

Editorial Board

Article 105272

[Download PDF](#)

Research article

A proposed NAM-based tiered phototoxicity testing and human risk assessment framework for agrochemicals

Manoj Aggarwal, Edward Chikwana, Marco Corvaro

Article 105250

欧州の規制では、290-700 nm の波長域で紫外・可視モル消衰係数 (MEC) が $10 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ より大きい農薬について光毒性試験が要求されている。さらに、ポジティブな結果が出た場合には、人体への曝露を考慮する必要があることが規定されている。ハザードの特性評価については、*in vitro* OECD テストガイドラインが利用可能であるが、ヒト曝露リスク評価において陽性結果をどのように利用するかについてのガイダンスは存在しない。我々の目標は、NAM に基づく段階的試験法及び農薬の光毒性に関する非食餌性急性ヒト経皮リスク評価の枠組みを開発するための第一歩を踏み出すことである。提案する枠組みはいくつかのステップに分けることができる。1) 光毒性試験のトリガーとして OECD が更新した $1000 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ の MEC 値を用いる、2) BMC アプローチによる *in vitro* 光毒性試験から参照濃度 (RfC) を設定する、3) EFSA 曝露モデル、製品固有のラベル及び皮膚透過性を用いて光毒性の標的器官である皮膚への潜在曝露量を推定する、4) 光毒性のリスク評価、5) RfC や曝露量の推定の改良が検討可能である、などです。最後に、提案する枠組みを説明するために、殺線虫剤及び除草剤活性物質のケーススタディを示す。

Phototoxicity testing is required by European regulations for agrochemicals with UV/visible molar extinction/absorption coefficient (MEC) higher than $10 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ in the 290–700 nm wavelength range. Furthermore, regulations identify a need of considering human exposure in case of positive results. While *in vitro* OECD test guidelines are available for hazard characterisation, there is no guidance on how to utilise positive results in human exposure risk assessments. Our goal was to take a first step towards developing a NAM based tiered testing approach and a framework for non-dietary acute human dermal risk assessment for phototoxicity to agrochemicals. The proposed framework can be divided into a few steps: 1) use the OECD updated MEC values of $1000 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ as trigger for phototoxicity testing; 2) establish a

reference concentration (RfC) from *in vitro* phototoxicity studies using BMC approach, 3) estimate potential exposure to skin, target organ for phototoxicity, using EFSA exposure models, product specific labels and skin penetration values, and 4) phototoxicity risk assessment; 5) refinement to RfC and/or exposure estimates can be considered. Finally, case studies of a nematocide and an herbicide active substance are provided to illustrate the proposed framework.

Research article Abstract only

How to resolve inconclusive predictions from defined approaches for skin sensitisation in OECD Guideline No. 497

Donna S. Macmillan, Martyn L. Chilton, Yuan Gao, Petra S. Kern, Scott N. Schneider
Article 105248

2021 年 6 月、経済協力開発機構は「皮膚感作のための定義されたアプローチ (DASS GL)」に関するガイドライン第 497 号を発表しました。2o3 と ITS と呼ばれる 2 つの DA が公表されています。2o3 では、DPRA、KeratinoSens™、または h-CLAT アッセイから得られた 2 つの一致した結果を用いて、ハザード (感作性/非感作性) を予測します。ITS は、DPRA、h-CLAT、およびインシリコモデルの結果にスコアを適用し、国連の世界調和システム (GHS) のサブカテゴリー (1A/1B/分類外) を予測します。ITS では、インシリコモデルとして Derek Nexus を使用する (ITSv1 と呼ばれる)、OECD QSAR Toolbox を使用する (ITSv2 と呼ばれる) ことが可能です。

個々の in chemico/in vitro アッセイと in silico 予測の限界が DA に引き継がれるため、境界域の結果を持つ化学物質や領域外の結果を持つ化学物質については、結論の出ない予測になる可能性があります。しかし、これらの結論の出ない予測は、証拠の重み付けを適用することで解決することができます。

