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

2.6.7　毒性試験概要表

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

2.6.7 毒性試験概要表 8
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 8
2.6.7.2 トキシコキネティクス：試験の一覧表 17
2.6.7.3 トキシコキネティクス：成績の一覧表 18
2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧 19
2.6.7.5 単回投与毒性試験 20
2.6.7.5.A 静脈内投与（マウス/ラット） 20
2.6.7.5.A.1 (Rothlin & Schalch, 1944): “Vergleichende Untersuchung einiger Gallensäuren” 英題名 “Comparative investigation of some bile acids” 20
2.6.7.5.A.2 (Joubert, 1978b): “An in vivo investigation of the negative chronotropic effect of cholic acid in the rat” 20
2.6.7.5.B 静脈内投与（ウサギ） 21
2.6.7.5.B.1 (Gillert, 1926): “Die Giftigkeit der Gallensäuren.” 英題名 “The toxicity of bile acids” 21
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 22
2.6.7.7 反復投与毒性試験：ピボタル試験 23
2.6.7.7.A 経口投与（マウス） 23
2.6.7.7.A.1 (Fickert, et al., 2001): “Effects of ursodeoxycholic and cholic acid feeding on hepatocellaular transporter expression in mouse liver” 23
2.6.7.7.A.2 (Besançon, et al., 1970): “Lithiase expérimentale par excès d’acide cholique chez la souris” 英題名 “Experimental lithiasis through excess cholic acid in mice” 23
2.6.7.7.A.3 (Wang, et al., 1999): “Cholic acid aids absorption, biliary secretion, and phase transitions of cholesterol in murine cholelithogenesis” 24
2.6.7.7.B 経口投与（ラット） 27
2.6.7.7.B.1 (Delzenne, et al., 1992): “Comparative hepatotoxicity of cholic acid, deoxycholic acid and lithocholic acid in the rat: in vivo and in vitro studies” 27
2.6.7.7.B.2 (Bray & Gallagher Jr, 1969): “Weight gain and intestinal histology of rats fed cholic, lithocholic, hyodeoxycholic, chenodeoxycholic, and deoxycholic acids” 28
2.6.7.7.B.3 (Visek, et al., 1965): “Growth of rats fed bile salts, urea and chlortetracycline” 29
2.6.7.7.B.4 (Gambal & Quackenbush, 1960): “Effects of cholesterol and other substances on essential fatty acid deficiencies” 30
2.6.7.7.B.5 (Lacassagne, et al., 1967): “Étude comparative du foie de rats récevant l’acide cholique ou l’acide lithocholique seuls, ou associés avec du jaune de beurre” 英題名 “Comparative study of the liver of rats receiving cholic acid or lithocholic acid, alone or associated with butter yellow” 32
2.6.7.7.C 経口投与（スナネズミ） 34
2.6.7.7.C.1 (Bergman & van der Linden, 1971): “Reaction of the mongolian gerbil to a cholesterol-cholic acid-containing gallstone inducing diet” 34

2.6.7.8 遺伝毒性試験 36
2.6.7.8.A In vitro 36
2.6.7.8.A.1 (Mori, et al., 1991): “Absence of mutagenic action of 5 beta-cholan-24-oic acid derivatives in the bacterial fluctuation and standard Ames tests” 36
2.6.7.8.A.2 (Venitt, et al., 1987): “Lack of mutagenic activity of bile acids in bacterial fluctuation tests” 38
2.6.7.8.A.3 (Watabe & Bernstein, 1985) : “The mutagenicity of bile acids using a fluctuation test” 40
2.6.7.8.A.4 (Silverman & Andrews, 1977): “Bile Acids: Co-mutagenic Activity in the Salmonella-Mammalian- Microsome Mutagenicity Test: Brief Communication” 44
2.6.7.8.A.5 (Jenkins, et al., 2007): “Deoxycholic acid at neutral and acid pH, is genotoxic to oesophageal cells through the induction of ROS: the potential role of anti-oxidants in Barrett’s oesophagus” 45
2.6.7.8.A.6 (Martinez-Diez, et al., 2000): “Comparison of the effects of bile acids on cell viability and DNA synthesis by rat hepatocytes in primary culture” 46
2.6.7.9 遺伝毒性試験 48
2.6.7.9.A In vivo 48
2.6.7.10 がん原性試験 49
2.6.7.10.A ラット 49
2.6.7.10.A.1 (Tsuda, et al., 1984): “Promotive effect of primary and secondary bile acids on the induction of gamma-glutamyl transpeptidase-positive liver cell foci as a possible endogenous factor for hepatocarcinogenesis in rats” 49
2.6.7.10.A.2 (Seraj, et al., 1997): “Effects of dietary bile acids on formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in F344 rats” 51
2.6.7.10.A.3 (Baijal, et al., 1998): “Tumor-enhancing effects of cholic acid are exerted on the early stages of colon carcinogenesis via induction of aberrant crypt foci with an enhanced growth phenotype” 53
2.6.7.10.A.4 (McSherry, et al., 1989): “Effects of calcium and bile feeding on colon tumours in the rat” 55
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 58
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期杯発生に関する試験 59
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 60
2.6.7.13.A ハムスター 60
2.6.7.13.A.1 (Siviero, et al., 2008): “Hepatobiliary effects of cholic and lithocholic acids: experimental study in hamsters” 60
2.6.7.13.B ヒツジ 61
2.6.7.13.B.1 (Perez, et al., 1994): “A single intravenous high dose of cholic acid to a pregnant ewe does not affect fetal well-being” 61
2.6.7.13.B.2 (Campos, et al., 1986): “Effects of cholic acid infusion in fetal lambs” 63
2.6.7.13.C ニワトリ 65

2.6.7.13.C.1 (Verrett, et al., 1980): “Toxicity and teratogenicity of food additive chemicals in the developing chicken embryo” 65
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出産後の発生並びに母体の機能に関する試験 66
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 67
2.6.7.16 局所刺激性試験 68
2.6.7.17 その他の毒性試験 69
2.6.7.18 参照文献 73

略語一覧

2-AA	2-アミノアントラセン
3β-HSD	3β-hydroxy -Δ^5-steroid oxidoreductase
Δ^4-3-oxoR	Δ^4-3-oxosteroid-5β-reductase
3MC	3-メチルコラントレン
4NoPD	4-nitro-o-phenylenediamine
ACF	異常腺窩巣
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AOM	アゾキシメタン
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
BP	血圧
bpm	毎分の拍動数
BS	胆汁酸塩
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
Co	対照
CSI	コレステロール飽和度
DAB	ジメチルアミノアゾベンゼン
DCA	デオキシコール酸
DEN	ジエチルニトロソアミン
DMSO	ジメチルスルホキシド
DNA	デオキシリボ核酸
ECFP	増強シアン蛍光タンパク質
EFA	必須脂肪酸
est	推定
exp	実験
EYFP	増強黄色蛍光タンパク質
F	雌
FHR	胎児心拍数
FXR	ファルネソイド X 受容体
FXRE	ファルネソイド X 応答配列
GFP	緑色蛍光タンパク質
GGT	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HR	心拍数
HepG2	肝細胞株 G2
IAP	子宮内圧
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
i.v.	静脈内
L	レシチン
LCA	リトコール酸
M	雄
MABP	平均動脈血圧
MC	コール酸メチル
MeCA	コール酸メチル
MeDCA	デオキシコール酸メチル
MF	実験動物用固形飼料
MMS	メタンスルホン酸メチル
MNNG	N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
MNU	N-Methyl-N-Nitrosourea
N	例数（合計）
N/A	該当せず
n.d., N/D	未測定

略語一覧（続き）

NaCl	塩化ナトリウム
NOAEL	無毒性量
PAS	過ヨウ素酸シッフ
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応
ROS	活性酸素種
RXR-α	レチノイド X 受容体-α
S.E.M.	平均値の標準誤差
SD	標準偏差
SHP	small heterodimer partner
T-β-MC	タウロ-β-ムリコール酸
T-ω-MC	タウロ-ω-ムリコール酸
TC	タウロコール酸
TCDC	タウロケノデオキシコール酸
TDC	タウロデオキシコール酸
TUDC	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
wt	体重

審査官への留意事項

これらの毒性試験の概要では、極めて多様な文献情報源からデータを収集している。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。

可能であれば、各動物に投与されたコール酸の濃度又は量を算出するために、体重又は摂餌量に関する詳細情報を参考文献から入手した。しかし、情報が入手できなかった場合には、必要に応じて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
ウサギ [4]	成熟	雄	4.5 kg	200 g
ハムスター	成熟	雄	—	12 g
		雌	—	12 g
スナネズミ	成熟	雄	—	10 g
		雌	—	10 g
ヒツジ	成熟	雄	70 kg	
		雌 [5]	70 kg	

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
4 http://www.ag.ndsu.edu/pubs/alt-ag/rabbit.htm; www.harlan.com/download.axd/727676722ade434ba25eeceec35f3b73.pdf?d=RMS1008-US-EN-01-PS-21_NZWRabbit; http://books.google.com/books?id=Jv8jIGZ2HGsC&pg=PA38&lpg=PA38&dq=male+new+zealand+white+rabbit+weight+sexually+mature+age&source=bl&ots=qf13jZoIeJ&sig=6uDH0ELABQrm49nnaeOFvdx3kvs&hl=en&ei=maw2SoL_O5e5jAe1rPmBCg&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1#PPA13,M2
5 妊娠動物

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：コール酸

試験の種類	動物種／系統	投与方法	用量（mg/kg）	コール酸プールサイズの倍数	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
単回投与毒性試験							
単回静脈内投与	マウス	静脈内注射	200 - 500 mg/kg	3-7	LD_{50} は 350 mg/kg（0.86 mmol/kg）。LD_{50} 絶対値は、マウス 1 例当たり 7 mg で、推定コール酸プールの約 4 倍である。	(Rothlin & Schalch, 1944)	4.2.3.1-3
単回静脈内投与	ラット／Wistar	静脈内注射	5～60 mg/kg（5 mg ずつ増量）	0.03-0.4	コール酸の静脈内投与により、用量依存的な陰性変時作用がみられた。このとき一般的に随伴する、平均動脈圧の低下もみられた。50 mg/kg を超える用量は致死的であった。	(Joubert, 1978b)	4.2.1.3-2
単回静脈内投与	ウサギ	静脈内注射	30 mg/kg	N/D	忍容性があり、目に見える反応なし。	(Gillert, 1926)	4.2.3.1-1
			40 mg/kg		絶叫を引き起こした。		
			50 mg/kg		痙攣を起こしたが、すぐに回復した。		
			60 mg/kg		注射時に即死した。		

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：コール酸

試験の種類	動物種／系統	N／群	投与方法	投与期間	CA の混餌濃度（%）	用量（mg/kg）	コール酸プールサイズの倍数	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
反復投与毒性試験										
7 日間混餌投与試験	マウス／Swiss	5	給餌	7 日間	0.5% 1%	750 mg/kg 1500 mg/kg	11 22	コール酸混餌投与により以下が認められた。 ● AST、ALT 及び AP 値の有意な用量依存的増加。 ● びまん性肝細胞壊死、肝細胞サイズの増大、有糸分裂像数の増加及び小葉間胆管の拡張。 ● 血清胆汁酸値の有意な上昇。 ● 胆汁流量の有意な増加。	(Fickert, et al., 2001)	4.2.3.2-5
8 カ月間混餌投与試験	マウス／Swiss	33 例（雌）、18 例（雌）	混餌投与	2～8 カ月間	0.5% 1%	750 mg/kg 1500 mg/kg	11 22	コール酸によって、コレステロール結石及び胆嚢病変が生じ、肝重量が増加した。	(Besançon, et al., 1970)	4.2.3.2-2
1 年間混餌投与試験	マウス／C57L/J	5	コレステロールとともに混餌投与	1 年間	0.5%	750 mg/kg	11	胆汁中コレステロールの過剰分泌及び胆石形成の促進	(Wang, et al., 1999)	4.2.3.2-8
2 週間混餌投与試験	ラット／Wistar	10	給餌	14 日間	0.5% 1%	250 mg/kg 500 mg/kg	1.667 3.333	コール酸混餌投与により、トランスアミナーゼの軽度増加及び血清総胆汁酸の強い増加が認められたが、肝臓の胆汁酸は増加しなかった。肝小葉組織像の軽度の変化のみ。	(Delzenne, et al., 1992)	4.2.3.2-4
26 日間混餌投与試験	ラット／Sprague-Dawley	7 例（雄）給餌		26 日間	0.15%	75 mg/kg	0.5	30 日間にわたる体重増加抑制。 CA 投与による腸粘膜の組織学的変化は生じなかった。	(Bray & Gallagher Jr, 1969)	4.2.3.2-3
28 日間混餌投与試験	ラット／Holzman	6 例（雄）給餌		28 日間	0.1%	50 mg/kg	0.3	動物の成長抑制及び死亡は認められなかった。	(Visek, et al., 1965)	4.2.3.2-9
					2%	1000 mg/kg	7	実験 7～21 日目に死亡が認められた。 投与に関係なく、死亡した動物では重度の下痢が認められた。		

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：コール酸

試験の種類	動物種／系統	N／群	投与方法	投与期間	CA の混餌濃度（%）	用量（mg/kg）	コール酸プールサイズの倍数	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
反復投与毒性試験（続き）										
5 週間混餌投与試験	ラット／Wistar	7 例（雄）	コレステロール添加又は非添加で混餌投与	5 週間	1%	500 mg/kg	3.3	必須脂肪酸（EFA）欠乏症状の発現を促進しなかったが、下痢、成長抑制及び体脂肪沈着抑制が認められた。 コール酸とともにコレステロールを混餌投与した場合、肝臓の脂質含有量が数倍に増加した。	(Gambal & Quackenbush, 1960)	4.2.3.2-6
1 年間及び 9 カ月間の混餌投与試験	ラット／Wistar	10 例（雄）	給餌	278 日間又は 372 日間	0.05%	25 mg/kg	0.16	体重減少が認められた。肝臓の肉眼所見は正常であったが、肥大しており、組織像で脂肪変性、門脈腔のリンパ球浸潤及び類洞内皮細胞の肥大が観察された。脾臓の腫大並びに組織像の変化がみられ、また、遅発性の骨髄造血欠損が認められた。 DAB の発がん性に対する促進作用なし。	(Lacassagne, et al., 1967)	4.2.3.2--7
4 カ月間混餌投与試験	スナネズミ	30 例（雌雄）	コレステロールとともに混餌投与	4 カ月間	0.5%	833 mg/kg	N/D	1%コレステロール及び 833 mg/kg のコール酸を混餌投与した動物では、肝臓の脂肪変性、細網内皮系における脂質の蓄積、血清コレステロール高値及び顕著な甲状腺低形成変化が認められた。	(Bergman & van der Linden, 1971)	4.2.3.2-1

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：コール酸

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	用量	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
遺伝毒性：In vitro							
エームス試験、彷徨試験	Salmonella Typhimurium TA100 TA98	In vitro	該当なし	15-75 µg/mL	コール酸では、Salmonella typhimurium TA100 又は TA98 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。	(Mori, et al., 1991)	4.2.3.3.1-4
エームス試験	Salmonella Typhimurium TA100 TA98	In vitro	該当なし	15-75 µg/mL	コール酸では、Salmonella typhimurium TA100 又は TA98 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。	(Venitt, et al., 1987)	4.2.3.3.1-6
エームス試験、彷徨試験	Salmonella Typhimurium TA100 TA98	In vitro	該当なし	15-75 µg/mL	コール酸 40～50 µg/mL によって、Salmonella typhimurium TA100 及び TA98 において復帰変異コロニー数の増加がみられた（p<0.05）。 2 mL のトップアガーにコール酸を 20、30、40、50、100 又は 500 µg で加えたところ、S9 混合液（アロクロール 1254 誘導ラット肝ホモジネート）添加の有無にかかわらず復帰突然変異体数の有意な増加はみられなかった。	(Watabe & Bernstein, 1985)	4.2.3.3.1-1
エームス試験	Salmonella Typhimurium TA1535,TA1536,TA1537,TA1538,TA98 及び TA100 株	In vitro	N/A	500 µg	コール酸の変異原性並びに 2-AA による助変異原性は、いずれの菌株でも確認されなかった。また、デオキシコール酸でも結果は同様であった。	(Silverman & Andrews, 1977)	4.2.3.3.1-5
小核試験	ヒト食道腺癌細胞株 OE33	In vitro	該当なし	50 µM - 1 mM	試験に用いた用量のコール酸による小核数の増加はなかった。	(Jenkins, et al., 2007)	4.2.3.3.1-2
有糸分裂	Wistar CF 雄ラット肝細胞	In vitro	6 時間	10- 1000 µmol/L	コール酸は、500 µmol/L を超える濃度でのみ、ニュートラルレッド取り込み量、すなわち細胞生存率を有意に低下させることが示された。コール酸は、細胞生存率低下作用が最も低い胆汁酸であった。	(Martinez-Diez, et al., 2000)	4.2.3.3.1-3
遺伝毒性：In vivo							
公表文献なし。							

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：コール酸

試験の種類	動物種／系統	各群例数	投与方法	投与期間	用量	コール酸プールサイズの倍数	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
がん原性									
ジエチルニトロソアミン誘発性腫瘍に対する作用	ラット／F344	20 例（雄）	200 mg/kg DEN の単回腹腔内投与後にコール酸 0.3%を混餌投与	8 週間	150 mg/kg	1	DEN のみ投与した対応する対照群と比較して、GGT 陽性細胞巣の定量値が有意に増加したことから、150 mg/kg のコール酸は、前がん性と考えられる病変の発生をラット肝で促進する作用を有した。	(Tsuda, et al., 1984)	4.2.3.4.2-4
単独の作用、又はアゾキシメタン誘発性腫瘍に対する作用	ラット／F344	7 例（雄）	AOM15 mg/kg の皮下投与コール酸 0.4%を飼料に添加	18 週間又は 8 週間	200 mg/kg	1.3	コール酸 200 mg/kg を飼料に添加しても結腸に ACF 様前がん病変の発生はみられず、F344 ラットの身体発達に有害な影響は認められなかった。一方、AOM の投与後にコール酸 200 mg/kg を投与したことで、基礎飼料給餌群と比較して ACF 数が統計的に多くなった。	(Seraj, et al., 1997)	4.2.3.4.2-3
アゾキシメタン誘発性腫瘍に対する作用	ラット／Sprague-Dawley	20 例（雄）	AOM15 mg/kg の皮下投与コール酸 0.2%を飼料に添加	20 週間	100 mg/kg	0.67	コール酸 100 mg/kg によって、初期段階の結腸発がん増強がみられるが、イニシエーション後の段階では効果がない。	(Baijal, et al., 1998)	4.2.3.4.2-1
N- Methyl-N-nitrosourea 誘発性腫瘍に対する作用	ラット／F344	10～25 例（雄）	MNU 0.1 mg/kg の直腸内投与カルシウム 1.6%の添加又は非添加の飼料にコール酸 0.2%を添加	27 週間	100 mg/kg	0.67	飼料にコール酸 100 mg/kg を添加すると、特定の結腸発がん物質 MNU の投与後に腫瘍数が増加する。 カルシウム 800 mg/kg に、腫瘍性疾患の発症から結腸を保護する作用はなかった。	(McSherry, et al., 1989)	4.2.3.4.2-2

