

令和7年度 厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告

曝露情報を考慮した化学物質のリスク評価法に関する研究（25KD2001）

研究代表者 諫田 泰成

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 部長

研究要旨

化学物質のリスク評価では、動物試験等により得られた最小毒性量等を基に、種差や個体差などを考慮した不確実係数を適用することで、有害性評価値が算定される。適切な有害性評価値を得るためには、不確実係数を科学的データに基づいて精緻化することが重要である。不確実係数の精緻化に必要な情報としては、当該化学物質摂取時における各臓器の曝露濃度、血中濃度、代謝・排泄などの体内動態に関するデータが挙げられる。多くの化学物質について有害性評価は実施されているものの、体内動態と毒性影響との関連性まで踏み込んで評価された例は限られており、不確実係数の精緻化における課題となっている。

国際的には、OECDにおける発達神経毒性（DNT）やPBKに関する専門家会合等において、*in vitro* 評価系の開発およびその活用方法に関する検討が進められている。進行中のバリデーションを通じて、複数の *in vitro* 評価系について、それぞれの適切な利用範囲や改良すべき課題が明らかになることが期待される。一方で、その妥当性を担保するためには *in vivo* データとの相関を明確にする必要があり、継続的な情報収集と検証が不可欠である。

このような背景から、各臓器における曝露濃度と毒性影響との関係性を評価する手段として *in vitro* 実験の活用が期待されているが、*in vitro* から *in vivo* への適切な外挿（IVIVE）を行うためには、化学物質の体内動態と毒性影響を関連付けた具体的なケーススタディの蓄積が必要である。

そこで本研究では、複数の化学物質を対象として、動物における体内曝露データおよび毒性データ、さらにそれらを踏まえた *in vitro* 実験データを取得・比較することにより、体内曝露と毒性影響との関係や、*in vitro* から *in vivo* への適切な外挿方法に関するケーススタディを実施し、リスク評価に資する体内曝露評価手法の構築を目指す。

本年度はまず、これまでにハザード評価が実施されている化学物質の中から、体内曝露評価の検討が特に重要と考えられる物質の調査を開始した。具体的には、化審法における優先評価化学物質を対象とし、国内外のハザード評価において神経毒性などが報告されていること、ならびに代謝により毒性の発現や変化が示唆されていること等の観点から、初年度の対象物質としてアクリルアミド（acrylamide）を選定した。次に、*in vitro* PoD 当該物質について、市販の体内動態シミュレーターである Simcyp を用い、既存の文献情報等を活用して、親化合物であるアクリルアミドおよび主要代謝物であるグリシダミド（glycidamide）の体内動態データを推定した。さらに、OECD PBK ガイダンスやDNT-IVB IATA case study の分析に基づき、*in vitro* 試験を実施し、得られたデータを基に体内曝露評価を行った。その結果、7.0 mg/kgBW と推定できた。

今後は、これらの結果を用いて毒性影響と体内曝露との関連性を解析するとともに、体内動態シミュレーションを通じて体内曝露関連パラメーターを整理し、不確実係数の精緻化に資する特徴量の抽出を目指す。

将来的には、本研究で得られた知見を基に、不確実係数の精緻化や *in vitro-in vivo* 外挿に関する国際的なガイドライン策定等に貢献し、化審法における有害性評価値の適切な算定を通じて、化学物質管理の高度化に資することが期待される。

研究分担者

田中庸一 国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部 室長

A. 研究目的

化学物質のリスク評価では、動物試験等により得られた最小毒性量（NOAEL、BMDL 等）を基に、種差や個体差を考慮した不確実係数を適用することで、有害性評価値が算定されてきた。一方、近年は 3Rs 原則の遵守やヒト予測性の向上の観点から、ヒト細胞試験や *in*

silico 評価手法を含む New Approach Methodologies（NAMs）の活用に関する国際的議論が進展している。これらの新たな評価手法をリスク評価に実装するためには、動物試験とヒトにおける予測性の差異、すなわち *in vitro* と *in vivo* を橋渡しする外挿（IVIVE: In Vitro-In Vivo Extrapolation）に関する課題への対応が不可欠である。

しかしながら、IVIVE の具体的手法や、毒性発現機序に基づいた適切な評価エンドポイントの設定については、いまだ十分に確立されていない。動物試験に依存した従来の評価体系から、ヒト予測性の高い *in vitro*・

in silico 手法へと移行するためには、体内動態情報を含めた科学的根拠に基づく外挿手法の構築が求められている。

本研究では、農薬や食品などに含まれる化学物質およびその代謝物について、臓器ごとの体内曝露情報を収集・整理し、既存のハザード評価結果や文献情報と統合することにより、毒性に関与する代謝物や想定される作用メカニズムを含めた包括的解析を行う。これにより、不確実係数の精緻化を通じた有害性評価値の適切な算定など、化学物質管理に資するリスク評価手法の確立を目指す。

不確実係数の精緻化に関しては、WHO により化学物質特異的調整係数 (Chemical-Specific Adjustment Factor; CSAF) の概念が提唱され、体内動態データの活用が国際的に進められている。しかし、十分な動態データが得られている化学物質は限られており、とくに血中濃度以外の脳など臓器特異的な曝露データは極めて乏しい。複数の化学物質カテゴリーを対象とした体内曝露のケーススタディを蓄積することで、化学物質管理法 (化審法、毒劇法、家庭用品規制法等) における優先評価化学物質や新規規制候補物質、基準値見直し対象物質の評価に必要な曝露関連データおよびその収集手法に関する知見が得られ、規制への直接的な活用が期待される。