ここでは、両 DA による皮膚感作性の可能性について「結論が出ない」4 つのケーススタディを紹介する。可能であれば、いくつかの動物以外の追加的な証拠に基づき、決定的な予測を提供するために、確実な科学的アプローチを用いて、証拠の重み付けアプローチをそれぞれに適用した。

In June 2021 the Organisation for Economic Co-operation and Development published Guideline No. 497 on Defined Approaches for Skin Sensitisation (DASS GL). There are two DAs published, known as the 2o3 and the ITS. The 2o3 uses two concordant results from either the DPRA, KeratinoSens™, or the h-CLAT assays to predict hazard (sensitiser/non-sensitiser). The ITS applies a score to results from the DPRA, the h-CLAT and an *in silico* model to predict United Nations Globally Harmonized System (GHS) sub-categories (1A/1B/Not Classified). The ITS can use Derek Nexus as the *in silico* model (known as ITSv1) or use OECD QSAR Toolbox (known as ITSv2).

As limitations of the individual *in chemico/in vitro* assays and *in*

silico predictions are carried through to the DAs, inconclusive predictions are possible for chemicals with results in the borderline range, and chemicals with out of domain results. However, these inconclusive predictions can be resolved by applying a weight of evidence approach.

Herein, four case studies are presented, each 'inconclusive' for skin sensitisation potential according to both DAs. A weight of evidence approach was applied to each using a robust scientific approach to provide a conclusive prediction, where possible, based on several additional, non-animal lines of evidence.

Research article *Open access*

Use of the bacterial reverse mutation assay to predict carcinogenicity of N-nitrosamines

Alejandra Trejo-Martin, Joel P. Bercu, Andrew Thresher, Rachael E. Tennant, ... Patricia A. Escobar

Article 105247

[Download PDF](#)

ICH M7 では、不純物の評価は、インシリコ法を用いて陽性と予測された場合、バクテリア逆変異法(エームス試験)を用いて行い、その後、専門家のレビューを受けることになっています。N-ニトロソアミン(NA)は、げっ歯類のバイオアッセイにおいて高い変異原性を有する発がん性物質であることから、医薬品中の不純物として最近注目されている。この解析の目的は、Ames assay の発がん性予測感度を、独自の Vitic (n = 131) および Leadscope (n = 70) データベースにキュレーションして調べることである。NA は、対応するげっ歯類の発がん性アッセイがある場合に選択された。全体として、Ames assay の感度/特異度はそれぞれ 93~97%、55~86%であった。Ames assay の感度は、プレート組み込み(84-89%)とブレインキュベーション(82-89%)の間で有意な影響はなかった。ラットおよびハムスターの肝臓に誘導された S9 を使用した場合、感度に有意な差は見られなかった(80-93%対 77-96%)。Ames の感度は、溶媒として DMSO を使用した場合に高い(87-88%)。これらのデータベースの解析から、OECD 471 ガイドラインに基づき実施された Ames assay は、NA の発がん性有害性を検出する上で高い感度を有すると考えられた。

Under ICH M7, impurities are assessed using the bacterial reverse mutation assay (i.e., Ames test) when predicted positive using *in silico* methodologies followed by expert review. N-Nitrosamines (NAs) have been of recent concern as impurities in pharmaceuticals, mainly because of their potential to be highly potent mutagenic carcinogens in rodent bioassays. The purpose of this analysis was to determine the sensitivity of the Ames assay to predict the carcinogenic outcome with curated

proprietary Vitic (n = 131) and Leadscope (n = 70) databases. NAs were selected if they had corresponding rodent carcinogenicity assays. Overall, the sensitivity/specificity of the Ames assay was 93–97% and 55–86%, respectively. The sensitivity of the Ames assay was not significantly impacted by plate incorporation (84–89%) versus preincubation (82–89%). Sensitivity was not significantly different between use of rat and hamster liver induced S9 (80–93% versus 77–96%). The sensitivity of the Ames is high when using DMSO as a solvent (87–88%). Based on the analysis of these databases, the Ames assay conducted under OECD 471 guidelines is highly sensitive for detecting the carcinogenic hazards of NAs.