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：コール酸

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	用量	コール酸プールサイズの倍数	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期杯発生に関する試験								
公表文献なし。								
生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響								
胚・胎児発生への影響	ゴールデンハムスター	飼料中 0.5%	18 日間	540-720 mg/kg	N/D	妊娠期間中のコール酸 540～720 mg/kg 摂取は、母体及び新生児の肝胆道系に対し、程度は様々だが毒性を引き起こした。	(Siviero, et al., 2008)	4.2.3.5.2-3
胚・胎児発生への影響	ヒツジ（雌）	静脈内ボーラス投与	ボーラス単回注射	0.41 mg/kg	N/D	母動物の胆汁酸血漿中濃度が急激に上昇しても、母動物にも胎児にも重大な有害作用は生じない。	(Perez, et al., 1994)	4.2.3.5.2-2
胚・胎児発生への影響	ヒツジ（子ヒツジ）	点滴静注	犠牲死まで継続	934 mg/日で持続静注	N/D	コール酸を高用量（408 mg/kg）で注入した場合でも、胎児に対して致死的でなく、重度な危害も生じない。 胎児の早産あり。	(Campos, et al., 1986)	4.2.3.5.2-1
胚・胎児発生への影響	ニワトリ	卵黄又は気室への注射	注射	25 mg/卵	N/D	本試験条件下では、コール酸による催奇形性作用はみられなかった。	(Verrett, et al., 1980)	4.2.3.5.2-4
生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響								
公表文献なし。								
幼若動物を用いた試験								
公表文献なし。								
局所刺激性試験								
公表文献なし。								

a: 反復投与試験及びがん原性試験における 1 日投与量、N/A：該当せず、N.D.：未測定

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：デオキシコール酸及びコール酸メチル

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	用量	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
その他の毒性試験							
代謝物（デオキシコール酸）							
単回静脈内投与	マウス	静脈内	単回投与	100-200 mg/kg	LD_{50} = 150 mg/kg CA と同様の病理学的効果	(Rothlin & Schalch, 1944)	4.2.3.1-3
2 週間混餌投与試験	ラット	経口	2 週間	250 mg/kg 500 mg/kg	血清中のトランスアミナーゼ、ビリルビン、総胆汁酸の極めて大きな上昇がみられた。いずれの用量でも、以下のような肝実質構造の完全な変化がみられた。拡大した門脈腔の中央でみられる毛細胆管と卵形細胞の過剰増殖、及び主に好酸性多核細胞からなる門脈周囲の炎症性浸潤。 肝胆汁酸の総濃度が有意に増加し、デオキシコール酸が占める割合が大きくなった。	(Delzenne, et al., 1992)	4.2.3.2-4
26 日間混餌投与試験	ラット	経口	26 日間	75 mg/kg	用量 1 又は 10 mmol/L で、腸切片におけるオレイン酸-1-^{14}C の脂質への取込みが有意に減少した。これらの結果は、1 又は 10 mmol/L のデオキシコール酸がオレイン酸のエステル化を in vitro で阻害することを示している。	(Bray & Gallagher Jr, 1969)	4.2.3.2-4
28 日間混餌投与試験	ラット	経口	28 日間	50-500 mg/kg	デオキシコール酸 1%を投与した動物はすべて 5 日以内に死亡した。デオキシコール酸を 0.5%以上で与えた群では、28 日生存例でも下痢が認められた。死亡時又は 28 日目に、デオキシコール酸 0.5%を給餌した群では、遠位小腸の充血がみられた。 デオキシコール酸ナトリウム濃度が 0.1%増えるごとに体重増加量は、デオキシコール酸未投与群全体の平均値 108 g から約 10%ずつ下回って減少した。 体重増加抑制と死亡率からみられるように、デオキシコール酸ナトリウムは他の胆汁酸塩と比較しても最も毒性が強いことが示された。	(Visek, et al., 1965)	4.2.3.2-9
エームス試験彷徨試験	Salmonella Typhimurium TA100 株と TA98 株	In vitro（エームス試験）	該当なし	15-75 µg/ml	デオキシコール酸では Salmonella typhimurium TA100 又は TA98 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。	(Mori, et al., 1991)	4.2.3.3.1-4
エームス試験	Salmonella typhimurium TA100 株と TA98 株	In vitro（エームス試験）	該当なし	15-75 µg/mL	デオキシコール酸では Salmonella typhimurium TA100 又は TA98 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。	(Venitt, et al., 1987)	4.2.3.3.1-6

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	用量	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
エームス試験彷徨試験	Salmonella typhimurium TA100 株と TA98 株	In vitro（彷徨試験、エームス試験）	該当なし	彷徨試験に用いた濃度は 15～40 µg/mL であった。エームス試験に用いた濃度は 20 µg/mL であった。	エームス試験では、2 mL のトップアガーにデオキシコール酸を 20、30、40、50、100 又は 500 µg で加えたところ、S9 混合液（アロクロール 1254 誘導ラット肝ホモジネート）添加の有無にかかわらず復帰突然変異体数の有意な増加はみられなかった。 細菌彷徨試験は 20 µg/mL で陽性であったが、エームス試験は陰性であった。	(Watabe & Bernstein, 1985)	4.2.3.3.1-1
小核試験	ヒト食道腺癌細胞株 OE33	In vitro	-	50、200 µmol/L	用量 50～200 µmol/L の範囲（生理学範囲は 50～100 µmol/L）で中性 pH の条件では、有意な小核数の増加がみられた。一方、細胞毒性は低かった。酸性条件（pH 5.5）の DCA は、中性条件の場合と比べ、小核数は同様であったが、毒性が強くなった。 DCA による活性酸素種の生成が、OE33 と KYSE-30 細胞の両方でみられた。	(Jenkins, et al., 2007)	4.2.3.3.1-2
有糸分裂	雄性 Wistar CF ラット肝細胞	In vitro	-	10-1000 µM	デオキシコール酸によるニュートラルレッド取り込みの低下は、コール酸やウルソデオキシコール酸よりも顕著であった。 DNA への放射性標識チミン取り込み阻害作用は、タウロデオキシコール酸及びグリコデオキシコール酸の方がデオキシコール酸よりわずかに低かった。	(Martinez-Diez, et al., 2000)	4.2.3.3.1-3
ジエチルニトロソアミン誘発性腫瘍に対する作用	ラット／F344	経口	8 週間	30-150 mg/kg	デオキシコール酸 150mg/kg を給餌したラットでは、3 週目の部分肝切除後の数日以内に 55～60%が死亡した。 DEN のみ投与した対応する対照群と比較して、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ陽性(γ-GT+)肝臓細胞巣の値が有意に増加したことから、デオキシコール酸（75～150 mg/kg）は、促進作用を有すると考えられた。	(Tsuda, et al., 1984)	4.2.3.4.2-4

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	用量	試験結果	参考文献	CTD での記載場所
単独の作用、又はアゾキシメタン誘発性腫瘍に対する作用	ラット／F344	経口	18 又は 8 週間	200 mg/kg	試験 1：コール酸、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸及びリトコール酸を与えたラットの結腸当たり ACF の平均数は、実験動物用固形飼料給餌群よりも多く、その差は統計的に有意であった（p<0.005）。　腺窩を 5 つ以上有する ACF の平均数は、対照群である実験動物用飼料給餌群と比較して、コール酸、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸及びリトコール酸投与群で約 2.5～3.7 倍多かったが、ウルソデオキシコール酸投与群では約 8.2 倍少なかった。 試験 2：並行して行われた試験では、AOM を投与せずに同様の胆汁酸添加飼料を 18 週間給餌しても、ACF の有意な発生はなかった。	(Seraj, et al., 1997)	4.2.3.4.2-3
不純物（コール酸メチル）							
遺伝毒性	Salmonella Typhimurium TA1535、TA1537、TA1438、TA98、TA100 株	In vitro	該当なし	-	エームス試験で復帰突然変異体数の有意な増加はみられず。	(Macdonald, et al., 1978)	4.2.3.7.6-2
薬理試験	ヒト Chang 肝細胞	In vitro	該当なし	-	コレステロール生合成に対する中程度の阻害活性あり。	(Kim, et al., 2004)	4.2.3.7.6-1
薬理試験	COS-7 細胞、HepG2 細胞、HuH-7 細胞、Caco-2 細胞	In vitro	該当なし	30 µM	FXR 受容体並びに FXR 受容体が調節する遺伝子の一部で活性化がみられた。	(Suzuki, et al., 2008)	4.2.3.7.6-3
小核試験	ヒト腺癌細胞株 OE33	In vitro	N/A	25～200 µmol/L	細胞分裂阻止法による小核試験を用いて、食道細胞（OE33 細胞）における in vitro の遺伝毒性試験を実施し、コール酸メチルの遺伝毒性の有無を検討したところ、本試験で採用した用量範囲（25～200 µmol/L）では、遺伝毒性が認められなかった。	(Eltahir & Jenkins, 2010)	4.2.3.7.6-4

2.6.7.2 トキシコキネティクス：試験の一覧表

トキシコキネティクスに関する公表文献はなかった。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：成績の一覧表

トキシコキネティクスに関する公表文献はなかった。

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

毒性試験情報はすべて公表文献に基づいており、毒性試験は実施していないため該当資料なし。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

2.6.7.5.A　静脈内投与（マウス/ラット）

2.6.7.5.A.1　(Rothlin & Schalch, 1944): “Vergleichende Untersuchung einiger Gallensäuren” 英題名 “Comparative investigation of some bile acids”

研究の標題：胆汁酸数種の比較検討（Vergleichende Untersuchung einiger Gallensäuren）		筆頭著者と研究実施年：（Rothlin & Schalch, 1944） 掲載誌名：Helv Physiol Pharmacal Acta 2:249-68	CTD での記載場所：4.2.3.1-3
動物種／系統：白色マウス	投与期間：単回投与	投与方法：静脈内	
投与時年齢：不明	観察期間：8 時間以上	溶媒／製剤：不明	
投与日：1944 年以前		原薬ロット番号：該当せず	
無毒性量：	未測定		
用量（mg/kg）	200 - 500 mg/kg		
割付例数	74		
トキシコキネティクス	未実施		
毒性試験における特記すべき所見	LD_{50} = 0.35 g/kg（1 日当たりコール酸 7 mg）。毒性徴候：不穏、間代性強直性痙攣に至る運動過多、運動失調及び昏迷（完全に衰弱し、5～10 分以内で死亡に至るが、まれに 1～2 時間のことあり）生存例は 5～8 時間以内に回復。 静脈内の胆汁酸が持つ界面活性特性によって溶血が生じ死に至ることから、界面活性剤特性や溶血性が、致死量との間に因果関係を持つと結論づけられた。		
追加情報：	一連の胆汁酸で、界面活性特性、溶血用量や LD_{50} との間に強い相関がみられた。こうした相関性は毒性と因果関係があると考えられた。		

2.6.7.5.A.2　(Joubert, 1978b): “An in vivo investigation of the negative chronotropic effect of cholic acid in the rat”

本試験の表については 2.6.3.4 項を参照のこと.

2.6.7.5.B 静脈内投与（ウサギ）

2.6.7.5.B.1 (Gillert, 1926): “Die Giftigkeit der Gallensäuren.” 英題名 “The toxicity of bile acids”

研究の標題：胆汁酸の毒性（Die Giftigkeit der Gallensäuren）			筆頭著者と研究実施年： (Gillert, 1926)	CTD での記載場所：4.2.3.1-1
			掲載誌名：Zeitschr Ges Exp Med 52(5/6):779-90	
動物種／系統：ウサギ	投与期間：単回投与		投与方法：静脈内	
投与時年齢：不明	観察期間：不明		溶媒／製剤：コール酸ナトリウム 1%溶液	
投与日：1926 年以前			原薬ロット番号：該当せず	
無毒性量：	30 mg/kg			
用量（mg/kg）	30 mg/kg	40 mg/kg	50 mg/kg	60 mg/kg
割付例数	不明（1 例？）	不明（1 例？）	不明（1 例？）	不明（1 例？）
トキシコキネティクス	未実施	未実施	未実施	未実施
毒性試験における特記すべき所見	目に見える反応なし。	絶叫	痙攣が生じるも回復は早い。	注射時に即死。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

反復投与毒性試験（非ピボタル試験）に関する公表文献はなかった。

2.6.7.7　反復投与毒性試験：ピボタル試験

2.6.7.7.A　経口投与（マウス）

2.6.7.7.A.1　(Fickert, et al., 2001): “Effects of ursodeoxycholic and cholic acid feeding on hepatocellaular transporter expression in mouse liver”

本試験の表については 2.6.3.1 項を参照のこと。

2.6.7.7.A.2　(Besançon, et al., 1970): “Lithiase expérimentale par excès d’acide cholique chez la souris” 英題名 “Experimental lithiasis through excess cholic acid in mice”

被験物質：コール酸

研究の標題：Lithiase expérimentale par excès d’acide cholique chez la souris［コール酸の過剰摂取によるマウス胆石の実験的形成］				筆頭著者と研究実施年：（Besançon, et al., 1970） 掲載誌名：Biol Gastroenterol (Paris) 2:147-60	CTD での記載場所：4.2.3.2-2
動物種／系統：マウス／Swiss	投与期間：2、4、8 カ月			投与方法：経口	
試験条件：Swiss 系マウスを用いた 2～8 カ月間の反復投与混餌試験であり、コール酸及び高コレステロール飼料の摂餌が及ぼすコレステロール胆石及び胆嚢病変への影響を検討した。	投与例数：不明（投与後生存した個体数のみ記載）			溶媒／製剤：添加飼料	
1 日投与量	0.5%CA（22.5 mg/例/日）	1%CA（45 mg/例/日）	0.5%CA（22.5 mg/例/日）＋1%コレステロール	0.25%CA（11.75 mg/例/日）＋0.25%デヒドロコール酸	クロフィブラート＋CA
評価例数	33	19	11	20	9
毒性試験における特記すべき所見 ・2 カ月時点で結石あり ・4 カ月時点で結石あり ・8 カ月時点で結石あり ・4 カ月時点の体重に対する肝重量割合（%）	 0 9/19 1/6 4.8	 0 0 0 8 結石形成作用がさらに安定し、早くなった。血管及び肝臓病変の程度は極めて強かった。	 - 11/11 - 9.5 結石形成作用がますます強く、早くなった。	 - 7/15 - 4.7 デヒドロコール酸単独と比べて、結石形成作用は安定しておらず、遅かった。ただし、病変の程度は強かった。	 - 0 1/9（7 カ月時点） 6.4 結石の形成と胆嚢病変に対する予防効果あり。
4 カ月時点の体重	31 g	31 g	32 g	31 g	26 g
特記すべき所見	結論として、デヒドロコール酸と比べてコール酸の結石形成作用は安定しておらず、弱いものであった。しかし、コール酸の胆嚢及び肝臓に対する病変誘発作用はデヒドロコール酸と比べて同等以上に強かった。				
追加情報：	マウスでコール酸を 0.5%又は 1%の濃度で通常飼料に加えた場合、コレステロール結石及び胆嚢病変が生じた。 デヒドロコール酸単独と比べて、コール酸の結石形成作用は安定しておらず、遅かった。ただし、病変の程度は強かった。				

2.6.7.7.A.3　(Wang, et al., 1999): “Cholic acid aids absorption, biliary secretion, and phase transitions of cholesterol in murine cholelithogenesis”

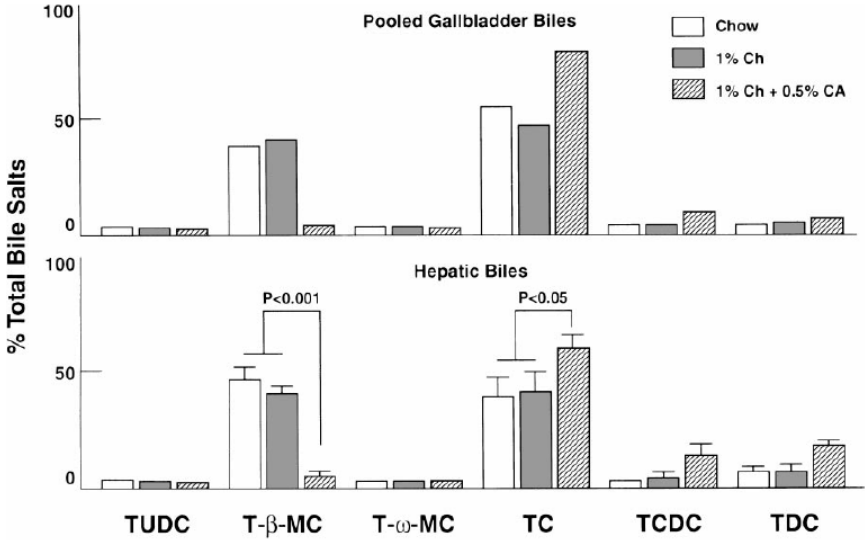
<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：コール酸はマウスのコレステロール吸収、胆汁分泌、コレステロール結石形成の際の相転移を促進する</td><td>筆頭著者と研究実施年：　(Wang, et al., 1999)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.2-8</td></tr>
<tr><td colspan="3"></td><td>掲載誌名：Am J Physiol gastrointest Liver Physiol 276:751-760</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：マウス／C57L/J</td><td>投与期間：1 年間</td><td colspan="2">投与方法：経口</td></tr>
<tr><td>試験条件：C57L/J マウスにおける 1 年間反復投与混餌試験で、0.5%コール酸含有飼料を用いて結石形成性を有する給餌をした場合の、コレステロール吸収、肝臓コレステロールのホメオスタシス、胆汁分泌、及び結石形成にみられる影響を検討する。</td><td>投与例数：5 例/群</td><td colspan="2">溶媒／製剤：0.5%コール酸を添加又は非添加の 1%コレステロールを含む固形飼料</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：
本研究では、1%コレステロールを含む固形飼料を、0.5%コール酸（750 mg/kg/日、コール酸プールサイズの 11 倍）を添加又は非添加の条件で、胆石ができやすい C57L/J 雄マウスに 1 年間給餌した。これらのマウスには、lith 遺伝子があるため、1%コレステロール飼料に 0.5%コール酸を加えて給餌したマウスの 100%が胆石を形成した。胆石の個数はほとんどの例で 7～9 個であった。
通常の固形飼料と 1%コレステロールを含む固形飼料を与えたマウスでは、1 年後の胆嚢容積が同程度であった。また、上記両群の胆嚢容積は、1%コレステロールを含む固形飼料に 0.5%コール酸を加えて給餌したマウスと比べて有意に小さかった。給餌 1 年後の時点で、胆嚢の胆汁脂質組成と肝臓の胆汁酸の組成は、固形飼料を給餌したマウスと 1%コレステロールを含む固形飼料を給餌したマウスで概ね同程度であった。これら 2 群のマウスと比較して、1%コレステロールと 0.5%コール酸を含む固形飼料を与えたマウスでは、コレステロールのモル%濃度及びレシチンが顕著に増加したが、胆汁酸塩の割合は減少した（表 2.6.7-1）。見かけのコレステロール飼和度（CSI）は、1%コレステロールと 0.5%コール酸を含む固形飼料を与えたマウスでは 1.74 と、他群のマウスと比べて（固形飼料を与えたマウスでは 0.52、1%コレステロールを含む飼料を与えたマウスでは 0.64 と同様の値であった）と比較して有意に高かった（表 2.6.7-1）</td></tr>
<tr><td colspan="4">表 2.6.7-1：胆嚢内プール胆汁の胆汁脂質組成
<table>
<tr><th>給餌</th><th>Ch（モル%）</th><th>L（モル%）</th><th>BS（モル%）</th><th>L/(L+BS)</th><th>[TL]（g/dl）</th><th>CSI</th></tr>
<tr><td>固形飼料</td><td>2.29</td><td>11.83</td><td>85.89</td><td>0.12</td><td>8.68</td><td>0.52</td></tr>
<tr><td>1%Ch</td><td>2.70</td><td>11.35</td><td>85.95</td><td>0.12</td><td>7.66</td><td>0.64</td></tr>
<tr><td>1%Ch＋0.5%CA</td><td>12.21</td><td>22.64</td><td>65.14</td><td>0.26</td><td>6.61</td><td>1.74</td></tr>
</table>
胆嚢内プール胆汁（n=20/群）から値を求めた。Ch：コレステロール、L：レシチン、BS：胆汁酸塩、[TL]：総脂質濃度、CSI：コレステロール飽和度、CA：コール酸、1%コレステロールと 0.5%コール酸を含む固形飼料群は固形飼料群又は 1%コレステロール含有固形飼料群と比べて有意差あり（*P<0.05 及び**P<0.01）。</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記すべき所見：
・まず、コール酸によって腸管のコレステロール吸収と胆汁中コレステロール量が増加し、さらに結石形成に向けた相転移が生じることで、コレステロールの過飽和と急速なコレステロール結晶化が生じるとする知見が得られた。
·さらに、この試験により、コール酸は cholesterol 7α-hydroxylase の活性を低下させ、それによりコレステロールの胆汁酸塩への異化変換を阻害し、コレステロール分泌速度を亢進し、それによってコレステロール過飽和をさらに促進する可能性を示した。
·また、コレステロールとコール酸の両方を飼料に添加した場合のみ、コール酸はムチンゲルの形成、コレステロール結晶及び胆石形成の促進並びに胆嚢肥大を誘発した。マウスに 1%コレステロールを単独で投与した場合、結石形成作用もホメオスタシス作用も認められなかった。</td></tr>
</table>

