

Editorial Board

Article 105420

[View PDF](#)

Review article

Challenges in the classification of chemical respiratory allergens based on human data: Case studies of 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) and 2-hydroxypropylmethacrylate (HPMA)

Mark A. Pemberton, Knut Kreuzer, Ian Kimber

Article 105404

[View PDF](#)

化学物質の呼吸器アレルゲンへの職場暴露に起因する職業性喘息は重要な疾患である。化学物質の呼吸器感作物質を同定するための、広く受け入れられている、あるいは正式に検証された検査はない。そのため、臨床検査から得られたヒトのデータに大きく依存している。しかし、残念なことに、このような検査は職業性喘息の診断や改善措置のガイドとしては重要であるが、原因物質である職場内の特定の化学物質を確実に同定することはできない。これにはいくつかの理由がある。臨床調査の一環として実施される特定の吸入試験は、単一物質ではなく複雑な混合物を用いて実施されることが多いこと、OEL や STEL を超える濃度で吸入試験が実施されることがあり、刺激による影響が混同される可能性があること、喘息後期反応の観察から免疫機構の関与を仮定することができないことなどがその理由である。さらに、正式な weight of evidence 評価を受けていない限り、喘息原性物質として「認識されている」リストに記載されている物質については注意が必要である。ここでは、呼吸器アレルゲンとして 2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA) および/または 2-ヒドロキシプロピルメタクリレート(HPMA)を示唆する既発表の症例研究を参照しながら、規制上の分類および意思決定の目的で現在行われている臨床調査の限界について検討する。

Occupational asthma resulting from workplace exposure to chemical respiratory allergens is an important disease. No widely accepted or formally validated tests for the identification of chemical respiratory sensitizers. Consequently, there is a heavy reliance on human data from clinical examinations. Unfortunately, however, although such investigations are critical for the diagnosis of occupational asthma, and in guiding remedial actions, they do not reliably identify specific chemicals within the workplace that are the causative agents. There are several reasons for this, including the fact that specific inhalation tests conducted as part of clinical investigations are frequently

performed with complex mixtures rather than single substances, that sometimes inhalation challenges are conducted at concentrations above the OEL and STEL, where effects may be confounded by irritation, and that involvement of immune mechanisms cannot be assumed from the observation of late asthmatic reactions. Further, caution should be taken when implicating substances on lists of "recognised" asthmagens unless they have undergone a formal weight of evidence assessment. Here the limitations of clinical investigations as currently performed for the purposes of regulatory classification and decision making are explored by reference to previously published case studies that implicate 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) and/or 2-hydroxypropylmethacrylate (HPMA) as respiratory allergens.

Review article

[Recommendation for an occupational exposure limit for toluene](#)

Martijn Rooseboom, Neslihan Aygun Kocabas, Colin North, Richard James Radcliffe, Lawrence Segal

Article 105387

[View PDF](#)

EUのトルエン登録者を含む低級オレフィン・芳香族 (LOA) REACH コンソーシアムは、トルエンの職業暴露限度 (OEL) の見直しを行うため、ワーキンググループ (WG) を設置した。見直しでは、中枢神経系および神経行動毒性、耳毒性、色覚への影響、生殖および発達への影響に焦点を当て、これらの影響に関する安全シグナルが確認された。WG はまた、皮膚表記や短期暴露限度 (STEL) の必要性についても検討した。WG は、動物およびヒトにおけるトルエンの影響を記述した利用可能な公表情報の長所と短所を批判的に検討・議論し、トルエンの OEL を設定するための出発点としての適切性を評価し、OEL を導出した。その結果、トルエンの OEL に関する WG の勧告は、8 時間 TWA で 20 ppm、15 分 STEL で 100 ppm、皮膚表記とした。

The Lower Olefins and Aromatics (LOA) REACH Consortium, which includes toluene registrants in the EU, established a Working Group (WG) to conduct a review of the occupational exposure limit (OEL) for toluene. The review focussed on CNS and neuro-behavioural toxicity, ototoxicity, effects on colour vision, reproductive and developmental effects, as safety signals for these effects were identified. The WG also examined the need for a skin notation and/or a short-term exposure limit (STEL). The WG critically reviewed and discussed the strengths and weaknesses of the available published information describing the effects of toluene in animals and humans, to assess its adequacy as a potential point of departure for the establishment of an OEL for toluene and to derive an OEL. As a result, the WG recommendation for a toluene OEL is 20 ppm

8-h TWA, with a 15-min STEL of 100 ppm and a skin notation.

