

# Google translation/AEIC trial

The Journal of Toxicological Sciences Vol. 44(2019) No. 9 September

Original Article

[Physiological and drug-induced changes in blood levels of adrenal steroids and their precursors in cynomolgus monkeys: An application of steroid profiling by LC-MS/MS for evaluation of the adrenal toxicity](#)

Tomoaki Tochitani, Akihito Yamashita, Izumi Matsumoto, Mami Kouchi, Yu

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(9): 575-584

Original	Google translation
<p>The adrenal gland is the most common toxicological target of drugs within the endocrine system, and inhibition of adrenal steroidogenesis can be fatal in humans. However, methods to evaluate the adrenal toxicity are limited. The aim of the present study was to verify the usefulness of simultaneous measurement of blood levels of multiple adrenal steroids, including precursors, as a method to evaluate drug effects on adrenal steroidogenesis in cynomolgus monkeys. With this aim, physiological and drug-induced changes in blood levels of adrenal steroids, including cortisol, aldosterone, androgen, and their precursors were examined. First, for physiological changes, intraday and interday changes in blood steroid levels were examined in male and female cynomolgus monkeys. The animals showed circadian changes in steroid levels that are similar to those in humans, while interday changes were relatively small in males. Next, using</p>	<p>副腎は内分泌系内の薬物の最も一般的な毒物学的標的であり、副腎ステロイド産生の阻害は人間にとって致命的です。ただし、副腎毒性を評価する方法は限られています。本研究の目的は、カニクイザルの副腎ステロイド産生に対する薬物効果を評価する方法として、前駆体を含む複数の副腎ステロイドの血中濃度の同時測定の有用性を検証することでした。この目的で、コルチゾール、アルドステロン、アンドロゲン、およびそれらの前駆体を含む副腎ステロイドの血中濃度の生理学的および薬物誘発性の変化を調べました。第一に、生理的変化については、雄と雌のカニクイザルにおける血中ステロイドレベルの日中と日中の変化を調べました。動物は、ヒトと同様のステロイドレベルの概日変化を示したが、日中の変化は雄では比較的小さかった。次に、男性を使用して、ケトコナゾールとメチラポンによって誘発される血中ステロイドレベルの変化を調べました。これは、CYP 酵素の阻害を介して副腎ステロイド産生を抑制します。ラットおよびヒトと一致して、ケトコナゾールとメチラポンの両方は、おそらく CYP11B1 阻害を介して、デオキシ</p>

# Google translation/AEIC trial

males, changes in blood steroid levels induced by ketoconazole and metyrapone were examined, which suppress adrenal steroidogenesis via inhibition of CYP enzymes. Consistent with rats and humans, both ketoconazole and metyrapone increased the deoxycorticosterone and deoxycortisol levels, probably via CYP11B1 inhibition, and the increase was observed earlier and with greater dynamic range than the changes in cortisol level. Changes in other steroid levels reflecting the drug mechanisms were also observed. In conclusion, this study showed that in cynomolgus monkeys, simultaneous measurement of blood levels of adrenal steroids, including precursors, can be a valuable method to sensitively evaluate drug effects on adrenal steroidogenesis and to investigate the underlying mechanisms.	コルチコステロンとデオキシコルチゾールのレベルを増加させ、増加はコルチゾールレベルの変化よりも早く、より広いダイナミックレンジで観察されました。薬物メカニズムを反映する他のステロイドレベルの変化も観察されました。結論として、この研究は、カニクイザルにおいて、前駆体を含む副腎ステロイドの血中濃度の同時測定が、副腎ステロイド産生に対する薬物の効果を高感度に評価し、基礎となるメカニズムを調査するための貴重な方法となり得ることを示しました。
---	--

## Original Article

[Applicability of amino acid derivative reactivity assay for prediction of skin sensitization by combining multiple alternative methods to evaluate key events](#)

Yusuke Yamamoto, Masaharu Fujita, Sayaka Wanibuchi, Ayako Sato, Miyuki

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(9): 585-600

Original	Google translation
Amino acid derivative reactivity assay (ADRA) has previously been developed as an alternative method to direct peptide reactivity assay (DPRA) to evaluate key event 1 in skin sensitization	アミノ酸誘導体反応性アッセイ (ADRA) は、皮膚感作メカニズムにおける重要なイベント 1 を評価するために、ペプチド反応性アッセイ (DPRA) を指示する代替方法として以前に開発されました。ただし、皮膚

