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）

2.6.6　毒性試験の概要文

藤本製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 4
2.6.6　毒性試験の概要文 5
2.6.6.1　まとめ 5
2.6.6.2　単回投与毒性試験 9
2.6.6.3　反復投与毒性試験 9
2.6.6.4　遺伝毒性試験 9
2.6.6.5　がん原性試験 9
2.6.6.5.1　長期がん原性試験 9
2.6.6.5.2　短期又は中期がん原性試験 10
2.6.6.5.2.1　マウス 10
2.6.6.5.2.2　ラット 10
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 11
2.6.6.7　局所刺激性試験 11
2.6.6.8　その他の毒性試験 12
2.6.6.8.1　幼若動物を用いた試験 12
2.6.6.8.2　代謝物の毒性試験 13
2.6.6.8.2.1　LCA の毒性試験 13
2.6.6.8.2.2　UDCA の毒性試験 16
2.6.6.9　考察及び結論 18
2.6.6.9.1　長期がん原性試験について 18
2.6.6.9.2　中期及び短期がん原性試験について 19
2.6.6.9.3　幼若動物毒性試験について 20
2.6.6.10　図表 21
2.6.6.11　引用文献 22

表目次

表 2.6.6-1　チノカプセル 125 の毒性試験一覧.....7
表 2.6.6-2　LCA の毒性試験概要.....14
表 2.6.6-3　UDCA の毒性試験概要.....17

略語・略号一覧

略語・略号	説明
AAF	2-Acetylaminofluorene（2-アセチルアミノフルオレン）
AC	Aberrant crypt（異常陰窩）
ACF	Aberrant crypt foci（異常陰窩巣）
ALP	Alkaline phosphatase（アルカリホスファターゼ）
AOM	Azoxymethane（アゾキシメタン）
CA	Cholic acid（コール酸）
CA-Na	Sodium cholate（コール酸ナトリウム）
CDCA	Chenodeoxycholic acid（ケノデオキシコール酸）
CDCA-Na	Sodium chenodeoxycholate（ケノデオキシコール酸ナトリウム）
CTX	Cerebrotendinous xanthomatosis（脳腱黄色腫症）
DCA	Deoxycholic acid（デオキシコール酸）
DCA-Na	Sodium deoxycholate（デオキシコール酸ナトリウム）
DEN	Diethylnitrosamine（ジエチルニトロソアミン）
F344	Fischer344
GGT	γ-Glutamyl transpeptidase（γ-グルタミルトランスペプチダーゼ）
LCA	Lithocholic acid（リトコール酸）
LD_{50}	50% Lethal Dose（半数致死量）
Min	Multiple intestinal neoplasia
MLD	Minimum Lethal Dose（最小致死量）
MNNG	*N*-Methyl-*N*′-nitro-*N*-nitrosoguanidine（*N*-メチル-*N*′-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン）
MNU	*N*-Nitroso-*N*-methylurea（*N*-ニトロソ-*N*-メチル尿素）
NaCl	Sodium chloride（塩化ナトリウム）
NDEA	*N*-Nitrosodiethylamine（*N*-ニトロソジエチルアミン）
NOAEL	No observed adverse effect level（無毒性量）
NZW	New Zealand White
PAPG	Pepsinogen-altered pyloric glands（ペプシノーゲン変異幽門腺）
SD	Sprague-Dawley
S.typhimurium	*Salmonella typhimurium*（ネズミチフス菌）
SULT2A1	Sulfotransferase 2A1（硫酸転移酵素 2A1）
UDCA	Ursodeoxycholic acid（ウルソデオキシコール酸）
WoE	Weight of Evidence（証拠の重み付け）

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

本承認申請は CDCA の小児を含む CTX 患者への適応として、新効能医薬品、新剤形医薬品及び剤形追加に係る医薬品としての申請である。CDCA は「経口胆石溶解剤」の治療薬として 1983 年 5 月 27 日付でチノカプセル「フジモト」（現販売名：チノカプセル 125、承認年月日：2006 年 3 月 3 日付）の販売名で製造販売承認を取得している。このチノカプセル 125 の申請時に提出した毒性試験資料一覧を［表 2.6.6-1］に示した。申請時添付資料の毒性試験について、現行の平成 22 年 2 月 19 日付薬食審査発 0219 第 4 号「ICH-M3(R2)：医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に従うと、［表 2.6.6-1］に示した毒性試験資料にはがん原性試験及び小児への適応から幼若動物毒性試験が含まれておらず、これらの試験の実施が必要となる。したがって、これらの試験の実施に関して、令和 5 年 3 月 10 日付薬生薬審発 0310 第 1 号「ICH-S1B(R1)：医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」及び令和 3 年 3 月 30 日付薬生薬審発 0330 第 1 号「ICH-S11：小児用医薬品開発の非臨床安全性試験ガイドライン」から実施の必要性を検討した。また、CDCA のヒトでの主な代謝物である LCA 及び UDCA の毒性評価も実施した。

がん原性評価において、CDCA はチノカプセル 125 の申請時添付資料の 6 ヵ月間の反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の結果から、発がん性を有する可能性は低いと考えられた。LCA は長期がん原性試験が実施されており、がん原性は陰性であった。UDCA は 6 ヵ月間の反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の結果から、発がん性を有する可能性が低いと考えられた。したがって、CDCA 及びその主要代謝物は発がん性を有する可能性は低いことが考えられ、長期がん原性試験の実施は不要と考えた。

CDCA は発がんモデルマウス及び発がん性物質による発がん誘発モデルラットを用いた発がんプロモーター作用に関する試験が実施されており、発がんプロモーター作用を有する可能性が示されたが、その作用発現は CDCA よりもその代謝物に起因する可能性が高いことが示唆された。代謝物 LCA 及び UDCA の発がんプロモーター作用に関する試験の結果、UDCA にはプロモーター作用はみられなかったが、LCA ではプロモーター作用が認められた。以上のことから、CDCA は発がんプロモーター作用を有する可能性はあるが、代謝物である LCA に起因すると考えられた。なお、本薬は内因性 CDCA が著減した CTX 患者への補充療法として使用されるため、CDCA のプールサイズ、及び、代謝物である LCA 濃度は健康人に比べて大きく超えることはなく、発がんプロモーターとして作用するリスクは低いと考えられる。

幼若動物毒性試験実施の検討については、チノカプセル 125 の申請時添付資料の成獣動物から評価した。CDCA はラット、ハムスター、アカゲザル、リスザル、及び、ヒヒで反復投与試験が実施されており、毒性所見は主に腸管と肝臓で認められた。腸管への影響は、高濃度の胆汁酸による大腸管腔内の水分量の増加が原因と考えられた。また、胆汁中の LCA 増加

と肝毒性に関連性を示したことから、CDCA 投与による肝毒性は LCA の産生が原因と考えられた。LCA はマウス及びラットの反復投与では肝臓への影響はみられず、LCA が代謝されて排泄されることで、LCA 投与による肝毒性に耐性を示したと考えられた。一方、アカゲザル及びヒヒへの LCA 混餌投与では肝毒性がみられた。霊長類では LCA は硫酸抱合を受けるが、抱合能には種差が認められる。また、アカゲザルの UDCA 反復投与試験では CDCA と同様に胆汁中 LCA 比率の増加と肝毒性の関連がみられたが、CDCA 投与時よりも肝臓への影響は弱かった。また、ラットの UDCA 反復投与でも肝毒性がみられたが、1000 mg/kg/day 以上と高用量であった。これらのことから、CDCA 及び UDCA の代謝物である LCA の生成が CDCA 投与による肝毒性の発現に起因しており、また肝毒性の発現には種差が存在することが考えられた。ヒトでは他の霊長類と比較して LCA の硫酸抱合能が高く、新生児も LCA に対する硫酸抱合を介した解毒機構を有することが示唆されている。さらに、本薬は CTX 患者への補充療法として使用されることから、LCA 濃度は健康人に比べて大きく超えることはないため、小児においても安全性は担保されると考えられる。したがって、幼若動物毒性試験は不要と判断した。

表 2.6.6-1 チノカプセル 125 の毒性試験一覧

単回投与毒性試験

動物種／系統	投与開始齢	投与方法	投与回数	LD_{50}（mg/kg）
ラット／Wistar	5～7 週齢	経口	単回	雄: > 6,000、雌: > 6,000
		腹腔内	単回	雄: 102、雌: 114
ラット／SD	7～10 週齢†	経口	単回	雄: 6,275、雌: 5,222
ハムスター／Syrian	5～7 週齢†	経口	単回	雄: 1,197、雌: 250
イヌ／ビーグル	≥ 5 ヵ月齢†	経口	単回	雄: > 14,700、雌: > 14,700
サル／アカゲザル	20～38 ヵ月齢†	経口	単回	雄: > 12,918、雌: > 12,918
サル／カニクイザル	12～23 ヵ月齢†	経口	単回（漸増）	LD_{50} :不明 MLD : 1,300～1,600

反復投与毒性試験

動物種／系統	投与開始齢	投与方法	投与期間	NOAEL（mg/kg）
ラット／Wistar	6 週齢	経口	1 ヵ月間	雌雄: 100
ラット／Wistar	8 週齢	経口	3 ヵ月間	雄: 52.1、雌: 21.7
ラット／Wistar	6 週齢	経口	6 ヵ月間+回復	雌雄: 21.7（休薬で回復傾向）
ハムスター／Syrian	3～5 週齢†	混餌	3 ヵ月間	雌雄: < 50
ハムスター／Syrian	3～7 週齢†	混餌	53～64 週間	雌雄: 10
イヌ／ビーグル	≥ 5 ヵ月齢†	経口	28 日間	雌雄: < 100
サル／カニクイザル	29～67 ヵ月齢†	経口	90 日間	雌雄: < 20
サル／アカゲザル	10～28 ヵ月齢†	経口	18 ヵ月間、 9 ヵ月間+回復	雌雄: 10（休薬で回復傾向）
サル／リスザル	≥ 6 ヵ月齢†	経口	18 ヵ月間、 12 ヵ月間+回復	雌雄: < 10 （休薬で回復傾向）
サル／ヒヒ	1.5～3 年齢†	経口	28 日間	雌雄: 160（MLD）
サル／ヒヒ	1.5～3 年齢†	経口	18 ヵ月間、 12 ヵ月間+回復+ 再投与	雌雄: < 10

In vitro 遺伝毒性試験

試験の種類	菌種又は細胞種	処置濃度	結果	
			S9 添加	S9 未添加
復帰突然変異試験	*S.typhimurium* 及び大腸菌	1～5,000 μg/plate	陰性	陰性

In vivo 遺伝毒性試験

試験の種類	対象（投与方法）	投与期間及び投与量	結果
小核試験	雄性マウス／CD1（経口）	単回: 375、750、1,500、3,000 mg/kg 4 日間: 375 mg/kg/day	陰性
優性致死試験	雄性ラット／SD（経口）	単回: 100、500、1,000 mg/kg	陰性

