オファコルカプセル 50 mg
に関する資料

第 2 部：CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5　薬物動態試験概要表

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、株式会社レクメドに帰属するものであります。当該情報を適正使用以外の営利目的に本資料を利用することはできません。

株式会社レクメド

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 5
2.6.5.1 薬物動態試験：概要 5
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 7
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 8
2.6.5.3.A (Hulzebos, et al., 2001): Measurement of parameters of cholic acid kinetics in plasma using a microscale stable isotope dilution technique: application to rodents and humans 8
2.6.5.3.B (Weiner & Lack, 1962): “Absorption of bile salts from the small intestine in vivo” 10
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 11
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 12
2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合 13
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 14
2.6.5.7.A (Hassan & Subbiah, 1980): “Bile acids in the fetal rat” 14
2.6.5.7.B (Little, et al., 1975): “Bile-salt metabolism in the primate fetus” 15
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 18
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：In vivo 19
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：In vitro 20
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 21
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導・阻害 22
2.6.5.12.A (Ryu , et al., 2021): Evaluation for Potential Drug-Drug Interaction of MT921 Using In Vitro Studies and Physiologically-Based Pharmacokinetic Models 22
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 23
2.6.5.13.A (Lindstedt & Norman, 1955): “On the excretion of bile acid derivatives in faeces of rats fed cholic acid-24-^{14}C and chenodesoxycholic acid-24-^{14}C” 23
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 24
2.6.5.15 薬物動態試験：その他 25
2.6.5.15.A (Ostrower, et al., 1974): “Effect of Phenobarbital on intestinal cholic acid absorption in the rat” 25
2.6.5.15.B (Redinger & Small, 1973): “The effect of Phenobarbital upon bile salt synthesis and pool size, biliary lipid secretion, and bile composition” 27
2.6.5.15.C (Cronholm, et al., 1974): “Changes in In Vivo metabolism of bile acids in rat after treatment with phenobarbital” 31
2.6.5.15.D (Azer & Stacey, 1994): “Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels” 33
2.6.5.15.E (Barth, et al., 2006): “Influence of Verapamil and Cyclosporin A on bile acid metabolism and transport in rat liver slices” 39
2.6.5.16 参照文献 40

略語一覧

3β-HSD	3β-hydroxy -Δ^5-steroid oxidoreductase
Δ^4-3-oxoR	Δ^4-3-oxosteroid-5β-reductase
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	アデノシン三リン酸
BA	胆汁酸
BSEP	胆汁酸塩排出ポンプ
CA	コール酸
CDCA	ケノデオキシコール酸
CH	コレステロール
CSI	コレステロール飽和度
DCA	デオキシコール酸
EE	心内膜内皮
est	推定
FAB-MS	高速原子衝撃質量分析
FXR	ファルネソイド X 受容体
FTR	代謝回転率
GC-MS	ガスクロマトグラフィー質量分析
GLP	医薬品の非臨床試験の実施の基準
HMG	ヒドロキシメチルグルタリル
HPLC	高圧液体クロマトグラフィー
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
i.d.	十二指腸内
i.m.	筋肉内
i.p.	腹腔内
i.v.	静脈内
LRH	肝臓受容体ホモログ
LXR	肝臓 X 受容体
MDR	多剤耐性トランスポーター
MF	実験動物用固形飼料
NAD	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
$NaHCO_3$	炭酸水素ナトリウム
n.d.	未測定
NTCP	ナトリウム・タウロコール酸塩共トランスポーター
OATP	有機アニオントランスポータータンパク質
PBS	リン酸緩衝液
PL	リン脂質
PPP	乏血小板血漿

審査官への留意事項

これらの薬物動態の概要文は、極めて多様な文献情報から得たデータを集めたものである。このため、各情報源では、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH 基準）、及び GLP に適合しておらず、利用可能なデータに合わせてデータの提示法を調整する必要があった。

薬物動態の概要には文献のみを収録しており、各文献が ICH 基準で規定された非臨床モジュール中の様々なセクションと関わる可能性がある。そこで、申請者の判断により、情報を提示するのに最も適したセクションを決定した。

動物に投与したコール酸の濃度又は量を計算するために、以下のように仮定した。

動物種	齢	性別	体重（推定）	1 日摂餌量（推定）
マウス [1][2]	成熟	雄	20～40 g	15 g/100 g 体重
		雌	20～30 g	15 g/100 g 体重
	若齢	雄	10 g（3 週齢）	15 g/100 g 体重
		雌	10 g（3 週齢）	15 g/100 g 体重
ラット [3]	成熟	雄	100～500 g	5 g/100 g 体重
		雌	100～400 g	5 g/100 g 体重
	若齢	雄	50 g（3 週齢以下）	5 g/100 g 体重
		雌	50 g（3 週齢以下）	5 g/100 g 体重

1 http://www.uwm.edu/Dept/EHSRM/ACP/MANUAL/mouse.pdf
2 http://www.criver.com/SiteCollectionDocuments/rm_rm_c_C57BL6_mouse_weight_chart.pdf
3 http://www.uwm.edu/Dept/EHSRM/ACP/MANUAL/rat.pdf

2.6.5　薬物動態試験概要表

2.6.5.1　薬物動態試験：概要

被験物質：コール酸

試験の種類	試験系	投与経路	用量	試験施設	筆頭著者及び研究実施年	標題	CTD での記載場所
吸収	ラット及びマウス	実験 2：十二指腸内注射 実験 3：心臓への注射 実験 4：静脈内注射	実験 2：総量 250 µL の 0.5% $NaHCO_3$/PBS 中、7 mg の $[^2H_4]$コール酸 実験 3：総量 250 µL の 0.5% $NaHCO_3$/PBS 中、5 mg の $[^2H_4]$コール酸 実験 4：0.5% $NaHCO_3$ 溶液中、210 µg の $[^2H_4]$コール酸	University Hospital Groningen, Hanzeplein 1, 9700 RB Groningen, The Netherlands	(Hulzebos, et al., 2001)	Measurement of parameters of cholic kinetics in plasma using a microscale stable isotope dilution technique: application to rodents and humans	4.2.2.2-2
	モルモット	小腸の遠位部又は近位部への注射	タウロコール酸 6 mg 又は 30 mg	The John Hopkins School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA	(Weiner & Lack, 1962)	Absorption of bile salts from the small intestine in vivo	4.2.2.2-4
分布	ラット	投与なし	投与なし	University of Cincinnati, Ohio 45267, USA	(Hassan & Subbiah, 1980)	Bile acids in the fetal rat: Effect of maternal bile duct ligation	4.2.2.3-1
	サル	頸静脈内注入	2.5 mL の生理食塩水に溶解したトレーサー量の$[^{14}C]$コール酸塩	University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, Pennsylvania, USA Boston University School of Medicine, and the Surgical Service, Boston Veterans Administration Hospital, Boston, Massachusetts, USA	(Little, et al., 1975)	Bile-salt metabolism in the primate fetus	4.2.2.3-2
排泄	ラット	腹腔内注射		不明	(Lindstedt & Norman, 1955)	On the excretion of bile acid derivatives in feces of rats fed cholic acid-24- ^{14}C and chenodesoxycholic acid- 24-^{14}C	4.2.2.5-1

2.6.5.1　薬物動態試験：概要　（続き）

被験物質：コール酸

試験の種類	試験系	投与経路	用量	試験施設	筆頭著者及び研究実施年	標題	CTD での記載場所
薬物動態学的薬物相互作用	ラット	回腸係蹄潅流	[^{14}C]コール酸 1 µmol 当たり 1000～45,000 dpm	University of Colorado medical Center, Denver, Colorado, USA	(Ostrower, et al., 1974)	Effect of Phenobarbital on intestinal cholic acid absorption in the rat	4.2.2.6-5
	アカゲザル	胆汁瘻及び十二指腸瘻の留置を介した腸肝循環の計画的遮断	該当せず	不明	(Redinger & Small, 1973)	The effect of Phenobarbital upon bile salt synthesis and pool size, biliary lipid secretion, and bile composition	4.2.2.6-6
	ラット	腹腔内	0.5 mg/kg	Karolinska Institutet, Serafimerlasarettel, Stockholm, Sweden	(Cronholm, et al., 1974)	Changes in In vivo metabolism of bile acids in rat after treatment with phenobarbital	4.2.2.6-4
	ラット	腹腔内及び in vitro	取込み実験：胆汁酸基質 10 µL（最終濃度 10～100 µL）、コール酸共インキュベーション試験：10 µL	The Toxicology Unit, Institute of Occupational Health and Safety, The University of Sydney, Sydney, Australia	(Azer & Stacey, 1994)	Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels	4.2.2.6-1
	ラット	In vitro	コール酸 5 µL	Institute of Pharmacology and Toxicology, Friedrich Schiller University Jena, Germany	(Barth, et al., 2006)	Influence of Verapamil and Cyclosporin A on bile acid metabolism and transport in rat liver slices	4.2.2.6-2

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

文献全体にわたって用いられている分析方法が異なるため、概要を統合しても有用ではない。使用した各分析方法の詳細な説明については、個々の文献を参照のこと（4.2.2 項）。

2.6.5.3　薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.A　(Hulzebos, et al., 2001): Measurement of parameters of cholic acid kinetics in plasma using a microscale stable isotope dilution technique: application to rodents and humans