# Google translation/AEIC trial

mechanisms. However, when using alternative methods for skin sensitization, integrated approaches to testing and assessment (IATA) that combine the results of multiple tests evaluating different key events are generally required. To verify whether ADRA can be used in IATA, we replaced DPRA with ADRA in five IATA methods combining DPRA, KeratinoSens, and h-CLAT: (i) the “2 out of 3” approach, (ii) the “3 out of 3” approach, (iii) sequential testing strategy (STS), (iv) integrated testing strategy by scoring approach (ITS-SA), and (v) the “ITS by two methods approach” (ITS-2MA). The prediction accuracy of the “2 out of 3” approach using ADRA (1 mM) and ADRA (0.5 mg/mL) was 90.0% and 91.1%, respectively, for human data, and was very similar to that obtained using DPRA (91.1%). The “3 out of 3” approach also showed good predictability (83.2%) using either ADRA (1 mM) or ADRA (0.5 mg/mL) compared to DPRA. Regarding the accuracy of the prediction of sensitization intensity for the human data by the third classification, prediction accuracy using ADRA was almost the same as STS, ITS-SA, or ITS-2MA using DPRA. As a result, this study showed that ADRA can be used as a test method for key event 1 in the evaluation of skin sensitization by combining multiple alternative methods.

感作性の代替方法を使用する場合は、一般に、さまざまな主要イベントを評価する複数のテストの結果を組み合わせたテストと評価 (IATA) の統合アプローチが必要です。

ADRA を IATA で使用できるかどうかを確認するため、DPRA、KeratinoSens、および h-CLAT を組み合わせた 5 つの IATA メソッドで、DPRA を ADRA に置き換えました。

(i) 「2 out of 3」アプローチ、(ii) 「3 out of 3」アプローチ、(iii) 順次テスト戦略 (STS)、(iv) スコアリングアプローチによる統合テスト戦略 (ITS-SA)、および (v) 「2 つの方法による ITS アプローチ」 (ITS-2MA)。ADRA (1 mM) および ADRA (0.5 mg / mL) を使用した「2 out of 3」アプローチの予測精度は、ヒトのデータに対してそれぞれ 90.0% および 91.1% であり、DPRA (91.1 %)。「3 つのうち 3 つ」のアプローチは、DPRA と比較して、ADRA (1 mM) または ADRA (0.5 mg / mL) を使用した場合の良好な予測可能性 (83.2%) も示しました。3 番目の分類による人体データの感作強度の予測精度については、ADRA を使用した予測精度は、DPRA を使用した STS、ITS-SA、または ITS-2MA とほぼ同じでした。その結果、この研究では、複数の代替方法を組み合わせることにより、皮膚感作性の評価における重要なイベント 1 の試験方法として ADRA を使用できることが示されました。

# Google translation/AEIC trial

Original Article

[Dose- and time-dependent changes in blood and adrenal levels of multiple steroids in rats after administration of ketoconazole with or without ACTH](#)

Tomoaki Tochitani, Akihito Yamashita, Izumi Matsumoto, Mami Kouchi, Yu

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(9): 601-610

Original	Google translation
<p>To verify simultaneous measurement of blood levels of adrenal steroids as a tool to evaluate drug effects on adrenal steroidogenesis, dose- and time-dependent changes in blood levels of corticosterone and its precursors (pregnenolone, progesterone and deoxycorticosterone), as well as their relationship with the pathological changes in the adrenal gland, were examined in rats dosed with ketoconazole (KET). Also examined were whether effects on adrenal steroidogenesis that were not obvious in the blood steroid levels after sole administration of KET could be revealed by post-administration of ACTH, and the correlation between the blood and adrenal steroid levels. Male rats were dosed with 15, 50, or 150 mg/kg of KET for 1 or 7 days with or without ACTH, and the blood and adrenal concentrations of the steroids were measured. KET increased the blood deoxycorticosterone level even at a dose level and time point at which histopathological changes were not obvious. KET-induced changes in blood</p>	<p>副腎ステロイド産生、コルチコステロンおよびその前駆体（プレグネノロン、プロゲステロンおよびデオキシコルチコステロン）の血中濃度の用量および時間依存性変化に対する薬物効果を評価するツールとしての副腎ステロイドの血中濃度の同時測定を検証する副腎の病理学的変化を、ケトコナゾール (KET) を投与したラットで調べました。また、KET の単独投与後の血中ステロイドレベルで明らかではなかった副腎ステロイド産生に対する影響が、ACTH の投与後、および血中と副腎ステロイドレベル間の相関によって明らかにできるかどうかも調べました。オスのラットに、ACTH の有無にかかわらず、1、7 日間、15、50、または 150 mg / kg の KET を投与し、ステロイドの血中および副腎濃度を測定しました。KET は、組織病理学的変化が明らかでない用量レベルおよび時点でも、血中デオキシコルチコステロンレベルを増加させました。他のステロイドの血中濃度の KET 誘発変化は ACTH によって明らかにされ、血中および副腎の濃度は、特に ACTH 投与後特に相関がありました。したがって、前駆体を含む副腎ステロイドの血中濃度は、副腎ステロイドの副腎レベルを反映する副腎ステロイド産生に対する薬物効果の敏感で初期のマーカーになる可能性があります。</p>