がん原性試験

該当資料なし

†: 成長曲線を用いて体重値からの推定齢。

表 2.6.6-1　チノカプセル 125 の毒性試験一覧（続き）

<table>
<tr><td colspan="4">生殖発生毒性試験</td></tr>
<tr><td colspan="4">受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験</td></tr>
<tr><td>動物種／系統／週齢</td><td>投与方法</td><td>投与期間</td><td>結果</td></tr>
<tr><td>ラット／SD／
雄: 7～8 週齢†、
雌: 10～12 週齢†</td><td>経口</td><td><u>投与雄×未投与雌</u>
雄:交配前 80 日間、及び、交配期間の 3 週間
<u>未投与雄×投与雌</u>
雌:交配前 14 日間、及び、交配期間から帝王切開時又は離乳時まで。</td><td><u>投与雄×未投与雌</u>
240 mg/kg/day で受胎能に影響はみられなかった。
<u>未投与雄×投与雌</u>
240 mg/kg/day で受胎能に影響はみられなかった。</td></tr>
<tr><td colspan="4">胚・胎児発生に関する試験</td></tr>
<tr><td>動物種／系統</td><td>投与方法</td><td>投与期間</td><td>結果</td></tr>
<tr><td>ラット／SD</td><td>経口</td><td>妊娠 7 日～17 日目</td><td>360 mg/kg/day で胎児の椎弓の欠損・不全の出現率がわずかに増加した。</td></tr>
<tr><td>ラット／SD</td><td>経口</td><td>妊娠 7 日～17 日目</td><td>360 mg/kg/day で出生児（F1）の肝臓相対重量の増加がみられた。</td></tr>
<tr><td>ラット／SD</td><td>経口</td><td>妊娠 6 日～16 日目</td><td>360 mg/kg/day で胎児に影響はみられなかった。</td></tr>
<tr><td>ハムスター／Syrian</td><td>経口</td><td>妊娠 5 日～14 日目</td><td>200 mg/kg/day で胎児への影響はみられなかった。</td></tr>
<tr><td colspan="4">出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験</td></tr>
<tr><td>動物種／系統</td><td>投与方法</td><td>投与期間</td><td>結果</td></tr>
<tr><td>ラット／SD</td><td>経口</td><td>妊娠 15 日目～離乳時</td><td>360 mg/kg/day で出生児に影響はみられなかった。</td></tr>
<tr><td>ラット／SD</td><td>経口</td><td>妊娠 17 日目～分娩後 21 日目</td><td>360 mg/kg/day で出生児に体重増加抑制がみられた。
120 mg/kg/day で出生児に影響はみられなかった。</td></tr>
<tr><td colspan="4">その他の毒性試験</td></tr>
<tr><td colspan="4">抗原性試験</td></tr>
<tr><td>動物種／系統</td><td colspan="2">投与方法、及び、投与期間</td><td>結果</td></tr>
<tr><td>ウサギ／不明</td><td colspan="2">感作:皮下又は経口、5 回（1 回/週）。</td><td>抗 CDCA 抗体は確認されなかった。</td></tr>
<tr><td>モルモット／Hartley</td><td colspan="2">感作:皮下、3 日間間隔で 3 回
惹起:静脈内、1 回</td><td>ショック症状や死亡はみられなかった。</td></tr>
</table>

†: 成長曲線を用いて体重値からの推定齢。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない。

2.6.6.5　がん原性試験

2.6.6.5.1　長期がん原性試験

チノカプセル 125 の申請時添付資料では、がん原性試験は実施していないため、本申請に際して、ICH-S1B(R1)を参考に WoE 評価に基づいて、がん原性試験の実施の必要性について検討した。WoE 評価で考慮すべき要素である、遺伝毒性及び反復投与毒性データ（特にラット長期試験の病理組織学的データ）、ホルモン変動並びに免疫調節について、チノカプセル 125 の申請時添付資料［表 2.6.6-1］を基に検討した。

CDCA の遺伝毒性試験として、復帰突然変異試験、マウスを用いた小核試験、ラットを用いた優性致死試験が実施されており、遺伝毒性を示唆する結果は得られていなかった。反復投与毒性試験では、ラットの 6 ヵ月間経口投与試験において、52.1 mg/kg/day 以上で胆管増生や肝細胞壊死などの肝臓への影響が確認されたが、21.7 mg/kg/day では胆管増生などの増殖性病変は認められなかった。このラット 6 ヵ月投与試験において、内分泌器及び生殖器の重量、肉眼所見及び病理組織学的検査では、投与に関連した所見は認められていないため、CDCA がホルモン変動に影響する可能性は低いと考えられた。また、免疫系組織の肉眼所見及び病理組織学的検査においても投与に関連した変化は認められておらず、CDCA が免疫系に影響する可能性は低いと考えられた。6 ヵ月以上の長期反復投与試験として、ハムスターを用いた 53～64 週間混餌投与試験が行われており、対照群を含む全投与群（10～120 mg/kg/day）で死亡例が発生し、胆管増生が認められ、胆管増生の発生頻度は CDCA 投与群でやや高くなっているが、腫瘍性病変は対照群を含む全投与群で観察されなかった。これらの結果から、CDCA による発がん性リスクは低いと考えられ、ラットを用いた長期発がん性試験は実施しなかった。

なお、EU で CTX の治療薬として承認されている CDCA 製剤（chenodeoxycholic acid Leadiant 250 mg hard capsules）の審査報告書では、ラット 2 年間がん原性試験が実施され、60 mg/kg/day の用量で発がん性が示されなかったと報告されている [1)]。

2.6.6.5.2　短期又は中期がん原性試験

2.6.6.5.2.1　マウス

2.6.6.5.2.1.1　10 週間マウス混餌投与試験 [2)]

雌性 C57BL/6J-Min/+マウス（大腸がんモデルマウス）に CDCA を 0.5%含有する飼料、又は、基礎飼料 10 週間混餌投与し、110 日齢時に評価した。その結果、基礎飼料を給餌した群と比較して、CDCA 投与群の腫瘍発生数は小腸及び結腸では有意差はみられなかったが、十二指腸では有意な増加がみられた。

2.6.6.5.2.2　ラット

2.6.6.5.2.2.1　6 週間ラット混餌投与試験 [3)]

雄性 SD ラットにイニシエーターとして 200 mg/kg の NDEA 及び 15 mg/kg の AOM を腹腔内投与し、0.1% CDCA を 6 週間混餌投与した。試験開始 1 日目に NDEA を投与し、7 日目及び 11 日目に AOM を投与した。15 日目から 0.1% CDCA の混餌投与を開始し、21 日目に肝部分（2/3）切除を行い、CDCA 混餌投与終了後、肝臓での GGT 陽性の病巣を観察した。
CDCA 非投与群と比較して、CDCA 投与群では肝重量の増加がみられ、肝臓での GGT 陽性の病巣の増加はみられなかったが、結腸での ACF 数及び病巣当たりの陰窩数の増加がみられた。また、雄性 SD ラットに試験開始 7 日目及び 11 日目 AOM を腹腔内投与後、15 日目から 0.1% CDCA を 6 週間混餌投与した結果、結腸で ACF 数及び病巣当たりの陰窩数の増加がみられた。

2.6.6.5.2.2.2　18 週間ラット混餌投与試験 [4)]

雄性 WKY/N ラットにイニシエーターとして MNNG を 160 mg/kg を経口投与し、2 週間後に 0.5%の CA、CA-Na、DCA、DCA-Na、CDCA 又は CDCA-Na、あるいは 5%のアスコルビン酸又はアスコルビン酸ナトリウムのいずれかを含有する飼料を 18 週間給餌した。対照群には基礎飼料を 18 週間給餌した。投与終了後、胃内の PAPG 数を対照群と比較した結果、CA-Na 投与群では対照群及び CA 投与群と比較して有意な増加を示し、CDCA-Na 投与群で CDCA 投与群と比較して有意な増加を示した。一方で、CDCA を含むその他の被験物質の混餌投与では胃内 PAPG 数の増加はみられなかった。また、全被験物質投与群にて前胃内の腫瘍性病変数の有意な増加もみられなかった。

2.6.6.5.2.2.3　30 日間ラット注腸投与試験 [5)]

回盲部から肛門側に約 2 cm の部位で切断し、口側断端を人工肛門、肛門側断端を縫合閉鎖した便流遮断空置大腸ラットにイニシエーターとして 2.5 mg/mL の MNNG を 1 mL 投与し、その後、落花生油を溶媒として 10 mg/mL の CDCA、UDCA、CA、DCA 及び LCA を 1 mL で

30 日間（計 300 mg）を注腸投与した。なお、対照群では人工肛門処置及び MNNG 投与は行っているが、溶媒は投与していない。

DCA 及び LCA 投与群では大腸の腫瘍発生率が有意に増加したが、CDCA、UDCA 及び CA 投与群では大腸の腫瘍発生率は増加しなかった。

2.6.6.5.2.2.4　46 週間ラット注腸投与試験 [6)]

雌性 F344 無菌ラット及び通常ラットにイニシエーターとして MNNG（2 mg/回）を週 2 回、2 週間投与後、CA-Na 又は CDCA-Na（20 mg/回/匹）を週に 3 回、46 週間注腸投与した。無菌ラット及び通常ラットともに、対照群に比べて CA-Na 投与及び CDCA-Na 投与では、通常ラット大腸の腫瘍発生匹数が増加したが、無菌ラットでは有意差はみられなかった。

2.6.6.5.2.2.5　ラット 6 週間混餌投与試験 [7)]

F344 雄性ラットにイニシエーターとして DEN を 200 mg/kg で腹腔内投与し、投与後 3 週目に肝臓の 2/3 を切除した。DEN 投与 2 週間後、0.3% CA、0.06%、0.12%、0.3% DCA、0.05% CDCA、0.3% LCA、又は、0.3% UDCA を 6 週間混餌投与した。対照群は、DEN 投与と肝部分切除のみを実施し、薬物を含まない飼料を給餌した。DEN 投与 8 週間後肝臓における単位面積当たりの GGT 陽性病巣数及び面積は CA 及び DCA 投与群で有意な増加がみられたが、CDCA、LCA 及び UDCA 投与群では有意な差は認められなかった。

2.6.6.5.2.2.6　ラット 8 週間又は 18 週間混餌投与試験 [8)]

ラットに基礎飼料、又は、いずれかの胆汁酸（CA、DCA、CDCA、LCA、又は、UDCA）0.4%含有する飼料を 18 週間給餌した。給餌開始 6 週目と 12 週目に各 1 例、及び、最終給餌の 18 週間目に残り全例を剖検し、結腸の ACF を評価した。その結果、全期間を通して、全群で有意な ACF の増加はみられなかった。次に、AOM 15 mg/kg を上記の胆汁酸給餌開始日及び開始 7 日後に計 2 回皮下投与し、8 週間の混餌投与後、結腸の ACF を評価した。結果、基礎飼料投与群と比較して CA、DCA、CDCA 及び LCA 投与群で ACF の有意な増加がみられた一方で、UDCA では有意な減少がみられた。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない。

2.6.6.7　局所刺激性試験

本申請に際して新たな試験は実施していない。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　幼若動物を用いた試験

幼若動物に対する毒性評価のための試験は実施しなかった。

CDCA の小児への適応に際して、ICH-S11 に基づいて幼若動物毒性試験の必要性を検討した。CTX において本薬は新生児からの生涯投与を予定していることから、チノカプセル 125 申請時添付資料の長期反復投与毒性試験から毒性評価した。同資料ではラットで 6 ヵ月間、ハムスターで 53～64 週間、アカゲザルで 18 ヵ月間、リスザルで 18 ヵ月間、さらにヒヒで 18 ヵ月間の反復投与毒性試験が実施されており、毒性所見は主に腸管（下痢、軟便）と肝臓（胆管増生、肝細胞壊死等）で認められた［表 2.6.6-1］。腸管への影響は、高濃度の胆汁酸により、大腸管腔内の水分量の増加が原因と考えられた[9),10)]。肝臓への影響は、CDCA 投与にて肝障害が認められた各動物種（ウサギ[11)]、ヒヒ[12)] 及びアカゲザル[13),14)]）にて胆汁中 LCA 増加がみられたとの報告、及び、CDCA 投与時に抗生物質の併用投与による腸内細菌の LCA への変換を抑制したとき、胆汁中 LCA は増加せず、肝障害も抑制されたとの報告[15)] から、CDCA 投与による肝毒性発現はその代謝物である LCA に起因すると考えられた。ラットの周産期・授乳期（妊娠 17 日目～分娩後 21 日目まで）に CDCA を経口投与した結果、360 mg/kg/day で出生児に体重増加抑制がみられたが、機能発達、分化、学習能及び生殖能力の影響はみられなかった［表 2.6.6-1］。なお、CDCA はラット経口投与時に乳汁への移行がみられている[16)]。

ヒトでは LCA は硫酸抱合を受けて排泄されるが、他の霊長類と比較して LCA が硫酸化されやすいことが報告されている[17)-22)]。また、新生児にも LCA に対して硫酸抱合による解毒機構を有することを示唆する報告がある[23)-25)]。さらに、本薬は補充療法として使用されることから、LCA に代謝されたとしても、その濃度は健康人に比べて大きく超えることはないため、小児においても安全性は担保されると考えられる。したがって、幼若動物毒性試験は不要と判断した。

