 (胎児数)[%]
60	17	129 (7.59±0.66)	20(15.5)* [18/2]	109	2.53±0.12**	17(109)** [100]**
40	14	107 (8.29±0.37)	12(11.2) [11/1]	95	2.77±0.07**	14( 85)** [89.5]**
0 (オリーブ油)	21	173 (8.24±0.23)	12( 6.9) [12/0]	161	3.14±0.05	0

\*: カイ自乗検定とt-検定において対照群にくらべて有意な差 (\*: p<0.05, \*\*: p<0.001)を示す

表2 レチノイン酸によって胎児に発生した奇形（投与量）

奇形の型	投与量 (mg/kg)		
	60	40	0 (オリーブ油)
	胎児数 (%)	胎児数 (%)	胎児数 (%)
口蓋裂	23 (21.10) ***	13 (13.68) ***	0
眼球突出	74 (67.89) ***	16 (16.84) ***	0
顔面いぼ	16 (14.68) ***	2 ( 2.11)	0
巨舌	24 (22.01) ***	6 ( 6.32) *	0
小顎	64 (58.72) ***	8 ( 8.42) **	0
小口	70 (64.22) ***	8 ( 8.42) **	0
小耳	51 (46.79) ***	21 (22.11) ***	0
二分脊椎	64 (58.72) ***	27 (28.42) ***	0
肛門閉鎖	91 (83.49) ***	34 (65.79) ***	0
曲尾	18 (16.51) ***	26 (27.37) ***	0
曲短尾	5 (4.59)	2 ( 2.11)	0
無尾	70 (64.22) ***	20 (21.65) ***	0
内反足	14 (12.84) ***	6 ( 6.32) *	0
人魚体	2 ( 1.83)	0	0
臍帯ヘルニア	11 (10.09) ***	3 ( 3.16)	0
皮下出血	23 (21.10) ***	18 (18.95) ***	2 ( 1.24)

\* : カイ自乗検定において対照群に比べ有意な差 (\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001) を示す

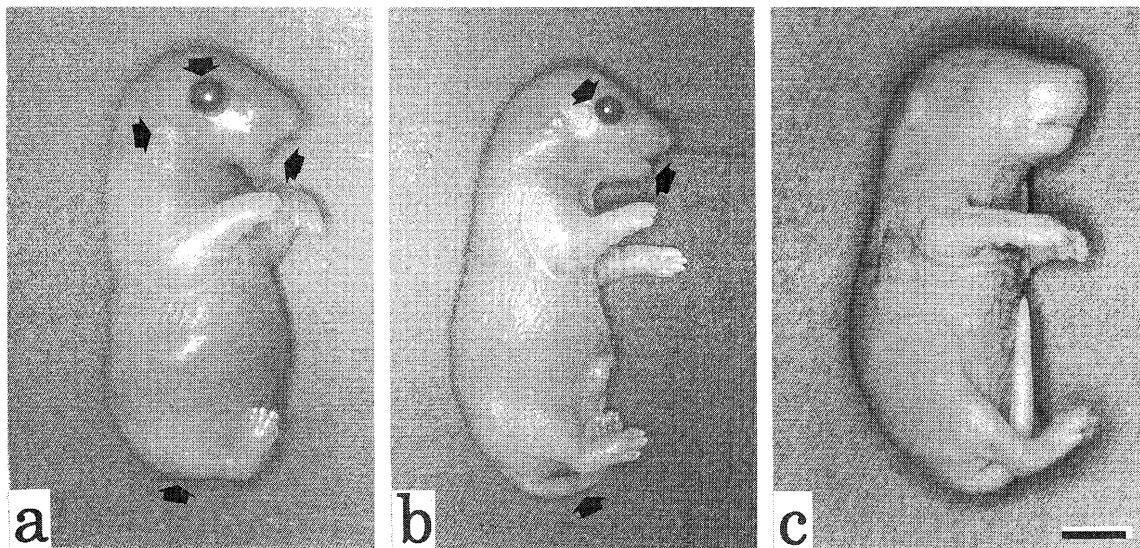


図1 ラット胎児の側面像

- a 妊娠10日に60 mg/kg のレチノイン酸を投与した母獣から得た奇形を持つラット胎児の側面像 眼球突出、小顎、無尾、小耳を示す (矢印)
- b 妊娠10日に40 mg/kg のレチノイン酸を投与した母獣から得た奇形を持つラット胎児の側面像 眼球突出、小顎、短尾を示す (矢印)
- c 妊娠10日にオリーブ油を投与した母獣から得たラット胎児の側面像 (コントロール) 横棒=0.5cm

