フジケノン粒状錠 125

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.1　緒言

藤本製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 3
2.6.1 緒言 4
2.6.1.1 薬理的特性及び化学構造 4
2.6.1.2 効能・効果及び用法・用量 5
2.6.1.3 公表論文検索式及び検索結果 6
2.6.1.4 参考文献 7

略語・略号一覧

略語・略号	説明
BSEP	Bile salt export pump（胆汁酸塩排出ポンプ）
CA	Cholic acid（コール酸）
CDCA	Chenodeoxycholic acid（ケノデオキシコール酸）
CTX	Cerebrotendinous xanthomatosis（脳腱黄色腫症）
CYP27A1	Sterol 27-hydroxylase（ステロール 27-水酸化酵素）
CYP7A1	Cholesterol 7α-monooxygenase（コレステロール 7α-水酸化酵素）
CYP8B1	Cholesterol 12α-hydroxylase（ステロール 12α-水酸化酵素）
DNA	Deoxyribonucleic acid（デオキシリボ核酸）
FGF-19	Fibroblast growth factor-19（線維芽細胞増殖因子-19）
FXR	Farnesoid X receptor（ファルネソイド X 受容体）
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A（3-ヒドロキシ 3-メチルグルタリル補酵素 A）
LCA	Lithocholic acid（リトコール酸）
LRH-1	Liver receptor homologue-1（肝受容体相同体 1）
SHP	Small heterodimer partner（低分子ヘテロ二量体パートナー）
UDCA	Ursodeoxycholic acid（ウルソデオキシコール酸）

2.6.1 緒言

2.6.1.1 薬理的特性及び化学構造

CDCA は一次胆汁酸の一種であり、肝臓でコレステロールから合成される。胆汁酸は、ステロイドを基本骨格としてカルボキシ基といくつかの水酸基をもつものが多い。CDCA の構造を見ると、その水酸基がすべてステロイド骨格の片側に集中している。これらにカルボキシ基も加えた部分が分子内で親水的な領域を形成する一方、反対側が疎水的領域を構成することから、両親媒性の分子であることがわかる。結果として、食事成分の中の脂質を消化管腔内で分散させることができ、界面でのリパーゼの作用による脂質の消化やその後の吸収に寄与する[1)]。

肝臓において CDCA 濃度が高まると、胆汁酸生合成の最初の段階であるコレステロールを水酸化する律速酵素 CYP7A1 の発現が抑制される。この CDCA によるネガティブフィードバック制御は FXR を介して行われ、CDCA が FXR に結合すると SHP の発現が誘導される。SHP は核内オーファン受容体であり、DNA 結合部位を持たず、転写因子である核内受容体と結合してその転写活性を抑制する。CYP7A1 の発現は核内受容体である LRH-1 により促進されるため、CDCA により発現誘導された SHP が LRH-1 の転写活性を抑制し CYP7A1 の発現が低下する。また、CA の合成に関与する CYP8B1 の発現も胆汁酸による FXR-SHP を介した負の制御を受ける[2)]。さらに、CDCA や合成 FXR リガンド GW4064 は FGF-19 の発現誘導を介して CYP7A1 発現を抑制する。FGF-19 は SHP の発現に影響を及ぼすことなく CYP7A1 発現を抑制することから[3)]、CDCA による CYP7A1 の発現抑制には、SHP 依存的な経路に加え、FGF-19 を介した SHP 非依存的な経路も関与していると考えられる。さらに、CDCA は、FXR を介して BSEP の発現量も増加させる。BSEP は肝細胞から胆管内への胆汁酸分泌に関与し、BSEP 発現量低下や活性低下により胆汁分泌量が低下することから、CDCA による BSEP 発現量増加が胆汁うっ滞の改善に寄与すると推測される。

本申請は、CTX の治療における CDCA の日本での承認取得を目的としている。

CTX では、*CYP27A1* 遺伝子変異による CYP27A1 の機能不全のため、CDCA 産生量が著減し、血中コレスタノール濃度が増加している。CDCA 産生量の低下により、FXR を介した CYP7A1 へのネガティブフィードバックが稼働しないため、血中コレスタノール濃度は更に増加し、コレスタノールが組織に蓄積することで様々な臓器障害が惹起される。CTX 患者に対する CDCA の補充は、低下していた CYP7A1 へのネガティブフィードバックを回復させることで、血中コレスタノール濃度を正常化させると同時に、CTX 患者の諸症状を改善することが期待できる[4)]。

ケノデオキシコール酸の名称及び構造式は以下のとおりである：

化学名

日本名：ケノデオキシコール酸

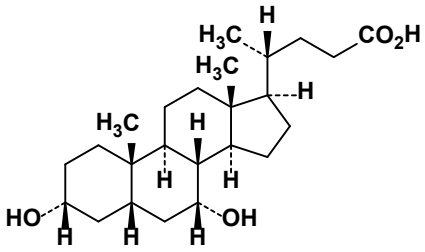
英名：Chenodeoxycholic acid（3α,7α-Dihydroxy-5β-cholan-24-oic acid）

一般名

日本名：ケノデオキシコール酸

英名：Chenodeoxycholic acid

構造式：



分子式：$C_{24}H_{40}O_4$

分子量：392.57

2.6.1.2 効能・効果及び用法・用量

1） 効能・効果

脳腱黄色腫症

2） 用法・用量

通常、成人には CDCA として 1 日量 250 mg より投与開始し、250 mg ずつ増量した後、維持量として 1 日量 750 mg を、1 日 3 回に分けて連日経口投与する。なお、患者の状態により適宜増減するが、1 日量として 1000 mg を超えないこと。また、1 回あたりの投与量として 375 mg を超えないこと。

通常、小児には CDCA として 1 日量 5 mg/kg より投与開始し、5 mg/kg ずつ増量した後、維持量として 1 日量 15 mg/kg を、1 日 3 回に分けて連日経口投与する。なお、患者の状態により適宜増減するが、1 日量として 15 mg/kg 及び 750 mg のいずれも超えないこと。また、1 回あたりの投与量として 250 mg を超えないこと。

用法及び用量に関連する注意：

本剤の維持量への漸増は 2 週間毎を目安に行うこと。

小児に対する漸増時の本剤の投与量について、1 日投与量を 5 mg/kg とする場合は

250 mg を、10 mg/kg とする場合は 500 mg を、15 mg/kg とする場合は 750 mg を超えないこと。

2.6.1.3 公表論文検索式及び検索結果

CDCA の非臨床試験成績に係る公表論文は、MEDLINE を対象データベースとして検索した（最終検索日 2024 年 4 月 30 日）。

1） 効力を裏付ける試験

CDCA の効力を裏付ける試験の根拠となる公表論文は、下記検索式 1 及び 2 を用いて検索した。

検索式 1："chenodeoxycholic acid" NOT ("gall" OR "gallstones" OR "gallbladder") NOT ("cancer" OR "carcinogenesis") NOT ("cirrhosis" OR "hepatitis")

検索式 2："liver receptor homologue-1" AND "bile acid"

検索式 1 及び 2 によって絞り込まれた各々3332 件及び 14 件の公表論文を精査した結果、前者からは胆汁酸による FXR 活性化作用の比較、CDCA によるヒト初代培養肝細胞 CYP7A1 発現量低下と FXR 下流シグナル因子発現量変化、CDCA 投与動物における肝臓 CYP7A1 及び FXR 下流シグナル因子発現量変化、CDCA 投与動物における肝臓 CYP7A1 活性及び HMG-CoA 還元酵素活性、及び CDCA による BSEP 発現量変化を検証した論文を選択し、実験デザイン（処置濃度等）を考慮し採択した。また、後者からは胆汁酸と LRH-1 との関連性を検証した論文とその中の引用論文を精査し採択した。