さらに近年、Physiologically based kinetic (PBK) モデルを用いたヒト体内動態シミュレーションは、動物実験に依存しないヒト予測性評価手法として OECD を中心に注目されており、ヒト細胞を用いた in vitro 試験 (NAMs) と体内動態モデルを統合した定量的安全性評価の枠組みが国際的に進展し、OECD ガイダンスも公表された。この枠組みでは、in vitro 試験から得られた毒性発現濃度 (EC10、BMD 等) を Point of Departure (PoD) として、PBK モデルによる逆推定 (reverse dosimetry) を行い、外部投与量に換算した Administered Equivalent Dose (AED) を算出する。得られた AED を実際のヒト曝露量と比較することで Margin of Exposure (MOE) を導出する手法は、従来の動物試験由来 BMDL に基づく MOE 評価と概念的に整合するが、このアプローチがどの程度実用的に利用可能であるかについて十分な検証が行われておらず、今後の規制における利用のボトルネックとなっている。

そこで本年度は、ケーススタディとしてアクリルアミドを対象物質として選定した。アクリルアミドは食品の加熱調理過程等により生成され、ヒトにおける曝露が懸念されている化学物質である。また、体内で反応性の高い代謝物である グリシダミド (Glycidamide; GA) に代謝されることが知られており、神経毒性の定量的評価が重要な課題とされている。本研究では、先行研究および既存データを基に、in vitro 試験データから体内曝露量を推定し、毒性評価へと外挿する手法の検討を行い、NAMs と PBK モデルを統合したリスク評価の実現可能性について検討することを目的とする。

B. 研究方法

1. ヒトにおける体内動態のシミュレーション

PBPK ソフトウェア Simcyp を用いて、アクリルアミドとグリシダミドのヒトにおける体内動態のシミュレーションを行った。

まず、Simcyp によるアクリルアミドの体内動態のシミュレーション精度を評価するために、シミュレーション結果と既報のアクリルアミドに関するヒト体内動態データ (Johansson Y et al., 2024) を比較した。アクリルアミドとグリシダミドの物理化学的特性に関するパラメーターは PubChem から収集した。ヒトの ADME に関するパラメーターは既報 (Johansson Y et al., 2024; Li Y et al., 2022) より収集した。パラメーターには、ヒトにおける実測値、ラットにおける実測値、物理化学的特性をもとに Simcyp 内で計算された値、および Simcyp の初期値を含む。シミュレーションの対象集団として、Simcyp に搭載されている Healthy Volunteers (20-40 歳の男女 100 人、男女比 1:1) を用い、アクリルアミドの 0.02 mg/kgBW、0.1 mg/kgBW (いずれも単回経口投与時) について、アクリルアミドとグリシダミドの体内動態をシミュレーションした。アクリルアミド、グリシダミドのそれぞれにおいて、非結合型の最高血中濃度 $C_{\max}$ (free)、結合型と非結合型を合わせた最高血中濃度 $C_{\max}$ (total)、最高血中濃度到達時間 $T_{\max}$ を得た。

さらに、アクリルアミドに関して、頭蓋内血漿 (intracranial plasma)、脳間質液 (ISF: interstitial fluid)、頭蓋内脳脊髄液 (cranial CSF: cerebrospinal fluid)、脊髄内脳脊髄液 (spinal CSF)、脳全体 (total brain) における最高濃度 $C_{\max}$ (total) と最高濃度到達時間 $T_{\max}$ を得た。

また、ヒト iPS 細胞由来神経細胞による試験で得られたベンチマークドーズ (BMD) を参考に、ヒト脳内で当該濃度に到達する際の経口摂取量を推定した。

2. MEA システムによるヒト iPS 細胞由来神経細胞の神経活動の解析

OECD において、神経毒性の機能評価法として MEA システムが利用されている。そこで、MED-PRESTO (アルファメッドサイエンティフィック社) を用いて神経ネットワーク活動を評価し、アクリルアミドの影響を解析した。

細胞播種前日 (播種開始 18 時間前) に MED-PRESTO 用 24 ウェルプレートに 0.005% ポリエチレンイミン (PEI) (0.005% PEI in 0.1 M Boric acid buffer solution (pH 8.5) でコーティングした。0.005% PEI 溶液を各ウェルに 1ml ずつ添加し、CO₂ インキュベーター内に 10 分間静置した後、滅菌水で 4 回リンスし、クリーンベンチ内で 15 時間乾燥させた。

播種 2.5 時間前に、成熟培地 (Neuronal Medium) (XCell Science 社) に iMatrix-511 (ニッピ社) を 12.5 μg/mL になるように加え、各ウェルに 200 μL 添加後、室温で 2.5 時間インキュベートした。細胞を解凍する直前に iMatrix-511 でコーティングした 24 ウェルプレートを CO₂ インキュベーター内に 30 分間静置した。その後直ちに CellSpotter (アルファメッドサイエン

ティフィック社) およびクローニングリング (AGC 社) をセットした。細胞を解凍後、2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ラミニンを含む播種培地 30 μl にて 30,000 細胞/ウェルでクローニングリング内の電極上に播種、 CO_2 インキュベーター内に静置した。

播種 1 時間後にクローニングリングおよび CellSpotter をゆっくり取り除いた。播種 2 時間後に 600 μL の成熟培地をゆっくり添加した。培養 2, 4, 6 日目は成熟培地で半量交換した。培養 8 日目に成熟培地を完全に取り除き、神経生理学用の無血清維持培地 (BrainPhys に SM1 Supplement を添加, STEMCELL Technologies 社) に交換した。

培養は 60 あるいは 61 日目まで行い、定期的 (3~4 日おき) に維持培地の半量交換および MEA システムによる測定を行った。また培養 60 日以降にアクリルアミドを 5 濃度ずつ添加し、その投与前後での神経活動データを取得した。投与前後の記録時間は 10 分間、化合物曝露時間は 10 分間とした。