40 mg/kg 投与群では、肋骨や下部脊椎の異常が多かったのに対し (図2 a,b)、対照群では規則的な配列が見られた (図2 c)。

表3は顔面頭蓋骨の異常の型を示す。前頭骨、側頭骨、上顎骨、下顎骨、上後頭骨、鼓室輪の減形成あるいは無

形成が60 mg/kg 投与群で全観察胎児数の約80~100% に出現した。40 mg/kg 投与群では上記の異常の出現率は約10~70%であった。これらの異常の頻度は対照群との間に有意の差を認め、かつ用量効果関係を示した。

表4は顔面頭蓋骨の癒合の結果を示す。60 mg/kg 投

表3 妊娠10日に投与されたレチノイン酸のラット胎児への影響（頭蓋骨）

用量 (mg/kg)	胎児数	低形成または無形成					
		前頭骨 (%)	側頭骨 (%)	上顎骨 (%)	下顎骨 (%)	上後頭骨 (%)	鼓室輪 (%)
60	72	60 (83.3) **	72 (100.0) **	56 (77.8) **	71 (98.6) **	61 (84.7) **	65 (90.3) **
40	72	45 (62.5) **	41 ( 56.9) *	9 (12.5) *	33 (45.8) **	49 (68.1) **	47 (65.3) **
0 (オリーブ油)	115	8 ( 7.0)	1 ( 0.9)	0	0	22 (19.1)	0