2） 薬物動態試験

CDCA の薬物動態試験に係る公表論文は、下記検索式を用いて検索した。

検索式

(chenodeoxycho* or chenic or chenodiol or glycochenodeoxychol* or taurochenodeoxychol* or lithochol*) AND (mouse or rat or hamster or guinea pig or murine or rodent or rabbit or dog or monkey or primate or human) AND (pharmacokinetic* or absorption or distribution or metaboli* or excretion or drug interaction)

検索により得られた 5557 件の公表論文について、表題及び要約を基に試験方法（動物種、用量、投与経路、測定法及び評価法など）を考慮し精査した。吸収、分布、代謝及び排泄の評価は、主に標識体を用いた試験を選択し、液体クロマトグラフィー質量分析法又はガスクロマトグラフ法を用いた公表論文も一部採択した。薬物代謝酵素の誘導及び阻害の評価は、ヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験成績に関する公表論文を選択した。薬物動態学的相互作用の評価は、主にトランスポーターを発現させた細胞を用いた *in*

vitro 試験成績に関する公表論文を選択し、併用薬を用いた *in vivo* 試験成績も一部採択した。また、必要に応じて選択した公表論文の引用論文についても精査し採択した。

3） 毒性試験

CDCA 及びその代謝物である LCA 及び UDCA を含めた毒性評価のため、以下に示す検索式で検索した結果、CDCA は 1511 件（検索式 6）、UDCA は 1902 件（検索式 7）、LCA は 848 件（検索式 8）の公表論文が得られ、それらを試験デザイン等に基づき精査し、毒性試験成績を評価した。

検索式 1：CHENODEOXYCHOL* OR CHENODIOL

検索式 2：URSODEOXYCHOL* OR URSODIOL

検索式 3：LITHOCHOLIC* OR LITHOCHOLATE

検索式 4：MOUSE OR RAT OR HAMSTER OR GUINEA PIG OR MURINE OR RODENT OR RABBIT OR DOG OR MONKEY OR PRIMATE OR PIG OR BABOON OR SQUIRREL OR RHESUS OR MACACA OR VITRO OR CELL OR SLICE

検索式 5：TOXIC OR SAFETY OR LD50 OR LETHAL DOSE OR NOAEL OR NOEL OR MUTAGEN OR GENOTOXIC OR AMES OR CHROMOSOME ABERRATION OR MICRONUCLEUS OR SISTER CHROMATID OR COMET OR CARCINOGEN OR TUMORIGEN OR CANCER OR SPERM OR EMBRYO OR TERATO OR FETUS OR FETAL OR FERTILIT OR NEWBORN OR INFANT OR JUVENILE OR IMMATURE OR OFFSPRING OR IRRITATE

検索式 6：検索式 1 AND 検索式 4 AND 検索式 5

検索式 7：検索式 2 AND 検索式 4 AND 検索式 5

検索式 8：検索式 3 AND 検索式 4 AND 検索式 5

2.6.1.4 参考文献

1） 石塚 敏. 胆汁酸分子種の多様性　構造・代謝と生理作用. 化学と生物. 2014;52(5):301-6.

2） 最上 知子. 核内受容体 FXR: 胆汁酸と関連代謝物による活性制御と創薬への可能性. 臨床化学. 2007;36(3):197-204.

3） Song KH, Li T, Owsley E, Strom S, Chiang JY. Bile acids activate fibroblast growth factor 19 signaling in human hepatocytes to inhibit cholesterol 7alpha-hydroxylase gene expression. Hepatology. 2009;49(1):297-305.

4） 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）「脳腱黄色腫症の実態把握と診療ガイドライン作成に関する研究班」脳腱黄色腫症診療ガイドライン 2018. Available from: http://www.ctx-guideline.jp/wp-content/uploads/2021/04/141_19.pdf

フジケノン粒状錠 125

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.2　薬理試験の概要文

藤本製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 5
2.6.2　薬理試験の概要文 6
2.6.2.1　まとめ 6
2.6.2.1.1　効力を裏付ける試験 6
2.6.2.1.2　副次的薬理試験 6
2.6.2.1.3　安全性薬理試験 6
2.6.2.1.4　薬力学的薬物相互作用 6
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 7
2.6.2.2.1　各種胆汁酸による FXR 活性化作用の比較と用量依存性 7
2.6.2.2.2　CDCA による FGF-19、SHP mRNA 発現亢進及び CYP7A1 mRNA 発現抑制作用 8
2.6.2.2.3　SHP、FGF-19、CYP7A1 mRNA 発現に対する CDCA 用量依存的作用 9
2.6.2.2.4　LRH-1 による HMG-CoA 還元酵素発現誘導に対する SHP の作用 10
2.6.2.2.5　BSEP mRNA 発現に対する CDCA の作用 11
2.6.2.2.6　肝臓中の胆汁酸合成酵素 mRNA 遺伝子発現に対する CDCA の作用 12
2.6.2.2.7　肝臓中 SHP mRNA 発現に対する CDCA の作用 13
2.6.2.2.8　肝臓中 HMG-CoA 還元酵素活性及び CYP7A1 活性に対する CDCA の作用 14
2.6.2.2.9　肝臓中 HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現に対する CA 及び GW4064 の作用 15
2.6.2.3　副次的薬理試験 16
2.6.2.4　安全性薬理試験 16
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験 16
2.6.2.6　考察及び結論 17
2.6.2.7　図表 18
2.6.2.8　引用文献 19

図目次

図 2.6.2-1　各種胆汁酸による FXR 活性化作用と用量依存性 7
図 2.6.2-2　ヒト初代培養肝細胞における CDCA による FGF-19、SHP mRNA 発現亢進及び CYP7A1 mRNA 発現抑制作用 8
図 2.6.2-3　ヒト初代培養肝細胞における SHP、FGF-19、CYP7A1 mRNA 発現に対する CDCA の用量依存的作用 9
図 2.6.2-4　LRH-1 による HMG-CoA 還元酵素発現誘導に対する SHP の作用 10
図 2.6.2-5　ヒト初代培養肝細胞における BSEP mRNA 発現に対する CDCA の作用 11
図 2.6.2-6　マウス肝臓における胆汁酸合成酵素の mRNA 発現への胆汁酸の影響 12
図 2.6.2-7　マウス肝臓における SHP mRNA 発現への胆汁酸の影響 13
図 2.6.2-8　野生型あるいは SHP 欠損マウスの肝臓における HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現への CA 及び GW4064 の影響 15

表目次

表 2.6.2-1　ハムスター肝臓における各酵素活性への胆汁酸の影響.....14

略語・略号一覧

略語・略号	説明
ANOVA	Analysis of variance（分散分析）
BSEP	Bile salt export pump（胆汁酸塩排出ポンプ）
CA	Cholic acid（コール酸）
CDCA	Chenodeoxycholic acid（ケノデオキシコール酸）
CTX	Cerebrotendinous xanthomatosis（脳腱黄色腫症）
CYP27A1	Sterol 27-hydroxylase（ステロール 27-水酸化酵素）
CYP7A1	Cholesterol 7α-monooxygenase（コレステロール 7α-水酸化酵素）
CYP8B1	Cholesterol 12α-hydroxylase（ステロール 12α-水酸化酵素）
DCA	Deoxycholic acid（デオキシコール酸）
DNA	Deoxyribonucleic acid（デオキシリボ核酸）
EC_{50}	Concentration required for 50% effect（50%有効濃度）
ERK	Extracellular signal-regulated kinase（細胞外シグナル調節キナーゼ）
FGF-19	Fibroblast growth factor-19（線維芽細胞増殖因子-19）
FGFR4	Fibroblast growth factor receptor 4（線維芽細胞増殖因子受容体 4）
FXR	Farnesoid X receptor（ファルネソイド X 受容体）
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase（グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ）
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A（3-ヒドロキシ 3-メチルグルタリル補酵素 A）
hr	Hour（時間）
LCA	Lithocholic acid（リトコール酸）
LDLR	Low-density lipoprotein receptor（低比重リポタンパク質受容体）
LRH-1	Liver receptor homologue-1（肝受容体相同体-1）
MAPK	Mitogen-activated protein kinase（マイトジェン活性化蛋白質リン酸化酵素）
mRNA	Messenger ribonucleic acid（メッセンジャーリボ核酸）
qPCR	Quantitative polymerase chain reaction（定量的ポリメラーゼ連鎖反応）
RXR	Retinoid X receptor（レチノイド X 受容体）
RNase	Ribonuclease（リボヌクレアーゼ）
SHP	Small heterodimer partner（低分子ヘテロ二量体パートナー）
UDCA	Ursodeoxycholic acid（ウルソデオキシコール酸）