2.6.6.8.2　代謝物の毒性試験

2.6.6.8.2.1　LCA の毒性試験

LCA の毒性試験に関する情報を下記及び［表 2.6.6-2］に LCA の毒性試験概要としてまとめた。なお、National Toxicology Program にて、混餌では LCA の安定性の欠如がみられた[26]ことから、本項では LCA の混餌投与試験については LCA の安定性に言及されている公表文献のみ採用した。

反復経口投与毒性試験がマウス及びラットで実施され、マウスでは 7 週間（3 回/週）投与で雌雄ともに 464 mg/kg/day 以上で死亡がみられ、ラットでは同期間の投与で雄の 464 mg/kg/day 以上で体重減少が、雌の 464 mg/kg/day 以上で体重増加がみられた[26]。また、ウサギでは 3 ヵ月間の反復投与が実施され、20 mg/kg/day で肝細胞の水腫性変性及び肝硬変がみられた[27]。このように毒性発現には種差がみられた。

遺伝毒性試験は、*S.typhimurium*（TA1530、G46、TA1535、TA1536、TA1537、TA1538、TA98、TA100）を用いた復帰突然変異試験が実施され、陰性の結果が得られた[28),29)]。一方で、DNA 損傷試験として実施したヒト結腸腺癌細胞である HT 29 細胞を用いた *in vitro* コメットアッセイでは陽性の結果が得られ[30]、マウスリンフォーマ細胞である L5178Y 細胞を用いたマウスリンフォーマ TK 試験では陰性及び陽性の両方の結果が得られた[31)-33)]。

がん原性においては長期がん原性試験として 103 週間反復経口投与（3 回/週）がマウス及びラットにて実施され、雌雄のマウス及びラットともに LCA に関連した腫瘍発生及び非腫瘍性病変はみられなかった[26]。一方で、発がんプロモーター作用に関する試験では、LCA-Na を 46 週間注腸投与した無菌ラット及び通常ラットにおいて結腸への腫瘍の発生は認められなかったが、イニシエーターとして MNNG を注腸投与後に LCA-Na を注腸投与した無菌ラット及び通常ラットでは MNNG の単独投与に比べて結腸での腫瘍発生率が有意に増加した[34]。また、MNNG 単回注腸投与後に LCA を 11 ヵ月注腸投与した試験でも、大腸での腫瘍発生率が MNNG 単独投与群よりも有意に増加がみられた[35]。このことから、CDCA とは異なり、無菌ラットにおいても通常ラット同様に腫瘍発生率増加がみられたことから、LCA 自体が発がんプロモーター作用を有する可能性が考えられた。

生殖発生毒性試験では、ラットへの妊娠 0～20 又は 21 日目までの混餌投与で摂水量の増加及び肝臓での肝小葉構造の消失、肝細胞の核濃縮並びに出血がみられた[36]。仔動物では体重及び肝臓重量の低値、肝臓中 ALP の増加、また、肝臓の病理所見で肝小葉構造の消失、肝細胞の核濃縮並びに出血がみられた。またラットへの妊娠 0～19 日目までの飲水投与では摂水量の増加がみられ、胎児では体重、胎盤、肝臓重量及び肝臓中 ALP の減少がみられた。肝臓の病理所見では肝小葉の放射状構造の消失、赤芽球の浸潤がみられ、6 週齢の仔動物では肝臓中 ALP の増加がみられた[36]。

表 2.6.6-2　LCA の毒性試験概要

単回投与毒性試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
マウス／CF1	経口	単回	1,000 mg/kg[a)]	肝臓の多発的な凝固壊死巣、壊死部位からの出血、肝実質細胞増殖亢進	［4.2.3.7.5-1］
反復投与毒性試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
マウス／B6C3F1	経口	7 週間	464～2,150 mg/kg/day（3 回/週）[b)]	≥ 464 mg/kg/day :死亡	［4.2.3.7.5-2］
ラット／F344	経口	7 週間	464～2,150 mg/kg/day（3 回/週）[b)]	≥ 464 mg/kg/day 雄:体重減少、雌:体重増加	
ウサギ／不明	経口	3 ヵ月間	20 mg/kg/day	肝細胞水腫性変性、肝硬変	［4.2.3.7.5-3］
遺伝毒性試験					
試験の種類	菌種又は細胞種		処置濃度	結果	資料番号
復帰突然変異試験	*S.typhimurium*		TA1538 : 100～500 µg/plate	S9- :陰性 S9+ :陰性	［4.2.3.7.5-4］
			500 µg/plate[c)]	S9- :陰性	
			TA100 : 10～20 µg/mL TA98 : 10～40 µg/mL	S9- :陰性	［4.2.3.7.5-5］
			TA100 : 20～500 µg/2 mL top agar	S9- :陰性 S9+ :陰性	
In vitro コメットアッセイ	HT 29 細胞		25～300 µM	S9- :陽性	［4.2.3.7.5-6］
マウスリンフォーマ TK 試験	L5178Y 細胞		5～100 µg/mL	S9- :陽性（≥ 40 µg/mL） S9+ :未実施	［4.2.3.7.5-7］
			42～115 µg/mL	S9- :陽性（≥ 61.1 µg/mL） S9+ :陰性	［4.2.3.7.5-8］
			1.88～125 µg/mL	S9- :陰性 S9+ :陰性	［4.2.3.7.5-9］
長期がん原性試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
マウス／B6C3F1	経口	103 週間	125、250 mg/kg/day（3 回/週）	雌雄:陰性	［4.2.3.7.5-2］
ラット／F344			250、500 mg/kg/day（3 回/週）	雌雄:陰性	
短期又は中期がん原性試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
ラット／F344／MNNG 2.5 mg /回/匹/注腸	注腸	46 週間	雌: 20 mg /回（3 回/週）	無菌ラット及び通常ラットともに、結腸での腫瘍発生率が有意に増加した。	［4.2.3.7.5-10］
ラット／SD／MNNG 4 mg 単回/注腸	注腸	11 ヵ月	雌雄 1 mg/回（総投与量 240 mg）	大腸での腫瘍発生率が有意に増加した。	［4.2.3.7.5-11］

a) LCA-Na を使用。

b) 1 週間混餌投与を実施後、餌中の LCA が不安定であったため、7 週間の経口投与に切り替えた。混餌投与時の餌中 LCA 濃度は 464、681、1,000、1,470、2,150 mg/kg 投与群でそれぞれ、6,800、10,000、14,700、21,600、31,500 ppm。

c) TA1530、G46、TA1535、TA1536、TA1537、TA1538、TA98、TA100 株使用。

表 2.6.6-2　LCA の毒性試験概要（続き）

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関する試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
ラット／SD	混餌	妊娠 0～20 又は 21 日目	0.8% in diets	母動物:肝障害 仔動物:体重減少、肝障害、肝 ALP 増加	［4.2.3.7.5-12］
ラット／SD	飲水	妊娠 0～19 日目	0.8% in water	胎児:体重、胎盤及び肝臓重量減少、肝障害、肝 ALP 減少 仔動物: 肝 ALP 増加	

2.6.6.8.2.2　UDCA の毒性試験

UDCA は CDCA のヒトにおける主な代謝物の一つである。UDCA の毒性試験に関する情報について公表文献をもとに［表 2.6.6-3］に UDCA の毒性試験概要としてまとめた。

UDCA では長期がん原性試験は実施されておらず、反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験成績を基にがん原性を評価した。

反復投与毒性試験では、ラットへの 500～4000 mg/kg/day UDCA の 5 週間[37]、3 ヵ月間[38]及び 6 ヵ月間[39]の経口投与を実施した。5 週間及び 3 ヵ月の投与では全群に死亡例は認められず、3 ヵ月間の投与では 2000 mg/kg/day で肝臓の小壊死巣及び 4000 mg/kg/day で体重増加抑制がみられたのみであった。6 ヵ月間の投与では対照群を含む各投与群で死亡がみられ、4000 mg/kg/day では死亡数増加傾向が認められた。死亡原因は、肺、腸の病変と全身的衰弱が考えられた。1000 mg/kg/day 以上で胆管炎、胆管増生及び肝臓の小壊死巣が認められ、4000 mg/kg/day で体重増加抑制がみられた。アカゲザルでは 40 及び 100 mg/kg/day UDCA の 6 ヵ月間経口投与が実施され、肝組織所見並びに肝機能検査においても異常は認められなかった[40]。また、胆汁中 LCA の増加はみられなかった。これらのことから、UDCA 投与による増殖性病変が認められた用量は 1000 mg/kg/day であり、CDCA と比較して非常に高用量であった。また、ホルモン及び免疫系への影響を示唆する所見はみられなかった。

遺伝毒性試験では、*S.typhimurium* TA98、TA100 を用いて復帰突然変異試験を実施しており、試験方法の違いにより異なる結果が得られ、懸濁法では代謝活性化の非存在下にて TA100 で陰性、TA98 では 40 μg/mL で陽性、プレート法では、代謝活性化の有無に関わらず、TA100 で陰性であった[29]。ヒト末梢血リンパ球を用いた UDCA-Na の小核試験では、100 μg/mL において小核頻度の有意な増加が認められたが、30 μg/mL 以下では陰性であった[41]。このように、遺伝毒性は認められたものの、閾値が存在することが明らかとなった。

短期又は中期がん原性試験として、発がんプロモーター作用に関する試験を実施しており、結腸では、イニシエーターとして AOM（15 mg/kg/回）を皮下投与したラットに 0.4% UDCA を 28 週間混餌投与した結果、結腸腫瘍の発生率が有意に減少した[42]。また、別のイニシエーター（MNU 2 mg/回）を注腸投与したラットに 0.4% UDCA を 27 週間混餌投与した試験でも結腸腫瘍の発生率が有意に減少した[43]。以上のことから UDCA は発がんプロモーター作用を有さないと考えられた。

UDCA のラットへの経口投与で、乳汁移行が報告されており[44]、生殖発生毒性試験としてラットで実施した周産期・授乳期投与試験にて幼若動物への影響の評価の一部として用いた。250、1000、2000 mg/kg/day UDCA を妊娠 17～分娩後 21 日目に経口投与した結果、2000 mg/kg/day 投与群で母体の軽微な体重増加抑制がみられたが、母体の妊娠所見、新生児の所見、新生児の生殖能力、次世代などに対する影響は認められなかった[45]。

表 2.6.6-3　UDCA の毒性試験概要

単回投与毒性試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
マウス／ dd	経口	単回	5,000、10,000 mg/kg	LD_{50}（mg/kg）:雌雄> 10,000	［4.2.3.7.5-13］
ラット／ Wistar	経口	単回	2,000、5,000 mg/kg	LD_{50}（mg/kg）:雌雄> 5,000	
反復投与毒性試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
ラット／ Wistar	経口	5 週間 a)	500、1,000、2,000、4,000 mg/kg/day	500～4,000 mg/kg/day : 特に異常なし	［4.2.3.7.5-14］
ラット／ Wistar	経口	3 ヵ月 a)	雄: 500、1,000、2,000、4,000 mg/kg/day	2,000 mg/kg/day :肝臓の小壊死巣 4,000 mg/kg/day :体重増加抑制	［4.2.3.7.5-15］
ラット／ Wistar	経口	6 ヵ月 a)	雄: 500、1,000、2,000、4,000 mg/kg/day	≥ 1,000 mg/kg/day : 肝臓の胆管系に対する毒性 4,000 mg/kg/day :死亡増加傾向、体重増加抑制	［4.2.3.7.5-16］
サル／ アカゲザル	経口	6 ヵ月	40、100 mg/kg/day	特に異常はなく、胆汁中 LCA の増加はほとんどなかった。	［4.2.3.7.5-17］
遺伝毒性試験					
試験の種類	菌種又は細胞種	処置濃度		結果	資料番号
復帰突然変異試験	*S.typhimurium*	TA98、TA100 : 20、40、50 μg/mL（懸濁法）		TA98 :陽性、TA100 :陰性	［4.2.3.7.5-5］
		TA100 : 20、30、40、50、100、500 μg/2 mL top agar		S9+ :陰性 S9- :陰性	
小核試験	ヒト末梢血リンパ球	10、30、100 μg/mL b)		10、30 μg/mL :陰性 100 μg/mL :陽性	［4.2.3.7.5-18］
短期又は中期がん原性試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
ラット／F344／ AOM 15 mg/kg /回（皮下）	混餌	28 週間	雄: 0.4% in diets	結腸腫瘍の発生率が有意に減少	［4.2.3.7.5-19］
ラット／F344／ MNU 2 mg /回（注腸）	混餌	27 週間	雌: 0.4% in diets	結腸腫瘍の発生率が有意に減少	［4.2.3.7.5-20］

a) 週 6 日投与。

b) UDCA-Na 使用。

表 2.6.6-3　UDCA の毒性試験概要（続き）

生殖発生毒性試験					
妊娠前・妊娠初期投与試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
ラット／Wistar	経口	投与雄×投与雌 雄:交配開始前 63 日間 雌:交配開始前 14 日間～妊娠 7 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	2,000 mg/kg/day : 交配率と妊娠率が低下傾向、生存児数の有意な減少	［4.2.3.7.5-21］
器官形成期投与試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
マウス／dd	経口	妊娠 7～12 日目	300、1,500 mg/kg/day	1,500 mg/kg/day :母体の平均体重減少、胎児の平均体重減少	［4.2.3.7.5-22］
ラット／Wistar	経口	妊娠 7～17 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	2,000 mg/kg/day :吸収胚を主とする死亡胎児の有意な増加、胎児・新生児の体重減少	［4.2.3.7.5-23］
ラット／Wistar	経口	妊娠 9～14 日目	300、4,000 mg/kg/day	4,000 mg/kg/day :母体の体重増加抑制、胎児の平均体重減少	［4.2.3.7.5-22］
ウサギ／NZW	経口	妊娠 6～18 日目	5、10、20 mg/kg/day	5～20 mg/kg/day :母体・胎児への影響なし	［4.2.3.7.5-24］
周産期・授乳期投与試験					
動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量	結果	資料番号
ラット／Wistar	経口	妊娠 17～分娩後 21 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	2,000 mg/kg/day :母体の体重増加の抑制	［4.2.3.7.5-25］

