

News Release



令和8年3月5日

各報道機関 文教担当記者 様

食品・医薬分野の毒性試験を革新する新規溶媒を開発 — 難溶性成分の評価精度向上と幅広い応用に期待 —

金沢大学理工研究域生命理工学系の黒田浩介准教授、久保田祐介博士後期課程学生（兼：サントリーホールディングス株式会社研究員）らの研究グループは、サントリーホールディングス株式会社との共同研究で、**低毒性で細胞に優しい双性イオン液体 OE₂imC₃C を用いることで、従来のジメチルスルホキシド（DMSO）では困難であった食品添加物の *in vitro*（細胞）試験を遂行できることを新たに見出しました。**

エラグ酸は抗がん作用、抗酸化作用、および抗糖尿病作用などの機能を有することから、サプリメントとして利用されています。一方で、水や DMSO に難溶であるため、毒性試験の実施には技術的な課題があります。実際、*in vivo*（生体）試験では肝毒性が認められない一方、*in vitro*（細胞）試験では高濃度で肝細胞障害が示され、この矛盾の理由は不明でした。本研究では、*in vitro* で観察される毒性は、DMSO に溶解しなかった、または析出したエラグ酸結晶による細胞への物理的損傷が原因であることを明らかにしました。さらに、黒田らが開発した新規溶媒 OE₂imC₃C（図 1）を用いることでエラグ酸の溶解性が向上し、*in vitro* 試験の信頼性を改善できることを確認しました。

本研究で得られた結果より、**OE₂imC₃C を使った *in vitro* 試験法は、食品・医薬分野における難溶性物質の評価を可能にするのみならず、動物実験の低減にも寄与する有用な手法であり、今後の実用化と応用領域の拡大が期待されます。**

本研究成果は、2026年3月1日0時（日本時間）に『*The Journal of Toxicological Sciences*』のオンライン版に掲載されました。

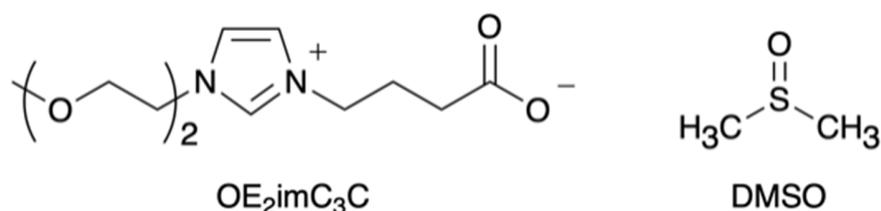


図 1. OE₂imC₃C（黒田らのグループで開発）と DMSO（市販の低毒性有機溶媒）の化学構造

【本研究成果のポイント】

- ・OE₂imC₃C は、毒性試験で汎用される肝細胞においても細胞毒性が DMSO よりも低く、安全な溶媒であることを証明。
- ・OE₂imC₃C は、復帰突然変異試験および染色体異常試験において陰性であり、遺伝毒性の懸念がないことを証明。
- ・エラグ酸などの難溶性成分に対して高い溶解性を発揮し、*in vitro* 毒性試験における被験物質の析出、およびそれに伴う細胞の物理的な障害を防止。
- ・Hansen 溶解度パラメータに基づき、多数の食品成分に適用できる可能性があることを科学的に裏付け。
- ・動物福祉の観点から動物実験を低減させることが求められるため、*in vitro* 試験の重要性が増している。その精度向上により、食品・医薬分野に寄与。

【研究の背景】

近年、動物福祉への関心の高まりから、世界的に動物実験の削減や代替を求める流れが強まっています。欧州連合では 2007 年に化学物質の安全性評価に関する REACH 規則を導入し、2013 年には化粧品における動物実験を全面的に禁止しました。これに伴い、医薬品、化粧品、農薬、食品などの分野では、動物を用いない新たな安全性評価手法（NAMs：New Approach Methodologies）が積極的に導入されつつあります。特に、***in vitro* 試験**や *in silico* 予測手法は、国際的にも重要な代替技術として注目されています。

しかし、*in silico* 予測は学習データが乏しい天然物や混合物には適用が難しく、現在承認されている多くの代替試験法は**細胞を用いた *in vitro* 試験**が中心です。その一方で、*in vitro* 試験では「**被験物質が培養液に溶解しない（難溶性）**」という重大な課題が存在します。すなわち、細胞試験では沈殿・浮遊によって生理的な作用を示さない、あるいは鋭利な結晶が細胞膜を物理的に傷つけ、**見かけ上、毒性影響が生じているかのような結果**をもたらすことがあります。

