



2024 - Vol. 11 No. 1

[Back](#)

2024 - Vol. 11

Original Article

[Extracellular vesicle small RNAs secreted from mouse amniotic fluid induced by repeated oral administration of VPA to pregnant mice](#)

Vol.11, No.1, p.37-56

Ryuichi Ono , Makiko Kuwagata , Mie Naruse , Akihito Watanabe , Masao Takano , Takuro Hasegawa , Hiromasa Takashima , Yusuke Yoshioka , Takahiro Ochiya , Yoko Hirabayashi , Satoshi Kitajima
Released: March 22, 2024

[Abstract](#)[Full Text PDF\[3M\]](#)

細胞外小胞 (EV) は、血液細胞だけでなく、さまざまな臓器から放出される粒子である。脂質二重層小胞であるEVは、タンパク質、DNA、RNAを含む。EV内のRNAやタンパク質は細胞特異的な特徴を示す。腫瘍細胞由来のEVは、早期がん発見のための90%を超える診断精度を持つバイオマーカーとして同定されている。さらに、血清中のEV RNAは毒性のバイオマーカーとして機能している。EVは、唾液、涙、尿、羊水など様々な体液中に見出されている。本研究では、羊水中のEV RNAを発生毒性の指標として用いる可能性を検討することを目的とした。妊娠マウスをバルプロ酸 (VPA)を0、300、600 mg/kg/dayの濃度で妊娠9~11日目に曝露した。この研究では、GD11の母体血漿および胎児中のVPA濃度、GD15および18の胎児体重を測定し、GD11、15および18の外形的異常を評価した。さらに、胎児の羊水からEVを採取し、GD15にEV RNAの包括的遺伝子発現解析を行った。その結果、胎児中のVPA濃度は着床部位と関連しなかった。さらに、VPA投与群では、子宮内発育遅延と、神経管欠損や指の奇形などの催奇形作用が認められた。EV RNA分析により、VPA投与群ではコントロール (ピヒクル、0.5%メチルセルロース) 群と比較して、抑制および誘導の両方で発現が異なるEV small RNAが同定された。これらの結果は、羊水中のEV RNAが発達毒性の指標となることを示唆している。

[Page Top](#)

Original Article

[Development of an *in vivo* pain assessment method for exposure to intermediate-frequency magnetic fields](#)

Vol.11, No.1, p.27-35

Shin Ohtani , Akira Ushiyama , Wasoontarajaroen Siritwat , Keiji Wada , Yukihisa Suzuki , Kenji Hattori
Released: March 19, 2024

[Abstract](#)[Full Text PDF\[2M\]](#)

中間周波磁場 (IF-MF) の生物学的影響に関する研究データはまだ不十分であり、OECDの化学物質に関するガイドラインと同様の電磁場の生物学的影響を評価できるプロトコルは現在のところ存在しない。100 kHz未満のIF-MFは刺激作用が強く、神経障害への影響が懸念されている。本研究の目的は、IF-MF曝露に反応する痛みを検出する方法を調査し、様々な環境で使用できる電磁場疼痛評価の標準化プロトコルを確立することである。足の痛みを評価できるvon Freyテストは、神経過敏症・アロディニアモデルである坐骨神経部分結紮(PSL)モデルを用いて、IF-MF曝露群、偽薬曝露群、無治療群(コントロール)とともに実施した。PSL群では術後すべての測定ポイントで有意な変化が認められたが、他の群では有意な差は認められなかった。

さらに、4つの炎症関連因子 (P2rx4、Ccl2、Irf8、Iba1) の遺伝子発現解析を、曝露後15日目の坐骨神経でリアルタイム定量PCR法を用いて行った。これらの遺伝子の発現はPSL群で有意に上昇したが、残りの3群では変化しなかった。これらの結果から、ICNIRPガイドラインによる職業被曝の基本制限の2.3倍であるIF-MF被曝 (1時間/日) が痛みを引き起こさないこと、陽性対照を用いたこれらの検出法がIF-MF被曝の痛み評価法として有効であることが確認された。

[Page Top](#)

Original Article

[Comparative analysis of bile canaliculi formation in fresh and flask-delivered human hepatocytes from humanized mouse livers under sufficient oxygen supply](#)

Vol.11, No.1, p.17-25

Fumiya Tokito , Ya Gong , Dhimas Agung Kurniawan , Shohei Kaneko , Hiroki Shioda , Sangho Lee , Atsuhito Kushima , Mutsumi Inamatsu , Chise Tateno , Hyunjin Choi , Masaki Nishikawa , Yasuyuki Sakai
Released: February 21, 2024

[Abstract](#)

[Full Text PDF\[3M\]](#)

[Supplemental Data](#)