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

2.6.2.1.1 効力を裏付ける試験

CDCA の効力を裏付ける試験の根拠となる公表論文について、MEDLINE を対象データベースとして、CTD2.6.1.3 で示した検索式 1 及び 2 にて検索した（最終検索日：2025 年 5 月 7 日）。検索式 1 及び 2 によって絞り込まれた各々3462 件及び 14 件の公表論文を精査した結果、効力を裏付ける試験へ追加すべき新たな情報は得られなかった。

In vitro において、各種胆汁酸（CDCA、DCA、LCA、UDCA 及び CA）の FXR 活性化能をレポーターアッセイにて評価したところ、CDCA が最も強力な活性化能を示し、その EC_{50} は約 50 μM であった。ヒト初代培養肝細胞において、CDCA は濃度依存的な SHP、FGF-19 及び BSEP mRNA の発現亢進、並びに CYP7A1 mRNA の発現抑制を示した。LRH-1 による HMG-CoA 還元酵素発現誘導が SHP 共発現により消失したことから、CDCA は SHP 発現増加を介し HMG-CoA 還元酵素活性も低下させることが間接的に示唆された。

In vivo においても、CDCA はマウス肝臓において SHP mRNA の発現亢進と CYP7A1 及び CYP8B1 mRNA の発現抑制を示し、ハムスター肝臓において CYP7A1 及び HMG-CoA 還元酵素の活性を低下させた。CA あるいは FXR アゴニスト GW4064 が、野生型マウスにおいて HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現を低下させたが、SHP 欠損マウスへの投与ではその発現低下作用が減弱した。

以上より、CDCA 投与によって FXR 活性化を介する CYP7A1 へのネガティブフィードバック機構が作動し、胆汁酸生合成の恒常性が回復方向に向かうこと、並びに CDCA には HMG-CoA 還元酵素発現抑制によるコレステロール合成の低下や BSEP 発現亢進による胆汁分泌量増加が期待できることから、血清コレスタノール高濃度異常や胆汁うっ滞といった CTX 諸症状の改善や病勢進展抑制を裏付ける説明が可能と考えられる。

2.6.2.1.2 副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.2.1.3 安全性薬理試験

該当資料なし

2.6.2.1.4 薬力学的薬物相互作用

該当資料なし

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

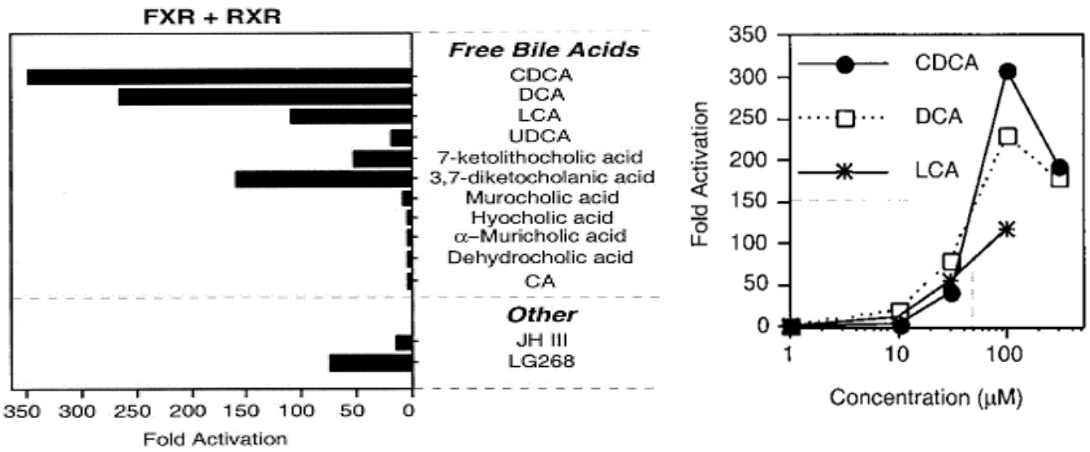
2.6.2.2.1　各種胆汁酸による FXR 活性化作用の比較と用量依存性

脱抱合された一次胆汁酸は、腸内細菌による脱水酸化を受け二次胆汁酸となる。即ち、CA や CDCA の 7α 水酸基が脱水酸化されると、それぞれの二次胆汁酸である DCA や LCA となるため、これら各種胆汁酸の FXR 活性化作用について検討した。FXR にリガンドが結合すると、FXR は RXR とヘテロ二量体を形成し、標的遺伝子のプロモーター上流にある FXR 応答配列に結合して、リガンド依存的に遺伝子の転写活性を制御する［4.2.1.1-1］[1)]。そこで、Wang らは、*FXR* 及び *RXR* 遺伝子と EcRE 応答配列を組み込んだルシフェラーゼレポーター遺伝子を一過性に発現させたサル腎由来 CV-1 細胞に、二次胆汁酸を含む各種胆汁酸（図に示した濃度）を添加し、約 45 時間後における各種胆汁酸の FXR 活性化能をレポーターアッセイにて評価した。

各種胆汁酸（100 μM）による FXR 活性化作用の効力を比較したところ、CDCA が最も強い活性化作用（346 倍）を示し、続いて DCA（246 倍）＞LCA（106 倍）＞UDCA＞CA の順であった［図 2.6.2-1 左］。用量依存性の実験結果より、CDCA 及び DCA における FXR 活性化作用の EC_{50} は、いずれも約 50 μM であった［図 2.6.2-1 右］[2)]。

CDCA 及び CA は、古典的経路にて生成される主要な胆汁酸であるが、これらの結果から、CDCA は非常に効果的な FXR の活性化因子である一方で、CA では FXR 活性化は殆どみられなかった。

図 2.6.2-1　各種胆汁酸による FXR 活性化作用と用量依存性



試験を 3 試行以上行い、同様の結果が得られた。結果を、胆汁酸未処置を 1 としたときの相対値で示した。
資料番号［4.2.1.1-2］Figure 4A, 4C 改編

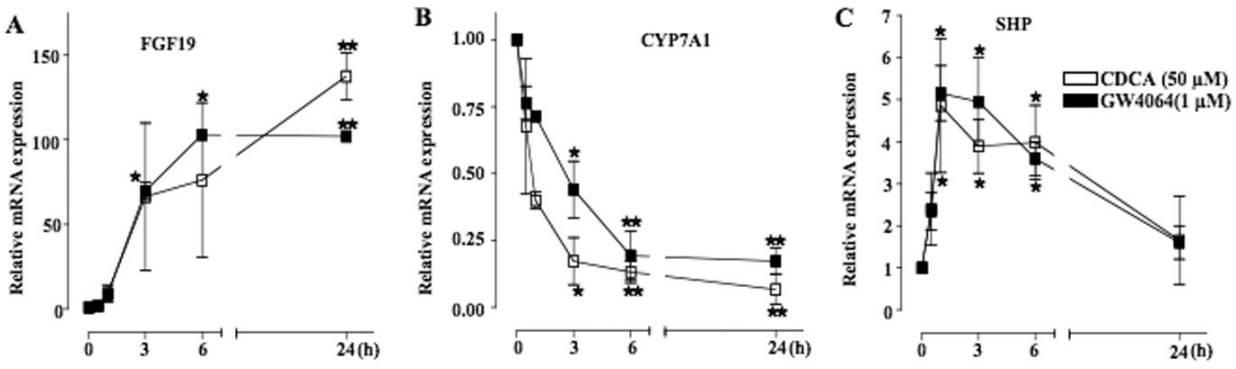
2.6.2.2.2　CDCA による FGF-19、SHP mRNA 発現亢進及び CYP7A1 mRNA 発現抑制作用