\*：マン・ホイットニーのU検定において対照群に比べ有意な差（\*：p<0.05, \*\*：p<0.01）を示す

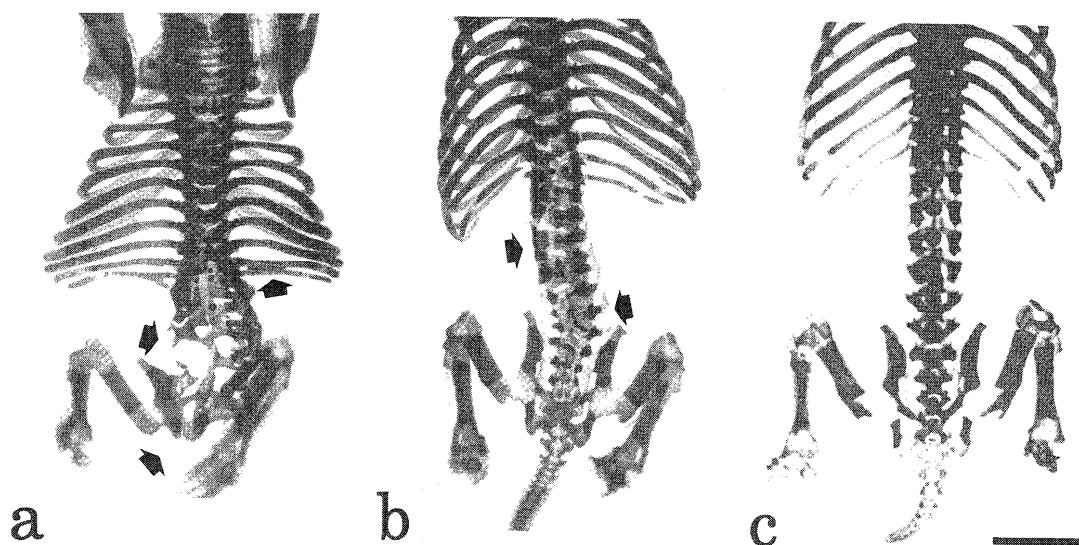


図2 ラット胎児の骨格像

- a 妊娠10日に60 mg/kg のレチノイン酸を投与した母獣から得た奇形を持つラット胎児の脊椎骨と尾椎を含む背面像 腰仙部における脊椎骨の開裂、尾椎の無形成、癒合椎骨、癒合肋骨を示す（矢印）
- b 妊娠10日に40 mg/kg のレチノイン酸を投与した母獣から得た奇形を持つラット胎児の脊椎骨と尾椎を含む背面像 腰仙部における脊椎骨の癒合、不整配列、を示す（矢印）
- c 妊娠10日にオリーブ油を投与した母獣から得たラット胎児の脊椎骨と尾椎を含む背面像（コントロール）  
横棒=0.5cm

与群で上顎骨と下顎骨の癒合した胎児が全観察胎児の12.5%に出現し、対照群との間に有意な差を示した。しかし他の奇形については対照群との間に有意差は無く、40 mg/kg投与群では上顎骨と下顎骨の癒合が1例出現したのみであった。

表5は胸椎の異常とその奇形の型および骨化数を示す。椎弓は両投与群で、椎体については40 mg/kg投与群のみに対照群に比べて有意に骨化の抑制が見られた。椎体の分離が対照群で約30%の胎児に見られたが、RA投与群では60 mg/kg投与群、40 mg/kg投与群でそれぞれ79.2%、83.3%の胎児に認められ、両投与群共に対照群に比べ有意に高い値であった。椎弓癒合は、投与群において対照群と比べ有意差を示した。さらに椎体の低

形成や癒合した椎体をもつ胎児の数も対照群に比べ有意に高かった。

表6は肋骨の骨化数、低形成および無形成を示す。60 mg/kg投与群で左右それぞれ $12.4 \pm 0.62$ 、 $12.5 \pm 0.89$ 、40 mg/kg投与群では左側が $12.7 \pm 0.36$ といずれも対照群の $13.0 \pm 0$ に比べ有意差が認められた。対照群では波状肋骨が約10%の胎児に見られたが、それ以外の形態的異常は認められなかった。RA投与群では癒合肋骨を持つ胎児が60 mg/kg、40 mg/kg投与群でそれぞれ31.9%、15.3%に出現した。また短小肋骨（肋骨低形成）を持つ胎児は60 mg/kg投与群で22.2%、40 mg/kg投与群で19.4%に出現し、いずれも対照群との間に有意差を示した。その他の奇形については、40 mg/kg投与群

表4 妊娠10日に投与されたレチノイン酸のラット胎児への影響（骨原基の癒合頻度）

用量 (mg/kg)	胎児数	上顎骨と下顎骨 (%)	側頭骨と下顎骨 (%)	上顎骨側頭骨および下顎骨 (%)
60	72	9 (12.5)*	8 (11.1)	8 (11.1)
40	72	1 (1.4)	0	0
0 (オリーブ油)	115	0	0	0

\*：マン・ホイットニーのU検定において対照群に比べ有意な差 (\*：p<0.05) を示す

表5 妊娠10日に投与されたレチノイン酸のラット胎児への影響（胸椎）

用量 (mg/kg)	胎児数	胸椎の骨化数 (平均±SD)	奇 形					
			椎 体			椎 弓		
			分離 (%)	短小 (%)	癒合 (%)	癒合 (%)	変形 (%)	短小 (%)
60	72	B 12.2±2.07 Ar 12.6±0.29* I 12.6±0.64*	57 (79.2)***	35 (48.6)***	20 (27.8)**	44 (61.1)***	14 (19.4)*	2 (2.8)
40	72	B 12.8±0.38* Ar 12.8±0.34* I 12.8±0.26*	60 (83.3)***	29 (40.3)***	16 (22.2)**	29 (40.3)***	3 (4.2)	0
0 (オリーブ油)	115	B 13.0±0 Ar 13.0±0 I 13.0±0	35 (30.4)	3 (2.6)	0	0	0	0

\*：マン・ホイットニーのU検定において対照群に比べ有意な差 (\*：p<0.05, \*\*：p<0.01, \*\*\*：p<0.001) を示す  
B：椎体、A：椎弓、r：右、l：左