なお、活性化電極 (1 分間に 5 スパイク以上観察された電極) が半数の 8 個以上存在するウェルに対して、1 ウェルあたり 1 濃度で化合物を添加した。

3. MEA データの解析方法

MEA 測定で得られたスパイクデータを元に、以下の 2 つのパラメーターについてデータ解析を行った。

- 電極における 1 秒間あたりのスパイク発生頻度 (MFR: Mean firing rate)
- 電極における 1 秒間あたりのネットワークバースト発生頻度 (NBF: Network burst frequency)

これらの数字から、エクセルソフトを用いてフィッティングを行い、BMD10%を算出した。

4. ヒト iPS 細胞由来血液脳関門 (BBB) の培養

ヒト iPS 細胞由来 BBB は、松永・坡下 (名古屋市立大学) らが樹立したものを、ドライシッパーで国立医薬品食品衛生研究所に輸送し、液体室素中に保存した (Yamashita et al. Fluids Barriers CNS (2020) 17:36)。

24 ウェルプレートのウェルに、セルカルチャーインサート (Merck, PIHP01250) をセットし、Fibronectin および Cellmatrix Type IV により 4°C 、一晚コーティングした。コーティング溶液を除去した後、セルカルチャーインサートをセットしたウェル内に 800 μl 、セルカルチャーインサート内に 200 μl の播種培地を注入し、 37°C で保温した。培地の組成は前掲の Yamashita らの文献に従った。凍結 BBB 細胞を液体室素から取り出し、バイアル内に 37°C に温めた播種培地 1ml を加え、30 回程度ピペッティングして解凍した。得られた細胞懸濁液を 8ml の播種培地に加え、100 x g、5 分、室温にて遠心した。細胞ペレットを 1ml の播種培地に懸濁してトリパンブルー染色の上で細胞数をカウントし、細胞の生存率が 80%以上であることを確認した。細胞懸濁液の細胞密度を $3 \times 10^6 \text{ cells}/\text{ml}$ に調整し、セルカルチャーインサートあたり 100 μl ($3 \times 10^5 \text{ cells}$) を添加した。各セルカルチャーインサート内の液を、400 μl にセットしたピペッターで 1 回ピペッティングして均一化し、

37°C 、5% CO_2 にて静置培養した。

血管内皮細胞培地 (米国 Thermo Fisher Scientific 社) をベースとした培養液で培養を行い、Endohm-6 カップ型電極 (米国 World Precision Instruments 社) を用いて経内皮電気抵抗値 (TEER) によりバリア機能を解析した。

5. ヒト iPS 細胞由来腸管上皮細胞の培養

24 ウェルプレートのウェルに、セルカルチャーインサートをセットし、マトリゲルで 30 分コーティングした。コーティング溶液を除去した後、セルカルチャーインサートをセットしたウェル内に 600 μl 、セルカルチャーインサート内に 75 μl の播種培地を注入し、 37°C で保温した。凍結ヒト iPS 細胞由来腸管上皮細胞 (F-hiSIEC、富士フィルム和光社) を液体室素から取り出し、 37°C ウォーターバスで解凍した。得られた細胞懸濁液を 9ml の播種培地に加え、200 x g、5 分、室温にて遠心した。細胞ペレットを 1ml の播種培地に懸濁してトリパンブルー染色の上で細胞数をカウントし、細胞の生存率が 95%以上であることを確認した。細胞懸濁液の細胞密度を $1 \times 10^6 \text{ cells}/\text{ml}$ に調整し、セルカルチャーインサートあたり 100 μl ($1 \times 10^5 \text{ cells}$) を添加した。各セルカルチャーインサート内の液を、1 回ピペッティングして均一化し、 37°C 、5% CO_2 にて静置培養した。その後 10 日間の前培養を行い、培養 11 日目に小腸上皮バリア機能の指標として経上皮電気抵抗 (TEER) を測定した。アクリルアミドを終濃度 $1 \mu\text{M}$ となるように F-hiSIEC に添加し、TEER を測定した。

6. 統計解析

データは全て平均値 $\pm$ 標準偏差で表し、統計学的処理には解析ソフト GraphPad Prism を用いた。

(倫理面への配慮)

動物実験は、国立医薬品食品衛生研究における動物実験に係る規定に基づく承認を得た上で、使用する動物数ならびに動物が受ける苦痛を最小限とするよう配慮して行う。また、ヒト iPS 細胞は細胞バンクより購入する等、適切に実験を実施した。

C. 研究結果

1. アクリルアミドの PBK モデルの構築

アクリルアミドを 0.02 mg/kgBW で単回経口投与した時のアクリルアミドおよびグリシダミドの血中動態を図 1、表 1 に示す。Simcyp によるシミュレーションでは、アクリルアミド (free 体) の C_{max} は $4.71 \times 10^{-4} \text{ mg}/\text{L}$ ($\approx 6.6 \text{ nM}$) であり、既報値 (10nM) に近似であった。アクリルアミドの脳内濃度に関しては、各部位ごとの推定値を表 2 に示す。

また、アクリルアミドを 0.1 mg/kgBW で単回経口投与した時のアクリルアミドおよびグリシダミドの血中動態 (図 2、表 3)、アクリルアミドの脳内濃度 (表 4) をそれぞれ推定した。

2. MEA による神経活動の解析

ヒト iPS 細胞由来神経細胞を培養し、これまでに最適化したプロトコルに従って、培養開始 60 日目以降にアクリルアミドを添加し、投薬前後のスパイクの頻度を示す MFR (図 1A)、ネットワークバーストの頻度を示す NBF (図 1B) の変化率を算出した。