胆汁酸合成における CYP7A1 の役割、及び CYP7A1 発現制御における FGF-19 及び SHP の関与についての機序を明らかにする目的で、Song らは、ヒト初代培養肝細胞に CDCA（50 μM）又は合成 FXR アゴニスト GW4064（1 μM）を添加し、24 時間後まで経時的な FGF-19、CYP7A1 及び SHP の各 mRNA 発現量を、qPCR 法にて解析した。

ヒト初代培養肝細胞における化合物処置前の FGF-19 mRNA の発現レベルは非常に低かったが、CDCA 及び GW4064 処置により FGF-19 mRNA 発現は劇的に増加し、処置 24 時間後では処置前に比べ 100 倍以上発現が有意に増加した［図 2.6.2-2 A］。また、CDCA 及び GW4064 は、処置 1 時間以内に SHP mRNA 発現を 5 倍程度有意に増加させたが、処置 24 時間後には処置前の発現レベル程度にまで戻った［図 2.6.2-2 C］。さらに、CDCA 及び GW4064 は、処置 3～6 時間後にかけて早くかつ強力に、CYP7A1 mRNA 発現を有意に抑制した［図 2.6.2-2 B］[3)]。

これらの結果から、CDCA や GW4064 によって活性化された FXR により、FGF-19 mRNA 発現が強く亢進し、SHP mRNA 発現も一過性に亢進することが示された。また、FGF-19 mRNA の発現レベルは、CYP7A1 mRNA の発現レベルと逆の動きをすることがわかった。

図 2.6.2-2　ヒト初代培養肝細胞における CDCA による FGF-19、SHP mRNA 発現亢進及び CYP7A1 mRNA 発現抑制作用



平均値 ± 標準偏差（最低 3 例以上の異なるドナーの肝細胞を使用、性別不明）。
結果を、化合物処置前を 1 としたときの相対値で示した。
*$p < 0.05$、**$p < 0.001$ vs control（One-way ANOVA followed by Dunnett's test）
資料番号［4.2.1.1-3］Figure 1A-C 改編

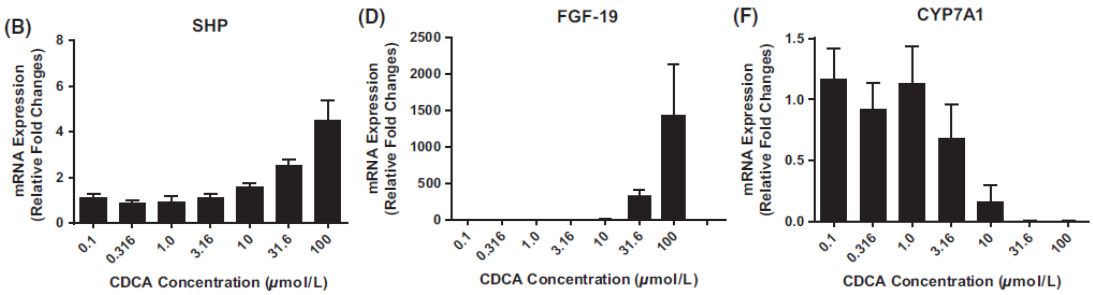
2.6.2.2.3　SHP、FGF-19、CYP7A1 mRNA 発現に対する CDCA 用量依存的作用

前述の［2.6.2.2.2］項で明らかとなったように、FXR は胆汁酸合成とその恒常性に関与する各種遺伝子の主要な転写制御因子である。そこで、Zhang らは、生体内環境に近づけた培養法と考えられているサンドイッチ培養したヒト初代培養肝細胞を用いて、胆汁酸の恒常性に関与する SHP、FGF-19 及び CYP7A1 の各遺伝子発現に対する CDCA の用量依存性を検討した。ヒト初代培養肝細胞に、CDCA（0.1～100 µmol/L）を添加し、72 時間後の SHP、FGF-19 及び CYP7A1 の各 mRNA 発現量を qPCR 法にて測定した。

CDCA は、SHP mRNA 及び FGF-19 mRNA の発現を用量依存的に亢進させ［図 2.6.2-3 B, D］、CYP7A1 mRNA 発現を抑制した［図 2.6.2-3 F］。最高用量である 100 µmol/L の CDCA は、SHP mRNA 及び FGF-19 mRNA の発現をそれぞれ 4.5 倍、1430 倍亢進させ、CYP7A1 mRNA 発現を 99%抑制した [4)]。

これらの結果から、別グループの試験でも同様に、SHP 及び FGF-19 mRNA レベルが、CDCA の用量依存的に増加、又は CYP7A1 mRNA レベルが、CDCA の用量依存的に低下することがわかった。

図 2.6.2-3　ヒト初代培養肝細胞における SHP、FGF-19、CYP7A1 mRNA 発現に対する CDCA の用量依存的作用



平均値 ± 標準偏差（ドナー3 例の肝細胞を使用、性別不明）。
結果を、溶媒処置を 1 としたときの相対値で示した。
資料番号［4.2.1.1-4］Figure 4B, 4D, 4F 改編

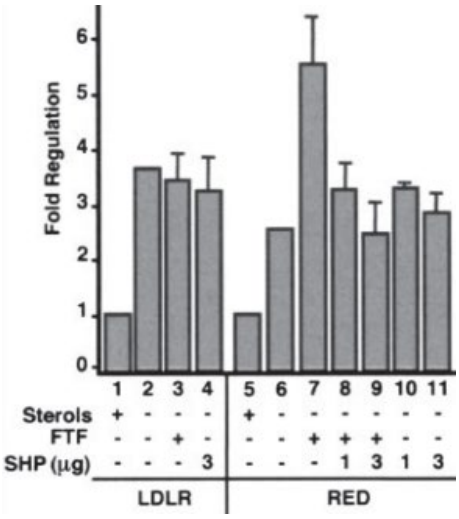
2.6.2.2.4　LRH-1 による HMG-CoA 還元酵素発現誘導に対する SHP の作用

胆汁酸が核内受容体である LRH-1 及び SHP を介してコレステロール生合成を直接的に調節する機構を検討するため、Datta らは、ヒト胎児腎臓由来 293T 細胞にヒト LRH-1 発現プラスミド（0.1 μg）をトランスフェクションすることで、ハムスターHMG-CoA 還元酵素レポーター遺伝子発現を誘導した。さらに SHP 発現プラスミド（1、3 μg）を共トランスフェクションさせ、17 時間後の HMG-CoA 還元酵素転写活性を測定した。

SHP の共発現は、LRH-1 強制発現による HMG-CoA 還元酵素の発現誘導［図 2.6.2-4 レーン 6-7］を用量依存的に阻害した［図 2.6.2-4 レーン 8-9］[5)]。

これらの結果は、LRH-1 が LDLR に影響を及ぼすことなく、HMG-CoA 還元酵素の転写を特異的に活性化し、これを SHP が抑制することを示している。即ち、CDCA が SHP 発現量増加を介して、HMG-CoA 還元酵素活性も低下させることが間接的に示唆された。

図 2.6.2-4　LRH-1 による HMG-CoA 還元酵素発現誘導に対する SHP の作用



レーン 6～9 が該当箇所（平均値 ± 標準誤差、duplicate を 2 試行）。
結果を、sterols 処置を 1 としたときの相対値で示した。
図中の略語：FTF: LRH-1、LDLR: LDL 受容体、RED: HMG-CoA 還元酵素
Sterols: 12 μg/mL cholesterol と 1 μg/ml 25-hydroxycholesterol から成る発現抑制性混合物
資料番号［4.2.1.1-5］Figure 3 改編