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：Measurement of parameters of cholic acid kinetics in plasma using a microscale stable isotope dilution technique: application to rodents and humans</td><td>筆頭著者及び研究実施年：
(Hulzebos, et al., 2001)</td><td>CTD での記載場所：4.2.2.2-2</td></tr>
<tr><td colspan="3">参照：J. Lipid Res.42: 1923-1929</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：ラット／Wistar 及びマウス／FVB</td><td>投与期間：単回投与</td><td colspan="2">投与方法：
実験 2：十二指腸内注射
実験 3：心臓への注射
実験 4：静脈内注射</td></tr>
<tr><td>給餌条件：不明</td><td>投与例数：
ラットの血漿中及び胆汁中で測定したコール酸動態の比較用：4
マウスにおける[$^2H_4$]コール酸動態の測定用：6</td><td colspan="2">溶媒／製剤：7 mg の[$^2H_4$]コール酸を総量 250 µL の 0.5% $NaHCO_3$/PBS 中に含むボーラス</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：この研究では、in vivo でのコール酸の動態、具体的には Wistar ラット及び FVB マウスにおけるプールサイズ、代謝回転率（FTR）及び合成速度の測定を可能にするマイクロスケール安定同位体希釈法の開発を取り上げている。
ペンタフルオロベンジル - トリメチルシリル誘導体化を適用して、ガス - 液体クロマトグラフィー／電子捕獲負化学イオン化 - 質量分析によって 50 µL の血漿試料中で投与した[2,2,4,4-$^2H_4$]コール酸濃縮の崩壊を時間単位で測定した。
実験 2：ラットの血漿及び胆汁中で測定したコール酸動態の比較
3 例のラットを個別に飼育し、胆管、十二指腸及び心臓に永久カテーテルを装着した。腸肝循環が損なわれないようにするために、胆管及び十二指腸のカテーテルを接続した。術後 5 日目の動物に、7 mg の[$^2H_4$]コール酸を含む総量 250 µL の 0.5% $NaHCO_3$/リン酸緩衝食塩水（PBS）を、十二指腸カテーテルからボーラス投与した。投与された標識コール酸の量は、内因性胆汁酸プールの約 10%に等しいと推定された。[$^2H_4$]コール酸投与の 1、3、4.5、6、9、12、21、24、48、72 及び 96 時間後に、心臓カテーテルから血液試料（250 µL）を収集した。胆汁試料（50 µL）は、血液試料と同時に、胆管カテーテルより約 2 分で採取した。胆汁の採取後、腸肝循環を直ちに回復させた。血液を 4000 rpm で 10 分間遠心分離させた。血漿及び胆汁試料は、分析まで-20°C で保存した。</td></tr>
</table>

2.6.5.3.A　(Hulzebos, et al., 2001): “Measurement of parameters of cholic acid kinetics in plasma using a microscale stable isotope dilution technique: application to rodents and humans”（続き）

特記事項：実験 3：コレスチラミン処置のコール酸動態に対する影響
12 例のラットに心臓カテーテルを装着し、各 6 例ずつ 2 群に無作為に分けた。1 群には通常の固形飼料を自由に摂取させ（対照）、もう 1 群には通常の固形飼料に 1%（w/w）のコレスチラミンを添加して 7 日間与えた。5 日目に、PBS 溶液中の[$^2H_4$]コール酸 5 mg を心臓カテーテルから投与した。[$^2H_4$]コール酸の注射前のほか注射の 3、4.5、6、12、24、30 及び 48 時間後に、心臓カテーテルから血液試料を採取した。
実験 4：マウスにおける[$^2H_4$]コール酸動態の測定
マウスにおける胆汁酸の動態を測定するために、6 例の雄マウスを個別に飼育した。7 日目に、210 µg の[$^2H_4$]コール酸の 0.5% NaHCO3/PBS 溶液をハロタン麻酔下で陰茎静脈にゆっくりと注射した。6、23、48 及び 72 時間後（n = 3）に、ハロタン麻酔下で尾出血させて血液試料（225 µL）を採取した。ベースラインの同位体存在度測定に用いた試料は、別のマウス群から心臓穿刺によって採取した。血液をヘパリン含有ミクロヘマトクリット管に採取し、遠心分離して血漿を得た。遠心分離（4000 rpm、10 分間）後、血漿を分析まで-20°C で保存した。
表 2.6.5-1 に、ラット及びマウスにおけるコール酸プールサイズ、FTR 及び合成速度を示す。ラット胆汁の値と血漿による値とにほとんど差はなかった

表 2.6.5-1 ラット、マウス、ヒトの血漿を対象として[$^2H_4$]コール酸の同位体濃縮測定で求めたコール酸のプールサイズ、代謝回転率及び合成速度

動物種	プールサイズ µmol/kg 体重 a	FTR 1 日当たり	合成速度 µmol/kg 体重 a
ラット	106 ± 12	0.88 ± 0.10	93 ± 01
マウス	168 ± 21	0.44 ± 0.03	73 ± 16
ヒト	24 ± 7	0.46 ± 0.14	10 ± 2

a 文献内のデータから kg に換算

しかし、著者らは、この実験で得られたプールサイズ、FTR 及び合成速度の絶対値は、実験中の胆汁の除去（1 回の採取につき約 5%）の影響を強く受けるため、生理学的意味を持たないと警告している。

特記すべき所見：
コレスチラミン処置ラットでは、コール酸プールサイズがわずか（-21%）ながら有意に減少した（84 ± 19 µmol/kg 体重対 107 ± 12 µmol/kg 体重、P < 0.05）。コレスチラミン処置ラットでは予想どおりコール酸の FTR 及び合成速度が有意に高値で、それぞれ 1.89 ± 0.29/日対 0.88 ± 0.11/日（P < 0.005）及び 157 ± 34 µmol/kg 体重対 93 ± 1 µmol/kg 体重（P < 0.05）であった。
ラットとマウスとではコール酸プールサイズ及び合成速度にほとんど差がなかったが、ヒトよりも著しく高値であった。対照的に、FTR はラットよりもマウスが著しく低値であった。

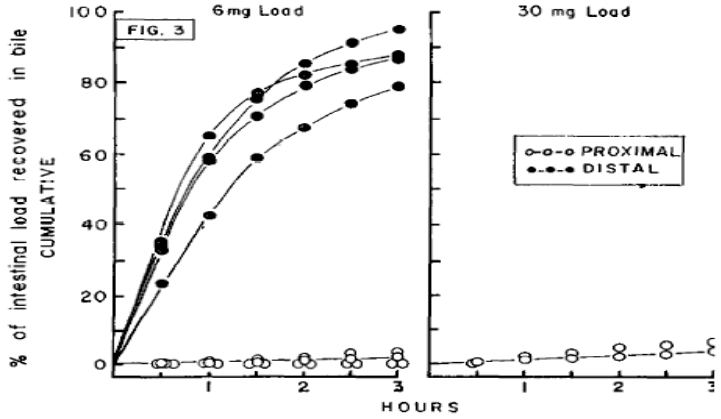
2.6.5.3.B　(Weiner & Lack, 1962): “Absorption of bile salts from the small intestine in vivo”

研究の標題：in vivo における小腸からの胆汁酸塩の吸収		筆頭著者及び研究実施年：　(Weiner & Lack, 1962)	CTD での記載場所：4.2.2.2-4
		参照：Am J Physiol. 1962 Jan;202: 155-7	
動物種／系統：モルモット／Hartley	投与期間：単回投与	投与方法： 小腸の遠位部又は近位部への注射	
給餌条件：絶食	投与例数：4	溶媒／製剤：pH 約 7.0 の 0.01 M リン酸カリウム緩衝液を含む生理食塩水 3 mL 中 6 mg 又は 30 mg のタウロコール酸	

特記事項：この研究では、モルモットから摘出した小腸部に注入したコール酸の胆汁排泄を測定することにより、in vivo におけるモルモット小腸からの胆汁酸塩の吸収を検討した。
雌の Hartley モルモットをエーテルで麻酔して腹部を開き、胆嚢管を結紮して総胆管にチューブを挿入した。閉腹し、胆汁を 30 分間採取した。その後、再開腹し、リン酸カリウム緩衝液を含む生理食塩液 3 mL 中に胆汁酸塩を 6 mg 又は 30 mg 含む溶液を結紮した腸部分に導入した。腹部を縫合して閉じ、胆汁の 30 分間採取を 6 回行った。実験期間を通して軽いエーテル麻酔を維持し、実験終了時に動物を屠殺した。

特記事項：結果は、腸管への導入量に対する百分率として表した胆汁中のコール酸誘導体の累積排泄量（図 2.6.5-1）及び各動物から得られた対照胆汁の非特異的吸光度で補正した値として示す。

図 2.6.5-1 モルモット胆汁瘻の小腸部に導入した胆汁酸塩の胆汁中の回収率



各曲線は 1 例分の実験を表す。各点を描出できるように、白丸は時間軸に沿って少しずつずらした。

特記すべき所見：
コール酸は、小腸の近位部よりも主に遠位部で吸収されることが示された。

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

反復投与後の吸収に関する公開文献は確認されなかった。

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

臓器分布に関する公開文献は確認されなかった（ただし、2.6.5.7.B も参照のこと）。

2.6.5.6 薬物動態試験：タンパク結合

血漿タンパク質結合に関する文献は確認されなかった。

2.6.5.7　薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7.A　(Hassan & Subbiah, 1980): “Bile acids in the fetal rat”