医薬品開発の分野では、開発候補化合物の約 75%が低溶解性であり（BCS クラス II・IV）、食品分野でもポリフェノール類やフラボノイドなどの機能性成分の多くが水やアル

コールにほとんど溶けません。例えば、抗酸化・抗がん作用を持つエラグ酸も極めて水に難溶なため、従来の DMSO を用いた評価系では結晶析出による細胞障害が問題となっていました。

DMSO は ICH ガイドラインでクラス 3 溶媒（低毒性）に分類され、最も広く使用される試験溶媒ですが、

- すべての疎水性化合物を溶解できるわけではない
- 培地への希釈時に析出することがある
- 高濃度では細胞毒性や遺伝子発現変化を引き起こす

といった課題が残されています。エタノールやジメチルホルムアミド（DMF）は代替候補ですが、高毒性のため細胞試験では使用が制限されます。

この課題を解決する新たな選択肢として注目されているのが、双性イオン液体（Zwitterionic liquids）です。特に OE₂imC₃C は、肝細胞・線維芽細胞・iPS 細胞・ゼブラフィッシュ胚・大腸菌などに対して低毒性であり、難溶性薬物やセルロースを溶解できることが報告されています。しかし、**毒性試験用溶媒としての安全性データや実用例は十分ではありません。**

そこで本研究では、

- ① OE₂imC₃C の基礎的な安全性（遺伝毒性・細胞毒性）を評価し、
- ② 難溶性食品成分エラグ酸の肝細胞毒性試験に応用することで、**偽陽性を防ぎ、真の毒性のみを評価できる新たな溶媒技術としての有用性**を明らかにしました。

【研究成果の概要】

本研究チームは、双性イオン液体 OE₂imC₃C を 70 wt% で水に溶解したストック溶液（OS）を調製し、その安全性および溶解性を評価しました。

(1) 安全性評価

- Ames 試験（細菌復帰突然変異試験）：陰性
- 染色体異常試験：陰性
- ヒト肝細胞における細胞毒性：DMSO より低毒性

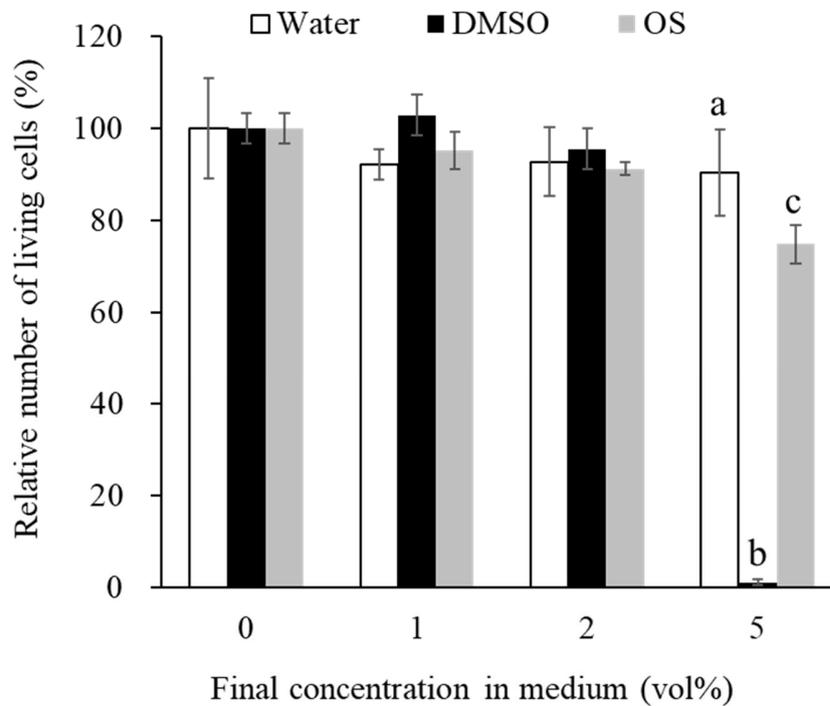


図 2. OS、DMSO および水の肝細胞生存率に及ぼす影響

(2) 溶解性と毒性試験への応用

・OE₂imC₃C はエラグ酸を高濃度で均一に溶解し、細胞毒性を正確に評価することが可能でした。一方、DMSO では未溶解結晶が細胞に物理的損傷を与え、偽陽性を示しました。