2.6.6.9　考察及び結論

2.6.6.9.1　長期がん原性試験について

CDCA の長期がん原性試験は、チノカプセル 125 の申請時添付資料では実施していないため、長期がん原性試験実施の必要性も含めて、CDCA の発がん性リスクを評価した。

CDCA の長期がん原性試験実施の必要性について、ICH-S1B(R1)に基づいて検討した。チノカプセル 125 の申請時添付資料において、CDCA に遺伝毒性を示す結果が得られていないこと、長期反復投与毒性試験では胆管増生はみられたが腫瘍性病変がみられなかったこと、内分泌器及び生殖器、免疫系組織では投与に関連した所見は認められなかったことから、CDCA が発がん性を有する可能性は低いと考えられた。EU で承認されている CDCA 製剤（chenodeoxycholic acid Leadiant 250 mg hard capsules）の審査報告書では、ラットを用いた 2 年間がん原性試験の結果、60 mg/kg/day の用量で発がん性が示されなかったと報告されている[1)]。

次に、げっ歯類ではムリコール酸が主代謝物[46)]であり、種差が存在することから、CDCA の代謝物である LCA 及び UDCA の長期がん原性試験について評価した。

LCA は、マウス及びラットを用いた 103 週間がん原性試験（週 3 回経口投与）が実施されており、LCA 投与に関連した腫瘍発生はみられず、LCA による発がん性リスクは低いと考えられた[26]。

UDCA の長期がん原性試験は、公表文献で確認できなかったため、ICH-S1B(R1)に基づいて検討した。UDCA の遺伝毒性に関して、公表文献の中には遺伝毒性を示す報告が確認されたが[29,41]、米国で承認されている UDCA 製剤（URSO 250、URSO FORTE）の添付文書では、*in vitro* 試験及び *in vivo* 試験ともに遺伝毒性を示さなかったと報告されていることから[47]、UDCA が遺伝毒性を有する可能性は低いと考えられた。長期反復毒性試験では、ラットの 6 ヵ月間経口投与試験で胆管増生がみられたものの、1000 mg/kg/day 以上と高用量であった[39]。また、内分泌器及び生殖器、免疫系組織では投与に関連した所見は認められなかったことから、UDCA がホルモン変動及び免疫系に影響する可能性は低いと考えられた。これらの結果から、UDCA による発がん性リスクは低いと考えた。URSO 250 及び URSO FORTE の添付文書では、2 年間がん原性試験の結果として、マウスで 1000 mg/kg/day、ラットでは 300 mg/kg/day までの用量で発がん性が認められないと記載されている[47]。

以上、CDCA 及びその代謝物（LCA、UDCA）の長期発がん性試験の実施の必要性について検討した結果、及び、EU や米国承認製剤での資料から総合的に判断し、CDCA の新たな長期がん原性試験の実施は不要であり、CDCA の発がん性のリスク（イニシエーター作用）は低いと考えられた。

2.6.6.9.2　中期及び短期がん原性試験について

CDCA は発がんプロモーター作用を有するとの報告があることから、公表文献を用いて発がんプロモーター作用を評価した。

CDCA の胃への発がんプロモーター作用[4]及び CDCA、LCA 並びに UDCA の肝臓への発がんプロモーター作用は認められなかった[3,7]。一方で、腸管に対しては、CDCA の混餌投与が結腸[3]及び十二指腸[2]で発がんプロモーター作用を示した。胆汁酸の経口投与は、腸肝循環の間で肝臓や腸内細菌によって代謝されることから、投与された胆汁酸自体の作用が反映されていない可能性がある[48]。そこで腸内細菌による胆汁酸の代謝を排除した無菌ラットを用いて、イニシエーターとして MNNG を注腸投与後、CDCA-Na（20 mg/回、3 回/週）を 46 週間注腸投与した結果、結腸での腫瘍発生匹数（腫瘍発生率）に有意な差異はみられなかった一方で、通常ラットを用いた場合では有意な増加を示した[6]。また MNNG 投与後に LCA-Na を 46 週間注腸投与（20 mg/回、3 回/週）した試験では、無菌ラット及び通常ラットともに結腸の腫瘍発生率が有意に増加した[34]。これらの結果から、CDCA の発がんプロモーター作用は腸内細菌による LCA の産生が影響し、LCA は腸内細菌によってさらに代謝されることなく、LCA 自体が発がんプロモーターとして作用することが示唆された。さらに、便流遮断空置大腸ラット（回盲部で切断し、口側断端を人工肛門、肛門側断端を縫合閉鎖）に MNNG を注腸投与後、各種胆汁酸（CDCA、UDCA、又は LCA）を 10 mg/mL/day の用量で

30 日間注腸投与した試験では、LCA 投与群でのみ大腸での腫瘍発生率の増加がみられ、LCA が発がんプロモーターとして作用することが示唆される結果であった[5)]。実際にラットに MNNG を注腸投与後、LCA（1 mg/0.5 mL/回、5 回/週）を 11 ヵ月間注腸投与した試験において、LCA 投与群は結腸での腫瘍発生率の増加を示した[35)]。一方、UDCA は、AOM や MNU といった発がんイニシエーターの投与による結腸腫瘍の発生率を減少させた[42),43)]。これらの結果から、UDCA は腫瘍誘発ラットにおける結腸腫瘍形成を抑制し、発がんプロモーター作用を有さないことが考えられた。さらに、URSO 250 及び URSO FORTE の添付文書においても、AOM による結腸発がん作用を抑制したと記載されている[47)]。

以上のことから、CDCA 投与でみられた発がんプロモーター作用は、CDCA の代謝物である LCA による可能性が高いと考えられた。しかし、日本人の健康成人 CDCA プールサイズは 618～1235 mg と報告されていること[49)]、また、本薬は CDCA を合成できず著減している CTX 患者への補充療法として、成人では 750～1000 mg/day の用量で使用されることから、CDCA のプールサイズ及び CDCA の代謝物である LCA 濃度も健康成人に比べて大きく超えることはなく、CTX 患者への本薬投与時に発がんプロモーターとして作用するリスクは低いと考えられる。

2.6.6.9.3　幼若動物毒性試験について

本薬は、先天的に CDCA の生合成が著減した CTX 患者への補充療法として使用され、新生児からの生涯投与を予定しているため、本薬の小児への適応に際して ICH-S11 に基づいて、幼若動物毒性試験の必要性を以下の通り検討した。

CDCA の毒性試験として、チノカプセル 125 の申請時添付資料の成獣での試験成績が存在し、毒性所見は主に腸管（下痢、軟便）と肝臓（胆管増生、肝細胞壊死等）で認められた。また、CDCA の代謝物である LCA も同様に主な毒性所見は肝臓で認められた。CDCA 投与時に抗生物質の併用投与により腸内細菌による LCA への変換を抑制したとき、胆汁中 LCA は増加せず、肝障害も抑制されたとの報告[15)]、及び、アカゲザルへの CDCA 又は UDCA の 6 ヵ月間反復経口投与で、両化合物とも胆汁中の LCA の増加及び肝毒性を示したとの報告がある[14)]。これらの報告より、CDCA 及び UDCA の代謝物である LCA の生成量が肝毒性の発現に起因していると考えられた。

CDCA の代謝に関しては、ヒトでは主に LCA 及び UDCA に代謝され、LCA は硫酸抱合を受けて排泄されるが、他の霊長類と比較して LCA が硫酸化されやすいこと[17)-22)]、また、げっ歯類ではムリコール酸が主代謝物であること[46)]が報告されている。このように、CDCA の肝毒性は代謝物である LCA に起因し、その種差には LCA の代謝の関与が示唆される。ヒトでは新生児にも硫酸抱合に関与する SULT2 A1 が発現し[23)-25)]、成人と同様に CDCA の腸肝循環が確認されている[50)]ことから、小児への CDCA 投与では、成人と同様に腸肝循環に移行し、LCA が生成されても硫酸抱合により解毒されると考えられる。また、幼若動物は成獣

よりも LCA の排泄効率が高く、胆汁うっ滞への耐性が高い可能性がある[51),52)]一方で、器官発達の観点から、小児では成人に比べて肝臓や腸管への毒性発現のリスクが高くなる可能性が考えられる[53)]。実際に、本邦の CTX 診療ガイドライン 2018[54)] の推奨用量である 15 mg/kg/day を投与された乳幼児（2 週齢）が肝腫大を伴う黄疸を呈し、5 mg/kg/day への変更により肝機能障害の再燃はなく、血清コレスタノールも基準値内に維持された症例報告がある[55)]。また、EU で承認されている CDCA 製剤の小児の用法・用量は初期投与量として 5 mg/kg/day の分割投与が記載されている[1)]。したがって、小児への CDCA 投与では少量から開始し、患者の状態により適宜用量を調整することで毒性発現リスクを低減できると考えられる。

以上より、幼若動物を用いた毒性試験を実施してもさらなる有意な知見は得られないと推察されることから、当該試験は実施しなかった。

2.6.6.10　図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 引用文献

1） The European Medicines Agency. Chenodeoxycholic acid Leadiant: EPAR- Assessment report. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/chenodeoxycholic-acid-sigma-tau-epar-public-assessment-report_en.pdf

2） Mahmoud NN, Dannenberg AJ, Bilinski RT, Mestre JR, Chadburn A, Churchill M, et al. Administration of an unconjugated bile acid increases duodenal tumors in a murine model of familial adenomatous polyposis. Carcinogenesis. 1999;20(2):299-303.

3） Ghia M, Mattioli F, Mereto E. A possible medium-term assay for detecting the effects of liver and colon carcinogens in rats. Cancer Lett. 1996;105(1):71-5.

4） Yoshida Y, Tatematsu M, Takaba K, Shichino Y, Ito N. Effects of various bile acids and their sodium salts on development of pepsinogen-altered pyloric glands in rats. Teratog Carcinog Mutagen. 1992;12(4):179-86.

5） 高島 茂樹, 片山 外一, 小森 和俊, 宮崎 逸夫. 大腸癌発生に対する便流および胆汁酸の意義に関する実験的研究. 大腸肛門誌. 1982;35:532-40.

6） Reddy BS, Watanabe K, Weisburger JH, Wynder EL. Promoting effect of bile acids in colon carcinogenesis in germ-free and conventional F344 rats. Cancer Res. 1977;37(9):3238-42.

7） Tsuda H, Masui T, Imaida K, Fukushima S, Ito N. 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. Gan. 1984;75(10):871-5.

