

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (6):

The Journal of Toxicological Sciences Vol. 45 (2020) No. 6 June

Original Article

[Endoplasmic reticulum stress mediated apoptosis via JNK in MWCNT-exposed *in vitro* systems: size, surface functionalization and cell type specificity](#)

Nivedita Chatterjee, Jinhee Choi

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (6): 305-317

Original	Google translation
<p>The aim of the present study was to evaluate the underlying mechanism of multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) induced cellular response and their potential cross-talk, specifically, between endoplasmic reticulum (ER) stress, MAPK activation and apoptosis and how these nano-bio interactions depend on the physico-chemical properties of MWCNT. For this purpose, human bronchial epithelial (Beas2B) and human hepatoma (HepG2) cell lines, were exposed to five kinds of MWCNTs which differ in functionalization and aspect ratios. Tissue-specific sensitivity was evident for calcium homeostasis, ER-stress response, MAPK activation and apoptosis, which further depended on surface functionalization as well as aspect ratios of MWCNT. By applying specific pharmaceutical inhibitors, relevant biomarkers gene and proteins expressions, we found that possibly MWCNT induce activation of IRE1α-XPB1 pathway-mediated ER-stress</p>	<p>本研究の目的は、多層カーボンナノチューブ (MWCNT) が誘発する細胞応答の潜在的なメカニズムと、特に小胞体 (ER) ストレス、MAPK 活性化およびアポトーシスとこれらのナノの間の潜在的なクロストークを評価することでした。生体相互作用は、MWCNT の物理化学的性質に依存します。この目的のために、ひと気管支上皮 (Beas2B) とひと肝癌 (HepG2) 細胞株は、機能化とアスペクト比が異なる 5 種類の MWCNT にさらされました。組織固有の感度は、カルシウムのホメオスタシス、ER ストレス応答、MAPK の活性化、アポトーシスに明らかであり、これらはさらに表面の機能化や MWCNT のアスペクト比に依存していました。特定の医薬品阻害剤、関連するバイオマーカー遺伝子およびタンパク質の発現を適用することにより、MWCNT が IRE1α-XPB1 経路を介した ER ストレス応答の活性化を誘導し、これにより、両方のタイプの細胞で JNK 活性化を介してアポトーシスを引き起こしますが、強度は変動します。ここに提示された情報は、MWCNT の毒性とそれらのより安全なアプリケーションのより良い理解に関連があります。</p>

Google translation/ AETC trial

response, which in turn trigger apoptosis through JNK activation in both type of cells but with variable intensity. The information presented here would have relevance in better understanding of MWCNT toxicity and their safer applications.

Original Article

[Lack of toxicological influences by microsampling \(50 µL\) from jugular vein of rats in a collaborative 28-day study](#)

Hideaki Yokoyama, Norimichi Hattori, Hirohiko Ohtsuka, Eiji Murata, Ak ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (6): 319-325

Original	Google translation
Due to finalization of the ICH S3A Q&A focusing on microsampling, application of microsampling technique to regular non-clinical animal studies is expected for non-clinical safety assessment of pharmaceuticals. In Europe, microsampling from the tail vein or saphenous vein has often been used, whereas sampling from the jugular vein is thought to be more common for non-clinical studies in Japan. Therefore, we assessed the toxicological effects of serial microsampling from the jugular vein of SD rats in a common 28-day study at 4 independent organizations. Fifty microliter sampling was performed at 6 timepoints on day 1 to 2 and 7 timepoints on day 27 to 28 and its toxicological influences on body weight, food consumption, hematological and	マイクロサンプリングに焦点を当てた ICH S3A Q&A の最終化により、定期的な非臨床動物試験へのマイクロサンプリング技術の適用は、医薬品の非臨床安全性評価に期待されています。ヨーロッパでは、尾静脈または伏在静脈からのマイクロサンプリングがよく使用されていますが、日本の非臨床試験では頸静脈からのサンプリングがより一般的であると考えられています。したがって、4つの独立した組織での一般的な28日間の研究で、SDラットの頸静脈からの連続マイクロサンプリングの毒性学的影響を評価しました。1日目から2日目までの6つの時点、27日目から28日目までの7つの時点で50マイクロリットルのサンプリングを行い、体重、摂餌量、血液学および臨床化学パラメータ、および臓器重量に対する毒性学的影響(29日目は3日目と28日目) 1組織)が評価されました。シリアルマイクロサンプリングは、評価されたパ