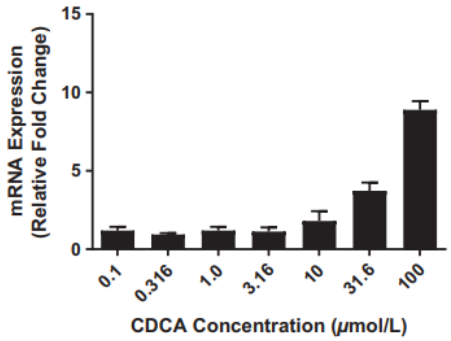
2.6.2.2.5　BSEP mRNA 発現に対する CDCA の作用

胆汁酸の肝臓クリアランスは、FXR により制御される。肝細胞小管膜上の主要な胆汁酸排出トランスポーターである BSEP は、胆汁酸に依存した胆汁流量形成に重要な役割を有する。ヒト BSEP の転写は、FXR により直接誘導されることが報告されていることから[6)]、Zhang らは、サンドイッチ培養したヒト初代培養肝細胞を用いて、BSEP 発現に対する CDCA の用量依存性を検討した。ヒト初代培養肝細胞に、CDCA（0.1～100 µmol/L）を添加し、72 時間後の BSEP mRNA 発現量を qPCR 法にて測定した。

最高用量である 100 µmol/L の CDCA では、BSEP mRNA の発現を 8.9 倍亢進させ、CDCA は用量依存的に BSEP mRNA の発現を亢進させることが分かった［図 2.6.2-5］[4)]。

これらの結果から、CDCA は FXR を介して BSEP の発現を用量依存的に増加させることが示唆された。

図 2.6.2-5　ヒト初代培養肝細胞における BSEP mRNA 発現に対する CDCA の作用



平均値 ± 標準偏差（ドナー3 例の肝細胞を使用、性別不明）。
結果を、溶媒処置を 1 としたときの相対値で示した。
資料番号［4.2.1.1-4］Figure 5F 改編

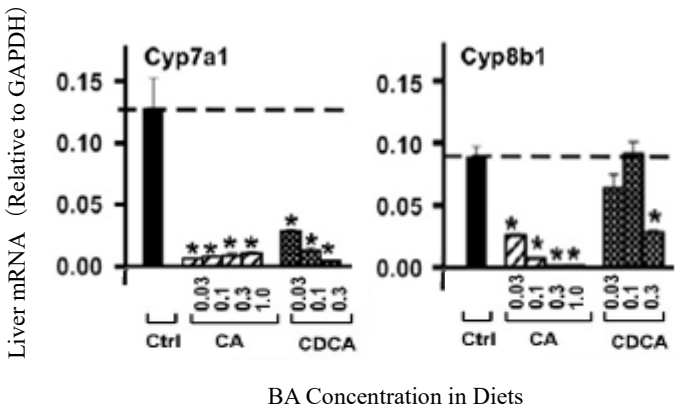
2.6.2.2.6　肝臓中の胆汁酸合成酵素 mRNA 遺伝子発現に対する CDCA の作用

前述の［2.6.2.2.2］項及び［2.6.2.2.3］項で記載したように、ヒト初代培養肝細胞において、CDCA は用量依存的に CYP7A1 mRNA 発現を抑制することがわかった。次に *in vivo* の系で、胆汁酸合成酵素群の mRNA 発現に対する胆汁酸（CDCA 及び CA）の用量反応性を検討するため、マウスの肝臓における CYP7A1 及び CYP8B1 の mRNA 定量を行った。Song らは、8 週齢 C57BL/6 系雄性マウス（体重 22 ± 2 g）に、CA を 0.03～1.0%又は CDCA を 0.03～0.3%含有する餌を 7 日間自由摂取させた。マウス肝臓での CYP7A1 及び CYP8B1 の mRNA 発現解析には、QuantiGene Plex を用いた。

7 日間の CDCA 混餌投与により、肝 CYP7A1 mRNA 発現は用量依存的かつ有意に低下し、CA 及び CDCA 共に約 90%低下した［図 2.6.2-6 左］。同様に、7 日間の CA（全ての用量）及び CDCA（0.3%）の混餌投与により、肝 CYP8B1 mRNA 発現も有意に低下した［図 2.6.2-6 右］[7)]。

これらの結果から、マウスへの CDCA 経口投与は胆汁酸合成酵素である CYP7A1 及び CYP8B1 の mRNA 発現を抑制し、マウス肝臓においても CYP7A1 mRNA 発現を用量依存的に抑制することが明らかとなった。

図 2.6.2-6　マウス肝臓における胆汁酸合成酵素の mRNA 発現への胆汁酸の影響



平均値 ± 標準誤差（n = 5）、*p < 0.05 vs Ctrl（One-way ANOVA followed by Duncan's post-hoc test）
図中の略語：Ctrl: control、BA: 胆汁酸
資料番号［4.2.1.1-7］Figure 1 改編

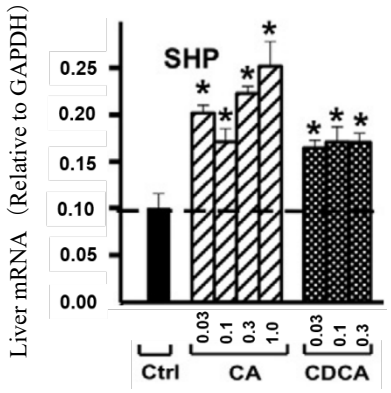
2.6.2.2.7　肝臓中 SHP mRNA 発現に対する CDCA の作用

前述の［2.6.2.2.3］項で記載したように、ヒト初代培養肝細胞において CDCA は用量依存的に SHP mRNA 発現を亢進させることがわかった。次に *in vivo* の系で、肝臓における FXR 標的遺伝子である SHP の mRNA 発現に対する 2 種の胆汁酸の用量依存性を検討するため、マウス肝臓における SHP mRNA 発現の定量を行った。Song らは、8 週齢 C57BL/6 系雄性マウス（体重 22 ± 2 g）に、CA を 0.03～1.0%又は CDCA を 0.03～0.3%含有する餌を 7 日間自由摂取させた。肝臓での SHP mRNA 発現解析には、QuantiGene Plex を用いた。

7 日間の CA 及び CDCA（全ての用量）の混餌投与後の肝臓において、SHP の mRNA 発現が有意に亢進していた［図 2.6.2-7］[7)]。

これらの結果から、CDCA を経口投与したマウスの肝臓において、CDCA の用量依存性はみられなかったが、CDCA は FXR 標的遺伝子である SHP の mRNA 発現を亢進させることがわかった。

図 2.6.2-7　マウス肝臓における SHP mRNA 発現への胆汁酸の影響



平均値 ± 標準誤差（n = 5）、*p < 0.05 vs Ctrl（One-way ANOVA followed by Duncan's post-hoc test）
図中の略語：Ctrl: control、BA: 胆汁酸
資料番号［4.2.1.1-7］Figure 6B 改編

2.6.2.2.8　肝臓中 HMG-CoA 還元酵素活性及び CYP7A1 活性に対する CDCA の作用

ハムスター肝臓におけるコレステロール合成の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素及び胆汁酸合成の律速酵素である CYP7A1 に対する CDCA 投与の影響を検討するため、Schoenfield らは、Golden Syrian 系雄性ハムスター（体重 120-130 g、週齢不明）に、CDCA 及び CA（共に 43 mg/kg/day）を 2 週間経口投与した。

CDCA では、ハムスター肝臓の HMG-CoA 還元酵素及び CYP7A1 の活性が、それぞれ 61%及び 49%低下した［表 2.6.2-1 A］。同様に CA では、HMG-CoA 還元酵素及び CYP7A1 の活性が、それぞれ 26%及び 32%低下した［表 2.6.2-1 B］[8)]。