# Google translation/AEIC trial

levels of other steroids were revealed by ACTH, and the blood and adrenal levels were generally correlated especially after ACTH post-administration. Thus, blood levels of adrenal steroids, including precursors, can be a sensitive and early marker of drug effects on the adrenal steroidogenesis that reflect adrenal levels of steroids. The usefulness of the multiple steroid measurement as a method for mechanism investigation of drug effects on the adrenal gland can be further enhanced by ACTH.	副腎に対する薬物効果のメカニズム調査の方法としての複数ステロイド測定の有用性は、ACTHによってさらに強化できます。
--	--

Original Article

[Segment-specific and direction-dependent transport of cadmium and manganese in immortalized S1, S2, and S3 cells derived from mouse kidney proximal tubules](#)

Hitomi Fujishiro, Satoko Hamao, Misaki Isawa, Seiichiro Himeno

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(9): 611-619

Original	Google translation
The kidney proximal tubule is a target of many renal toxicants, including cadmium (Cd), and also a place of reabsorption of essential metals in glomerular filtrate to systemic circulation. Although the mechanisms of metal transport in the convoluted proximal tubule (S1 and S2 segments) and the straight proximal tubule (S3 segment) may differ, little is known about the segment-specific modes of metal transport. Here, we utilized immortalized cell lines derived from the S1, S2, and S3 segments of mouse kidney proximal tubules, and	腎近位尿細管は、カドミウム (Cd) を含む多くの腎毒性物質の標的であり、また糸球体濾液中の必須金属が体循環に再吸収される場所でもあります。入り組んだ近位尿細管 (S1 および S2 セグメント) とまっすぐな近位尿細管 (S3 セグメント) の金属輸送のメカニズムは異なる場合がありますが、金属輸送のセグメント固有のモードについてはほとんど知られていません。ここでは、マウス腎臓近位尿細管の S1、S2、および S3 セグメントに由来する不死化細胞株を利用し、トランスウェル培養システムを使用して Cd およびマンガン (Mn) のセグメント固有および方向依存輸送を調べました。結

# Google translation/AEIC trial

<p>examined the segment-specific and direction-dependent transport of Cd and manganese (Mn) using a trans-well culture system. The results showed that the uptakes of Cd<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> from apical sides were the highest in S3 cells, and Cd<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, and Zn<sup>2+</sup> mutually inhibited the apical uptake of each metal. As the expression of ZIP8, a zinc transporter having affinities for Cd<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup>, was the highest in S3 cells, ZIP8 may contribute largely to the apical uptakes of these metals. The efficient uptake of Mn<sup>2+</sup> from apical side of S3 cells may suggest an important role of ZIP8 in proximal tubule in reabsorption of Mn, an essential metal. Our study demonstrated that S1, S2, and S3 cells provide a useful tool for studying the segment-specific and direction-dependent transport of both toxic and essential metals in the kidney's proximal tubules.</p>	<p>果は、頂端側からの Cd<sup>2+</sup> および Mn<sup>2+</sup> の取り込みが S3 細胞で最も高く、Cd<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup>、および Zn<sup>2+</sup> が各金属の頂端取り込みを相互に阻害することを示した。ZIP8 の発現は、Cd<sup>2+</sup> および Mn<sup>2+</sup> に親和性を有する亜鉛輸送体であり、S3 細胞で最も高かったため、ZIP8 はこれらの金属の頂端取り込みに大きく寄与する可能性があります。S3 細胞の頂端側からの Mn<sup>2+</sup> の効率的な取り込みは、必須金属である Mn の再吸収における近位尿細管における ZIP8 の重要な役割を示唆している可能性があります。私たちの研究は、S1、S2、および S3 細胞が、腎臓の近位尿細管における有毒金属と必須金属の両方のセグメント特異的および方向依存的な輸送を研究するための有用なツールを提供することを実証しました。</p>
---	---