表6 妊娠10日に投与されたレチノイン酸のラット胎児への影響（肋骨）

用量 (mg/kg)	胎児数	骨化した肋骨数 (平均±SD)	低形成または無形成					
			癒合 (%)	短小 (%)	波状 (%)	分離 (%)	枝分れ (%)	痕跡 (%)
60	72	r 12.5±0.89* l 12.4±0.62**	23 (31.9)***	16 (22.2)***	13 (18.1)	4 (5.6)	1 (1.4)	1 (1.4)
40	72	r 12.8±0.46 l 12.7±0.36*	11 (15.3)*	14 (19.4)**	8 (11.1)	9 (12.5)*	1 (1.4)	5 (6.9)
0 (オリーブ油)	115	r 13.0±0 l 13.0±0	0	0	11 (9.6)	0	0	0

\*：マン・ホイットニーのU検定において対照群に比べ有意な差 (\*：p<0.05, \*\*：p<0.01, \*\*\*：p<0.001) を示す  
r：右、l：左

で分離肋骨を持つ胎児が12.5%に出現し、対照群との間に有意差を示した。波状肋骨については、60 mg/kg、40 mg/kg投与群で18.1%、11.1%とそれぞれ認められたが、対照群でも9.6%に出現し、この間に有意な差は示さなかった。

分枝・痕跡肋骨を持つ胎児も両投与群に若干見られたが、いずれも対照群との間に有意差は認められなかった。

表7は腰椎の椎体および椎弓異常を示す。腰椎の骨化数は60 mg/kg投与群のみ椎体、椎弓共に対照群より有

意に低値を示した。対照群では分離椎体を持つ胎児が1例見られたのみで他の奇形はまったく見られなかった。60 mg/kg、40 mg/kg投与群でそれぞれ分離椎体を持つ胎児が58.3%、76.4%に、椎体低形成を示した胎児は62.5%、43.1%、癒合椎体を持つ胎児が44.4%、47.2%、さらに癒合椎弓を持つ胎児は84.7%、56.9%に認められ、いずれも対照群との間に有意差を示した。また両投与群で椎弓低形成および椎弓分離を示した胎児が小数出現したが、対照群との間に有意差は見られなかった。

表8は腰椎後椎骨（仙尾椎）の異常および脊椎裂を示

す。腰椎と同様に、60 mg/kg 投与群で椎体、椎弓共に、また40 mg/kg 投与群では椎体の骨化抑制が対照群と比べ有意に認められた。腰椎下部から仙尾椎において椎弓が正常に閉鎖せずに開いた状態になっている（脊椎裂）胎児は、対照群では1例も認められなかったが、60 mg/kg、40 mg/kg 投与群ではそれぞれ81.9%、50.0%に出現し、対照群との間に有意差を示し、用量効果関係が認められた。

表9に内臓奇形の型を示す。60 mg/kg 投与群において最も頻発した奇形は水腎（右24.3%、左35.1%）および尿管水腫（右24.3%、左32.4%）であり、対照群（0%）と比べて有意に高い値を示した。しかし40 mg/kg 投与群では有意差は認められなかった。その他には膀胱の膨張や低形成、腎臓の尾側への位置異常や精巢の頭側よりの位置異常、腹腔内出血、副腎の無形成が両投与群で少数出現したが、いずれも対照群との間に有意差は認められなかった。

考 察

DAラットの妊娠10日にRAの60 mg/kgと40 mg/kgを単回で経口投与し、その末期に胎児を調べた結果、

種々の奇形が誘発された（表1, 2）。60 mg/kg 投与群では全ての胎児に何らかの奇形を誘発し、また胎児の死亡率や平均胎児体重、奇形の発生率および奇形の形は、前回の実験とよく似ておりこの実験における再現性が認められた。胎児の成長を抑制し、正常な発生を妨げるような因子が働いたものと考えられる。しかし40 mg/kg 投与群では60 mg/kg 投与群よりは平均胎児体重も少し大きく、奇形の発生率もやや低くなっており、良好な用量効果関係が見られたが、抑制の程度が少なく働いたものと思われる。