これらの結果から、CDCA 及び CA は、HMG-CoA 還元酵素及び CYP7A1 の両活性を有意に抑制すること、その抑制活性の効力について、CDCA が CA よりも強いことがわかった。

表 2.6.2-1　ハムスター肝臓における各酵素活性への胆汁酸の影響

酵素名	A: 実験 1		B: 実験 2	
	Control	CDCA	Control	CA
HMG-CoA 還元酵素 （nmol/mg microsomal protein/hr）	8.14 ± 0.41	3.16 ± 0.08 *	6.65 ± 0.15	4.91 ± 0.17 #
CYP7A1 （nmol/mg protein/hr）	0.090 ± 0.001	0.046 ± 0.005 *	0.090 ± 0.001	0.061 ± 0.005 $

平均値 ± 標準誤差（n = 12）、*$p < 0.01$ vs control、#$p < 0.02$ vs control、$$p < 0.05$ vs control（検定方法不明）
資料番号［4.2.1.1-8］Table 2 改編

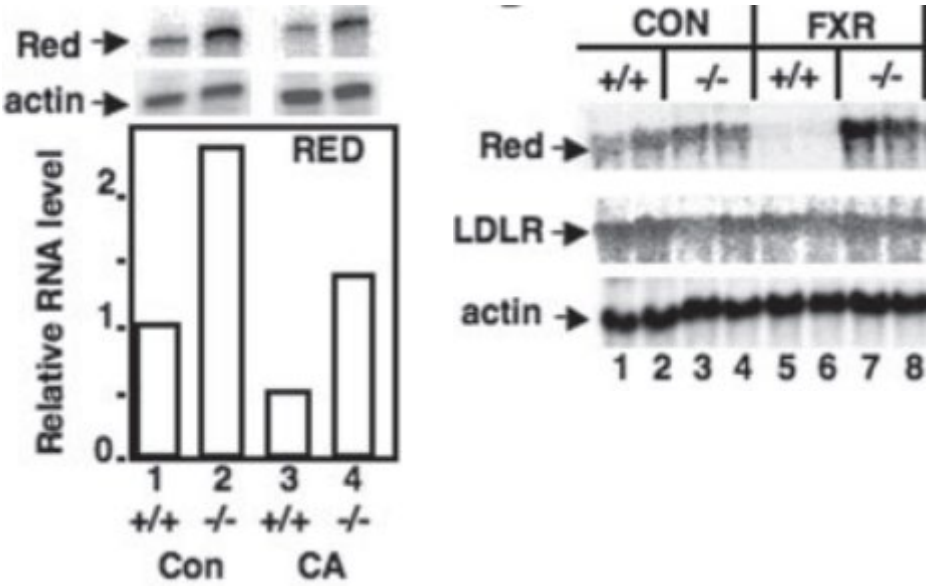
2.6.2.2.9　肝臓中 HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現に対する CA 及び GW4064 の作用

これまでに、SHP 欠損マウスでは胆汁酸依存性の CYP7A1 遺伝子発現制御が損なわれていることが示され、さらに HMG-CoA 還元酵素などのコレステロール合成酵素遺伝子の胆汁酸依存性発現制御も SHP 欠損マウスでは変化する可能性も示されている［4.2.1.1-9］[9)]。そこで、HMG-CoA 還元酵素遺伝子発現に対する SHP の影響をより直接的に評価するため、Datta らは、C57BL/6 系の野生型マウス及び SHP 欠損マウスに 0.5% CA 含有の餌を 12 週間給餌、あるいは FXR アゴニスト GW4064（30 mg/kg）含有の餌を 1 日間給餌し、肝臓での HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現を RNase protection assay 法及び Northern blot 法にて解析した。

CA［図 2.6.2-8 左］や GW4064［図 2.6.2-8 右］の経口投与によって、野生型マウスにおける HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現がいずれも低下したが、SHP 欠損マウスではその発現低下作用がそれぞれ減弱あるいは消失した[5)]。

これらの結果から、SHP は、LDLR の発現に影響を及ぼさず、HMG-CoA 還元酵素の発現を特異的に阻害することが示唆された。

図 2.6.2-8　野生型あるいは SHP 欠損マウスの肝臓における HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現への CA 及び GW4064 の影響



左図：CA 投与（平均値、n＝5）、結果を、内部標準 actin で補正後、control（レーン 1）を 1 としたときの相対値で示した。右図：GW4064 投与（n＝2）（8～12 週齢、体重及び性別不明）
図中の略語：+/+: 野生型マウス、-/-: SHP 欠損マウス、
CON, Con: control、FXR: GW4064、RED, Red: HMG-CoA 還元酵素、LDLR: LDL 受容体
資料番号［4.2.1.1-5］Figure 1 改編

2.6.2.3 副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.2.4 安全性薬理試験

該当資料なし

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし

2.6.2.6　考察及び結論

効力を裏付ける薬理試験

In vitro FXR 活性化レポーターアッセイにて、CDCA は強力な FXR 活性化作用を示した。また、ヒト初代培養肝細胞において、CDCA は SHP mRNA 発現を亢進させ、CYP7A1 mRNA 発現を抑制した。さらに、CDCA をマウスへ混餌投与したところ、肝臓での SHP mRNA 発現が亢進し、CYP7A1 及び CYP8B1 の mRNA 発現が低下した。FXR は RXR とヘテロ二量体を形成し、標的遺伝子の FXR 応答領域に結合し転写を制御するため[1)]、胆汁酸や合成 FXR アゴニスト存在下では SHP が発現誘導されることが報告されている[10)]。SHP は DNA 結合部位を持たず、転写因子である核内受容体とヘテロ二量体を形成することでその転写活性を抑制することから[10)]、CYP7A1 発現を正に制御する LRH-1 と SHP とのヘテロ二量体形成を介して、CDCA が CYP7A1 発現を抑制したと考えられる。また、他の胆汁酸合成酵素である CYP8B1 の発現も FXR/SHP を介して胆汁酸により負に制御されることが知られており[11)]、FXR を介した胆汁酸合成経路のネガティブフィードバック機構が、複数酵素の発現制御で成り立っていることが示された。これらの結果は、CDCA が FXR アゴニストとして作用し、少なくともその帰結の一つは SHP 発現誘導を介する CYP7A1 発現抑制であることを示している。SHP 発現誘導以外の機序として、CDCA はヒト初代培養肝細胞において FGF-19 mRNA 発現を誘導した。FGF-19 は SHP mRNA 発現レベルに影響を及ぼすことなく CYP7A1 mRNA 発現を抑制し、当該作用機序への MAPK/ERK1/2、FGFR4 の関与が報告されている[12)]。CDCA による胆汁酸合成抑制機序として、FXR/SHP 系を介した CYP7A1 発現抑制だけでなく、FGF-19/FGFR4 経路の活性化による CYP7A1 発現抑制の関与も推測される[13)]。

ハムスターに CDCA を経口投与すると、肝臓におけるコレステロール合成の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素の活性が低下した。CTX 患者に対して CDCA と HMG-CoA 還元酵素阻害剤を併用投与すると、CDCA 単独投与時と比べて更に血中コレスタノール濃度が低下することから[14)]、コレステロール合成阻害作用も CTX 患者における血中コレスタノール濃度低下に寄与する作用機序のひとつと考えられる。CA や合成 FXR アゴニストの野生型マウスへの投与で HMG-CoA 還元酵素の遺伝子発現レベルが低下するが、SHP 欠損マウスへの投与では発現低下作用が減弱ないし消失すること、また、*in vitro* において LRH-1 による HMG-CoA 還元酵素発現誘導を SHP が用量依存的に阻害することを示し、胆汁酸が SHP を介して HMG-CoA 還元酵素の発現を抑制し、コレステロールの生合成を低下させることを報告している[5)]。したがって、CDCA による HMG-CoA 還元酵素活性の抑制作用の機序として、CA や合成 FXR アゴニストと同様、SHP の発現誘導を介した HMG-CoA 還元酵素の発現抑制が考えられる。