2.6.7.7.A.3 (Wang, et al., 1999): “Cholic acid aids absorption, biliary secretion, and phase transitions of cholesterol in murine cholelithogenesis” （続き）

被験物質：コール酸

特記事項：
胆汁酸塩は全てタウリン抱合体であり、いずれの例でも、胆汁酸塩組成の分布は胆嚢と肝臓の胆汁で同様であった。1%コレステロールと 0.5%コール酸を含む飼料を与えたマウスでは、疎水性のタウロ-β-ムリコール酸（T-β-MC）の濃度が 3.1～4.0%と有意に減少し、タウロコール酸（TC）の濃度が 58.7～77.6%と顕著に増加した（図 2.6.7-1）。

図 2.6.7-1：異なる食餌を 1 年間与えたマウスの胆嚢内プール胆汁（上）及び各例の肝臓内胆汁（下）中の胆汁塩類の割合



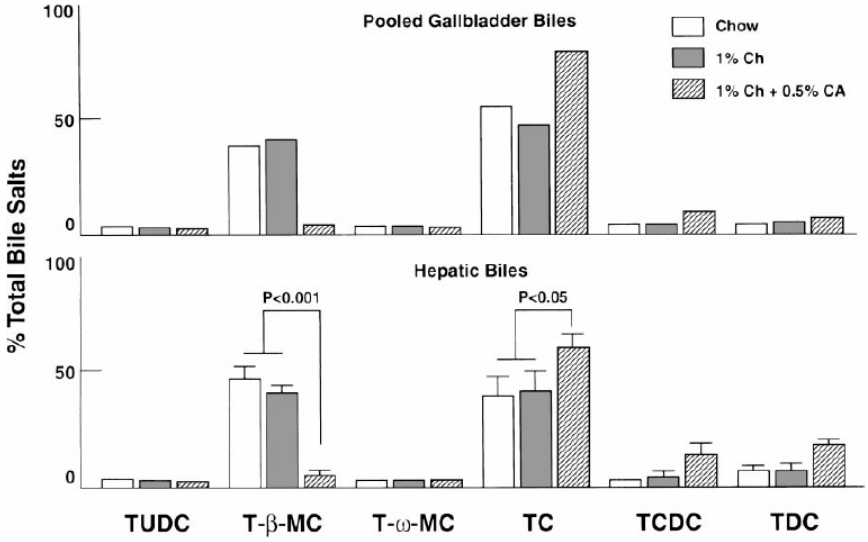
Ch：コレステロール、CA：コール酸、TUDC：タウロウルソデオキシコール酸、T-β-MC：タウロ-β-ムリコール酸、T-ω-MC：タウロ-ω-ムリコール酸、TC：タウロコール酸、TCDC：タウロケノデオキシコール酸、TDC：タウロデオキシコール酸。

2.6.7.7.A.3 (Wang, et al., 1999): “Cholic acid aids absorption, biliary secretion, and phase transitions of cholesterol in murine cholelithogenesis” （続き）

被験物質：コール酸

固形飼料又は 1%コレステロール含有固形飼料を与えたマウスと比較して、コレステロールの吸収率は、1%コレステロールと 0.5%コール酸を含む飼料を与えたマウスでは 55 ± 5%、コレステロール不含でコール酸を含む飼料を与えたマウスでは 63 ± 7%と、有意に増加した（P < 0.001）。図 2.6.7-2 に示すように、1%コレステロールと 0.5%コール酸を含む飼料を 1 年間給餌した場合、cholesterol 7 α -hydroxylase 活性は 1.8 ± 1.3 pmol· min^{-1}· mg^{-1} と、固形飼料投与群の 5.2 ± 2.4 pmol· min^{-1}· mg^{-1}、1%コレステロール飼料投与群の 5.0 ± 2.9 pmol· min^{-1}· mg^{-1} と比較して、有意に低下した（p< 0.05）。

図 2.6.7-2：異なる食餌（各 n = 5）を 1 年間与えたマウス肝臓内の cholesterol 7α-hydroxylase 活性



2.6.7.7.B　経口投与（ラット）

2.6.7.7.B.1　(Delzenne, et al., 1992): “Comparative hepatotoxicity of cholic acid, deoxycholic acid and lithocholic acid in the rat: in vivo and in vitro studies”

被験物質：コール酸

研究の標題：ラットにおけるコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸の肝毒性の比較：in vivo、in vitro 試験		筆頭著者と研究実施年：　(Delzenne, et al., 1992)	CTD での記載場所：4.2.3.2-4
		掲載誌名：Toxicology Letters, 61 291-304	
動物種／系統：ラット／Wistar	投与期間：2 週間	投与方法：経口	
試験条件：Wistar ラットを用いた 2 週間反復投与混餌試験であり、コール酸及びその他の胆汁酸による肝毒性を検討した。	投与例数：10 例/群	溶媒／製剤：0.5%又は 1%のコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸を飼料に添加	

特記事項：
試験の in vivo 部分では、Wistar 雄ラット 10 例（体重 180g）の群に、0.5%又は 1%のコール酸、デオキシコール酸又はリトコール酸を添加した飼料を 2 週間与えた。したがって、投与開始時のコール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 45 mg 及び 90 mg と算出された。これは、算出コール酸プールのそれぞれ 1.7 倍及び 3.3 倍に相当した。このとき、相対投与量は 1 日当たりそれぞれ 250 mg/kg 及び 500 mg/kg と算出された。実験期間終了時に、肝臓の検査項目と血清胆汁酸（表 2.6.7-2）、肝組織像を検討した。

特記事項：
表 2.6.7-2：胆汁酸を経口投与した際のアミノトランスフェラーゼ（AST、ALT）活性、総ビリルビン並びに総胆汁酸の血清中濃度にみられる影響

投与群		N	AST（IU/L）	ALT（IU/L）	ビリルビン（mg/dL）	総胆汁酸（μmol/L）
対照		10	42 ± 3	23 ± 1	n.d.	30 ± 2
コール酸	0.5%	10	49 ± 9	36 ± 8	n.d.	48 ± 11
	1%	10	52 ± 3	46 ± 8	n.d.	124 ± 4 b
デオキシコール酸	0.5%	9	590 ± 80 [b]	578 ± 174 [a]	9 ± 3	662 ± 201 [a]
	1%	7	2000 ± 560 [b]	1155 ± 559 [b]	12 ± 5	500 ± 120 [b]
リトコール酸	0.5%	10	39 ± 4	20 ± 4	3 ± 1	66 ± 7 [a]
	1%	9	145 ± 38	133 ± 27 [a]	5 ± 1	207 ± 25 [b]

表に示した値は、平均値 ± SE である。n = 各群例数（10 例未満の場合は、実験期間中に死亡したことを示す）、a: P<0.05 及び b: P<0.01（Student の t 検定）、n.d.検出不能（血清中 1 mg/dL 未満）
特記すべき所見：
・コール酸を投与した場合は、トランスアミナーゼの上昇と血清総胆汁酸濃度の用量依存性の上昇がみられ、これはわずかな胆汁うっ滞を示す所見であった。
・デオキシコール酸を投与した場合、肝トランスアミナーゼ、ビリルビン、総胆汁酸の極めて大きな上昇がみられ、また、致死率が顕著であった。
・リトコール酸を投与した場合は、これらの中間的な影響がみられた。
・コール酸を投与した場合は、肝小葉構造にみられる影響はわずかなものにすぎなかったが、デオキシコール酸を投与した場合は、肝組織像に大きな病理学的変化がみられた。
・リトコール酸を投与した場合は、やはりこれらの中間的な所見がみられた。
・コール酸を投与した場合は、肝臓中の胆汁酸濃度の変化はみられず、自身とその主要代謝産物であるデオキシコール酸の割合が増加した一方でムリコール酸の濃度が減少したことで、その組成量がわずかに変化したのみであった。
・このように、検討対象とした 3 種類の胆汁酸のうち、コール酸の毒性作用が最も弱く、デオキシコール酸が最も強かった。リトコール酸でみられた影響が比較的軽度であったことは、げっ歯類でその腸管吸収が弱く、代謝が広いことに関連している可能性がある。

2.6.7.7.B.2　(Bray & Gallagher Jr, 1969): “Weight gain and intestinal histology of rats fed cholic, lithocholic, hyodeoxycholic, chenodeoxycholic, and deoxycholic acids”

被験物質：コール酸

研究の標題：コール酸、リトコール酸、ヒオデオキシコール酸、ケノデオキシコール酸、デオキシコール酸を給餌したラットの体重増加と消化管組織像		筆頭著者と研究実施年：（Bray and Gallagher 1969 [143]） 掲載誌名：Proc Soc Exp Biol Med 130(1):175-77	CTD での記載場所：4.2.3.2-3
動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley	投与期間：26 日間	投与方法：経口	
試験条件：コール酸 0.15%を飼料に添加	投与例数：雄 7 例	溶媒／製剤：飼料	

特記事項：本試験は、Sprague-Dawley ラットを用いた 26 日間反復投与試験であり、コール酸が腸粘膜への直接作用を介して食物の取り込みを阻害し、最終的に組織学的変化を引き起こすかどうかを検討した。
Sprague-Dawley 雄ラット 7 例に、0.15%コール酸を添加した飼料を 26 日間与えた際に、体重を週 2～3 回記録した。コール酸の 1 日投与量の絶対値は 4.5 mg と算出された。これはコール酸プールの約半分に相当する。一方、相対投与量は 1 日当たり約 75 mg/kg と算出された。26 日目にラットは犠牲死とし、腸、肝臓、心臓、生殖腺及び甲状腺の重量を測定した。また、心臓、肝臓、十二指腸付き胃、結腸付き回腸の切片を 10%ホルマリン液並びに Zenker 液で固定した。固定組織切片を作成し、ヘマトキシリン及びエオジンで染色した。
表 2.6.7-3：体重及び心肝重量に胆汁酸が及ぼす影響

胆汁酸	例数	体重	肝臓（g）	% Wt（g/体重 100 g）	心臓（mg）	% Wt（mg/体重 100 g）
なし	5	205 ± 6[b]	8.3 ± 0.3	4.05 ± 0.15	809 ± 52	390 ± 25
リトコール酸	7	161 ± 6	6.3 ± 0.3	3.91 ± 0.16	740 ± 21	460 ± 13
デオキシコール酸	5	165 ± 7	6.9 ± 0.3	4.18 ± 0.24	700 ± 10	420 ± 10
コール酸	7	144 ± 5	5.1 ± 0.2	3.52 ± 0.19	653 ± 18	450 ± 12
ケノデオキシコール酸	7	172 ± 7	6.5 ± 0.4	3.75 ± 0.25	717 ± 24	420 ± 14
ヒオデオキシコール酸	7	181 ± 5	7.2 ± 0.4	3.98 ± 0.2	818 ± 74	450 ± 15

[a] 体重及び臓器重量は、26 日間胆汁酸投与後に測定した
[b] 平均値 ± S.E.M.、wt：体重

特記すべき所見：飼料中に 0.15%の割合で胆汁酸を添加した場合はコール酸を含めいずれも、30 日間を通じた体重増加量が低下していたが、いずれの場合も腸粘膜に組織学的変化はみられなかった。
混餌投与試験
·最初の 1 週間が経過した時点で、コール酸及びリトコール酸を投与したラットは、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸又はヒオデオキシコール酸を投与した他のラットよりも体重が有意に軽かった（表 2.6.7-3）。
·3 週間の終了時点では、胆汁酸を投与した全例で平均体重が減少していた。
·ラット犠牲死時点で、コール酸を投与したラットでは、体重 100 g 当たりの肝相対重量が減少した。
·コール酸及びリトコール酸を投与したラットでは体重 100 g 当たりの心臓重量が有意に増加したが、他の胆汁酸を投与したラットではこうした増加はみられなかった。
·いずれの胆汁酸を投与したラットでも、生殖腺と甲状腺の重量に対する影響はみられなかった。
·心臓、肝臓、十二指腸、回腸及び結腸の組織切片では、胆汁酸の摂取によるものとみられる組織学的変化はみられなかった。

2.6.7.7.B.3　(Visek, et al., 1965): “Growth of rats fed bile salts, urea and chlortetracycline”

被験物質：コール酸

研究の標題：胆汁酸塩、尿素及びクロルテトラサイクリンを給餌したラットの体重増加		筆頭著者と研究実施年：　(Visek, et al., 1965)	CTD での記載場所：4.2.3.2-9
		掲載誌名：Acta Obstet Gynecol Scand 65:23-6	
動物種／系統：ラット／Holzman	投与期間：28 日間	投与方法：経口	
試験条件：コール酸ナトリウム 0.1%又は 2%を飼料に添加	投与例数：雄 6 例/群（平均）	溶媒／製剤：飼料	

特記事項：本試験は、Holzman ラットを用いた 28 日間反復投与混餌試験であり、コール酸による体重への影響を検討した。
コール酸ナトリウム 0.1%又は 2%を添加した飼料を 28 日間連日給餌した Holtzman ラット 6 例の平均体重を測定した（表 2.6.7-4）。ラットの初期重量は約 53g であった。コール酸ナトリウム 0.1%又は 2%であることから、投与開始時のコール酸の投与量の絶対値はそれぞれ 1 日当たり 2.65 mg 及び 53 mg と算出された。これは、算出コール酸プールのそれぞれ約 1/3 及び 7 倍に相当した。このとき、相対投与量はそれぞれ 1 日当たり 50 mg/kg 及び 1000 mg/kg と算出された。

表 2.6.7-4：コール酸を添加した基礎飼料を給餌したラットの体重増加量と飼料利用効率

投与群			28 日体重増加量（g）[a]	増加量／飼料比 [b]
1	基礎飼料		103.5	0.359
2	基礎飼料	＋0.1%コール酸	104.0	0.373
3	基礎飼料	＋2.0%コール酸	21 日後の生存例なし	

[a] 各群 6 例の平均値体重増加の平均二乗誤差は 230.6 である。
[b] 増加量／飼料比の平均二乗誤差は 0.0014 である。

特記すべき所見：
·0.1%コール酸ナトリウム（コール酸プールの約 1/3 に相当）を給餌したところ、体重増加の減少はみられなかった
·2.0%コール酸ナトリウム（1 日当たりコール酸プールの 7 倍）を給餌した例は 7 日目から 21 日目の間に死亡した（表 2.6.7-4）。
·投与に関係なく、死亡した動物では重度の下痢が認められた。

2.6.7.7.B.4　(Gambal & Quackenbush, 1960): “Effects of cholesterol and other substances on essential fatty acid deficiencies”

被験物質：コール酸

研究の標題：必須脂肪酸欠乏症に対するコレステロール及びその他の物質の影響		筆頭著者と研究実施年： (Gambal & Quackenbush, 1960)	CTD での記載場所：4.2.3.2-6
		掲載誌名：J Nutrition 70:497-501	
動物種／系統：ラット／Wistar	投与期間：5 週間	投与方法：経口	
試験条件：コール酸 1%を飼料に添加	投与例数：雄 7 例	溶媒／製剤：飼料	

特記事項：本研究は、Wistar ラットにおける 5 週間給餌試験であり、必須脂肪酸を含まない低脂肪食で飼育したラットの屠体全体と肝臓の脂質及び必須脂肪酸（EFA）欠乏症状に及ぼすコール酸の影響を検討した。
本研究は、必須脂肪酸を含まない低脂肪食で飼育したラットにおいて、コレステロール、コール酸、グリココール酸ナトリウム、ビタミン B 並びにこれらの組み合わせを給餌した際の屠体全体と肝臓の脂質及び EFA 欠乏症状に及ぼす影響を検討した。体重約 45 g の雄の離乳 Wistar ラットを、表 2.6.7-5 に示すとおりに 7 つの給餌群に分け、5 週間給餌した。添加物はコール酸も含め、飼料中の添加割合は 1%とした。投与開始時のコール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 22.5 mg と算出された。これは、算出コール酸プールの 3.3 倍に相当した。このとき、相対投与量は 1 日当たり 500 mg/kg と算出された。

表 2.6.7-5：離乳期ラットに 5 週間給与した添加物の影響

給餌番号	基礎飼料への添加物 [1]	例数			平均体重増加量	平均総脂質	
		開始時	皮膚炎発現	死亡		屠体	肝臓
					対照に対する割合（%）	% S.E[4]	% S.E
1	大豆油（陽性対照）	5	0	0	100	4.9 ± 0.71	1.8 ± 0.10
2	なし	7	0	0	75	4.4 ± 0.46	2.4 ± 0.78
3	コレステロール	7	5	0	58	3.8 ± 0.57	3.4 ± 0.52
3a	コレステロールと R.B.[3]	7	7	0	70	3.1 ± 0.28	3.8 ± 0.98[5]
3b	コレステロールと R.B.[3]+ B[2]	7	0	0	75	3.5 ± 0.41	5.0 ± 0.36
4	コール酸	7	0	2	36	1.6 ± 0.17	1.9 ± 0.35
4a	コール酸と R.B.[3]	7	0	0	45	1.5 ± 0.09	2.5 ± 0.19
4b	コール酸 ＋B[2]	7	0	0	30	2.1 ± 0.22	3.9 ± 0.41
5	コレステロールとコール酸	7	0	0	59	1.7 ± 0.19	7.4 ± 1.01[5]
5a	コレステロール、コール酸、R.B.[3]	7	0	1	46	1.9 ± 0.12	12.9 ± 1.59[5]
5b	コレステロールとコール酸＋B[2]	7	0	0	41	2.1 ± 0.23	9.4 ± 1.14[5]
6	グリココール酸ナトリウム	7	3	0	66	2.7 ± 0.30	4.4 ± 0.52
7	コレステロールとグリココール酸	7	4	0	58	3.6 ± 0.24	13.7 ± 0.58

1: 特段の記載がなければ、添加物はいずれも飼料の 1%とした。2:ビタミン B は 50%増量した
3:R.B.は水溶性米糠濃縮物 2%を指す（Borden Co., Research Division）
4:平均値の標準誤差。5:異常値を 1 件含む

2.6.7.7.B.4 (Gambal & Quackenbush, 1960): “Effects of cholesterol and other substances on essential fatty acid deficiencies”（続き）

被験物質：コール酸

特記事項：

表 2.6.7-6：EFA 欠乏食に飽和脂肪を添加した際の影響

給餌番号	基礎飼料への添加物	平均体重増加量		皮膚炎を示した例数	
		無脂肪食	3%脂肪食 [a]	無脂肪食	3%脂肪食 [a]
		対照に対する割合（%）	対照に対する割合（%）		
1	なし（対照）	100	100	0	0
4	コール酸	41.2	48.0	0	0
3	コレステロール	84.5	74.0	0	4
5	コレステロールとコール酸	48.6	79.0	0	1

[a] 水添ヤシ油

特記すべき所見：

·コール酸を投与された動物は、重度の胃腸障害を示す所見として下痢がみられ、うち 2 例は 5 週間以内に死亡した。
·コール酸によって体重増加の抑制がみられ、最大体重は対照群の 36%であった。
·食餌にコレステロールを添加することで、下痢と成長抑制は幾分軽減された。
·肝臓脂質に対する最も顕著な影響は、コレステロールを添加した給餌にコール酸又はグリココール酸ナトリウムを加えた場合にみられた。これらの物質によって、コレステロールを単独で添加した場合の 3～4 倍に肝臓脂質が増加した。
·コール酸を含有する全ての飼料で、屠体脂質は大幅に減少した。
·コール酸を含む飼料でビタミン B 量を増やした場合は、体重が減少するとともに肝臓脂質が増加する傾向がみられた。
·コール酸の給餌でみられる成長抑制については、ビタミン B を 50%増量した場合や、コレステロールと米糠濃縮物を加えた場合には、より大きくなると考えられた。
·ただし、コレステロール非存在下では、コール酸にビタミン B を添加しても、体重への影響はほとんどなかった。
·米糠濃縮物を添加することで、下痢が軽減し、摂餌量が増加することで体重も増加すると考えられた。
·また、無脂肪の EFA 欠乏飼料でもコレステロールとコール酸を加えた際に成長抑制作用が認められた。
·飼料中に水添ヤシ油を加えたところ、コレステロールとコール酸をともに給餌した際にみられる成長抑制効果が低下した。
コール酸（算出コール酸プールの 3 倍）によって、EFA 欠乏による症状の促進は生じないものの、下痢、成長抑制及び体脂肪蓄積が生じるとする結論であった。また、コール酸とともにコレステロールを混餌投与した場合、肝臓の脂質含有量が数倍に増加した。