8） Seraj MJ, Umemoto A, Kajikawa A, Mimura S, Kinouchi T, Ohnishi Y, et al. Effects of dietary bile acids on formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in F344 rats. Cancer Lett. 1997;115(1):97-103.

9） Kirwan WO, Smith AN, Mitchell WD, Falconer JD, Eastwood MA. Bile acids and colonic motility in the rabbit and the human. Gut. 1975;16(11):894-902.

10） Singer K, Cheng MN. Thiopropazate hydrochloride in persistent dyskinesia. Br Med J. 1971;4(5778):22-5.

11） Yahiro K. Etiologic consideration on the hepatotoxicity after dietary chenodeoxycholic acid administration in the rabbits. Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi. 1986;83(9):2014-21.

12） Morrissey KP, McSherry CK, Swarm RL, Nieman WH, Deitrick JE. Toxicity of chenodeoxycholic acid in the nonhuman primate. Surgery. 1975;77(6):851-60.

13） Dyrszka H, Chen T, Salen G, Mosbach EH. Toxicity of chenodeoxycholic acid in the rhesus monkey. Gastroenterology. 1975;69(2):333-7.

14） Sarva RP, Fromm H, Farivar S, Sembrat RF, Mendelow H, Shinozuka H, et al. Comparison of the effects between ursodeoxycholic and chenodeoxycholic acids on liver function and structure and on bile acid composition in the Rhesus Monkey. Gastroenterology. 1980;79(4):629-36.

15） Salen G, Dyrszka H, Chen T, Saltzman WH, Mosbach EH. Letter Prevention of chenodeoxycholic-acid toxicity with lincomycin. Lancet. 1975;1(7915):1082.

16） 太田 正道, 穂下 剛彦. 胆汁酸の代謝（第 2 報）Chenodeoxycholic Acid の吸収,分布および排泄. 応用薬理. 1978;15(4):583-95.

17） Cowen AE, Korman MG, Hofmann AF, Cass OW. Metabolism of lithocholate in healthy man. I. Biotransformation and biliary excretion of intravenously administered lithocholate, lithocholylglycine, and their sulfates. Gastroenterology. 1975;69(1):59-66.

18） Allan RN, Thistle JL, Hofmann AF. Lithocholate metabolism during chemotherapy for gallstone dissolution. 2. Absorption and sulphation. Gut. 1976;17(6):413-9.

19） Suzuki H, Hamada M, Kato F. Metabolism of lithocholic and chenodeoxycholic acids in the squirrel monkey. Gastroenterology. 1985;89(3):631-6.

20） Schwenk M, Hofmann AF, Carlson GL, Carter JA, Coulston F, Greim H. Bile acid conjugation in the chimpanzee: effective sulfation of lithocholic acid. Arch Toxicol. 1978;40(2):109-18.

21） Palmer RH, McSherry CK. Lithocholate metabolism in baboons fed chenodeoxycholate. J Lab Clin Med. 1982;99(4):533-8.

22） Gadacz TR, Allan RN, Mack E, Hofmann AF. Impaired lithocholate sulfation in the rhesus monkey: a possible mechanism for chenodeoxycholate toxicity. Gastroenterology. 1976;70(6):1125-9.

23） Kurogi K, Krasowski MD, Injeti E, Liu MY, Williams FE, Sakakibara Y, et al. A comparative study of the sulfation of bile acids and a bile alcohol by the Zebra danio (Danio rerio) and human cytosolic sulfotransferases (SULTs). J Steroid Biochem Mol Biol. 2011;127(3-5):307-14.

24） Niessen KH, Teufel M, Brügmann G. Sulphated bile acids in duodenal juice of healthy infants and children compared with sulphated bile acids in paediatric patients with various gastroenterological diseases. Gut. 1984;25(1):26-31.

25） Ekström L, Rane A. Genetic variation, expression and ontogeny of sulfotransferase SULT2A1 in humans. Pharmacogenomics J. 2015;15(4):293-7.

26） National Toxicology Program. Bioassay of lithocholic acid for possible carcinogenicity. Natl Cancer Inst Carcinog Tech Rep Ser. 1979;175:1-99.

27） Holsti P. Cirrhosis of the Liver induced in Rabbits by Gastric Instillation of 3-Monohydroxycholanic Acid. Nature. 1960;186:250.

28） Silverman SJ, Andrews AW. Bile acids: co-mutagenic activity in the Salmonella-mammalian-microsome mutagenicity test: brief communication. J Natl Cancer Inst. 1977;59(5):1557-9.

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

30） Booth LA, Gilmore IT, Bilton RF. Secondary bile acid induced DNA damage in HT29 cells: are free radicals involved? Free Radic Res. 1997;26(2):135-44.

31） McGregor DB, Brown AG, Howgate S, McBride D, Riach C, Caspary WJ. Responses of the L5178Y mouse Lymphoma cell forward mutation assay. V: 27 coded chemicals. Environ Mol Mutagen. 1991;17(3):196-219.

32） Mitchell AD, Rudd CJ, Caspary WJ. Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at SRI International. Environ Mol Mutagen. 1988;12 Suppl 13:37-101.

33） Myhr BC, Caspary WJ. Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at Litton Bionetics, Inc. Environ Mol Mutagen. 1988;12 Suppl 13:103-94.

34） Reddy BS, Watanabe K. Effect of cholesterol metabolites and promoting effect of lithocholic acid in colon carcinogenesis in germ-free and conventional F344 rats. Cancer Res. 1979; 39(5):1521-4.

35） Narisawa T, Magadia NE, Weisburger JH, Wynder EL. Promoting effect of bile acids on colon carcinogenesis after intrarectal instillation of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats. J Natl Cancer Inst. 1974;53(4):1093-7.

36） Zimber A, Zusman I, Bentor R, Pinus H. Effects of lithocholic acid exposure throughout pregnancy on late prenatal and early postnatal development in rats. Teratology. 1991;43(4):355-61.

37） 高橋 日出彦, 戸塚 和男, 宮下 武美, 薄井 啓子, 宮本 甲生. Wistar 系ラットに対する Ursodeoxychol 酸経口投与による亜急性毒性について. 基礎と臨床. 1975;9(13):3167-81.

38） 高橋 日出彦, 戸塚 和男, 宮下 武美, 宮本 甲生. Wistar 系雄ラットに対する Ursodeoxychol 酸 3 ヵ月間経口投与による毒性について. 基礎と臨床. 1975;9(13):3203-8.

39） 高橋 日出彦, 戸塚 和男, 宮下 武美, 宮本 甲生. Wistar 系雄ラットに対する Ursodeoxychol 酸 6 ヵ月間経口投与による慢性毒性について. 基礎と臨床. 1975;9(13):3209-22.

40） Fedorowski T, Salen G, Zaki G, Shefer S, Mosbach EH. Comparative effects of ursodeoxycholic acid and chenodeoxycholic acid in the rhesus monkey. Biochemical and ultrastructural studies. Gastroenterology. 1978;74(1):75-81.

41） Fimognari C, Nüsse M, Cesari R, Cantelli-Forti G, Hrelia P. Micronuclei induction, cell cycle delay and apoptosis as markers of cellular stress caused by ursodeoxycholic acid in human lymphocytes. Mutat Res. 2001;495(1-2):1-9.

42） Earnest DL, Holubec H, Wali RK, Jolley CS, Bissonette M, Bhattacharyya AK, et al. Chemoprevention of azoxymethane-induced colonic carcinogenesis by supplemental dietary ursodeoxycholic acid. Cancer Res. 1994;54(19):5071-4.

43） Narisawa T, Fukaura Y, Terada K, Sekiguchi H. Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon tumorigenesis by ursodeoxycholic acid in F344 rats. Jpn J Cancer Res. 1998;89(10):1009-13.

44） Ota M, Isobe J, Tsuji Y, Kuramoto T, Hoshita T. Metabolism of bile acids. IV. Absorption, distribution, excretion and metabolism of orally administered ursodeoxycholic acid in rats. Hiroshima J Med Sci. 1977;26(4):233-51.

45） 豊島 滋, 藤田 晴久, 佐藤 隆一, 加島 正明. Ursodeoxycholic Acid の生殖におよぼす影響に関する動物試験（第 4 報）特にラットの周産期・授乳期に投与した際の胎仔の発生ならびに生後発育に与える影響について. 応用薬理. 1978;15(7):1141-55.

46） 内田 清久. 胆汁酸代謝と腸内細菌. ビフィズス. 1992;5(2):157-72.

47） URSO 250 (ursodiol) tablets, for oral use URSO FORTE (ursodiol) tablets, for oral use Initial U.S. Approval: 1997. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2023/020675s028lbl.pdf

48） Lin CX, Umemoto A, Seraj MJ, Mimura S, Monden Y. Effect of bile acids on formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in colostomized F344 rat colon. Cancer Lett. 2001;169(2):121-6.

49） 平岡 俊仁, 小坂 大策, 幸田 忠裕, 石田 正典, 梶山 梧朗. 健常ヒト成人におけるケノデオキシコール酸およびコール酸の体内動態に関する研究―安定同位体希釈法による胆汁酸プールサイズの解析―. 胆道. 1989;3(4):456-62.

50） Watkins JB, Järvenpää AL, Szczepanik-Van Leeuwen P, Klein PD, Rassin DK, Gaull G, et al. Feeding the low-birth weight infant: V. Effects of taurine, cholesterol, and human milk on bile acid kinetics. Gastroenterology. 1983;85(4):793-800.

51） Tuchweber B, Perea A, Lee D, Yousef IM. Lithocholic acid-induced cholestasis in newborn rats. Toxicol Lett. 1983;19(1-2):107-12.

52） Lewittes M, Tuchweber B, Weber A, Roy CC, Yousef IM. Resistance of the suckling guinea pig to lithocholic acid-induced cholestasis. Hepatology. 1984;4(3):486-91.

53） de Zwart LL, Haenen HE, Versantvoort CH, Wolterink G, van Engelen JG, Sips AJ. Role of biokinetics in risk assessment of drugs and chemicals in children. Regul Toxicol Pharmacol. 2004;39(3):282-309.

54） 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

55） Huidekoper HH, Vaz FM, Verrips A, Bosch AM. Hepatotoxicity due to chenodeoxycholic acid supplementation in an infant with cerebrotendinous xanthomatosis: implications for treatment. Eur J Pediatr. 2016;175(1):143-6.

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）

2.6.7　毒性試験概要表

藤本製薬株式会社

目次

略語・略号一覧 3
2.6.7　毒性試験概要表 4
2.6.7.1　毒性試験：一覧表 4
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 8
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 8
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 8
2.6.7.5　単回投与毒性試験 8
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 8
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験 8
2.6.7.8　*In Vitro*　遺伝毒性試験 8
2.6.7.9　*In Vivo*　遺伝毒性試験 8
2.6.7.10　がん原性試験 9
2.6.7.10.1　マウス 10 週間混餌投与試験 9
2.6.7.10.2　ラット 6 週間混餌投与試験 10
2.6.7.10.3　ラット 18 週間混餌投与試験 11
2.6.7.10.4　ラット 30 日間注腸投与試験 12
2.6.7.10.5　ラット 46 週間注腸投与試験 13
2.6.7.10.6　ラット 6 週間混餌投与試験 14
2.6.7.10.7　ラット 8 週間又は 18 週間混餌投与試験 15
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 17
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 17
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 17
2.6.7.14　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関する試験 17
2.6.7.15　新生児を用いた試験 17
2.6.7.16　局所刺激性試験 17
2.6.7.17　その他の毒性試験 18

