

# Google translation/ AETC trial

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (7):

The Journal of Toxicological Sciences Vol. 45 (2020) No. 7 July

Review

[Non-clinical combination toxicology studies: strategy, examples and future perspective](#)

Aida Sacaan, Satoko Nonaka Hashida, Nasir K. Khan

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (7): 365-371

Original	Google translation
<p>Over the last decade, combination of drugs in all stages of pharmaceutical development has accelerated availability of promising new therapies for difficult to treat diseases. Safety assessment of combined drugs to be tested in humans can occur at a critical path prior to proceeding in clinical testing. A recent survey by The International Consortium for Innovation and Quality in Pharmaceutical Development (IQ DruSafe) summarized member companies' approaches to combination safety strategies. In addition, feedback from Health Authorities (HAs) support a case-by-case scientific approach in assessing combination products' safety in accordance with the International Council on Harmonization (ICH) guidelines. Here, we present Pfizer's drug combination safety approach for various therapeutic areas (TA) including inflammation and immunology, metabolic, and anti-cancer products. There is no one-size-fits-all approach; rather, our</p>	<p>過去 10 年間、医薬品開発のすべての段階での薬物の組み合わせにより、治療が困難な疾患に対する有望な新しい治療法の利用が加速しています。ヒトで試験される併用薬物の安全性評価は、臨床試験に進む前の重要な段階で行われる可能性があります。製薬開発におけるイノベーションと品質のための国際コンソーシアム (IQ DruSafe) による最近の調査は、組み合わせ安全戦略に対するメンバー企業のアプローチをまとめたものです。さらに、保健当局 (HA) からフィードバックは、国際調和協議会 (ICH) ガイドラインに従って組み合わせ製品の安全性を評価する際のケースバイケースの科学的アプローチをサポートしています。ここでは、炎症や免疫学、代謝、抗がん剤など、さまざまな治療領域 (TA) に対するファイザーの薬物併用安全アプローチを紹介します。万能のアプローチはありません。むしろ、私たちの主な考慮事項には、個々の化合物、一般的な標的臓器の既存の臨床安全性データの強さ、相乗効果の可能性、潜在的な薬物間相互作用、各製品の投与経路、および疾患の適応が含まれます。抗がん剤には正式な毒性試験は必要ないと</p>

# Google translation/ AETC trial

<p>main considerations include: strength of the existing clinical safety data for the individual compounds, common target organs, the potential for a synergistic effect, potential drug-drug interaction, routes of administration of each product and disease indications. No formal toxicity studies are considered necessary for anti-cancer drugs, while safety endpoints may be collected in preclinical pharmacology studies especially when the combined drugs present a novel mechanism. Combination safety studies when conducted for non-cancer indications can range from 2 to 13-weeks in duration, conducted usually in rodents, with dosages of individual molecules within clinical pharmacologic ranges. A case-by-case strategy guided by scientific rationale and in close collaboration with HAs remains the best approach to decide on the design and conduct of combination safety studies.</p>	<p>考えられていますが、前臨床薬理試験では安全性のエンドポイントが収集される可能性があり、特に併用薬剤が新しいメカニズムを示す場合はそうです。がん以外の適応症に対して実施される場合の併用安全性試験は、通常はげっ歯類で実施され、臨床薬理的範囲内の個々の分子の投与量で実施される期間が2~13週間の範囲です。科学的根拠に基づき、HAと密接に連携したケースバイケースの戦略は、組み合わせ安全性研究の設計と実施を決定するための最良のアプローチであり続けます。</p>
---	--

Original Article

[Rosmarinic acid alleviates di-2-ethylhexyl phthalate \(DEHP\) -induced thyroid dysfunction via multiple inflammasomes activation](#)

Haoyu Wu, Kun Ma, Xiaolin Na

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (7): 373-390

Original	Google translation
DEHP (di-2-ethylhexyl phthalate), an environmental endocrine disruptor, is widely used in industrial products, particularly as plasticizers and softeners	環境内分泌かく乱物質である DEHP (フタル酸ジ-2-エチルヘキシル) は、工業製品、特に視床下部-下垂体-甲状腺 (HPT) 軸の機能を妨害する可能性のある可塑剤および軟

