

## Editorial Board

Article 105298

[Download PDF](#)

## Research article

### **Occupational exposure to Cr(VI) in Finland in 1980–2016 and related lung cancer risk assessment**

Selma Mahiout, Mirja Kiilunen, Theo Vermeire, Susana Viegas, ... Tiina Santonen

Article 105276

[Download PDF](#)

肺の発がん物質として知られている六価クロム[Cr(VI)]の職業暴露は、依然として関連する懸念事項である。リスク評価のための曝露評価を行う場合、作業者の実際の内部曝露を反映するバイオモニタリングは重要なツールである。ここでは、1980年から2016年にわたる、いくつかの職業部門の総尿中クロム（U-Cr）バイオモニタリングデータを紹介する（ $n > 42,000$ ）。これらのデータに基づいて、Crメッキと溶接セクターにおける生涯（40年間）の職業性肺がんリスクを推定した。内部（U-Cr）および外部からのCr(VI)吸入曝露を関連付けるために、公表されている回帰式を使用し、公表されている肺がん用量反応に基づくリスク評価を可能にした。一般に、測定されたU-Crレベルは調査期間中にかなり減少した。全体的に最も高いU-CrのP95レベル（現実的な最悪のケースを表す）は、1980年から1989年の間に、キャスト、メンテナンス作業員、溶接工で測定されていた（ $40\text{--}45\mu\text{g/L}$ ）。2010年から2016年の間に、U-Cr P95はすべての調査対象部門で $\leq 9.5\mu\text{g/L}$ まで減少していた。1980–2019年の生涯外部六価クロム曝露推定値は、めっき工で $0.16\text{--}0.32\text{ mg/m}^3 \times \text{年}$ 、溶接工で $1.03\text{ mg/m}^3 \times \text{年}$ であった。最悪のケースの生涯肺癌相対リスク（RR）推定値は、めっき工で $1.28\text{--}1.56$ 、溶接工で $2.80$ であり、帰属リスク（AR）はめっき工で $22\text{--}36\%$ 、溶接工で $64\%$ であった。リスク評価に影響を与えたと思われる不確実性について考察した。

Occupational exposure to hexavalent chromium [Cr(VI)], a known lung carcinogen, remains a relevant concern. When performing exposure assessment for risk assessment, biomonitoring is an important tool, reflecting actual internal exposure of workers. Here, we present total urinary chromium (U-Cr) biomonitoring data from several occupational sectors, spanning 1980–2016 ( $n > 42,000$ ). Based on these data, we estimated lifelong

(40-year) occupational lung cancer risks in the Cr-plating and welding sectors. We used published regression formulas to relate internal (U–Cr) and external Cr(VI) inhalation exposures, allowing risk assessment based on a published lung cancer dose-response. Generally, measured U–Cr levels decreased considerably over the study period. The overall highest U–Cr P95 levels (representing realistic worst-case) were measured in the interval 1980–1989 in casters, maintenance workers and welders (40–45 µg/L). By the interval 2010–2016, the U–Cr P95 had decreased to ≤9.5 µg/L in all studied sectors. Lifelong external Cr(VI) exposure estimation for 1980–2019 was 0.16–0.32 mg/m<sup>3</sup> x year for platers and 1.03 mg/m<sup>3</sup> x year for welders. Worst-case lifelong lung cancer relative risk (RR) estimates were 1.28–1.56 for platers and 2.80 for welders; attributable risks (AR) were 22–36% for platers and 64% for welders. Uncertainties that may have impacted the risk assessment are discussed.

## Review article

### **Considerations for determining safety of probiotics: A USP perspective**

Amy L. Roe, Marie-Eve Boyte, Chris A. Elkins, Virginia S. Goldman, ... Amy Smith

Article 105266

[Download PDF](#)

しかし、食品やサプリメントに使用するプロバイオティクスの安全性を確立するための要件については、世界的に統一されたものはない。プロバイオティクスメーカーは、新菌株、新種、次世代プロバイオティクスの使用をますます求めており、相当な使用歴に基づく正当性が問われる可能性がある。米国薬局方（USP）を含むさまざまな関係者が、プロバイオティクスの品質と安全性を評価するためのベストプラクティス・ガイドラインを開発しようと努力しているところである。現在、USPは、プロバイオティクスの安全性に関する専門的なアドバイスを提供することを目的としている。この目標に向け、このレビューは、グローバルな規制ガイドラインの有用な要約ガイドを提供するものである。我々は、化学物質の試験用にデザインされた従来の動物毒性試験が、プロバイオティクスの安全性評価にも適用できるかどうか疑問視している。これには、過剰な投与量の使用、必要な反復投与毒性試験の長さ、毒性試験に使用される最も適した動物種についての議論が含まれる。さらに、最終製品の安全性に関して、適切な製造方法の重要性も含まれている。このように、プロバイオティクスの包括的な安全性評価に不可欠なパラメータの概要が提供されている。

A history of safe use is a backbone of safety assessments for many current probiotic

species, however, there is no global harmonization regarding requirements for establishing probiotic safety for use in foods and supplements. As probiotic manufacturers are increasingly seeking to use new strains, novel species, and next-generation probiotics, justification based on a significant history of use may be challenged. There are efforts underway by a variety of stakeholders, including the United States Pharmacopeia (USP), to develop best practices guidelines for assessing the quality and safety of probiotics. A current initiative of the USP seeks to provide expert advice specific to safety considerations for probiotics. Toward this goal, this review provides a helpful summary guide to global regulatory guidelines. We question the suitability of traditional animal toxicology studies designed for testing chemicals for relevance in assessing probiotic safety. This includes discussion of the use of excessive dose levels, the length of repeated dose toxicity studies needed, and the most suitable animal species used in toxicology studies. In addition, the importance of proper manufacturing practices with regard to final product safety are also included. Thus, an outline of essential parameters of a comprehensive safety assessment for a probiotic are provided.

