

Original Article

A novel screening test to predict the developmental toxicity of drugs using human induced pluripotent stem cells

Nobuo Aikawa

J. Toxicol. Sci., 2020; 45(4): 187-199

Original	Google translation
<p><i>In vitro</i> human induced pluripotent stem (iPS) cells testing (iPST) to assess developmental toxicity, e.g., the induction of malformation or dysfunction, was developed by modifying a mouse embryonic stem cell test (EST), a promising animal-free approach. The iPST evaluates the potential risks and types of drugs-induced developmental toxicity in humans by assessing three endpoints: the inhibitory effects of the drug on the cardiac differentiation of iPS cells and on the proliferation/survival of iPS cells and human fibroblasts. In the present study, the potential developmental toxicity of drugs was divided into three classes (1: non-developmentally toxic, 2: weakly developmentally toxic and 3: strongly developmentally toxic) according to the EST criteria. In addition, the type of developmental toxicity of drugs was grouped into three types (1: non-effective, 2: embryotoxic [inducing growth retardation/dysfunction]/deadly or 3: teratogenic [inducing malformation]/deadly) by comparing the three endpoints. The present study was intended to validate the clinical</p>	<p>奇形または機能不全の誘発などの発生毒性を評価するための <i>in vitro</i> ヒト人工多能性幹細胞 (iPS) 細胞試験 (iPST) は、有望な動物を使わないアプローチであるマウス胚性幹細胞試験 (EST) を変更することによって開発されました。iPST は、3つのエンドポイント (iPS 細胞の心臓分化に対する iPS 細胞とヒト線維芽細胞の増殖/生存に対する薬物の阻害効果) を評価することにより、ヒトにおける潜在的なリスクと薬物誘発性発生毒性の種類を評価します。本研究では、EST 基準に従って、薬物の潜在的な発生毒性を 3つのクラス (1: 非発生毒性、2: 弱い発生毒性、3: 強い発生毒性) に分類しました。さらに、3つのエンドポイントを比較することにより、薬物の発生毒性のタイプを 3つのタイプ (1: 無効、2: 胚毒性[発育遅延/機能不全を引き起こす] /致命的または 3: 催奇形性[奇形を引き起こす] /致命的) にグループ化しました。本研究は、iPST の臨床予測可能性を検証することを目的としています。アミノプテリン、メトトレキサート、オールトランスレチノイン酸、サリドマイド、テトラサイクリン、リチウム、フェニトイン、5-フルオロウラシル、ワルファ</p>

Google translation/ AETC trial

<p>predictability of the iPST. The traditionally developmentally toxic drugs of aminopterin, methotrexate, all-trans-retinoic acid, thalidomide, tetracycline, lithium, phenytoin, 5-fluorouracil, warfarin and valproate were designated as class 2 or 3 according to the EST criteria, and their developmental toxicity was type 3. The non-developmentally toxic drugs of ascorbic acid, saccharin, isoniazid and penicillin G were designated as class 1, and ascorbic acid, saccharin and isoniazid were grouped as type 1 while penicillin G was type 2 but not teratogenic. These results suggest that the iPST is useful for predicting the human developmental toxicity of drug candidates in a preclinical setting.</p>	<p>リンおよびバルプロエートの伝統的に発生毒性のある薬物は、EST 基準に従ってクラス 2 または 3 に指定され、その発生毒性はタイプ 3。アスコルビン酸、サッカリン、イソニアジド、ペニシリン G の非発生毒性薬物はクラス 1 に指定され、アスコルビン酸、サッカリン、イソニアジドはタイプ 1 に分類され、ペニシリン G はタイプ 2 であるが催奇形性はなかった。これらの結果は、iPST が前臨床設定での薬物候補のヒト発生毒性を予測するのに役立つことを示唆しています。</p>
---	---

Original Article

[Drug-induced lenticular opacity and accumulation of cholesterol-related substances in the lens cortex of dogs](#)

Hiroshi Iwasaki, Masaki Wakamatsu, Kazunari Sugihara, Kyohei Kamio, Sa ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45(4): 201-218

