

Editorial Board

Article 105178

[Download PDF](#)

Editorial

Cobalt: A tiered testing strategy to estimate its inhalation toxicity

Michael Dourson, Brent Finley

Article 105163

Research article

Use of *in vitro* metabolism and biokinetics assays to refine predicted *in vivo* and *in vitro* internal exposure to the cosmetic ingredient, phenoxyethanol, for use in risk assessment

Nicola J. Hewitt, John Troutman, Julia Przibilla, Andreas Schepky, ... Mathew P. Dent

Article 105132

[Download PDF](#)

化粧品成分であるフェノキシエタノールの生体内動態を明らかにし、親成分とその主要安定代謝物の安全性を評価するために、新しいアプローチが開発されました。この非動物的な段階的アプローチの最初のステップでは、初代ヒト肝細胞を使用して、インシリコで予測された代謝物を確認または反論し、フェノキシエタノールの固有クリアランスを明らかにしました。その結果、主要な代謝物であるフェノキシ酢酸（PAA）が同定され、腎臓での曝露量が血液や他の組織での曝露量をはるかに上回ると予測されたことが重要な成果でした。そこで、PoD（Point of departure）となるフェノキシエタノール投与細胞での PAA の生成量を測定し、細胞内曝露量を C_{max} および AUC₂₄ で表すという新しいアプローチを採用しました。これにより、この値を導き出すために使用した細胞における PoD の親と代謝物の細胞内濃度を算出することができました。これらの濃度を生体内組織レベルと比較することで、安全性マージンを結論付けることができます。この事例から得られた教訓は、他の非動物用安全性評価の設計に役立てることができます。

A novel approach was developed to help characterize the biokinetics of the cosmetic ingredient, phenoxyethanol, to help assess the safety of the parent and its major stable

metabolite. In the first step of this non-animal tiered approach, primary human hepatocytes were used to confirm or refute *in silico* predicted metabolites, and elucidate the intrinsic clearance of phenoxyethanol. A key result was the identification of the major metabolite, phenoxyacetic acid (PAA), the exposure to which in the kidney was subsequently predicted to far exceed that of phenoxyethanol in blood or other tissues. Therefore, a novel aspect of this approach was to measure in the subsequent step the formation of PAA in the cells dosed with phenoxyethanol that were used to provide points of departure (PoDs) and express the intracellular exposure as the C_{\max} and AUC_{24} . This enabled the calculation of the intracellular concentrations of parent and metabolite at the PoD in the cells used to derive this value. These concentrations can be compared with *in vivo* tissue levels to conclude on the safety margin. The lessons from this case study will help to inform the design of other non-animal safety assessments.

Research article

Next generation risk assessment for skin allergy: Decision making using new approach methodologies

N. Gilmour, J. Reynolds, K. Przybylak, M. Aleksic, ... G. Maxwell

Article 105159

私たちの目的は、新たな動物実験データを必要とせず、不確実性をより定量化できる皮膚アレルギーリスク評価（SARA）の次世代アプローチを開発し、適用することである。皮膚感作性評価のための非動物試験法であるニューアプローチ法（NAM）の開発には大きな進展があり、現在、次世代リスク評価（NGRA）で使用するための力価情報の導出にその応用が注目されている。SARA モデルは、ベイズ統計学的アプローチを利用し、ヒトの反復侮辱パッチテスト、局所リンパ節、直接ペプチド反応性アッセイ、KeratinoSens™、h-CLAT または U-SENS™データの任意の組み合わせに基づき、感作性物質の効力と消費者のある曝露に関するリスクの指標を推論するものです。ここでは、4つの消費者製品に含まれる3つのケーススタディ材料に対して、皮膚アレルギーの証拠重視の NGRA フレームワークの中で SARA モデルを適用しています。リスクアセスメントをどのように構成し、NAM を適用して出発点を導き出し、消費者安全性リスクについて結論を出すかを強調した。NAMs に基づく NGRA は、これらの曝露に対して、少なくとも過去のリスク評価アプローチと同等の保護効果を示した。このようなケーススタディを通じて、我々は皮膚アレルギーのリスク評価に NAM を使用することに自信を深めている。

Our aim is to develop and apply next generation approaches to skin allergy risk assessment (SARA) that do not require new animal test data and better quantify uncertainties. Significant progress has been made in the development of New Approach

Methodologies (NAMs), non-animal test methods, for assessment of skin sensitisation and there is now focus on their application to derive potency information for use in Next Generation Risk Assessment (NGRA). The SARA model utilises a Bayesian statistical approach to infer a human-relevant metric of sensitiser potency and a measure of risk associated with a given consumer exposure based upon any combination of human repeat insult patch test, local lymph node, direct peptide reactivity assay, KeratinoSens™, h-CLAT or U-SENS™ data. Here we have applied the SARA model within our weight of evidence NGRA framework for skin allergy to three case study materials in four consumer products. Highlighting how to structure the risk assessment, apply NAMs to derive a point of departure and conclude on consumer safety risk. NGRA based upon NAMs were, for these exposures, at least as protective as the historical risk assessment approaches. Through such case studies we are building our confidence in using NAMs for skin allergy risk assessment.