Original Article

[Acute hepatotoxicity of multimodal targeted imaging contrast agent NaLuF<sub>4</sub>:Gd,Yb,Er-PEG/PEI-FA in mice](#)

Yuan Chen, Xiaoxiao Fei, Chenqiao Ye, Qinqing Qian, Zhiqiu Ye, Siqi Xi ..

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(9): 621-632

Original	Google translation
<p>In the past few decades, upconversion nanoparticles (abbreviated as UCNPs) have been more widely applied in the biomedical fields, such as <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> upconversion fluorescent</p>	<p>過去数十年で、アップコンバージョンナノ粒子 (UCNP と略記) は、<i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> アップコンバージョン蛍光バイオイメージング、光線力学療法、生物学的高分子検出、イメージングを介した薬物送達など</p>

# Google translation/AEIC trial

bioimaging, photodynamic therapy, biological macromolecular detection, imaging mediated drug delivery and so on. But meanwhile, there is still not much research on the acute toxicity of upconversion nanoparticles *in vivo*, such as acute hepatotoxicity. In this work, we studied the *in vivo* biodistribution and acute hepatotoxicity of multimodal targeted contrast agent NaLuF<sub>4</sub>:Gd,Yb,Er-PEG/PEI-FA nanoprobe, which were synthesized by the solvothermal method and modified with Polyethylene glycol (PEG), Polyetherimide (PEI), folic acid (FA) on the surface. The acute hepatotoxicity in mice was systematically assessed after tail vein injection of different concentration of UCNPs. The results showed that NaLuF<sub>4</sub>:Gd,Yb,Er-PEG/PEI-FA nanoparticles with an average diameter of 44.5 ± 10.4 nm, and three typical upconversion fluorescence emission bands at 520 nm, 540 nm and 660 nm under the excitation of 980 nm laser. *In vivo* distribution experiments results demonstrated that approximately 87% of UCNPs injected through the tail vein accumulate in the liver. In the acute hepatotoxicity test, the intravenously injection dose of UCNPs was 10, 40, 70 and 100 mg/kg, respectively. The body weight, blood routine, serum biochemistry, histomorphology and liver oxidative stress were detected and observed no significant acute

の生物医学分野でより広く適用されてきました。しかし、一方で、*in vivo*でのアップコンバージョンナノ粒子の急性毒性（急性肝毒性など）に関する多くの研究はまだありません。この研究では、ソルボサーマル法により合成され、ポリエチレングリコール (PEG)、ポリエーテルイミドで修飾された、マルチモーダルターゲティングコントラストエージェント NaLuF<sub>4</sub>: Gd、Yb、Er-PEG/PEI-FA ナノプローブの生体内生体内分布および急性肝毒性を研究しました (PEI)、表面の葉酸 (FA)。マウスの急性肝毒性は、UCNP の異なる濃度の尾静脈注射後に系統的に評価されました。結果は、NaLuF<sub>4</sub>: Gd、Yb、Er-PEG/PEI-FA ナノ粒子の平均直径が 44.5 ± 10.4 nm であり、980 nm の励起下で 520 nm、540 nm および 660 nm に 3 つの典型的なアップコンバージョン蛍光発光バンドがあることを示しましたレーザ。生体内分布実験の結果は、尾静脈から注入された UCNP の約 87% が肝臓に蓄積することを示しました。急性肝毒性試験では、UCNP の静脈内注射用量は、それぞれ 10、40、70、100 mg / kg でした。体重、血液ルーチン、血清生化学、組織形態学、および肝臓の酸化ストレスが検出され、100 mg / kg の注射用量で有意な急性肝毒性損傷は観察されなかった。結論として、NaLuF<sub>4</sub>: Gd、Yb、Er-PEG/PEI-FA ナノプローブは安全で信頼性が高く、腫瘍を対象としたマルチモーダルイメージングの分野で潜在的な用途があります。

# Google translation/AEIC trial

hepatotoxicity damage under the injection dose of 100 mg/kg. In conclusion, NaLuF<sub>4</sub>:Gd,Yb,Er-PEG/PEI-FA nanoprobe are safe and reliable, and have potential applications in the field of tumor targeted multimodal imaging.