## Review article

### **REACHing for solutions: Essential revisions to the EU chemicals regulation to modernise safety assessment**

Marina Pereira, Donna S. Macmillan, Catherine Willett, Troy Seidle

Article 105278

[Download PDF](#)

化学物質の登録、評価、認可および制限（REACH）規則は、欧州市場で販売される化学物質の有害な固有特性をより適切かつ早期に特定し、人々の健康と環境を保護するために制定されました。その中心的な目的のひとつは、動物実験に代わる方法を推進することでしたが、化学物質の安全性評価における新しいアプローチ法（NAMs）への世界的な傾向にもかかわらず、その代わりに、人間の健康への影響との関連性が疑わしい生体内実験の長いチェックボックス・リストになっています。欧州委員会が 2020 年に提案する持続可能性のための化学物質戦略（CSS）は、REACH を重要かつインパクトのある方法で改訂する絶好の機会であるが、これまでに示された提案は、動物福祉に大きな負の影響を及ぼしている。現在進行中の REACH の改正を軌道修正する時間はまだある。ここに示された提案は、CSS が意図する有望な未来に向かう道筋を示すものである。これらの提案は、ECHA が既存のプロセスを改善するために実施できる変更から、動物実験を最小化し NAM の受け入れを増やすことを目的とした技術的変更、リスク評

価の基礎として非動物実験戦略を確立するための深い構造的変更まで、複雑さのレベルに応じて 3 つの行動ベクトルに固定されている。

The Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) regulation was created to protect human health and the environment through the better and earlier identification of harmful intrinsic properties of chemical substances on the European market. One of its central aims was the promotion of alternatives to animal testing, yet it has instead become a long tick-box list of *in vivo* experiments questionable relevance to human health outcomes despite a global trend towards new approach methods (NAMs) in chemical safety assessment. The Chemicals Strategy for Sustainability (CSS), proposed by the European Commission in 2020, is a golden opportunity to revise REACH in a significant and impactful way, yet proposals presented so far have significant negative animal welfare consequences. There is still time to correct the course of the ongoing REACH revision – proposals made herein offer a path towards the promising future intended by the CSS. These proposals are anchored in three vectors of action, varying in level of complexity – from changes that ECHA can implement to improve existing processes, through technical changes aimed at minimizing animal testing and increasing NAM acceptance, to deeper structural changes to establish non-animal testing strategies as the basis for risk assessment.

## Review article

### **A weight of evidence review of the genotoxicity of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>)**

David Kirkland, Marilyn J. Aardema, Rüdiger V. Battersby, Carol Beevers, ... Leon F. Stankowski

Article 105263

[Download PDF](#)

二酸化チタンは、顔料や増粘剤などの用途で、食品から日焼け止めまで様々な製品に含まれる、どこにでもある白い物質である。二酸化チタンは、遺伝毒性に関する懸念から、欧州食品安全機関（EFSA）により、食品（E171 のナノおよびマイクロ粒子）への使用はもはや安全ではないと考えられています。しかし、二酸化チタンの安全性については、相反する意見もあります。この状況を明らかにするために、利用可能なデータに基づく二酸化チタンの遺伝毒性に関する包括的な証拠の重み付け（WoE）評価が実施された。変異原性および発癌性の可能性を特定するために最も関連性が高いと考えられるエンドポイントおよび試験系に関する合計 192 のデータセットを検討し、信頼性と関連

性（証拠の重み付けによる）の両方について、また粒子の物理化学的特性が特徴づけられているかどうかとの関連において議論された。独立した専門家パネルの見解では、特定された 192 のデータセットのうち、遺伝毒性の評価において最も関連性の高い信頼性と品質の基準を満たしたのは 34 のみであった。そのうち 10 件は陽性（二酸化チタンが遺伝毒性を持つという証拠）であり、その全てが DNA 鎖切断（コメットアッセイ）または染色体損傷（小核または染色体異常アッセイ）の研究によるものであった。すべての陽性所見は、高い細胞毒性、酸化ストレス、炎症、アポトーシス、ネクローシス、またはこれらの組み合わせと関連していた。DNA や染色体の切断が生理的ストレスに続発することを考えると、ナノ粒子を含む二酸化チタンの遺伝毒性作用が観察されるのは、生理的ストレスに続発する可能性が非常に高いと考えられる。この知見と一致して、評価された *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝子突然変異研究からは肯定的な結果が得られなかったが、突然変異原性の欠如を決定的に結論づけるには、より強固な *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝子突然変異研究が有用であることに注意すべきである。したがって、既存の証拠は、二酸化チタン（ナノ及びその他の形態）の直接的な DNA 損傷メカニズムを支持しない。

Titanium dioxide is a ubiquitous white material found in a diverse range of products from foods to sunscreens, as a pigment and thickener, amongst other uses. Titanium dioxide has been considered no longer safe for use in foods (nano and microparticles of E171) by the European Food Safety Authority (EFSA) due to concerns over genotoxicity. There are however, conflicting opinions regarding the safety of Titanium dioxide. In an attempt to clarify the situation, a comprehensive weight of evidence (WoE) assessment of the genotoxicity of titanium dioxide based on the available data was performed. A total of 192 datasets for endpoints and test systems considered the most relevant for identifying mutagenic and carcinogenic potential were reviewed and discussed for both reliability and relevance (by weight of evidence) and in the context of whether the physico-chemical properties of the particles had been characterised. The view of an independent panel of experts was that, of the 192 datasets identified, only 34 met the reliability and quality criteria for being most relevant in the evaluation of genotoxicity. Of these, 10 were positive (i.e. reported evidence that titanium dioxide was genotoxic), all of which were from studies of DNA strand breakage (comet assay) or chromosome damage (micronucleus or chromosome aberration assays). All the positive findings were associated with high cytotoxicity, oxidative stress, inflammation, apoptosis, necrosis, or combinations of these. Considering that DNA and chromosome breakage can be secondary to physiological stress, it is highly likely that the observed genotoxic effects of titanium dioxide, including those with nanoparticles, are secondary to physiological

stress. Consistent with this finding, there were no positive results from the *in vitro* and *in vivo* gene mutation studies evaluated, although it should be noted that to definitively conclude a lack of mutagenicity, more robust *in vitro* and *in vivo* gene mutation studies would be useful.