研究の標題：ラットの胎児における胆汁酸		筆頭著者及び研究実施年：（Hassan & Subbiah, 1980) 参照：Steroids 36, 709-715.	CTD での記載場所：4.2.2.3-1
動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley	投与期間：該当せず	投与方法：使用なし	
給餌条件：該当せず	投与例数：5～7	溶媒／製剤：使用なし	

特記事項：この研究では、Sprague‐Dawley ラットを用いて、妊娠中の胆管結紮による実験的胆汁うっ滞が胎児の胆汁酸含量及び組成に及ぼす影響を検討している。
妊娠 9 日目に、妊娠した Sprague‐Dawley ラットの胆管を結紮した。妊娠 21 日目に、両群から無作為に選択した動物をエーテルで麻酔し、心臓穿刺により採血することで失血させ、胎児を分析した。胎児における胆汁酸プールの分析には消化管全体を用いた。胆汁酸分析のために、5～7 例の胎児の消化管及び肝臓をプールした。

特記事項：表 2.6.5-2 に、胆管結紮がラットの体重、血漿コレステロール及び血漿胆汁酸に及ぼす影響を示す。胆管結紮ラットの体重は、対照ラットより有意に低かった。さらに、総抱合型コール酸の血漿中濃度は、胆管結紮動物で有意に高かった（$p < 0.05$）。表 2.6.5-3 に、偽手術されたラット及び胆管結紮ラットの胎児の胆汁酸プールサイズを示す。胆管結紮ラットの胎児におけるコール酸及び総胆汁酸のプールサイズは、偽手術ラットより有意に低かった（$p < 0.05$）。

表 2.6.5-2 妊娠ラットの体重、血漿コレステロール及び胆汁酸（平均値 ± S.E.M.）

群	体重（g)	血漿コレステロール（mg%）	血漿胆汁酸（mol/L）
対照（6）*	374.0 ± 13.3	44.5 ± 1.3	2.15 ± 0.83
胆管結紮（6）	300.6 ± 7.8**	57.0 ± 6.5	64.63 ± 6.08**

*括弧内の数字は、検討した試料又は動物の数を示す
**対照と有意差あり、$p < 0.05$

表 2.6.5-3 ラット胎児の血漿コレステロール及び胆汁酸プールサイズ

群	血漿コレステロール（mg%）	胆汁酸（mg/kg 体重）		
		コール酸	ケノデオキシコール酸	総胆汁酸
対照	81.39 ± 3.38 (5)	11.7 ± 1.8 (4)	4.1 ± 0.9 (4)	19.7 ± 3.4 (4)
胆管結紮	68.98 ± 3.58**(4)	5.2 ± 0.8**(3)	1.4 ± 0.3 (3)	7.6 ± 1.2**(3)

*括弧内の数字は、検討した試料又は動物の数を示す
**対照と有意差あり、$p < 0.05$

特記すべき所見:
注目すべきは、母体血漿胆汁酸が 30 倍に増加したにもかかわらず胎児胆汁酸の大幅な増加は認められなかった点であり、胎盤を通過する胆汁酸の移行は小さいことが示唆された。さらに、胆管結紮ラットからの胎児（妊娠 21 日目）における胆汁酸プールサイズは対照胎児よりもむしろ低値であった。

2.6.5.7.B　(Little, et al., 1975): “Bile-salt metabolism in the primate fetus”

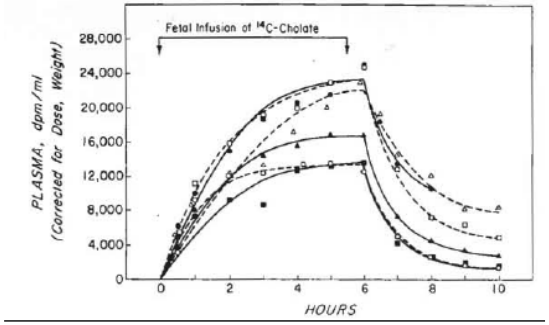
研究の標題：Bile-salt metabolism in the primate fetus		筆頭著者及び研究実施年：（Little, et al., 1975)	CTD での記載場所：4.2.2.3-2
		参照：Gastroenterology. 1975 Dec;69(6): 1315-20	
動物種／系統：サル／Rhesus	投与期間：6 時間	投与方法：胎児の頸静脈内注入	
給餌条件：該当せず	投与例数：6	溶媒／製剤： 2.5 mL の生理食塩水に溶解したトレーサー量の[^{14}C]コール酸塩	

特記事項：本研究では、アカゲザル胎児 6 例に[^{14}C]コール酸塩を静脈内注入することより、胎児における胆汁酸塩の代謝を検討した。投与した放射標識胆汁酸塩の胎盤通過性、胎児の血漿クリアランス及び胎児の肝排泄を測定した。

妊娠アカゲザル 6 例（Macaca mulata）を用いて実験を行った。胎児頸静脈カテーテルを通して、生理食塩水 2.5 mL に溶解したトレーサー量の[^{14}C]コール酸塩を 6 時間にわたる持続注入により胎児に投与した。注入中の 6 時間及び注入後の 4 時間にわたって動脈血中の放射標識濃度を測定した。母体胆汁中の ^{14}C 標識胆汁酸塩を測定することによって胎児から母体への移行を定量した。試験は 10 時間で終了し、^{14}C 標識胆汁酸塩について、母体及び胎児の組織を分析した。
[^{14}C]コール酸塩のクリアランス及び排泄
^{14}C 標識は胎児血漿中に次第に蓄積し、注入開始から 5 時間後から 6 時間後の間に濃度がプラトーに向かうないし達する傾向があった（図 2.6.5-2）。

特記事項：

図 2.6.5-2 注入した胆汁酸塩の血漿消失



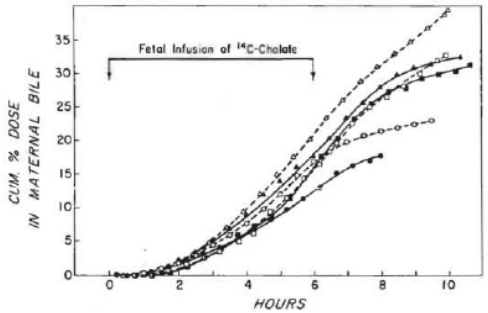
[^{14}C]を胎児に静脈内投与し、^{14}C 標識の胎児血漿からの消失を評価した。縦軸は血漿中の放射標識濃度を示し、胎児の体重及び用量の差で補正する。
胎児 M1（○−○）、M2（●−●）、M3（Δ−Δ）、M4（▲−▲）、M5（□−□）、M6（■−■）

胎盤通過は、注入開始後 1～2 時間以内に始まり、検討時間全体で継続した（図 2.6.5-2）。胎盤移行量の平均値は注入量の 30%であった。このうち 98%超が母体胆汁中に[^{14}C]タウロコール酸塩又は[^{14}C]グリココール酸塩の形で認められた。

2.6.5.7B　(Little, et al., 1975): “Bile-salt metabolism in the primate fetus”　（続き）

特記事項：

図 2.6.5-3：胆汁酸塩の胎盤通過



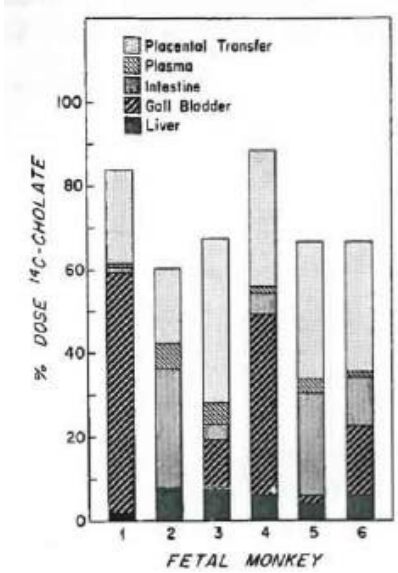
胎児への[^{14}C]コール酸塩の静脈内注入中及び注入後の母体胆汁中での ^{14}C 標識の出現。縦軸は、母体の胆汁中にみられた総線量の累積率を示す。記号は、図 2.6.5-2 と共通。

特記事項：注目すべきことに、試験終了時に、胎児血漿、胆汁、肝臓及び腸管に測定可能な量の放射標識が認められたが、他の胎児組織には認められなかった（図 2.6.5-3）。著者は、胎児の胆嚢胆汁及び腸管の放射標識が試験期間中の胎児肝臓から排泄されたおおよその量を示すとする場合、排泄量は注入量の 33%（範囲、14～58）に等しいと想定されるとしている。このうち、78%（範囲、65～85）は[^{14}C]タウロコール酸塩の形態で、これよりは少量であるものの[^{14}C]グリココール酸塩及び遊離[^{14}C]コール酸塩が認められた。

2.6.5.7B　(Little, et al., 1975): “Bile-salt metabolism in the primate fetus”　（続き）