Original Article

[Effect of exposure to Asian sand dust-Particulate matter on liver Tenascin-C expression in human cancer cell and mouse hepatic tissue](#)

Yong Hyun Lee, Dae Young Kim, Sung Hwan Jeong, You Jin Hwang

J. Toxicol. Sci., 2019; 44(9): 633-641

Original	Google translation
Asian Sand Dust-Particulate Matter (ASD-PM) aerosol brings large amounts of wind-eroded soil particles containing high concentrations of metallic components caused by industrialization and vehicles. Proinflammatory and cytotoxic cytokines trigger local inflammatory responses and cause a systematically high incidence of cardiovascular and other diseases. Tenascin C (Tn-C) is known to be expressed in damaged tissue or in a developmental stage of tissue. In this study, we examined the expression of Tn-C and Fibronectin in human cancer-cell lines and in liver tissue of mice treated with ASD-PM to investigate the inflammatory and cell-damage effects of ASD-PM. In our <i>in vivo</i> study, mice were intratracheally instilled with saline suspensions of ASD-PM particles.	アジアの砂塵粒子状物質 (ASD-PM) エアロゾルは、工業化と車両に起因する高濃度の金属成分を含む大量の風食土壌粒子をもたらします。炎症性サイトカインおよび細胞傷害性サイトカインは、局所炎症反応を誘発し、心血管疾患および他の疾患の体系的に高い発生率を引き起こします。テネascin C (Tn-C) は、損傷した組織または組織の発達段階で発現することが知られています。この研究では、ASD-PM の炎症性および細胞損傷の影響を調べるために、ヒトがん細胞株および ASD-PM で処理したマウスの肝臓組織における Tn-C およびフィブロネクチンの発現を調べました。生体内の研究では、マウスに ASD-PM 粒子の生理食塩水懸濁液を気管内注入しました。これらの粒子の点滴を週に 2 回 12 週間繰り返し、肝臓組織をヘマトキシリン、エオシン、およびマッソンのトリクロームで染色し、IF を実行しました。肝臓組織における Tn-C 発現は、RT-PCR およびウェスタンブロット



# Google translation/AEIC trial

Instillation of these particles was repeated twice a week for 12 weeks and the liver tissues were stained with hematoxylin, eosin, and Masson's trichrome, and we carried out an IF. Tn-C expression in liver tissues was detected by RT-PCR and western blot analysis. In the results, the expression of Tn-C increased in a dose-dependent manner in both RNA and Immunofluorescence assay (IF). In our *in vitro* study, A549 and Hep3B cell lines were incubated in culture media with Transforming Growth Factor-Beta1(TGF- $\beta$ 1) and ASD-PM. Immunofluorescence microscopy images showed a two times stronger expression of fluorescence in the ASD-treated group than in that treated with TGF- $\beta$ 1. They also showed a stronger expression of Tn-C in proportion to the concentration of ASD-PM. We confirmed that ASD-PM when inhaled formally migrated to other organs and induced Tn-C expression. ASD-PM containing metals causes expression of Tn-C in liver tissue in proportion to the concentration of ASD-PM.

分析により検出されました。結果において、Tn-C の発現は、RNA および免疫蛍光アッセイ (IF) の両方で用量依存的に増加しました。in vitro の研究では、A549 および Hep3B 細胞株を、形質転換成長因子-ベータ 1 (TGF- $\beta$ 1) および ASD-PM を含む培地でインキュベートしました。免疫蛍光顕微鏡画像は、TGF- $\beta$ 1 で処理したグループよりも ASD 処理グループで 2 倍強い蛍光の発現を示しました。彼らはまた、ASD-PM の濃度に比例して Tn-C のより強い発現を示した。ASD-PM を吸入すると、正式に他の臓器に移動し、Tn-C の発現を誘導することが確認されました。金属を含む ASD-PM は、ASD-PM の濃度に比例して肝臓組織で Tn-C の発現を引き起こします。