Review article

Mutagenic impurities in pharmaceuticals: A critical assessment of the cohort of concern with a focus on N-nitrosamines

David J. Snodin

Article 105403

TTC (Threshold of Toxicological Concern: 毒性学的懸念の閾値、医薬品の場合は $1.5 \mu\text{g}/\text{日}$ に設定) は、発がん性やその他の毒性作用のリスクが無視できる未検討の化学物質について、患者が許容できる摂取量を定めたものである。アフラトキシン様化合物、N-ニトロソ化合物、アルキルアゾキシ化合物は、TTC 以下の摂取量で重大な発がんリスクをもたらすと考えられている。Kroes ら (2004 年) は、食品成分に関する TTC と CoC の値を導き出したが、その際、公開されていないデータセットを使用した。関連論文から再構築した全発がん物質のデータセットを用いて、3 つの CoC 構造クラスすべてに例外があることが明らかになった。N-ニトロソアミンは、再構築されたデータセットでは N-ニトロソクラスの 62% を占めている。現代のデータセットを用いると、20% はげっ歯類の発がん性バイオアッセイで陰性であり、最高リスクカテゴリーに分類される N-ニトロソアミンは全体の 50% 未満と推定される。CoC ニトロソアミンは構造アラートではなく、化合物固有のデータによって同定することが推奨される。したがって、ICH M7 (R1) に記載されている変異原性不純物との関連で、CoC と非 CoC N-ニトロソアミンを区別することができるはずである。

The TTC (Threshold of Toxicological Concern; set at $1.5 \mu\text{g}/\text{day}$ for pharmaceuticals) defines an acceptable patient intake for any unstudied chemical posing a negligible risk of carcinogenicity or other toxic effects. A group of high potency mutagenic carcinogens, defined solely by the presence of particular structural alerts, are referred to as the “cohort of concern” (CoC); aflatoxin-like-, *N*-nitroso-, and alkyl-azoxy compounds are considered to pose a significant carcinogenic risk at intakes below the TTC. Kroes et al. (2004) derived values for the TTC and CoC in the context of food components, employing a non-transparent dataset never placed in the public domain. Using a reconstructed all-carcinogen dataset from relevant publications, it is now clear that there are exceptions for all three CoC structural classes. *N*-Nitrosamines represent 62% of the *N*-nitroso class in the reconstructed dataset. Employing a contemporary dataset, 20% are negative in rodent carcinogenicity bioassays with less than 50% of all *N*-nitrosamines estimated to fall into the highest risk category. It is recommended that CoC nitrosamines are identified by compound-specific data rather than structural alerts. Thus, it should be possible to distinguish CoC from non-CoC *N*-nitrosamines in the context of mutagenic impurities described in ICH M7 (R1).

Discussion

Derivation of subacute guidance values for chemical contaminants of drinking water quality standard in Japan

Mariko Matsumoto, Yasumasa Murata, Nozomu Hirose, Yoshiyuki Shigeta, ... Akihiko Hirose

Article 105401

飲料水中の化学物質の濃度は、一時的かつ偶発的に飲料水質基準(DWQS)を超えることがある。汚染物質の濃度が限られた期間の暴露では有害な影響を引き起こさないと予想される場合、直ちに給水を停止する必要はないかもしれない。評価は亜急性ガイダンス値(SGV)を用いて実施すべきである。本研究では、SGVを設定するために、DWQSの26の化学物質を評価した。主に、亜急性参照用量(subacute Reference Dose: saRfD)を導出するための亜急性試験から主要な試験を選択した。SGVは、成人(飲料水摂取量: 40 mL/kg/日)および小児(飲料水摂取量: 150 mL/kg/日)のsaRfDから算出された。SGVを算出するために配分係数は適用しなかった。20の化学物質についてSGVを設定したが、その値は対応するDWQSの2~38倍であった。しかし、6つの化学物質のSGVは、対応するDWQSと同じであった。したがって、これら6つの偶発的汚染物質については、早急な対策が必要となる。私たちが設定したSGVは、偶発的な汚染を評価するのに有用である。

The concentration of chemicals in drinking water may transiently and accidentally exceed the Drinking Water Quality Standard (DWQS). If the level of a contaminant is not expected to cause adverse effects for a limited period of exposure, immediate suspension of the water supply may not be necessary. Assessments should be conducted using subacute guidance values (SGVs). In this study, we assessed 26 chemicals for the DWQS to establish the SGVs. Principally, a key study was selected from subacute studies to derive a Subacute Reference Dose (saRfD). The SGV was calculated from the saRfD for adults (drinking water intakes: 40 mL/kg/day) and children (drinking water intakes: 150 mL/kg/day). No allocation factor was applied to derive the SGV. We established the SGV for 20 chemicals, which were 2–38 times higher than the corresponding DWQS. However, SGVs for six chemicals were the same as the corresponding DWQS. Therefore, immediate action will be required for these six accidental contaminants. Our established SGVs are useful for assessing accidental contamination.