略語・略号一覧

略語・略号	説明
AAF	2-Acetylaminofluorene（2-アセチルアミノフルオレン）
AC	Aberrant crypt（異常陰窩）
ACF	Aberrant crypt foci（異常陰窩巣）
ALP	Alkaline phosphatase（アルカリホスファターゼ）
ALT	Alanine transaminase（アラニンアミノトランスフェラーゼ）
AOM	Azoxymethane（アゾキシメタン）
AST	Aspartate transaminase（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）
CA	Cholic acid（コール酸）
CA-Na	Sodium cholate（コール酸ナトリウム）
CDCA	Chenodeoxycholic acid（ケノデオキシコール酸）
CDCA-Na	Sodium chenodeoxycholate（ケノデオキシコール酸ナトリウム）
DCA	Deoxycholic acid（デオキシコール酸）
DCA-Na	Sodium deoxycholic acid（デオキシコール酸ナトリウム）
DEN	Diethylnitrosamine（ジエチルニトロソアミン）
F344	Fischer344
GGT	γ-Glutamyl transpeptidase（γ-グルタミントランスペプチダーゼ）
GLP	Good laboratory practice （優良試験所規範）
LCA	Lithocholic acid（リトコール酸）
LCA-Na	Sodium lithocholate（リトコール酸ナトリウム）
LD_{50}	50% Lethal dose（半数致死量）
Min	Multiple intestinal neoplasia
MNNG	*N*-Methyl-*N*′-nitro-*N*-nitrosoguanidine（*N*-メチル-*N*′-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン）
MNU	*N*-Nitroso-*N*-methylurea（*N*-ニトロソ-*N*-メチル尿素）
NaCl	Sodium chloride（塩化ナトリウム）
NDEA	*N*-Nitrosodiethylamine（*N*-ニトロソジエチルアミン）
NOAEL	No observed adverse effect level（無毒性量）
NZW	New Zealand White
PAPG	Pepsinogen-altered pyloric glands（ペプシノーゲン変異幽門腺）
SD	Sprague-Dawley
S.typhimurium	*Salmonella typhimurium*（ネズミチフス菌）
UDCA	Ursodeoxycholic acid（ウルソデオキシコール酸）

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：CDCA

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 a)	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
単回投与毒性試験	追加する資料はない。							
反復投与毒性試験	追加する資料はない。							
遺伝毒性試験	追加する資料はない。							
がん原性試験	マウス /C57BL/6J-Min/+	混餌	10 週間	0.5% in diets	不適	不明	不明	4.2.3.4.2-1
	ラット/SD	混餌	6 週間	0.1% in diets	不適	不明	不明	4.2.3.4.2-2
	ラット/WKY/NCrj	混餌	18 週間	0.5% in diets	不適	不明	不明	4.2.3.4.2-3
	ラット/Wistar	注腸	30 日	10 mg/回/匹	不適	不明	不明	4.2.3.4.2-4
	ラット/F344	注腸	46 週間	20 mg/回/匹 b)	不適	不明	不明	4.2.3.4.2-5
	ラット/F344	混餌	6 週間	0.05% in diets	不適	不明	不明	4.2.3.4.2-6
	ラット/F344	混餌	8 又は 18 週間	0.4% in diets	不適	不明	不明	4.2.3.4.2-7
生殖発生毒性試験	追加する資料はない。							
局所刺激性試験	追加する資料はない。							

a）特に断りのない限り、反復投与毒性試験については、無毒性量（NOAEL）に下線を引く。b）CDCA-Na を使用。

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：LCA

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 a)	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
その他の毒性試験								
代謝物の毒性試験（LCA）								
単回投与毒性試験	マウス/CF1	経口	単回	1,000 mg/kg b)	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-1
反復投与毒性試験	マウス/B6C3F1	経口	7 週間	464、681、1,000、1,470、2,150 mg/kg（3 回/週）c)	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-2
	ラット/F344	経口	7 週間	464、681、1,000、1,470、2,150 mg/kg（3 回/週）c)	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-2
	ウサギ/不明	経口	3 ヵ月間	20 mg/kg/day	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-3
遺伝毒性試験	*S.typhimurium*（TA1538）	*In Vitro*	該当なし	100、200、500 µg/plate	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-4
	S.typhimurium（TA1530、G46、TA1535、TA1536、TA1537、TA1538、TA98、TA100）	*In Vitro*	該当なし	500 µg/plate	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-4
	S.typhimurium（TA100）	*In Vitro*	該当なし	10、15、20 µg/mL	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-5
	S.typhimurium（TA98）	*In Vitro*	該当なし	10、15、40 µg/mL	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-5
	S.typhimurium（TA100）	*In Vitro*	該当なし	20、30、40、50、 100、500 µg/2 mL top agar	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-5
	HT 29 細胞	*In Vitro*	該当なし	25、50、150、300 µM	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-6
	マウスリンフォーマ細胞	*In Vitro*	該当なし	5、6.25、10、12.5、20、25、30、40、50、60、70、80、100 µg/mL	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-7

a）特に断りのない限り、反復投与毒性試験については、NOAEL に下線を引く。b）LCA-Na を使用。c）1 週間混餌投与を実施後、餌中の LCA が不安定であったため、7 週間の経口投与に切り替えた。混餌投与時の餌中 LCA 濃度は 464、681、1,000、1,470、2,150 mg/kg 投与群でそれぞれ、6,800、10,000、14,700、21,600、31,500 ppm。

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：LCA 及び UDCA

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 a)	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
代謝物の毒性試験（LCA）（続き）								
遺伝毒性試験	マウスリンフォーマ細胞	*In Vitro*	該当なし	42、50、53、56、61.6、62、66、67.9、69、72、75.5、76、80、82、83.8、91、93.2、101、103.5、115 μg/mL	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-8
	マウスリンフォーマ細胞	*In Vitro*	該当なし	1.88、3.13、3.75、3.8、6.25、7.5、12.5、15、25、30、37.5、45、50、52.5、60、62.5、80、100、125 μg/mL	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-9
がん原性試験	マウス/B6C3F1	経口	103 週間	125、250 mg/kg/day（3 回/週）	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-2
	ラット/F344	経口	103 週間	250、500 mg/kg/day（3 回/週）	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-2
	ラット/F344	注腸	46 週間	20 mg /回（3 回/週）	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-10
	ラット/SD	注腸	11 ヵ月	1 mg/回（総投与量 240 mg）	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-11
生殖発生毒性試験	ラット/SD	混餌	妊娠 0～20 又は 21 日目	0.8% in diets	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-12
	ラット/SD	飲水	妊娠 0～19 日目	0.8% in water	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-12
代謝物の毒性試験（UDCA）								
単回投与毒性試験	マウス/dd	経口	単回	5,000、10,000 mg/kg	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-13
	ラット/Wistar	経口	単回	2,000、5,000 mg/kg	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-13
反復投与毒性試験	ラット/Wistar	経口	5 週間	500、1,000、2,000、4,000 mg/kg/day（6 回/週）	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-14
	ラット/Wistar	経口	3 ヵ月	500、1,000、2,000、4,000 mg/kg/day（6 回/週）	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-15
	ラット/Wistar	経口	6 ヵ月	500、1,000、2,000、4,000 mg/kg/day（6 回/週）	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-16

a）特に断りのない限り、反復投与毒性試験については、NOAEL に下線を引く。

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：UDCA

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 a)	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
代謝物の毒性試験（UDCA）（続き）								
反復投与毒性試験	サル/アカゲザル	経口	6 ヵ月	40、100 mg/kg/day	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-17
遺伝毒性試験	*S.typhimurium*（TA98、TA100）	*In Vitro*	該当なし	20、40、50 μg/mL	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-5
	S.typhimurium（TA100）	*In Vitro*	該当なし	20、30、40、50、100、500 μg/2 mL top agar	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-5
	ヒト末梢血リンパ球	*In Vitro*	該当なし	10、30、100 μg/mL b)	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-18
がん原性試験	ラット/F344	混餌	28 週間	0.2、0.4% in diets	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-19
	ラット/F344	混餌	27 週間	0.08、0.4% in diets	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-20
生殖発生毒性試験	ラット/Wistar	経口	投与雄×投与雌 雄:交配開始前 63 日間 雌:交配開始前 14 日間～妊娠 7 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-21
	マウス/dd	経口	妊娠 7～12 日目	300、1,500 mg/kg/day	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-22
	ラット/Wistar	経口	妊娠 7～17 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-23
	ラット/Wistar	経口	妊娠 9～14 日目	300、4,000 mg/kg/day	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-22
	ウサギ/NZW	経口	妊娠 6～18 日目	5、10、20 mg/kg/day	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-24
	ラット/Wistar	経口	妊娠 17～分娩後 21 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	不適	不明	不明	4.2.3.7.5-25

a）特に断りのない限り、反復投与毒性試験については、NOAEL に下線を引く。b）UDCA-Na を使用。

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

追加する資料はない。

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

追加する資料はない。

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

追加する資料はない。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

追加する資料はない。

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

追加する資料はない。

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

追加する資料はない。

2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験

追加する資料はない。

2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験

追加する資料はない。

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10.1　マウス 10 週間混餌投与試験

報告書の題名：Administration of an unconjugated bile acid increase duodenal tumors in a murine model of familial adenomatous polyposis.

被験物質　：CDCA

動物種/系統　：マウス/C57BL/6J-Min/+　　投与期間　：10 週間　　試験番号　：不明

試験開始週齢：40 日齢　　投与方法　：混餌　　CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-1

初回投与年月日：不明　　溶媒/投与形態：混餌

対照群の処理：薬物なしの餌（基礎飼料）　　GLP 適用　：不適

高用量の設定根拠：不明

特記事項　：　発がんモデルマウス（C57BL/6J-Min/+）に CDCA を 0.5%含有する飼料、又は、基礎飼料を 10 週間給餌し、110 日齢時に評価した。また、通常マウス（C57BL/6J-+/+）にも基礎飼料を給餌した。

使用動物	給餌飼料（群）	匹数	腫瘍数			
			十二指腸	小腸	結腸	総数
C57BL/6J-Min/+	基礎飼料（対照群 1）	20	0.3 ± 0.6	31.8 ± 20.0	0.4 ± 0.6	32.5 ± 20.3
C57BL/6J-Min/+	0.5% CDCA 含有飼料（薬物群）	26	3.0 ± 1.6*	21.3 ± 12.5	0.6 ± 0.9	25.2 ± 13.3
C57BL/6J-+/+	基礎飼料（対照群 2）	20	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Student’s two-tailed t-test : * - $p < 0.0001$（vs.対照群 1）

2.6.7.10.2 ラット 6 週間混餌投与試験

報告書の題名：A possible medium-term assay for detecting the effects of liver and colon carcinogens in rats.

被験物質　：CDCA
動物種/系統　：ラット/SD
投与期間　：6 週間
試験番号　：不明
試験開始週齢：不明（体重 120-140 g）
投与方法　：混餌
CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-2
初回投与年月日：不明
溶媒/投与形態：混餌
対照群の処理：薬物なしの餌（基礎飼料）
GLP 適用　：不適

高用量の設定根拠：不明

特記事項　：投与開始日を Day1 とし、SD 雄性ラットに肝臓がんのイニシエーターとして NDEA 200 mg/kg を単回腹腔内投与した。その後、結腸がんのイニシエーターとして AOM 15 mg/kg を 2 回腹腔内投与（Day7、11）し、部分（2/3）肝切除をした（Day21）。2 と 3 群には 0.01%の AAF、又は、0.1%の CDCA を含む基礎飼料を Day15～56 の期間に給餌した。同期間、対照群（1 群）には基礎飼料のみ給餌した。給餌最終日（Day56）、肝臓の GGT 陽性細胞巣、及び、結腸の ACF を評価した。それ以外に、AOM 15 mg/kg を 2 回腹腔内投与した後、基礎飼料、又は、0.1%の CDCA を含む基礎飼料を給餌したラットでも、結腸の ACF を評価した（6 と 7 群）。6 と 7 群の AOM 投与と給餌期間は、1-3 群と同日程である。なお、本報告では NDEA 投与後に部分肝切除したラットで AAF を給餌した群（4 と 5 群）が存在するが、本被験物質の評価に関連性がないため結果の記載を省いた。

群	処置	匹数	体重増加量（g）	体重比肝臓重量（%）	GGT 陽性細胞巣数		GGT 陽性細胞巣面積（mm^2/cm^2）	ACF 数/匹		陰窩数/病巣
					/cm^2	/cm^3		全数	≥AC4[#]の数	
1	NDEA + AOM	12	257 ± 36[ab]	2.7 ± 0.1[a]	33 ± 17[a]	1,451 ± 781[a]	0.85 ± 0.43[a]	99 ± 21[a]	24 ± 10[ab]	2.8 ± 0.2[ab]
2	NDEA + AOM + AAF	10	230 ± 44[a]	3.2 ± 0.2[b]	132 ± 42[b]	3,155 ± 1,330[b]	14.86 ± 3.93[b]	107 ± 29[a]	28 ± 8[a]	2.8 ± 0.2[ab]
3	NDEA + AOM + CDCA	11	251 ± 17[ab]	2.7 ± 0.1[a]	13 ± 17[c]	580 ± 381[c]	0.35 ± 0.19[a]	125 ± 35[a]	40 ± 15[c]	3.1 ± 0.3[c]
6	AOM	12	288 ± 40[b]	ND	ND	ND	ND	63 ± 34[b]	16 ± 5[b]	2.7 ± 0.1[a]
7	AOM + CDCA	12	270 ± 49[ab]	ND	ND	ND	ND	109 ± 34[a]	26 ± 10[a]	3.0 ± 0.2[bc]

ND = No data　　# - 病巣当たりの陰窩が 4 つ以上

Student-Newman-Keuls test : $p < 0.05$（上付き文字が異なる場合に有意差あり）、匹数以外の値は平均値±標準偏差を示す。

2.6.7.10.3　ラット 18 週間混餌投与試験

報告書の題名：Effects of various bile acids and their sodium salts on development of pepsinogen-altered pyloric glands in rats.