Existing evidence does not therefore support a direct DNA damaging mechanism for titanium dioxide (nano and other forms).

## Review article

### **A Cautionary tale for using read-across for cancer hazard classification: Case study of isoeugenol and methyl eugenol**

Xiaoling Zhang, Susan P. Felter, Anne Marie Api, Kaushal Joshi, Dan Selechnik

Article 105280

[Download PDF](#)

化学物質のグループ化とリード・アクロスは、毒性学的データのギャップを埋めるための非動物実験代替法として頻繁に利用されている。化学物質のグループ化を行う場合、化学構造のわずかな違いが毒性に大きな違いをもたらすため、適用範囲を明確にすることが重要である。ここでは、2023年6月にIARCで審査が予定されているイソオイゲノールとメチルオイゲノールの事例を紹介し、構造の類似性だけでは危険有害性分類のための化学物質のグループ化に不十分な場合があることを説明する。イソオイゲノールとメチルオイゲノールは、植物由来のフェニルプロペン類で、物理化学的性質が類似している。イソオイゲノールの主な代謝経路は、フェノール性水酸基と硫酸およびグルクロン酸との抱合で、効率的な解毒作用があるのに対し、メチルオイゲノールの主な代謝経路は、ベンジル水酸化とカルボケーション形成につながる1'-sulfoxymethyleugenolの形成を伴うものである。このカルボカチオンはDNA付加物を形成し、遺伝毒性および発がん性を誘発する可能性がある。メチルオイゲノールは、インシリコ予測ツールにより遺伝毒性および発がん性の警告が一貫して確認されたが、イソオイゲノールは確認されなかった。さらに、トキシコゲノミクス、遺伝毒性、発がん性の研究により、これらの化学物質の生物活性は大きく異なることが確認された。さらに、他の構造的に類似した化学物質に関するデータから、これら2つの化学物質をグループ化して発がん危険性を分類することは適切ではないとの結論に至った。

Chemical grouping and read-across are frequently used non-animal alternatives for filling toxicological data gaps. When grouping chemicals, it is critical to define the applicability domain because minor differences in chemical structure can lead to significant differences in toxicity. Here, we present a case study on isoeugenol and methyl



eugenol, which are scheduled for review by IARC in June 2023, to illustrate that structural similarity alone may not be sufficient to group chemicals for hazard classification. Isoeugenol and methyl eugenol are plant-derived phenylpropenes that share similar physicochemical properties. The major metabolic pathway for isoeugenol includes conjugation of the phenolic hydroxyl group with sulfate and glucuronic acid as an efficient detoxification process, whereas the major metabolic pathway for methyl eugenol involves benzylic hydroxylation and formation of the 1'-sulfoxymethyleugenol which leads to carbocation formation. The carbocation can form DNA adducts and induce genotoxicity and carcinogenicity. Consistently, genotoxicity and carcinogenicity alerts are identified from *in silico* prediction tools for methyl eugenol but not isoeugenol. Moreover, the available toxicogenomic, genotoxicity, and carcinogenicity studies confirm that these chemicals have significantly different bioactivities. Data on other structurally similar chemicals further supports our conclusion that it is not appropriate to group these two chemicals for cancer hazard classification.

## Discussion

**Correct calculations of a “safe” daily dose of raw materials for homeopathic remedies. Re: Toxicological assessment compilation of selected examples of raw materials for homeopathic and anthroposophic medicinal products - Part 2. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2022. 134**

Armen Nersesyan

Article 105290

## Research article

**Formation and evaluation of mechanism-based chemical categories for regulatory read-across assessment of repeated-dose toxicity: A case of hemolytic anemia**

Takashi Yamada, Tomoko Kawamura, Shinji Tsujii, Minoru Miura, ... Akihiko Hirose

Article 105275

[Download PDF](#)

本研究の目的は、毒性物質をその構造と作用機序（MoAs）に基づいて分類することにより、反復投与毒性に関する規制当局のリードアクロス評価に適用可能な化学物質カテゴリーを定義することである。主に現れることの多い溶血性貧血を例として検討した。公開されている反復投与毒性データを収集し統合データベースを構築したところ、総計

1518 種類の化学物質のうち 423 種類が溶血性貧血を引き起こす可能性があることが確認された。次に、これらの化学物質を化学構造と溶血性物質に対する MoA に基づいてグループ化し、(i) アニリン類、(ii) ニトロベンゼン類、(iii) ニトロアニリン類、(iv) ジニトロアニリン類、(v) エスグリコールアルキルエーテル、(vi) ヒドロキノン、(vii) オキシム、および (viii) ヒドラジンのカテゴリーを同定した。これらのカテゴリーでは、毒性物質と血毒性につながる測定可能なキーイベントが同定され、カテゴリーの正当性とカテゴリー物質の識別が可能になった。さらに、トキシコキネティクスはカテゴリー物質の溶血量に決定的な影響を与えると思われる。全体として、収集した情報の包括的な分析を通じてカテゴリーを検証し、選択したカテゴリーに関するケーススタディを実施することでその有用性を実証した。今後、他の臓器毒性項目についても、このアプローチでカテゴリーを確立していく予定である。

The aim of this study is to define chemical categories that can be applied to regulatory read-across assessments for repeated-dose toxicity, by classifying toxic substances based on their structures and mechanism of actions (MoAs). Hemolytic anemia, which often appears primarily, was examined as an example. An integrated database was constructed by collecting publicly available datasets on repeated-dose toxicity, in which 423 out of a total of 1518 chemicals were identified as capable of inducing hemolytic anemia. Subsequently, by grouping these chemicals based on their chemical structures and plausible MoAs on hemolytic substances, we identified the following categories: (i) anilines, (ii) nitrobenzenes, (iii) nitroanilines, (iv) dinitroanilines, (v) ethylene glycol alkyl ethers, (vi) hydroquinones, (vii) oximes, and (viii) hydrazines. In these categories, the toxicant and the measurable key events leading to hematotoxicity were identified, thereby allowing us to justify the categories and to discriminate the category substances. Moreover, toxicokinetics seems to critically affect the hemolytic levels of the category substances. Overall, the categories were validated through a comprehensive analysis of the collected information, while the utility was demonstrated by conducting a case study on the selected category. Further endeavors with this approach would attain categories for other organ toxicity endpoints.