Research article

Identification of molecular initiating events (MIE) using chemical database analysis and nuclear receptor activity assays for screening potential inhalation

有害結果経路(AOP)の枠組みは、科学的根拠を示すことで、化学物質規制における代替試験法の使用を容易にする。以前、肺線維症を引き起こすペルオキシソーム増殖活性化受容体 γ (PPAR γ)拮抗作用というAOPが開発された。文献検索に基づき、PPAR γ の不活性化が分子イニシエーティングイベント(MIE)として提案された。さらに、毒性データベースとディープラーニングモデルを用いて、実験検証に使用できる候補化学物質のリストを提案した。本研究では、このAOPの吸入毒性物質のスクリーニングへの適用性を最大化するために、*in silico*試験と*in vitro*試験を用いて環境化学物質のMIEスクリーニングを行った。はじめに、3つ以上の主要な事象において活性を示す吸入暴露の可能性のある化学物質を選択し、インシリコ分子ドッキングを実施した。PPAR γ との結合エネルギーが低い化学物質の中から、*in vitro*のPPAR γ 活性測定法を用いてAOPを検証するために9つの化学物質を選択した。その結果、ロテノン、リン酸トリオルトクレシル、ヒマシ油がPPAR γ 拮抗薬およびAOPのストレス化学物質として提案された。全体として、提案されたデータベース-*in silico-in vitro*の段階的アプローチは、規制当局の適用性を特定し、AOPの開発と実験的検証を支援するのに役立つ。

An adverse outcome pathway (AOP) framework can facilitate the use of alternative assays in chemical regulations by providing scientific evidence. Previously, an AOP, peroxisome proliferative-activating receptor gamma (PPAR γ) antagonism that leads to pulmonary fibrosis, was developed. Based on a literature search, PPAR γ inactivation has been proposed as a molecular initiating event (MIE). In addition, a list of candidate chemicals that could be used in the experimental validation was proposed using toxicity database and deep learning models. In this study, the screening of environmental chemicals for MIE was conducted using *in silico* and *in vitro* tests to maximize the applicability of this AOP for screening inhalation toxicants. Initially, potential inhalation exposure chemicals that are active in three or more key events were selected, and *in silico* molecular docking was performed. Among the chemicals with low binding energy to PPAR γ , nine chemicals were selected for validation of the AOP using *in vitro* PPAR γ activity assay. As a result, rotenone, triorthocresyl phosphate, and castor oil were proposed as PPAR γ antagonists and stressor chemicals of the AOP. Overall, the proposed tiered approach of the database-*in silico-in vitro* can help identify the regulatory applicability and assist in the development and experimental validation of AOP.

Research article

[An investigation of non-informative priors for Bayesian dose-response modeling](#)

Matthew W. Wheeler

Article 105389

毒性学的解析は用量反応モデリングを中心に組み立てられており、ベイズ推定技術を利用した手法も増えている。ベイズ推定は、用量反応推定値に意味のある影響を与える可能性のある事前分布情報を解析に含めるという点でユニークである。このような解析はヒトの健康リスク評価に用いられることが多いため、実務者は用量反応研究に事前情報を加えることの影響を理解しなければならない。文献で提案されている1つの方法は、平坦一様事前分布を使用することであり、これは、選択した値の範囲について線量反応モデルのパラメータに一様な事前確率を置くものである。このような事前分布を用いる動機は、用量反応の不偏推定を求める最尤推定に最も似ているという点で称賛に値するが、このような事前分布は情報を追加し、分析に予期せぬバイアスをもたらす可能性があることを示すことができる。この原稿では、多くの経験的な例を通して、すべてのエンドポイントにおいて情報量がない事前分布が用量反応モデルに存在しない理由を示す。

Toxicology analyses are built around dose-response modeling, and increasingly these methodologies utilize Bayesian estimation techniques. Bayesian estimation is unique because it includes prior distributional information in the analysis, which may impact the dose-response estimate meaningfully. As such analyses are often used for human health risk assessment, the practitioner must understand the impact of adding prior information to the dose-response study. One proposal in the literature is the use of the flat uniform prior distribution, which places a uniform prior probability over the dose-response model's parameters for a chosen range of values. Though the motivation of such a prior distribution is laudable in that it is most like maximum likelihood estimation seeking unbiased estimates of the dose-response, one can show that such priors add information and may introduce unexpected biases into the analysis. This manuscript shows through numerous empirical examples why prior distributions that are non-informative across all endpoints of interest do not exist for dose-response models; that is, other quantities of interest will be informed by choosing one inferential quantity not informed.

Research article

[Toxicokinetic and toxicodynamic mixture effects of plant protection products: A case study](#)

Mawien Karaca, Christian Tobias Willenbockel, Tewes Tralau, Denise Bloch, Philip Marx-Stoelting