Research article *Open access*

Quantitative risk assessment of allergens leaching from menstrual hygiene products

Quinten Marcelis, Alexandra Gatzios, Eric Deconinck, Vera Rogiers, ... Tamara Vanhaecke

Article 105260

[Download PDF](#)

アレルギー性接触皮膚炎(ACD)は、香水製品の外用に関連することが多く、欧米諸国では依然として最も一般的な慢性皮膚疾患の1つである。香りのついた生理用衛生用品(MHP)の表示は義務づけられていないため、女性は知らず知らずのうちにアレルゲンにさらされている可能性があります。膣粘膜には皮膚のような重要なバリア機能がないため、皮膚アレルゲンは容易に浸透して全身に行き渡り、その結果、女性は肛門性器領域に悪影響を及ぼす可能性があります。そこで、本研究では、香りのあるMHPを使用している女性が感作され、ACDを発症する危険性があるかどうかを調査することを目的とした。そこで、タンポンや生理用品を含む5種類の香り付きMHPから溶出が確認された4種類の有名な皮膚感作性化学物質(α -イソメチルイオン、サリチル酸ベンジル、ヘキシルシナナムアルデヒド、ヘリオトロピン)に対して定量リスク評価(QRA)を実施することにしました。調査したタンポンの1つから溶出したヘリオトロピンの量は、QRAで決定した許容暴露量を超えており、感作を誘発する可能性がある。また、他の3つの化合物については感作性はないと考えられるが、既に感作している女性ではアレルギー反応が誘発される可能性がある。したがって、香りのあるMHPにアレルゲンを表示することは、消費者がACDに関連する副作用を予防するのに役立つと思われる。

Allergic contact dermatitis (ACD) often associated with the topical use of perfumed products, remains one of the most common chronic skin disorders in Western countries. Since labelling of scented menstrual hygiene products (MHPs) is not mandatory, women might be unknowingly exposed to allergens. Given that vaginal mucosae lack the vital

barrier function of the skin, skin allergens can easily penetrate and become systemically available and hence women may experience adverse effects in the anogenital region. The aim of this study was therefore to investigate whether women using scented MHPs are at risk of sensitization and hence developing ACD. Hereto, a Quantitative Risk Assessment (QRA) is performed on four well-known skin sensitizing chemicals (α -isomethyl ionone, benzyl salicylate, hexyl cinnamaldehyde and heliotropine) that were previously found leaching from five different scented MHPs including tampons and sanitary pads. The amounts of heliotropine, leached by one of the investigated tampons, exceeded acceptable exposure levels determined with the QRA and could induce sensitization. In addition, although no sensitization is expected for the other three compounds, an allergenic reaction might be provoked in women who are already sensitized. Labelling of allergens on scented MHPs would therefore help consumers to prevent adverse effects linked to ACD.

Research article *Open access*

Investigating the uncertainty of prediction accuracy for the application of physiologically based pharmacokinetic models to animal-free risk assessment of cosmetic ingredients

Shimpei Terasaka, Akane Hayashi, Yuko Nukada, Masayuki Yamane

Article 105262

[Download PDF](#)

生理学的薬物動態(PBPK)モデルは、動物を用いないリスク評価において有用なツールであると考えられている。PBPK モデルをリスク評価に活用するためには、その信頼性を in vivo データと比較することが必要である。しかし、化粧品成分の in vivo 薬物動態データの取得は困難であり、PBPK モデルのリスク評価への活用を困難にしている。そこで本研究では、PBPK モデルを精度評価なしでリスク評価に活用するために、Modeling uncertainty factor(MUF)という新たな概念を提案しました。150 化合物の予測精度を算出した結果、代謝関連パラメータに in vitro データを使用し、適用領域を限定することで、PBPK モデルの予測精度が向上することを明らかにしました。予測精度の 97.5 パーセンタイルに基づき、血漿中濃度曲線下面積を 10、Cmax を 6 として MUF を定義した。これらの MUF を用いて、ビスフェノール A の無動物リスク評価に関するケーススタディを実施した。この研究は医薬品を中心に行われたため、化粧品原料を用いたさらなる検討が重要である。しかし、アニマルフリーリスク評価の実現には内部被ばくが不可欠であることから、本コンセプトは in vivo データを用いずに血漿中濃度を予測する有用なツールとなるであろう。

Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models are considered useful tools in

animal-free risk assessment. To utilize PBPK models for risk assessment, it is necessary to compare their reliability with *in vivo* data. However, obtaining *in vivo* pharmacokinetics data for cosmetic ingredients is difficult, complicating the utilization of PBPK models for risk assessment. In this study, to utilize PBPK models for risk assessment without accuracy evaluation, we proposed a novel concept—the modeling uncertainty factor (MUF). By calculating the prediction accuracy for 150 compounds, we established that using *in vitro* data for metabolism-related parameters and limiting the applicability domain increase the prediction accuracy of a PBPK model. Based on the 97.5th percentile of prediction accuracy, MUF was defined at 10 for the area under the plasma concentration curve and 6 for C_{max} . A case study on animal-free risk assessment was conducted for bisphenol A using these MUFs. As this study was conducted mainly on pharmaceuticals, further investigation using cosmetic ingredients is pivotal. However, since internal exposure is essential in realizing animal-free risk assessment, our concept will serve as a useful tool to predict plasma concentrations without using *in vivo* data.

Research article *Open access*

A scheme to evaluate structural alerts to predict toxicity – Assessing confidence by characterising uncertainties

Mark T.D. Cronin, Franklin J. Bauer, Mark Bonnell, Bruno Campos, ... Andrew P. Worth
Article 105249

[Download PDF](#)

毒性学における構造活性相関(SAR)は、構造的ルールの形成を可能にし、構造的アラートとしてコード化された場合、インシリコ毒性学において不可欠なツールとなる。他のインシリコ手法にはその評価のためのアプローチがありますが、構造的アラートに関連する信頼性を評価するための正式なプロセスは存在しません。この調査では、構造的アラートに関連する不確実性を評価するための12の基準を提案し、信頼性の評価を可能にする。この基準は、アラートの目的、化学的性質、毒性、メカニズム、性能、適用範囲、および裏付けとなる証拠に基づいている。アラートには信頼性評価とスコアが与えられ、より多くの情報を得ることが有益である分野の特定が可能になります。構造的な警告を評価するスキームは、産業および規制アプリケーションのさまざまなユースケースのコンテキストに配置されました。警告の分析、および評価スキームの検討により、警告が持つさまざまな特性、例えば非常に特殊であるか一般的であるかが特定される。これらの特性は、リード・アクロスまたはハザード識別のための類似物の識別のような特定の用途にアラートを使用できる場合を決定することができる。

Structure-activity relationships (SARs) in toxicology have enabled the formation of structural rules which, when coded as structural alerts, are essential tools in *in silico* toxicology. Whilst other *in silico* methods have approaches for their evaluation, there is no formal process to assess the confidence that may be associated with a structural alert. This investigation proposes twelve criteria to assess the uncertainty associated with structural alerts, allowing for an assessment of confidence. The criteria are based around the stated purpose, description of the chemistry, toxicology and mechanism, performance and coverage, as well as corroborating and supporting evidence of the alert. Alerts can be given a confidence assessment and score, enabling the identification of areas where more information may be beneficial. The scheme to evaluate structural alerts was placed in the context of various use cases for industrial and regulatory applications. The analysis of alerts, and consideration of the evaluation scheme, identifies the different characteristics an alert may have, such as being highly specific or generic. These characteristics may determine when an alert can be used for specific uses such as identification of analogues for read-across or hazard identification.