特記事項：注目すべきことに、試験終了時に、胎児血漿、胆汁、肝臓及び腸管に測定可能な量の放射標識が認められたが、他の胎児組織には認められなかった（図 2.6.5-4）。著者は、胎児の胆嚢胆汁及び腸管の放射標識が試験期間中の胎児肝臓から排泄されたおおよその量を示すとする場合、排泄量は注入量の 33%（範囲、14～58）に等しいと想定されるとしている。このうち、78%（範囲、65～85）は[^{14}C]タウロコール酸塩の形態で、これよりは少量であるものの[^{14}C]グリココール酸塩及び遊離[^{14}C]コール酸塩が認められた。

図 2.6.5-4：注入した[^{14}C]コール酸塩の回収



実験終了時の放射標識の分布

特記すべき所見：
総合すると、この試験では、胎児から母体への胎盤通過量の平均値が注入量の 30%であることが示された。

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

その他の分布試験に関する公開文献は確認されなかった。

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：In vivo

In vivo における代謝に関する公開文献は確認されなかった。追加情報については、2.6.3 項及び 2.4 項も参照すること。

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：In vitro

In vitro における代謝に関する公開文献は確認されなかった。追加情報については、2.6.3 項も参照すること。

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

推定代謝経路に関する公開文献は確認されなかった。追加情報については、2.6.3 項及び 2.4 項も参照すること。

2.6.5.12　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導・阻害

2.6.5.12.A (Ryu , et al., 2021): Evaluation for Potential Drug-Drug Interaction of MT921 Using In Vitro Studies and Physiologically-Based Pharmacokinetic Models

<table>
<tr><td colspan="2">Evaluation for Potential Drug-Drug Interaction of MT921 Using In Vitro Studies and Physiologically-Based Pharmacokinetic Model</td><td>筆頭著者及び研究実施年：（Ryu , et al., 2021）
参照：Pharmaceuticals 14: 654-670</td><td>CTD での記載場所：4.3-38</td></tr>
<tr><td>使用細胞等：
・各種トランスポーター発現ヒト胎児腎細胞株 HEK293
・ヒト凍結保存肝細胞
・ヒト肝ミクロソーム</td><td>誘導・阻害作用を検討した対象酵素類：
・シトクローム P450（CYP）アイソフォーム 9 種
・UDP グルクロノシルトランスフェラーゼアイソフォーム 6 種
・トランスポーター16 種</td><td colspan="2">薬物間相互作用予測：
MT921 の薬物動態データ、FDA のガイドラインに従った in vitro 試験、生理学的薬物速度論モデルでの in silico 予測により検討した。</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：顎下脂肪低下用注射剤 MT921（有効成分はコール酸）を用いて検討した (Ryu , et al., 2021)の論文およびその Supplementary Materials で、コール酸のトランスポーターや薬物代謝酵素に対する誘導・阻害作用の有無に関連する主な報告内容は以下の通りである。
・トランスポーターを発現させたヒト胎児腎細胞株 HEK293 を用いた検討結果、organic anion transporting polypeptide（OATP）1B3、organic anion transporter（OAT）3、Na^+-taurocholate cotransporting polypeptide（NTCP）、apical sodium-dependent bile acid transporter（ASBT）が MT921 のトランスポートに関与することが認められた。
・OATP1B1、OATP1B3、OAT3、NTCP、ASBT の代表的基質取り込みに対する MT921 の阻害活性 IC_{50} は、OATP1B1：63.2 μmol/L、OATP1B3：38.3 μmol/L、OAT3：68.7 μmol/L、NTCP：53 μmol/L、ASBT：39.1 μmol/L であった。
・MT921 は、薬物排出トランスポーター（MDR1、BCRP、MRP2、BSEP）や薬物取り込みトランスポーター（OATP1B1、OATP2B1、OAT1、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2K）の基質とならず、これらに対する阻害作用を示さないことが確認された。
・ヒト肝ミクロソーム培養系を用いて、9 種のシトクローム P450（CYP）アイソフォーム（1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1、3A）によるそれぞれの基質カクテルとの酵素反応について、MT921 の阻害作用を検討した。いずれの CYP アイソフォームに対しても、MT921 の IC_{50} は 100 μM 以上であり、阻害作用は認められなかった。
・ヒト肝ミクロソーム培養系を用いて、6 種の UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ（UGT）アイソフォーム（1A1、1A3、1A4、1A6、1A9、2B7）によるそれぞれの基質カクテルとの酵素反応について、MT921 の阻害作用を検討した。いずれの UGT アイソフォームに対しても、MT921 の IC_{50} は 100 μM 以上であり、阻害作用は認められなかった。
・3 バッチのヒト凍結保存肝細胞を MT921 と 48 時間培養後、6 種の CYP アイソフォーム（1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、3A）、6 種の UGT アイソフォーム（1A1、1A3、1A4、1A6、1A9、2B7）、6 種の薬物トランスポーター（MDR1、BCRP、MRP2、BSEP、OATP1B1、OCT1）の mRNA 発現の変化を検討した。100 μM の MT921 と培養しても、それぞれの酵素およびトランスポーターに対し、米国 FDA ガイドラインで規定された誘導作用は認められなかった。なお、MT921 による細胞毒性は認められなかった。</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記すべき所見：
・in vitro 試験及び in silico 生理学的薬物速度論モデルから、MT921 と慢性疾患治療薬（アムロジピン、シンバスタチン、ピオグリタゾン）の間には薬物相互作用の可能性はないと判断された。</td></tr>
</table>

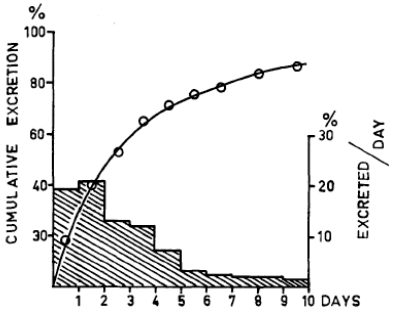
2.6.5.13　薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.A (Lindstedt & Norman, 1955): “On the excretion of bile acid derivatives in faeces of rats fed cholic acid-24-^{14}C and chenodesoxycholic acid-24-^{14}C”

研究の標題：On the excretion of bile acid derivatives in faeces of rats fed cholic acid-24-^{14}C and chenodesoxycholic acid-24-^{14}C		筆頭著者及び研究実施年：　(Lindstedt & Norman, 1955)	CTD での記載場所：4.2.2.5-1
		参照：Acta Physiol Scand. Sep 20;34(1): 1-10	
動物種／系統：ラット／White	投与期間：該当せず	投与方法：単回腹腔内注射	
給餌条件：該当せず	投与例数：不明	溶媒／製剤： 1～3 mg のコール酸をナトリウム塩として 1～2 mL、0.9%の溶液にした。	

特記事項：この研究では、コレステロール-4-^{14}C を与えた後にみられた糞中の酸性産物が、コール酸-24-^{14}C 及びケノデオキシコール酸-24-^{14}C を与えた後のクロマトグラム上で認められるかどうかを検討している。
雄の白ラット(体重約 150 g)に、放射標識コール酸 1～3 mg を腹腔内注射した。したがって、動物にはコール酸 6.7～20 mg/kg を投与した。24 時間ごとの糞を採取した。図 2.6.5-5 は、コール酸-24-^{14}C を腹腔内投与してから 10 日以内に、放射標識が完全に糞中に排泄されることを示している。尿中に放射能は認められなかった。さらに、非抱合型のままなのは少量に限られる。過去の試験では、コール酸は肝臓によっていかなる新しい代謝物にも変換されないことが示されている（2.4 項を参照）。その結果、腸内細菌中に存在する酵素の作用を介して代謝産物が産生される。標識コール酸及び標識ケノデオキシコール酸を同時に投与した後に、糞試料のクロマトグラム上で認められたさまざまなバンドは、環標識コレステロールの投与後に認められるものと同じである。

図 2.6.5-5 コール酸-24-^{14}C の腹腔内投与後に糞中に排泄された同位体



特記すべき所見：
- 結論として、投与した量のコール酸が 10 日以内に糞便中にほぼ回収されることが示された（図 2.6.5-5）。
- 抱合型のコール酸は、少量しか認められなかった。複雑なパターンは、微生物酵素系による胆汁酸分子の大きな変化を示している。
- 標識コール酸及び標識ケノデオキシコール酸を同時に投与した後に、糞試料のクロマトグラム上で認められたさまざまなバンドは、環標識コレステロールの投与後に認められるものと同じである。

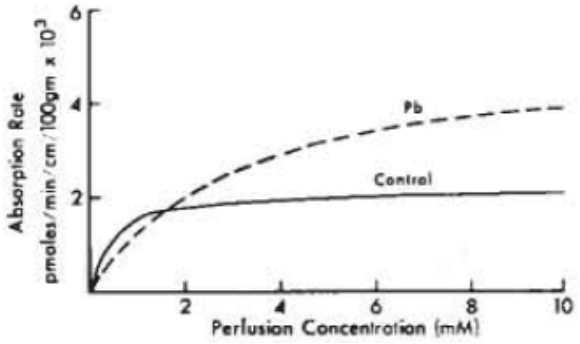
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