## Research article

### **Evaluation of the mode of action and human relevance of liver tumors in male mice treated with epyrifenacil**

Satoki Fukunaga, Keiko Ogata, Ayumi Eguchi, Kohei Matsunaga, ... Hiroyuki Asano

Article 105268

[Download PDF](#)



新規のプロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ（PPO）阻害型除草剤であるエピリフェナシル（商標名：ラピディシル®）は、78週間の投与により雄のCD-1マウスに肝細胞腺腫および癌を誘導することが確認された。これらのマウス肝腫瘍の作用機序（MOA）とヒトへの関連性を2006年国際化学物質安全性計画（IPCS）ヒト関連性フレームワークに基づき評価した。Epyrifenacilは遺伝毒性がなく、以下の主要なイベントを伴う仮定されたポルフィリン症を介した細胞毒性MOAを介して肝腫瘍を誘発した。（#1）PPO阻害、（#2）ポルフィリン蓄積、（#3）肝細胞損傷、（#4）その後の再生細胞増殖、そして最終的に（#5）肝腫瘍の発現。この論文では、修正ブラッドフォード・ヒル基準に基づいて、このMOAの証拠の重さを評価する。MOAデータは、他の代替MOAを除外しながら、ポルフィリン症を介した細胞毒性MOAの用量および時間の一致、生物学的妥当性、一貫性、強度、一貫性、および特異性と一致させた。想定されるMOAは、定性的にはヒトで発現する可能性があるが、マウスとヒトの定量的なトキシコダイナミクス及びトキシコキネティクスが異なるため、ヒトで発現する可能性は低いことを実証した。したがって、このMOAは、IPCSのヒト関連性フレームワークを用いて、ヒトに関連しないと考えられる。その結果、ヒトのリスク評価には、非線形閾値用量反応が適切であると思われる。

Epyrifenacil (trademark name: Rapidicil®), a novel protoporphyrinogen oxidase (PPO)-inhibiting herbicide, induces hepatocellular adenomas and carcinomas in male CD-1 mice after 78 weeks treatment. The mode of action (MOA) of these mouse liver tumors and their relevance to humans was assessed based on the 2006 International Programme on Chemical Safety (IPCS) Human Relevance Framework. Epyrifenacil is not genotoxic and induced liver tumors via the postulated porphyria-mediated cytotoxicity MOA with the following key events: (#1) PPO inhibition; (#2) porphyrin accumulation; (#3) hepatocellular injury; with (#4) subsequent regenerative cell proliferation; and ultimately (#5) development of liver tumors. This article evaluates the weight of evidence for this MOA based on the modified Bradford Hill criteria. The MOA data were aligned with the dose and temporal concordance, biological plausibility, coherence, strength, consistency, and specificity for a porphyria-mediated cytotoxicity MOA while excluding other alternative MOAs. Although the postulated MOA could qualitatively potentially occur in humans, we demonstrate that it is unlikely to occur in humans because of quantitative toxicodynamic and toxicokinetic differences between mice and humans. Therefore, this MOA is considered not relevant to humans, utilizing the IPCS Human Relevance Framework; consequently, a nonlinear, threshold dose response would be appropriate for human risk assessment.

## Research article

### **Conformity assessment of medicines containing antibiotics – A multivariate assessment**

Márcia Lombardo, Cintia Margueiro da Silva, Felipe Rebello Lourenço

Article 105279

医薬品は、薬物治療の有効性と安全性を確保するために、品質要求を満たす必要があります。医薬品のノンコンプライアンスは、経済的損失や患者の健康を損なう可能性があります。本研究では、非経口抗生物質（セファロチン、シプロフロキサシン、メトロニダゾール）について、分析結果、測定不確かさ、規格限界に基づいて、誤ったコンプライアンス/ノンコンプライアンス判断のリスクを評価した。物理化学的および生物学的品質試験は、薬局方に従って実施された。測定の不確かさは、ボトムアップアプローチまたは偽陽性／偽陰性の確率を使用して決定した。適合/非適合判定を誤るリスクは、頻度論的アプローチとモンテカルロシミュレーションを用いて推定した。ガードバンドは、一変量および多変量の許容範囲を計算するための有効なスプレッドシートによって決定された。すべてのリスク値（特定のリスクと総合リスク、消費者のリスクまたは生産者のリスク）が最大許容リスク値以下であった。一変量および多変量のガードバンドは、より制限的な規格値を定義し、誤った適合/非適合決定のリスクを低減した。1種類の抗生物質が薬物含有量に関して満足のいく結果を示さず、規格外品に分類された。医薬品分野におけるリスクマネジメントツールの活用は、製品の品質と安全性の向上に貢献し、意思決定を支援する。

Pharmaceutical products must meet quality requirements to ensure the efficacy and safety of pharmacological treatment. Non-compliance of medicines can cause economic losses and compromise the patient's health. In this work, the risks of false compliance/non-compliance decisions for parenteral antibiotics (cephalothin, ciprofloxacin and metronidazole) were evaluated on the basis of analytical results, measurement uncertainties and specification limits. Physicochemical and biological quality assays were performed according to pharmacopeial procedures. Measurement uncertainties were determined using the bottom-up approach or the probability of false-positive/false-negative results. The risks of false compliance/non-compliance decisions were estimated using the frequentist approach and Monte Carlo simulations. Guard-bands were determined through a validated spreadsheet for calculating univariate and multivariate acceptance limits. All risk values (particular risks and total risk, consumer's or producer's risk) were below the maximum permissible risk value. The

univariate and multivariate guard-bands defined more restrictive specification values, reducing the risks of false compliance/non-compliance decisions. One antibiotic presented unsatisfactory results regarding the drug content and was classified as out of specification product. The application of risk management tools in the pharmaceutical area contributes to improving the quality and safety of products and supports decision-making.

