

Google translation/AEIC trial

The Journal of Toxicological Sciences Vol. 44(2019) No. 10 October

Review

[Central nervous system tumors in 2-year rat carcinogenicity studies: perspectives on human risk assessment](#)

Aida Sacaan, Stephane Thibault, K. Nasir Khan

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(10): 643-655

Original	Google translation
<p>Rodent <i>in vivo</i> carcinogenicity bioassays are required for human risk assessment and have been utilized in this capacity for decades. Accordingly, there is an abundance of data that could be accessed and analyzed to better understand the translatability of xenobiotic-induced rodent tumors to human risk assessment. In the past decade, various groups have published assessments of the value garnered by these life-time rodent studies. Results and recommendations from the International Council for Harmonization Expert Working Group (ICH-S1 EWG) on the predictability of the current testing paradigm and proposal for an integrated approach to human carcinogenicity risk assessment are pending. Central nervous system (CNS) tumors in rats are rare and translatability to human remains unknown. This review focuses on microglial cell tumors (MCT) of the CNS in rats including its classification, nomenclature, incidence and translatability to human risk assessment.</p>	<p>げっ歯類の <i>in vivo</i> 発がん性バイオアッセイは、人間のリスク評価に必要であり、この能力で数十年間利用されてきました。したがって、異物誘発性 rod 歯類腫瘍のヒトのリスク評価への翻訳可能性をよりよく理解するためにアクセスおよび分析できるデータが豊富にあります。過去 10 年間に、さまざまなグループが、これらの生涯げっ歯類研究によって得られた価値の評価を発表しました。現在の試験パラダイムの予測可能性に関する国際調和専門家作業部会 (ICH-S1 EWG) の結果と勧告、およびヒトの発がん性リスク評価への統合アプローチの提案は保留中です。ラットの中樞神経系 (CNS) 腫瘍はまれであり、ヒトへの翻訳性は不明のままです。このレビューは、その分類、命名法、発生率、および人間のリスク評価への翻訳性を含み、ラットの中樞神経系の小グリア細胞腫瘍 (MCT) に焦点を当てています。新たな免疫組織化学 (IHC) の特性評価に基づいて、以前は星状細胞起源と考えられていたグリア腫瘍は、MCT である可能性が高いです。これらはげっ歯類に特異的であると考えられ、グルコース調節不全はそれらの形成に寄与する 1 つの要素である可能性があります。文献のレビューに基づ</p>

Google translation/AEIC trial

<p>Based on emerging immunohistochemistry (IHC) characterization, glial tumors previously thought of astrocytic origin are more likely MCTs. These may be considered rodent specific and glucose dysregulation may be one component contributing to their formation. Based on review of the literature, MCTs are rarely diagnosed in humans, thus this tumor type may be rat-specific. We propose to include MCTs as a tumor type in revised International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria (INHAND) classification and all glial tumors to be classified as MCTs unless proven otherwise by IHC.</p>	<p>いて、MCT はヒトではめったに診断されないため、この腫瘍タイプはラットに特異的である可能性があります。修正された国際命名法および診断基準 (INHAND) 分類の腫瘍タイプとして MCT を含めること、および IHC によって別途証明されない限り、すべてのグリア腫瘍を MCT として分類することを提案します。</p>
--	---

Original Article

[Perfluorooctane sulfonate induces apoptosis via activation of FoxO3a and upregulation of proapoptotic Bcl-2 proteins in PC12 cells](#)

Pei Wu, Chuanjin Ding, Meijuan Yan, Biying Qian, Wei Wang, Pingping Su ...