Research article

Expansion of the Cosmetics Europe skin sensitisation database with new substances and PPRA data

Sebastian Hoffmann, Nathalie Alépée, Nicola Gilmour, Petra S. Kern, ... Cosmetics Europe

Article 105169

[Download PDF](#)

皮膚感作性の評価は、すべての規制分野において重要な要件であるが、欧州連合の化粧品成分に関する規制は、新しいアプローチ手法(NAMs)に基づく定量的な皮膚感作性評価を要求するため、最も困難な課題であると言える。

この課題に対処するためには、NAMsを深く理解し、調和させることが評価への情報提供の基本である。そこで、我々はNAMsとin vivo(ヒトおよび局所リンパ節アッセイ)参照データのデータベースを作成した。ここでは、このデータベースを拡張し、化粧品産業と関連性の高い41物質を追加しました。これらの構造的に異なる物質を6つのNAM(Direct Peptide Reactivity Assay, KeratinoSens™, Human Cell Line Activation Test, U-SENS™, SENS-IS, Peroxidase Peptide Reactivity Assay)で試験した結果、これらの物質が化粧品に影響を与える可能性があることがわかりました。

分析の結果、これらの物質は技術的な制約を受けることなく試験を行うことができましたが、参考結果と比較した場合、概して過剰に予測されることが明らかになりました。この予測精度の低下の理由を、一対のNAM比較と疎水性との関連性から探った。

我々は、NAM がより広範囲の物質に対してどのように適用されるかについて、より詳細な理解が必要であると結論付けた。これにより、次世代リスク評価の枠組みの中で最適に適用される NAM を柔軟かつ十分な情報に基づいて選択することができ、最終的には不確実性の評価と低減に寄与することが期待されます。

The assessment of skin sensitisation is a key requirement in all regulated sectors, with the European Union's regulation of cosmetic ingredients being most challenging, since it requires quantitative skin sensitisation assessment based on new approach methodologies (NAMs).

To address this challenge, an in-depth and harmonised understanding of NAMs is fundamental to inform the assessment. Therefore, we compiled a database of NAMs, and *in vivo* (human and local lymph node assay) reference data. Here, we expanded this database with 41 substances highly relevant for cosmetic industry. These structurally different substances were tested in six NAMs (Direct Peptide Reactivity Assay, KeratinoSens™, human Cell Line Activation Test, U-SENS™, SENS-IS, Peroxidase Peptide Reactivity Assay).

Our analysis revealed that the substances could be tested without technical limitations, but were generally overpredicted when compared to reference results. Reasons for this reduced predictivity were explored through pairwise NAM comparisons and association of overprediction with hydrophobicity.

We conclude that more detailed understanding of how NAMs apply to a wider range of substances is needed. This would support a flexible and informed choice of NAMs to be optimally applied in the context of a next generation risk assessment framework, ultimately contributing to the characterisation and reduction of uncertainty.

Review article

A scoping review of infant and children health effects associated with cadmium exposure

Brenna M. Flannery, Heather R. Schaefer, Karlyn B. Middleton

Article 105155

[Download PDF](#)

米国 FDA のイニシアチブである Closer to Zero は、乳幼児が食べる食品からの有害元素への曝露を可能な限り少なくすることを目標とし、FDA が取るべき行動を特定している。この取り組みを支援するため、このスコopingレビューでは、主に乳幼児の食事性カドミウム (Cd) 曝露と健康への悪影響に関する利用可能なデータの特徴を明らかにすることを目的とした。事前に設定した包含・除外基準に基づき、59 件の疫学研究からデータを抽出し、3 件以上の研究で支持された臓器系・人体計測データについてさらに検討した。小児については、

入手可能なデータのほとんどが神経系(フルスケール IQ と注意力)、心血管系(血圧)、泌尿器系に分類された。尿中カドミウムとフルスケール IQ の間に負の相関があることが研究で確認されたが、これは年齢と性別に依存するものであった。カドミウム曝露と神経系への悪影響との関連性を裏付けるには、さらなるデータが必要である。カドミウム曝露と血圧との関連は示唆されていない。小児における腎臓への影響については、データが少なく、多様であるため、結論は出せない。乳児については、身体測定と出生時期の調査が最も多く行われた。いくつかの研究では、特に女性において、カドミウム被曝と出生時体重の間に負の関係があることが示された。この知見については、さらなる調査が必要である。

The U.S. FDA initiative, *Closer to Zero*, identifies actions the agency will take to reduce toxic element exposure from foods eaten by babies and young children with the goal for exposure to be as low as possible. In support of these efforts, this scoping review sought to characterize the available data for primarily dietary cadmium (Cd) exposure and adverse health effects in infants and children. Based on pre-determined inclusion and exclusion criteria, data were extracted from 59 epidemiology studies, and organ systems/anthropometric data supported by > 3 studies were discussed further. For children, most data available were categorized into the nervous (full-scale IQ and attention), cardiovascular (blood pressure) and urinary systems. Studies identified a negative association between urinary Cd and full-scale IQ, though this was dependent on age and sex. More data are needed to support the associations between Cd exposure and adverse nervous system effects. Studies suggested no association between Cd exposure and blood pressure. Data on renal effects in children were too few and diverse to draw conclusions. For infants, anthropometric measurements and birth timing were studied the most. Some studies found a negative relationship between Cd exposure and birthweight, particularly in females. This finding needs further investigation.

Research article

Human exposure to toxic elements through facial cosmetic products: Dermal risk assessment

Asma Akhtar, Tasneem Gul Kazi, Hassan Imran Afridi, Mustafa Khan

Article 105145

化粧品は、年齢を問わず、世界中の女性が最もよく使う製品です。化粧品には有害物質が含まれている可能性があり、それらは顔の皮膚に吸収され、血管に移動することがあります。そのため、吸収された有害成分は、人体に更なる悪影響を及ぼす可能性がある。本研究では、一般的に使用されている化粧品(フェイスパウダー、ファンデーション、ライトニングクリーム、モイスチャライザー、アイシャドウ、口紅、アイライナー、チーク、マスカラ、日焼け止め)中の有害元素(ヒ素、鉛、ニッケル、水銀、カドミウム)を評価し、異なる方法によるリスク評