## Research article

### **Integrated approach to elucidate metal-implant related adverse outcome pathways**

Jon-Michael T. Beasley, Daniel R. Korn, Konstantin I. Popov, Reagan L. Dumproff, ...  
Alexander Tropsha

Article 105277

インプラントデバイスから放出される外因性金属粒子やイオンは、局所的な組織反応から全身的な毒性に至るまで、癌、心臓疾患、神経疾患の発症につながる可能性のある深刻な毒性現象を引き起こすことが知られている。このような金属による毒性を説明する毒性メカニズム（Adverse Outcome Pathway : AOPs）は、ほとんど研究されていないのが現状です。そこで我々は、インシリコ構造解析と知識ベースアプローチを用いて、金属によって引き起こされるプロテオームレベルの変化と、これらの事象をヒトの疾患に関連付ける経路を同定しました。クロム、コバルト、モリブデン、ニッケル、チタンについて、177 の構造ベース、347 の知識ベース、402 の帰属金属遺伝子/タンパク質関係を捉えた。インプラント表面に直接接触し、有害な結果をもたらすと仮定される 72 のタンパク質に優先順位をつけた。この探索的分析の結果は、構造化された AOP として定式化された。金属-タンパク質-疾患の関係が以前から知られていた場合、金属-タンパク質、タンパク質-疾患、金属-疾患の関係が個別に知られていたが、（統一された AOP として）リンクされていなかった場合、3 つの関係のうち 1 つが不明で、我々の手法によって推定された場合である。これらの状況は、それぞれニッケルによるアレルギー/過敏症、コバルトによる心不全、チタンによる人工関節周囲骨溶解のケーススタディで説明された。すべてのワークフロー、データ、結果は、[https://github.com/DnlRKorn/Knowledge\\_Based\\_Metallomics/](https://github.com/DnlRKorn/Knowledge_Based_Metallomics/) で自由に利用できます。一部のデータについては、ROBOKOP Neo4j Browser (<http://robokopkg.renci.org/browser/>) でインタラクティブに閲覧することができます。

Exogenous metal particles and ions from implant devices are known to cause severe toxic

events with symptoms ranging from adverse local tissue reactions to systemic toxicities, potentially leading to the development of cancers, heart conditions, and neurological disorders. Toxicity mechanisms, also known as Adverse Outcome Pathways (AOPs), that explain these metal-induced toxicities are severely understudied. Therefore, we deployed *in silico* structure- and knowledge-based approaches to identify proteome-level perturbations caused by metals and pathways that link these events to human diseases. We captured 177 structure-based, 347 knowledge-based, and 402 imputed metal-gene/protein relationships for chromium, cobalt, molybdenum, nickel, and titanium. We prioritized 72 proteins hypothesized to directly contact implant surfaces and contribute to adverse outcomes. Results of this exploratory analysis were formalized as structured AOPs. We considered three case studies reflecting the following possible situations: (i) the metal-protein-disease relationship was previously known; (ii) the metal-protein, protein-disease, and metal-disease relationships were individually known but were not linked (as a unified AOP); and (iii) one of three relationships was unknown and was imputed by our methods. These situations were illustrated by case studies on nickel-induced allergy/hypersensitivity, cobalt-induced heart failure, and titanium-induced periprosthetic osteolysis, respectively. All workflows, data, and results are freely available

in [https://github.com/DnlRKorn/Knowledge\\_Based\\_Metallomics/](https://github.com/DnlRKorn/Knowledge_Based_Metallomics/). An interactive view of select data is available at the ROBOKOP Neo4j Browser at <http://robokopkg.renci.org/browser/>.

Research articleAbstract only

### **Absence of phototoxicity/photoirritation potential of bergamottin determined *In Vitro* using OECD TG 432**

Magalie Cluzel, Gaëlle Hais, Amaia Irizar, Véronique Lenouvel, ... Nicolas Wolf

Article 105281

多くのフロクマリン類の光毒性はよく知られている。一方、嵩高い疎水性側鎖を有するフロクマリンであるベルガモッティンは、光毒性能が著しく低いか、あるいはないことが研究により示されている。OECD テストガイドライン 432 3T3/NRU (Neutral Red Uptake) 試験による *in vitro* 光毒性試験は、光毒性能を示さない化合物を特定するための予測性の高い試験であることが示されている。OECD 432 を用いた本試験では、光毒性を確立したフロクマリンである 5-methoxypsoralen (5-MOP), 8-methoxypsoralen (8-MOP) 及び psoralen は光毒性を示したが、bergamottin は光毒性能を示さなかった。5-MOP, 8-MOP および psoralen と比較すると、ベルガモッティンは 8-MOP で光

毒性を示す濃度の 9 倍以上, psoralen で 16 倍近く, 5-MOP で 36 倍以上のモル調整濃度で明確に陰性であった。これらの *in vitro* 3T3 NRU 光毒性試験 (OECD 432) を用いたデータは、ベルガモッティンが光毒性を示さないことを示した先行研究を支持するものである。したがって、ベルガモッティンの検出及び定量は、天然フ록マリ含有製剤の光毒性低減を意図したリスク管理的介入のための潜在的なマーカーフ록マリには寄与しないものと考えられる。