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(10): 657-666

Original	Google translation
<p>Perfluorooctane sulfonate (PFOS), a kind of organic pollutant widely found in the environment and biota, could alter normal brain development and produce cognitive dysfunction. For the past years, the neurotoxic effects of PFOS have been shown. Recent studies have proven that PFOS can induce neuronal apoptosis and cause neurotoxicity, but the regulatory proteins referred to the</p>	<p>環境や生物相に広く見られる有機汚染物質の一種であるパーフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) は、正常な脳の発達を変化させ、認知機能障害を引き起こす可能性があります。過去数年間、PFOS の神経毒性効果が示されてきました。最近の研究により、PFOS が神経細胞のアポトーシスを誘発し、神経毒性を引き起こすことが証明されていますが、このプロセスに関連する調節タンパク質は明らかにされていません。こ</p>

Google translation/AEIC trial

<p>process have not been clarified. In this study, PC12 cells were used to investigate the changes of the expression of apoptosis-related proteins, forkhead box O3 (FoxO3a) and pro-apoptotic Bcl-2 proteins. We detected that the levels of cleaved caspase-3 and cleaved PARP were up-regulated obviously in PFOS-treated PC12 cells by using Western blotting, and that the apoptotic rate of PC12 cells was increased significantly by using flow cytometry, verifying that PFOS could induce neuronal apoptosis. Western blot analysis and immunofluorescence revealed obvious up-regulation of the expression of FoxO3a and proapoptotic Bcl-2 proteins. In addition, knockdown of FoxO3a gene inhibited Bim expression and apoptosis. According to the data, we believe that FoxO3a may play a crucial role in PFOS-induced neurotoxicity.</p>	<p>の研究では、PC12 細胞を使用して、アポトーシス関連タンパク質、フォークヘッドボックス O3 (FoxO3a) およびプロアポトーシス Bcl-2 タンパク質の発現の変化を調査しました。切断されたカスパーゼ-3 と切断された PARP のレベルは、ウェスタンブロットティングを使用することで PFOS 処理 PC12 細胞で明らかにアップレギュレートされ、フローサイトメトリーを使用することで PC12 細胞のアポトーシス率が有意に増加し、PFOS が誘導できることを確認しました神経細胞のアポトーシス。ウェスタンブロット分析および免疫蛍光法により、FoxO3a およびアポトーシス促進性 Bcl-2 タンパク質の発現の明らかなアップレギュレーションが明らかになりました。さらに、FoxO3a 遺伝子のノックダウン Bim の発現とアポトーシスを抑制しました。データによると、FoxO3a は PFOS 誘発神経毒性に重要な役割を果たす可能性があると考えています。</p>
--	--

Original Article

[Gene expression profiling of cultured mouse testis fragments treated with ethinylestradiol](#)

Noriko Nakamura, Daniel T. Sloper, Pedro L. Del Valle

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(10): 667-679

Original	Google translation
<p>The assessment of xenobiotic-induced testicular toxicity is important in drug development. Nonetheless, <i>in vitro</i> models to test drugs and chemicals that may cause testicular toxicity are lacking,</p>	<p>生体異物誘発精巣毒性の評価は、薬物開発において重要です。それにもかかわらず、精巣毒性を引き起こす可能性のある薬物および化学物質を試験するための <i>in vitro</i> モデルは不足しており、これらの研究には動物</p>

Google translation/AEIC trial

requiring the continued use of animal models for those studies. We previously evaluated an *in vitro* mouse testis organ culture system using ethinylestradiol (EE), a well-studied testicular toxicant, and demonstrated a dose-dependent relationship between adverse effects to germ cell differentiation and increasing EE concentrations. However, we terminated that study after 20 days of culture due to oxygen deficiency during germ cell differentiation. Therefore, in the current study, we aimed to identify gene(s) with potential for supporting the histopathological evaluations of testicular toxicity using *in vitro* testis organ culture system. We cultured testis fragments obtained from mice at postnatal day (PND) 5 in α -Minimal Essential Medium containing 40 mg/mL AlbuMAX™ I and treated them with 0.01 or 1 nM EE on day 1 of culture. On day 20, we collected testis fragments for RNA sequencing analysis and quantitative polymerase chain reaction (qPCR). We found that phospholipase C, zeta 1 and testis-specific serine kinase 4 genes, that are involved in spermatogenesis and predominantly expressed in the testis, were significantly reduced in testis fragments treated with the highest concentration of EE. Also, cytochrome P450, family 26, subfamily b, polypeptide 1 (*Cyp26b1*) and interleukin 16 (*Il16*) were up-regulated in the highest EE-treated groups. Further