コール酸の胆汁中への排泄に関する公開文献は確認されなかった。追加情報については、2.4項も参照すること。

2.6.5.15　薬物動態試験：その他

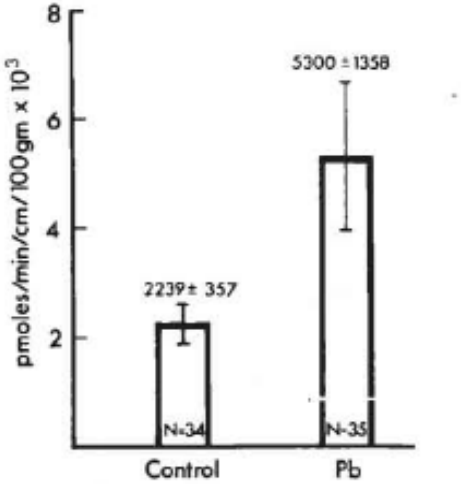
2.6.5.15.A (Ostrower, et al., 1974): “Effect of Phenobarbital on intestinal cholic acid absorption in the rat”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：Effect of Phenobarbital on intestinal cholic acid absorption in the rat</td><td>筆頭著者及び研究実施年：
(Ostrower, et al., 1974)</td><td>CTD での記載場所：4.2.2.6-5</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td colspan="2">参照：Gastroenterology.: Dec;67(6): 1162-8</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley</td><td>投与期間：コール酸：60～120 分間フェノバルビタールナトリウム：80 mg/kg/日を 8 日間</td><td colspan="2">投与方法：潅流</td></tr>
<tr><td>給餌条件：摂食</td><td>投与例数：雌 34 例</td><td colspan="2">溶媒／製剤：
コール酸：0.1～10 mM 重炭酸塩 - 緩衝液、pH 8.0 フェノバルビタールナトリウム：詳細不明</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：この研究では、Sprague - Dawley ラットから腸係蹄を摘出して潅流を実施することにより、フェノバルビタールナトリウムの皮下投与（80 mg/kg/日、8 日間）がコール酸の腸管吸収に及ぼす影響を in vivo で検討している。
雌の Sprague-Dawley ラットを未処置の対照動物群と 80 mg/kg/日のフェノバルビタールナトリウムを 8 日間皮下投与する処置動物群とに分けた。最後の注射から 24 時間以内に、未処置の対照動物及び処置動物を腹腔内ペントバルビタール麻酔下（対照動物では 60 mg/kg、処置動物では必要に応じて漸増）で手術した。潅流させるコール酸を[^{14}C]で標識した。最終濃度は 0.1～10 mM とした。最終溶液の比放射能を実験ごとに測定し、同位体が保存されるが計数制度が維持されるように 1000～45,000 dpm/μmole とした。各動物の潅流は腸係蹄 1 カ所のみで、各動物を実験に用いるのは 1 回までであった。潅流は較正速度 0.52 mL/min で、60～120 分間行った。潅流中、胆汁の連続 5 分量を計数バイアル及び 10 mL のシンチレーション溶液に直接採取した。</td></tr>
<tr><td colspan="4">図 2.6.5-6：対照（-）及びフェノバルビタール投与（Pb）（– –）動物における能動的回腸吸収

</td></tr>
</table>

2.6.5.15.A　(Ostrower, et al., 1974): “Effect of Phenobarbital on intestinal cholic acid absorption in the rat”　（続き）

図 2.6.5-7：対照動物及びフェノバルビタール投与動物における回腸の Vmax ± 1 SE、P < 0.025



特記すべき所見：

- 見かけの V_{max} は、対照群では 2239 ± 357 pmoles/min/cm/100 g であり、フェノバルビタール投与群では 5300 ± 1358 pmoles/min/cm/100 g であった（図 2.6.5-6）。この 2 倍の差の有意性は高いものであった（p < 0.001）（図 2.6.5-7）。
- この研究は、フェノバルビタールを投与すると、ラット回腸における胆汁酸塩の輸送能（V_{max}）が有意に増加することを示している。

2.6.5.15.B (Redinger & Small, 1973): “The effect of Phenobarbital upon bile salt synthesis and pool size, biliary lipid secretion, and bile composition”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：“The effect of Phenobarbital upon bile salt synthesis and pool size, biliary lipid secretion, and bile composition”</td><td>筆頭著者及び研究実施年：
(Redinger & Small, 1973)</td><td>CTD での記載場所：4.2.2.6-6</td></tr>
<tr><td colspan="3">参照：The Journal of Clinical Investigation Volume 52：161172</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：アカゲザル（雌雄）</td><td>投与期間：5 mg/kg/日を 1～2 週間</td><td colspan="2">投与方法：胆汁瘻及び十二指腸瘻の留置を介した腸肝循環の計画的遮断</td></tr>
<tr><td>給餌条件：該当せず</td><td>投与例数：6 例（腸肝循環が健全な 3 例、全面的な胆汁瘻の状態の 3 例）</td><td colspan="2">溶媒／製剤：該当せず</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：
この研究では、アカゲザルを用いて、十二指腸瘻を介して投与したフェノバルビタールナトリウム（5 mg/kg/日、1～2 週間）が胆汁流量、胆汁脂質分泌、胆汁酸合成及び胆汁酸プールサイズに及ぼす作用を検討した。
雌雄のアカゲザルを腸肝循環が健全な状態の 3 例と全面的な胆汁瘻の状態の 3 例の 2 群に分け、各動物自体をそれぞれの対照としても用いて研究を実施した。総胆汁流量、並びに胆汁酸塩、リン脂質及びコレステロールの分泌を定常状態で 24 時間ごとに測定した。さらに、腸肝循環が健全な条件下で、対照期間及び薬物投与期間の胆汁酸の合成速度を 3 例で測定し、プールサイズを 2 例で推定した。</td></tr>
</table>

2.6.5.15.B　(Redinger & Small, 1973): “The effect of Phenobarbital upon bile salt synthesis and pool size, biliary lipid secretion, and bile composition”　（続き）

特記事項：
全面的胆汁瘻状態では cholesterol 7α- dehydroxylase のフィードバック阻害がないために de novo 合成速度が原則として最大の状態であるが、フェノバルビタールによって 3 例とも胆汁酸合成の最大速度が 25～30%有意に上昇した（P < 0.05）（表 2.6.5-8）。また、腸肝循環が健全な動物でも、対照データの測定時には胆汁酸塩が肝臓に戻る速度によって胆汁酸合成が阻害されたと思われるのに対して、フェノバルビタール投与時には同じく胆汁酸合成及びプールサイズが増大した（表 2.6.5-9 及び図 2.6.5-10）。

表 2.6.5-8：全面的胆汁瘻状態の動物の 1 日胆汁酸合成量

動物	対照 mmol/24 h	n	フェノバルビタール mmol/24 h	n	P 値
A	1.66 (0.13)	5	2.28 (0.06)	7	<0.01
B	2.03 (0.35)	4	2.60 (0.08)	4	<0.001
C	1.95 (0.16)	5	2.46 (0.06)	5	<0.05

n：定常状態期間の回数。対照期間でもフェノバルビタール投与期間でも動物は定常状態にあり、n は各実験に対する 24 時間の試験期間の総数を意味する。() 内の数字は、各試験の SEM を示す。このように、対照期間中にすでに胆汁酸合成速度が最大の動物であっても、各試験でフェノバルビタールを投与すると胆汁酸合成速度が有意に増加した。

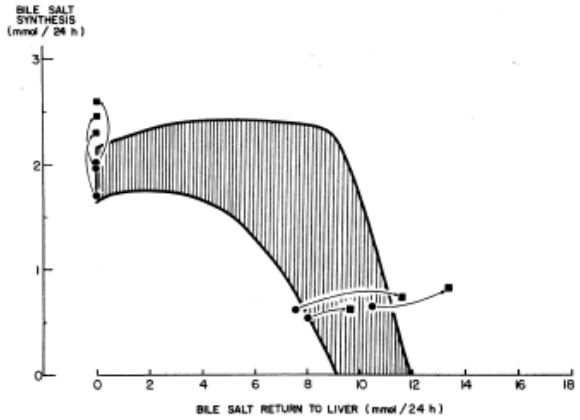
表 2.6.5-9：腸肝循環が健全な動物における胆汁酸塩代謝に対するフェノバルビタールの影響

動物		n	吸収された胆汁酸塩及び肝臓に戻った胆汁酸塩（mmol/24 h）	胆汁酸塩合成（mmol/24 h）	
A	対照	6	7.91	0.548 (0.022)	P<0.05
	薬物	11	9.43	0.628 (0.025)	
B	対照	3	7.4	0.512 (0.029)	P<0.01
	薬物	5	11.59	0.739 (0.033)	
D	対照	19	10.32	0.680 (0.018)	P<0.001
	薬物	18	13.38	0.835 (0.017)	

n：定常状態期間の回数。各実験では、分泌した総胆汁量の 5%を分析のために採取し、残り（95%）を動物に戻す。
対照期間の平均値及びフェノバルビタール投与期間の平均値を示す。

2.6.5.15.B　(Redinger & Small, 1973): “The effect of Phenobarbital upon bile salt synthesis and pool size, biliary lipid secretion, and bile composition”　（続き）