The phototoxic potential of a number of furocoumarins is well established. On the other hand, studies have shown that bergamottin, a furocoumarin containing a bulky, hydrophobic side chain, has significantly less or is even absent of phototoxicity potential. The OECD Test Guideline 432 3T3/Neutral Red Uptake (NRU) *in vitro* phototoxicity test has shown to be a highly predictive test for identifying compounds that exhibit no phototoxicological potential. In this study using OECD 432, the established phototoxic furocoumarin 5-methoxypsoralen (5-MOP), 8-methoxypsoralen (8-MOP) and psoralen were phototoxic, whereas bergamottin showed no phototoxic potential. When compared to 5-MOP, 8-MOP and psoralen, bergamottin was clearly negative at molar-adjusted concentrations that were more than 9 times higher than those that produced phototoxicity in 8-MOP; nearly 16 times than those for psoralen and more than 36 times higher than those for 5-MOP. These data using *in vitro* 3T3 NRU Phototoxicity Test (OECD 432) are supportive of earlier studies showing bergamottin does not exhibit phototoxicological properties. The detection and quantification of bergamottin should therefore not contribute to the potential marker furocoumarins for risk management interventions intended to reduce the phototoxicity of natural furocoumarin containing preparations.

## Research article

### **Applicability of generic PBK modelling in chemical hazard assessment: A case study with IndusChemFate**

Styliani Fragki, Aldert H. Piersma, Joost Westerhout, Anne Kienhuis, ... Marco J. Zeilmaker

Article 105267

毒性学は、化学物質の安全性を評価するために、動物実験から *in vitro* のツールへと移行している。この新しい試験の枠組みでは、*in vitro* での有効濃度を *in vivo* でのヒトの生物学的同等量に外挿し、多種多様な化学物質の「ハイスループットスクリーニング」に適用できる定量的手法、すなわちキネティックモデリングが必要である。一般的な生

理学的動力学（PBK）モデルは、ヒトの毒性曝露レベルを設定する際のトキシコキネティクスの役割を説明するのに役立つ。さらに、これらのモデルは、*in silico* QSAR と *in vitro* 代謝アッセイのみに基づいてパラメータ化され、*in vivo* トキシコキネティクスをこの目的のために使用することを回避することができる。このようなモデルはいくつか存在するが、その適用領域はまだ包括的に評価されていない。本研究では、これまでのPBK モデル IndusChemFate の評価を発展させ、より複雑な生物学的補完モデル（「TNO モデル」）と比較した。両モデルは、物理化学的性質が異なる様々な化学物質を用いて評価されました。その結果、「より単純」なモデルが最も優れた性能を示し、IndusChemFate が QSAR と *in vitro* パラメータに基づく毒物動態のシミュレーションの第一階層として有用であることが明らかになりました。最後に、アセトアミノフェンがヒト HepaRG 細胞で誘発する *in vitro* 細胞毒性から、適切な定量的 *in vitro* から *in vivo* への外挿条件を説明しました。

Toxicology is moving away from animal testing towards *in vitro* tools to assess chemical safety. This new testing framework requires a quantitative method, i.e. kinetic modelling, which extrapolates effective concentrations *in vitro* to a bioequivalent human dose *in vivo* and which can be applied on “high throughput screening” of a wide variety of chemicals. Generic physiologically based kinetic (PBK) models help account for the role of toxicokinetics in setting human toxic exposure levels. Furthermore these models may be parameterized only on *in silico* QSARs and *in vitro* metabolism assays, thereby circumventing the use of *in vivo* toxicokinetics for this purpose. Though several such models exist their applicability domains have yet to be comprehensively assessed. This study extends previous evaluations of the PBK model IndusChemFate and compares it with its more complex biological complement (“TNO Model”). Both models were evaluated with a broad span of chemicals, varying regarding physicochemical properties. The results reveal that the “simpler” performed best, illustrating that IndusChemFate can be a useful first-tier for simulating toxicokinetics based on QSARs and *in vitro* parameters. Finally, proper quantitative *in vitro* to *in vivo* extrapolation conditions were illustrated starting with acetaminophen induced *in vitro* cytotoxicity in human HepaRG cells.

## Research article

### Effects of as-if risk framing of hazards on risk perception and its rebuttal

Peter Michael Wiedemann, Fabian Kirsch, Mark Lohmann, Gaby-Fleur Böhl, Frederik Freudenstein



ハザードとリスクの違いは、リスク評価において極めて重要であるが、専門家以外にはむしろ知られていない。超党派の活動家は、この知識のギャップを利用して、ハザードを **as-if** リスクとして、つまり、ハザードの暴露が重大であるかのように記述することで、リスク認識を増幅させることが可能である。このように、**as-if** リスクの枠組みを使うことで、リスクが存在するとの印象を与えることができる。これまで、このフレーミング手法とその反証については、実証的に分析されていなかった。

#### 実験方法

実験的 2×2 要因オンライン研究 (N = 404) を行い、介入後の反復測定により、フレーミング (ハザード vs. **as-if** risk) およびスティグマ化 (スティグマ化 vs. 非スティグマ化化学物質) が感情および認知リスク認知にどのように影響するかを、漂流農薬への曝露を例として検討した。

#### 結果

**As-if** リスクの枠組はリスク認知を増加させ、スティグマ化の効果は観察されなかった。しかし、事前リスク認知は、実験処理後に記録されるリスク認知に影響を与えることがわかった。また、**as-if** リスク・フレーミングによってリスク認知が高まった被験者は、正しい情報を受け取った後、リスク認知を低下させるという反論が有効であった。

#### 結論

本研究で検討した **as-if** リスク・フレーミングは、隔離されたケースではない。したがって、本研究は、ハザードとリスクの違いを無視した偏った情報を修正するための一般的な洞察を提供する可能性がある。リスクコミュニケーターはこのような洞察から利益を得ることができる。

The difference between hazard and risk is crucial in risk assessment but rather unknown by non-experts. Hyper-partisan activists could use this knowledge gap to amplify risk perception by framing hazards as **as-if** risks, i.e., describing hazards as if their exposure is critical. Thus, using this **as-if** risk framing can trigger impressions that a risk is present. Until now, this framing technique and its rebuttal was not empirically analyzed.