Research article

Comprehensive assessment of water quality and associated health risks in an arid region in south Iran

Amin Mohammadpour, Amin Allah Zarei, Reza Dehbandi, Razyeh Khaksefidi, ...
Aboalfazl Azhdarpoor
Article 105264

本研究の目的は、イランの Zarrin Dasht 市における飲料水の水質調査および飲料水中のフッ化物と硝酸イオン、茶葉中のフッ化物の非発がん性リスク評価である。茶はイラン人の間で最もポピュラーな飲み物であり、また調査地域でもあることから、茶に注目した。調査地域の異なる場所から飲料水 23 試料とお茶 23 試料を採取し、分析を行った。水質指標に基づくと、ほとんどの Zarrin Dasht 地域では、飲用水の水質は良くない。したがって、水質指標(WQI)はそれぞれ 70%と 13%のサンプルで不良と非常に不良であった。お茶サンプルのフッ化物濃度の平均値は 2.71mg/L である。フッ化物ハザード指数(HIfluoride)の平均値は、子供、10 代、成人でそれぞれ 3.77, 2.77, 2.33 であり、安全限界値である 1 より高い。硝酸ハザード指数(HInitrate)は 8.7%で安全限界値の 1 より高く、硝酸ハザード指数(HInitrate)は、10 代、10 代、成人、子供でそれぞれ 1.5, 2.5, 2.5, 3.5 であり、フッ化物ハザード指数(HSR)は、1 より高くなりすぎた。モンテカルロシミュレーションの結果、フッ化物と硝酸塩は、成人を除くすべての群で 1 より高いことが示された。感度解析の結果、摂取量と体重は HIfluoride と HInitrate に大きな影響を与えるが、体重は感度と逆相関することがわかった。パイパー図によくと、Zarrin Dasht では塩水が優勢である。その上、主成分分析(PCA)の結果、フッ化物と pH の間に高い相関があり、フッ化物の溶解やイオン交換に pH が影響している可能性が示唆された。したがって、本地域の

飲料水資源中のフッ化物量を低減するために、適切な対策を講じることが推奨される。また、お茶の摂取量を減らすこともフッ化物摂取量を減らすための重要な因子と考えられる。

This study aims at investigating the quality of drinking water and evaluating the non-carcinogenic risk of fluoride and nitrate ions in drinking water, and fluoride in tea in Zarrin Dasht, Iran. We focus on tea since it is the most popular drink among Iranian people and in the study region. We collected and analyzed 23 drinking water samples and 23 tea samples from different locations in the study region. Based on the water quality index, the consumed drinking water does not have a good quality in most Zarrin Dasht areas. Accordingly, the water quality index (WQI) is poor and very poor in 70% and 13% of the water samples, respectively. The average fluoride concentration of the tea samples is 2.71 mg/L. The mean values of Fluoride Hazard Index (HI_{fluoride}) are 3.77, 2.77, and 2.33 for children, teenagers, and adults, respectively, which are higher than the safe limit of 1. The Nitrate Hazard Index (HI_{nitrate}) is higher than the safe limit of 1 in 8.7% of the samples. The results of the Monte Carlo simulation demonstrate that HI_{fluoride} and HI_{nitrate} are higher than 1 in all the groups, except for adults. According to the results of the sensitivity analysis, ingestion rate and body weight have a large effect on HI_{fluoride} and HI_{nitrate} , but body weight is inversely associated with sensitivity. According to the Piper diagram, saline water is the predominant type in Zarrin Dasht. Besides, the results of the principal component analysis (PCA) show a high correlation between fluoride and pH, which could be related to the effect of pH on fluoride dissolution and ion exchange. Therefore, appropriate measures are recommended to be taken in order to reduce the amount of fluoride in the drinking water resources of this region. Reduction of tea consumption can also be considered an important factor in decreasing the amount of fluoride intake.

Research article

Computational prediction of Calu-3-based in vitro pulmonary permeability of chemicals

Hui-Lun Lin, Yu-Wen Chiu, Chia-Chi Wang, Chun-Wei Tung

Article 105265

肺は、薬物送達や有害化学物質への曝露経路として期待されている。ヒト気管支上皮細胞株 Calu-3 は、見かけの透過係数 (Papp) 値を計算することにより、一般に肺透過性の有用な in vitro モデルと考えられている。in vitro 実験は時間と労力がかかるため、創薬や有害化学物質評価の迅速化のためには、肺透過性の計算機モデルが望まれる。本研究では、この目的のために定量的構造活性相関 (QSAR) モデルを開発する初め