図 2.6.5-10：胆汁酸塩合成と肝臓に戻った胆汁酸塩との関係



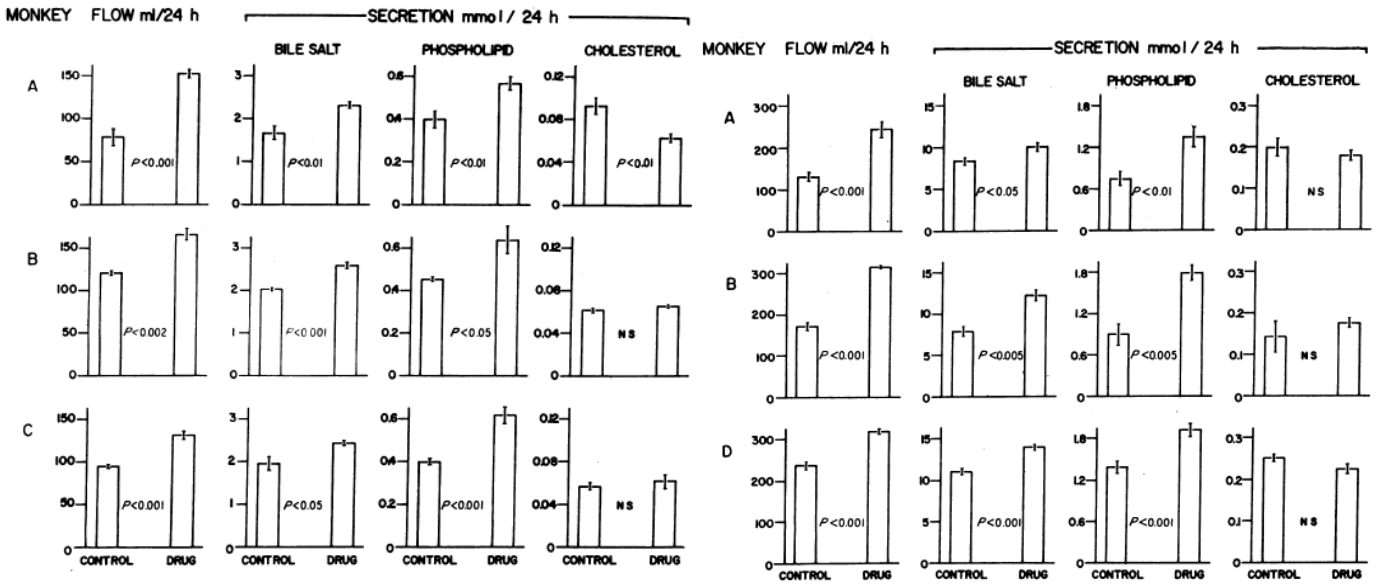
網掛け部分は、胆汁酸塩合成（mmol/24 h）と、胆汁酸塩が門脈によって肝臓に戻る速度（mmol/24 h）との関係を示している。網掛け部分の面積は、腸肝循環の遮断量を様々に変化させた 20 例の動物を用いて検討した合成速度と肝臓に戻る速度との関係について求めた± 2 SEM の範囲を示す。胆汁酸塩の合成は、肝臓に戻る速度が 7 mmol/24 h を超えるまで抑制されなかった。胆汁酸塩合成を完全に抑制するには、肝臓に戻る速度が約 12 mmol/24 h であることが条件であった。対照期間のサル（丸）は正常域内に収まっていたが、フェノバルビタールを投与すると（四角）、胆汁酸塩が肝臓に戻らない場合（左）には胆汁酸塩合成速度の「最大値」が増大したうえ、戻る速度が高値の場合（右）にも合成速度が増大した。(表 2.6.5-9 の 4 列目及び 5 列目の個々のデータ)

また、フェノバルビタールを 5 mg/kg/日で投与すると、全動物で胆汁流量が増加した（$P < 0.002$ 以上）(図 2.6.5-11)。胆汁流量の増加は、「胆汁酸塩非依存性分画」の増加及び胆汁酸塩分泌速度の増加の両方に起因していた。フェノバルビタールは、胆汁酸塩（$P < 0.01$）及びリン脂質の分泌（$P < 0.05$）を有意に増加させた。

2.6.5.15.B　(Redinger & Small, 1973): “The effect of Phenobarbital upon bile salt synthesis and pool size, biliary lipid secretion, and bile composition”　（続き）

図 2.6.5-11：胆汁瘻のある動物（a）及び腸肝循環が健全な動物（b）の胆汁流量及び胆汁脂質の分泌に及ぼすフェノバルビタールの作用

(a)　　(b)



(a)：ヒストグラムは左から順に、全面的胆汁瘻状態にあるサルの対照期間中及び薬物投与期間中に測定された胆汁流量、胆汁酸塩の分泌速度、リン脂質の分泌速度及びコレステロールの分泌速度の平均値を示している。縦棒は± SEM を表す。全面的胆汁瘻状態での定常状態では胆汁酸塩の分泌が胆汁酸塩合成と等しいことに注意すること。各パラメータの確率値、P は、スチューデント t 検定により決定した。

(b)：ヒストグラムの高さは、各動物の対照期間中及び薬物投与期間中に測定された胆汁流量、胆汁酸塩の分泌速度、リン脂質の分泌速度及びコレステロールの分泌速度の平均値を表す。縦棒は± 1 SEM を表す。P 値は、スチューデント t 検定により決定した。いずれの実験でも胆汁流量、胆汁酸塩の分泌速度及びリン脂質の分泌速度の増加が認められたが、コレステロールの分泌速度は変化しなかった。

結論として、フェノバルビタールは、胆汁酸が肝臓に戻ることで発現する胆汁酸合成の正常な制御を部分的に克服することにより、胆汁酸合成レベルを、正常範囲を超えて高めた。

2.6.5.15.C (Cronholm, et al., 1974): “Changes in In Vivo metabolism of bile acids in rat after treatment with phenobarbital”

被験物質：コール酸

研究の標題：Changes in In Vivo metabolism of bile acids in rat after treatment with phenobarbital		筆頭著者及び研究実施年：(Cronholm, et al., 1974)	CTD での記載場所：4.2.2.6-4
		参照：Lipids, vol. 9, no.11; 844-849	
動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley	投与期間：生理食塩水又は生理食塩水及びフェノバルビタール（100 mg フェノバルビタール/kg 体重）のいずれかを用いて 10 日間	投与方法：腹腔内注射	
給餌条件：摂食	投与例数：6	溶媒／製剤：不明	

特記事項：この研究では、24-^{14}C コール酸を投与することにより、フェノバルビタールが Sprague - Dawley ラットのコール酸のプールサイズ及び代謝回転に及ぼす影響を検討している。
実験期間を通して 100 mg/kg 体重に相当する濃度のフェノバルビタールの生理食塩水溶液 1 mL を毎日腹腔内投与するグループと、同量の生理食塩水を投与するグループの 2 群を検討した。10 日間の投与後、[24-^{14}C]コール酸 0.5 mg/kg を生理食塩水に溶解させて腹腔内投与した。その後、糞を 24 時間ごとに 10 日間採取した。採取期間後、総胆管にポリエチレンカニューレを導入して胆汁瘻を作り、胆汁を 12 時間採取した。
クロマトグラフィーを用いて、胆汁酸の代謝回転を評価した。コール酸のプールサイズを算出すると、胆管カニュレーション後最初の 12 時間に排泄された胆汁酸とほぼ同量であった。10 日間で糞中に排泄された 1 日当たりの ^{14}C 及び ^{3}H の放射能の総量を算出した。コール酸の 1 日の産生量は、コール酸のプール、その代謝産物のデオキシコール酸及び[24-^{14}C]コール酸の半減排泄時間から計算した。表 2.6.5-4 は、ラットにおけるコール酸のプールサイズ及び代謝回転に対するフェノバルビタール処置の影響を示す。表 2.6.5-4 は、ラットにおけるデオキシコール酸及びケノデオキシコール酸のプールサイズ及び代謝回転に対するフェノバルビタール処置の影響を示す。

表 2.6.5-4：ラットにおけるコール酸のプールサイズ及び代謝回転に対するフェノバルビタール処置の影響

ラット	コール酸（mg/kg）	半減排泄時間（日）	排泄（mg/kg/日）
C1	111.75	2.20	35.75
C2	159.05	2.60	44.7
C3	83.25	2.10	28.15
平均	118 ± 38.3	2.30 ± 0.26	36.25 ± 8.3
PB1	41.2	2.30	12.85
PB2	20.35	1.85	8.3
PB3	29.7	2.15	10.7
平均	30.4 ± 10.45	2.10 ± 0.23	10.6 ± 2.3
P[a]	< 0.02	NS	< 0.01

C = 対照ラット、PB = フェノバルビタール処置ラット、NS = 有意性なし
a スチューデントの t 検定による

2.6.5.15.C (Cronholm, et al., 1974): “Changes in In Vivo metabolism of bile acids in rat after treatment with phenobarbital” （続き）

特記事項：

表 2.6.5-5：ラットにおけるデオキシコール酸及びケノデオキシコール酸のプールサイズ及び代謝回転に対するフェノバルビタール処置の影響

ラット	デオキシコール酸（mg/kg）	ケノデオキシコール酸（mg/kg）	ケノデオキシコール酸の半減排泄時間（日）	ケノデオキシコール酸の排泄時間（mg/kg/日）
C1	1.3	6.6	1.20	47.25
C2	8.4	17.2	1.10	45.3
C3	2.2	6.2	1.25	20.6
平均	3.95 ± 3.85	10 ± 6.25	1.18 ± 0.08	37.7 ± 14.85
PB1	1.45	17.95	1.05	61.5
PB2	1.75	20.75	0.95	40.1
PB3	3.55	24.55	1.00	44.55
平均	2.25 ± 1.15	21.1 ± 3.3	1.00 ± 0.05	48.7 ± 11.25
P[a]	NS	NS	< 0.05	NS