価を実施することを目指した。経皮リスクは、SED、NOAEL、MoS、HQ、ILCR として評価され、選択された毒性元素の曝露と関連づけられた。顔用化粧品に含まれるすべての選択元素の総 CDDE は、フェイスパウダー > ファンデーション > ライトニングクリーム > 保湿剤 > アイシャドウ > 口紅 > アイライナー > チーク > マスカラ > 日焼け止めの順で増加することが判明しました。選択された元素の HQ と HI 値は、すべての化粧品で 1 未満であることがわかった。一方、アイライナーを除くすべての化粧品に含まれる有害元素の MoS 値は、WHO が規定する最小値 100 よりも 3-4 倍低いことがわかった。

Facial cosmetics are the most commonly consumed product, mainly by the women from all over the world irrespective of their age. The facial cosmetics may be contaminated with several toxic elements, which can get absorb on to the facial skin and migrate to the blood vessels. Hence the absorbed toxic elements can cause further adverse effects on the human body. The present study aims to assess the toxic element contents (arsenic, lead, nickel, mercury, and cadmium) in commonly consumed facial cosmetics (face powder, foundation, lightning creams, moisturizer, eye shadow, lipsticks, eyeliner, blush, mascara, sunscreen) and to carry out the risk assessment through different methods. The dermal risk was evaluated as SED, NOAEL, MoS, HQ and ILCR, which is linked with the exposure of selected toxic elements. The total CDDE for all selected elements in facial cosmetic products was found in increasing order as follow: face powder > foundation > lightning creams > moisturizer > eye shadow > lipsticks > eyeliner > blush > mascara > sunscreen. The HQ and HI values for selected elements were found to be < 1 in all facial cosmetics. Whereas the probable MoS of selected toxic elements in all facial cosmetics except eyeliner were found to be 3–4 folds lower than the minimum value of 100 regulated by the WHO.

Research article

Standardization, *in-silico* and *in-vivo* safety assessment of methanol extract of *Ziziphus mauritiana* Lam leaves

Mohan Kumar Ramar, Kumarappan Chidambaram, Balakumar Chandrasekaran, Ruckmani Kandasamy

Article 105144

Ziziphus mauritiana Lam の葉は、インドの伝統医学のシステムにおいて、喘息、糖尿病、痛み、炎症の治療に使用されていました。*Ziziphus mauritiana* Lam の葉は、インドネシアとインドで野菜として消費されていた。本研究では、U(H)PLC により同定・定量されたフラボノイドの薬物動態特性を予測し、*Ziziphus mauritiana* Lam の葉のメタノールエキス (MEZ) のラットにおける安全性を評価することを目的としています。MEZ に含まれるフラボノイドを同定し、U(H)PLC-ESI-QTOF-MS/MS を用いて定量を行った。フラボノイドの *in-silico* ADME 特

性は Schrodinger Maestro ソフトウェアを用いて解析された。急性経口毒性試験は、雌ラットに MEZ を単回投与 (5000 mg/kg) し、14 日間観察することにより行った。亜慢性試験は、MEZ を 500, 750 および 1000 mg/kg で 1 日 90 日間経口投与することにより実施した。投与期間終了後、血液学的パラメータ、臨床生化学的パラメータおよび病理組織学的パラメータの変化を観察した。UPLC-QTOF-MS/MS 分析により、8 種類のフラボノイド、ルチン、ケンフェロール、ルテオリン、ミリセチン、カテキン、アピゲニンが同定された。これらの結果から、ルテオリン (5.41 μ g/ml) およびケンフェロール (4.02 μ g/ml) が MEZ に最も多く存在することが示された。急性毒性試験において、毒性および死亡の兆候は観察されなかった。亜慢性試験では、MEZ は対照ラットと比較して、血液学的および臨床生化学的パラメータに変化をもたらさないことがデータから示された。MEZ (1000mg/kg) は雄ラットにおいて総コレステロールおよびトリグリセリドを有意に ($p < 0.05$) 減少させ、それは 90 日目より顕著であった。また、病理組織学的分析では、生命維持に必要な臓器に変化は見られなかった。これらの結果から、MEZ はラットにおいて安全で忍容性が高いと判断された。

Ziziphus mauritana Lam leaves were used to treat asthma, diabetes, pain, and inflammation in the Indian traditional system of medicine. The leaves of the *Ziziphus mauritana* Lam were consumed as a vegetable in Indonesia and India. The present study aims to predict the pharmacokinetic properties of flavonoids identified & quantified through U(H)PLC and to evaluate the safety of methanol extract of *Ziziphus mauritana* Lam leaves (MEZ) in rats. A U(H)PLC-ESI-QTOF-MS/MS was performed to identify flavonoids present in MEZ and quantified using U(H)PLC method. The *in-silico* ADME properties of the flavonoids were analyzed using Schrodinger Maestro software. The acute oral toxicity study was performed by administering a single dose of MEZ (5000 mg/kg) in female rats and observed for 14 days. The sub-chronic studies were carried out by oral administration of MEZ at 500, 750, and 1000 mg/kg daily for 90 days. The changes in hematological parameters, clinical biochemistry, and histopathology were observed after the treatment period. Eight flavonoids rutin, kaempferol, luteolin, myricetin, catechin, and apigenin were identified from were identified in UPLC-QTOF-MS/MS analysis. These results showed the highest amount of luteolin (5.41 μ g/ml) and kaempferol (4.02 μ g/ml) present in MEZ. No signs of toxicity or mortality were observed in acute toxicity studies. In the sub-chronic studies, data showed that MEZ does not produce any changes in hematological and clinical biochemical parameters compared to control rats. MEZ (1000 mg/kg) significantly ($p < 0.05$) reduced total cholesterol, triglycerides, in male rats, which was more prominent on day 90. The histopathological analysis also revealed no changes in the vital organs. These results conclude that MEZ was considered safe and well-tolerated in rats.

Research article

R-ODAF: Omics data analysis framework for regulatory application

Marcha CT. Verheijen, Matthew J. Meier, Juan Ochoteco Asensio, Timothy W. Gant, ...