Original	Google translation
<p>TP0446131, developed as an antidepressant agent, was found to cause lenticular opacity in a 13-week repeated-dose study in dogs. Histopathologically, the lenticular opacity was observed as a degeneration of the lens fibers, characterized by irregularity in the ordered arrangement of the fibers which is necessary to maintain the transparency of the lens, and was considered to manifest clinically as cataract. To evaluate the development mechanism of the lenticular opacity, the</p>	<p>抗うつ剤として開発された TP0446131 は、イヌを対象とした 13 週間の反復投与試験で、水晶体混濁を引き起こすことが判明しました。組織病理学的には、水晶体混濁は水晶体線維の変性として観察され、水晶体の透明性を維持するために必要な線維の規則正しい配置の不規則性を特徴とし、臨床的に白内障として現れると考えられた。水晶体混濁の発症メカニズムを評価するために、白内障の発症に関連することが知られている水晶体の化学成分を調べました。液</p>

Google translation/ AETC trial

<p>chemical constituents of the lens, which is known to be associated with the development of cataract, were examined. The results of liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis revealed an increase in the amplitudes of 3 unknown peaks in a dose- and time-dependent manner in the lens, with no remarkable changes in the other chemical components tested. In addition, the content of cholesterol, alterations of which have been reported to be associated with cataract, remained unchanged. The mass spectral data and chromatographic behavior of the 3 peaks indicated that these peaks corresponded to sterol-related substances, and that one of them was 7-dehydrocholesterol, a precursor of cholesterol biosynthesis. This finding suggested that TP0446131 exerts some effects on the cholesterol biosynthesis pathway, which could be involved in the development of the cataracts. Furthermore, increases in the levels of these sterol-related substances were also detected in the serum, and were, in fact, noted prior to the onset of the cataract, suggesting the possibility that these substances in the serum could be used as potential safety biomarkers for predicting the onset of cataract induced by TP0446131.</p>	<p>体クロマトグラフィー-タンデム質量分析の結果、3つの未知のピークの振幅がレンズ内で用量および時間依存的に増加し、テストした他の化学成分に顕著な変化は見られませんでした。さらに、変化が白内障に関連すると報告されているコレステロールの含有量は変化していません。3つのピークの質量スペクトルデータとクロマトグラフィーの動作は、これらのピークがステロール関連物質に対応し、そのうちの1つがコレステロール生合成の前駆体である7-デヒドロコレステロールであることを示しました。この発見は、TP0446131が白内障の発症に関与している可能性があるコレステロール生合成経路にいくつかの効果を及ぼすことを示唆しています。さらに、これらのステロール関連物質のレベルの増加も血清で検出され、実際には白内障の発症前に記録され、血清中のこれらの物質が潜在的な安全バイオマーカーとして使用できる可能性を示唆しています。TP0446131によって誘発される白内障の発症を予測するため。</p>
---	---

Letter

[Pro-apoptotic functions of TRAF2 in p53-mediated apoptosis induced by cisplatin](#)

Mei Tsuchida, Takumi Yokosawa, Takuya Noguchi, Tatsuya Shimada, Mayuka ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45(4): 219-226

Original	Google translation
----------	--------------------

Google translation/ AEC trial

Tumor necrosis factor receptor-associated factor 2 (TRAF2) is an essential component of tumor necrosis factor- α (TNF- α) signaling that regulates nuclear factor- κ B (NF- κ B) and c-Jun N-terminal kinase (JNK) pathways, and compelling evidence has demonstrated that TRAF2 suppresses TNF- α -induced cytotoxicity. On the other hand, it has been reported that oxidative stress-induced cytotoxicity is potentiated by TRAF2, indicating that TRAF2 both positively and negatively regulates stress-induced cytotoxicity in a context-specific manner. However, the causal role of TRAF2 in DNA damage response (DDR) remains to be explored. In this study, we assessed the function of TRAF2 in DDR induced by cisplatin, a representative DNA-damaging agent, and found that TRAF2 exerts pro-apoptotic activity through p53-dependent mechanisms at least in human fibrosarcoma cell line HT1080. TRAF2 deficient cells exhibit significant resistance to cell death induced by cisplatin, accompanied by the reduction of both p53 protein level and caspase-3 activation. Moreover, cisplatin-induced JNK activation was attenuated in TRAF2-deficient cells, and pharmacological inhibition of JNK signaling suppressed p53 stabilization. These results suggest that TRAF2 promotes p53-dependent apoptosis by activating the JNK signaling cascade in HT1080 cells. Thus, our data demonstrate a novel function of TRAF2 in cisplatin-induced DDR as a pro-apoptotic protein.