2.6.7.7.B.5　(Lacassagne, et al., 1967): “Étude comparative du foie de rats récevant l’acide cholique ou l’acide lithocholique seuls, ou associés avec du jaune de beurre” 英題名 “Comparative study of the liver of rats receiving cholic acid or lithocholic acid, alone or associated with butter yellow”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：コール酸又はリトコール酸を単独又はバターイエローと併せて投与した際のラット肝臓の比較検討</td><td>筆頭著者と研究実施年： (Lacassagne, et al., 1967)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.2-7</td></tr>
<tr><td colspan="3">掲載誌名：Tumori 53(1):43-54</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：ラット／Wistar</td><td>投与期間：278 日間又は 372 日間</td><td colspan="2">投与方法：経口</td></tr>
<tr><td>試験条件：コール酸 0.05%を飼料に添加</td><td>投与例数：雄 10 例／実験</td><td colspan="2">溶媒／製剤：飼料</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：Wistar ラットを対照とした 2 件の慢性給餌（1 年、9 カ月）試験において、コール酸を単独又は発がん物質のパラ-ジメチルアミノアゾベンゼン（DAB）と併せて投与した際の毒性を検討している。このとき比較対照としてリトコール酸を用いた。
1 年間の試験では、Wistar 雄ラット 10 例（平均体重：370g）にコール酸 0.05%を含む低タンパク食を給餌した。投与開始時のコール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 9.25 mg と算出された。これは、算出コール酸プールの 1/6 に相当した。このとき、相対投与量は 1 日当たり 25 mg/kg と算出された。犠牲死は、32、95、153、211、264、285、319、333、349 及び 362 日目に各 1 例とした。対照群では、ラット 6 例に食物中にリトコール酸を同濃度で投与した。犠牲死は 28、49、103、161、272 及び 372 日目に各 1 例とした。
9 カ月間の試験では Wistar 雄ラット 10 例に、コール酸又はリトコール酸 0.05%（コール酸の用量計算については上記参照、動物の平均体重は 380g で、若干重いが差は無視できる）を 0.06%の DAB と併せて添加した飼料を給餌し、DAB による肝発がんへの影響を検討した。ラットは 278 日まで定期的に犠牲死させ、肝臓を観察した。</td></tr>
</table>

表 2.6.7-7：DAB 併用下、非併用下でコール酸又はリトコール酸を投与したラットの平均脾臓重量

1 日投与量（mg/kg）	コール酸 0.5g/kg	リトコール酸 0.5g/kg	DAB 0.6 g/kg＋ コール酸 0.5 g/kg	DAB 0.6 g/kg＋ リトコール酸 0.5 g/kg
割付例数	10	6	9	10
毒性試験における特記すべき所見	肝臓は正常 軽度の脾臓肥大がみられたが、進行性ではなかった。脾臓重量 1.100 g	肝臓は正常 脾臓重量は正常：0.890 g	CA の投与によって、肝細胞の DAB 毒性に対する抵抗性がみられた 顕著な脾臓の肥大：脾臓重量 2.200～2.500 g	リトコール酸には、DAB による毒性作用を遅らせる効果があり、コール酸投与群より良い状態であった 脾臓の肥大がみられたが、進行性ではなかった。脾臓重量 1.390 g

2.6.7.7.B.5 (Lacassagne, et al., 1967): “Étude comparative du foie de rats récevant l’acide cholique ou l’acide lithocholique seuls, ou associés avec du jaune de beurre” 英題名 “Comparative study of the liver of rats receiving cholic acid or lithocholic acid, alone or associated with butter yellow”（続き）

被験物質：コール酸

特記すべき所見：
リトコール酸及びコール酸には、DAB の発がん性に対する促進作用がみられなかった。リトコール酸を数カ月間連日投与した際にみられた毒性は、コール酸と比べてやや低かった。

1 年間試験
·いずれの群でも死亡例はなかった。
·開始時の平均体重が 370 g であったコール酸投与群では、平均 100 g の体重減少がみられた。一方、リトコール酸では体重は不変だった。肝臓の肉眼所見は正常であったが、いずれの投与群でも肥大がみられた。組織像では脂肪変性、門脈腔のリンパ球浸潤及び類洞内皮細胞の肥大が観察された。
·精子形成は、最終観察時を除いて、いずれの投与群でも正常であった。なお当該時点の所見は、ラットの年齢に起因すると考えられた。
·副腎の重量は正常であった。組織像では、皮質の束状層及び網状層に細胞空胞化の増加がわずかにみられ、腺細胞及び内皮細胞に、過ヨウ素酸シッフ（PAS）染色性リポクロムの増加を認めた。
·コール酸を投与した 2 例とリトコール酸を投与した 1 例で白血球の増多がみられた。
·脾臓組織像では、多核細胞のびまん性浸潤、閉塞、小出血がみられた。
·最初の数カ月時点でビルロート索の大きさは、骨髄赤血球細胞塊の発生によって増加した。同時にマルピーギ小体の萎縮がみられ、その濾胞構造は消失していた。
·5 カ月後の時点では、骨髄造血が大きく減少又は消失した。
·傍濾胞細胞及び細網細胞にはヘモジデリンが沈着しており、硬化性が認められた。

9 カ月間試験
·最初、肝臓表面に肉眼的な変化がみられ、ステージ IV（前がん性）を示す DAB の毒性が発現したのは、コール酸投与ラットでは 89 日目（発現時として通常）に、リトコール酸投与ラットでは 147 日目（発現時として極めて遅い）にみられた。
·リトコール酸の連日投与では、コール酸の投与と比べて DAB の毒性効果をわずかに遅らせることができた。これは、リトコール酸が DAB 毒性から肝細胞を保護しているためと考えられた。
·ラットを 2 つの投与群に分けて投与をしたところ、脾臓の重量は、各投与群で異なっていた。
·コール酸を単独又は DAB と併用投与したラットでは、リトコール酸を単独又は DAB と併用投与したラットと比べて、DAB 毒性による脾臓の肥大が重度であった（表 2.6.7- 7）。

2.6.7.7.C　経口投与（スナネズミ）

2.6.7.7.C.1　(Bergman & van der Linden, 1971): “Reaction of the mongolian gerbil to a cholesterol-cholic acid-containing gallstone inducing diet”

被験物質：コール酸

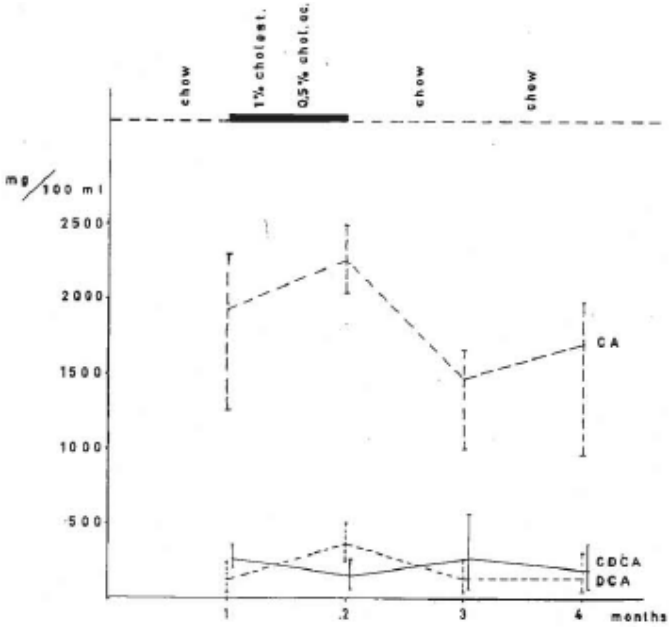
研究の標題：コレステロールとコール酸を含む胆石誘発飼料に対するスナネズミの反応		筆頭著者と研究実施年：(Bergman & van der Linden, 1971)	CTD での記載場所：4.2.3.2-1
		掲載誌名：Acta Obstet Gynecol Scand 65:23-6	
動物種／系統：スナネズミ	投与期間：4 カ月間	投与方法：経口	
試験条件：コール酸 0.5%を飼料に添加	投与例数：雌雄 30 例（実験 1）、100 例（実験 2）	溶媒／製剤：飼料	

特記事項：スナネズミを用いた 2 件の 4 カ月間反復投与混餌試験であり、肝臓、胆嚢、肺、心臓、脾臓、リンパ節、腎臓、副腎及び甲状腺を含む様々な臓器に対してコール酸単独又はコレステロールと併用投与した際にみられる影響を検討した。

実験 1
雌雄のスナネズミ 30 例（平均体重：60g）に、1%コレステロールと 0.5%コール酸を添加した固形飼料を 4 カ月間給餌した。投与開始時のコール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 50 mg と算出された。このとき、相対投与量は 1 日当たり 833 mg/kg と算出された。対照群 8 例には未添加の飼料を給餌した。投与期間終了時に生存例を犠牲死とし、肝臓、胆嚢、肺、心臓、脾臓、リンパ節、腎臓、副腎及び甲状腺を含む種々の臓器の重量測定し検査した。
4 カ月後時点で、試験群の生存例は 7 例であったのに対し、対照群では 6 例であった（p=0.0105、Fisher の正確確率検定）。試験群の生存例の平均体重は、対照群の 72.8 g と比較して 75.1 g に上昇していた。

実験 2
平均体重 70 g の動物 100 例を、それぞれ 20 例と 80 例の 2 群に分けた。実験前は全例に通常の固形飼料を与えた。うち 20 例からなる群では全例で未添加の飼料を与え、1 カ月後に犠牲死とした。これを対照とした。実験群とした 80 例には、1%コレステロールと 0.5%コール酸を添加した固形飼料を与えた。投与開始時のコール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 50 mg と算出された。このとき、相対投与量は 1 日当たり 714 mg/kg と算出された。1 カ月後、無作為に選んだ 20 例を犠牲死とし、検査した。残りの動物は未添加の固形飼料に戻した。その後 1、2、3 カ月後に、無作為に選択した 20 例を犠牲死とし、検査した。

特記事項：
図 2.6.7- 3：0.5%コール酸及び 1%コレステロールを給餌した際の胆汁中主要胆汁酸濃度（平均値と範囲）



2.6.7.7.C.1 (Bergman & van der Linden, 1971): “Reaction of the mongolian gerbil to a cholesterol-cholic acid-containing gallstone inducing diet”（続き）

被験物質：コール酸

特記すべき所見： 実験 1 ·4 カ月後時点で、試験群の生存例は 7 例であったのに対し、対照群では 6 例であった（p=0.0105、Fisher の正確確率検定）。 ·試験群の生存例の平均体重は、対照群の 72.8 g と比較して 75.1 g に上昇していた。 ·平均肝重量は、対照群が 3.1 g であったのに対し、コレステロールとコール酸投与群は 11.1 g であり、非常に有意な差がみられた。 ·試験群の生存例の肝臓は、淡黄色を呈しており、これは極度の脂肪変性を示す所見であった。 ·胆嚢が極度に拡張していた。 ·生存例の 7 例中 5 例で、小さなコレステロール胆石の大量の蓄積が認められた。 ·実験最終月に死亡した動物ではほとんどに同様の胆石がみられた。 ·対照群では胆石がみられなかった。試験群の生存例はすべて、脾臓が著しく肥大しており、腹水が認められた。 ·肝臓の組織像では極度の脂肪変性がみられ、実質細胞及びクッパー細胞の細胞内脂肪滴の大量蓄積や複屈折性のコレステロール結晶が認められた。 ·肝細胞は多型性がみられ、二核細胞が多くみられた。 ·軽度の線維化と結節性の肝臓実質再生がみられた。 ·胆嚢壁の菲薄化と、粘膜の軽度な線維化と萎縮がみられた。一部の例では、小さな粘膜潰瘍と散在性の炎症細胞浸潤が認められた。 ·肺、脾臓、リンパ節の細網内皮細胞にも染色性脂質の著明な蓄積と複屈折性のコレステロール結晶が認められた。 ·肺：肺胞内腔に遊離するか、肺胞壁に付着する脂肪陽性肺胞マクロファージの集塊がみられた。 ·脾臓：実質組織の大部分が脂質を含む組織球にほぼ置換されており、針状結晶と顆粒の蓄積がみられた。 ·脾臓：添加物を加えた飼料を給餌した動物ではターンブルブルー染色陽性物質の増加が認められた。 ·コレステロールとコール酸を投与した一部の動物の腎臓では、ヘンレのループ及び近位曲尿細管にわずかな脂肪化がみられた。 ·内分泌腺に関して、正常対照群で認められた甲状腺の低形成が、添加飼料投与群ではより強くみられた。 ·添加飼料投与群の副腎皮質の全層で染色性脂質とコレステロール結晶の顕著な増加が見られた一方で、下垂体前葉では違いがみられなかった。 ·動脈硬化性の変化はみられなかった。 ·血清コレステロール値の比較では、対照群の 104 mg%に比べて試験群で平均 867 mg%と極端な差が認められたことから、観察所見として見られた変化は、高コレステロール血症が少なくとも部分的に関与している可能性が示唆された。
実験 2 ·脂肪変性を伴う肝臓の顕著な肥大と重量の増加（対照群が 2.5 g であるのに対して 3.9 g） ·実質細胞及びクッパー細胞にみられた細胞内脂肪滴や複屈折性のコレステロール結晶の蓄積 ·対照群と比較して約 2 倍の胆汁中コレステロール濃度、コール酸及びデオキシコール酸濃度の有意な上昇、ケノデオキシコール酸濃度の有意な低下（図 2.6.7- 3） ·胆石は認められず ·中等度の胆嚢拡張 ·4 カ月間投与群と同程度の血清コレステロール値の上昇 ·通常の固形飼料に戻してから 1、2、4 カ月後に犠牲死としたスナネズミとの比較所見は以下の通りであった。 ·主に肝小葉の中心部と中間部での脂肪化の持続 ·引き続き対照群と有意に異なる肝重量 ·2 カ月後の時点で実験前とほぼ同じに戻る血清コレステロール値の急激な低下 胆汁中コレステロール濃度の緩やかな低下と、2 カ月後の時点で実験前値に達し、正常な胆汁酸組成に復帰（図 2.6.7-3）

2.6.7.8　遺伝毒性試験

2.6.7.8.A　In vitro

2.6.7.8.A.1　(Mori, et al., 1991): “Absence of mutagenic action of 5 beta-cholan-24-oic acid derivatives in the bacterial fluctuation and standard Ames tests”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題:細菌彷徨試験と標準エームス試験における 5β-cholan-24-oic acid 誘導体の変異原性の欠如</td><td>筆頭著者と研究実施年： (Mori, et al., 1991)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.3.1-4</td></tr>
<tr><td colspan="3">掲載誌名：Mutation Research 262:267-74</td></tr>
<tr><td>試験法：細菌復帰突然変異</td><td colspan="3">検討細胞数、培養細胞数：該当せず</td></tr>
<tr><td rowspan="6">株名：Salmonella Typhimurium TA100 株と TA98 株
代謝系：代謝系は用いなかった。
原薬ロット番号：該当せず
被験物質溶媒：50%エタノール、100%エタノール又は DMSO
陽性対照溶媒：メタンスルホン酸メチル（MMS）、4-nitro-o- phenylenediamine（4NoPD）及び 2-アセチルアミノ-フルオレン
独立分析回数：2</td><td>処置内容：</td><td colspan="2">1.細菌液 0.5 mL を解凍し、5 mL の普通ブイヨンで希釈し、一晩インキュベートした。
2.Davis Mingioli 塩 120 mL を 20% D-グルコース 2.4 mL、0.1 mg/mL ビオチン 0.48 mL、1 mg/mL の L-ヒスチジン 30 µL、10^5/mL 懸濁菌液 1 mL 及び胆汁酸溶液 0.2 mL と混合した。
3.上記混合液のうち 2 mL を 50 本の試験管に分注し、37°C で 3 日間（TA100）又は 5 日間（TA98）インキュベートした。
4.胆汁酸を添加した試験管のうち、his^+の復帰突然変異体を含んでおり白濁がみられるものの数を計数した。</td></tr>
<tr><td colspan="3">培養レプリケート数：4　処置日：1991 年以前</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：なし</td></tr>
<tr><td colspan="4">細胞毒性作用：なし</td></tr>
<tr><td colspan="4">遺伝毒性作用：なし</td></tr>
</table>

2.6.7.8.A.1 (Mori, et al., 1991): “Absence of mutagenic action of 5 beta-cholan-24-oic acid derivatives in the bacterial fluctuation and standard Ames tests” （続き）

被験物質：コール酸

特記事項：
処置内容：TA98 及び TA100 の復帰突然変異コロニー数
表 2.6.7-8：DMSO、エタノール及び 50%エタノールに溶解したコール酸及びデオキシコール酸の彷徨試験の反復施行

胆汁酸	用量（μg/mL）	DMSO				エタノール（100%）				エタノール（50%）			
		白濁試験管数				白濁試験管数				白濁試験管数			
		試験 1	試験 2	平均	試験管当たりの復帰突然変異体数	試験 1	試験 2	平均	試験管当たりの復帰突然変異体数	試験 1	試験 2	平均	試験管当たりの復帰突然変異体数
TA98 株													
対照	-	15	19	17.0	0.41	18	21	19.5	0.49	13	16	14.5	0.34
コール酸	25	15	16	15.5	0.37	13	24	16.5	0.40	22	17	19.5	0.49
	40	14	19	16.5	0.40	18	18	18.0	0.45	12	19	15.5	0.37
	50	17	20	18.5	0.46	18	20	19.0	0.48	20	20	20.0	0.51
	75	15	15	15.0	0.36	17	21	19.0	0.48	11	19	14.5	0.34
デオキシコール酸	15	15	17	16.0	0.39	18	18	18.0	0.45	20	19	19.5	0.49
	20	15	23	19.0	0.48	17	19	18.0	0.45	24	17	20.5	0.53
	30	17	22	19.5	0.49	21	18	19.5	0.49	19	15	17.0	0.41
	40	16	15	15.5	0.37	14	21	17.5	0.43	16	22	19.0	0.48
TA100 株													
対照	-	26	21	23.5	0.63	24	19	21.5	0.56	19	18	18.5	0.46
コール酸	15	24	19	21.5	0.56	24	14	19.0	0.48	20	19	19.5	0.49
	25	27	19	23.0	0.62	26	19	22.5	0.60	19	21	20.0	0.51
	40	20	21	20.5	0.53	23	19	21.0	0.54	25	19	22.0	0.58
	50	24	21	22.5	0.60	24	20	22.0	0.58	25	18	21.5	0.56
デオキシコール酸	15	15	24	19.5	0.49	18	16	17.0	0.41	17	21	19.0	0.48
	20	15	22	18.5	0.46	20	13	16.5	0.40	19	18	18.5	0.46
	30	21	22	21.5	0.56	17	12	14.5	0.34	21	25	23.0	0.62
	40	23	26	24.5	0.67	19	13	16.0	0.39	23	24	23.5	0.63

特記すべき所見：コール酸では TA98 又は TA100 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

追加情報：
·デオキシコール酸では TA98 又は TA100 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。
·5β - コラン酸を含む 9 種類の胆汁酸誘導体でも、変異原性がみられなかった。

2.6.7.8.A.2 (Venitt, et al., 1987): “Lack of mutagenic activity of bile acids in bacterial fluctuation tests”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">研究の標題：細菌彷徨試験による胆汁酸の変異原性の欠如</td><td colspan="2">筆頭著者と研究実施年：
(Venitt, et al., 1987)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.3.1-6</td></tr>
<tr><td colspan="2">掲載誌名：Mutation Research 190:191-6</td></tr>
<tr><td colspan="2">試験法：細菌復帰突然変異</td><td colspan="3">検討細胞数、培養細胞数：該当せず</td></tr>
<tr><td rowspan="6">株名：Salmonella Typhimurium TA100 株と TA98 株
代謝系：代謝系は用いなかった。
原薬ロット番号：該当せず
被験物質溶媒：水とエタノールの 50:50（v/v）混合液又は DMSO
陽性対照溶媒：メタンスルホン酸メチル（MMS）、4-nitro-o-phenylenediamine（4NoPD）
独立分析回数：3</td><td rowspan="6">処置内容：</td><td colspan="3" rowspan="6">1. Davis Mingioli 塩 120 mL を 20% D-グルコース 2.4 mL、0.1 mg/mL ビオチン 0.48 mL、1 mg/mL の L-ヒスチジン 30 µL、Lab-M 普通ブイヨン培地で一晩（10 時間）培養した接種用菌液 70 µL、水とエタノールの 50:50 混合液（v/v）に溶解した 15～75 µg/mL の胆汁酸溶液と混合した。
2. 上記混合液のうち 2 mL を 50 本の試験管に分注し、37°C で 3 日間（TA100）又は 5 日間（TA98）インキュベートした。
3. 胆汁酸を添加した試験管のうち、his^+の復帰突然変異体を含んでおり白濁がみられるものの数を計数した。</td></tr>
<tr></tr>
<tr></tr>
<tr></tr>
<tr></tr>
<tr></tr>
<tr><td colspan="2">培養レプリケート数：4</td><td colspan="3">処置日：1987 年以前</td></tr>
<tr><td colspan="5">特記事項：なし</td></tr>
<tr><td colspan="5">細胞毒性作用：なし</td></tr>
<tr><td colspan="5">遺伝毒性作用：なし</td></tr>
</table>