即使用可の植物保護製品 (PPP) の認可は、通常、急性毒性と局所毒性の試験のみに依存している。これは、必須データセットが最も包括的な試験一式で構成される活性物質の状況とは対照的である。それにもかかわらず、ある種の有効成分と共配合剤の組み合わせは、最終製品の毒性を増大させる可能性があるが、そのような組み合わせが複雑で長期的な毒性学的エンドポイントについて系統的に評価されたことはない。そこでわれわれは、テブコナゾール (Teb) とプロチオコナゾール (Pro)、またはシペルメトリン (Cpm) とピペロニルブトキシド (Pip) の代表的な活性物質の組み合わせについて、トキシコキネティックおよびトキシコダイナミックに及ぼす使用頻度の高い 3 種類の共配合剤の影響をそれぞれ調査した。4 つの活性物質すべてが潜在的な肝脂肪生成物質であることから、HepaRG における細胞毒性とトリグリセリド蓄積を主要評価項目とした。同時にトランスクリプトミクスと生化学的研究を行い、遺伝子発現への影響や、機能化の鍵となる酵素である CYP3A4 の阻害について調べた。試験された組み合わせの中には、CYP3A4 酵素阻害によるものもあるが、明らかに相加的以上の効果を示したものもあった。その他の効果は、脂肪症に関連する核内キラーセプターの発現と活性の調節であった。これらの知見を総合すると、PPP の評価において、トキシコダイナミックとトキシコキネティクスの混合効果をより系統的に考慮する必要性が浮き彫りになった。

Authorisation of ready to use plant protection products (PPPs) usually relies on the testing of acute and local toxicity only. This is in stark contrast to the situation for active substances where the mandatory data set comprises a most comprehensive set of studies. While the combination of certain active ingredients and co-formulants may nevertheless result in increased toxicity of the final product such combinations have never been evaluated systematically for complex and long-term toxicological endpoints. We therefore investigated the effect of three frequently used co-formulants on the toxicokinetic and toxicodynamic of the representative active substance combination of tebuconazol (Teb) and prothioconazol (Pro) or of cypermethrin (Cpm) and piperonyl butoxide (Pip), respectively. With all four active substances being potential liver steatogens, cytotoxicity and triglyceride accumulation in HepaRG were used as primary endpoints. Concomitantly transcriptomics and biochemical studies were applied to interrogate for effects on gene expression or inhibition of CYP3A4 as key enzyme for functionalization. Some of the tested combinations clearly showed more than additive effects, partly due to CYP3A4 enzyme inhibition. Other effects comprised the modulation of the expression and activity of steatosis-related nuclear key receptors. Altogether, the findings highlight the need for a more systematic consideration of toxicodynamic and toxicokinetic mixture effects during assessment of PPPs.

Research article

Specificity of the local lymph node assay (LLNA) for skin sensitisation

David W. Roberts, Ian Kimber, David A. Basketter

Article 105402

[View PDF](#)

局所リンパ節アッセイ(LLNA)は、皮膚感作性の可能性と効力を予測するための非動物的アプローチの性能を評価するための大規模なデータセットを提供してきた。しかしながら、LLNAの結果とヒトのデータとの最近の比較では、LLNAの特異性は低く、多くのヒト非感作性物質、特に疎水性化学物質が偽陽性であると論じられている。このような偽陽性の原因は、疎水性化学物質が細胞毒性を引き起こし、それが刺激性を誘発し、ひいては非特異的なリンパ球増殖を促進するためであると考えられてきた。この論文では、LLNAの特異性が明らかに低下しているのは、弱い皮膚感作性と非感作性の境界の定義の違いを反映していることが明らかになった。少数のLLNA偽陽性は、皮膚感作を伴わないリンパ球増殖によるものであるかもしれないが、「偽」陽性とされるもののほとんどは、実際には、構造活性から予測できる非常に弱い感作性である。疎水性による偽陽性の仮説を支持する証拠はない。さらに、そのメカニズム的根拠も成り立たない。適切に解釈された健全なLLNAデータは、広い親水性-疎水性範囲にわたって適用可能な、感作力の優れた尺度であることに変わりはない。標準的なデータ解釈プロトコールは、規制上の重要性に関係なく、非常に低いレベルの感作性を検出することを可能にするが、規制上の重要性に焦点を当てたデータ解釈の余地はある。

The local lymph node assay (LLNA) has provided a large dataset against which performance of non-animal approaches for prediction of skin sensitisation potential and potency can be assessed. However, a recent comparison of LLNA results with human data has argued that LLNA specificity is low, with many human non-sensitisers, particularly hydrophobic chemicals, being false positives. It has been suggested that such putative false positives result from hydrophobic chemicals causing cytotoxicity, which induces irritancy, in turn driving non-specific lymphocyte proliferation. This paper finds that the apparent reduced specificity of the LLNA largely reflects differences in definitions of the boundaries between weak skin sensitisers and non-sensitisers. A small number of LLNA false positives may be due to lymphocyte proliferation without skin sensitisation, but most alleged 'false' positives are in fact very weak sensitisers predictable from structure-activity considerations. The evidence does not support the hypothesis for hydrophobicity-induced false positives. Moreover, the mechanistic basis is untenable. Sound LLNA data, appropriately interpreted, remain a good measure of sensitisation potency, applicable across a wide hydrophilicity-hydrophobicity range. The standard data interpretation protocol enables detection of very low levels of sensitisation, irrespective of regulatory significance, but there is scope to interpret the data to give

focus on regulatory significance.