腫瘍壊死因子受容体関連因子 2 (TRAF2) は、核因子- κ B (NF- κ B) および c-Jun N 末端キナーゼ (JNK) 経路を調節する腫瘍壊死因子- α (TNF- α) シグナル伝達の必須要素です、そして説得力のある証拠は、TRAF2 が TNF- α 誘発細胞毒性を抑制することを実証しています。一方、酸化ストレス誘発性細胞毒性は TRAF2 によって増強されることが報告されており、TRAF2 がストレス誘発性細胞毒性をコンテキスト固有の方法で正と負の両方に調節していることを示しています。ただし、DNA 損傷応答 (DDR) における TRAF2 の因果関係はまだ調査されていません。この研究では、代表的な DNA 損傷剤であるシスプラチンによって誘発される DDR の TRAF2 の機能を評価し、TRAF2 が少なくともヒト線維肉腫細胞株 HT1080 で p53 依存性メカニズムを介してアポトーシス促進作用を発揮することを発見しました。TRAF2 欠損細胞は、シスプラチンによって誘導される細胞死に対して、p53 タンパク質レベルとカスパーゼ 3 の活性化の両方の低下を伴う有意な耐性を示します。さらに、シスプラチン誘発 JNK 活性化は、TRAF2 欠損細胞で減衰し、JNK シグナル伝達の薬理的阻害は p53 安定化を抑制しました。これらの結果は、TRAF2 が HT1080 細胞の JNK シグナル伝達カスケードを活性化することにより、p53 依存性アポトーシスを促進することを示唆しています。したがって、私たちのデータは、シスプラチン誘発 DDR のプロアポトーシスタンパク質としての TRAF2 の新しい機能を示しています。

Google translation/ AETC trial

Original Article

Cannabidiolic acid dampens the expression of cyclooxygenase-2 in MDA-MB-231 breast cancer cells: Possible implication of the peroxisome proliferator-activated receptor β/δ abrogation

Masayo Hirao-Suzuki, Shuso Takeda, Takayuki Koga, Masufumi Takiguchi, ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45(4): 227-236

Original	Google translation
<p>A growing body of experimental evidence strongly suggests that cannabidiolic acid (CBDA), a major component of the fiber-type cannabis plant, exerts a variety of biological activities. We have reported that CBDA can abrogate cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and its enzymatic activity. It is established that aberrant expression of COX-2 correlates with the degree of malignancy in breast cancer. Although the reduction of COX-2 expression by CBDA offers an attractive medicinal application, the molecular mechanisms underlying these effects have not fully been established. It has been reported that COX-2 expression is positively controlled by peroxisome proliferator-activated receptor β/δ (PPARβ/δ) in some cancerous cells, although there is “no” modulatory element for PPARβ/δ on the COX-2 promoter. No previous studies have examined whether an interaction between PPARβ/δ-mediated signaling and COX-2 expression exists in MDA-MB-231 cells. We confirmed, for the first time, that COX-2 expression is positively modulated by PPARβ/δ-mediated signaling in MDA-MB-231 cells. CBDA inhibits PPARβ/δ-mediated transcriptional activation stimulated by the</p>	<p>増大する実験的証拠は、繊維型大麻植物の主成分であるカンナビジオール酸 (CBDA) がさまざまな生物活性を発揮することを強く示唆しています。CBDA がシクロオキシゲナーゼ 2 (COX-2) の発現とその酵素活性を無効にできることを報告しました。COX-2 の異常な発現は乳癌の悪性度と相関することが確立されています。CBDA による COX-2 発現の減少は魅力的な医療アプリケーションを提供しますが、これらの効果の根底にある分子メカニズムは完全には確立されていません。COX-2 プロモーターには PPAR β/δ の「調節」要素はありませんが、COX-2 の発現は、一部の癌細胞ではペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 β/δ (PPAR β/δ) によって積極的に制御されることが報告されています。これまでの研究では、MDA-MB-231 細胞に PPAR β/δ を介したシグナル伝達と COX-2 発現との相互作用が存在するかどうかは調査されていません。MDA-MB-231 細胞において、COX-2 の発現が PPAR β/δ を介したシグナル伝達によって積極的に調節されることを初めて確認しました。CBDA は、PPAR β/δ 特異的アゴニストである GW501516 によって刺激される PPAR β/δ を介した転写活性化を阻害します。さらに、GW501516</p>