2.6.7.8.A.2 (Venitt, et al., 1987): “Lack of mutagenic activity of bile acids in bacterial fluctuation tests”（続き）

被験物質：コール酸

特記事項：
表 2.6.7-9：コール酸、ケノデオキシコール酸及びデオキシコール酸の S. typhimurium TA100 を用いた彷徨試験の反復施行

試験化合物	用量（μg/mL）	白濁試験管数				ウェル当たりの復帰突然変異体数
		試験 1	試験 2	試験 3	平均	
対照	0	33	41	34	36.0	1.31
コール酸	15	37	29	37	34.3	1.18
	25	37	39	42	39.3	1.56
	40	36	35	37	36.0	1.27
	50	37	32	43	37.3	1.45
ケノデオキシコール酸	10	30	41	39	36.7	1.38
	15	34	39	38	37.0	1.36
	20	35	39	35	36.3	1.30
	25	35	38	41	38.0	1.45
デオキシコール酸	15	40	37	37	38.0	1.43
	20	37	42	41	40.0	1.63
	30	42	35	39	38.7	1.51
	40	34	40	38	37.3	1.39
MMS[a]	0.13		48	47[b]	47.5	3.02
	0.65		50	50	50.0	-
	1.30	50	50	50	50.0	-
	6.50	0（毒性あり）				
	13.0	0（毒性あり）				

[a] メタンスルホン酸メチル（陽性対照）
[b] カイ二乗検定で p<0.001（用量が 0 の統合データとの統合データ比較による）

特記事項：
表 2.6.7-10：コール酸、ケノデオキシコール酸、デオキシコール酸の S. typhimurium TA98 を用いた彷徨試験の反復施行

試験化合物	用量（μg/mL）	白濁試験管数				ウェル当たりの復帰突然変異体数
		試験 1	試験 2	試験 3	平均	
対照	0	28	27	28	27.7	0.81
コール酸	25	22	25	29	25.3	0.70
	40	28	32	25	28.3	0.84
	50	28	25	31	28.0	0.83
	75	29	30	22	27.0	0.79
ケノデオキシコール酸	10	21	26	23	23.3	0.63
	15	28	28	24	26.7	0.76
	20	34	34	32	33.3	1.09
	25	35	29	23	29.0	0.89
デオキシコール酸	15	27	22	20	23.0	0.62
	20	39	26	30	31.7	1.05
	30	35	29	23	29.0	0.89
	40	35	36	21	30.7	1.00
4NoPD[a]	0.01	34	47	37[b]	39.3	1.76
	0.02	46	48	46[b]	46.7	2.76
	0.10	50	50	50	50.0	-

[a] 4-nitro-o-phenylenediamine（陽性対照）
[b] カイ二乗検定で p<0.001（用量が 0 の統合データとの統合データ比較による）

特記すべき所見：
コール酸では TA100 又は TA98 において復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

追加情報：
デオキシコール酸では TA98 又は TA100 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

2.6.7.8.A.3　(Watabe & Bernstein, 1985) : “The mutagenicity of bile acids using a fluctuation test”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：彷徨試験を用いた胆汁酸の変異原性</td><td>筆頭著者と研究実施年： (Watabe & Bernstein, 1985)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.3.1-1</td></tr>
<tr><td colspan="3">掲載誌名：Mutation Research 158:45-51</td></tr>
<tr><td colspan="2">試験法：細菌復帰突然変異</td><td colspan="2">検討細胞数、培養細胞数：該当せず</td></tr>
<tr><td rowspan="5">株名：Salmonella Typhimurium TA100 株と TA98 株
代謝系：代謝系は用いなかった。
原薬ロット番号：該当せず
被験物質溶媒：水とエタノールの 50:50（v/v）混合液又は DMSO
陽性対照溶媒：メタンスルホン酸メチル（MMS）、N- methyl-N’-nitro-N-nitroguanidine（MNNG）、3-メチルコラントレン（3MC）、4-nitro-o-phenylenediamine（4NoPD）
独立分析回数：3</td><td>処置内容：</td><td colspan="2">試験 1：彷徨試験
1.Davis Mingioli 塩 120 mL を 20% D-グルコース 2.4 mL、0.1 mg/mL ビオチン 0.48 mL、1 mg/mL の L-ヒスチジン 30 µL、10^5/mL 懸濁菌液（10 時間培養）1 mL 及び胆汁酸溶液 0.06～0.6 mL と混合した。
2.上記混合液のうち 2 mL を 50 本の試験管に分注し、37°C で 3 日間（TA100）又は 5 日間（TA98）インキュベートした。
3.胆汁酸を添加した試験管のうち、his^+の復帰突然変異体を含んでおり白濁がみられるものの数を計数した。

試験 2：TA100 を用いたプレート変異原性試験（エームス試験）
1.胆汁酸 20 µg、30 µg、40 µg、50 µg、100 µg 又は 500 µg を、アロクロール 1254 で処理した Sprague-Dawley ラットから調製した S9 混合液添加又は非添加の条件でトップアガーに加えた。
2.10^6/mL の菌液 0.1 mL を、異なる濃度の胆汁酸、過剰のヒスチジン及びビオチンを含む 2 mL のトップアガー試験管に加え、これらの試験管内容物をそれぞれ最少グルコース寒天培地プレート上に重層した。
3.2 日間のインキュベーション後、プレート上のコロニーを計数した。</td></tr>
<tr><td colspan="2">培養レプリケート数：4</td><td colspan="2">処置日：1985 年以前</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：試験 1：Salmonella TyphimuriumTA100 及び TA98 を用いた彷徨試験、試験 2：Salmonella TyphimuriumTA100 を用いたエームス試験</td></tr>
<tr><td colspan="4">細胞毒性作用：あり</td></tr>
<tr><td colspan="4">遺伝毒性作用：あり</td></tr>
</table>

2.6.7.8.A.3 (Watabe & Bernstein, 1985): “The mutagenicity of bile acids using a fluctuation test”（続き）

被験物質：コール酸

特記事項：

処置内容 1：TA100 の復帰突然変異コロニー数（彷徨試験）

表 2.6.7-11：TA100 株と異なる濃度の胆汁酸を用いた際に復帰突然変異体がみられた試験管の数（50 個中）

胆汁酸又は対照	μg/mL	復帰突然変異体を含む試験管の数				試験管当たり変異割合 a
		試験 1	試験 2	試験 3	平均	
対照	なし	20	20	24	21.3	0.56
コール酸	15	20	21	25	22	0.59
	25	29	28	30	29	0.86
	40	31	30	33	31.3	0.93*
	50	30	27	26	27.6	0.80
ケノデオキシコール酸	10	20	21	19	20	0.51
	15	27	29	29	28.3	0.83
	20	30	30	32	30.6	0.94*
	25	20	24	26	23.3	0.63
デオキシコール酸	15	20	25	25	23.3	0.63
	20	36	34	36	35.3	1.22**
	30	25	26	26	25.6	0.70
	40	25	20	20	21.6	0.56
リトコール酸	10	19	18	26	20.3	0.52
	15	16	20	21	19.0	0.47
	20	15	14	20	16.3	0.39
ウルソデオキシコール酸	20	22	16	23	20.3	0.52
	40	22	21	23	22.0	0.57
	50	19	16	21	18.7	0.49
メタンスルホン酸メチル	1.3	34	36	37	35.7	1.25**
	6.5	40	41	44	41.7	1.79***
	13.0	42	45	47	44.7	2.24***

*　　$p<0.05$、**$p<0.01$、***$P<0.001$。[a] 試験管当たりの平均突然変異事象数（元の細胞数は各セル 2 x 10^3）

2.6.7.8.A.3 (Watabe & Bernstein, 1985): “The mutagenicity of bile acids using a fluctuation test”（続き）

被験物質：コール酸

特記事項：
処置内容 2：TA98 の復帰突然変異コロニー数（彷徨試験）
表 2.6.7-12：TA98 株と異なる濃度の胆汁酸を用いた際に復帰突然変異体がみられた試験管の数（50 個中）

胆汁酸又は対照	μg/mL	復帰突然変異体を含む試験管の数				試験管当たり変異割合 a
		試験 1	試験 2	試験 3	平均	
対照	なし	15	13	13	13.7	0.32
コール酸	25	14	12	14	13.3	0.30
	40	19	20	21	20.0	0.51
	50	24	22	23	23.0	0.61*
	75	15	16	14	15.0	0.35
ケノデオキシコール酸	10	18	18	16	17.3	0.42
	15	23	24	20	22.3	0.60
	20	26	28	27	27.0	0.77**
	25	23	21	22	22.0	0.57
デオキシコール酸	15	18	18	18	18.0	0.44
	20	26	22	21	23.0	0.61*
	30	16	12	20	17.0	0.46
	40	7	11	11	9.7	0.21
リトコール酸	10	8	9	11	9.3	0.20
	15	9	14	10	11.0	0.25
	40	6	5	7	6.0	0.13
ウルソデオキシコール酸	20	16	15	16	15.7	0.38
	40	23	26	22	23.7	0.64*
	50	18	20	20	19.3	0.49
メタンスルホン酸メチル	0.01	28	25	22	25	0.69*
	0.02	36	32	28	32	1.02***
	0.10	48	45	43	45.3	2.36***

* p<0.05、**p<0.01、***P<0.001。[a] 試験管当たりの平均突然変異事象数（元の細胞数は各セル 2 x 10^3）

2.6.7.8.A.3 (Watabe & Bernstein, 1985): “The mutagenicity of bile acids using a fluctuation test”（続き）

被験物質：コール酸

特記事項：
処置内容 3：TA100 を用いたプレート変異原性試験
表 2.6.7-13：TA100 株と異なる濃度の胆汁酸を用いた際の復帰突然変異コロニー数

胆汁酸	濃度（μg/2 mL トップアガー）	復帰突然変異体コロニー数 [a]	
		-S9	+S9
対照	なし	106	137
コール酸	20	124	144
	30	106	137
	40	121	121
	50	121	138
	100	115	124
	500	123	130
ケノデオキシコール酸	20	136	138
	30	124	126
	40	148	125
	50	138	135
	100	118	140
	500	101	129
デオキシコール酸	20	154	133
	30	149	119
	40	143	146
	50	140	127
	100	126	124
	500	96	132
リトコール酸	20	123	141
	30	118	135
	40	107	133
	50	121	158
	100	127	128
	500	112	134

[a] 幾何平均（N = 2）

特記すべき所見：
· 40 μg/mL のコール酸では、TA100 において復帰変異コロニー数の増加がみられた。
· 50 μg/mL のコール酸では、TA98 において復帰変異コロニー数の増加がみられた。

追加情報：
彷徨試験
·ケノデオキシコール酸及びデオキシコール酸は、彷徨試験で TA100 及び TA98 に変異原性を示した。
·リトコール酸及びウルソデオキシコール酸は、試験濃度では TA100 に対して変異原性を示さなかった。
·ウルソデオキシコール酸 40 μg/mL は TA98 に対して変異原性を示した。
·全試験濃度でのリトコール酸と 40 μg/mL のデオキシコール酸では、復帰突然変異体含有試験管の数が減少した。
·試験した 5 種類の胆汁酸（コール酸、ケノデオキシコール酸、デオキシコール酸、リトコール酸及びウルソデオキシコール酸）のいずれでも、2 mL のトップアガーに 20、30、40、50、100 又は 500 μg で加えた場合では、S9 混合液添加の有無にかかわらず復帰突然変異体数の有意な増加はみられなかった。

2.6.7.8.A.4 (Silverman & Andrews, 1977): “Bile Acids: Co-mutagenic Activity in the Salmonella-Mammalian- Microsome Mutagenicity Test: Brief Communication”

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：胆汁酸：サルモネラ菌と哺乳類ミクロソームを用いた変異原性試験でみられる助変異原性: 短報</td><td>筆頭著者と研究実施年：
(Silverman & Andrews, 1977)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.3.1-5</td></tr>
<tr><td colspan="3">掲載誌名：J. Natl. Cancer inst.</td></tr>
<tr><td colspan="2">試験法：細菌復帰突然変異</td><td colspan="2">検討細胞数、培養細胞数：該当せず</td></tr>
<tr><td>株名：Salmonella Typhimurium TA1535、TA1536、A1537、TA1538、TA98、TA100</td><td rowspan="6">処置内容：</td><td colspan="2" rowspan="6">フェノバルビタール誘導肝ホモジネートの S9 分画で活性化した 2-AA を用い、各プレートに 500 µg ずつ加えたコール酸とデオキシコール酸に対してエームス試験を実施した。
しかし、この試験はエームスら（1975 年）が記載したものとは異なり、普通ブイヨン培地で 14 時間培養した菌液を 0.1 mL ではなく 0.2 mL トップアガーに加え、Vogel-Bonner の最少培地 E（VBE）を 30 mL ではなく 15 mL 含むプレートを用いて行った。
Ames BN, McCann J, Yamasaki E: Methods for detecting carcinogenicity and mutagens with the Salmonella/mammali- an microsome mutagenicity test.（サルモネラ菌と哺乳類ミクロソームを用いた変異原性試験による発がん性と変異原性の検出法）Mutat Res 31 :347-364, 1975</td></tr>
<tr><td>代謝系：フェノバルビタール誘導ラット肝ホモジネートの S9 分画で活性化した 2-AA（2-アミノアントラセン）</td></tr>
<tr><td>原薬ロット番号：該当せず</td></tr>
<tr><td>被験物質溶媒：DMSO</td></tr>
<tr><td>陽性対照溶媒：-</td></tr>
<tr><td>独立分析回数：明記なし</td></tr>
<tr><td colspan="2">培養レプリケート数：明記なし</td><td colspan="2">処置日：1977 年以前</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：なし</td></tr>
<tr><td colspan="4">細胞毒性作用：なし</td></tr>
<tr><td colspan="4">遺伝毒性作用：なし</td></tr>
</table>

2.6.7.8.A.5　(Jenkins, et al., 2007): “Deoxycholic acid at neutral and acid pH, is genotoxic to oesophageal cells through the induction of ROS: the potential role of anti-oxidants in Barrett’s oesophagus”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：中性及び酸性 pH のデオキシコール酸が誘導する活性酸素種によって生じる食道細胞に対する遺伝毒性：バレット食道に対して抗酸化物質が果たしうる効果。</td><td>筆頭著者と研究実施年：(Jenkins, et al., 2007)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.3.1-2</td></tr>
<tr><td colspan="3">掲載誌名：Carcinogenesis 28:136-42</td></tr>
<tr><td>試験法：小核遺伝毒性試験</td><td colspan="3">検討細胞数、培養細胞数：該当せず</td></tr>
<tr><td>株名：ヒト食道腺癌細胞株 OE33
代謝系：-
原薬ロット番号：該当せず
被験物質溶媒：該当せず
陽性対照溶媒：該当せず
独立分析回数：該当せず</td><td>処置内容：</td><td colspan="2">1.OE33 細胞をグリココール酸、タウロコール酸、グリコデオキシコール酸、タウロデオキシコール酸、コール酸、デオキシコール酸 50 µmol/L～1 mmol/L で処置した。
2.細胞を回収し、細胞ペレット 100～200 µL を 10%ギムザ液で染色してスライドを作成した。
3.小核の判定基準は標準的なものとした。スライドは画像化し、盲検法で評価した。</td></tr>
<tr><td>培養レプリケート数：2</td><td colspan="3">処置日：該当せず</td></tr>
<tr><td colspan="4">細胞毒性作用：抱合型胆汁酸（TCA、GCA、TDCA 及び GDCA）と一次胆汁酸（CA）は、酸性 pH で細胞毒性作用を示した。酸性 DCA（100～400 µmol/L）は OE33 細胞に対してさらに強い細胞毒性を示した。KYSE-30 細胞と OE33 細胞を酸性胆汁で処理した（50～200 mmol/L、4～24 時間）際も、死細胞数や DNA 収量低下より、極めて強い細胞毒性がみられると報告された。</td></tr>
<tr><td colspan="4">遺伝毒性作用：グリココール酸やタウロコール酸と同様、50 µmol/L～1 mmol/L のコール酸による小核数の有意な増加は生じなかった。一方、50～200 µmol/L のデオキシコール酸（DCA）では、同じ（中性 pH）条件で有意な小核数の増加がみられた。この遺伝毒性は中性 pH でも酸性 pH でも明らかであったが、酸性 pH では胆汁によって生じる毒性が大きく増強した。</td></tr>
</table>

2.6.7.8.A.6　(Martinez-Diez, et al., 2000): “Comparison of the effects of bile acids on cell viability and DNA synthesis by rat hepatocytes in primary culture”

被験物質：コール酸

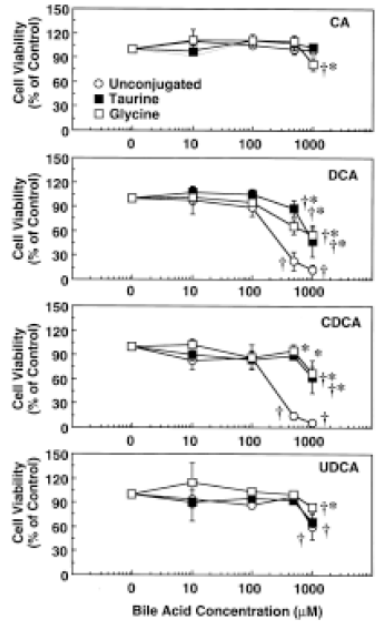
<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：ラット初代培養肝細胞における細胞生存性と DNA 合成に対する胆汁酸の影響の比較</td><td>筆頭著者と研究実施年： (Martinez-Diez, et al., 2000)
掲載誌名： Biochim Biophys Acta 2000; 1500: 153-60</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.3.1-3</td></tr>
<tr><td colspan="2">試験法：DNA 合成阻害能に対する in vitro 細胞毒性作用</td><td colspan="2">検討細胞数、培養細胞数：該当せず</td></tr>
<tr><td>株名：雄性 Wistar CF ラット肝細胞</td><td rowspan="5">処置内容：</td><td rowspan="5">試験 1（肝細胞の生存試験）
培養液を、対照又は濃度範囲を 10～1000 µmol/L（最終濃度）とした試験対象の胆汁酸のいずれか一つを含む新鮮培地と置換した。置換液に 6 時間曝露した後、ニュートラルレッド取り込み試験法及び／又はホルマザン形成試験法により細胞生存率を測定した。</td></tr>
<tr><td>代謝系：該当せず（原核細胞を用いた試験は実施せず）</td></tr>
<tr><td>原薬ロット番号：該当せず</td></tr>
<tr><td>被験物質溶媒：HEPES 10mmol/L、$NaHCO_3$ 26.2 mmol/L、Na_2SO_3 100 nmol/L、デキサメタゾン 30 nmol/L、インスリン 100 nmol/L、ガラクトース 11.1 mmo/L を添加し、pH 7.4 に調整したウィリアム培地 E。</td></tr>
<tr><td>陽性対照溶媒：該当せず</td></tr>
<tr><td>独立分析回数：4</td><td colspan="2">処置日：2000 年以前</td></tr>
<tr><td colspan="2">培養レプリケート数：3</td><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="4">細胞毒性作用：あり</td></tr>
<tr><td colspan="4">遺伝毒性作用：該当せず</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記すべき所見：
肝細胞を 10～1000 µmol/L の濃度のコール酸でインキュベートしたところ、コール酸は細胞生存率低下作用が小さかった。コール酸は、500 µmol/L を超える濃度でのみ、ニュートラルレッド取り込み量、すなわち細胞生存率が有意に低下した。</td></tr>
<tr><td colspan="4">追加情報：
·DNA への放射性標識チミン取り込み阻害作用は、タウロデオキシコール酸（TDCA）及びグリコデオキシコール酸（GDCA）の方が DCA よりわずかに低かった。
·TDCA 及び GDCA の DNA 合成及び細胞生存率に及ぼす影響を比較したところ、細胞生存率に影響を及ぼさない濃度の TDCA で DNA への放射性標識チミンの取り込みが有意に減少しており（-50%）、明確な乖離がみられた。
·また、肝臓の保護作用を持つことがよく知られているタウロウルソデオキシコール酸（TUDCA）及び S - アデノシルメチオニン（SAMe）によって DNA 合成に対する胆汁酸の作用を抑えることができなかったことから、胆汁酸の作用と DNA 合成との間に因果関係があることが支持された。</td></tr>
</table>