C = 対照ラット、PB = フェノバルビタール処置ラット、NS = 有意性なし

a スチューデントの t 検定による

特記すべき所見：

- フェノバルビタール処置ラットでは、対照ラットよりコール酸プールが低値であった（それぞれ 30.4 ± 10.45 mg/kg 及び 118±± 38.3 mg/kg）。さらに、フェノバルビタール処置ラットでは、対照ラットよりコール酸の 1 日産生量が低値であった（それぞれ 10.6 ± 2.3 mg/kg 及び 36.25 ± 8.3 mg/kg）。
- デオキシコール酸及びケノデオキシコール酸の合成に対するフェノバルビタールの影響に有意差は認められなかった。しかし、フェノバルビタールは半減排泄時間を有意に（< 0.05）減少させることが示された。

2.6.5.15.D (Azer & Stacey, 1994): “Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels</td><td>筆頭著者及び研究実施年：
(Azer & Stacey, 1994)</td><td>CTD での記載場所：4.2.2.6-1</td></tr>
<tr><td colspan="3">参照：</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：雄 Sprague-Dawley ラット（体重 200～280 g）</td><td>投与期間：取込み実験：30 秒間 コール酸共インキュベーション試験：1 分間、長時間のインキュベーション：2～30 分間</td><td colspan="2">投与方法：In vitro、腹腔内</td></tr>
<tr><td>給餌条件：取込み実験：胆汁酸基質 10 µL（最終濃度 10～100 µL）、コール酸共インキュベーション試験：10 µL</td><td>投与例数：該当なし</td><td colspan="2">溶媒／製剤：DMSO</td></tr>
</table>

2.6.5.15.D　(Azer & Stacey, 1994): “Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels”　（続き）

特記事項：
個々の血清胆汁酸濃度の変化に関する研究及び in vivo 処理により差次的に影響を受ける胆汁酸の肝細胞取込みに対するシクロスポリン A の影響との比較

表 2.6.5-6：シクロスポリン A の用量をさまざまに変えた場合の個々の血清胆汁酸濃度の変化

ISBA	対照 [2]	CsA（mg/kg/日）[1]		
		0.1	1	10
GCA	0.4 ± 0.1[3]	0.7 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1
GCDCA	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.7 ± 0.3	0.9 ± 0.3
GDCA	0.5 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2
GLCA	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1
CA	2.2 ± 0.5	5.2 ± 0.5*	20.5 ± 2.9*	38.3 ± 3.4*
CDCA	0.6 ± 0.1	0.8 ± 0.1	2.3 ± 0.7*	2.7 ± 0.5*
DCA	0.4 ± 0.1	0.6 ± 0.1	1.2 ± 0.1*	1.5 ± 0.2*
UDCA	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.1 ± 0.0
TCA	1.8 ± 0.6	2.7 ± 1.0	8.1 ± 2.9*	26.3 ± 1.7*
TCDCA	0.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1	1.0 ± 0.3*	0.9 ± 0.3*
TDCA	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.2	0.7 ± 0.2*
TUDCA	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.0
総胆汁酸	7.7 ± 1.0	11.7 ± 1.8	36.9 ± 5.7*	72.8 ± 3.6*

[1] ラットに 4 日間 i.p.投与し、最終投与の 24 時間後に血清を採取した（各群 8 例）。
[2] クレモフォール（1 mL/kg/日）を同様に投与した対照（10 例）
[3] 濃度（μmol/L）は平均値 ± SEM で示す
*それぞれの対照と統計的有意差あり（$p < 0.05$）
CA：コール酸、CDCA：ケノデオキシコール酸、CsA：シクロスポリン A、DCA：デオキシコール酸、DMSO：ジメチルスルホキシド、GCA：グリココール酸、GCDCA：グリコケノデオキシコール酸、GDCA：グリコデオキシコール酸、GLCA：グリコリトコール酸、IBSA：個々の血清胆汁酸、TCA：タウロコール酸、TCDCA：タウロケノデオキシコール酸、TDCA：タウロデオキシコール酸、TUDCA：タウロウルソデオキシコール酸、UDCA：ウルソデオキシコール酸。

2.6.5.15.D　(Azer & Stacey, 1994): “Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels”　（続き）

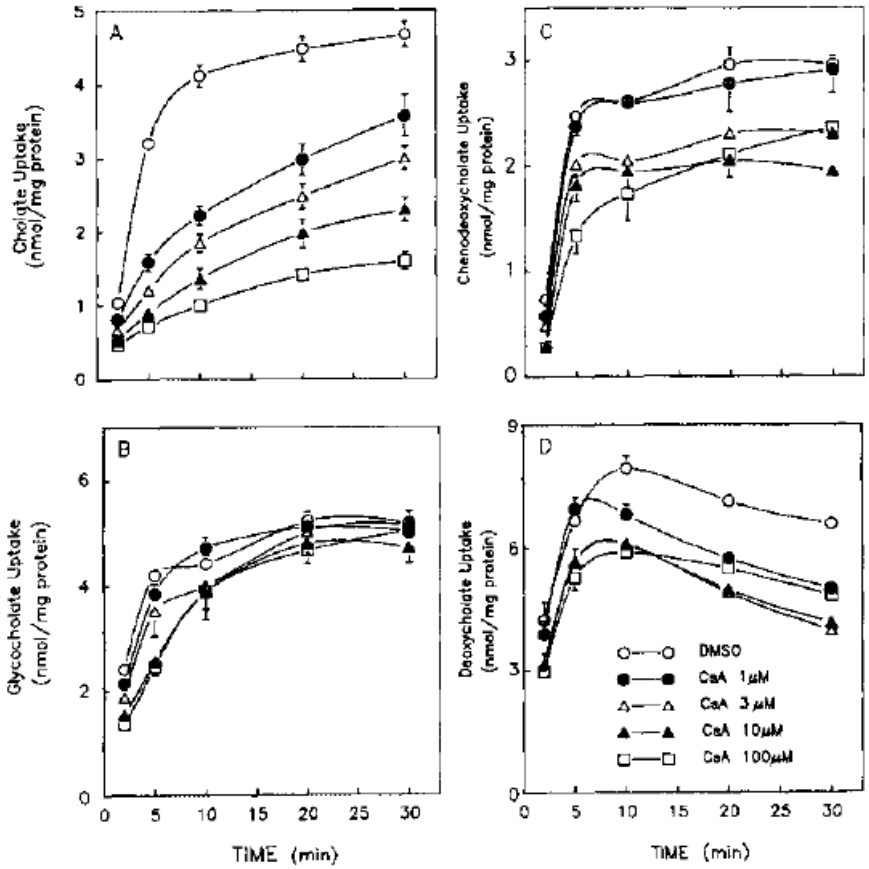
表 2.6.5-7：種々の濃度のシクロスポリン A 存在下におけるコール酸塩、グリココール酸塩、ケノデオキシコール酸塩及びデオキシコール酸塩輸送の見かけの速度論的パラメータ

	CsA 濃度（μM）				
胆汁酸	0	1	3	10	100
コール酸					
K_m	40.3 ± 2.3	61.5 ± 3.3*	84.6 ± 17.4*	244.3 ± 34.8*	484.3 ± 56.5*
V_{max}	1.03 ± 0.05	0.98 ± 0.03	0.93 ± 0.15	1.19 ± 0.14	1.43 ± 0.15
GCA					
K_m	43.9 ± 2.2	56.7 ± 11.1	71.9 ± 2.0*	118.3 ± 3.9*	138.8 ± 21.1*
V_{max}	2.34 ± 0.18	2.15 ± 0.28	2.05 ± 0.08	1.76 ± 0.09	1.75 ± 0.25
CDCA					
K_m	32.4 ± 1.4	40.1 ± 2.9	50.4 ± 3.5*	100.6 ± 2.5*	106.3 ± 12.4*
V_{max}	0.37 ± 0.03	0.39 ± 0.12	0.34 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.03
DC					
K_m	145.1 ± 15.9	118.5 ± 20.9	136.0 ± 9.3	155.2 ± 14.1	121.3 ± 3.2
V_{max}	8.93 ± 1.05	7.09 ± 1.06	5.95 ± 0.30*	4.39 ± 0.42*	2.99 ± 0.07*

注：各胆汁酸に関する K_m（μM）及び V_{max}（nmol· min^{-1}· mg^{-1} protein）の値は、Eadie-Hofstee プロットから推定した。各値は、3～4 細胞標本の平均値 ± SEM を表す。
*対照と比較して有意差あり（$p < 0.05$）