表 1. OS および DMSO のエラグ酸の溶解性比較

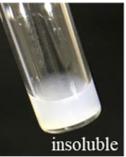
| Vehicle | OS | | Water | 100% DMSO | | 70% DMSO |
|--------------------|--|--|--|---|--|--|
| Ellagic acid (w/w) | 0.1% | 1% | 0.1% | 0.1% | 1% | 0.1% |
| Appearance |  soluble |  soluble |  insoluble |  soluble |  insoluble |  insoluble |

表 2. エラグ酸の肝細胞毒性試験における培養プレート底面写真

| Solvent | | Concentration of ellagic acid (μM) | | | | |
|---------|------|---|----|-----|-----|-----|
| Name | vol% | 0 | 30 | 100 | 300 | 600 |
| DMSO | 1 | | | | | |
| OS | 1 | | | | | |

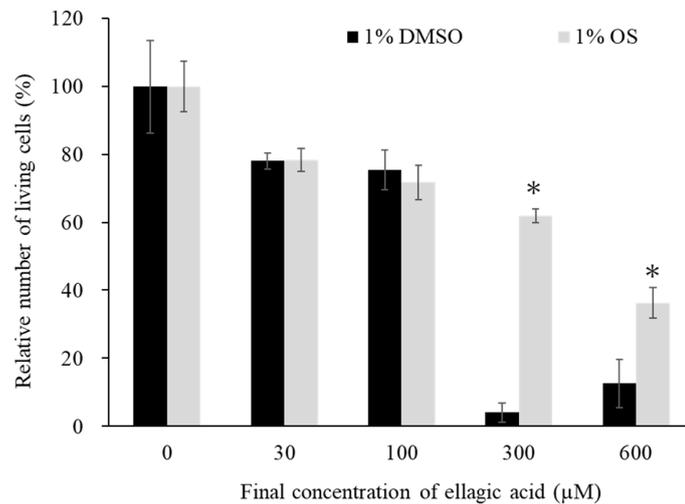


図 2. エラグ酸の肝細胞毒性試験における溶媒（OS および DMSO）の影響

(3) 汎用性の科学的根拠

- Hansen 溶解度パラメータに基づき、他の食品成分・医薬品への適用可能性を示しました。

【今後の展開】

エラグ酸に限らず、難溶性の食品添加物、サプリメント、医薬品関連の化合物が多く存在している。それらを OS に溶解し、より正確な *in vitro* 試験ができることを示していく予定です。また、特に医薬品候補化合物には難溶性化合物が多く含まれており、それらを正確に評価できないことが、医薬品候補を実用化するための足かせになっていることが知られています。OS を利用することで、日本発の医薬品を数多く開発できることが期待されます。

【社会的意義】

- ・ 食品安全・医薬品開発における難溶性物質の *in vitro* 毒性試験の信頼性が向上。
- ・ 動物実験削減（3Rs・NAMs）への貢献が期待される。

【掲載論文】

雑誌名： *The Journal of Toxicological Sciences*

論文名： A zwitterionic solvent for *in vitro* toxicity tests of insoluble compounds
(難溶性物質の *in vitro* 毒性試験のための双性イオン溶媒)

著者名： Yusuke Kubota^{1,2}, Ayako Hoshika², Eishu Hirata³, Kosuke Kuroda^{2,4*}
(久保田 祐介、芳坂 綾子、平田 英周、黒田 浩介)

¹ Suntory Holdings Limited

² Faculty of Biological Science and Technology, Institute of Science and Engineering, Kanazawa University

³ Division of Tumor Cell Biology and Bioimaging, Cancer Research Institute of Kanazawa University

⁴ NanoMaterials Research Institute, Kanazawa University

掲載日時： 2026年3月1日0時（日本時間）オンライン版に掲載

DOI : 10.2131/jts.51.227

URL : <https://doi.org/10.2131/jts.51.227>

【本件に関するお問い合わせ先】

■ 研究内容に関すること

金沢大学理工研究域生命理工学系 准教授

黒田 浩介（くろだ こうすけ）

TEL: 076-234-4809

E-mail: kkuroda@staff.kanazawa-u.ac.jp

■ 広報に関すること

金沢大学理工系事務部総務課総務係

西尾 美和（にしお みわ）

TEL : 076-234-6821

E-mail : s-somu@adm.kanazawa-u.ac.jp