での試みを行った。まず、Calu-3 実験に基づく Papp 値を持つ 57 種類の化学物質を文献から収集し、モデル開発およびテストを行った。その後、線形回帰と非線形ランダムフォレストアルゴリズムを統合した投票回帰モデルのクロスバリデーション性能を最大化するために、逐次前方特徴選択アルゴリズムによって 11 の記述子を同定した。適用領域の調整により、開発したモデルはクロスバリデーションと独立テストにおいて、それぞれ相関係数 0.935 と 0.824 という高い性能を達成した。以上の結果より、計算モデルは Calu-3 を用いた化学物質の *in vitro* 肺透過性予測に有用であることが示唆された。今後の課題として、さらなるモデルの検証・改良のためのデータ収集が挙げられる。

Pulmonary is a potential route for drug delivery and exposure to toxic chemicals. The human bronchial epithelial cell line Calu-3 is generally considered to be a useful *in vitro* model of pulmonary permeability by calculating the apparent permeability coefficient (Papp) values. Since *in vitro* experiments are time-consuming and labor-intensive, computational models for pulmonary permeability are desirable for accelerating drug design and toxic chemical assessment. This study presents the first attempt for developing quantitative structure-activity relationship (QSAR) models for addressing this goal. A total of 57 chemicals with Papp values based on Calu-3 experiments was first curated from literature for model development and testing. Subsequently, eleven descriptors were identified by a sequential forward feature selection algorithm to maximize the cross-validation performance of a voting regression model integrating linear regression and nonlinear random forest algorithms. With applicability domain adjustment, the developed model achieved high performance with correlation coefficient values of 0.935 and 0.824 for cross-validation and independent test, respectively. The preliminary results showed that computational models could be helpful for predicting Calu-3-based *in vitro* pulmonary permeability of chemicals. Future works include the collection of more data for further validating and improving the model.

Short communication

Use of New Approach Methodologies (NAMs) in regulatory decisions for chemical safety: Report from an EPAA Deep Dive Workshop

Carl Westmoreland, Hans J. Bender, John E. Doe, Miriam N. Jacobs, ... Mark T.D. Cronin
Article 105261

[Download PDF](#)

ニューアプローチ法 (NAMs) とは、*in vitro*、*in silico*、または化学に基づくあらゆる方法と、それらを実施するための戦略で、化学物質の安全性評価に情報を提供する可能性のあるものを指すと考えられている。欧州連合

における現行の化学物質法は、NAMs の広範な利用を受け入れるには限界がある。そこで、動物実験代替法のための欧州パートナーシップ (EPAA) は、化学物質の安全性評価における NAMs の利用を検討する「Deep Dive Workshop」を開催し、人間の健康を保護しつつ、規制当局の決定を支援することを目的とした。ワークショップでは、NAM が現在多くの産業分野で使用されており、その一部は規制目的に合致すると考えられていることが確認された。さらに、ワークショップでは、NAMs の使用と規制当局の受け入れを拡大するために取り組むべき重要な論点を特定した。これらは、規制要件の枠組みに必要な変更、教育、訓練、より多くの利害関係者の参加における本質的なニーズ、および NAMs の科学的基盤におけるギャップに基づくものである。

New Approach Methodologies (NAMs) are considered to include any *in vitro*, *in silico* or chemistry-based method, as well as the strategies to implement them, that may provide information that could inform chemical safety assessment. Current chemical legislation in the European Union is limited in its acceptance of the widespread use of NAMs. The European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing (EPAA) therefore convened a ‘Deep Dive Workshop’ to explore the use of NAMs in chemical safety assessment, the aim of which was to support regulatory decisions, whilst intending to protect human health. The workshop recognised that NAMs are currently used in many industrial sectors, with some considered as fit for regulatory purpose. Moreover, the workshop identified key discussion points that can be addressed to increase the use and regulatory acceptance of NAMs. These are based on the changes needed in frameworks for regulatory requirements and the essential needs in education, training and greater stakeholder engagement as well the gaps in the scientific basis of NAMs.