ヒト iPS 細胞由来神経細胞にアクリルアミドを投与した結果、 $30\mu\text{M}$ で MFR は 30% 近くまで上昇し、NBF は $10\sim 30\mu\text{M}$ で約 30% 上昇した。いずれの指標も上昇ピークに達するまで濃度依存的に少しずつ上昇する傾向で、bell shape 型の用量反応曲線が得られた。

また、アクリルアミドの MEA パラメーターに関して BMD を解析した結果、どちらもアクリルアミドの BMD は $5.2\mu\text{M}$ と推定された。

3. BMD の算出

ヒト iPS 細胞由来神経細胞を用いた試験結果から得られたアクリルアミドの BMD を参考に、脳内において当該 BMD 濃度に達する経口投与量を Simcyp により推定した。その結果、成人にアクリルアミドを 7.0 mg/kgBW で単回経口投与した場合、脳間質液中の濃度が $5.2\mu\text{M}$ に達することが推定された。

4. PBK パラメーター用のヒト細胞プロトコルの検証

PBK モデルの改良に向けて、中枢移行性や小腸の吸収のパラメーターを取得する必要があると考えられた。そこで、それぞれカルチャーインサートに培養し、透過性のプロトコルを検証した。その結果、ヒト iPS 小腸のタイトジャンクションの形成を確認できた (図 4)。 $1\mu\text{M}$ アクリルアミドとグリシダミドは、小腸の TEER を少し阻害する活性があり、影響はほぼ同程度であった (図 5)。

また、BBB に関してもルシファーイエローによって適切にタイトジャンクションが形成されていることを確認した (図 6)。 $1\mu\text{M}$ アクリルアミドとグリシダミドは BBB の TEER を阻害する活性を見出し、影響はほぼ同程度であった (図 7)。

これらのデータをもとに、培養液中のアクリルアミドおよび主要代謝物であるグリシダミドの定量方法を構築した。図 8 に示すように、よい直線性が得られた。今後、インサートの上層と下層の化学物質の量を定量することにより、パラメーターの算出に活用する予定である。

D. 考察

本研究では、PBPK シミュレーター Simcyp を用いてアクリルアミド (AA) およびグリシダミド (GA) の体内動態を予測したところ、推定された血中 C_{max} は既報値と良好に一致し、Simcyp による化学物質の動態予測の有用性が示唆された。また、ヒト iPS 細胞由来神経細胞から得られた AA の BMD に基づき、脳内濃度が当該 BMD に到達する単回経口摂取量は 7 mg/kg 体重/日と推定された。食品安全委員会 (2016 年) の評価書では、ラットの NOAEL が歩行障害に基づき 7.89 mg/kg/ 日とされており、本推定値はヒトとラットが類似の摂

取量で神経毒性を示す可能性が示唆された。

化学物質は医薬品と比べヒト ADME 情報が乏しいことから、ヒト iPS 細胞由来消化管細胞による吸収特性、代謝速度などの *in vitro* データ、iPS 由来 BBB モデルから得られる透過パラメーターを組み込むことで予測精度が向上すると考えられることから、LC-MS/MS にて、AA および GA の定量法を構築した。

PBPK シミュレーター Simcyp を用いたアクリルアミドおよびグリシダミドの体内動態予測については、推定された血中 C_{max} に関して既報値と同等の結果が得られたことから、Simcyp による化学物質の体内動態予測は有用であることが示唆された。さらに、ヒト iPS 細胞由来神経細胞から得られたアクリルアミドの BMD に、脳内濃度が達する際の単回経口摂取量を推定した。2016 年の食品安全委員会による「評価書：加熱時に生じるアクリルアミド」内の資料では、ラットにおけるアクリルアミドの NOAEL を歩行障害に基づき 7.89 mg/kg 体重/日と判断しており、ヒトとラットで同程度の摂取量で神経毒性を生じる可能性が示された。

一方で、医薬品と比較して、化学物質についてはヒトにおける ADME に関するパラメーター情報が乏しく、現時点でのシミュレーションでは、Simcyp の規定値を用いているパラメーターもある。高精度な体内動態予測には、ヒト生体における消化管吸収や代謝速度などのデータが必要である。この課題に対し、たとえばヒト iPS 細胞由来消化管細胞などを用いた *in vitro* データが有用であると考えられる。得られるデータは、ヒト生体のデータとは一定の乖離があると推察されるものの、化学物質の吸収特性を評価する上で重要なパラメーターとなることが期待される。また、AA および GA の脳内移行量の推定に関しても、BBB の透過性などのデータが必要であり、こちらについてもヒト iPS 細胞由来 BBB 細胞を用いた *in vitro* 実験により、透過速度などのパラメーターを取得できる。*in vitro* 実験により得られたパラメーターを Simcyp に組み込むことで、AA や GA のより高精度な体内動態予測が可能になると考える。

また国際動向については、定期的開催された OECD の DNT Expert Group の Web 会議には、OECD 事務局に加えて NIEHS, FDA, EFSA, EPA, 日本 (NIHS)、企業など各国から参加され、適切な化合物を選定するための基準作成の議論を進めている。また、PBK モデルを *in vitro* データと規制上のリスク評価を橋渡しする基盤技術として利用できるのか議論された。その結果、DNT を例にして、外部曝露から内部濃度を推定する「順方向」の解析に加え、*in vitro* PoD に対応する内部濃度から外部曝露量を逆算する「逆方向」(reverse dosimetry) の考え方を議論して、DECD ガイダンスとして整理されることとなった (OECD No. 411, “Principles of quantitative *in vitro* to *in vivo* extrapolation (QIVIVE) – As example applied to the DNT IVB”, 2025 年)。