モデルの継続的な使用が必要です。以前、精巣毒性物質であるエチニルエストラジオール (EE) を使用した *in vitro* マウス精巣器官培養システムを評価し、生殖細胞分化への悪影響と EE 濃度の増加との用量依存関係を示しました。しかし、生殖細胞分化中の酸素欠乏のために、培養 20 日後にその研究を終了しました。したがって、現在の研究では、*in vitro* 精巣器官培養システムを使用して精巣毒性の組織病理学的評価をサポートする可能性のある遺伝子を特定することを目指しました。40 mg/mL AlbuMAX™ I を含む α -最小必須培地で生後 5 日目 (PND) にマウスから得た精巣フラグメントを培養し、培養 1 日目に 0.01 または 1 nM EE で処理しました。20 日目に、RNA シーケンス分析および定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) のために精巣フラグメントを収集しました。精子形成に関与し、精巣で主に発現するホスホリパーゼ C、ゼータ 1 および精巣特異的セリンキナーゼ 4 遺伝子が、最高濃度の EE で処理された精巣断片で有意に減少することがわかった。また、シトクロム P450、ファミリー26、サブファミリーb、ポリペプチド1 (*Cyp26b1*) およびインターロイキン 16 (*Il16*) は、最も高い EE 治療群で上方制御されました。他の精巣毒物を使用してこれらの遺伝子発現の変動を確認するには、さらなる研究が必要です。

Google translation/AEIC trial

studies are needed to confirm the variations of these gene expression using other testicular toxicants.	
---	--

Original Article

[Long-term administration of excess zinc impairs learning and memory in aged mice](#)

Kaoru Yoshida, Min Gi, Masaki Fujioka, Isao Teramoto, Hideki Wanibuchi

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(10): 681-691

Original	Google translation
Zinc (Zn) is an essential element, but excess amounts are known to cause neurotoxic effects. The risk of excessive Zn intake is increased by supplementing food intake with dietary supplements. Ageing affects many cellular processes that predispose individuals to neurodegeneration. Indeed, the prevalence of senile dementia such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and vascular-type dementia increases with age. As such, we investigated the effects of long-term exposure to excess Zn on learning and memory in aged mice. ICR-JCL female mice (aged 26 weeks) were administered 0, 200, or 500 ppm Zn as zinc chloride in drinking water for 30 weeks. After 30-week administration, aged female animals were subjected to Y-maze, novel object recognition, and step-through passive avoidance tests. Chronic exposure to Zn did not inhibit learning and memory in the Y-maze test, but dose-dependently inhibited learning and memory in novel	亜鉛 (Zn) は不可欠な要素ですが、過剰な量は神経毒性効果を引き起こすことが知られています。食物摂取を栄養補助食品で補うことにより、過剰な亜鉛摂取のリスクが増加します。加齢は、個人が神経変性を起こしやすくする多くの細胞プロセスに影響します。実際、アルツハイマー病、パーキンソン病、血管型認知症などの老人性認知症の有病率は、年齢とともに増加します。そのため、老齢マウスの学習と記憶に対する過剰な亜鉛への長期暴露の影響を調査しました。ICR-JCL 雌マウス (26 週齢) に、飲料水中の塩化亜鉛として 0、200、または 500 ppm の Zn を 30 週間投与しました。30 週間の投与後、高齢の雌動物に Y 迷路、新規物体認識、および段階的受動的回避テストを実施しました。Zn への慢性暴露は Y 迷路試験で学習と記憶を阻害しなかったが、新規物体認識と段階的受動回避試験で用量依存的に学習と記憶を阻害した。これらの結果は、長期および新規の両方の物体認識記憶を用量依存的に阻害する慢性 Zn 曝露の可能性を示しています。マイクロアレイ解析の結果は、Zn 処理マウスの海馬におけるトランスサイレチンと多くの嗅覚受容体