2.6.7.8.A.6 (Martinez-Diez, et al., 2000): “Comparison of the effects of bile acids on cell viability and DNA synthesis by rat hepatocytes in primary culture” （続き）

被験物質：コール酸

特記事項：

図 2.6.7- 4：コール酸（CA）、デオキシコール酸（DCA）、ケノデオキシコール酸（CDCA）及びウルソデオキシコール酸（UDCA）の非抱合型(白丸)、タウリン抱合型（黒四角）及びグリシン抱合型（白四角）の肝細胞生存率に対する用量依存的作用



CA、DCA、CDCA、UDCA の非抱合型（白丸）、タウリン抱合型（黒四角）、グリシン抱合型（白四角）。結果を対照と比較するために、対応のある t 検定（† $p < 0.05$）並びに胆汁酸種類間の Bonferroni の多重比較検定法（*$p<0.05$）を用いた。

2.6.7.9 遺伝毒性試験

2.6.7.9.A In vivo

In vivo の遺伝毒性試験に関する文献はなかった。

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.A ラット

2.6.7.10.A.1 (Tsuda, et al., 1984): “Promotive effect of primary and secondary bile acids on the induction of gamma-glutamyl transpeptidase-positive liver cell foci as a possible endogenous factor for hepatocarcinogenesis in rats”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題:ラットにおける肝発がんの内因性因子と考えられるγ-グルタミルトランスペプチダーゼ陽性肝細胞巣の発生に対する一次及び二次胆汁酸の促進効果</td><td>筆頭著者と研究実施年： (Tsuda, et al., 1984)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.4.2-4</td></tr>
<tr><td colspan="3">掲載誌名：Gann 75:871-5</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：ラット／F344</td><td>投与期間：8 週間</td><td colspan="2">投与方法：経口</td></tr>
<tr><td>試験条件：基礎飼料を 2 週間給餌した後、ラットに 0.3%コール酸、0.3%、0.06%、0.12%デオキシコール酸、0.05%ケノデオキシコール酸、0.3%リトコール酸又は 0.3%ウルソデオキシコール酸のいずれかを投与</td><td>投与例数：雄 20 例/群</td><td colspan="2">溶媒／製剤：飼料</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：Fischer（F344）雄ラットにおける 10 週間の給餌試験で、ジエチルニトロソアミン（DEN）200 mg/kg の単回腹腔内投与によってイニシエートする肝発がんに対して、5 種類の胆汁酸を給餌した場合の影響を調べた。
6 週齢の F344 ラット 260 例を 20 例ずつ群分けした。第 1 群には 0.9% NaCl 溶液に溶解した DEN 200 mg/kg を単回腹腔内投与し、肝発がんをイニシエートした。基礎飼料を 2 週間給餌した後、ラットに 0.3%コール酸、0.3%、0.06%、0.12%デオキシコール酸、0.05%ケノデオキシコール酸、0.3%リトコール酸又は 0.3%ウルソデオキシコール酸のいずれかを投与した。コール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 15 mg と算出された。これは、算出コール酸プールの 1 倍に相当した。このとき、相対投与量は 1 日当たり 150 mg/kg と算出された。検査のため、DEN 注射後 3 週目に 2/3 の肝切除をし、8 週目に犠牲死とした。3 週目の肝切除時と 8 週目の犠牲時にはいずれも、肝臓内のγ-グルタミルトランスペプチダーゼ（GGT）陽性細胞巣によって示される病変の発生に対する組織学的検査と定量を行った。第 2 群のラットには、試験対象化合物を給餌せずに、DEN の投与と 3 週目の部分的肝切除を行った。第 3 群のラットには、DEN 溶液の代わりに 0.9% NaCl 溶液を注射し、その後、第 1 群で実施したのと同様の胆汁酸の給餌及び部分肝切除を行った。</td></tr>
</table>

2.6.7.10.A.1 (Tsuda, et al., 1984): “Promotive effect of primary and secondary bile acids on the induction of gamma-glutamyl transpeptidase-positive liver cell foci as a possible endogenous factor for hepatocarcinogenesis in rats” （続き）

被験物質：コール酸

特記事項：

表 2.6.7-14：胆汁酸の後投与により生じる肝臓中 GGT 病巣の数と面積

群	投与内容			例数		1 cm^2 当たり γ-GT 病巣の定量値	
	イニシエーション	プロモーション	（用量）[a]	開始時	終了時	数	面積（mm2）
1	DEN	→ CA	(0.30)	20	17	14.4 ± 4.9[b, c]	0.82 ± 0.48[c]
	DEN	→ DCA	(0.30)	20	9	28.9 ± 7.1[c]	2.61 ± 1.12[c]
	DEN	→ DCA	(0.12)	20	16	15.1 ± 3.6[c]	0.72 ± 0.39[c]
	DEN	→ DCA	(0.06)	20	18	8.8 ± 2.4	0.50 ± 0.63
	DEN	→ CDCA	(0.05)	26	26	7.7 ± 3.1	0.22 ± 0.15
	DEN	→ LCA	(0.30)	20	20	8.5 ± 3.1	0.32 ± 0.17
	DEN	→ UDCA	(0.30)	23	23	7.9 ± 2.4	0.36 ± 0.26
	DEN	→ (-)	(-)	68	67	8.4 ± 3.2	0.30 ± 0.15
2	0.9% NaCl	→ CA	(0.30)	20	15	0.3 ± 0.4	0.07 ± 0.09
3	0.9% NaCl	→ DCA	(0.30)	20	8	0.2 ± 0.2	0.11 ± 0.12
	0.9% NaCl	→ CDCA	(0.05)	20	18	0.2 ± 0.4	0.01 ± 0.05
	0.9% NaCl	→ LCA	(0.30)	20	20	0.1 ± 0.1	<0.01
	0.9% NaCl	→ UDCA	(0.30)	20	20	0.3 ± 0.5	0.06 ± 0.01

[a] 基礎飼料中での含有率（%）

[b] 平均 ± SD

[c] DEN 単独投与群（第 2 群）と比べて有意に増加（$p<0.001$）

DEN：ジエチルニトロソアミン、CA：コール酸、DCA：デオキシコール酸、CDCA：ケノデオキシコール酸、LCA：リトコール酸、UDCA：ウルソデオキシコール酸

特記すべき所見：

·本試験のコール酸投与量での致死率は 25%であった。最も毒性が強い胆汁酸はデオキシコール酸であり、致死率は 60%であった。

·DEN のみ投与した対応する対照群と比較して、GGT 陽性細胞巣の定量値が有意に増加したことから、コール酸は、前がん性と考えられる病変の発生をラット肝で促進する作用を有した。DEN 投与後に 0.3% CA を与えた動物（第 1 群）における 1 cm2 当たりの GGT 陽性細胞巣の数と面積は、DEN のみ投与した群（第 2 群）の値と比較して有意に増加した。

·第 3 群（対照群）のラットは、肝部分切除という介入はしているものの、被験胆汁酸の反復投与混餌試験集団にもなっている。

2.6.7.10.A.2　(Seraj, et al., 1997): “Effects of dietary bile acids on formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in F344 rats”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2" rowspan="2">研究の標題：F344 ラットにおけるアゾキシメタン誘発性の異常腺窩巣の形成に対して食餌に含まれる胆汁酸が及ぼす影響</td><td>筆頭著者と研究実施年：　(Seraj, et al., 1997)</td><td>CTD での記載場所：
4.2.3.4.2-3</td></tr>
<tr><td colspan="2">掲載誌名：Cancer Letters 115:97-103</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：ラット／F344</td><td>投与期間：18 週間、8 週間</td><td colspan="2">投与方法：経口</td></tr>
<tr><td>試験条件：それぞれの胆汁酸（CA、DCA、CDCA、LCA、UDCA）0.4%（w/w）を添加した飼料の給餌</td><td>投与例数：雄 7 例/群</td><td colspan="2">溶媒／製剤：飼料</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：アゾキシメタン（AOM）の皮下投与とコール酸を含む食餌の投与により結腸癌を発生させた 18 週間及び 8 週間試験であり、コール酸及び他の主要胆汁酸の関与を検討した。
5 週齢の F344 雄ラットを用い、2 つの試験デザインで実施した。

試験 1
実験用固形飼料（MF）のみ（対照群とする）又はそれぞれの胆汁酸（CA、DCA、CDCA、LCA、UDCA）0.4%（w/w）を添加したものを給餌した（表 2.6.7-15）。コール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 20 mg と算出された。これは、算出コール酸プールの 1.3 倍に相当した。このとき、相対投与量は 1 日当たり 200 mg/kg と算出された（コール酸プールサイズの 1.3 倍）。基礎飼料群が 9 例であることを除き、各群 7 例とした。給餌期間は各群 18 週間とし、各群 1 例を 6 週目と 12 週目に犠牲死とし、結腸の ACF を評価した。いずれのラットも 18 週目に犠牲死とした。全試験期間を通じて、ラットの体重や摂餌量に有意差は認められず、実験終了時まで全例が生存した。

試験 2
AOM（15 mg/kg）を 7 日間隔で 2 回投与し、AOM の初回投与後から、基礎飼料又は基礎飼料にそれぞれの胆汁酸（CA、DCA、CDCA、LCA、UDCA）0.4%(w/w)を加えたものを 8 週間給餌した。最初の試験と同様に、F344 雄ラットの結腸における ACF の誘導と増殖に対する影響を検討した。体重及び摂餌量は、毎週記録した。8 週間後に、全例犠牲死として ACF を計数した（表 2.6.7-16）。</td></tr>
</table>

2.6.7.10.A.2 (Seraj, et al., 1997): “Effects of dietary bile acids on formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in F344 rats” （続き）

被験物質：コール酸

特記事項：

表 2.6.7-15：胆汁酸を添加した食餌を 18 週間給餌した F344 ラット結腸における ACF の発生に対する効果

給餌	発生率 [a]			結腸当たり ACF[b]	結腸当たり AC[c]
	6[d]	12	18		
実験動物用固形飼料（MF）	0/1	0/1	4/7	0.71 ± 0.76	1.43 ± 1.40
コール酸（CA）	0/1	0/1	1/5	0.20 ± 0.45	2.40 ± 5.37
デオキシコール酸（DCA）	0/1	1/1[e]	2/5	0.60 ± 0.89	2.00 ± 3.94
ケノデオキシコール酸（CDCA）	0/1	0/1	1/5	0.20 ± 0.45	0.80 ± 1.79
リトコール酸（LCA）	0/1	0/1	2/5	0.60 ± 0.89	2.60 ± 3.72
ウルソデオキシコール酸（UDCA）	0/1	0/1	1/5	0.20 ± 0.45	0.80 ± 1.79

[a] 各時点における ACF を有するラット数/群のラット数
[b] 異常腺窩巣の総数は、平均値±標準偏差で示す（18 週時点で各群 5～7 例）
[c] 異常腺窩の総数は、平均値で示す（18 週時点で各群 5～7 例）
[d] ACF 計測時点（週）
[e] 病巣は 2 つみられ、うち 1 つは腺窩を 1 つ含み、もう 1 つは腺窩を 2 つ含む

表 2.6.7-16：胆汁酸を添加した食餌を給餌した F344 ラット結腸における ACF の発生と持続に対する効果

給餌	結腸当たり ACF					結腸当たり総病巣数	病巣当たり異常腺窩数[b]
	AC1[a]	AC2	AC3	AC4	AC ≥ 5		
MF	28 ± 15.6[c]	38.6 ± 2.9	28. 6 ± 4.8	19.6 ± 10.4	14.8 ± 5.9	129.6 ± 18.5	2.8 ± 0.4
CA	51.6 ± 14.4[d]	86.8 ± 34.6[d]	66.8 ± 16.6[d]	44 ± 12.4[d]	43.6 ± 19.2[d]	292 ± 68.7[d]	2.9 ± 0.2
DCA	41.8 ± 25.2	80.4 ± 29.8[d]	50 ± 12.4[d]	39.8 ± 15.5[d]	54.2 ± 18.8[d]	266 ± 72.7[d]	3.1 ± 0.3
CDCA	76 ± 32.1[d]	88.6 ± 22.1[d]	71.6 ± 18.4[d]	49 ± 18.2[d]	46.4 ± 16.8[d]	331.6 ± 94.2[d]	2.8 ±0.1
LCA	46.6 ± 16.1	71.6 ± 18.7[d]	56.4 ± 9.2[d]	38.6 ± 4.2[d]	37.4 ± 10.3[d]	250.6 ± 25[d]	2.9 ±0.2
UDCA	22 ± 14.6	19.8 ± 11.5[d]	8.8 ± 3[d]	6.3 ± 3[d]	1.8 ± 1.7[d]	58.5 ± 22.4[d]	2.1 ± 0.2[d]

[a] AC1：病巣当たりの腺窩が 1 つ、AC2：病巣当たりの腺窩が 2 つ、AC3：病巣当たりの腺窩が 3 つ、AC4：病巣当たりの腺窩が 4 つ、AC≥5：病巣当たりの腺窩が 5 つ以上
[b] 腺窩の多重性を示す
[c] データは平均値±標準偏差で示す（各群 5 例）
[d] 各欄の平均値が MF 群と P<0.05 で有意に異なる場合に上付きにする

特記すべき所見：

試験 1

·全試験期間を通じて、ラットの体重や摂餌量に有意差は認められず、実験終了時まで全例が生存した。
·本試験の結果から、病巣は非常にまれにしか観察されず、発生率（ACF を有するラット数/各群のラット数）も 18 週間のコール酸飼料給餌後は 50%未満であった（表 2.6.7- 15）
·いずれの給餌群においても、測定項目に統計学的有意差は認められなかった。

試験 2

·全試験期間を通じて、デオキシコール酸給餌群を除き、ラットの体重や摂餌量に有意差は認められず、実験終了時まで全例が生存した。
·デオキシコール酸給餌群では、本試験の他群と比べて AOM の初回投与以降の体重増加が少なかった。ただしこれは 2 回目の投与から 1 週間の時点で正常に回復した。
·結腸当たり ACF の平均数は、MF 群と比較して CA 群、DCA 群、CDCA 群及び LCA 群で有意に多かった。
·一次胆汁酸では、腺窩を 1 つ含む病巣の平均数も、MF と比較して有意に多かった（p<0.05）。
·その他の病巣についても CA、DCA、CDCA、LCA 群では MF 群に比べて数が多かった（詳細については、表 2.6.7-16 の AC2～4、AC≥5 を参照）。
·腺窩の多重性は CA 群、DCA 群、CDCA 群、LCA 群と MF 群の間で有意差はなかった。
·ACF 数が最も多かったのは結腸の遠位部であり、近位になるにつれて減少した。また、飼料とは無関係であった。
·CA、DCA、CDCA 及び LCA 群における肛門末端から 10 cm 地点に至るまでの部分で結腸 2 cm 当たりの ACF 数は MF 群と比較して多かった。しかし UDCA 群では MF 群よりも少なかった。

2.6.7.10.A.3 (Baijal, et al., 1998): “Tumor-enhancing effects of cholic acid are exerted on the early stages of colon carcinogenesis via induction of aberrant crypt foci with an enhanced growth phenotype”

被験物質：コール酸

研究の標題：異常腺窩巣の誘導による結腸発がんの初期段階に、増殖表現型の増加とともにみられるコール酸の腫瘍増強作用		筆頭著者と研究実施年：（Baijal et al.1998 [179]）	CTD での記載場所：4.2.3.4.2-1
		掲載誌名：Can J Physiol Pharmacol Vol. 76	
動物種／系統：ラット／Sprague-Dawley	投与期間：20 週間	投与方法：経口	
試験条件：飼料 AIN-93G を対照飼料とし、体重に従ってこれにコール酸 0.2%を加え、以下の群を作成した。a）Co-Co 群：対照飼料のみ、b）Co-CA 群：対照飼料から CA 飼料に切り替え、c）CA-CA 群：CA 飼料のみ、d）CA-Co 群：CA 飼料から対照飼料に切り替え	投与例数：雄 20 例/群（平均）	溶媒／製剤：飼料	

特記事項：本試験は Sprague-Dawley 雄ラットを用いた 20 週間混餌試験であり、体重に応じて 0.2%のコール酸を含む飼料を給餌した場合に、AOM（15 mg/kg 体重/週）によってイニシエートした発がん初期に結腸腫瘍の発生率が増加するかどうかを検討した。
離乳期の Sprague-Dawley 雄ラット 180 例に AOM（15 mg/kg 体重/週、皮下）を注射し、i) AIN-93G 飼料を給餌した対照群（Co）又は ii) 体重に応じて 0.2%コール酸を添加した対照飼料給餌群の 2 群のいずれかに無作為に割り付けた。投与開始時のコール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 4.5 mg と算出された。これは、算出コール酸プールの約 0.75 倍に相当した。このとき、相対投与量は 1 日当たり 100 mg/kg と算出された。また、1 週間後に 2 回目の AOM 注射を行った。2 回目の AOM 注射の 2 週間後、Co 群及び CA 群の各 10 例を犠牲死とした。また、残りの動物に対しては Co 飼料群又は CA 飼料群のいずれかへさらなる無作為割付けをした。よって、給餌群は以下の 4 群となった。a）Co-Co 群：対照飼料のみ、b）Co-CA 群：対照飼料から CA 飼料に切り替え、c）CA-CA 群：CA 飼料のみ、d）CA-Co 群 CA 飼料から対照飼料に切り替え（表 2.6.7-17 参照）。実験期間中は、これら 4 つのサブグループで動物の飼育を継続した。
最初の発がん物質注射後から 3 週目（n=10/群）、12 週目（n=10/群）、及び 20 週目（n=30/群）に動物を犠牲死とし、結腸の ACF について評価した。また、20 週目の各群 30 例で肉眼による腫瘍の評価を実施した。

特記事項：
表 2.6.7-17：ACF に関する測定項目に対する 12 週間及び 20 週間の給餌の影響

項目	Co-Co 群	Co-CA 群	CA-CA 群	CA-Co 群
12 週				
ACF 総数	222 ± 33[a]	135 ± 24[a]	243 ± 19[a]	213 ± 32[a]
腺窩の多重性	2.50 ± 0.16[a]	2.38 ± 0.10[a]	3.08 ± 0.15[b]	3.22 ± 0.12[b]
20 週				
ACF 総数	62 ± 20[a]	76 ± 17[a]	62 ± 15[a]	84 ±15[a]
腺窩の多重性	2.21 ± 0.24[a]	2.42 ± 0.08[a]	3.05 ± 0.26[b]	3.40 ± 0.21[b]

注：数値は平均値 ± SEM（n = 5～7）各行に記載の平均値は、上付き文字が異なる場合に有意差あり（$p<0.05$）。

表 2.6.7-18：給餌後 12 週及び 20 週時点で増殖像別にみた ACF の数

ACF 増殖像	Co-Co 群	Co-CA 群	CA-CA 群	CA-Co 群
12 週				
小型	182 ± 33[a]	116 ± 19[a]	173 ± 11[a]	147 ± 25[a]
中型	36 ± 6[a]	17 ± 5[b]	53 ± 7[a]	52 ± 4[a]
大型	5.0 ± 1.5[ac]	1.8 ± 0.7[c]	17 ± 5[b]	14 ± 4[ab]
20 週				
小型	49 ± 15[a]	69 ± 14[a]	44 ± 10[a]	57 ± 11[a]
中型	10.1 ± 3.9[a]	10.9 ± 2.9[a]	13.6 ± 3.6[a]	17.9 ± 3.5[a]
大型	2.4 ± 1.1[a]	1.9 ± 0.3[a]	4.3 ± 1.5[a]	8.6 ± 2.2[b]