Google translation/ AETC trial

<p>PPARβ/δ-specific agonist, GW501516.</p> <p>Furthermore, the disappearance of cellular actin stress fibers, a hallmark of PPARβ/δ and COX-2 pathway activation, as evoked by the GW501516, was effectively reversed by CBDA.</p> <p>Activator protein-1 (AP-1)-driven transcriptional activity directly involved in the regulation of COX-2 was abrogated by the PPARβ/δ-specific inverse agonists (GSK0660/ST-247). Thus, it is implicated that there is positive interaction between PPARβ/δ and AP-1 in regulation of COX-2. These data support the concept that CBDA is a functional down-regulator of COX-2 through the abrogation of PPARβ/δ-related signaling, at least in part, in MDA-MB-231 cells.</p>	<p>によって引き起こされる PPAR β/δ および COX-2 経路活性化の特徴である細胞アクチンストレスファイバーの消失は、CBDA によって効果的に逆転しました。COX-2 の調節に直接関与する活性化タンパク質 1 (AP-1) による転写活性は、PPAR β/δ 特異的逆アゴニスト (GSK0660/ST-247) によって無効にされました。したがって、COX-2 の調節において PPAR β/δ と AP-1 の間に正の相互作用があることが関係している。これらのデータは、CBDA が、少なくとも一部は MDA-MB-231 細胞における PPAR β/δ 関連シグナル伝達の廃止を通じて、COX-2 の機能的ダウンレギュレーターであるという概念をサポートしています。</p>
--	--

Letter

[Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 \(NRF2\) is a negative regulator of tissue plasminogen activator synthesis in cultured human vascular endothelial EA.hy926 cells](#)

Tsutomu Takahashi, Tsuyoshi Nakano, Go Katoh, Yo Shinoda, Chika Yamamo ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45(4): 237-243

Original	Google translation
<p>Blood coagulation and the fibrinolytic system contribute to vascular lesions. Fibrinolysis in normal circulating blood strongly depends on the balance between tissue-type plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) secreted from vascular endothelial cells; however, the mechanisms by which endothelial fibrinolysis is regulated remain to be fully understood. In the present study, human vascular endothelial EA.hy926</p>	<p>血液凝固と線溶系は血管病変の原因となります。正常な循環血中の線溶は、組織型プラスミノゲン活性化因子 (t-PA) と血管内皮細胞から分泌されるプラスミノゲン活性化因子阻害剤 1 (PAI-1) のバランスに強く依存します。ただし、内皮線維素溶解が調節されるメカニズムは完全に理解されていないままです。本研究では、ヒト血管内皮 EA.hy926 細胞に核因子赤血球 2 関連因子 2 (NRF2) の低分子干渉 RNA をトラン</p>

Google translation/ AEC trial

<p>cells were transfected with small interfering RNA for nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) and the expression of t-PA and PAI-1 and fibrinolytic activity in the conditioned medium were examined. EA.hy926 cells were also treated with sulforaphane, an NRF2 activator, and fibrinolytic activity was examined to confirm the NRF2 signaling pathway's effect. Enhanced fibrinolytic activity in the conditioned medium was observed in association with increased expression and secretion levels of t-PA in NRF2 knockdown EA.hy926 cells. However, sulforaphane inhibited fibrinolytic activity and t-PA synthesis in EA.hy926 cells without any cell damage. The expression level of PAI-1 did not change in either NRF2 knockdown or sulforaphane treated cells. These results suggest that transcription factor NRF2 may play a role in down-regulating endothelial t-PA synthesis and fibrinolytic activity.</p>	<p>スフェクトし、馴化培地での t-PA および PAI-1 と線溶活性の発現を調べた。EA.hy926 細胞も NRF2 活性化因子であるスルフォラファンで処理され、線溶活性が検査されて NRF2 シグナル伝達経路の効果が確認されました。NRF2 ノックダウン EA.hy926 細胞では、馴化培地での線溶活性の増強が、t-PA の発現および分泌レベルの増加と関連して観察されました。ただし、スルフォラファンは EA.hy926 細胞の線維素溶解活性と t-PA 合成を細胞損傷なしに阻害しました。PAI-1 の発現レベルは、NRF2 ノックダウンまたはスルフォラファン処理細胞のいずれでも変化しませんでした。これらの結果は、転写因子 NRF2 が内皮の t-PA 合成および線溶活性のダウンレギュレーションに役割を果たす可能性があることを示唆しています。</p>
--	--