# Google translation/ AETC trial

which could disrupt the function of the hypothalamic–pituitary–thyroid (HPT) axis. Rosmarinic acid (RA) possesses potential antioxidant and anti-inflammatory capacities in disease models. Nevertheless, evidence on the association between DEHP-induced thyroid dysfunction and inflammation, as well as the molecular mechanism underlying the protective effects of RA-mitigated DEHP-induced thyroid injury remains inconclusive. Male Sprague Dawley (SD) rats were intragastrically administered DEHP (150 mg/kg, 300 mg/kg, 600 mg/kg) once a day for 90 consecutive days. Also, FRTL-5 cells were treated with a wide range of DEHP concentrations ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-2}$  M) for 24 hr. Subsequently, RA (50  $\mu$  M) was administered for 24 hr before  $10^{-4}$  M DEHP challenge. We found that DEHP induced thyroid damage and inflammatory infiltration *in vivo*. In addition, we showed that DEHP triggered inflammatory cell death, which is mediated by multiple inflammasomes. Moreover, RA, pyroptosis inhibitor (Ac-YVAD-cmk) and antioxidant inhibitor (NAC) treatment significantly alleviated DEHP-induced thyrocyte death, suppressing pro-inflammatory cytokine production, inhibiting multiple inflammasomes activation and attenuating thyrocyte death, respectively. Collectively, our results reveal that a critical role of

化剤として広く使用されています。ロスマリン酸 (RA) は、疾患モデルにおいて潜在的な抗酸化および抗炎症能力を持っています。それにもかかわらず、DEHP 誘発甲状腺機能障害と炎症、および RA で緩和された DEHP 誘発甲状腺損傷の保護効果の根底にある分子メカニズムの関連に関する証拠は、決定的なものではありません。オス Sprague Dawley (SD) ラットに、胃内に DEHP (150 mg/kg, 300 mg/kg, 600 mg/kg) を 90 日間連続して 1 日 1 回投与しました。また、FRTL-5 細胞は、広範囲の DEHP 濃度 ( $10^{-8}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-2}$  M) で 24 時間処理されました。その後、RA (50  $\mu$  M) を 24 時間投与した後、 $10^{-4}$  M の DEHP チャレンジを行った。DEHP は、*in vivo* で甲状腺障害と炎症性浸潤を誘発することを発見しました。さらに、DEHP が複数のインフラマソームによって媒介される炎症性細胞死を引き起こすことを示しました。さらに、RA、ピロトーシス阻害剤 (Ac-YVAD-cmk) および抗酸化阻害剤 (NAC) の治療により、DEHP 誘発性甲状腺細胞死が大幅に軽減され、炎症性サイトカインの産生が抑制され、複数のインフラマソームの活性化が抑制され、甲状腺細胞死がそれぞれ抑制されました。総称して、私たちの結果は、DEHP 誘発甲状腺損傷におけるインフラマソーム活性化の重要な役割を明らかにし、RA が DEHP 誘発甲状腺炎症に対する保護を与え、ピロトーシス阻害剤または抗酸化阻害剤を投与した後の DEHP の影響の制御を促進することを示唆しています。これらの結果は、毒物学および薬理学的にこの分子を DEHP 誘発炎症にターゲティングすることについて

# Google translation/ AETC trial

inflammasomes activation in DEHP-induced thyroid injury, and suggest that RA confers protection against DEHP-induced thyroid inflammation, and facilitating control of the effects of DEHP after given pyroptosis inhibitor or antioxidant inhibitor. These results indicate that it should be possible to provide novel insights into toxicologically and pharmacologically targeting this molecule to DEHP-induced inflammation.	て、新しい洞察を提供することが可能であることを示しています。
--	--------------------------------

## Original Article

[Toxicological effects of propofol abuse on the dopaminergic neurons in ventral tegmental area and corpus striatum and its potential mechanisms](#)

Qi Chen, Shurong Li, Yuping Han, Xiaohong Wei, Juan Du, Xiaolin Wang, ...

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (7): 391-399

Original	Google translation
This study was aimed at examining propofol- (a known anesthetic) induced emotion-related behavioral disorders in mice, and exploring the possible molecular mechanisms. A total of 60 mice were divided into two groups: control and propofol group. Mice were injected with propofol (150 mg/kg, ip) at 8:00 a.m. (once a day, lasting for 30 days). During the 30 days, loss of righting reflex (LORR) and return of righting reflex (RORR) of mice were recorded every day. At the 1st (T1) and 30th (T2) day of drug discontinuance (T2), 15 mice of each group were selected to perform	この研究は、プロポフォール（既知の麻酔薬）によって誘発される感情関連行動障害をマウスで調べることを目的としています。合計 60 匹のマウスを 2 つのグループに分けました：コントロールとプロポフォールグループ。マウスに午前 8 時にプロポフォール（150 mg / kg、腹腔内）を注射した（1 日 1 回、30 日間持続）。30 日間、マウスの立ち直り反射の喪失（LORR）と立ち直り反射の戻り（RORR）が毎日記録されました。薬物の中止（T2）の 1 日目（T1）および 30 日目（T2）に、各グループの 15 匹のマウスがオープンフィールドテストを実行するために選択されました。次に、マ