Google translation/AEIC trial

<p>object recognition and step-through passive avoidance tests. These results indicate the potential for chronic Zn exposure to dose-dependently inhibit both long-term and novel object recognition memory. Results of microarray analysis revealed significant changes in gene expression of transthyretin and many olfactory receptors in the hippocampus of Zn-treated mice.</p>	<p>の遺伝子発現の有意な変化を明らかにしました。</p>
--	-------------------------------

Letter

[4-\(Hydroxymethylnitrosamino\)-1-\(3-pyridyl\)-1-butanone glucuronide has the potential to form 2'-deoxyguanosine and N-acetylcysteine adducts](#)

Takahito Nishiyama, Nahoko Hayashi, Hiromi Yanagita, Tomokazu Ohnuma, ..

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(10): 693-699

Original	Google translation
<p>Cigarette smoking is a risk factor for the development of various cancers, such as lung, nasal, liver and bladder cancers. 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), a tobacco-specific nitrosamine, is implicated in human lung cancer. NNK-induced DNA adducts are found in target tissues for NNK carcinogenesis. NNK is activated by cytochrome P450 dependent α-hydroxylation at either the methylene carbon or methyl carbon adjacent to the N-nitroso group. The former leads to the formation of the methylating agent, and the latter produce the pyridyloxobutylating agent. NNK and</p>	<p>喫煙は、肺がん、鼻がん、肝臓がん、膀胱がんなどのさまざまながんの発生の危険因子です。 4-(メチルニトロソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-ブタノン (NNK)、タバコ特有のニトロソアミンは、ヒト肺癌に関係しています。 NNK 誘発 DNA 付加体は、NNK 発がんの標的組織に見られます。 NNK は、N-ニトロソ基に隣接するメチレン炭素またはメチル炭素のいずれかで、シトクロム P450 依存性 α-ヒドロキシル化によって活性化されます。前者はメチル化剤の形成につながり、後者はピリジリオキシブチル化剤を生成します。 NNK とその代謝物の一部は、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ (UGT) によってさらに代謝されます。グルクロニドは一般に</p>

Google translation/AEIC trial

some of its metabolites are further metabolized by UDP-glucuronosyltransferases (UGTs). Glucuronides generally are much less active than the parent aglycon therefore the glucuronides of NNK-related metabolites are thought to be inactive. However, 4-(hydroxymethylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone glucuronide (HO-methyl NNK glucuronide) can be transported to the target organs of NNK carcinogenesis where subsequent hydrolysis causes the release of the reactive intermediate. Regeneration of HO-methyl NNK could play an important role in the tissue-specific carcinogenicity of NNK. In the present study, we investigated the reactivity of HO-methyl NNK glucuronide toward 2'-deoxyguanosine (dGuo) and *N*-acetylcysteine (NAC; used as a models for thiol groups on proteins). The reaction mixtures of HO-methyl NNK glucuronide and dGuo or NAC were analyzed by LCMS-IT-TOF-MS. We also employed 4-(acetoxymethylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone, a pyridyloxobutylating agent, to confirm the formation of pyridyloxobutylated adducts. Thus, we determined the production of pyridyloxobutylated dGuo and NAC adducts. Our results suggest HO-methyl NNK glucuronide could generate a reactive intermediate in the