Florian Caiment

Article 105143

[Download PDF](#)

毒性研究においてトランスクリプトーム技術が広く利用されているにもかかわらず、有害性評価をサポートするために規制当局がデータを受け入れることはまだ限られています。この原因として、データ生成に使用される手法のばらつきやデータ処理の違いから生じるトランスクリプトミクスデータ解析の再現性の欠如が根本的な問題となっています。研究用途ではデータの生成や解釈の仕方に柔軟性があるが、規制用途では明確な答えが求められ、後に法的な精査を受ける可能性もあるため、そうも言っていられない。参照解析の枠組みがあれば、データの信頼性が高まり、実務者は標準を参照することで、別のバイオインフォマティクスプロセスを使用することを正当化できるようになる。本書では、マイクロアレイや次世代シーケンサーから得られる生のトランスクリプトームデータを解析するための使いやすいパイプラインとして構築された、規制適用のためのオミックスデータ解析フレームワーク(R-ODAF)という手法を提案しています。R-ODAFでは、RNAシーケンスの標準的なデータ解析パイプラインから得られる偽陽性の数を取り除くための追加の統計ステップも提案しています。パラセタモールに暴露された肝細胞の典型的なトキシコゲノミクスデータセットを用いて、標準的なワークフローと比較したR-ODAFの付加価値を説明する。

Despite the widespread use of transcriptomics technologies in toxicology research, acceptance of the data by regulatory agencies to support the hazard assessment is still limited. Fundamental issues contributing to this are the lack of reproducibility in transcriptomics data analysis arising from variance in the methods used to generate data and differences in the data processing. While research applications are flexible in the way the data are generated and interpreted, this is not the case for regulatory applications where an unambiguous answer, possibly later subject to legal scrutiny, is required. A reference analysis framework would give greater credibility to the data and allow the practitioners to justify their use of an alternative bioinformatic process by referring to a standard. In this publication, we propose a method called omics data analysis framework for regulatory application (R-ODAF), which has been built as a user-friendly pipeline to analyze raw transcriptomics data from microarray and next-generation sequencing. In the R-ODAF, we also propose additional statistical steps to remove the number of false positives obtained from standard data analysis pipelines for RNA-sequencing. We illustrate the added value of R-ODAF, compared to a standard workflow, using a typical toxicogenomics dataset of hepatocytes exposed to paracetamol.

Research article

Isoflucypram: Combining *in vivo* and NAMs data in a weight of evidence approach to demonstrate the human non-relevance of the mode of action leading to the subtle thyroid effects observed in the rat

H. Tinwell, R. Bars

Article 105154

[Download PDF](#)

イソフルシプラム (ISY) は、全体的に良好な毒性プロファイルを有する新規穀物用殺菌剤である。甲状腺はラットでのみ標的臓器として同定されたため、反復投与後、甲状腺の変化が PXR/CAR 活性化を介した肝酵素誘導によるものであることを立証し、甲状腺作用のヒトでの非関連性を決定するために短期 *in vivo* (ラット) および *in vitro* 機構研究が実施された。*in vivo* 試験では、ISY が弱い原型的な肝 PXR/CAR 酵素誘導剤 (P450 および T4-UDP-グルクロン酸転移酵素 (UDPGT-T4) 活性) であり、誘導は肝臓重量増加/肝細胞の肥大/増殖と関連していることが確認されました。甲状腺の影響 (最小限の濾胞細胞肥大/増殖、わずかであるが統計的に有意な甲状腺刺激ホルモンの増加) は、肝臓の刺激がすでに確立されている用量で発生した 直接甲状腺の影響 (*in vitro* の甲状腺過酸化酵素とヨウ化ナトリウムシムポーター阻害) は除外された。ラットとヒトの肝酵素活性を *in vitro* で比較したところ、特に UDPGT-T4 について、顕著な量的種差が確認された。特に、UDPGT-T4 については、ラット肝細胞に比べてヒト肝細胞では基礎活性が 4 倍も低いことがわかった。さらに、UDPGT-T4 は、ISY 処理後、ラットでは *in vitro* で誘導されたが、ヒトの肝細胞では誘導されなかった。全体として、イソフルシプラムによって誘発されるラットのわずかな甲状腺の変化について、肝臓を介した作用機序を支持する証拠の重さと、これらの所見のヒトでの非関連性を支持するものである。

Isoflucypram (ISY) is a new cereal fungicide with an overall favorable toxicity profile. As the thyroid was identified as a target organ only in the rat, following repeat dosing; short term *in vivo* (rat) and *in vitro* mechanistic studies were conducted to substantiate the thyroid changes as being secondary to liver enzyme induction via PXR/CAR activation and to determine the human non-relevance of the thyroid effects. The *in vivo* studies established ISY as a weak prototypical hepatic PXR/CAR enzyme inducer (P450 and T4-UDP-glucuronosyltransferase (UDPGT-T4) activities), with the induction being associated with increased liver weight/hepatocellular hypertrophy/proliferation. Thyroid effects (minimal follicular cell hypertrophy/proliferation, slight, statistically significantly increased thyroid stimulating hormone) occurred at doses where liver stimulation was already established. Direct thyroid effects (*in vitro* thyroid peroxidase and sodium iodide symporter inhibition) were excluded. Marked quantitative species differences were identified when comparing rat and human hepatic enzyme

activities *in vitro*, particularly for UDPGT-T4. Specifically, basal UDPGT-T4 was 4-fold lower in human compared to rat hepatocytes. In addition, UDPGT-T4 was induced *in vitro* in rat but not in human hepatocytes following ISY treatment. Overall, the weight of evidence supports a liver mediated mode of action for the isoflucypram-induced slight thyroid changes in the rat as well as the human non-relevance of these findings.