特に重要な点として、OECD は Margin of Exposure (MOE) の数値基準を定義することよりも、PoD (*in vitro*) を規制目的に利用可能な投与量へ変換するための科学的妥当性、透明性、再現性の確保に重点を置いている。すなわち、PBPK モデルの構造、パラメーター根

抛、感度解析、不確実性の記述を標準化することで定量的 IVIVE (in vitro-in vivo extrapolation) /QIVIVE (定量的 IVIVE) のアプローチが注目されている。

実際、ピレスロイド系農薬デルタメトリンを対象としたケーススタディでは、DNT IVB における最小 PoD (BMC、約 0.5 μ M) と、PBK モデルにより推定された妊娠期曝露条件下のヒト胎児脳内濃度が直接比較されている。その結果、ADI レベル等の現実的な曝露条件下で推定される胎児脳内濃度は、in vitro PoD を数桁下回ることが示され、保守的な仮定を置いた最悪ケースシナリオにおいても、十分な内部曝露ベースの margin が維持されることが報告されている (Maass et al., 2023)。この知見は、DNT IVB が発達神経毒性に関連する Key Event を高感度に検出するツールである一方、in vitro で反応が観察される濃度域と、現実的なヒト曝露条件で脳内濃度域との間に定量的な乖離が存在することを示すものである。したがって、本結果は DNT IVB の妥当性を議論するものではなく、曝露情報と統合して解釈する必要性を支持する事例である。しかし、これらの結果から NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) を直接導出することは適切ではない。NOAEL は in vivo 試験における最終的な有害影響に基づく概念であり、DNT-IVB が評価対象とする Key Event レベルの変化とは定義が異なる。OECD の IATA および QIVIVE 関連ガイダンスにおいても、in vitro PoD は PBK モデルを用いて曝露量と比較し、内部曝露ベースの margin (MOIE) として評価することが推奨されている (OECD ガイダンス)。今後、さらにエビデンスを蓄積する必要がある。

今後、本研究のケーススタディの成果をさらに発展させ、構造的特徴や推定される作用メカニズムが異なる化学物質のデータを蓄積することにより、不確実係数の精緻化や in vitro-in vivo 外挿に関する国際ガイドラインの作成等を通じて、化審法における有害性評価値の適切な算定など化学物質管理への貢献が期待される。

E. 結論

本研究では、PBPK シミュレーター Simcyp を用いてアクリルアミド (AA) およびグリシダミド (GA) の体内動態を予測したところ、推定された血中 C_{max} は既報値と良好に一致し、Simcyp による化学物質の動態予測の有用性が示唆された。

国際的には、OECD および EPA が主導する DNT の専門家会議において、限られたケーススタディによって、複数の in vitro 評価系についてそれぞれ適切な利用範囲および改良すべき課題が明らかになると期待され、継続的な情報収集が必要と考えられた。今後、適切な化合物の選定と PBK モデルの検証により in vitro PoD の活用が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

[1] Liu X, Higuchi Y, Sakamoto Y, Yanagida S, Uehara S, Suemizu H, Kanda Y, Kawagishi H. In Vitro Assessment of Drug-Induced Liver Injury

Using Three-Dimensional Cultured HepaSH Cells Derived From Chimeric Mouse Model With Humanized Liver. *J Appl Toxicol.* 2025 Dec;45(12):2641-2653.

[2] Pierson JB, Bahinski A, Berridge B, Bramham D, Bourcier T, Chaudhary KW, Eldridge S, Kanda Y, Mattes WB, Oliphant J, Pang L, Savtchenko A, Siegel J, Simpson N, Tu C, Wange R, Wu JC, Yang X. Validating and Using Cardiac NAMs for Toxicity Screening and Drug Development. *Int J Toxicol.* 2025 Nov-Dec;44(6):499-506.

[3] Lee CLM, Kanda Y, Yoshida S. Prenatal Acetamiprid Exposure Enhances Microglial Activation in Primary Microglia Culture. *Biol Pharm Bull.* 2025;48(7):1001-1007.

[4] Daston G, Burbank M, Gautier F, Hales BF, Jamalpoor A, Kanda Y, Makris S, Piersma AH, Powles-Glover N, Sobrian S, Sutherland V, Van Cruchten S, Wange RL, Chen CL. Hypothesis-driven approach to developmental toxicity assessment: Using mechanistic information to inform testing. *Reprod Toxicol.* 2026, 140:109119, doi: 10.1016/j.reprotox.2025.109119

[5] OECD (2025), Workshop Proceedings on Critical Innovations in pesticides safety testing and chemical risk assessment for developmental neurotoxicity (DNT), OECD Series on Testing and Assessment, No 412, OECD Environment, Health and Safety, Paris, [https://one.oecd.org/official-document/ENV/CBC/MONO\(2025\)10/en](https://one.oecd.org/official-document/ENV/CBC/MONO(2025)10/en) (2025 年 9 月 30 日、分担執筆)

2. 学会発表

1) 諫田泰成. ヒト iPS 細胞と分化細胞の適格性の考え方. 幹細胞を用いた化学物質リスク情報共有化コンソーシアム研究会, 東京 (2025 年 5 月)

2) Kanda Y. Advancement of DNT in vitro testing battery using human iPSC-neurons and iPSC-blood-brain barrier. 4th MPS world summit, Brussels (2025 年 8 月)

3) Kanda Y. One Health Approach by Transdisciplinary and Exploratory Research in Japan. WC13, Rio (2025 年 8 月)

4) Kanda Y. Regulatory Landscape of iPSC-derived Neurons and MEA Platforms for Seizure Risk and Developmental Neurotoxicity Assessment. MEA workshop 2025, Kyoto (2025 年 8 月)

5) Yamada S, Yasuhiko Y, Kanda Y. Involvement of thyroid hormone receptor α in developmental neurotoxicity. フォーラム 2025 衛生薬学・環境トキシコロジー, 愛知 (2025 年 9 月)