親アグリコンよりもはるかに活性が低いため、NNK 関連代謝産物のグルクロニドは不活性であると考えられています。ただし、4-(ヒドロキシメチルニトロソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-ブタノングルクロニド (HO-メチル NNK グルクロニド) は、その後の加水分解により反応性中間体が放出される NNK 発癌の標的器官に輸送できます。HO メチル NNK の再生は、NNK の組織特異的な発がん性に重要な役割を果たす可能性があります。本研究では、2'-デオキシグアノシン (dGuo) および *N*-アセチルシステイン (NAC; タンパク質のチオール基のモデルとして使用) に対する HO-メチル NNK グルクロニドの反応性を調査しました。HO-メチル NNK グルクロニドと dGuo または NAC の反応混合物を LCMS-IT-TOF-MS で分析しました。また、ピリジルオキシブチル化付加物の形成を確認するために、ピリジルオキシブチル化剤、4-(アセトキシメチルニトロソアミノ)-1-(3-ピリジル)-1-ブタノンを使用しました。したがって、本発明者らは、ピリジルオキシブチル化 dGuo および NAC 付加物の生成を決定した。我々の結果は、HO-メチル NNK グルクロニドが組織内で反応性中間体を生成し、タンパク質と DNA との付加体を形成する可能性があることを示唆しています。

Google translation/AEIC trial

tissues and then form adducts with proteins and DNA.	
--	--

Original Article

[Species differences in micronucleus induction of the clastogenic compounds associated with drug metabolic profile](#)

Yuki Kishino, Tomoko Hasegawa, Takashi Yamoto, Kazuhiko Mori

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(10): 701-709

Original	Google translation
Genotoxicity and carcinogenicity profiles of drugs occasionally vary across species due to species difference in drug metabolic profile. To clarify the effect of species differences in the metabolic profile on micronucleus induction, we conducted an <i>in vitro</i> micronucleus test for seven clastogens (benzo[a]pyrene: BaP, cyclophosphamide monohydrate: CPA coumarin, diclofenac, piroxicam, lansoprazole, and chlorpheniramine) with rat, mouse, monkey, dog, or human liver S9. BaP, CPA, coumarin, diclofenac, piroxicam, and lansoprazole induced micronucleus formation with all species of S9s, whereas chlorpheniramine did not induce micronucleus formation in any of the S9s. BaP and CPA revealed remarkable species differences in micronucleus induction, whereas coumarin, diclofenac, piroxicam, and lansoprazole did not present any differences. Interestingly, the amounts of hydroxy-BaP-epoxides and phosphamide mustard, which might be	薬物の遺伝毒性と発がん性のプロファイルは、薬物代謝プロファイルの種の違いにより種によって異なる場合があります。代謝プロファイルの種差が小核誘導に及ぼす影響を明らかにするために、7つのクラストゲン(ベンゾ[a]ピレン: BaP、シクロホスファミド水和物: CPA、クマリン、ジクロフェナク、ピロキシカム、ランソプラゾール、クロルフェニラミン)の <i>in vitro</i> 小核試験を実施しましたラット、マウス、サル、イヌ、またはヒトの肝臓 S9。BaP、CPA、クマリン、ジクロフェナク、ピロキシカム、およびランソプラゾールは、S9のすべての種で小核形成を誘発しましたが、クロルフェニラミンは S9のいずれでも小核形成を誘発しませんでした。BaP と CPA は、小核の誘導に顕著な種の違いを示したが、クマリン、ジクロフェナク、ピロキシカム、およびランソプラゾールには違いは見られなかった。興味深いことに、それぞれ BaP と CPA による小核誘導に関連する可能性のあるヒドロキシ BaP エポキシドとホスファミドマスタードの量は、5種の小核誘導の程度と相関がありました。結論として、BaP と CPA による小核誘導の種の違いは、種間のこれ