Research article

A framework to mitigate the risk of chemical leukoderma: Consumer products

Donald L. Bjerke, Shengde Wu, Kazumasa Wakamatsu, Shosuke Ito, ... Tomohiro Hakozaki

Article 105157

化学的白斑症は、表皮メラノサイトに損傷を与える特定の薬剤に繰り返し暴露されることによって起こる後天性の皮膚色素沈着症である。化学的白皮症の症例報告は、いくつかの消費者製品に関連するものである。現在までのところ、このリスクを評価し、最小化するためのよく知られたアプローチはない。そこで、化学的白皮症に関連する化合物の物理的・化学的特性を評価し、構造活性相関 (SAR) リード・アクロスと予測的代謝ツールを用いて、化合物が化学的白皮症を引き起こすリスクが高いかどうかを判断する枠組みを提示する。この試験戦略には、インシリコアプローチに加えて、*in chemico* キノン生成および *in vitro* メラノサイト細胞毒性試験も含まれ、リスク評価における全体的な証拠の重み付けの一部として、リスクの大きさを決定しています。化粧品成分のラズベリーケトン、ウンデシレノイルフェニルアラニン、コハク酸トコフェロール、p-クマル酸、レスベラトロール、レスベラトロールジメチルエーテル、スクロースジラウレート、トラネキサム酸、ナイアシンアミド、カフェ酸はこのフレームワークで評価し、ポジティブコントロールのロードデンドルおよびハイドロキノンと比較している。全体として、この枠組みは、消費者製品に使用される化合物の化学的白皮症のリスクを軽減するための重要なステップであると考えられる。

Chemical leukoderma is an acquired depigmentation of the skin caused by repeated exposure to specific agents damaging to epidermal melanocytes. Case reports of chemical leukoderma have been associated with some consumer products. To date, there are no well-accepted approaches for evaluating and minimizing this risk. To this end, a framework is presented that evaluates the physical and chemical characteristics of compounds associated with chemical leukoderma and employs structure-activity relationship (SAR) read-across and predictive metabolism tools to determine whether a compound is at increased risk of evoking chemical leukoderma. In addition to *in silico* approaches, the testing strategy includes *in chemico* quinone formation and *in vitro* melanocyte cytotoxicity assays to dimension the risk as part of an overall

weight of evidence approach to risk assessment. Cosmetic ingredients raspberry ketone, undecylenoyl phenylalanine, tocopheryl succinate, *p*-coumaric acid, resveratrol, resveratrol dimethyl ether, sucrose dilaurate, tranexamic acid, niacinamide and caffeic acid are evaluated in this framework and compared to positive controls rhododendrol and hydroquinone. Overall, this framework is considered an important step toward mitigating the risk of chemical leukoderma for compounds used in consumer products.

Research article

Applicability of nanomaterial-specific guidelines within long-term *Daphnia magna* toxicity assays: A case study on multigenerational effects of nTiO₂ and nCeO₂ exposure in the presence of artificial daylight

Tom A.P. Nederstigt, Willie J.G.M. Peijnenburg, Eric A.J. Bleeker, Martina G. Vijver

Article 105156

[Download PDF](#)

近年、様々な生態毒性試験ガイドラインや(技術)ガイダンス文書が、ナノマテリアル(NM)への適用性に関して評価・更新されています。これらのうちいくつかは、現在、公式な規制の状態に達しています。化学物質の生態毒性試験法として従来から認められている方法と確実に調和させて実施することは、ナノマテリアルの効果的かつ効率的な規制に向けた重要な次のステップである。本研究では、NMs に関する規制の試験ガイドラインやガイダンス文書に準拠した試験条件を維持しながら、曝露したミジンコの子孫の第一世代における多世代間影響を評価することが可能かどうかを検討しました。そのため、OECD ガイダンス文書 317 で定義されている NMs の生態毒性試験の推奨事項を、拡張長期ミジンコ繁殖試験法 (OECD テストガイドライン 211) に統合し、2 つの難溶性 NMs (nTiO₂ と nCeO₂) の影響を評価しました。その結果、報告されている環境濃度の範囲内で、選択したナノ材料に暴露されたマグナの生活史パラメータに悪影響があることが示された。また、標準化された試験の設定に拡張を加えた場合でも、類似した実験の不必要な重複を最小化することが可能である。

In recent years, various ecotoxicological test guidelines and (technical) guidance documents have been evaluated and updated with regard to their applicability to nanomaterials (NMs). Several of these have currently reached official regulatory status. Ensuring their harmonized implementation with previously recognized methods for ecotoxicity testing of chemicals is a crucial next step towards effective and efficient regulation of NMs. In the present study, we evaluated the feasibility of assessing multigenerational effects in the first generation of offspring derived from exposed *Daphnia magna* whilst maintaining test conditions in accordance with regulatory test guidelines and guidance documents for NMs. To do so, we integrated the

recommendations for ecotoxicological testing of NMs as defined in OECD Guidance Document 317 into an extended long-term *D. magna* reproduction test method (OECD Test Guideline 211) and assessed effects of two poorly soluble NMs (nTiO₂ and nCeO₂). Our results show adverse effects on life-history parameters of *D. magna* exposed to the selected nanomaterials within the range of reported environmental concentrations. We argue that conforming to OECD test guidelines and accompanying guidance for nanomaterials is feasible when performing *D. magna* reproduction tests and can minimize unnecessary duplication of similar experiments, even when extensions to the standardized test setup are added.