注：ACF は小型（病巣当たり腺窩数 1～3）、中型（病巣当たり腺窩数 4～6）、大型（病巣当たり腺窩数 7 以上）に分類した。表中には、各群の小型、中型、大型 ACF 数の平均値 ± SEM を示す（n = 5～7/群）。各行に記載の平均値は、上付き文字が異なる場合に有意差あり（$p<0.05$）。

2.6.7.10.A.3 (Baijal, et al., 1998): “Tumor-enhancing effects of cholic acid are exerted on the early stages of colon carcinogenesis via induction of aberrant crypt foci with an enhanced growth phenotype”（続き）

被験物質：コール酸

特記事項：

表 2.6.7-19：腫瘍に関する測定項目に対する給餌処置の影響

	Co-Co 群	Co-CA 群	CA-CA 群	CA-Co 群
合計例数	30	29	29	30
腫瘍の発現率（%）	30[a]	31[a]	82.8[b]	56.7[c]
腫瘍の多重性*	1.44 ± 0.24[ab]	1 ± 0.0[b]	2.33 ± 0.26[a]	2.29 ± 0.48[a]
動物 1 例当たりの腫瘍数*	0.4 ± 0.14[a]	0.3 ± 0.09[a]	1.9 ± 0.27[b]	1.3 ± 0.34[b]
担腫瘍ラット 1 例当たりの平均腫瘍サイズ（mm^2）*	26.4 ± 9.6	16.2 ± 7.8	14.5 ± 3.2	18.4 ± 4.6
群当たりの平均腫瘍サイズ*	24.2 ± 7.3	16.2 ± 7.8	15.2 ± 2.4	20.5 ± 4.3
腫瘍量*	34.9 ± 11.1	16.2 ± 7.8	35.6 ± 8.8	46.9 ± 14.7
腺腫数**	7 (54%)	6 (67%)	39 (70%)	25 (64%)
腺癌数**	6 (46%)	3 (33%)	17 (30%)	14 (36%)

* 値は平均 ± S.E.M.で表す。各行に記載の平均値は、上付き文字が異なる場合に有意差あり（$p<0.05$）。ラット 1 例当たりの腫瘍サイズ、群当たりの腫瘍サイズ、腫瘍量について、それぞれ群間に有意差はなかった。群当たりの腺腫又は腺癌の数を求めた。** 括弧内の値は、各給餌群における腺腫及び腺癌の割合である。

特記すべき所見：

·総じてコール酸は、アゾキシメタン投与後のイニシエーション初期段階の結腸発がんに対して増強効果を示したが、イニシエーション後の段階では効果がなかった。

·実験期間終了時、各群で観察された体重に有意差はなかった。

·CA-CA 群では体重が軽く、直腸出血がこの群の数例で観察された。

2.6.7.10.A.4 (McSherry, et al., 1989): “Effects of calcium and bile feeding on colon tumours in the rat”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：ラットの結腸腫瘍に対するカルシウム及び胆汁酸摂取の影響</td><td>筆頭著者と研究実施年： (McSherry, et al., 1989)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.4.2-2</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td colspan="2">掲載誌名：Cancer Research 49:6039-43</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：ラット／Fisher 344</td><td>投与期間：27 週間</td><td colspan="2">投与方法：経口</td></tr>
<tr><td>試験条件：全例に基礎飼料（AIN-76）を給餌した。また、コール酸（0.2%）及び／又はカルシウム（1.6%、基礎飼料の 3 倍量に増量）を添加した。全例に、MNU（1 回用量 2 mg）又は生理食塩水（対照）を実験の 1 日目と 4 日目に直腸内投与した。</td><td>投与例数：305</td><td colspan="2">溶媒／製剤：飼料</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：Fisher 344 雄ラットに N-Methyl-N-nitrosourea（MNU）又は生理食塩水（対照）のいずれかを投与した後に、コール酸及び／又はカルシウムを添加した飼料を給餌したときの影響を検討する試験を 27 週間にわたり実施した。
MNU 0.1 mg/kg 又は生理食塩水（対照）を実験の 1 日目と 4 日目にラットに直腸内投与し、0.2%コール酸及び／又は 1.6%カルシウムを添加又は非添加の基礎飼料を与えた。コール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 5 mg と算出された。これはコール酸プールの 0.75 倍に相当する。このとき、相対投与量は 1 日当たり約 100 mg/kg と算出された。カルシウム投与量の絶対値は 1 日当たりで 40 mg と算出された。これは相対投与量として 1 日当たり 800 mg/kg 相当と算出された。動物は、28 週目に犠牲死とし、腫瘍数をはじめとして発がん作用を比較した。
ラットは、表 2.6.7-20 に示すように 10 群の投与群に分けた。

表 2.6.7-20：ラット割付投与群
<table>
<tr><th>群番号</th><th>投与内容</th><th>例数</th></tr>
<tr><td>第 1 群</td><td>対照（AIN-76 基礎飼料を給餌、0.9% NaCl 溶液を結腸内投与）</td><td>10 例</td></tr>
<tr><td>第 2 群</td><td>AIN-76 を給餌、MNU を結腸内投与</td><td>20 例</td></tr>
<tr><td>第 3 群</td><td>コール酸（0.2%）添加 AIN-76 を給餌、0.9% NaCl 溶液を結腸内投与</td><td>10 例</td></tr>
<tr><td>第 4 群</td><td>コール酸（0.2%）添加 AIN-76 を給餌、MNU を結腸内投与</td><td>25 例</td></tr>
<tr><td>第 5 群</td><td>カルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を給餌、0.9% NaCl 溶液を結腸内投与</td><td>10 例</td></tr>
<tr><td>第 6 群</td><td>カルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を給餌、MNU を結腸内投与</td><td>25 例</td></tr>
<tr><td>第 7 群</td><td>コール酸（0.2%）及びカルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を給餌、0.9% NaCl 溶液を結腸内投与</td><td>20 例</td></tr>
<tr><td>第 8 群</td><td>コール酸（0.2%）及びカルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を給餌、MNU を結腸内投与</td><td>50 例</td></tr>
<tr><td>第 9 群</td><td>0.9% NaCl の結腸内投与に先立ち、カルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を 2 週間給餌</td><td>10 例</td></tr>
<tr><td>第 10 群</td><td>MNU の結腸内投与に先立ち、カルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を 2 週間給餌</td><td>25 例</td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

2.6.7.10.A.4 (McSherry, et al., 1989): “Effects of calcium and bile feeding on colon tumours in the rat”（続き）

被験物質：コール酸

特記事項：

表 2.6.7-21：28 週時点の腫瘍発生率及び腫瘍の分類

1 日投与量（mg/kg）	対照（AIN-76 基礎飼料を給餌、0.9% NaCl 溶液を結腸内投与）	AIN-76 を給餌、MNU を結腸内投与	コール酸（0.2%）添加 AIN-76 を給餌、0.9% NaCl 溶液を結腸内投与	コール酸（0.2%）添加 AIN-76 を給餌、MNU を結腸内投与	カルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を給餌、0.9% NaCl 溶液を結腸内投与	カルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を給餌、MNU を結腸内投与	コール酸（0.2%）及びカルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を給餌、0.9%NaCl 溶液を結腸内投与	コール酸（0.2%）及びカルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を給餌、MNU を結腸内投与	実験前にカルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を 2 週間給餌してから 0.9% NaCl の結腸内投与[b]	実験前にカルシウム（1.6%）添加 AIN-76 を 2 週間給餌してから MNU の結腸内投与[b]
性別	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
例数	10	20	10	25	10	25	20	50	10	25
死亡例数、犠牲死（瀕死）例数	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
最終犠牲死（週）	28	28	28	28	28	28	28	28	28	28
体重（g）[a]	401±36	432±23	409±13	442±26	424±33	415±24	422±17	405±34	417±25	411±29
摂餌量（g/日）	12.9	12.5	13.0	12.0	13.0	12.0	12.6	11.2	10.8	10.8
性別	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄	雄
評価例数	10	20	10	25	10	25	20	50	10	25
腫瘍性病変が認められた例数[c]	0	11 (55)	0	20 (80)[d]	0	17 (68)	0	36 (72)	0	17 (68)
動物 1 例当たりの腫瘍数	0	0.75	0	2.24[e]	0	1.56[f]	0	2.00[e]	0	1.40[eg]
担腫瘍動物 1 例当たりの腫瘍数	0	1.36	0	2.80[j]	0	2.29	0	2.77	0	2.05
腺腫[c]	0	12 (80)	0	38 (66)	0	35 (90)[f]	0	75 (75)	0	31 (89)[h]
非浸潤がん[c]	0	1 (7)	0	14 (25)	0	2 (5)	0	11 (11)	0	1 (3)
がん[c]	0	2 (13)	0	5 (9)	0	2 (5)[i]	0	14 (14)	0	3 (9)
合計腫瘍数	0	15	0	57[j]	0	39[j]	0	100[j]	0	35[j]

a: 最終体重、b: N-methyl-N-nitrosourea（又は生食プラセボ）の投与 2 週間前に給餌を開始
c: 括弧内は割合（%）を示す、d: 第 2 群と有意差あり（P<0.07、フィッシャーの正確確率検定）、d: 第 2 群と有意差あり（P<0.01、t 検定）、e: 第 2 群と有意差あり（P<0.08、t 検定）、f: 第 2 群と有意差あり（P<0.07、t 検定）、g: 第 4 群と有意差あり（P<0.05、t 検定）、h: 腺腫の割合が第 4 群及び第 8 群と有意差あり（P<0.01）、i: がんの割合が第 2 群及び第 8 群と有意差あり（P<0.01）、j: 第 2 群と有意差あり（P<0.01）

特記すべき所見：

·生理食塩水を投与した群（第 1、3、5、7、9 群）では腫瘍は観察されなかった。

·MNU を投与した群で、コール酸を混餌投与したところ（第 4 群）、腫瘍性病変が認められた動物の割合（80% vs. 55%）、動物 1 例当たりの腫瘍数（2.24 vs. 0.75）及び担腫瘍動物 1 例当たりの腫瘍数（2.80 vs.1.36）が有意

に増加した（いずれも第 4 群と第 2 群の比較による）。
追加情報： ·第 6 群及び第 10 群の動物の 68%に腫瘍が認められており、飼料中のカルシウムを増加させても腫瘍形成の阻害はみられなかった。 ·食餌にコール酸とカルシウムを併用した場合（第 8 群）の腫瘍発生率はコール酸単独投与群（第 4 群）と同程度であった（72%対 80%、動物 1 例当たりの腫瘍数 2.00 対 2.24、担腫瘍動物 1 例当たりの腫瘍数 2.77 対 2.80）。 ·大部分の腫瘍は腺腫性ポリープであったが、非浸潤がんや浸潤がんも認められた。食餌にカルシウムを加えることで浸潤がんの数が減少した（第 6 群対第 2 群、P<0.04)（表 2.6.7-21）。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

生殖発生毒性試験（非ピボタル試験）に関する公表文献はなかった。

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期杯発生に関する試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する公表文献はなかった。

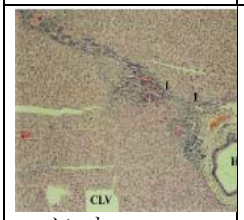
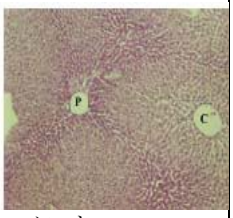
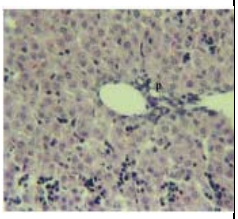
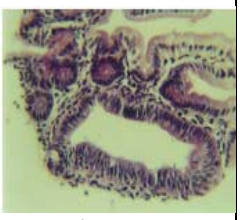
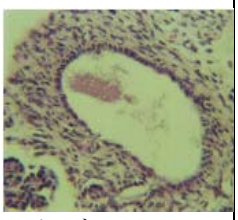
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.A　ハムスター

2.6.7.13.A.1　(Siviero, et al., 2008): “Hepatobiliary effects of cholic and lithocholic acids: experimental study in hamsters”

被験物質：コール酸

研究の標題：コール酸及びリトコール酸の肝胆道系作用：ハムスターを用いた実験的研究		筆頭著者と研究実施年：(Siviero, et al., 2008)	CTD での記載場所：4.2.3.5.2-3
		掲載誌名：Pediatr Surg Int 24:325-31	
動物種／系統：ゴールデンハムスター	投与期間：雌に 18 日間	投与方法：経口	
開始時の日齢 30～40 日	交配日：15 日目	溶媒／製剤：飼料	
試験条件：交配翌日から出産まで、すなわち 18 日間にわたり 0.5%コール酸を混餌投与した。	初回投与日：15 日目		
特記事項：コール酸 0.5%を含む飼料が雌ハムスター及び仔の肝臓に及ぼす影響を定性的に検討した研究である。 交配翌日から出産まで、コール酸 0.5%をハムスターに混餌投与した。投与開始時のコール酸の投与量の絶対値は 1 日当たり 60 mg と算出された。このとき、相対投与量は 1 日当たり約 600 mg/kg と算出された。仔の出生 2 日後に母動物 3 例及び仔 12 例を犠牲死とし、肝臓に対する胚・胎児発生関連毒性を検討した。			
母動物例数：3　　仔の例数：12			

コール酸 0.5%を給餌した母動物	対照母動物	コール酸 0.5%を給餌した母動物の仔	コール酸 0.5%を給餌した母動物の仔	対照の仔
				
コメント： 重度の細胆管／胆管増生と門脈域（I）、肝管（HD）、小葉中心静脈（CLV）にわたってみられる炎症細胞浸潤	コメント： 対照母動物の肝実質と門脈域 小葉中心静脈（C）と門脈域（P）	コメント： 髄外造血の亢進と軽微な細胆管／胆管増生の詳細	コメント： 総胆管粘膜増生	コメント： 若齢対照動物の総胆管

特記すべき所見：

母動物

肝臓では、細胆管増生がみられ、中等度のものが 1 例、軽微なものが 1 例、顕著なものが 1 例であった。門脈域の炎症細胞浸潤及びクッパー細胞のセロイド沈着が 2 例で認められ、また、分葉の増強が 2 例で認められた。肝内及び／又は肝外胆管では、上皮細胞の過形成又は増殖が全ての動物で認められた。

仔

全例で、対照群と比較して髄外造血が軽度に亢進していた。また、肝外胆管上皮の過形成又は増殖が 3 例でみられた（25%）。上記例では、門脈域で軽微な細胆管／胆管増生もみられた。

2.6.7.13.B ヒツジ

2.6.7.13.B.1 (Perez, et al., 1994): “A single intravenous high dose of cholic acid to a pregnant ewe does not affect fetal well-being”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：妊娠中の雌ヒツジに高用量のコール酸を単回静脈内投与した際の胎児の健康状態に対する影響の欠如</td><td>筆頭著者と研究実施年：
(Perez, et al., 1994)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.5.2-2</td></tr>
<tr><td colspan="3">掲載誌名：Res Exp Med 194:63-7</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：ヒツジ（雌）</td><td>投与期間：単回投与</td><td colspan="2">投与方法：静脈内注射</td></tr>
<tr><td>試験条件：妊娠雌ヒツジの妊娠末期にコール酸 29 mg（0.41 mg/kg）を静脈内にボーラス注射で単回投与した。</td><td>体重：70 kg</td><td>溶媒／製剤：明記なし</td><td>妊娠例数：5 分</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：コール酸を投与した際の、妊娠雌ヒツジ及びその胎児の心血管系パラメータ、血液ガス及び胆汁酸に及ぼす影響を評価する単回静脈内投与毒性試験を実施した。
妊娠雌ヒツジ 5 例の妊娠末期にコール酸 29 mg（0.41 mg/kg）を静脈内にボーラス注射で単回投与した。胎児及び母動物の血液を用い、心血管系パラメータ、血液ガス及び胆汁酸を、コール酸静脈内投与の 20 分前（ベースライン）及び 120 分後に測定した。</td></tr>
</table>

2.6.7.13.B.1 (Perez, et al., 1994): “A single intravenous high dose of cholic acid to a pregnant ewe does not affect fetal well-being” （続き）

被験物質：コール酸

図 2.6.7-5：妊娠雌ヒツジにコール酸 29 mg を単回静脈内投与したときの母体血漿（●）、胎児血漿（X）及び羊水（○）中のコール酸濃度の経時的変化

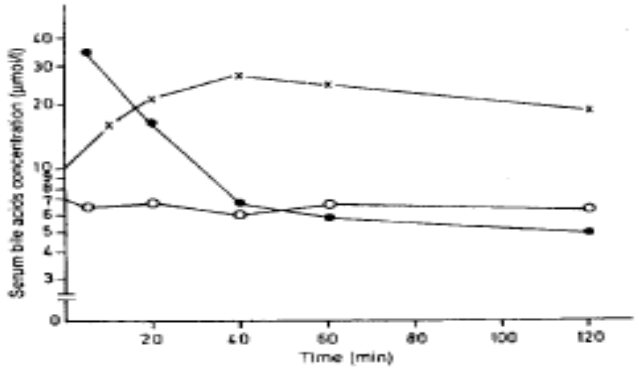


表 2.6.7-22：妊娠雌ヒツジへのコール酸静脈内投与前後にモニターした母動物及び胎児の心血管系パラメータ及び血液ガス HR：心拍数、毎分の拍動数、BP 及び IAP：平均動脈血圧及び子宮内圧、単位はいずれも mm Hg、PO_2 及び PCO_2：血液ガス、単位は mm Hg。結果は平均値 ± 標準偏差で示す。

	母動物（平均値 ± 標準偏差、n = 5）				
	ベースライン	5	20	40	60 分
HR（bpm）	90.0 ± 4.9	86.0 ± 6.5	84.0 ± 5.6	86.0 ± 6.5	82.0 ± 5.N*
BP（mmHg）	73.3 ± 2.9	68.9 ± 2.4	74.7 ± 2.4	76.7 ± 0.7	76.5 ± 4.N*
IAP（mmHg）	6.33 ± 0.80	7.00 ± 0.40	7.83 ± 0.83	6.16 ± 0.54	7.20 ± 0.N*
	胎児（平均値 ± 標準偏差、n = 5）				
	ベースライン	5	20	40	60 分
HR（bpm）	145.5 ± 13.9	144.0 ± 13.2	144.0 ± 14.5	145. 5 ± 14.6	145.5 ± 1.N*
BP（mmHg）	41.3 ± 0.8	43.1 ± 1.0	42.7 ± 1.7	44.0 ± 1.2	42.5 ± 1.N*
PO_2（mmHg）	21.75 ± 3.13	20.50 ± 1.32	20.75 ± 1.65	20.75 ± 0.63	20.75 ± 0.N*
PCO_2（mmHg）	37.75 ± 3.13	39.88 ± 2.62	39.83 ± 2.03	41.48 ± 2.05	40.55 ± 2.N*
pH	7.39 ± 0.02	7.37 ± 0.03	7.37 ± 0.03	7.38 ± 0.01	7.38 ± 0.N*

特記すべき所見：
静脈内に単回注射したコール酸は、速やかに胎児血漿中に検出され、40 分以内にピークに達する。
胎児の血漿中コール酸平衡濃度は母動物のほぼ 4 倍であった。
胎児の心血管系パラメータ及び血液ガスは、実験時にも、24 時間後にも変化がなかった。

追加情報：
妊娠雌ヒツジ 1 例に対し、満期直前にコール酸を投与したところ、2～3 分の潜時を経て子宮収縮が生じた。しかし、こうした子宮収縮によって 24 時間後に生じた分娩は正常であった。

2.6.7.13.B.2 (Campos, et al., 1986): “Effects of cholic acid infusion in fetal lambs”

被験物質：コール酸

研究の標題：コール酸注入時のヒツジ胎児に対する影響		筆頭著者と研究実施年： (Campos, et al., 1986)	CTD での記載場所：4.2.3.5.2-1
		掲載誌名：Acta Obstet Gynecol Scand 65:23-6	
動物種／系統：ヒツジ（雌）	投与期間：コール酸の注入は、妊娠 122～127 日の間に開始し、満期（150 日）の 19～26 日前まで継続した。	投与方法：頸静脈内注入	
試験条件：各動物を 2.3 mmol/日（934 mg）のコール酸投与群と対照群に分けて、それぞれにアンピシリン（1 g/L）及びヘパリン（コール酸投与群 2000 IU/L、対照群 4000 IU/L）を含む 5%ブドウ糖液を頸静脈に持続注入した。	投与例数：妊娠ヒツジ 10 例、胎児 11 例	溶媒／製剤：アンピシリン（1 g/L）及びヘパリン（コール酸投与群 2000 IU/L、対照群 4000 IU/L）を含む 5%ブドウ糖液	