被験物質　：CDCA
動物種/系統　：ラット/WKY/N Crj　　投与期間　：18 週間　　試験番号　：不明
試験開始週齢：不明　　投与方法　：混餌　　CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-3
初回投与年月日：不明　　溶媒/投与形態：混餌
対照群の処理：薬物なしの餌（基礎飼料）　　GLP 適用　：不適

高用量の設定根拠：不明

特記事項　：雄性ラットに MNNG 160 mg/kg を胃内投与し、基礎飼料を 2 週間給餌した。その後、0.5%の CA、CA-Na、DCA、DCA-Na、CDCA 又は CDCA-Na あるいは 5%のアスコルビン酸、又は、アスコルビン酸ナトリウムのいずれかを含有する飼料を 18 週間給餌した（薬物含有飼料の給餌開始 12 週目から、DCA、及び、DCA-Na の飼料中含有率を 0.3%にした）。対照群には、基礎飼料を 18 週間給餌した。給餌終了後、胃の組織学的検査、又は PAPG を評価した。

群	薬物	幽門腺粘膜の PAPG 数		前胃内の腫瘍性病変の発症数				
		評価匹数	PAPG 数/cm[a)]	評価匹数	過形成	乳頭性／結節性過形成	乳頭腫	扁平上皮癌
1	CA	16	3.03 ± 1.27	16	10	6	0	0
2	CA-Na	15	5.01 ± 1.29*	17	6	8	3	0
3	DCA	16	3.27 ± 1.36	17	3	7	7	0
4	DCA-Na	19	3.28 ± 0.96	19	9	7	2	1
5	CDCA	16	2.72 ± 0.83	16	7	7	1	0
6	CDCA-Na	15	4.19 ± 1.84**	15	3	6	3	0
7	アスコルビン酸	14	3.61 ± 1.11	14	7	4	3	0
8	アスコルビン酸ナトリウム	14	3.80 ± 1.71	13	6	4	3	0
9	対照群（基礎飼料）	15	3.12 ± 1.37	15	7	4	1	1

a）平均値±標準偏差を示す。Student’s two-tailed t-test: * - $p < 0.001$（vs.9 群）、** - $p < 0.01$（vs.5 群）

2.6.7.10.4　ラット 30 日間注腸投与試験

報告書の題名：大腸癌発生に対する便流および胆汁酸の意義に関する実験的研究

被験物質　：CDCA
動物種/系統　：ラット/Wistar
投与期間　：30 日間
試験番号　：不明
試験開始週齢：7 週齢
投与方法　：注腸投与
CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-4
初回投与年月日：不明
溶媒/投与形態：落花生油
対照群の処理：溶媒未投与
GLP 適用　：不適
高用量の設定根拠：不明

特記事項　：24 時間絶食したラットをエチルエーテルで麻酔し、下腹部正中線上を開腹し、回盲部より約 2 cm 肛門側で大腸を切断した後、口側断端を人工肛門、肛門側断端を縫合閉鎖した。この術当日から感染防止のため術後 3 日間は tetracycline 5 mg 加生食塩水 2 mL を腹壁皮下に注射した。その後、投与 1 時間前に MNNG を蒸留水で溶解した溶液 2.5 mg/1 mL を 2 週間、自然肛門から注腸投与した（計 35 mg)。MNNG 投与終了後、CDCA、UDCA、CA、DCA、又は、LCA を落花生油に均一に混和した溶液 10 mg/1 mL を肛門から 30 日間注腸投与した（計 300 mg)。MNNG 投与開始後 30 週の時点で大腸を摘出し、肉眼的に隆起性病変として観察し得たものを腫瘍とし、組織学的な癌腫の判定はヒト腸癌の判定基準に従った。

実験群	匹数	腫瘍発生匹数（率）	癌腫発生匹数（率）	腺腫発生匹数（率）	腫瘍個数（/匹）	癌腫個数（/匹）	腺腫個数（/匹）
人工肛門+ MNNG	37	5 匹（13.5%）	4 匹（10.8%）	1 匹（2.7%）	6 個（0.16）	5 個（0.14）	1 個（0.03）
人工肛門+ MNNG + CDCA	28	4 匹（14.3%）	3 匹（10.7%）	2 匹（7.1%）	6 個（0.21）	4 個（0.14）	2 個（0.07）
人工肛門+ MNNG + UDCA	28	7 匹（25.0%）	4 匹（14.3%）	4 匹（14.3%）	9 個（0.32）	5 個（0.18）	4 個（0.14）
人工肛門+ MNNG + CA	25	6 匹（24.0%）	6 匹（24.0%）	1 匹（4.0%）	9 個（0.36）	7 個（0.28）	2 個（0.08）
人工肛門+ MNNG + DCA	24	12 匹（50.0%）**	10 匹（41.7%）**	4 匹（16.7%）	16 個（0.67）*	12 個（0.50）*	4 個（0.17）
人工肛門+ MNNG + LCA	20	14 匹（70.0%）**	13 匹（65.0%）**	7 匹（35.0%）**	35 個（1.75）*	28 個（1.40）*	7 個（0.35）*

* - $p < 0.05$、** - $p < 0.01$（vs.人工肛門+ MNNG 群、検定方法不明）

2.6.7.10.5 ラット 46 週間注腸投与試験

報告書の題名：Promoting effect of bile acids in colon carcinogenesis in germ-free and conventional F344 rats.

被験物質　：CDCA
動物種/系統　：ラット/F344
投与期間　：46 週間
試験番号　：不明
試験開始週齢：50 日齢
投与方法　：注腸投与
CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-5
初回投与年月日：不明
溶媒/投与形態：0.9% NaCl 溶液
対照群の処理：溶媒投与
GLP 適用　：不適

高用量の設定根拠：不明

特記事項　：無菌ラット及び通常ラットにイニシエーターとして MNNG（2 mg/回/匹）を週 2 回 2 週間注腸投与後、CA-Na、又は、CDCA-Na（20 mg/回/匹）を週に 3 回、46 週間注腸投与した。無菌ラット及び通常ラットともに、CDCA 投与群の大腸で腫瘍発生匹数が増加したが、無菌ラットでは有意差が認められなかった。

実験群	匹数	大腸の腫瘍発生動物数		動物 1 匹当たりの腫瘍数 [a)]		
		匹	%	合計	腺癌	腺腫
無菌ラット						
MNNG + vehicle	22[b)]	6	27	0.27 ± 0.07	0.14 ± 0.07	0.14 ± 0.06
MNNG + CA-Na	24	12[c)]	50	0.63 ± 0.11[d)]	0.29 ± 0.08[d)]	0.34 ± 0.06[d)]
MNNG + CDCD-Na	24	13[c)]	54	1.08 ± 0.20[d)]	0.29 ± 0.08[d)]	0.79 ± 0.12[d)]
通常ラット						
MNNG + vehicle	30	11	37	0.55 ± 0.15	0.23 ± 0.08	0.32 ± 0.10
MNNG + CA-Na	30	20[e)]	67	0.87 ± 0.12[d)]	0.24 ± 0.07	0.63 ± 0.10[d)]
MNNG + CDCD-Na	30	21[e)]	70	1.23 ± 0.20[d)]	0.27 ± 0.08	0.96 ± 0.16[d)]

a）値は平均値±標準誤差を示す。
b）実験開始 4 週目にて手技的問題にて 2 匹損失し、22 匹となった。
c）有意差なし（vs. MNNG + vehicle 群、x^2 test: $p \geq 0.05$）
d）$p \leq 0.05$（vs. MNNG + vehicle 群、t-test）
e）$p \leq 0.025$（vs. MNNG + vehicle 群、t-test）

2.6.7.10.6　ラット 6 週間混餌投与試験

報告書の題名：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　：CDCA
動物種/系統　：ラット/F344
投与期間　：6 週間
試験番号　：不明
試験開始週齢：6 週齢
投与方法　：混餌
CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-6
初回投与年月日：不明
溶媒/投与形態：混餌
対照群の処理：薬物なしの餌（基礎飼料）
GLP 適用　：不適

高用量の設定根拠：胆汁酸投与 1 週間後に肝切除し、その後 1 週間後の生存率が 50%近くになる濃度とした。

特記事項　：ラットにイニシエーターとして DEN を 200 mg/kg で腹腔内投与し、投与後 3 週目に肝臓の 2/3 を切除した。DEN 投与 2 週間後、0.3% CA、0.06%、0.12%、0.3% DCA、0.05% CDCA、0.3% LCA、又は、0.3% UDCA を含む飼料を 6 週間給餌した。対照群は、DEM 投与と部分肝切除のみを実施し、薬物を含まない飼料を給餌した。また、DEN の溶媒である 0.9% NaCl 溶液を腹腔内投与し、肝切除及び胆汁酸を含む飼料を 6 週間給餌した。

投与			動物数		1 cm^2 当たりの GGT 陽性病巣の定量値 [b]	
イニシエーター	プロモーター	用量 [a]	開始時	終了時	数	面積（mm^2）
DEN	CA	0.30	20	17	14.4 ± 4.9*	0.82 ± 0.48*
	DCA	0.30	20	9	28.9 ± 7.1*	2.61 ± 1.12*
		0.12	20	16	15.1 ± 3.6*	0.72 ± 0.39*
		0.06	20	18	8.8 ± 2.4	0.50 ± 0.63
	CDCA	0.05	26	26	7.7 ± 3.1	0.22 ± 0.15
	LCA	0.30	20	20	8.5 ± 3.1	0.32 ± 0.17
	UDCA	0.30	23	23	7.9 ± 2.4	0.36 ± 0.26
DEN[c]	基礎飼料		68	67	8.4 ± 3.2	0.30 ± 0.15
0.9% NaCl	CA	0.30	20	15	0.3 ± 0.4	0.07 ± 0.09
	DCA	0.30	20	8	0.2 ± 0.2	0.11 ± 0.12
	CDCA	0.05	20	18	0.2 ± 0.4	0.01 ± 0.05
	LCA	0.30	20	20	0.1 ± 0.1	< 0.01
	UDCA	0.30	20	20	0.3 ± 0.5	0.06 ± 0.01

a）飼料中での含有率（%）、b）値は平均値±標準偏差を示す。c）対照群、* - $p < 0.001$（vs.対照群、検定方法不明）

2.6.7.10.7　ラット 8 週間又は 18 週間混餌投与試験

報告書の題名：Effects of dietary bile acids on formation of azoxymethane-induced aberrant crypt foci in F344 rats.