Research article

Impact of repeated micro and macro blood sampling on clinical chemistry and haematology in rats for toxicokinetic studies

Natasha A. Karp, Louise Coleman, Peter Cotton, Nicola Powles-Glover, Amanda Wilson

Article 105386

齧歯類の非臨床安全性試験は、潜在的な副作用を評価するために、新薬開発において不可欠である。通常、毒物動態学的サンプルはサテライトグループから収集される。アストラゼネカは、1ヶ月の低分子規制毒性試験の標準として、主要試験動物の反復マイクロサンプリングを実施した。成体ラットのコントロールから52の独立した試験で収集された臨床化学および血液学データのレトロスペクティブ分析により、主試験動物のマイクロおよびマクロサンプリングの影響を調査した。大部分の変数について、血液サンプリング法は平均値や範囲に有意な影響を与えなかった。マイクロサンプリングでは、いくつかの変数が平均シグナルに統計的に有意な影響を及ぼしたが、生物学的関連性は限定的であり、したがって毒性学的評価に意味のあるバイアスをもたらすことはないと考えられた。マクロサンプリングは、採血量が多いため、ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数の赤血球パラメータに予想される影響があった。対照的に、マイクロサンプリングではそのような変化は見られなかった。結論として、この大規模なレトロスペクティブ解析は、主要な試験動物のトキシコキネティクスにおけるマイクロサンプリングの使用を支持するものであり、サテライト動物を使用しないげっ歯類毒性試験を実施し、毒性評価に使用する動物数をさらに減らすことを可能にするものである。

Non-clinical rodent safety studies are essential in the development of new medicines to assess for potential adverse effects. Typically, toxicokinetic samples are collected from a satellite group. AstraZeneca implemented repeated microsampling of main study animals as standard in the one-month small molecule regulatory toxicology studies. A retrospective analysis of the clinical chemistry and haematology data collected in 52 independent studies from the adult rat controls explored the impact of micro and macro sampling of main study animals. For the majority of variables, the blood sampling technique had no significant impact on the mean or range. For microsampling, a few variables had statistically significant effects on the mean signal but these were considered to have limited biological relevance and would therefore not introduce a meaningful bias to any toxicological evaluation. The macrosampling had the expected effects on the red cell parameters of haemoglobin, haematocrit and red blood count due to the larger blood volume draw. In contrast, microsampling showed no such changes. In conclusion, this large-scale retrospective analysis supports the use of microsampling, for toxicokinetics, of main study animals and enables us to conduct rodent toxicology studies

without satellite animals and further reduce the number of animals used in toxicological assessments.

Research article

Unexpected neurotoxicity in chronic toxicity studies with a HBV viral expression inhibitor

Martin Bopst, Theo Dinklo, Juergen Funk, Andrea Greiter-Wilke, ... Jianxun Xie

Article 105407

低分子 B 型肝炎ウイルス発現阻害剤 RG7834 の非臨床安全性プロファイルは、安全性薬理試験、遺伝毒性試験、反復投与毒性試験および生殖毒性試験からなるパッケージで検討された。サル慢性毒性試験では、すべての化合物投与群で、末梢神経および脊髄における神経伝導速度の低下と軸索変性が相関する、用量および時間に依存した多発性神経障害の症状が確認され、投与中止後約 3 カ月経過しても可逆性の証拠は認められなかった。同様の病理組織学的所見は、ラットの慢性毒性試験でも観察された。その後の *in vitro* 神経毒性試験およびイオンチャネル電気生理学的試験では、晩期毒性の潜在的なメカニズムは解明されなかった。しかしながら、構造的に異なる分子で観察された同様の所見に基づき、毒性の可能なメカニズムとして、両者に共通する薬理的標的である PAPD5 および PAPD7 の阻害が考えられた。結論として、RG7834 の慢性 HBV 患者における臨床治療期間が最長 48 週間であることから、慢性投与後により観察された顕著な神経障害は、RG7834 のさらなる臨床開発を支持するものではなかった。

The non-clinical safety profile of the small molecule hepatitis B virus viral expression inhibitor RG7834 was studied in a package consisting of safety pharmacology, genotoxicity, repeat dose toxicity and reproductive toxicity studies. The chronic monkey toxicity study identified dose- and time-dependent symptoms of polyneuropathy, with correlating nerve conduction velocity reductions and axonal degeneration in peripheral nerves and spinal cord, in all compound treatment groups with no evidence of reversibility after approximately 3 months of treatment cessation. Similar histopathological findings were observed in the chronic rat toxicity study. Subsequent *in vitro* neurotoxicity investigations and ion channel electrophysiology did not elucidate a potential mechanism for the late toxicity. However, based on similar findings observed with a structurally different molecule, an inhibition of their common pharmacological targets, PAPD5 & PAPD 7, was considered as a possible mechanism of toxicity. In conclusion, the marked neuropathies, only observed after chronic dosing, did not support further clinical development of RG7834 because of its foreseen clinical treatment duration of up to 48 weeks in chronic HBV patients.