6) Kanda Y. Current Status and Challenges of NAMs for Chemical Safety Assessment in Japan. 第 7 回ラテンアメリカ MAPEF (規制目的の農薬毒性試験における動物実験代替法) ワークショップ, online (2025 年 11 月)

- 7) 諫田泰成. 甲状腺ホルモンと発達神経毒性. 日本動物実験代替法学会第 38 回大会, 横浜 (2025 年 11 月)
- 8) 諫田泰成. OECD PBK ガイダンスの現状と課題. 日本動物実験代替法学会第 38 回大会, 横浜 (2025 年 11 月)
- 9) 諫田泰成. 発達神経毒性ガイダンスの現状と課題. 第 11 回ゼブラフィッシュ・メダカ創薬研究会, 浜松 (2025 年 11 月)
- 10) 諫田泰成. 医薬品開発におけるヒト生理的モデルの推進と今後の展望. 第 103 回日本生理学会, 東京 (2026 年 3 月)
- 11) 諫田泰成. ヒト iPS 細胞由来分化細胞を含む NAMs を基盤とした創薬の現状と将来展望, 第 99 回日本薬理学会年会, 第 99 回日本薬理学会年会, 仙台 (2026 年 3 月)
- 12) 山田茂, 諫田泰成. 発達期神経毒性における甲状腺ホルモン受容体 α の役割, 第 99 回日本薬理学会年会, 仙台 (2026 年 3 月)
- 13) 若林俊助, 大黒亜美, 宮良政嗣, 諫田泰成, 古武弥一郎. 発達期神経ネットワークの遺伝×環境相互作用解析に向けた MEA アプローチ, 日本薬学会第 146 年会, 大阪 (2026 年 3 月)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

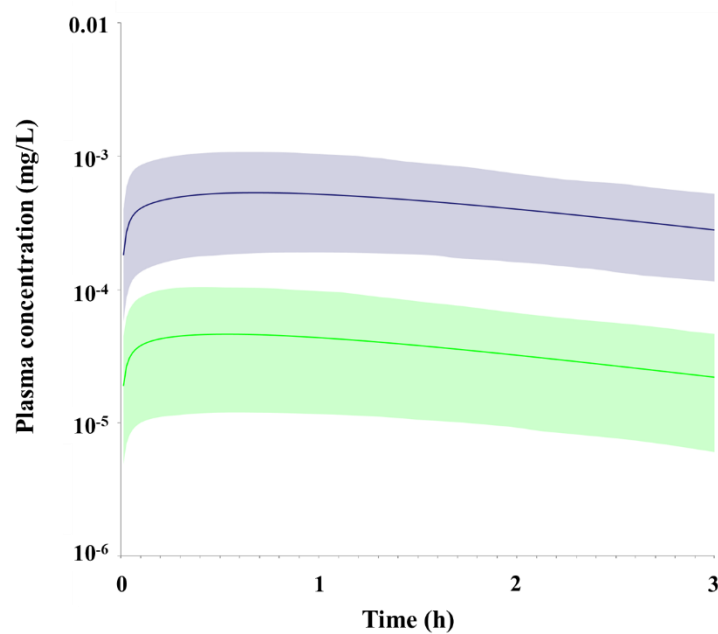


図1 0.02 mg/kgBW 投与における体内動態

アクリルアミド（紺）、グリシダミド（緑）における中央値および95%信頼区間を示す。
Total 血中濃度。

Compound	Plasma C _{max} (total) (mg/L)	Plasma C _{max} (free) (mg/L)	T _{max} (h)
AA	5.30×10^{-4}	4.71×10^{-4}	0.68
GA	0.46×10^{-4}	0.42×10^{-4}	0.54

表 1 0.02 mg/kgBW 投与におけるアクリルアミド (AA)、グリシダミド (GA) の血中動態

	Brain	Plasma C _{max} (total) (mg/L)	T _{max} (h)
AA	Intracranial plasma concentration	5.29×10^{-4}	0.71
	Brain Interstitial Fluid(ISF)	6.16×10^{-4}	0.89
	Spinal CSF concentration	2.81×10^{-4}	2.55
	Cranial CSF concentration	4.61×10^{-4}	0.89
	Total Brain concentration	1.70×10^{-4}	0.89

表 2 0.02 mg/kgBW 投与におけるアクリルアミドの脳内動態

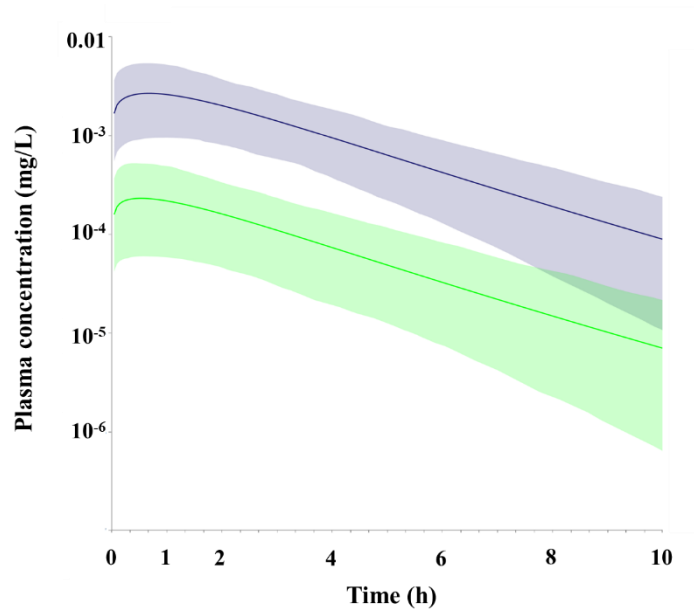


図2 0.1 mg/kgBW 投与における体内動態

アクリルアミド（紺）、グリシダミド（緑）における中央値および95%信頼区間を示す。
Total 血中濃度。

Compound	Plasma C _{max} (total) (mg/L)	Plasma C _{max} (free) (mg/L)	T _{max} (h)
AA	2.65×10 ⁻³	2.35×10 ⁻³	0.70
GA	0.23×10 ⁻³	0.21×10 ⁻³	0.55