CDCA による BSEP mRNA 発現亢進もヒト初代培養肝細胞において認められた。BSEP は肝細胞小管膜上の主要な胆汁酸排出トランスポーターであるため、BSEP 発現レベルの低下やトランスポーター活性低下は、肝細胞からの胆汁酸排出が滞る原因となり、胆汁うっ滞へと繋がる[4)]。FXR は BSEP mRNA 発現制御に直接関与することが報告[6)]されていることか

ら、CDCA の FXR 活性化を介した BSEP 発現亢進作用から、胆汁うっ滞の改善作用が期待できる。

CTX 患者では、CYP27A1 の機能不全により CDCA 生合成能が著しく低下した結果、コレステロール代謝産物比率が変化し、血中コレスタノール高濃度異常が認められる。CDCA は、胆汁酸合成の律速酵素 CYP7A1 をはじめとする複数の胆汁酸合成経路上の酵素発現を FXR 活性化によって抑制するが、CTX 患者では CDCA 生合成能が著しく低下しているために、このネガティブフィードバック機構が有効に作動せず、血中コレスタノール高濃度異常は更に亢進する。その結果、脳、腱及び血管等の全身組織にコレスタノールが蓄積することで様々な臓器障害が発症する[15)]。したがって、CTX 患者において CDCA を補充し FXR を活性化させることで、HMG-CoA 還元酵素を発現抑制しコレステロール合成を抑えつつ、胆汁酸合成の恒常性を再生させて血中コレスタノール高濃度異常を改善する治療法は極めて合理的であり、また胆汁うっ滞の改善も期待できる多機能的な治療法でもある。

2.6.2.7 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8 引用文献

1） Lu TT, Repa JJ, Mangelsdorf DJ. Orphan nuclear receptors as eLiXiRs and FiXeRs of sterol metabolism. J Biol Chem. 2001; 276(41): 37735-8.

2） Wang H, Chen J, Hollister K, Sowers LC, Forman BM. Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR. Mol Cell. 1999; 3(5): 543-53.

3） Song KH, Li T, Owsley E, Strom S, Chiang JYL. Bile acids activate fibroblast growth factor 19 signaling in human hepatocytes to inhibit cholesterol 7alpha-hydroxylase gene expression. Hepatology. 2009; 49(1): 297-305.

4） Zhang Y, Jackson JP, St Claire RL 3rd, Freeman K, Brouwer KR, Edwards JE. Obeticholic acid, a selective farnesoid X receptor agonist, regulates bile acid homeostasis in sandwich-cultured human hepatocytes. Pharmacol Res Perspect. 2017; 5(4): e00329.

5） Datta S, Wang L, Moore DD, Osborne TF. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase promoter by nuclear receptors liver receptor homologue-1 and small heterodimer partner: a mechanism for differential regulation of cholesterol synthesis and uptake. J Biol Chem. 2006; 281(2): 807-12.

6） Ananthanarayanan M, Balasubramanian N, Makishima M, Mangelsdorf DJ, Suchy FJ, Human bile salt export pump promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor. J Biol Chem. 2001; 276(31): 28857-65.

7） Song P, Rockwell CE, Cui JY, Klaassen CD. Individual bile acids have differential effects on bile acid signaling in mice. Toxicol Appl Pharmacol. 2015; 283(1): 57-64.

8） Schoenfield LJ, Bonorris GG, Ganz P. Induced alterations in the rate-limiting enzymes of hepatic cholesterol and bile acid synthesis in the hamster. J Lab Clin Med. 1973; 82(6): 858-68.

9） Wang L, Lee YK, Bundman D, Han Y, Thevananther S, Kim CS, et al., Redundant pathways for negative feedback regulation of bile acid production. Dev Cell. 2002; 2(6): 721-31.

10） Lu TT, Makishima M, Repa JJ, Schoonjans K, Kerr TA, Auwerx J, et al. Molecular basis for feedback regulation of bile acid synthesis by nuclear receptors. Mol Cell. 2000; 6(3): 507-15.

11） 最上 知子. 核内受容体 FXR: 胆汁酸と関連代謝物による活性制御と創薬への可能性. 臨床化学. 2007; 36(3): 197-204.

12） Yu S, Zheng L, Asa SL, Ezzat S. Fibroblast growth factor receptor 4 (FGFR4) mediates signaling to the prolactin but not the FGFR4 promoter. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002; 283(3): E490-5.

13） Holt JA, Luo G, Billin AN, Bisi J, McNeill YY, Kozarsky KF, et al. Definition of a novel growth factor-dependent signal cascade for the suppression of bile acid biosynthesis. Genes Dev. 2003; 17(13): 1581-91.

14） Verrips A, Wevers RA, Van Engelen BG, Keyser A, Wolthers BG, Barkhof F, et al. Effect of simvastatin in addition to chenodeoxycholic acid in patients with cerebrotendinous xanthomatosis. Metabolism. 1999; 48(2): 233-8.

15） 関島 良樹. 脳腱黄色腫症の疾患概念と臨床像の多様性. 神経内科. 2017; 86(3): 346-51.

フジケノン粒状錠 125

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.6.3　薬理試験概要表

藤本製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 3
2.6.3　薬理試験概要表 4
2.6.3.1　薬理試験：一覧表 4
2.6.3.2　効力を裏付ける試験 6
2.6.3.3　副次的薬理試験 9
2.6.3.4　安全性薬理試験 9
2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験 9

略語・略号一覧

略語・略号	説明
BSEP	Bile salt export pump（胆汁酸塩排泄ポンプ）
CA	Cholic acid（コール酸）
CDCA	Chenodeoxycholic acid（ケノデオキシコール酸）
CYP7A1	Cholesterol 7α-monooxygenase（コレステロール 7α-水酸化酵素）
CYP8B1	Cholesterol 12α-hydroxylase（ステロール 12α-水酸化酵素）
DCA	Deoxycholic acid（デオキシコール酸）
EC_{50}	Concentration required for 50% effect（50%有効濃度）
FGF-19	Fibroblast growth factor-19（線維芽細胞増殖因子-19）
FXR	Farnesoid X receptor（ファルネソイド X 受容体）
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A（3-ヒドロキシ 3-メチルグルタリル補酵素 A）
LCA	Lithocholic acid（リトコール酸）
LRH-1	Liver receptor homologue-1（肝受容体相同体-1）
mRNA	Messenger ribonucleic acid（メッセンジャーリボ核酸）
qPCR	Quantitative polymerase chain reaction（定量的ポリメラーゼ連鎖反応）
RNase	Ribonuclease（リボヌクレアーゼ）
SHP	Small heterodimer partner（低分子ヘテロ二量体パートナー）
UDCA	Ursodeoxycholic acid（ウルソデオキシコール酸）

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

試験の種類	試験系	被験物質	処置濃度	実施施設	CTD 記載箇所
効力を裏付ける試験（*in vitro* での検討）					
各種胆汁酸による FXR 活性化作用の比較と用量依存性	CV-1 細胞（サル腎由来）	CDCA、DCA、LCA、UDCA、CA	100 μM	該当なし	4.2.1.1-2
		CDCA、DCA、LCA	1-300 μM		
CDCA による FGF-19、SHP mRNA 発現亢進及び CYP7A1 mRNA 発現抑制作用	初代培養肝細胞（ヒト）	CDCA	50 μM	該当なし	4.2.1.1-3
SHP、FGF-19、CYP7A1 mRNA 発現に対する CDCA 用量依存的作用	初代培養肝細胞（ヒト）	CDCA	0.1-100 μmol/L	該当なし	4.2.1.1-4
LRH-1 による HMG-CoA 還元酵素発現誘導に対する SHP の作用	293T 細胞（ヒト胎児腎臓由来）	無し	無し	該当なし	4.2.1.1-5
BSEP mRNA 発現に対する CDCA の作用	初代培養肝細胞（ヒト）	CDCA	0.1-100 μmol/L	該当なし	4.2.1.1-4