Research article

Skin and eye irritancy assessment of six lactic acid bacteria strains

Ivana Nikodinoska, Christina Spohr, Gerald P. Dillon, Colm A. Moran

Article 105406

[View PDF](#)

ここでは、6種の微生物株の皮膚および眼に対する刺激性を評価するための *in vitro* モデルの適合性を調査した。急性皮膚刺激性は未修正および修正 OECD 試験ガイドライン (OECD TG) 439 に従って試験し、急性眼刺激性は OECD TG491 および 492 を用いて調べた。回復期に 8~10 μ g/mL のストレプトマイシンを導入し、完成処方代わりに 100%微生物産物を含む試験品を使用するように修正した OECD TG 439 ガイドラインは、皮膚刺激性評価に適していることがわかった。一方、眼刺激性の評価には OECD TG 491 の手順が最も適していた。本試験で試験した 6 種の微生物株、すなわち *Lactiplantibacillus plantarum* (IMI 507026、IMI 507027、IMI 507028)、*Lacticaseibacillus rhamnosus* (IMI 507023) および *Pediococcus pentosaceus* (IMI 507024、IMI 507025) は、いずれも試験条件下で皮膚刺激性または眼刺激性を示さなかった。

Here we investigate the suitability of *in vitro* models to assess the skin and eye irritation potential of six microbial strains. Acute skin irritation was tested according to the unmodified and modified OECD test guideline (OECD TG) 439, while acute eye irritation was examined using the OECD TG 491 and 492. The OECD TG 439 guideline, modified to introduce 8–10 μ g/mL of streptomycin during the recovery phase and use of test items containing 100% microbial product instead of finished formulae, was found to be suitable for skin irritation evaluation. On the other hand, the OECD TG 491 procedure was the most appropriate for evaluating eye irritation. None of the six microbial strains, namely, *Lactiplantibacillus plantarum* (IMI 507026, IMI 507027, IMI 507028), *Lacticaseibacillus rhamnosus* (IMI 507023), and *Pediococcus pentosaceus* (IMI 507024, IMI 507025), tested in this study caused skin or eye irritation under the study condition.

Research article

Modeling extraction of medical device polymers for biocompatibility evaluation

David M. Saylor, Joshua A. Young

Article 105405

抽出試験は、生物学的試験用サンプルの作成であれ、毒性学的リスク評価の基礎となるものであれ、医療機器の生体適合性評価にとって極めて重要である。しかし、異なる抽出条件やサンプル形状間で抽出試験を比較する方法は必ずしも明確ではありません。本研究では、物理学に基づくモデルを採用し、抽出条件、サン

ル形状、および材料特性が、シングルステップおよび反復/網羅的抽出試験法における抽出効率 (M/M_0) および抽出濃度 (C/C_0) に及ぼす理論的影響を明らかにします。このモデルは、熱力学的寄与 (Ψ)、動力学的寄与 (τ)、抽出反復数 (N) の 3 つのパラメータで規定される。シングルステップ抽出の典型的なパラメータの範囲において、 M/M_0 は $\Psi (\geq 10)$ と $\tau (\geq 1)$ の比較的大きな値でのみ 1 (完全な枯渇) に近づくことがわかった。さらに、このモデルは、試験品の形状と溶媒量が、 M/M_0 と C/C_0 に劇的な、時には相反する影響を与えることを示唆している。われわれの結果は、反復抽出は、スケーリングされたパラメータ $\Psi' = \Psi N$ と $\tau' = \tau N$ を持つシングルステップ抽出として近似できることを示唆している。このモデルは、試験品と抽出条件の選択を最適化し、新しい試験プロトコルの開発をガイドすることにより、生体適合性評価試験の負担を軽減する枠組みを提供する。

Extraction testing is critical for biocompatibility evaluation of medical devices, whether to generate samples for biological testing or form the basis for toxicological risk assessment. However, it is not always clear how to compare extraction testing between different extraction conditions and sample geometries. We employ a physics-based model to elucidate the theoretical impact of extraction conditions, sample geometry and material properties on extraction efficiency (M/M_0) and extract concentration (C/C_0) for single-step and iterative/exhaustive extraction test methods. The model is specified by three parameters: thermodynamic contributions (Ψ), kinetic contributions (τ), and number of extraction iterations (N). We find that over the range of typical parameters for single-step extractions, M/M_0 only approaches one (complete exhaustion) for relatively large values of $\Psi (\geq 10)$ and $\tau (\geq 1)$. Further, the model suggests that test article geometry and solvent volume can have a dramatic and sometimes opposing effect on M/M_0 and C/C_0 . Our results imply that iterative extractions can be approximated as a single-step extraction with scaled parameters $\Psi' = \Psi N$ and $\tau' = \tau N$. The model provides a framework to reduce the biocompatibility evaluation test burden by optimizing test article and extraction condition selection and guiding development of new test protocols.