外表検索で認められた二分脊椎について60 mg/kgと40 mg/kg 投与群でそれぞれ58.7%、28.4%に出現を見たが（表2）、骨軟骨二重染色法によって検索した結果、腰椎から仙椎にかけて椎弓が開いている胎児が60 mg/kgと40 mg/kg 投与群で81.9%、50.0%とそれぞれ高くなっていった（表8）。すなわち外表奇形で認められる二分脊椎の頻度と骨染色による椎弓開離の存在との間に約20%の差がある。このことは潜在性の二分脊椎が約20%存在することを意味する。またマウスで見られたような潜在性二分脊椎の胎児の腰椎上にある皮膚表面の変化<sup>22)</sup>、例えば血腫等は今回の実験ラットでは存在し

表7 妊娠10日に投与されたレチノイン酸のラット胎児への影響（腰椎）

用量 (mg/kg)	胎児数	胸椎の骨化数 (平均±SD)	奇 形					
			分離 (%)	椎 体 短小 (%)	癒合 (%)	癒合 (%)	椎 弓 変形 (%)	短小 (%)
60	72	B 4.5±1.50*** Ar 4.9±1.29** 1 4.9±1.19***	42 (58.3) **	45 (62.5) **	32 (44.4) **	61 (84.7) **	4 (5.6)	1 (1.4)
40	72	B 5.6±1.10 Ar 5.8±0.97 1 5.9±0.95	55 (76.4) **	31 (43.1) **	34 (47.2) **	41 (56.9) **	7 (9.7)	1 (1.4)
0 (オリーブ油)	115	B 6.0±0 Ar 6.0±0 1 6.0±0	1 (0.9)	0	0	0	0	0

\*：マン・ホイットニーのU検定において対照群に比べ有意な差 (\*\*：p<0.01, \*\*\*：p<0.001) を示す  
B：椎体、A：椎弓、r：右、l：左

表8 妊娠10日に投与されたレチノイン酸のラット胎児への影響（腰椎後椎骨）

用量 (mg/kg)	胎児数	脊椎裂 (%)	仙椎骨の不正配列 (%)	尾椎の無形成 (%)	腰椎後椎骨の骨化数 (平均±SD)
60	72	59 (81.9) ***	14 (19.4) **	52 (72.2) ***	B 2.2±1.26*** Ar 2.7±0.93*** 1 2.6±0.96***
40	72	36 (50.0) ***	8 (11.1) *	28 (38.9) **	B 3.0±1.28*** Ar 3.3±0.84 1 3.4±0.83
0 (オリーブ油)	115	0	0	0	B 5.0±0.66 Ar 4.3±0.53 1 4.4±0.61

\*：マン・ホイットニーのU検定とt検定において対照群に比べ有意な差 (\*：p<0.05, \*\*：p<0.01, \*\*\*：p<0.001) を示す。B：椎体、A：椎弓、r：右、l：左

表9 レチノイン酸により発生したラット胎児の内臓奇形

投与日	胎児数	腎 臓							
		水腎 (%)		無形成 (%)		低形成 (%)		位置異常	
		r	l	r	l	r	l	r	l
60	37	9 (24.3) *	3 (35.1) **	5 (13.5)	6 (16.2)	2 (5.4)	3 (8.1)	2 (5.4)	2 (5.4)
40	32	0 (0)	3 (9.4)	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
0 (オリーブ油)	46	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

	尿 管				膀 胱			腹腔内出血 (%)	副腎無形成 (%)
	水腫 (%)		無形成 (%)		拡大 (%)	低形成 (%)	停留睪丸		
	r	l	r	l					
	9 (24.3) *	2 (32.4) **	5 (13.5)	6 (16.2)	3 (8.1)	2 (5.4)	3 (8.1)	0 (0)	0 (0)
	3 (9.4)	4 (12.5)	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3.1)	3 (9.4)	2 (6.3)
	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2.2)	0 (0)