Research article

Absence of developmental or reproductive toxicity in rats for MB-102, a fluorescent tracer agent for point-of-care measurement of glomerular filtration rate

Joseph E. Bugaj, Richard B. Dorshow

Article 105158

蛍光トレーサー剤 MB-102 は、糸球体濾過量を直接、リアルタイムに測定するために設計された。これまでの研究では、*in vitro* および *in vivo* (ラット、ウサギ、イヌ) で、単回投与毒性、光毒性、局所耐性、hERG チャンネル変化、突然変異、染色体異常、マイクロスクレアーゼアッセイ、中枢神経系および心臓血管系の安全性が評価されている。その結果、安全性/毒性プロファイルにより、FDA による第 I 相および第 II 相臨床試験の実施が許可された。本報告では、MB-102 を妊娠 6~17 日目の器官形成期に妊娠ラットに毎日静脈内投与したときの母体毒性、胚・胎児発生への潜在的影響およびトキシコキネティクスについて報告する。死亡率、臨床所見、体重、摂餌量、繁殖能力、剖検および帝王切開所見を評価した。血液試料はトキシコキネティックに評価した。いずれのエンドポイントにおいても有意な所見は認められなかった。臨床所見は高用量群 2 群における皮膚、眼球または毛皮の変色のみであったが、MB-102 の色および蛍光特性に関連すると考えられ、無毒性であると判断された。C_{max} および AUC (0-6) で評価した曝露量は、9~225 mg/kg/day で用量依存的に増加した。このように、MB-102 の静脈内投与は、妊娠ラットに有害な発達毒性および生殖毒性を認めなかった。

The fluorescent tracer agent MB-102 was designed for the direct, real-time measurement of glomerular filtration rate. Previous studies, both *in vitro* and *in vivo* (rats, rabbits and dogs) have assessed single dose toxicity, phototoxicity, local tolerance, hERG channel changes, mutation, chromosomal aberration, micronuclease assays, and CNS and cardiovascular safety. The resulting safety/toxicology profile allowed FDA clearance to conduct Phase I and II human clinical studies. Herein we report on maternal toxicity and potential effects on embryo-fetal development and toxicokinetics of MB-102

administered daily via intravenous (bolus) injection into pregnant rats during organogenesis gestation day 6–17. Mortality, clinical observations, body weight, food consumption, reproductive performance, necropsy, and cesarean section findings were assessed. Blood samples were evaluated toxicokinetically. No significant findings were noted in any endpoints. The only clinical findings were skin, eye or pelage discoloration in the two higher dose groups, which were considered related to the color and fluorescent properties of MB-102 and deemed non-adverse. Exposure, assessed by C_{max} and $AUC_{(0-\infty)}$, increased in a dose-dependent manner from 9 to 225 mg/kg/day. Thus, intravenous administration of MB-102 was not associated with any adverse developmental or reproductive toxicities in pregnant rats.

Research article

Rethinking chronic toxicity and carcinogenicity assessment for agrochemicals project (ReCAAP): A reporting framework to support a weight of evidence safety assessment without long-term rodent bioassays

Gina M. Hilton, Catherine Adcock, Gregory Akerman, James Baldassari, ... Anna Lowit

Article 105160

[Download PDF](#)

げっ歯類のがんバイオアッセイは、ヒトのがんの危険性とリスクを規制当局が評価するために長い間必要とされてきた試験である。これらの研究は、何百匹もの動物を使用し、資源を必要とし、また、これらの研究のある側面は、ヒトとの関連性が限定的である。過去 10 年間、動物の使用を削減、改良、または代替しながら、ヒトのがんの危険性とリスクを効果的に評価する可能性のある新技術が飛躍的に成長しています。新技術の導入を合理化・促進するため、政府、大学、非政府組織、業界の関係者からなるワークグループは、農薬の安全性評価で考慮すべきげっ歯類がんバイオアッセイの根拠を放棄するための枠組みを開発しました。このワークグループは、規制当局からのフィードバックを取り入れながら、リスク評価に基づく証拠の重み付けを行い、げっ歯類がんバイオアッセイの必要性を判断する上で考慮すべき重要な情報を特定し、反復的なアプローチを用いました。本書で説明する報告枠組みは、慢性毒性および発がん性試験免除の根拠を示すために開発されたもので、使用パターン、暴露シナリオ、農薬作用機序、物理化学的特性、代謝、トキシコキネティクス、機構データを含む毒性データ、類似登録農薬の化学的リードクロスに関する情報などが含まれる。また、この枠組みは、慢性毒性や発がん性以外のエンドポイントや農薬以外の化学物質にも適用できる可能性がある。

Rodent cancer bioassays have been long-required studies for regulatory assessment of human cancer hazard and risk. These studies use hundreds of animals, are resource intensive, and certain aspects of these studies have limited human relevance. The past 10 years have seen an exponential growth of new technologies with the potential to

effectively evaluate human cancer hazard and risk while reducing, refining, or replacing animal use. To streamline and facilitate uptake of new technologies, a workgroup comprised of scientists from government, academia, non-governmental organizations, and industry stakeholders developed a framework for waiver rationales of rodent cancer bioassays for consideration in agrochemical safety assessment. The workgroup used an iterative approach, incorporating regulatory agency feedback, and identifying critical information to be considered in a risk assessment-based weight of evidence determination of the need for rodent cancer bioassays. The reporting framework described herein was developed to support a chronic toxicity and carcinogenicity study waiver rationale, which includes information on use pattern(s), exposure scenario(s), pesticidal mode-of-action, physicochemical properties, metabolism, toxicokinetics, toxicological data including mechanistic data, and chemical read-across from similar registered pesticides. The framework could also be applied to endpoints other than chronic toxicity and carcinogenicity, and for chemicals other than agrochemicals.