Research article

Toxic elements in children's multivitamin-multimineral supplements and the health risks they pose

Fuad A. Ababneh

Article 105409

この研究は、子供用マルチビタミン・マルチミネラル (CMVM) サプリメントに含まれる有害元素 (As、Cd、Hg、Pb) のレベルとそのリスクを測定することを目的とした。調査元素の定量には誘導結合プラズマ質量分析計

(ICP-MS)を用いた。CMVM 製品中の有害元素の平均濃度と範囲 ($\mu\text{g/kg}$) は以下の通りであった: As (32.4, 5.3-90)、Cd (58.2, 6-129)、Hg (42.2, 6-108)、Pb (231, 8.6-541)。推定経口 1 日摂取量 (EODI) は、As、Cd、Hg、Pb について、それぞれ $0.01\text{--}0.31\ \mu\text{g/日}$ 、 $0.01\text{--}0.64\ \mu\text{g/日}$ 、 $0.02\text{--}0.53\ \mu\text{g/日}$ 、 $0.01\text{--}2.36\ \mu\text{g/日}$ の範囲と判定された。EODI 値はすべて、各元素に設定された耐容摂取限界値以下であった。調査対象元素の経口曝露に関連する慢性非がんリスクは、標的ハザード指数 (THQ) とハザード指数 (HI) を用いて評価した。THQ と HI の値は 1 以下であり、これらの製品は小児が摂取しても安全であることが示された。CMVM 製品の摂取による As と Pb への曝露に関連する潜在的ながんリスクは、生涯がんリスク増加 (ILCR) と総がんリスク (TCR) を用いて決定された。ILCR と TCR の値は閾値である 1×10^{-4} 以下であり、発がんリスクは非常に低く、無視できることを示した。

This work aimed to determine the levels of toxic elements (As, Cd, Hg, and Pb) and their risks in children's multivitamin-multimineral (CMVM) supplements. An inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-MS) was used to quantify the studied elements. The mean concentrations and ranges ($\mu\text{g/kg}$) of the toxic elements in the CMVM products were as follows: As (32.4, 5.3–90); Cd (58.2, 6–129); Hg (42.2, 6–108); and Pb (231, 8.6–541). The estimated oral daily intakes (EODI) were determined to be in the range of $0.01\text{--}0.31\ \mu\text{g/day}$, $0.01\text{--}0.64\ \mu\text{g/day}$, $0.02\text{--}0.53\ \mu\text{g/day}$, and $0.01\text{--}2.36\ \mu\text{g/day}$ for As, Cd, Hg, and Pb, respectively. All the EODI values were below the tolerable intake limits set for each element. The chronic non-cancer risks associated with oral exposure to studied elements were evaluated using the target hazard quotient (THQ) and the hazard index (HI). The THQ and HI values were below 1, indicating that these products were safe for consumption by children. The potential cancer risks associated with exposure to As and Pb through the consumption of CMVM products were determined using the Incremental Lifetime Cancer Risk (ILCR) and the total cancer risks (TCR). The ILCR and TCR values were below the threshold value of 1×10^{-4} , indicating that the risk of developing cancer was very low and ignorable.

Research article

[Assessing the risk of induction of skin sensitization to plant protection products: A quantitative approach](#)

Namali Corea, Marco Corvaro, Felix M. Kluxen, Arthur Grivel, ... David Basketter

Article 105408

[View PDF](#)

皮膚感作性物質への曝露は多くの産業分野で一般的であり、規制されている。化粧品については、感作の誘発を防止することに重点を置いたリスクベースのアプローチが実施されている。まず、予想されない感作性誘発

レベル(NESIL)が導き出され、次に感作性評価係数(SAF)によって修正され、許容暴露レベル(AEL)が導き出される。AEL はリスクアセスメントに使用され、ばく露シナリオに特有の推定ばく露量と比較される。欧州では、散布ドリフトによる感作性のある農薬への曝露に関する懸念が高まっているため、傍観者や住民に対する農薬の定量的リスク評価(QRA)を可能にするために、既存の慣行をどのように修正できるかを検討する。このエンドポイントに対して世界的に要求される in vivo アッセイである局所リンパ節アッセイ(LLNA)による NESIL の導出について、適切な SAF の検討とともにレビューする。ケーススタディを用い、LLNA の EC3%値に 250 を乗じることで NESIL ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)を算出できるという原則を採用した。次に、NESIL を 25 の全体的な SAF で減じて、傍観者と居住者のリスクが最小となる被ばくレベルを設定する。本稿では、欧州のリスク評価と管理に焦点を当てているが、このアプローチは一般的で普遍的に適用可能である。

Exposure to skin sensitizers is common and regulated in many industry sectors. For cosmetics, a risk-based approach has been implemented, focused on preventing the induction of sensitization. First, a No Expected Sensitization Induction Level (NESIL) is derived, then modified by Sensitization Assessment Factors (SAFs) to derive an Acceptable Exposure Level (AEL). The AEL is used in risk assessment, being compared with an estimated exposure dose, specific to the exposure scenario. Since in Europe there is increased concern regarding exposure towards potentially sensitizing pesticides via spray drift, we explore how existing practice can be modified to allow Quantitative Risk Assessment (QRA) of pesticides for bystanders and residents. NESIL derivation by the Local Lymph Node Assay (LLNA), the globally required *in vivo* assay for this endpoint, is reviewed alongside consideration of appropriate SAFs. Using a case study, the principle that the NESIL in $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ can be derived by multiplying LLNA EC3% figure by a factor of 250 is adopted. The NESIL is then reduced by an overall SAF of 25 to establish an exposure level below which there is minimal bystander and resident risk. Whilst this paper focuses on European risk assessment and management, the approach is generic and universally applicable.