2.6.3.1　薬理試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	被験物質	投与方法	投与量	実施施設	CTD 記載箇所
効力を裏付ける試験（*in vivo* での検討）						
肝臓中の胆汁酸合成酵素 mRNA 遺伝子発現に対する CDCA の作用	マウス	CDCA	混餌投与	0.03-0.3%	該当なし	4.2.1.1-7
肝臓中 SHP mRNA 発現に対する CDCA の作用	マウス	CDCA	混餌投与	0.03-0.3%	該当なし	4.2.1.1-7
肝臓中 HMG-CoA 還元酵素活性及び CYP7A1 活性に対する CDCA の作用	ハムスター	CDCA	経口投与	43 mg/kg	該当なし	4.2.1.1-8
肝臓中 HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現に対する CA 及び GW4064 の作用	マウス	CA GW4064	混餌投与	CA：0.5% GW4064：30 mg/kg	該当なし	4.2.1.1-5 4.2.1.1-9
副次的薬理試験	該当なし					
安全性薬理試験	該当なし					
薬力学的薬物相互作用試験	該当なし					

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験に関して、各概要表を示し、各文章と図表を薬理試験の概要文（2.6.2）に記載した。

試験の種類	試験系	被験物質/処置濃度/処置時間/測定法	試験結果	実施施設	資料番号
In vitro での検討 各種胆汁酸による FXR 活性化作用の比較と用量依存性	FXR レポーター遺伝子発現 CV-1 細胞（サル腎由来）	被験物質： 図 2.6.2-1 左：CDCA、DCA、LCA、UDCA、CA 図 2.6.2-1 右：CDCA、DCA、LCA 処置濃度： 図 2.6.2-1 左：100 μM 図 2.6.2-1 右：1, 10, 30, 100, 300 μM 処置時間：約 45 時間 測定法：ルシフェラーゼレポーターアッセイ	各種胆汁酸（100 μM）による FXR 活性化作用を比較したところ、CDCA が最も強い活性化能を示し、続いて DCA＞LCA＞UDCA＞CA の順であった。 CDCA 及び DCA の FXR 活性化作用の EC_{50} は、いずれも約 50 μM であった。	該当なし	4.2.1.1-2
CDCA による FGF-19、SHP mRNA 発現亢進及び CYP7A1 mRNA 発現抑制作用	初代培養肝細胞（ヒト）	被験物質：CDCA 処置濃度：50 μM 処置時間：1-24 時間 測定法：qPCR 法	CDCA により FGF-19 mRNA 発現は劇的に増加し、24 時間後では処置前に比べ 100 倍以上発現が有意に増加した。CDCA は添加 1 時間以内に SHP mRNA 発現を約 5 倍有意に亢進させ、添加 3～6 時間にかけて CYP7A1 mRNA 発現を有意に抑制した。	該当なし	4.2.1.1-3
SHP、FGF-19、CYP7A1 mRNA 発現に対する CDCA 用量依存的作用	初代培養肝細胞（ヒト）	被験物質：CDCA 処置濃度：0.1, 0.316, 1.0, 3.16, 10, 31.6, 100 μmol/L 処置時間：72 時間 測定法：qPCR 法	CDCA は、SHP 及び FGF-19 mRNA 発現を用量依存的に亢進させ、CYP7A1 mRNA 発現を抑制した。100 μmol/L の CDCA は、SHP 及び FGF-19 mRNA の発現をそれぞれ 4.5 倍、1,430 倍亢進させ、CYP7A1 mRNA 発現を 99%抑制した。	該当なし	4.2.1.1-4

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（続き）

試験の種類	試験系	被験物質/処置濃度/処置時間/測定法	試験結果	実施施設	資料番号
LRH-1 による HMG-CoA 還元酵素発現誘導に対する SHP の作用	HMG-CoA 還元酵素レポーター発現 293T 細胞（ヒト胎児腎臓由来）	被験物質：無し 共発現遺伝子：LRH-1、SHP 発現プラスミド量： LRH-1：0.1 µg SHP：1, 3 µg 処置時間：17 時間 測定法：ルシフェラーゼレポーターアッセイ	SHP 共発現は、LRH-1 強制発現による HMG-CoA 還元酵素の発現誘導を用量依存的に阻害した。	該当なし	4.2.1.1-5
BSEP mRNA 発現に対する CDCA の作用	初代培養肝細胞（ヒト）	被験物質：CDCA 処置濃度：0.1, 0.316, 1.0, 3.16, 10, 31.6, 100 µmol/L 処置時間：72 時間 測定法：qPCR 法	CDCA は、BSEP mRNA 発現を用量依存的に亢進させた。 100 µmol/L の CDCA は、BSEP mRNA 発現を 8.9 倍亢進させた。	該当なし	4.2.1.1-4

2.6.3.2　効力を裏付ける試験（続き）

試験の種類	試験系	被験物質/投与方法/投与量 /投与期間/測定法	試験結果	実施施設	資料番号
In vivo での検討 肝臓中の胆汁酸合成酵素 mRNA 遺伝子発現に対する CDCA の作用	C57BL/6 系マウス （雄性、8 週齢、体重 22 ± 2 g、n = 5）	被験物質：CDCA 投与方法：混餌投与 投与量：0.03, 0.1, 0.3% 投与期間：7 日間 測定法：QuantiGene Plex 法	7 日間の CDCA 混餌投与により、肝 CYP7A1 mRNA 発現は用量依存的かつ有意に低下し、約 90%低下した。CDCA（0.3%）の混餌投与により、肝 CYP8B1 mRNA 発現も有意に低下した。	該当なし	4.2.1.1-7
肝臓中 SHP mRNA 発現に対する CDCA の作用	C57BL/6 系マウス （雄性、8 週齢、 体重 22 ± 2 g、n = 5）	被験物質：CDCA 投与方法：混餌投与 投与量：0.03, 0.1, 0.3% 投与期間：7 日間 測定法：QuantiGene Plex 法	7 日間の CDCA 混餌投与後の肝臓において、FXR の標的遺伝子である SHP の mRNA 発現が有意に亢進していた。	該当なし	4.2.1.1-7
肝臓中 HMG-CoA 還元酵素活性及び CYP7A1 活性に対する CDCA の作用	Golden Syrian 系ハムスター （雄性、週齢不明、 体重 120 - 130 g、n = 12）	被験物質：CDCA 投与方法：1 日 1 回経口投与 投与量：43 mg/kg 投与期間：2 週間 測定法：放射性標識基質酵素反応測定法	CDCA を 2 週間経口投与すると、肝臓の HMG-CoA 還元酵素及び CYP7A1 の活性が、それぞれ 61%及び 49%低下した。	該当なし	4.2.1.1-8
肝臓中 HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現に対する CA 及び GW4064 の作用	C57BL/6 系*野生型マウス、SHP 欠損マウス （8～12 週齢*、性別及び体重不明、CA 投与 n = 5、GW4064 投与 n = 2）	被験物質：CA、GW4064 投与方法/投与量： CA：混餌投与/0.5% GW4064：混餌投与/30 mg/kg * 投与期間： CA：12 週間、GW4064：1 日間 測定法：RNase protection assay 法 Northern blot 法	CA や GW4064（FXR agonist）の投与によって、野生型マウス肝臓の HMG-CoA 還元酵素 mRNA 発現が低下したが、SHP 欠損マウスではその発現低下作用が減弱あるいは消失した。	該当なし	4.2.1.1-5 *4.2.1.1-9

2.6.3.3 副次的薬理試験

該当資料なし

2.6.3.4 安全性薬理試験

該当資料なし

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当資料なし