Google translation/ AETC trial

<p>clinical chemistry parameters, and organ weights (on day 29 for 3 and day 28 for 1 organizations) were evaluated. The serial microsampling was shown to have no or minimal influences on the assessed parameters. The observed statistical differences for the 18 parameters were sporadic and did not appear to be systemically associated with microsampling. However, the sporadic changes were more often observed in females (14/18 parameters) than in males (6/18), suggesting the possibility that female rats were more susceptible to treatment-based influences. The current results indicate that serial 50 μ L sampling from the jugular vein of SD rats had no or very slight toxicological effects, suggesting that this microsampling condition is applicable for toxicokinetic evaluation of non-clinical rat toxicity studies.</p>	<p>ラメーターに影響を及ぼさないか、最小限に抑えます。18個のパラメーターについて観察された統計的差異は散発的であり、マイクロサンプリングと全身的に関連しているようには見えませんでした。ただし、散発的な変化は男性(6/18)よりも女性(14/18パラメータ)でより頻繁に観察され、女性のラットが治療ベースの影響を受けやすい可能性を示唆しています。現在の結果は、SDラットの頸静脈からの50μLの連続サンプリングが毒性作用をまったくまたはごくわずかしか持っていないことを示しており、このマイクロサンプリング条件が非臨床ラット毒性試験のトキシコキネティクス評価に適用できることを示唆しています。</p>
--	---

Letter

[An acid-hydrolyzed wheat protein activates the inflammatory and NF- \$\kappa\$ B pathways leading to long TSLP transcription in human keratinocytes](#)

Yasutaka Kuroda, Takuo Yuki, Yutaka Takahashi, Hitoshi Sakaguchi, Kayo ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (6): 327-337

Original	Google translation
<p>Hydrolyzed wheat proteins (HWP) contained in cosmetics have occasionally caused immediate-type hypersensitivity following repeated skin exposure. Although the Cosmetic</p>	<p>化粧品に含まれる加水分解小麦タンパク質(HWP)は、皮膚への反復暴露により、即時型過敏症を引き起こすことがあります。Cosmetic Ingredient Review Expert Panelは、3,500 Da未満のHWPが化粧品での使</p>

Google translation/ AETC trial

<p>Ingredient Review Expert Panel concluded that < 3,500 Da HWP is safe for use in cosmetics, it remains biologically unknown how allergenic HWPs evoke immediate-type allergy percutaneously. Keratinocyte-derived thymic stromal lymphopoietin (TSLP) induces type 2 immune responses, which play an essential role in the pathogenesis of immediate-type allergy. Previously, we demonstrated that protein allergens in cultured human keratinocytes strongly induced long-form TSLP (loTSLP) transcription. However loTSLP-regulating signaling by HWP is poorly understood. In this study, we performed global gene expression analysis by microarray to investigate how the allergenic HWP acts on epidermal keratinocytes and the induction of loTSLP. Compared to human serum albumin (HSA), allergenic HWP induced a distinct gene expression pattern and preferentially activated various inflammatory pathways (High Mobility Group Box 1, Interleukin [IL]-6, IL-8, and acute phase response signaling). We identified 85 genes as potential nuclear factor-kappa B (NF-κB) target genes in GP19S-treated cells, compared with 29 such genes in HSA-treated cells. In addition, HWP specifically altered IL-17 signaling pathways in which transcription factors, NF-κB and activator protein-1, were activated. NF-κB signaling may be an important factor for HWP-induced</p>	<p>用に安全であると結論付けましたが、アレルギー性 HWP がどのように即時型アレルギーを経皮的に引き起こすかは生物学的に不明のままです。ケラチノサイト由来胸腺間質性リンホポエチン (TSLP) は、即時型アレルギーの病因に重要な役割を果たす 2 型免疫応答を誘導します。以前は、培養ヒトケラチノサイトのタンパク質アレルゲンがロングフォーム TSLP (loTSLP) 転写を強く誘導することを示しました。ただし、HWP による loTSLP 調節シグナル伝達はよくわかっていません。この研究では、マイクロアレイによるグローバルな遺伝子発現分析を行って、アレルギー性 HWP が表皮ケラチノサイトと loTSLP の誘導にどのように作用するかを調査しました。ヒト血清アルブミン (HSA) と比較して、アレルゲン HWP は異なる遺伝子発現パターンを誘導し、さまざまな炎症経路を優先的に活性化しました (高移動度グループボックス 1、インターロイキン[IL]-6、IL-8、および急性期反応シグナル伝達)。GP19S 処理細胞では 85 の遺伝子が核因子カッパ B (NF-κB) 標的遺伝子である可能性があり、HSA 処理細胞ではそのような遺伝子が 29 あることが確認されました。さらに、HWP は転写因子である NF-κB と活性化タンパク質 1 が活性化される IL-17 シグナル伝達経路を特異的に変化させました。NF-κB シグナル伝達は、阻害アッセイによる HWP 誘発性炎症性 loTSLP 転写の重要な要素である可能性があります。結論として、アレルギー性 HWP は、活性化された炎症経路の容易に感作可能な環境を引き起こし、ケラチノサイトで NF-κB 依存性 loTSLP 転写を誘導しました。</p>
--	--