Google translation/AEIC trial

associated with micronucleus induction by BaP and CPA, respectively, were correlated with the degree of micronucleus induction among the five species. In conclusion, the species difference in micronucleus induction by BaP and CPA was attributable to the differences in the metabolic profiles of these drugs among species. Our results indicate that it is crucial to understand the effect of species differences in the metabolic profile of drug candidates on genotoxicity and carcinogenicity potential and to predict their risk in human.	らの薬物の代謝プロファイルの違いに起因していました。我々の結果は、遺伝毒性と発がん性に対する薬物候補の代謝プロファイルにおける種の違いの影響を理解し、ヒトでのリスクを予測することが重要であることを示しています。
---	---

Original Article

[β-Naphthoflavone, an exogenous ligand of aryl hydrocarbon receptor, disrupts zinc homeostasis in human hepatoma HepG2 cells](#)

Takumi Ishida, Shinji Takechi

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(10): 711-720

Original	Google translation
Recent studies have demonstrated a relationship between the disruption of zinc homeostasis and the onset of diseases. However, little is known about the factors that disrupt zinc homeostasis. Here, we investigated the effects of β-naphthoflavone, an exogenous ligand of aryl hydrocarbon receptor (AHR), on intracellular zinc levels. Human hepatoma HepG2 cells were treated with β-naphthoflavone for 3 days, and intracellular labile and total	最近の研究は、亜鉛恒常性の破壊と病気の発症との関係を実証しています。しかし、亜鉛の恒常性を乱す要因についてはほとんど知られていない。ここでは、アリアル炭化水素受容体（AHR）の外因性リガンドであるβ-ナフトフラボンの細胞内亜鉛レベルへの影響を調査しました。ヒト肝癌HepG2細胞をβ-ナフトフラボンで3日間処理し、細胞内の不安定および総亜鉛レベルをそれぞれフローサイトメトリーおよび誘導結合プラズマ原子発光分光法で評価しました。亜鉛トランスポーターのmRNAレ

Google translation/AEIC trial

zinc levels were assessed through flow cytometry and inductively coupled plasma atom emission spectroscopy, respectively. The mRNA levels of zinc transporters were determined by real-time PCR. Treatment of cells with β -naphthoflavone induced a decrease in intracellular labile zinc in a dose-dependent manner, with significantly decreased levels observed at 1 μ M compared with controls. Additionally, intracellular total zinc levels demonstrated a decreasing trend with 10 μ M β -naphthoflavone. Zinc pyrithione recovered the decrease in intracellular labile zinc levels induced by β -naphthoflavone, while zinc sulfate had no effect. Moreover, significant decreases in the mRNA levels of zinc transporters ZnT10 and ZIP5 were observed in response to 10 μ M β -naphthoflavone. These results demonstrated that β -naphthoflavone has the potential to disrupt zinc homeostasis in hepatocytes. Although the underlying mechanism remains to be determined, suppression of zinc transporter transcription through AHR activation may be involved in the β -naphthoflavone-induced disruption of intracellular zinc levels.

ベルは、リアルタイム PCR によって決定されました。細胞を β -ナフトフラボンで処理すると、用量依存的に細胞内の不安定な亜鉛が減少し、1 μ M では対照と比較してレベルが著しく低下しました。さらに、細胞内総亜鉛レベルは、10 μ M β -ナフトフラボンで減少傾向を示しました。亜鉛ピリチオンは、 β -ナフトフラボンによって誘発される細胞内の不安定な亜鉛レベルの減少を回復しましたが、硫酸亜鉛は効果がありませんでした。さらに、亜鉛輸送体 ZnT10 および ZIP5 の mRNA レベルの有意な減少が 10 μ M の β -ナフトフラボンに反応して観察されました。これらの結果は、 β -ナフトフラボンが肝細胞の亜鉛恒常性を破壊する可能性を持っていることを実証しました。根底にあるメカニズムはまだ決定されていないが、AHR 活性化による亜鉛輸送体転写の抑制は、細胞内亜鉛レベルの β -ナフトフラボン誘発性破壊に関与している可能性がある。