#### Method

An experimental 2 × 2 factorial online study (N = 404) with repeated measures after intervention was conducted to investigate how framing (hazard vs. **as-if** risk) and stigmatization (stigmatized vs. non-stigmatized chemical agent) affects affective and cognitive risk perception using an example of exposure to drifting pesticides.

#### Results

As-if risk framing increased risk perception, effects of stigmatization were not observed. However, the a-priori risk perception influences the recorded risk perceptions after the experimental treatment. Rebuttal was successful, i.e., subjects with elevated risk perceptions due to as-if risk framing reduced their risk perception after receiving corrective information.

### Conclusions

As-if risk framing investigated here is not a sequestered case. Accordingly, the present study may offer general insights into correcting biased information that neglects the difference between hazard and risk. Risk communicators can benefit from these insights.

## Research article

### **Measured air concentrations of pesticides for the estimation of exposure to vapour in European risk assessments**

Edgars Felkers, Felix M. Kluxen, Sarah Adham, Anne-Kim Vinck, ... Neil Morgan

Article 105285

[Download PDF](#)

植物防護製品の傍観者や居住者のリスク評価において、蒸気曝露の評価に適用される既定の空気濃度値や仮定を見直す必要性が指摘されている。そこで、29 件の野外および風洞試験から得られた未発表のデータを用いて、蒸気を介した吸入曝露を評価した。このデータベースは、蒸気圧、作物、散布量、ヨーロッパ地域に関して幅広いシナリオを網羅した、11 種類の有効成分を用いた 35 の試験から構成されています。961 の測定値のうち、634 は検出限界（LOD）未満、282 は LOD と定量限界（LOQ）の間にあり、定量可能なものは 45（4.7%）のみであった。個々の非正規化サンプル 10 個が  $0.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$  を超えました。散布後初日の 81 回の測定値のうち 36 回は  $<\text{LOD}$  であり、定量可能な平均値、75%および 95%値はそれぞれ 0.114, 0.083,  $0.552 \mu\text{g}/\text{m}^3/\text{kg AI applied/ha}$ , であった。大気中濃度と温度、葉面積、湿度、風速、圃場面積との間には強固な相関関係は認められなかった。大気中濃度と蒸気圧およびヘンリー定数との間には、データの一部において非常に限られた相関関係が認められる。これらのデータは、圃場内または圃場近傍の潜在的に吸入可能な農薬蒸気は、実際のシナリオでは非常に低濃度でしか発生しないことを示している。

There is an identified need to revise the default air concentration values and assumptions applied in assessing vapour exposure in the risk assessment of bystanders and residents to plant protection products. To address this, we evaluated inhalation exposure via vapour using previously unpublished data from 29 field and wind tunnel

studies. The database comprises 35 trials with 11 active ingredients covering a wide range of scenarios with respect to vapour pressure, crops, application rates and European regions. Of the 961 individual measurements, 634 were below the Limit of Detection (LOD), 282 were between the LOD and Limit of Quantification (LOQ) and only 45 (4.7%) were quantifiable. Ten individual non-normalized samples exceeded 0.1 µg/m<sup>3</sup>. Of the 81 first-day measurements after the application, 36 were <LOD, and quantifiable mean, 75th and 95th percentiles values were 0.114, 0.083, 0.552 µg/m<sup>3</sup>/kg AI applied/ha, respectively. No robust correlations between air concentration and temperature, leaf coverage, humidity, wind speed, and field size were identified; there is very limited correlation between air concentration and vapour pressure and Henry's constant in a subset of the data. These data indicate that potentially inhalable pesticide vapour within or near fields occurs only at very low concentrations in real scenarios.

## Research articleAbstract only

### **Inhalation exposure assessments under REACH – Problems encountered using the approach recommended by the ECHA guidance R.15**

Thomas Schendel

Article 105291

このような暴露のリスクを評価するためには、1日24時間の暴露時間を基にした毒性学的限界値と比較する必要がある場合が多い。そのため、異なる時間間隔を埋めるための調整が必要である。この問題を扱う一つのアプローチとして、欧州化学機関(ECHA)が消費者暴露について推奨している。このアプローチは、特に、ハーバーの法則(総摂取量のみが重要であるとする)の有効性に依存せず、修正ハーバーの法則(係数  $n = 3$ )をデフォルトとして使用している点が注目される。しかし、その実装のために提案されたアルゴリズムでは、曝露期間を長くすれば予測リスクが低くなるという事態を招きかねず、論理的に意味をなさない。この論文では、修正ハーバーの法則を実装するための正しい方法を提示し、論理的な誤りを回避している。このアルゴリズムは、曝露期間と換気量の変化に対する予測リスクの感度に影響を及ぼすが、この論文ではその点を検討した。

Consumers experience inhalation exposure events that are characterized by fluctuating substance air concentrations and typically exposure durations of less than 24 h. To assess the risk of such exposure events, a comparison with toxicological derived limits based on 24 h exposure duration per day is often necessary. Therefore, adjustments are needed to bridge the different time durations. One approach to handle this issue was recommended by the European Chemical Agency (ECHA) for consumer exposure. This approach is especially noteworthy, because it does not rely on the validity of Haber's law

(which states that only total intake matters) but uses a modified Haber's law (with coefficient  $n = 3$ ) as default. However, the proposed algorithm for its implementation can lead to the situation that increasing the exposure duration leads to lower predicted risk, which logically makes no sense. In this article, the correct way to implement the modified Haber's law is presented, which avoids logical fallacies. The presented algorithm has consequences for the sensitivity of the predicted risk regarding changes of exposure duration and ventilation rate, which are investigated in this article.