Google translation/ AETC trial

inflammatory I α TSLP transcription via inhibition assay. In conclusion, allergenic HWP caused an easily sensitizable milieu of activated inflammatory pathways and induced NF- κ B-dependent I α TSLP transcription in keratinocytes.

Original Article

[Biochemical profiles of rat primary cultured hepatocytes following treatment with rotenone, FCCP, or \(+\)-usnic acid](#)

Kazunori Fujimoto, Hiroyuki Kishino, Kazuyuki Hashimoto, Kyoko Watanab ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (6): 339-347

Original	Google translation
<p>The metabolomic profiles of rat primary hepatocytes following treatment with rotenone, FCCP, or (+)-usnic acid were determined using liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry. Significant and similar changes in the levels of 283 biochemical metabolites were associated with the three treatments compared with solvent control samples. Overall, the three treatments generated similar global biochemical profiles, with some minor differences associated with rotenone treatment. All three treatments resulted in a shift in energy metabolism as demonstrated by decreased glycogen stores and glycolysis. A reduced antioxidant response was detected in cells following all treatments. In addition, bile acid biosynthesis decreased as a</p>	<p>ロテノン、FCCP、または (+) -ウスニン酸による処理後のラット初代肝細胞のメタボロームプロファイルは、液体クロマトグラフィー-質量分析/質量分析およびガスクロマトグラフィー-質量分析を使用して決定されました。283の生化学的代謝産物のレベルの有意かつ類似した変化は、溶媒対照サンプルと比較して3つの処理に関連していました。全体として、3つの治療はロテノン治療に関連するいくつかの小さな違いを伴って、同様のグローバルな生化学的プロファイルを生成しました。グリコーゲン貯蔵の減少と解糖によって示されるように、3つの治療すべてがエネルギー代謝の変化をもたらしました。すべての処理後、抗酸化反応の低下が細胞で検出されました。さらに、3つすべての処理による酸化ストレスの増加の潜在的な結果として、胆汁酸合成は減少しました。逆に、ロテノン処理は1時間後に多くの変化を引き起こしましたが、FCCPまたは (+) -ウスニン酸処理サ</p>

Google translation/ AETC trial

potential consequence of increased oxidative stress by all three treatments. Conversely, rotenone treatment induced a number of changes after 1 hr, which were not detected in FCCP- or (+)-usnic acid-treated samples; these changes were not sustained over time and included increased NAD ⁺ salvage and lysine degradation. In conclusion, these biochemical profiles could provide new insights into the mechanism(s) of mitochondrial toxicity.	ンプルでは検出されませんでした。これらの変化は長期にわたって持続せず、NAD ⁺ のサルベージおよびリジンの分解の増加が含まれていました。結論として、これらの生化学的プロファイルは、ミトコンドリア毒性のメカニズムに新しい洞察を提供する可能性があります。
--	---