Research article

Revisiting the mutagenicity and genotoxicity of N-nitroso propranolol in bacterial and human in vitro assays

Xilin Li, Yuan Le, Ji-Eun Seo, Xiaoqing Guo, ... Nan Mei

Article 105410

プロプラノロールは広く使用されている β 遮断薬であるが、ニトロソ化誘導体である N-ニトロソプロプラノロール (NNP)を生成する可能性がある。NNP は、細菌の逆転突然変異試験 (Ames 試験) では陰性であるが、他の in vitro 試験法では遺伝毒性を示すことが報告されている。本研究では、ニトロソアミンの変異原性に影響を及

ばすことが知られている Ames 試験をいくつか変更し、さらにヒト細胞を用いた遺伝毒性試験を用いて、NNP の in vitro 変異原性と遺伝毒性を系統的に検討した。その結果、NNP は、塩基対置換を検出する 2 つのテスター株 TA1535 と TA100、およびフレームシフト検出株 TA98 の両方で、エームス試験において濃度依存的に突然変異を誘発することがわかった。ラット肝臓 S9 で陽性結果が見られたが、ハムスター肝臓 S9 画分は、NNP を反応性変異原に生物変換するのに、より効果的であった。NNP はまた、ハムスター肝臓 S9 の存在下で、ヒトリンパ芽球系 TK6 細胞に小核と遺伝子突然変異を誘発した。それぞれ異なるヒトチトクローム P450 (CYP) を発現する TK6 細胞株のパネルを用い、CYP2C19 は、試験したものの中で、NNP の遺伝毒性物質への生物活性化において最も活性の高い酵素として同定された。また、NNP はヒト HepaRG 細胞の 2 次元および 3 次元培養において、濃度依存的に DNA 鎖切断を誘導した。この研究は、NNP が様々な細菌および哺乳類の系で遺伝毒性を示すことを示している。したがって、NNP は変異原性および遺伝毒性を有するニトロソアミンであり、ヒト発がん物質の可能性がある。

Propranolol is a widely used β -blocker that can generate a nitrosated derivative, *N*-nitroso propranolol (NNP). NNP has been reported to be negative in the bacterial reverse mutation test (the Ames test) but genotoxic in other in vitro assays. In the current study, we systematically examined the in vitro mutagenicity and genotoxicity of NNP using several modifications of the Ames test known to affect the mutagenicity of nitrosamines, as well as a battery of genotoxicity tests using human cells. We found that NNP induced concentration-dependent mutations in the Ames test, both in two tester strains that detect base pair substitutions, TA1535 and TA100, as well as in the TA98 frameshift-detector strain. Although positive results were seen with rat liver S9, the hamster liver S9 fraction was more effective in bio-transforming NNP into a reactive mutagen. NNP also induced micronuclei and gene mutations in human lymphoblastoid TK6 cells in the presence of hamster liver S9. Using a panel of TK6 cell lines that each expresses a different human cytochrome P450 (CYP), CYP2C19 was identified as the most active enzyme in the bioactivation of NNP to a genotoxicant among those tested. NNP also induced concentration-dependent DNA strand breakage in metabolically competent 2-dimensional (2D) and 3D cultures of human HepaRG cells. This study indicates that NNP is genotoxic in a variety of bacterial and mammalian systems. Thus, NNP is a mutagenic and genotoxic nitrosamine and a potential human carcinogen.

Correspondence

[Letter to the editor regarding “A systematic review of adverse health effects associated with oral cadmium exposure”](#)

Nicholas Chartres, Courtney Cooper

Article 105390

select article Response to Letter to the Editor submitted by Dr. Nick Chartres and Ms. Courtney Cooper: RE: A systematic review of adverse health effects associated with oral cadmium exposure, by Schaefer HR et al. Regul Toxicol Pharmacol. 2022; 134:105243

1.

Correspondence

Response to Letter to the Editor submitted by Dr. Nick Chartres and Ms. Courtney Cooper: RE: A systematic review of adverse health effects associated with oral cadmium exposure, by Schaefer HR et al. Regul Toxicol Pharmacol. 2022; 134:105243

Heather R. Schaefer, Brenna M. Flannery, Lynn M. Crosby, Olivia E. Jones-Dominic, ...
Karlyn Middleton

Article 105392