表 3 0.02 mg/kgBW 投与におけるアクリルアミド (AA)、グリシダミド (GA) の血中動態

	Brain	Plasma C _{max} (total) (mg/L)	T _{max} (h)
AA	Intracranial plasma concentration	2.65×10 ⁻³	0.70
	Brain Interstitial Fluid(ISF)	3.09×10 ⁻³	0.90
	Spinal CSF concentration	1.41×10 ⁻³	2.55
	Cranial CSF concentration	2.31×10 ⁻³	0.90
	Total Brain concentration	0.85×10 ⁻³	0.90

表 4 0.1 mg/kgBW 投与におけるアクリルアミドの脳内動態

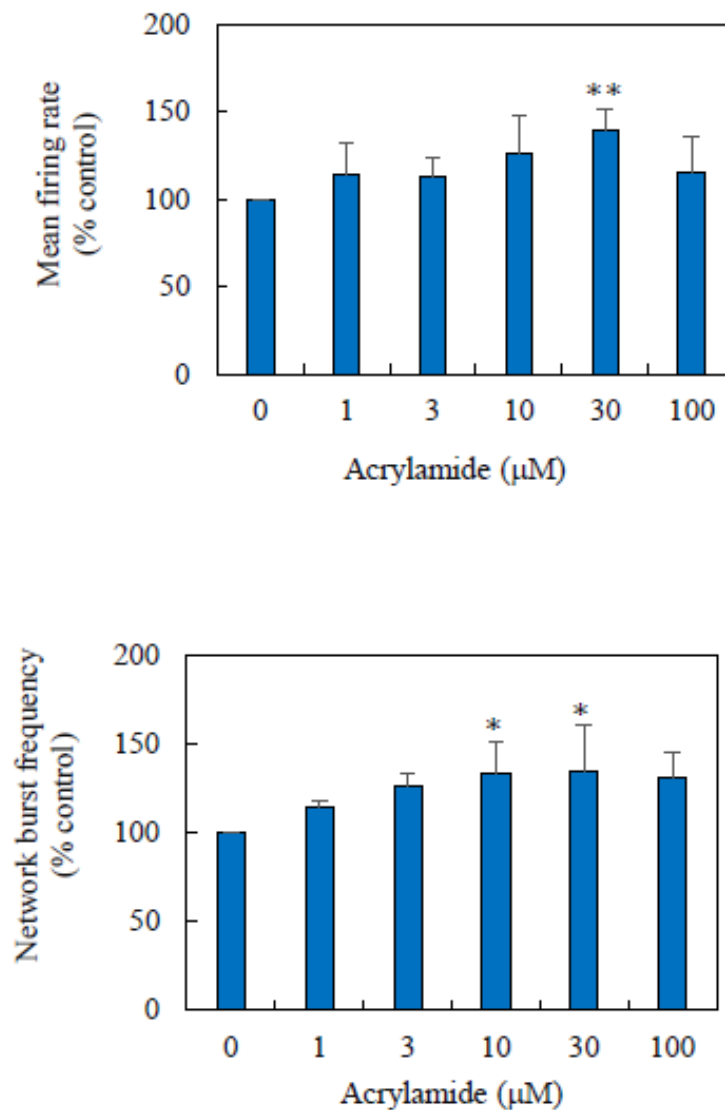


図3 ヒト iPS 神経に対するアクリルアミドの影響

累積投与によりスパイク・バースト指標に対するアクリルアミドの影響を調べた。投与前の値を 100%として、投与後の値を変化率として算出した。

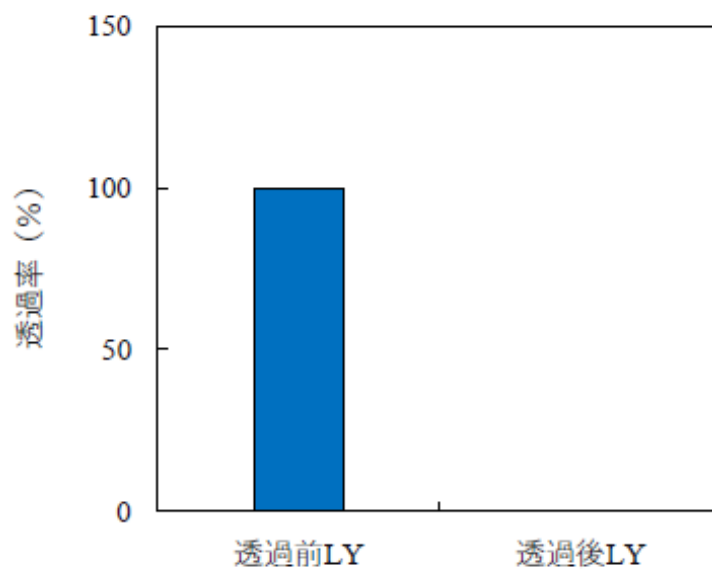


図4 ルシファーイエローによるヒト iPS 由来 BBB の品質評価