Original Article

[Redox cycling of 9,10-phenanthrenequinone activates epidermal growth factor receptor signaling through S-oxidation of protein tyrosine phosphatase 1B](#)

Nho Cong Luong, Yumi Abiko, Takahiro Shibata, Koji Uchida, Eiji Warabi ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (6): 349-363

Original	Google translation
9,10-Phenanthrenequinone (9,10-PQ) is a polycyclic aromatic hydrocarbon quinone contaminated in diesel exhaust particles and particulate matter 2.5. It is an efficient electron acceptor that induces redox cycling with electron donors, resulting in excessive reactive oxygen species and oxidized protein production in cells. The current study examined whether 9,10-PQ could activate epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in A431 cells through S-oxidation of its negative regulators such as protein tyrosine phosphatase (PTP) 1B. 9,10-PQ oxidized	9,10-フェナントレンキノン (9,10-PQ) は、ディーゼル排気粒子および粒子状物質 2.5 に汚染された多環式芳香族炭化水素キノンは、電子供与体との酸化還元循環を誘発し、細胞内で過剰な活性酸素種と酸化タンパク質産生を引き起こす効率的な電子受容体です。現在の研究では、9,10-PQ が A431 細胞の上皮成長因子受容体 (EGFR) シグナル伝達を、タンパク質チロシンホスファターゼ (PTP) 1B などの負の調節因子の S 酸化を介して活性化できるかどうかを調べました。9,10-PQ は Cys215 で組換えヒト PTP1B を酸化し、その触媒活性、カタラーゼ (CAT) によってブロックされた効果を阻害しましたが、レドックスサ

Google translation/ AEC trial

recombinant human PTP1B at Cys215 and inhibited its catalytic activity, an effect that was blocked by catalase (CAT), whereas *cis*-9,10-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene (DDP), which lacks redox cycling activity, had no effect on PTP1B activity. Exposure of A431 cells to 9,10-PQ, but not DDP, activated signaling through EGFR and its downstream extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2), coupled with a decrease of cellular PTP activity. Immunoprecipitation and UPLC-MS^E revealed that PTP1B easily undergoes oxidation during exposure of A431 cells to 9,10-PQ. Pretreatment with polyethylene glycol conjugated with CAT (PEG-CAT) abolished 9,10-PQ-generated H₂O₂ production and significantly blocked the activation of EGFR-ERK1/2 signaling by 9,10-PQ, indicating the involvement of H₂O₂ in the activation because scavenging agents for hydroxyl radicals had no effect on the redox signal activation. These results suggest that such an air pollutant producing H₂O₂, activates EGFR-ERK1/2 signaling, presumably through the S-oxidation of PTPs such as PTP1B, and activation of the signal cascade may contribute, at least in part, to cellular responses in A431 cells.

イクリングを欠く *cis*-9,10-ジヒドロキシ-9,10-ジヒドロフェナントレン (DDP) 活動は、PTP1B 活動に影響を与えませんでした。A431 細胞を DDP ではなく 9,10-PQ に曝露すると、EGFR とその下流の細胞外シグナル調節キナーゼ 1/2 (ERK1/2) を介したシグナル伝達が活性化し、細胞の PTP 活性が低下した。免疫沈降と UPLC-MSE により、PTP1B は A431 細胞の 9,10-PQ への曝露中に容易に酸化されることが明らかになりました。CAT (PEG-CAT) と結合したポリエチレングリコールによる前処理は、9,10-PQ によって生成された H₂O₂ 生成を廃止し、9,10-PQ による EGFR-ERK1/2 シグナル伝達の活性化を大幅にブロックしました。これは、活性化における H₂O₂ の関与を示しています。ヒドロキシルラジカルの捕捉剤は、レドックス信号の活性化に影響を与えませんでした。これらの結果は、H₂O₂ を生成するそのような大気汚染物質が、おそらく PTP1B などの PTP の S 酸化を介して EGFR-ERK1 / 2 シグナル伝達を活性化し、シグナルカスケードの活性化が、少なくとも部分的に、A431 の細胞応答に寄与することを示唆しています細胞。