被験物質　：CDCA
動物種/系統　：ラット/F344
投与期間　：8 週間、18 週間
試験番号　：不明
試験開始週齢：5 週齢
投与方法　：混餌
CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-7
初回投与年月日：不明
溶媒/投与形態：混餌
対照群の処理：薬物なしの餌（基礎飼料）
GLP 適用　：不適

高用量の設定根拠：不明

特記事項　：　試験 1；ラットに基礎飼料、又は、0.4%胆汁酸含有飼料（CA、DCA、CDCA、LCA、又は UDCA）を 18 週間給餌した。給餌開始 6 週目と 12 週目、及び最終給餌の 18 週間目、結腸の ACF を評価した。

試験 1

給餌	発生頻度 a)			ACF/結腸 c)	AC/結腸 c)
	6 b)	12	18		
基礎飼料	0/1	0/1	4/7	0.71 ± 0.76	1.43 ± 1.40
CA	0/1	0/1	1/5	0.20 ± 0.45	2.40 ± 5.37
DCA	0/1	1/1 d)	2/5	0.60 ± 0.89	2.00 ± 3.94
CDCA	0/1	0/1	1/5	0.20 ± 0.45	0.80 ± 1.79
LCA	0/1	0/1	2/5	0.60 ± 0.89	2.60 ± 3.72
UDCA	0/1	0/1	1/5	0.20 ± 0.45	0.80 ± 1.79

a）各時点での ACF を有する動物数/各群の検査動物数。b）ACF 評価時点（週）。
c）平均値±標準偏差（18 週評価時点、各群 5～7 匹）を示す。d）病巣は 2 つ認められ、うち 1 つは陰窩を 1 つ含み、もう 1 つは陰窩を 2 つ含む。

2.6.7.10.7　ラット 8 週間又は 18 週間混餌投与試験（続き）

特記事項　：試験 2；ラットに基礎飼料、又は、0.4%胆汁酸含有飼料（CA、DCA、CDCA、LCA、又は、UDCA）を 8 週間給餌した。生理食塩水で溶解した AOM 15 mg/kg をそれぞれ胆汁酸給餌開始日及び開始 7 日後に計 2 回皮下投与した。給餌開始から 8 週間後、結腸の ACF を評価した。

試験 2

給餌	ACF/結腸					総病巣数/結腸	異常陰窩数/病巣 [b)]
	AC1[a)]	AC2	AC3	AC4	AC≥5		
基礎飼料	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 :陰窩 1 つ/病巣、AC2 :陰窩 2 つ/病巣、AC3 :陰窩 3 つ/病巣、AC4 :陰窩 4 つ/病巣、AC≥5 :陰窩 5 つ以上/病巣

b）出現した陰窩の多重性を示す。

c）平均値±標準偏差（5 匹/群）を示す。

d）$p < 0.05$（基礎飼料群と比較して有意に異なる場合、上付き表記した）。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

追加する資料はない。

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

追加する資料はない。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

追加する資料はない。

2.6.7.14 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関する試験

追加する資料はない。

2.6.7.15 新生児を用いた試験

追加する資料はない。

2.6.7.16 局所刺激性試験

追加する資料はない。

2.6.7.17　その他の毒性試験

被験物質：LCA

動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	記載箇所
代謝物（LCA）						
マウス/CF1	経口	単回	1,000 mg/kg[a)]	雌: 6 匹	肝臓の多発的な凝固壊死巣、壊死部位からの出血、肝実質細胞増殖亢進	4.2.3.7.5-1
マウス/B6C3F1	経口	7 週間	464～2,150 mg/kg/day（3 回/週）[b)]	雌雄各 5 匹	464 mg/kg で雄 1 例死亡 681 mg/kg で雄 3 例、雌 1 例死亡 ≥ 1,000 mg/kg :全例で死亡	4.2.3.7.5-2
ラット/F344	経口	7 週間	464～2,150 mg/kg/day（3 回/週）[b)]	雌雄各 5 匹	≥ 464 mg/kg/day :雄で体重減少 ≥ 464 mg/kg/day :雌で体重増加	
ウサギ/不明	経口	3 ヵ月間	20 mg/kg/day	雌雄不明: 11 匹	肝細胞の水腫性変性、肝硬変	4.2.3.7.5-3
S.typhimurium	復帰突然変異試験	処理時間: 15 分間	100～500 µg/plate[c)]	該当せず	S9- :陰性 S9+ :陰性	4.2.3.7.5-4
			500 µg/plate[d)]	該当せず	S9+ :陰性	
		処置時間: 3 日間（TA100）5 日間（TA98）	TA100 : 10～20 µg/mL TA98 : 10～40 µg/mL	該当せず	S9- :陰性	4.2.3.7.5-5
		処置時間: 2 日間	TA100 : 20～500 µg/2 mL top agar	該当せず	S9- : 陰性 S9+ : 陰性	
HT 29 細胞	*In vitro* コメットアッセイ	処置時間: 60 分間	25～300 µM	該当せず	S9- : 陽性	4.2.3.7.5-6
L5178Y 細胞	マウスリンフォーマ TK 試験	処置時間: 4 時間	5～100 µg/mL	該当せず	S9- : 陽性（≥ 40 µg/mL）	4.2.3.7.5-7
			42～115 µg/mL	該当せず	S9- : 陽性（≥ 61.1 µg/mL） S9+ : 陰性	4.2.3.7.5-8
			1.88～125 µg/mL	該当せず	S9- : 陰性 S9+ : 陰性	4.2.3.7.5-9

a）LCA-Na を使用。

b）1 週間混餌投与を実施後、餌中の LCA が不安定であったため、7 週間の経口投与に切り替えた。混餌投与時の餌中 LCA 濃度は 464、681、1,000、1,470、2,150 mg/kg 投与群でそれぞれ、6,800、10,000、14,700、21,600、31,500 ppm。

c）TA1538 株使用。d）TA1530、G46、TA1535、TA1536、TA1537、TA1538、TA98、TA100 株使用。

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

被験物質：LCA

動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	記載箇所
マウス/B6C3F1	経口	103 週間	125、250 mg/kg/day（3 回/週）	雌雄各 50 匹	雌でわずかな体重の低値がみられた。LCA 投与に関連した腫瘍発生はみられなかった。	4.2.3.7.5-2
ラット/F344	経口	103 週間	250、500 mg/kg/day（3 回/週）	雌雄各 50 匹	対照群と比較して LCA 投与群で腎臓の慢性炎症がみられたが、LCA 投与に関連した腫瘍発生はみられなかった。	
ラット/F344	注腸	46 週間	MNNG 2.5 mg/回/匹注腸投与後、20 mg/回（3 回/週）[a)]	雌: 24 匹	MNNG + LCA-Na 投与群では無菌ラット及び通常ラットともに、MNNG 単独投与群に比べて結腸の腫瘍発生率が有意に増加した。	4.2.3.7.5-10
ラット/SD	注腸	11 ヵ月	MNNG 4 mg 単回/注腸投与後、1 mg/回（総投与量 240 mg）	雌雄各 16 匹	MNNG + LCA 投与群では大腸の腫瘍発生率が MNNG 単独投与群よりも有意に増加した。各群、性差はなし。	4.2.3.7.5-11
ラット/SD	混餌	妊娠 0～20 又は 21 日目	0.8% in diets（約 800 mg/kg/day）	雌: 12 匹	母動物:摂水量増加、肝小葉構造消失、肝細胞の核濃縮 仔動物:体重減少、肝臓重量減少、肝小葉構造消失、肝細胞の核濃縮、肝臓中 ALP 増加	4.2.3.7.5-12
ラット/SD	飲水	妊娠 0～19 日目	0.8% in water（約 2,000 mg/kg/day）	雌: 22 匹	胎児:体重、胎盤及び肝臓重量減少、肝小葉の放射状構造消失及び赤芽球浸潤、肝臓中 ALP 減少 仔動物:肝臓中 ALP 増加	

a）LCA-Na を使用。

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

被験物質：UDCA

動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	記載箇所
代謝物（UDCA）						
マウス/dd	経口	単回	5,000、 10,000 mg/kg	雌雄各 10 匹	LD_{50} : > 10,000 mg/kg（雌雄）	4.2.3.7.5-13
ラット/Wistar	経口	単回	2,000、 5,000 mg/kg	雌雄各 10 匹	LD_{50} : > 5,000 mg/kg（雌雄）	
ラット/Wistar	経口	5 週間 a)	500、1,000、 2,000、 4,000 mg/kg/day	雌雄各 10 匹	NOAEL : > 4,000 mg/kg/day（雌雄）	4.2.3.7.5-14
ラット/Wistar	経口	3 ヵ月 a)	500、1,000、 2,000、 4,000 mg/kg/day	雄: 5 匹	2,000 mg/kg/day :肝臓の小壊死巣 4,000 mg/kg/day :体重増加抑制 NOAEL : 1,000 mg/kg/day	4.2.3.7.5-15
ラット/Wistar	経口	6 ヵ月 a)	500、1,000、 2,000、 4,000 mg/kg/day	雄: 15 匹	≥ 1,000 mg/kg/day :肝臓の胆管系に対する毒性 4,000 mg/kg/day :死亡増加傾向、体重増加抑制 NOAEL : 500 mg/kg/day	4.2.3.7.5-16
サル/アカゲザル	経口	6 ヵ月	40、 100 mg/kg/day	雌雄各 2 匹	NOAEL :雌雄> 100 mg/kg/day 胆汁中 LCA の増加はほとんどなし。	4.2.3.7.5-17
S.typhimurium	復帰突然変異試験	処置時間: 3 日間（TA100） 5 日間（TA98）	20、40、 50 µg/mL	該当せず	TA98 :陽性、TA100 :陰性	4.2.3.7.5-5
		処置時間: 2 日間	20、30、40、 50、100、 500 µg/2 mL top agar	該当せず	S9- :陰性 S9+ :陰性	
ヒト末梢血リンパ球	小核試験	処置時間: 48 時間	10、30、 100 µg/mL b)	該当せず	10、30 µg/mL :陰性 100 µg/mL :陽性	4.2.3.7.5-18

a）週 6 日投与。b）UDCA-Na を使用。

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

被験物質：UDCA

動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	記載箇所
ラット/F344	混餌	28 週間	0.2、0.4% in diets	雄: 45～48 匹	15 mg/kg /回の AOM を 2 週間に 1 回皮下投与し、28 週間混餌投与した。0.2% UDCA 投与群で結腸腫瘍の発生率に差はなく、0.4% UDCA 投与群で有意に減少した。	4.2.3.7.5-19
ラット/F344	混餌	27 週間	0.08、0.4% in diets	雄: 25～50 匹	2 mg/回の MNU を週 3 回 3 週間注腸投与後、27 週間混餌投与した。0.08 及び 0.4% UDCA 投与群ともに結腸腫瘍の発生率が有意に減少した。	4.2.3.7.5-20
ラット/Wistar	経口	雄:交配開始前 63 日間 雌:交配開始前 14 日間～妊娠 7 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	雄: 10 匹 雌: 30 匹	≥ 1,000 mg/kg/day :雌で体重増加抑制がみられた。 2,000 mg/kg/day :雌の体重増加抑制、交配率と妊娠率が低下傾向、生存児数減少、吸収胚数増加がみられた。	4.2.3.7.5-21
マウス/dd	経口	妊娠 7～12 日目	300、1,500 mg/kg/day	雌: 16～17 匹	1,500 mg/kg/day :母体及び胎児の平均体重減少がみられたが、胎児で催奇形性等のその他の異常所見はみられなかった。	4.2.3.7.5-22
ラット/Wistar	経口	妊娠 7～17 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	雌: 19～30 匹	2,000 mg/kg/day :吸収胚を主とする死亡胎児の有意な増加、胎児及び新生児の体重減少がみられたが、外表、一般分化、機能的所見、自発運動、学習能力、生殖能力及びその胎児所見など次世代に対して、異常所見はみられなかった。	4.2.3.7.5-23
ラット/Wistar	経口	妊娠 9～14 日目	300、4,000 mg/kg/day	雌: 15～17 匹	4,000 mg/kg/day :母体の体重増加抑制、胎児の平均体重の減少がみられたが、催奇形性を含むその他の異常所見はみられなかった。	4.2.3.7.5-22
ウサギ/NZW	経口	妊娠 6～18 日目	5、10、20 mg/kg/day	雌: 11 匹	≥ 5 mg/kg/day :母体及び胎児並びに出生児への影響はみられず、催奇形性を含むその他の異常所見もみられなかった。	4.2.3.7.5-24
ラット/Wistar	経口	妊娠 17～分娩後 21 日目	250、1,000、2,000 mg/kg/day	雌: 21～22 匹	2,000 mg/kg/day :母体の体重増加の抑制がみられたのみで、母体の妊娠所見、新生児の所見、新生児の生殖能力及び次世代などに対する影響は認められなかった。	4.2.3.7.5-25