\*：マン・ホイットニーのU検定とt-検定において対照群に比べ有意な差 (\*：p<0.05, \*\*：p<0.01)を示す  
r：右、l：左

なかった。椎弓の分離が比較的少ない胎児は潜在性二分脊椎となり、強くRAの影響を受けた胎児は椎弓そのものの形成が抑制され開放性の二分脊椎へと発展していくものと考えられる。開放性二分脊椎を呈した胎児は全例において尾椎の低形成あるいは無形成を示し、中軸骨格の形成において腰椎以下の骨形成の抑制と二分脊椎との関係が示唆された。二分脊椎は神経管閉鎖不全に基づいて発生することが知られている<sup>23)</sup>。神経管が閉鎖しない過程については種々考えられるが、RAの神経上皮細胞に対する直接的な作用もその一つであり、マウスでの以前の実験で頭部神経上皮細胞に対してRAがその細胞骨格や蛋白合成に影響を与えて正常な神経管形成を阻害すること、さらに神経堤細胞にも作用して将来の形態形成に影響を及ぼすことが報告されている<sup>24)</sup>。

内臓の検索ではRAの60 mg/kg投与群において、水腎症と尿管水腫が対照群に比べ有意に高い数値を示した(表9)。これはRAによって下部尿路系のどこかで閉塞あるいは狭窄が誘導されその結果による二次的な奇形と考えられる。

まとめ

DAラットの妊娠10日にRAを60 mg/kg、40 mg/kg、0 mg/kg (オリーブ油のみ)の濃度で単回経口投与し、妊娠20日にその胎児を調べた。外表奇形として、60

mg/kg投与群で口蓋裂、眼球突出、巨舌、小顎、小口、二分脊椎、鎖肛、無尾など多種類の奇形の出現が見られた。40 mg/kg投与群でも同様の奇形が発生したが、60 mg/kg投与群と比べてその発生率が低く、奇形発現とRA投与量の間用量効果関係が認められた。また骨軟骨二重染色の標本を調べた結果、主として顔面頭蓋部や中軸骨格の異常が多数認められた。このことはRAの神経上皮や神経堤細胞分化に対する影響によると考えられる。

謝 辞

稿を終るにあたり、ご指導、ご校閲賜りました安田佳子教授に深謝の意を捧げます。

文 献

- 1) 小西啓悦：レチノイン酸の胎生期暴露がラット胎児の発生に及ぼす影響。四條啜学園大学 リハビリテーション学部紀要。1:7-13, 2005
- 2) Strauss JS, Windhorst DB, Weinstein GD. Oral retinoids : A workshop. J Am Acad Dermatol. 6:573-832, 1982
- 3) Peck GL, Retinoids. Therapeutic use in dermatology. Drugs. 24:341-351, 1982
- 4) Goureaux J, Mathe G, Hercend T, et al. Degree of bronchial metaplasia in heavy smokers and its regression