培養ヒト肝細胞における機能的な胆管形成は、肝胆道系体質や薬剤誘発性胆汁うっ滞のin vitro研究にとって極めて重要である。ヒト化マウス肝臓から単離されたヒト肝細胞 (PXB-cells) は、これらの研究に有望な細胞源である。組織培養フラスコで入手可能なPXB細胞は、様々な細胞培養フォーマットで回収・再播種が可能であり、それによって様々なin vitro培養系への適応性を高めている。しかしながら、再播種プロセスは細胞ストレスを誘発し、その後の培養に影響を与える可能性があり、胆管形成に対する特異的な影響についてはまだ検討されていない。さらに、PXB細胞の胆管形成における十分な酸素供給の役割については、まだ不完全なままである。本研究では、新鮮なPXB細胞 (Fresh PXB-cells) と再播種したPXB細胞 (Flask-delivered PXB-cells) を用い、酸素透過性プレートを用いて十分な酸素供給を行い、肝機能と胆管形成について比較した。フラスコ添加PXB細胞は、培養7日後にアルブミン産生量とチトクロム遺伝子発現量が新鮮PXB細胞のレベルに回復した。培養7日目と14日目の胆管形成は、新鮮なPXB細胞とフラスコ培養PXB細胞の両方で同様であった。これは、フルオレセイン標識胆汁酸排泄と胆管マーカーMRP2の免疫染色によって確認された。注目すべきは、胆管長さの解析で、酸素供給が十分であれば胆管長さが有意に増加することが明らかになったが、7日目と14日目では、同じ酸素供給条件下でも有意差は検出されなかったことである。本研究で得られた知見は、創薬や毒性研究におけるin vitro評価へのPXB細胞の利用について、貴重な洞察を与えるものである。

[Page Top](#)

Toxicomics Report

[Indeterminate alteration of TRPM8 and p21/Cip1 levels in normal human keratinocytes by incubating with medium including substances released by squamous carcinoma cells](#)

Vol.11, No.1, p.11-15

Tomofumi Fujino , Saki Ohkawa
Released: February 09, 2024

[Abstract](#)

[Full Text PDF\[1M\]](#)

低温センサーであるTRPM8は、CDK阻害因子p21/Cip1を介して表皮細胞の増殖を制御しており、TRPM8のダウンレギュレーションはp21/Cip1の減少を引き起こし、発癌に関連する。脂質活性化核内受容体PPAR γ が正常表皮細胞におけるTRPM8の発現を負に制御していること、およびがん細胞は一般に様々な脂質を含むエクソソームを分泌することから、我々は、扁平上皮がん細胞から分泌される物質を含む培地とインキュベートすることによって、正常ヒトケラチノサイトにおけるTRPM8およびp21/Cip1の発現が変化するかどうかを検討した。

by squamous carcinoma cells. TRPM8 and p21/Cip1 expressions in normal human keratinocytes HaCaT cells are altered by incubating with medium including substances secreted by squamous carcinoma SAS cells ("SAS medium"), however, the alteration of TRPM8 and p21/Cip1 expressions is indeterminate. In some case, "SAS medium" increased p21/Cip1 in TRPM8-independent manner whereas it decreased p21/Cip1 through both of TRPM8-dependent and independent pathway in other case. We also obtained the data showing that "SAS medium"-induced TRPM8 increase did not result in p21/Cip1 increase, probably from offset by TRPM8-independent downregulation of p21/Cip1. In all cases PPAR gamma level was not altered and "SAS medium" decreased TRPM8 level of HaCaT cells even when PPAR gamma was knocked down, indicating PPAR gamma-independent regulation of TRPM8 by "SAS medium". These results suggest that squamous carcinoma cells secrete various substances which increase and decrease p21/Cip1 level in nearby normal epithelial cells. Ratio of amounts of substances secreted by squamous carcinoma cells may vary depending on the cell condition and increasing ratio of substances which downregulates p21/Cip1 expression results in increased risk of carcinogenesis.

[Page Top](#)

Original Article

[Repeated dose administration toxicity studies - Use of *t*-tests in multiplicity data analysis](#)

Vol.11, No.1, p.1-10

Katsumi Kobayashi , Kalathil Sadasivan Pillai
Released: January 24, 2024

[Abstract](#)[Full Text PDF\[806K\]](#)

正常ヒトケラチノサイトHaCaT細胞におけるTRPM8およびp21/Cip1の発現は、扁平上皮癌SAS細胞が分泌する物質を含む培地（「SAS培地」）とインキュベートすることにより変化するが、TRPM8およびp21/Cip1の発現の変化は不確定である。SAS培地」がTRPM8非依存的にp21/Cip1を増加させる場合もあれば、TRPM8依存的経路と非依存的経路の両方を通じてp21/Cip1を減少させる場合もあった。また、「SAS培地」によるTRPM8の増加はp21/Cip1の増加には結びつかなかったが、これはおそらくTRPM8非依存的なp21/Cip1のダウンレギュレーションによって相殺されたためであろうというデータも得られた。いずれの場合においても、PPAR γ レベルは変化せず、PPAR γ をノックダウンしても「SAS培地」はHaCaT細胞のTRPM8レベルを低下させたことから、「SAS培地」によるTRPM8のPPAR γ 非依存的制御が示唆された。これらの結果から、扁平上皮癌細胞は、近傍の正常上皮細胞のp21/Cip1レベルを増減させる様々な物質を分泌していることが示唆された。扁平上皮癌細胞から分泌される物質の量の比率は細胞の状態によって異なり、p21/Cip1の発現を低下させる物質の比率が高くなると発癌のリスクが高くなると考えられる。

[Page Top](#)[Back](#)