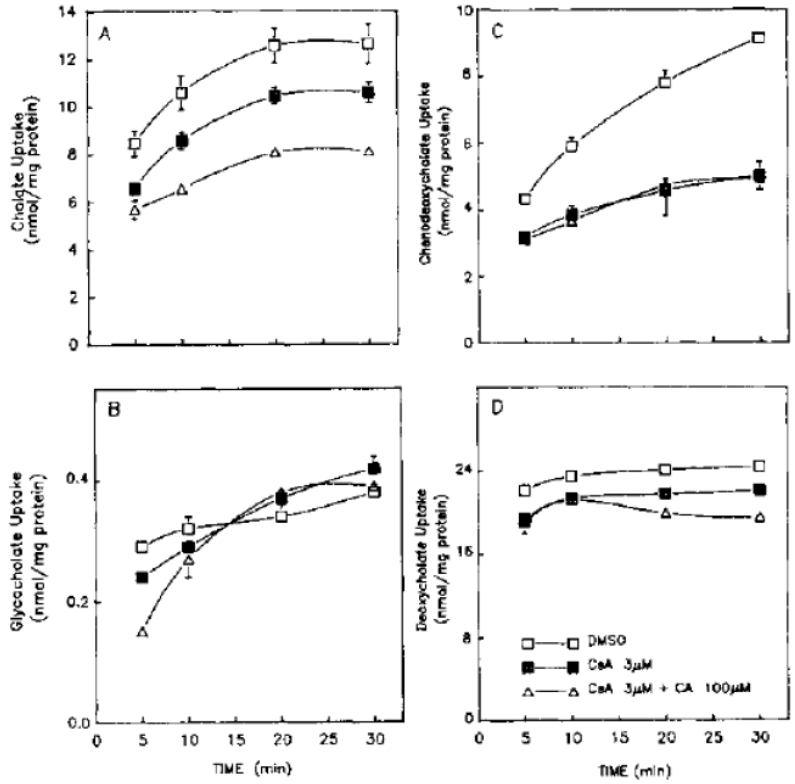
2.6.5.15.D　(Azer & Stacey, 1994): “Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels”　（続き）

図 2.6.5-8：DMSO 又は様々な濃度のシクロスポリン A で in vitro 処理した単離ラット肝細胞による基質蓄積



2.6.5.15.D　(Azer & Stacey, 1994): “Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels”　（続き）

図 2.6.5-9：コール酸（100 μM）及び CsA（3 μM）の条件下での単離ラット肝細胞による基質蓄積



2.6.5.15.D　(Azer & Stacey, 1994): “Differential Effects of Cyclosporin A on Transport of Bile Acids by Rat Hepatocytes: Relationship to Individual Serum Bile Acid Levels”　（続き）

特記すべき所見：
CsA の 1 日量が多い（10 mg/kg）場合には対照群と比較して総血清胆汁酸、並びに CA、TCA、CDCA、DCA、TCDCA 及び TDCA の有意な増加が誘発されたが、最低 1 日量（0.1 mg/kg）では CA のみに影響を及ぼした。CA、TCA、CDCA 及び DCA については、明らかな用量-作用関係が認められた。
ラット肝細胞を非標識コール酸（100 μM）と共インキュベートすると、[^{14}C]コール酸蓄積に対する阻害作用が強まった。ラット肝細胞を 100 μM のコール酸＋CsA で共インキュベートしても、グリココール酸塩の蓄積は阻害されなかった。

胆汁酸取込みに対する CsA の影響
ラット肝細胞を 3、10、100 μM の CsA とインキュベートすると 4 種類とも取込みが阻害されたが、最低濃度（1 μM）では CA のみ取込みが阻害された。CA、GCA 及び CDCA では K_m が有意に増加したものの V_{max} に変化はなく、各基質に対する CsA による競合阻害が示唆された。しかし、DCA では CsA によって K_m に有意な変化はみられなかったのに対して V_{max} が有意に減少したため、取込みの阻害は非競合的であった。
CsA（1、3、10 及び 100 μM）を単離肝細胞と長時間インキュベーション（2～30 分間）したところ、データから CsA 存在下での CA、CDCA 及び DCA の肝細胞蓄積にする有意な阻害が示された。
[^{14}C]コール酸、[^{14}C]ケノデオキシコール酸及び[^{14}C]デオキシコール酸の初期取込み率及び蓄積率の阻害がそれぞれの血清胆汁酸の変化と一致した。

コール酸との共インキュベーションの影響
ラット肝細胞を非標識コール酸と共インキュベートすると、[^{14}C]コール酸及び[^{14}C]ケノデオキシコール酸の蓄積に対する阻害作用が強まった。コール酸が存在しても CDCA の蓄積阻害は強まらなかった。さらに、ラット肝細胞を 100 μM のコール酸及びシクロスポリン A で共インキュベートしても、グリココール酸塩の蓄積は阻害されなかった。
全体として、シクロスポリン A 処置ラットにおける個々の血清胆汁酸の変化は、同ラットの肝細胞蓄積に対するシクロスポリン A の影響と一致していた。この研究により、CsA にはコール酸、CDCA 及び DCA の肝細胞への初期取込みに及ぶ迅速な濃度依存性の阻害作用があることが示された。コール酸は、in vivo 試験でも in vitro 試験でも CsA の作用に最も感受性の高い胆汁酸であった。

2.6.5.15.E (Barth, et al., 2006): “Influence of Verapamil and Cyclosporin A on bile acid metabolism and transport in rat liver slices”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：Influence of Verapamil and Cyclosporin A on bile acid metabolism and transport in rat liver slices</td><td>筆頭著者及び研究実施年：
(Barth, et al., 2006)
参照：</td><td>CTD 中の記載箇所：4.2.2.6-2</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：34～40 日齢 Han:WIST 系雄性ラット由来肝スライス</td><td>投与期間：4 時間</td><td colspan="2">投与方法：In vitro</td></tr>
<tr><td>処理条件：5 µL CA</td><td>投与例数：該当せず</td><td colspan="2">溶媒／製剤：該当せず</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：ベラパミル及びシクロスポリン A の胆汁酸代謝及び輸送への影響</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記すべき所見：ベラパミル又は CsA のみ添加した場合、スライス中及び培地中のコール酸濃度に変化はなかった。培地（25 nmol CA/5 mL KHB）にコール酸のみ添加すると、スライス中の TCA 及び GCA、並びに培地中の抱合型及び遊離コール酸が有意に増加した。コール酸負荷条件下でベラパミルを添加すると、コール酸のみ添加したときの数値に比べ、スライス中のコール酸及び TCA 濃度が有意に増加し、CsA を添加するとスライス中のコール酸濃度のみが増加した。ベラパミル及び CsA はいずれもコール酸の添加により上昇する培地中の TCA 及び GCA 濃度を有意に低下させ、培地中に残留するコール酸の量を増加させた。ベラパミルの存在下では、スライス中の遊離コール酸濃度が上昇したが、培地中のコール酸濃度が倍増したことから、取り込み後の排泄ではなく、ベラパミルによるコール酸の取り込みであることが示唆された。コール酸の添加により、スライス中及び培地中のタウリン抱合及びグリシン抱合胆汁酸を含む総胆汁酸が増加した。ベラパミル及び CsA が胆汁酸の輸送及び代謝に対して類似する作用を示すのは、各種胆汁酸トランスポーターの阻害ではなく、MDR1 による ATP 依存性の細胞外輸送の阻害によって説明できる。</td></tr>
</table>

2.6.5.16 参照文献

Azer, S. A. & Stacey, N. H., 1994. *Differential effects of cyclosporin A on transport of bile acids by rat hepatocytes: relationship to individual serum bile acid levels.,* : Toxicol Appl Pharmacol 124(2): 302-9.

Barth, A., Braun, J. & Müller, D., 2006. *Influence of Verapamil and Cyclosporin A on bile acid metabolism and transport in rat liver slices.,* : Exp Toxicol Pathol 58(1): 31-7.

Cronholm, T., Einarsson, K. & Gustafsson, J. A., 1974. *Changes in in vivo metabolism of bile acids in rat after treatment with phenobarbital.,* : Lipids 9(11): 844-9.

Hassan, A. S. & Subbiah, M. T., 1980. *Bile acids in the fetal rat: effect of maternal bile duct ligation.,* : Steroids 36(6): 709-15.

Hulzebos, C. V. et al., 2001. *Measurement of parameters of cholic acid kinetics in plasma using a microscale stable isotope dilution technique: application to rodents and humans.,* : J Lipid Res 42(11): 1923-9.

Lindstedt, S. & Norman, A., 1955. *On the excretion of bile acid derivatives in feces of rats fed cholic acid-2414C and chenodesoxycholic acid-2414C; bile acids and steroids 19.,* : Acta Physiol Scand 34(1): 1-10.

Little, J. M. et al., 1975. *Bile-salt metabolism in the primate fetus.,* : Gastroenterology 69(6): 1315-20.

Ostrower, V. S., Coan, P. & Kern Jr, F., 1974. *Effect of phenobarbital on intestinal cholic acid absorption in the rat.,* : Gastroenterology 67(6): 1162-8.

Redinger, R. N. & Small, D. M., 1973. *Primate biliary physiology. 8. The effect of phenobarbital upon bile salt synthesis and pool size, biliary lipid secretion, and bile composition.,* : J Clin Invest 52(1): 161-72.

Ryu , H.-J.et al., 2021. *Evaluation for Potential Drug-Drug Interaction of MT921 Using In Vitro Studies and Physiologically-Based Pharmacokinetic Models,* : Pharmaceuticals (Basel) 14(7): 654-70.

Weiner, I. M. & Lack, L., 1962. *Absorption of bile salts from the small intestine in vivo.,* : Am J Physiol 202: 155-7.