# Google translation/ AEC trial

<p>the open field test; then the mice underwent perfusion fixation, and the midbrain and corpus striatum were separated for immunofluorescence assay with anti-tyrosine hydroxylase (Th) and anti-dopamine transporter (DAT) antibodies. Results showed that after propofol injection, LORR and RORR increased and decreased, respectively. Long-term use of propofol resulted in decreased activities of mice (activity trajectory, line crossing, rearing time, scratching times and defecating frequency). Immunofluorescence assay showed long-term use of propofol induced decrease of Th and DAT. Collectively, our present work suggested long-term abuse of propofol induces neuropsychiatric function impairments, and the possible mechanisms are related to dopamine dyssynthesis via down-regulating tyrosine hydroxylase and dopamine transporter.</p>	<p>ウスは灌流固定を受け、中脳と線条体は、抗チロシンヒドロキシラーゼ (Th) と抗ドーパミントランスポーター (DAT) 抗体を用いた免疫蛍光アッセイのために分離されました。結果は、プロポフォール注射後、LORRおよびRORRがそれぞれ増加および減少したことを示しました。プロポフォールの長期使用により、マウスの活動が減少しました (活動の軌跡、ラインの交差、飼育時間、引っかき時間、排便頻度)。免疫蛍光アッセイは、プロポフォールの長期使用がThおよびDATの減少を誘発したことを示した。まとめると、私たちの現在の研究は、プロポフォールの長期乱用が精神神経機能障害を誘発することを示唆しており、可能なメカニズムは、チロシンヒドロキシラーゼとドーパミントランスポーターのダウンレギュレーションを介したドーパミン生合成に関連しています。</p>
---	--

## Original Article

[The effect of dihydropyrazines on lipopolysaccharide-stimulated human hepatoma HepG2 cells via regulating the TLR4-MyD88-mediated NF- \$\kappa\$ B signaling pathway](#)

Madoka Esaki, Takumi Ishida, Yuu Miyauchi, Shinji Takechi

J. Toxicol. Sci., 2020; 45 (7): 401-409

Original	Google translation
Dihydropyrazines (DHPs), including 3-hydro-2,2,5,6-tetramethylpyrazine (DHP-3), are glycation products that are spontaneously generated <i>in vivo</i> and	3-ヒドロ-2,2,5,6-テトラメチルピラジン (DHP-3) を含むジヒドロピラジン (DHP) は、 <i>in vivo</i> で自然に生成され、食品を介して摂取される糖化産物です。DHPは、

# Google translation/ AEC trial

ingested via food. DHPs generate various radicals and reactive oxygen species (ROS), which can induce the expression of several antioxidant genes in HepG2 cells. However, detailed information on DHP-response pathways remains elusive. To address this issue, we investigated the effects of DHP-3 on the nuclear factor- $\kappa$  B (NF- $\kappa$  B) pathway, a ROS-sensitive signaling pathway. In lipopolysaccharide-stimulated (LPS-stimulated) HepG2 cells, DHP-3 decreased phosphorylation levels of inhibitor of NF- $\kappa$  B (I $\kappa$  B) and NF- $\kappa$  B p65, and nuclear translocation of NF- $\kappa$  B p65. In addition, DHP-3 reduced the expression of Toll-like receptor 4 (TLR4) and the adaptor protein myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88). Moreover, DHP-3 suppressed the mRNA expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ), and interleukin-1 beta (IL-1  $\beta$ ). Taken together, these results suggest that DHP-3 acts as a negative regulator of the TLR4-MyD88-mediated NF- $\kappa$  B signaling pathway.

HepG2 細胞でいくつかの抗酸化遺伝子の発現を誘導できるさまざまなラジカルと活性酸素種 (ROS) を生成します。ただし、DHP 応答経路の詳細な情報はとらえどころのないままです。この問題に対処するために、ROS 感受性シグナル伝達経路である核因子- $\kappa$  B (NF- $\kappa$  B) 経路に対する DHP-3 の影響を調査しました。リポ多糖刺激 (LPS 刺激) HepG2 細胞では、DHP-3 は、NF- $\kappa$  B (I $\kappa$  B) および NF- $\kappa$  Bp65 の阻害剤のリン酸化レベル、および NF- $\kappa$  Bp65 の核移行を減少させました。さらに、DHP-3 は Toll 様受容体 4 (TLR4) とアダプタータンパク質骨髄分化一次応答遺伝子 88 (MyD88) の発現を減少させました。さらに、DHP-3 は腫瘍壊死因子アルファ (TNF  $\alpha$ ) とインターロイキン-1 ベータ (IL-1  $\beta$ ) の mRNA 発現を抑制しました。まとめると、これらの結果は、DHP-3 が TLR4-MyD88 を介した NF- $\kappa$  B シグナル伝達経路の負の調節因子として機能することを示唆しています。