- after treatment with a retinoid. *Lancet*. 1:710 – 712, 1982
- 5) Kessler JF, Mevskens F1 JR, Levine N, et al. Treatment of cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoiders) with 13-cis-retinoic acid. *Lancet*. 1:1345 – 1347, 1983
  - 6) Kochhar DM. Teratogenic activity of retinoic acid. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand*. 70:398 – 404, 1967
  - 7) Kochhar DM, Aydelotte MB. Susceptible stages and abnormal morphogenesis in the developing mouse limb, analysed in oegan culture after transplacental exposure to vitamin A (retinoic acid). *J Emryol Exp Morphol*. 31:721 – 734, 1974
  - 8) Kwasigroch TE, Kochhar DM. Production of congenital limb defects with retinoic acid.:phenomenological evidence of progressive differentiation during limb morphogenesis. *Anat Embryol*. 161:105 – 113, 1980
  - 9) Newall DR, Edwards JRG. The effects of vitamin A on fusion of mouse palates. II. Retinyl palmitate, retinal, and retinoic acid in vitro. *Teratology*. 23:125 – 130, 1981
  - 10) Kochhar DM, Penner JD, Tellone CL. Comparative teratogenic activities of two retinoids:Effects on palate and limb development. *Teratogenesis Carcinog Mutagen*. 4:377 – 387, 1984
  - 11) Johnston MC, Sulik KK, Webster WS, et al. Isotretinoin embryopathy in a mouse model:Cranial neural crest involvement. *Teratology*. 32:26A – 27A, 1985
  - 12) Jarvis BL, Johnston MC, Webster WS, et al. Isotretinoin-induced ear malformations in mice. *Teratology*. 32:27A, 1985
  - 13) Wiley MJ, Tibbles LA, Wong M. A comparative study of the effects of retinoic acid on the morphology of caudal tissues in mouse and hamster embryos during the 24 hours after maternal treatment. *Teratology*. 32:49A, 1985
  - 14) Kistler A. Teratogenesis of retinoic acid in rats:susceptible stages and suppression of retinoic acid-induced limb malformation by cycloheximide. *Teratology*. 23:25 – 31, 1981
  - 15) Steele CE, Trasler DG, New DAT. An vivo/invitro evaluation of the teratogenic action of excess vitamin A. *Teratology*. 28:209 – 214, 1983
  - 16) Shenefelt RB. Morphogenesis of malformations in hamsters caused by retinoic acid:relation to dose and stage at treatment. *Teratology*. 5:103 – 118, 1972
  - 17) Taylor IM, Wiley MJ, Agur A. Retinoic acid-induced heart malformations in the hamster. *Teratology*. 21:193 – 197, 1980
  - 18) Wiley MJ. The pathogenesis of retinoic acid-induced vertebral abnormalities in goldenhamster fetuses. *Teratology* 28:341 – 353, 1983
  - 19) Wiley MJ, Cauwenbergs P, Taylor IM. Effects of retinoic acid on the development of the facial skeleton in hamsters:early changes involving cranial neural crest cells. *Acta Anat*. 116:180 – 192, 1983
  - 20) Inoue M. Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by alcian blue and alizarin red S. *Cong Anom*. 16:171 – 173, 1976
  - 21) Barrow MV, Taylor Wj. A rapid method for detecting malformations in rat fetuses. *J Morphol* . 127:291 – 306, 1969
  - 22) Yasuda Y, Okamoto M, Konishi H, et al. Developmental anomalies induced by all-trans-retinoic acid in fetal mice: I. Macroscopic findings. *Teratology*. 34:37 – 49, 1986
  - 23) Lendon RG, The embryogenesis of trypanblue induced spina bifida aperta and short tail in the rat. *Dev Med Child Neurol*. 17:3 – 10, 1975
  - 24) Yasuda Y, Konishi H, Kihara T, et al. Developmental anomalies by all-trans-retinoic acid in fetal mice: II. Induction of abnormal neuroepithelium. *Teratology*. 35:355 – 366, 1987



## **Expression pattern of malformations induced by prenatal exposure to retinoic acid in rats**

Hiroyoshi Konishi

Shijonawate Gakuen University

Faculty of rehabilitation

### **Key words**

retinoic acid, developmental anomalies, teratogenicity, rat fetus

### **Abstract**

The administration of a single dose of all-trans retinoic acid (RA) on day 10 of gestation to pregnant rats, DA strain, led to malformed fetuses in all of the litters. RA was dissolved in olive oil and given in doses of 60 or 40 mg/kg of body weight. The control rats were given vehicle alone. Examination on day 20 of gestation of the fetuses exposed to 60mg/kg showed various malformations, such as cleft palate, exophthalmus, micrognathia, spina bifida, taillessness, tail anomalies, hydronephrosis, hydroureter. The fetuses exposed to 40mg/kg of RA had malformations similar to those exposed to 60mg/kg. The lethal effect of RA, the wide range of types of malformations, and the incidence of multiple anomalies were seen more often after exposure to the higher (60mg/kg) than to the lower (40mg/kg) dose. Examinations of double-stained preparations of bone and cartilage revealed agenesis and hypogenesis of cranio-facial and axial skeletal bones. These results suggest that RA affected neural crest cells of the cephalic, trunk and caudal regions leading to arrest of their normal differentiation.