Research article

Characterization of false positive, contaminant-driven mutagenicity in impurities associated with the sotorasib drug substance

Aldo Coppi, Rhian Davies, Teresa Wegesser, Katsu Ishida, ... Sheroy Minocherhomji

Article 105162

ソトラシブ (Lumakras™) は、ファースト・イン・クラスの非遺伝毒性低分子 KRAS G12C 阻害剤であり、アンメット・メディカル・ニーズの高い患者さんに対する抗がん治療薬として開発されています。抗がん剤治療薬は、変異原性不純物の管理に関する ICH M7 ガイダンスの対象外とされているが、ICH S9 Q&A に基づいて、ICH Q3A/B と一致する適格性閾値を超える不純物と非変異原性医薬品について変異原性評価が必要である。ここでは、ソトラシブ原薬の不純物について、インシリコ定量的構造活性相関 (QSAR) モデリングとエームス試験 (インシリコ陽性変異原) のハイブリッドによる変異原性評価を実施した。その結果、2 つの不純物 (β -Chloride と PAC) に対して矛盾した変異原性結果が得られました。PAC は QSAR では陰性でしたが、GLP のフルプレート Ames 試験で陽性となり、 β -Chloride は QSAR では陽性、非 GLP のマイクロ Ames では陰性でしたが GLP のフルプレート Ames 試験で陽性となりました。根本原因の分析により、最初の GLP 全板 Ames 試験で使用されたベータ塩化物物のバッチに含まれる 3-クロロプロピオン酸、PAC のバッチに含まれる 3-クロロプロピオン酸と Chloro-PAC という変異原性汚染物質が特定され、その特徴が明らかにされた。再精製バッチにおいてこれらの汚染物質を大幅に削減した結果、フォローアップの GLP マイクロ Ames 試験において変異原性の誘発は見られませんでした。以上のことから、ソトラシブ DS に関連する不純物の根本原因解析により、正確な変異原性評価を行うことができた。

Sotorasib (Lumakras™) is a first-in-class, non-genotoxic, small molecule inhibitor of KRAS G12C developed as an anticancer therapeutic for treatment of patients that have a high unmet medical need. Anticancer therapeutics are considered out of scope of ICH M7 guidance for control of mutagenic impurities; however, based on ICH S9 Q&A, mutagenicity assessments are needed for impurities that exceed the qualification threshold, consistent with ICH Q3A/B, and non-mutagenic drugs. Here, we carried out hybrid-based mutagenicity assessment of sotorasib drug substance (DS) impurities using *in silico* quantitative structure-activity relationship (QSAR) modelling and Ames tests (for *in silico* positive mutagens). We encountered contradictory mutagenicity results for 2 impurities (Beta-Chloride and PAC). PAC was negative initially by QSAR but positive in a GLP full plate Ames test and Beta-Chloride was positive by QSAR, negative in a non-GLP micro-Ames but positive in a GLP full plate Ames assay. Root cause analyses identified and characterized mutagenic contaminants, 3-chloropropionic acid in batches of Beta-Chloride and 3-chloropropionic acid and Chloro-PAC in batches of PAC, used in initial GLP full-plate Ames tests. Significant reduction of these contaminants in re-purified batches resulted in no induction of mutagenicity in follow-up GLP micro-Ames tests. In summary, root-cause analyses led to accurate mutagenicity assessment for sotorasib DS-associated impurities.

Research article

Report on investigation of ISO 10993–12 extraction conditions

Theodore Heise, Anita Y. Sawyer, Toshiyuki Hirai, Sandi Schaible, ... Samanthi Wickramasekara

Article 105164

国際規格 ISO 10993-12 には、生物学的安全性の試験に使用する医療機器の抽出物を生成するための抽出条件が記載されている。ハザード同定のための抽出条件（およびそのバリエーション）の妥当性についての疑問から、ラウンドロビン研究が開発・実施されました。抽出溶媒、温度、時間、溶媒量と被験物質の量の比率を複数指定できる確立されたプロトコルに基づき、4つの関連する機器材料を4つの試験所がそれぞれ評価しました。得られたサンプルは、抽出された有機物および元素を同定・定量するために3つの機器分析法で分析されましたが、研究所のリソースの制約により定量は行われず、化合物数のみが報告されました。その結果、有機溶媒で抽出された揮発性有機化合物の数は増加しましたが、他の抽出パラメーターの変化による明確な効果は確認できませんでした。また、一部の化合物の定量では、ハザード同定に十分な感度を示した。しかし、試料調製や分析方法の基本的な違い、定量性の不足から、参加した研究室が行っている化学的特性評価の妥当性を免責または非難するような結果にはならなかった。

The international standard ISO 10993-12 describes extraction conditions for generating extracts of medical devices to be used in testing of biological safety. Questions about the adequacy of the extraction conditions (and their variations) for hazard identification drove the development and execution of a round robin study. Four relevant device materials were each evaluated by four laboratories following an established protocol that specified multiple options of extraction solvent, temperature, duration, and ratio of solvent volume to quantity of test article. The resulting samples were analysed by three instrumental methods to identify and quantify extracted organic and elemental substances; however, quantification was not achieved due to lab resource constraints, and only numbers of compounds were reported. Results showed an increased number of volatile organic compounds extracted with organic solvents; however, no clear effect of varying the other extraction parameters could be discerned. Quantification of a small subset of analytes showed sensitivity that may be adequate for hazard identification. An unplanned post hoc comparison of results across labs showed differing numbers of compounds detected; however, fundamental differences in sample preparation and specific analysis methods as well as lack of quantification render the results poorly suited to either exonerate or indict the adequacy of chemical characterization as practiced by the participating laboratories.