## Research article

### **Setting limits for N-nitrosamines in drugs: A defined approach based on read-across and structure-activity relationship for N-nitrosopiperazine impurities**

Carlos E. Matos dos Santos, Daniel Junqueira Dorta, Danielle Palma de Oliveira

Article 105288

本論文では、毒性データが存在しない新規 N-ニトロソアミンに対して、構造活性相関 (SAR) パターンとリード・アクロス (RAx) に基づく推論線を用いて、透明性のある許容値を設定する新しい定義アプローチである DARAN (Defined Approach for Risk Assessment of New Nitrosamines) について説明する。我々は、より透明性が高く、科学的根拠のある RAx に基づいて、新たな許容限界値を算出する対象として、1-methyl-4-nitrosopiperazine (MeNP) という化合物を選択した。我々は、一般に公開されているデータベースやデータセットを用いて、N-ニトロソピペラジン化合物の試験管内変異原性および in vivo 発がん性データを検索し、RAx の化学的分類を形成した。SAR 解析を行い、N-ニトロソピペラジン化合物間の発がん性の変動や、強力なニトロソアミンである NDMA (N-nitrosodimethylamine) や NDEA (N-nitrosodiethylamine) との差異について、パターンの理解や解釈可能な推論ができるように努めた。ターゲットとなる MeNP の許容量を推定するために、堅牢な RAx のための構造的属性の影響について、科学的根拠に基づく仮説とエビデンスラインを使用しました。評価報告書 EMA/369136/20202 で提案された基準に基づき、解析によって得られた SAR 仮説を用いることで、最も構造的に近い関連化合物から予測される TD50 値と最悪のケースを想定した、科学的に裏付けられた頑健な RAx を求めた。

This paper describes DARAN (Defined Approach for Risk Assessment of New Nitrosamines), an new defined approach that uses lines of reasoning based on structure-activity relationship (SAR) patterns and Read-Across (RAx) to set transparent and acceptable limits for new N-nitrosamines for which no toxicological data exist. We

selected the compound 1-methyl-4-nitrosopiperazine (MeNP) as a target to calculate a new acceptable limit on the basis of a more transparent and scientifically reasoned RAx. We used publicly available databases and datasets to retrieve experimental *in vitro* mutagenicity and *in vivo* carcinogenicity data for N-nitrosopiperazine compounds and to form the chemical category for an RAx. We carried out SAR analyses to try to understand patterns and to obtain interpretable inferences of variation in carcinogenic potency among the N-nitrosopiperazines compounds and their differences with the potent nitrosamines NDMA (N-nitrosodimethylamine) and NDEA (N-nitrosodiethylamine). To estimate an acceptable limit for the target MeNP, we used the scientifically based hypotheses and the evidence lines of about the influence of structural attributes for a robust RAx. On the basis of the criteria proposed in the Assessment Report EMA/369136/20202 and by using the SAR hypotheses obtained by the analysis, we obtained a robust RAx, scientifically supported assumptions, which resulted in TD<sub>50</sub> values predicted from the closest structurally related compounds and a worst-case approach.

## Research article

### **Reproductive and developmental toxicity screening of bisphenol F by oral gavage in rats**

Seung-Jin Lee, Sang-Ki Baek, Woojin Kim, Yixian Quah, ... Wook-Joon Yu

Article 105286

ビスフェノール F (BPF, 4,4'-メチレンジフェノール) は、近年、ポリカーボネートやエポキシ樹脂の製造に用いられるビスフェノール A (BPA) の代替物質として選択されている。本研究では、BPF の一般的な影響、および生殖・発達への影響について検討することを目的とした。そこで、Sprague-Dawley ラットに 0, 1, 5, 20 および 100 mg/kg/day の用量で、交配前、交配中、妊娠中および授乳期初期に毎日経口投与し、全身毒性を含む生殖および発生毒性について検討した。BPF を 20 および 100 mg/kg/day で投与した雌ラットでは、交配前および妊娠期間中に体重および摂餌量の減少が観察された。さらに、100 mg/kg/day を投与した雌ラットでは、 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ値が増加した。100 mg/kg/day では、剖検により卵巣重量が減少し、病理組織学的検査により膈粘膜の肥厚がみられた。また、100 mg/kg/日投与により、着床部位の数および産仔数は減少した。しかし、雄ラットでは BPF に関連した有意な変化は認められなかった。本試験の結果から、BPF の全身作用および生殖作用に対する無影響レベル (NOAEL) は、それぞれ 5 mg/kg/day および 20 mg/kg/day であった。

Bisphenol F (BPF, 4,4'-methylenediphenol) has recently been selected as an alternative to bisphenol A (BPA), which is used in the manufacturing of polycarbonates and epoxy resins. This study aimed to investigate the general, and reproductive/developmental effects of BPF. Therefore, BPF at dose levels of 0, 1, 5, 20, and 100 mg/kg/day was administered daily by oral gavage to Sprague-Dawley rats during the pre-mating, mating, gestation, and early lactation periods, and reproductive and developmental toxicities including general systemic toxicities were investigated. A decrease in body weight and food consumption was observed in the female rats treated with BPF at 20 and 100 mg/kg/day during the pre-mating and gestation periods. Additionally, gamma glutamyl transpeptidase levels were increased in the female rats administered 100 mg/kg/day. At 100 mg/kg/day, ovarian weight decreased and vaginal mucification increased according to a necropsy and histopathological examination, respectively. Moreover, the number of implantation sites and litter size decreased at 100 mg/kg/day. However, no significant BPF-related changes were observed in the male rats. Based on the results of this study, the no-observed-adverse-effect levels (NOAELs) of BPF for general systemic and reproductive effects were 5 and 20 mg/kg/day, respectively.