2.6.7.13.B.2 (Campos, et al., 1986): “Effects of cholic acid infusion in fetal lambs” （続き）

被験物質：コール酸

特記事項：コール酸を投与した際の、ヒツジ胎児の血液ガス、pH、心拍数、動脈圧、血漿中胆汁酸に及ぼす影響を評価する反復静脈内投与毒性試験を実施した。
妊娠雌ヒツジ 10 例の胎児 11 例を、2.3 mmol/日（934 mg）のコール酸投与群と対照群に分けて、それぞれにアンピシリン（1 g/L）及びヘパリン（コール酸投与群 2000 IU/L、対照群 4000 IU/L）を含む 5%ブドウ糖液を頸静脈に持続注入した。（胎児の体重が不明であるため、体重に基づく投与量の推定はできない。）コール酸の注入は、妊娠 122～127 日の間に開始し、満期（150 日）の 19～26 日前まで継続した。
ヒツジ胎児に 5%ブドウ糖（対照群）又はコール酸（1.6 μmol· min^{-1}、実験群）を注入した際の心拍数（FHR）、動脈圧（MABP）、血液ガス及び血漿中総胆汁酸濃度（平均値 ± 標準偏差）

表 2.6.7-23：ヒツジ胎児に 5%ブドウ糖（対照群）又はコール酸（1.6 μmol· min^{-1}、実験群）を注入した際の心拍数（FHR）、動脈圧（MABP）、血液ガス及び血漿中総胆汁酸濃度（平均値 ± 標準偏差）

	対照群（n = 6）		実験群（n = 5）	
	ベースライン	注入時	ベースライン	注入時
FHR（bpm）	176 ± 10.3	171 ± 12.9	175 ± 14.1	176 ± 5.7
MABP（mmHg）	42.2 ± 1.3	43.4 ± 3.2	43.2 ± 1.6	41.5 ± 3.6
PO_2（Torr）	24.0 ± 1.4	22.3 ± 1.6	24.3 ± 3.2	21.7 ± 3.9
PCO_2（Torr）	40.4 ± 3.8	42.6 ± 1.9	44.0 ± 4.2	42.9 ± 2.9
pH	7.40 ± 0.001	7.39 ± 0.008	7.38 ± 0.006	7.38 ± 0.006
羊水中に胎便がみられた例数	0/6	1/6	0/5	5/5b
血漿中胆汁酸（μmol/L）	23.8 ± 6.6a	24.4 ± 5.7a	24.3 ± 5.7	829 ± 305c

a: 双胎児 B を含む
b: カイ二乗検定で $p<0.05$
c: Student の t 検定で $p<0.05$

特記すべき所見：
このとき、血液ガス、pH、心拍数、動脈圧に対するコール酸の有意な影響はみられなかった。しかし、対照群内では総胆汁濃度はほとんど変化しなかったのに対し、コール酸を投与したヒツジ胎児では、分娩時の血漿中胆汁酸濃度が 829 ± 305 μmol/L と、投与前の 24.3 ± 5.7 μmol/L から有意に増加した（$p<0.05$）（表 2.6.7- 23）。
コール酸を注入したヒツジ胎児及び対照双胎児 1 例（双胎児 b を除く）は、妊娠期間 131 ± 2.5 日で生存分娩となった。5%ブドウ糖を注入した対照胎児（双胎児 b を除く）は満期（147 ± 4.6 日）で生存分娩となった。
コール酸を注入した胎児では、実験 3 日目までに羊水中に胎便が出現した。

2.6.7.13.C ニワトリ

2.6.7.13.C.1 (Verrett, et al., 1980): “Toxicity and teratogenicity of food additive chemicals in the developing chicken embryo”

被験物質：コール酸

<table>
<tr><td colspan="2">研究の標題：発育ニワトリ胚における食品添加化学物質の毒性と催奇形性</td><td>筆頭著者と研究実施年：
(Verrett, et al., 1980)</td><td>CTD での記載場所：4.2.3.5.2-4</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td><td colspan="2">掲載誌名：Toxicology and Applied Pharmacology 56:265-73</td></tr>
<tr><td>動物種／系統：ニワトリ胚</td><td>投与期間：単回投与</td><td colspan="2">投与方法：卵内注入</td></tr>
<tr><td>試験条件：注射経路は、卵黄内投与と気室投与の 2 つとした。各注射経路に対し、卵への注入時期を孵卵前（0 時間）と孵卵 4 日目（96 時間）の 2 つで設定した。</td><td>処置卵数各条件で、20 個以上の卵に注入した。このとき用量は 5 段階以上を設定し、各用量で注入例が 100 例に達するようにした。これにより、いずれの用量でも雛が孵化するようにした。</td><td colspan="2">溶媒／製剤：アセトン</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記事項：アセトンに溶解したコール酸を新鮮受精卵に卵当たり最大 25 mg で容量を 100 µL 以下とし単回注入した。注射経路は、卵黄内投与と気室投与の 2 つとした。各注射経路に対し、卵への注入時期を孵卵前（0 時間）と孵卵 4 日目（96 時間）の 2 つで設定した。
胚と孵化雛を無作為に 5 個以上選択し、以下の分析を行った。死亡率（%）、異常が 1 つ以上みられる鳥の総数、構造異常がみられる鳥の総数。

表 2.6.7- 24：発育ニワトリ胚において催奇形性を示さなかった化合物
<table>
<tr><th rowspan="2">化合物</th><th rowspan="2">製造業者</th><th rowspan="2">溶媒</th><th rowspan="2">最高試験量（mg/卵）</th><th colspan="2">LD_{50}</th></tr>
<tr><th>mg/卵</th><th>試験条件 [a]</th></tr>
<tr><td>コール酸</td><td>Chemical Dynamics Corp., South Plainfield, N.J.</td><td>アセトン</td><td>25.00</td><td>ND</td><td>-</td></tr>
</table>
[a]YS-0：0 時間時点の卵黄嚢、YS-96：96 時間時点の卵黄嚢、AC-0:0 時間時点の気室、AC-96：96 時間時点の気室、ND=未測定</td></tr>
<tr><td colspan="4">特記すべき所見：上記 4 つの試験条件下では、コール酸による催奇形性作用はみられなかった。</td></tr>
</table>

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出産後の発生並びに母体の機能に関する試験

生殖発生毒性試験（出生前及び出生後の発生）に関する公表文献はなかった。

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた試験に関する公表文献はなかった。

2.6.7.16 局所刺激性試験

局所刺激性試験に関する公表文献はなかった。

2.6.7.17　その他の毒性試験

被験物質：デオキシコール酸

動物種／系統	投与方法	投与期間	用量（mg/kg）	性別及び各群の例数	特記すべき所見	参考文献
代謝物（デオキシコール酸）						
マウス	静脈内	単回投与	100-200 mg/kg		LD_{50} = 150 mg/kg CA と同様の病理学的効果	(Rothlin & Schalch, 1944)
ラット	経口	2 週間	250 mg/kg 500 mg/kg	M：10 例	血清中のトランスアミナーゼ、ビリルビン、総胆汁酸の極めて大きな上昇がみられた。いずれの用量でも、以下のような肝実質構造の完全な変化がみられた。拡大した門脈腔の中央でみられる毛細胆管と卵形細胞の過剰増殖、及び主に好酸性多核細胞からなる門脈周囲の炎症性浸潤。 肝胆汁酸の総濃度が有意に増加し、デオキシコール酸が占める割合が大きくなった。	(Delzenne, et al., 1992)
ラット	経口	26 日間	75 mg/kg	M：7 例	用量 1 又は 10 mmol/L で、腸切片におけるオレイン酸-1-^{14}C の脂質への取込みが有意に減少した。これらの結果は、1 又は 10 mmol/L のデオキシコール酸がオレイン酸のエステル化を in vitro で阻害することを示している。	(Bray & Gallagher Jr, 1969)
ラット	経口	28 日間	50-500 mg/kg	M：5 分	デオキシコール酸 1%を投与した動物はすべて 5 日以内に死亡した。デオキシコール酸を 0.5%以上で与えた群では、28 日生存例でも下痢が認められた。死亡時又は 28 日目に、デオキシコール酸 0.5%を給餌した群では、遠位小腸の充血がみられた。 デオキシコール酸ナトリウム濃度が 0.1%増えるごとに体重増加量は、デオキシコール酸未投与群全体の平均値 108 g から約 10%ずつ下回って減少した。 体重増加抑制と死亡率からみられるように、デオキシコール酸ナトリウムは他の胆汁酸塩と比較しても最も毒性が強いことが示された。	(Visek, et al., 1965)

M：雄

2.6.7.17 その他の毒性試験　（続き）

被験物質：デオキシコール酸

動物種／系統	投与方法	投与期間	用量（mg/kg）	性別及び各群の例数	特記すべき所見	参考文献
Salmonella Typhimurium TA100 株と TA98 株	In vitro（エームス試験）	該当なし	15-40 µg/ml	-	デオキシコール酸では Salmonella typhimurium TA100 又は TA98 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。	(Mori, et al., 1991)
Salmonella typhimurium TA100 株と TA98 株	In vitro（エームス試験）	該当なし	15～40 µg/mL	-	デオキシコール酸では Salmonella typhimurium TA100 又は TA98 における復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。	(Venitt, et al., 1987)
Salmonella typhimurium TA100 株と TA98 株	In vitro（彷徨試験、エームス試験）	該当なし	彷徨試験に用いた濃度は 15～40 µg/mL であった。エームス試験に用いた濃度は 20 µg/mL であった。	-	エームス試験では、2 mL のトップアガーにデオキシコール酸を 20、30、40、50、100 又は 500 µg で加えたところ、S9 混合液（アロクロール 1254 誘導ラット肝ホモジネート）添加の有無にかかわらず復帰突然変異体数の有意な増加はみられなかった。 細菌彷徨試験は 20 µg/mL で陽性であったが、エームス試験は陰性であった。	(Watabe & Bernstein, 1985)
ヒト食道腺癌細胞株 OE33	In vitro	-	50、200 µmol/L	-	用量 50～200 µmol/L の範囲（生理学範囲は 50～100 µmol/L）で中性 pH の条件では、有意な小核数の増加がみられた。一方、細胞毒性は低かった。酸性条件（pH 5.5）の DCA は、中性条件の場合と比べ、小核数は同様であったが、 毒性が強くなった。 DCA による活性酸素種の生成が、OE33 と KYSE-30 細胞の両方でみられた。	(Jenkins, et al., 2007)

2.6.7.17 その他の毒性試験　（続き）

被験物質：デオキシコール酸

動物種／系統	投与方法	投与期間	用量（mg/kg）	性別及び各群の例数	特記すべき所見	参考文献
雄性 Wistar CF ラット肝細胞	In vitro	-	10-1000 μM	-	デオキシコール酸によるニュートラルレッド取り込みの低下は、コール酸やウルソデオキシコール酸よりも顕著であった。 DNA への放射性標識チミン取り込み阻害作用は、タウロデオキシコール酸及びグリコデオキシコール酸の方がデオキシコール酸よりわずかに低かった。	(Martinez-Diez, et al., 2000)
ラット／F344	経口	8 週間	30-150 mg/kg	M：20 分	デオキシコール酸 150mg/kg を給餌したラットでは、3 週目の部分肝切除後の数日以内に 55～60%が死亡した。 DEN のみ投与した対応する対照群と比較して、γ-グルタミルトランスペプチダーゼ陽性（γ-GT+）肝臓細胞巣の値が有意に増加したことから、デオキシコール酸（75～150 mg/kg）は、促進作用を有すると考えられた。	(Tsuda, et al., 1984)
ラット／F344	経口	18 又は 8 週間	200 mg/kg	試験 1：対照群（M：9 例）を除き、M：7 例 試験 2：M：5 例	試験 1：コール酸、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸及びリトコール酸を与えたラットの結腸当たり ACF の平均数は、実験動物用固形飼料給餌群よりも多く、その差は統計的に有意であった（$p<0.005$）。　腺窩を 5 つ以上有する ACF の平均数は、対照群である実験動物用飼料給餌群と比較して、コール酸、デオキシコール酸、ケノデオキシコール酸及びリトコール酸投与群で約 2.5～3.7 倍多かったが、ウルソデオキシコール酸投与群では約 8.2 倍少なかった。 試験 2：並行して行われた試験では、AOM を投与せずに同様の胆汁酸添加飼料を 18 週間給餌しても、ACF の有意な発生はなかった。	(Seraj, et al., 1997)

M：雄

2.6.7.17 その他の毒性試験　（続き）

被験物質：コール酸メチル

動物種／系統	投与方法	投与期間	用量（mg/kg）	性別及び各群の例数	特記すべき所見	参考文献
不純物（コール酸メチル）						
ヒト腺癌細胞株 OE33	In vitro	N/A	25～200 µmol/L	-	細胞分裂阻止法による小核試験を用いて、食道細胞（OE33 細胞）における in vitro の遺伝毒性試験を実施し、コール酸メチルの遺伝毒性の有無を検討したところ、本試験で採用した用量範囲（25～200 µmol/L）では、遺伝毒性が認められなかった。	(Eltahir & Jenkins, 2010)
Salmonella Typhimurium TA1535、TA1537、TA1438、TA98、TA100 株	In vitro	該当なし	-	-	エームス試験で復帰突然変異体数の有意な増加はみられず。	(Macdonald, et al., 1978)
ヒト Chang 肝細胞	In vitro	該当なし	-	-	コレステロール生合成に対する中程度の阻害活性あり。	(Kim, et al., 2004)
COS-7 細胞、HepG2 細胞、HuH-7 細胞、Caco-2 細胞	In vitro	該当なし	30 µM	-	FXR 受容体並びに FXR 受容体が調節する遺伝子の一部で活性化がみられた。	(Suzuki, et al., 2008)

2.6.7.18 参照文献

Baijal, P. K., Clow, E. P., Fitzpatrick, D. W. & Bird, R. P., 1998. *Tumor-enhancing effects of cholic acid are exerted on the early stages of colon carcinogenesis via induction of aberrant crypt foci with an enhanced growth phenotype.,* : Can J Physiol Pharmacol 76(12): 1095-102.

Bergman, F. & van der Linden, W., 1971. *Reaction of the mongolian gerbil to a cholesterol-cholic acid-containing gallstone inducing diet.,* : Acta Pathol Microbiol Scand [A] 79(5): 476-86.

Besançon, F., Marche, C. & Parrot, J., 1970. *Experimental lithiasis due to excess cholic acid in mice.,* : Biol Gastroenterol (Paris) 2: 147-60.

Bray, G. A. & Gallagher Jr, T. F., 1969. *Weight gain and intestinal histology of rats fed cholic, lithocholic, hyodeoxycholic, chenodeoxycholic, and deoxycholic acids.,* : Proc Soc Exp Biol Med 130(1): 175-7.

Campos, G. A., Guerra, F. A. & Israel, E. J., 1986. *Effects of cholic acid infusion in fetal lambs.,* : Acta Obstet Gynecol Scand 65(1): 23-6.

Delzenne, N. M., Calderon, P. B., Taper, H. S. & Roberfroid, M. B., 1992. *Comparative hepatotoxicity of cholic acid, deoxycholic acid and lithocholic acid in the rat: in vivo and in vitro studies.,* : Toxicol Lett 61(2-3): 291-304.

Eltahir, Z. & Jenkins, G., 2010. *The bile acid impurity methyl cholate (MC) is non-genotoxic, as measured by the micronucleus assay in oesophageal OE33 cells,* : Mutagenesis 25: 644-5.

Fickert, P. et al., 2001. *Effects of ursodeoxycholic and cholic acid feeding on hepatocellular transporter expression in mouse liver.,* : Gastroenterology 121(1): 170-83.

Gambal, D. & Quackenbush, F. W., 1960. *Effects of cholesterol and other substances on essential fatty acid deficiencies.,* : J Nutr 70: 497-501.

Gillert, E., 1926. *Toxicity of bile acids.,* : Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin einschließlich experimentelle Chirurgie 52(5/6): 779-90.

Jenkins, G. S. J. et al., 2007. *Deoxycholic acid at neutral and acid pH, is genotoxic to oesophageal cells through the induction of ROS: The potential role of anti-oxidants in Barrett's oesophagus.,* : Carcinogenesis 28(1): 136-42.

Joubert, P., 1978b. *An in vivo investigation of the negative chronotropic effect of cholic acid in the rat.,* : Clin Exp Pharmacol Physiol 5(1): 1-8.

Kim, H. J., Yim, S. & Lee, I., 2004. *A cholesterol biosynthesis inhibitor from Rhizopus oryzae.,* : Arch Pharm Res 27(6): 624-7.

Lacassagne, A., Buu-Hoi, N. P. & Hurst, L., 1967. *Comparative study of the liver of rats receiving cholic acid or lithocholic acid, alone or associated with butter yellow.,* : Tumori 53(1): 43-54.

Macdonald, I. A., Singh, G., Mahony, D. E. & Meier, C. E., 1978. *Effect of pH on bile salt degradation by mixed fecal cultures.,* : Steroids 32(2): 245-56.

Martinez-Diez, M. C., Serrano, M. A., Monte, M. A. & Marin, J. J., 2000. *Comparison of the effects of bile acids on cell viability and DNA synthesis by rat hepatocytes in primary culture.,* : Biochim Biophys Acta 1500(2): 153-60.

McSherry, C. K. et al., 1989. *Effects of calcium and bile acid feeding on colon tumors in the rat.,* : Cancer Res 49(21): 6039-43.

Mori, Y. et al., 1991. *Absence of mutagenic action of 5 beta-cholan-24-oic acid derivatives in the bacterial fluctuation and standard Ames tests.,* : Mutat Res 262(4): 267-74.

Perez, R. et al., 1994. *A single intravenous high dose of cholic acid to a pregnant ewe does not affect fetal well-being.,* : Res Exp Med (Berl) 194(1): 63-7.

Rothlin, E. & Schalch, W. R., 1944. *Comparative study of some bile acids.,* : Helv. Physiol. Pharmacal. Acta. 2: 249-68.

Seraj, M. J. et al., 1997. *Effects of dietary bile acids on formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in F344 rats.,* : Cancer Lett 115(1): 97-103.

Silverman, S. J. & Andrews, A. W., 1977. *Bile acids: co-mutagenic activity in the Salmonella-mammalian-microsome mutagenisity test: brief communication.,* : J Natl Cancer Inst 59(5): 1557-9.

Siviero, I. et al., 2008. *Hepatobiliary effects of cholic and lithocholic acids: experimental study in hamsters.,* : Pediatr Surg Int 24(3): 325-31.

Suzuki, T. et al., 2008. *The novel compounds that activate farnesoid X receptor: the diversity of their effects on gene expression.,* : J Pharmacol Sci 107(3): 285-94.

Tsuda, H. et al., 1984. *Promotive effect of primary and secondary bile acids on the induction of gamma-glutamyl transpeptidase-positive liver cell foci as a possible endogenous factor for hepatocarcinogenesis in rats.,* : Gann 75(10): 871-5.

Venitt, S., Bosworth, D. & Easton, D. F., 1987. *Lack of mutagenic activity of bile acids in bacterial fluctuation tests.,* : Mutat Res 190(3): 191-6.

Verrett, M. J. et al., 1980. *Toxicity and teratogenicity of food additive chemicals in the developing chicken embryo.,* : Toxicol Appl Pharmacol 56(2): 265-73.

Visek, W. J., Dang, H. C., Kirby, S. R. & Sperling, G. A., 1965. *Growth of rats fed bile salts, urea and chlortetracycline.,* : Proc Soc Exp Biol Med 120(1): 48-51.

Wang, D. Q. et al., 1999. *Cholic acid aids absorption, biliary secretion, and phase transitions of cholesterol in murine cholelithogenesis.,* : Am J Physiol 276(3 Pt 1): G751-60.

Watabe, J. & Bernstein, H., 1985. *The mutagenicity of bile acids using a fluctuation test.,* : Mutat Res 158(1-2): 45-51.