Research article

Integration of toxicodynamic and toxicokinetic new approach methods into a weight-of-evidence analysis for pesticide developmental neurotoxicity assessment: A case-study with DL- and L-glufosinate

Sarah Dobreniecki, Elizabeth Mendez, Anna Lowit, Theresa M. Freudenrich, ... Timothy J. Shafer

Article 105167

DL-グルホシネートアンモニウム (DL-GLF) は、ガイドラインに沿った発達神経毒性 (DNT) 試験が実施された登録除草剤である。また、子供への影響として、脳形態計測の変化、体重減少、運動量増加などがみられた。L-GLF の濃縮異性体である L-GLF acid と L-GLF ammonium については、ガイドラインに沿った DNT 試験が実施されていません。L-GLF 異性体のガイドライン DNT 試験を依頼するかどうかを決定するために、ネットワーク形成と神経突起伸長に関する *in vitro* アッセイを用いて DL-GLF と L-GLF 異性体のスクリーニングを行った。DL-GLF および L-GLF の異性体は、いずれのアッセイにおいても影響を及ぼさなかった。DL-GLF および L-GLF (1-100 μ M) 異性体は、成熟したネットワークの平均発火率をベースラインの 120-140% まで増加させた。In vitro トキシコキネティック評価により、*in vitro* 試験濃度に対する投与当量 (AED) を算出した。L-GLF の AED は、DL-GLF の DNT による NOAEL の約 3 倍であり、L-GLF 曝露による DNT の可能性をガイ

ドラインで保護することが可能であることが示された。これらの in vitro 試験の結果に基づき、EPA は L-GLF 異性体の DNT ガイドライン試験を要求せず、DNT スクリーニング試験法の有用な適用事例を提供することになった。

DL-glufosinate ammonium (DL-GLF) is a registered herbicide for which a guideline Developmental Neurotoxicity (DNT) study has been conducted. Offspring effects included altered brain morphometrics, decreased body weight, and increased motor activity. Guideline DNT studies are not available for its enriched isomers L-GLF acid and L-GLF ammonium; conducting one would be time consuming, resource-intensive, and possibly redundant given the existing DL-GLF DNT. To support deciding whether to request a guideline DNT study for the L-GLF isomers, DL-GLF and the L-GLF isomers were screened using in vitro assays for network formation and neurite outgrowth. DL-GLF and L-GLF isomers were without effects in both assays. DL-GLF and L-GLF (1–100 μ M) isomers increased mean firing rate of mature networks to 120–140% of baseline. In vitro toxicokinetic assessments were used to derive administered equivalent doses (AEDs) for the in vitro testing concentrations. The AED for L-GLF was ~3X higher than the NOAEL from the DL-GLF DNT indicating that the available guideline study would be protective of potential DNT due to L-GLF exposure. Based in part on the results of these in vitro studies, EPA is not requiring L-GLF isomer guideline DNT studies, thereby providing a case study for a useful application of DNT screening assays.

Short communication

“From Protein Toxins to Applied Toxicological Testing” virtual workshop identifies the need for a bioinformatic framework to assess novel food protein safety

Patricia A. Bauman, Andrew C. Doxey, Ivano Eberini, Emir Islamovic, ... Lucilia Pereira Mouriès

Article 105146

[Download PDF](#)

2020 年 10 月 21～22 日、HESI(健康・環境科学研究所)タンパク質アレルギー、毒素、バイオインフォマティクス委員会と Society of Toxicology Food Safety Specialty Section は「タンパク質毒素から応用毒性試験まで」と題したバーチャルワークショップを共同開催した。このワークショップでは、食品や飼料に含まれる新規タンパク質の安全性評価に焦点が当てられ、世界各国から 200 人以上の関係者が参加し、学界、政府・非政府組織、民間企業の農業バイオテクノロジー開発者の専門家が講演を行いました。新規タンパク質の安全性に関連するさまざまなトピックが議論され、タンパク質毒素生物学の現状、作用様式とメカニズム、構造と活性、タ

ンパク質の安全性を評価するためのバイオインフォマティクス解析の利用、タンパク質毒素の特定/特性解析にインシリコ手法を用いた計算生物学を活用する方法などが挙げられました。このワークショップの主な成果は、食品や飼料の安全性の観点から見た場合、タンパク質毒素の定義を作成することの複雑さを理解すること、バイオインフォマティクス結果の解釈には、アライメント閾値駆動型ではなく、追加のメタデータを活用したケースバイケースの仮説駆動型が必要であることを確認すること、毒素検出に関するバイオインフォマティクス上の必要性は、Pfam や UniProtKB/Swiss-Prot といった既存のデータベースで達成可能なので「毒素タンパク質データベース」は必要ではないことに合意すること、であった。この論文では、その道筋を提案する。

On October 21–22, 2020 the HESI (Health and Environmental Sciences Institute) Protein Allergens, Toxins, and Bioinformatics Committee, and the Society of Toxicology Food Safety Specialty Section co-hosted a virtual workshop titled “From Protein Toxins to Applied Toxicological Testing”. The workshop focused on the safety assessment of novel proteins contained in foods and feeds, was globally represented by over 200 stakeholder attendees, and featured contributions from experts in academia, government and non-government organizations, and agricultural biotechnology developers from the private sector. A range of topics relevant to novel protein safety were discussed, including: the state of protein toxin biology, modes and mechanisms of action, structures and activity, use of bioinformatic analyses to assess the safety of a protein, and ways to leverage computational biology with *in silico* approaches for protein toxin identification/characterization. Key outcomes of the workshop included the appreciation of the complexity of developing a definition for a protein toxin when viewed from the perspective of food and feed safety, confirming the need for a case-by-case hypothesis-driven interpretation of bioinformatic results that leverages additional metadata rather than an alignment threshold-driven interpretation, and agreement that a “toxin protein database” is not necessary, as the bioinformatic needs for toxin detection may be accomplished by existing databases such as Pfam and UniProtKB/Swiss-Prot. In this paper, a path forward is proposed.

Erratum

Corrigendum to a cross-industry collaboration to assess if acute toxicity (Q)SAR models are fit-for-purpose for GHS classification and labelling. Regulatory toxicology and pharmacology (2021) 104843

Joel Bercu, Melisa J. Masuda Herrera, Alejandra Trejo-Martin, Catrin Hasselgren, ...
Glenn J. Myatt

Article 105165

[Download PDF](#)



DeepL translation / AEIC trial