300 μ M ルシファーイエローを添加して1時間後に透過したルシファーイエローを蛍光測定した。透過前の値を100%として、透過後の値を変化率として算出した。

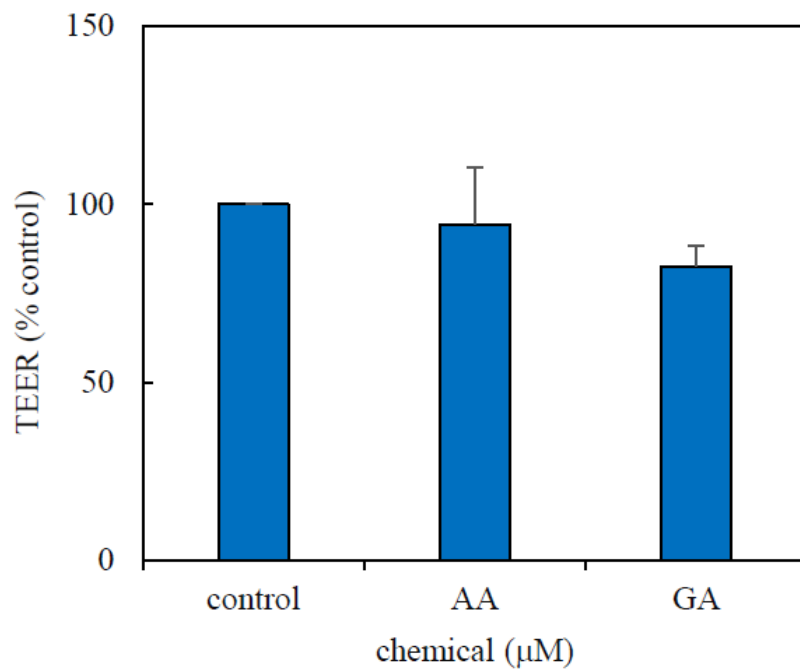


図5 ヒト iPS 由来 BBB に対するアクリルアミドと代謝物の影響

1 μM アクリルアミド及びグリシドアミドを添加して 24 時間後に TEER を測定した。
vehicle control の値を 100%として、各々添加後の値を変化率として算出した。

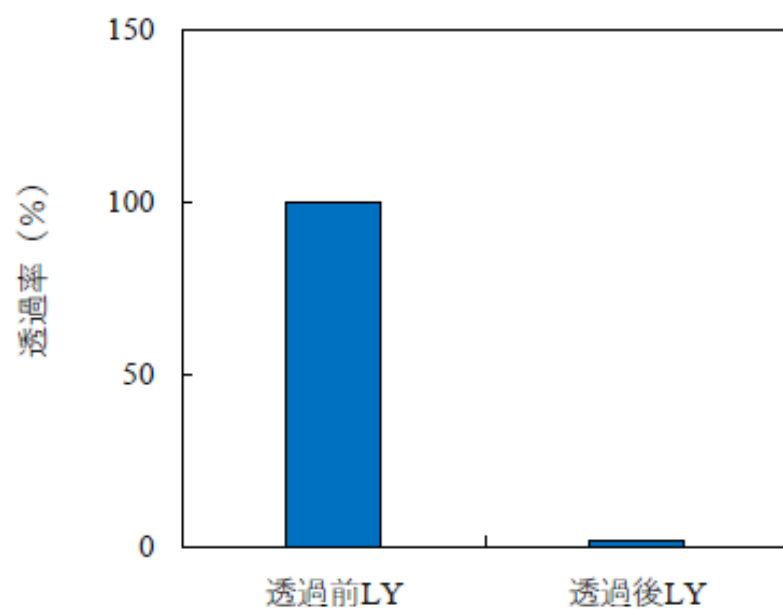


図6 ルシファーイエローによる市販ヒト iPS 小腸の品質評価

110 μ M ルシファーイエローを添加して1時間後に透過したルシファーイエローを蛍光測定した。透過前の値を100%として透過後の値を変化率として算出し、バリア機能を評価した。

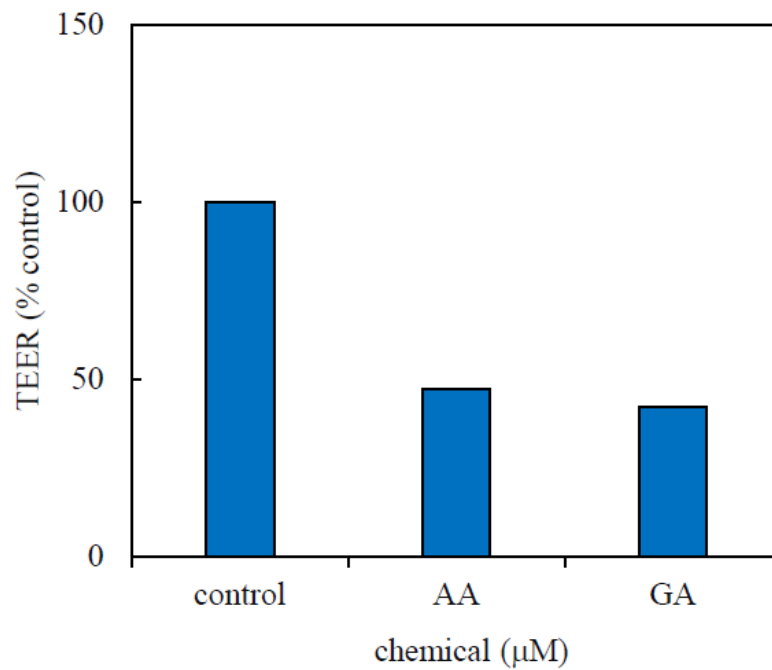


図7 ヒト iPS 小腸に対するアクリルアミドとグリシドアミドの影響

1μMアクリルアミド (AA) およびグリシドアミド (GA) を添加して24時間後にTEERを測定した。vehicle controlの値を100%として、各々添加後の値を変化率として算出した。